

· 实验研究 ·

关键期单眼形觉剥夺对小鼠初级视皮层 NRG1⁺和 NRG1⁻ 的 PV 神经元分布密度的影响

叶京京¹ 李新宇² 凌颖¹ 栾长霖² 史学锋²¹天津市眼科医院 天津市眼科研究所 天津市眼科学与视觉科学重点实验室,天津 300020;²天津市眼科医院 天津市眼科研究所 天津市眼科学与视觉科学重点实验室 天津医科大学眼科临床学院,天津 300020

叶京京、凌颖为山东中医药大学眼科与视光医学院研究生,济南 250014

通信作者:史学锋,Email:shixf_tmu@163.com

【摘要】 目的 探讨视觉发育关键期内单眼形觉剥夺(MD)对小鼠初级视皮层神经调节蛋白1(NRG1⁺)和 NRG1⁻的小清蛋白(PV)神经元分布密度的影响。**方法** 选取28日龄雄性SPF级C57BL/6J小鼠12只,采用随机数字表法分为MD组和对照组,每组6只,MD组于出生后第28天(P28)时行右眼MD,饲养至P32,对照组常规饲养至P32,所有小鼠均心脏灌注后断颈处死并迅速取出脑组织,固定过夜后切取视皮层组织,并进行PV和NRG1免疫荧光染色,分别观察并比较MD组小鼠两侧以及对照组小鼠初级视皮层PV⁺、PV⁺/NRG1⁺和PV⁺/NRG1⁻神经元分布密度的差异。**结果** 免疫荧光染色结果显示,对照组、MD组对侧V1区和MD组同侧V1区PV⁺神经元密度分别为(137.8±4.3)、(108.8±4.1)和(137.4±4.0)/mm²,PV⁺/NRG1⁺神经元密度分别为(112.0±4.6)、(82.1±4.7)和(113.6±5.7)/mm²,总体比较差异均有统计学意义($F=15.88, 12.53$,均 $P<0.001$),其中MD组对侧V1区PV⁺神经元密度和PV⁺/NRG1⁺神经元密度明显低于对照组和MD组同侧V1区,差异均有统计学意义(均 $P<0.001$)。各组PV⁺/NRG1⁻神经元密度总体比较,差异无统计学意义($F=0.20, P>0.05$)。**结论** NRG1⁺的PV神经元可能是调控关键期初级视皮层发育的主要细胞类型。

【关键词】 视觉;关键期;初级视皮层;形觉剥夺;神经调节蛋白1;小清蛋白

基金项目: 国家自然科学基金(81770956、81371049);天津市131创新型人才团队项目(201936);天津市杰出青年科学基金(17JCJQC46000);天津市自然科学基金(21JCYBJC00780);天津市卫生计生行业高层次人才选拔培养工程津门医学英才项目;天津市卫生健康科技项目(TJWJ2023ZD008);天津市医学重点学科(专科)建设项目(TJYXZDXK-016A)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20231010-00123

Effect of monocular form deprivation during critical period on the density of NRG1⁺ and NRG1⁻ PV neurons in the mouse primary visual cortex

Ye Jingjing¹, Li Xinyu², Ling Ying¹, Luan Changlin², Shi Xuefeng²¹Tianjin Eye Hospital, Tianjin Eye Institute, Tianjin Key Laboratory of Ophthalmology and Visual Science, Tianjin 300020, China; ²Tianjin Eye Hospital, Tianjin Eye Institute, Tianjin Key Laboratory of Ophthalmology and Visual Science, Clinical College of Ophthalmology, Tianjin Medical University, Tianjin 300020, China

Ye Jingjing and Ling Ying are graduate students of Medical College of Optometry and Ophthalmology, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China

Corresponding author: Shi Xuefeng, Email: shixf_tmu@163.com

[Abstract] Objective To investigate the effect of monocular form deprivation (MD) on the distribution density of neuregulin-1 (NRG1⁺) and NRG1⁻ parvalbumin (PV) neurons in the primary visual cortex of mice during the critical period of visual development. **Methods** Twelve healthy 28-day-old SPF male C57BL/6J mice were randomly divided into control group and MD group by the random number table method, with 6 mice in each group. After MD on postnatal day (P) 28, the MD group was fed until P32, while the control group was fed normally until P32. All mice were sacrificed by cervical dislocation after cardiac perfusion, and brain tissues were quickly collected. After

fixation overnight, brain slices were subjected to PV and NRG1 immunofluorescence staining to observe and compare the differences in the distribution density of PV^+ , $PV^+/NRG1^+$ and $PV^+/NRG1^-$ neurons in both sides of the primary visual cortex (V1) area of the two groups. This study was conducted in accordance with the Regulations on the Administration of Experimental Animals (2017 Revision), and the study protocol was approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of Tianjin Medical University (No. TMUaMEC2022004). **Results** Immunofluorescence staining showed that the density of PV^+ and $PV^+/NRG1^+$ neurons was (137.8 ± 4.3) , (108.8 ± 4.1) , $(137.4 \pm 4.0)/mm^2$ in the contralateral V1 area of the control group, MD group and the ipsilateral V1 area of the MD group, and that of $PV^+/NRG1^+$ neurons was (112.0 ± 4.6) , (82.1 ± 4.7) and $(113.6 \pm 5.7)/mm^2$, respectively, with statistically significant overall differences ($F = 15.88, 12.53$; both $P < 0.001$). PV^+ neuron density and $PV^+/NRG1^+$ neuron density in the contralateral V1 area of the MD group were significantly lower than in the control group and in the ipsilateral V1 area of the MD group (all $P < 0.001$). There was no difference in $PV^+/NRG1^-$ neuron density between the two groups ($F = 0.20, P > 0.05$). **Conclusions** $PV^+/NRG1^+$ neurons may be the main cell type regulating the development of primary visual cortex during the critical period.

[Key words] Vision, ocular; Critical period; Primary visual cortex; Form deprivation; Neuregulin-1; Parvalbumin

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81770956, 81371049); Project of Tianjin 131 Innovative Talent Team (201936); Tianjin Science Foundation for Distinguished Young Scholars (17JCJQC46000); Natural Science Foundation of Tianjin (21JCYBJC00780); Jinmen Medical Talent Project of Tianjin Health Commission; Health Science Foundation of Tianjin (TJWJ2023ZD008); Tianjin Key Medical Discipline (Specialty) Construction Project (TJYXZDXK-016A)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20231010-00123

视觉发育是视觉神经系统在胚胎期就拥有的结构和功能在出生后不断发育成熟的过程。双眼视觉功能发育存在关键期,关键期内异常视觉经验会引起单眼或双眼最佳矫正视力下降,从而导致弱视的发生^[1]。关键期内视觉神经系统具有高度的可塑性,视觉神经环路中神经元之间的突触连接会在外界因素,如视觉经验的影响下发生显著变化。初级视皮层(primary visual cortex, V1)的发育关键期为出生后第 20~35 天,此时视皮层的可塑性最强,其发育也最易受到视觉经验的调控^[2]。研究表明,单眼形觉剥夺(monocular form deprivation, MD)作为异常视觉经验在视觉发育的关键期会导致 V1 的一系列功能改变,包括神经元眼优势、空间敏锐度和双眼视功能等的变化^[3-8]。

既往研究发现, V1 发育关键期的开启和关闭受到 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)能抑制性神经元的调控^[9-10],并且 GABA 是弱视发病机制中主要参与的中枢神经递质^[11],其影响视觉发育关键期 V1 突触可塑性形成的过程。小清蛋白(parvalbumin, PV)阳性抑制性神经元是 GABA 能抑制性中间神经元的主要亚型,广泛分布于外周和中枢神经系统中^[12]。此外,如果在视觉发育关键期进行 MD, PV 神经元会被迅速抑制,这是由于 PV 神经元的局部兴奋性输入减少,从而导致皮层去抑制,而这种抑制性中间神经元活动降低导致的皮层去抑制对调节关键期眼优势可塑

性至关重要^[13-14]。研究发现,神经调节蛋白 1(neuregulin-1, NRG1)可通过作用于视皮层中 PV 阳性抑制性神经元的受体酪氨酸蛋白激酶 4(erb-b2 receptor tyrosine kinase-4, ErbB4)受体来调节视皮层的神经可塑性,且 NRG1 在视皮层发育的关键期呈高表达,成年后表达减弱,并且在视觉发育关键期 MD 会导致 NRG1 表达下降^[13,15],提示其可能是参与视觉发育关键期开启和关闭的关键分子。

本研究旨在通过观察视觉发育关键期内 MD 对小鼠 V1 区 $NRG1^+$ 和 $NRG1^-$ 的 PV 神经元分布密度的影响,以期揭示调控关键期 V1 发育的关键细胞类型。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 28 日龄雄性 SPF 级 C57BL/6J 小鼠 12 只,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[许可证号:SCXK(京)2021-0011],均于天津市眼科医院动物实验中心 SPF 级环境标准饲养,温度为 $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$,湿度为 $(55 \pm 5)\%$,12 h/12 h 昼夜节律,自由摄食饮水,饲养条件符合医学实验动物饲养要求。本研究遵循《实验动物管理条例》(2017 修订版)规定,研究方案经天津医科大学实验动物管理和使用委员会批准(批文号:TMUaMEC2022004)。

1.1.2 主要试剂及仪器 兔抗 PV 单克隆一抗 (#80561, 美国 Cell Signaling Technology 公司); 鼠抗 NRG1 单克隆一抗 (66492-1-Ig, 美国 Proteintech 公司); 山羊抗兔 Alexa Fluor IgG 594 荧光二抗 (ab150080)、山羊抗鼠 Alexa Fluor IgG 488 荧光二抗 (ab150113) (英国 Abcam 公司); DAPI 溶液、Triton X-100 (美国 Sigma-Aldrich 公司); 4% 多聚甲醛固定液、牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) (北京 Biotopped Life Sciences 公司); 10 倍磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) (北京 Solarbio Life Sciences 公司)。10-0 缝线 (A6020, 宁波医用缝线有限公司); VT1000S 震动切片机、DMi8 激光扫描共聚焦显微镜 (德国 Leica 公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及处理 采用随机数字表法将小鼠随机分为 MD 组和对照组, 每组 6 只。对照组常规饲养, 无任何干预措施, 于出生后第 32 天 (P32) 进行免疫荧光实验; MD 组于 P28 行右眼 MD 4 d, 正常饲养至 P32 进行免疫荧光实验。

1.2.2 MD 模型的建立 按照文献 [16] 的方法构建 MD 动物模型。将麻醉后的 MD 组小鼠右眼眼睑用碘伏消毒, 清理干净后将其上下睑缘剪除, 联用生理盐水和左氧氟沙星滴眼液冲洗角结膜, 无异物后采用 10-0 缝线褥式缝合上下眼睑, 术后于切口处涂抹妥布霉素地塞米松眼膏, 4 d 后将右眼睑剪开, 将屈光间质混浊的小鼠排除。共排除 2 只小鼠, 排除后仍补齐为每组 6 只小鼠。

1.2.3 免疫荧光染色法观察各组小鼠 PV 和 NRG1 分布情况 小鼠麻醉后依次采用 0.9% 氯化钠溶液及 4% 多聚甲醛溶液行心脏灌注, 断颈处死并迅速取脑组织, 置于 4% 多聚甲醛中固定过夜。切取视皮层组织, 设置切片厚度为 100 μm , 其中对照组选取一侧 V1 区, MD 组选取双侧 V1 区。将切好的组织放入盛有 PBS 的 24 孔板中。每孔加入 200 μl 配制好的封闭液 (5% BSA+0.3% Triton X-100 的 PBS 混合液), 置于转速为 64 r/min 的水平摇床上, 室温下封闭 1.5 h。每孔加入稀释好的 PV 和 NRG1 一抗溶液 (均 1:200 稀释) 共 200 μl 行双重免疫荧光标记, 置于水平摇床上, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育

过夜。吸去一抗, 加入 PBS, 置于摇床洗涤, 5 min/次, 共 3 次。洗涤完成后, 每孔加入稀释好的二抗溶液 (均 1:200 稀释) 共 200 μl 行双重免疫荧光标记, 置于水平摇床上, 室温下避光孵育 1.5 h。吸去二抗, 再次洗涤 3 次, 每孔加入 200 μl 稀释好的 DAPI 溶液 (1:1000 稀释), 置于水平摇床上, 室温下避光染色 8 min, PBS 洗涤 3 次。封片并于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光湿盒中保存。使用激光扫描共聚焦显微镜进行图像采集, PV⁺ 神经元呈红色荧光, NRG1⁺ 神经元呈绿色荧光。采用 ImageJ 软件手动计数镜下各切片阳性细胞数, 并除以其计数区域视皮层面积, 计算不同类型细胞密度。

1.3 统计学方法

采用 Graphpad Prism 9.3 统计学软件进行统计分析。计量资料数据经 Shapiro-Wilk 检验证实呈正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组各检测指标数据经 Levene 检验证实方差齐, 总体比较采用单因素方差分析, 多重比较采用 LSD-*t* 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组与 MD 组小鼠 PV⁺ 神经元分布密度比较

免疫荧光染色结果显示, 与 MD 组小鼠形觉剥夺眼同侧 V1 区相比, 对侧 V1 区 PV⁺ 神经元密度显著下降; 与对照组相比, MD 组小鼠对侧 V1 区 PV⁺ 神经元密度显著下降, 同侧 V1 区无明显变化 (图 1)。3 个组 PV⁺ 神经元密度总体比较, 差异有统计学意义 ($F = 15.88, P < 0.001$), 其中 MD 组对侧 V1 区 PV⁺ 神经元密度明显低于对照组和 MD 组同侧 V1 区, 差异均有统计学意义 ($P < 0.001$); 对照组和 MD 组同侧 V1 区 PV⁺ 神经元密度比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 1)。

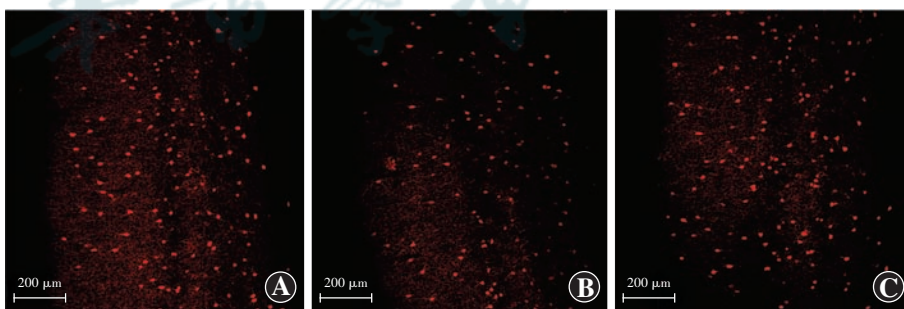


图 1 免疫荧光染色检测对照组和 MD 组小鼠 V1 区 PV⁺ 神经元分布密度 (Alexa Fluor 594 $\times 100$, 标尺 = 200 μm) PV⁺ 神经元呈红色荧光, MD 组对侧 V1 区 PV⁺ 神经元荧光分布密度明显低于对照组, 同侧 V1 区 PV⁺ 神经元荧光分布密度与对照组无明显差异 A: 对照组 B: MD 组对侧 V1 区 C: MD 组同侧 V1 区

Figure 1 Distribution density of PV⁺ neurons in V1 area of control group and MD group detected by immunofluorescence staining (Alexa Fluor 594 $\times 100$, scale bar = 200 μm) PV⁺ neurons were red. The distribution density of PV⁺ neurons was significantly lower in the contralateral V1 area of MD group than in control group. There was no significant difference in the density of PV⁺ neurons between the ipsilateral V1 area of MD group and control group A: Control group B: Contralateral V1 area of MD group C: Ipsilateral V1 area of MD group

表 1 对照组与 MD 组小鼠 V1 区 PV⁺、PV⁺/NRG1⁺ 和 PV⁺/NRG1⁻ 神经元分布密度比较 ($\bar{x} \pm s, /\text{mm}^2$)

Table 1 Comparison of the distribution density of PV⁺, PV⁺/NRG1⁺ and PV⁺/NRG1⁻ neurons in mouse V1 area between MD group and control group ($\bar{x} \pm s, /\text{mm}^2$)

组别	样本数	PV ⁺	PV ⁺ /NRG1 ⁺	PV ⁺ /NRG1 ⁻
对照组	6	137.8 ± 4.3	112.0 ± 4.6	25.8 ± 3.1
MD 组对侧 V1 区	6	108.8 ± 4.1 ^a	82.1 ± 4.7 ^a	26.7 ± 2.8
MD 组同侧 V1 区	6	137.4 ± 4.0 ^b	113.6 ± 5.7 ^b	23.8 ± 4.0
F 值		15.88	12.53	0.20
P 值		<0.001	<0.001	0.818

注:与对照组比较,^a $P < 0.001$;与 MD 组对侧 V1 区比较,^b $P < 0.001$ (单因素方差分析,LSD-*t* 检验) MD:单眼形觉剥夺;V1:初级视觉皮层;PV:小清蛋白;NRG1:神经调节蛋白 1

Note: Compared with control group, ^a $P < 0.001$; compared with the contralateral V1 area of MD group, ^b $P < 0.001$ (One-way ANOVA, LSD-*t* test) MD: monocular form deprivation; V1: primary visual cortex; PV: parvalbumin; NRG1: neuregulin-1

2.2 对照组与 MD 组小鼠 PV⁺/NRG1⁺ 神经元和 PV⁺/NRG1⁻ 神经元分布密度比较

免疫荧光染色结果显示,与 MD 组小鼠同侧 V1 区相比,对侧 V1 区 PV⁺/NRG1⁺ 神经元密度显著下降;与对照组相比,MD 组小鼠对侧 V1 区 PV⁺/NRG1⁺ 神经元密度显著下降,同侧 V1 区无明显变化;3 个组小鼠 V1 区 PV⁺/NRG1⁻ 神经元密度均未见明显改变(图 2)。3 个组小鼠 V1 区 PV⁺/NRG1⁺ 神经元密度总体比较,差异有统计学意义($F = 12.53, P < 0.001$),其中 MD 组对侧 V1 区 PV⁺/NRG1⁺ 神经元密度明显低于对照组和 MD 组同侧 V1 区,差异均有统计学意义(均 $P < 0.001$)。3 个组小鼠 V1 区 PV⁺/NRG1⁻ 神经元密度总体比较,差异无统计学意义($F = 0.20, P = 0.818$)(表 1)。

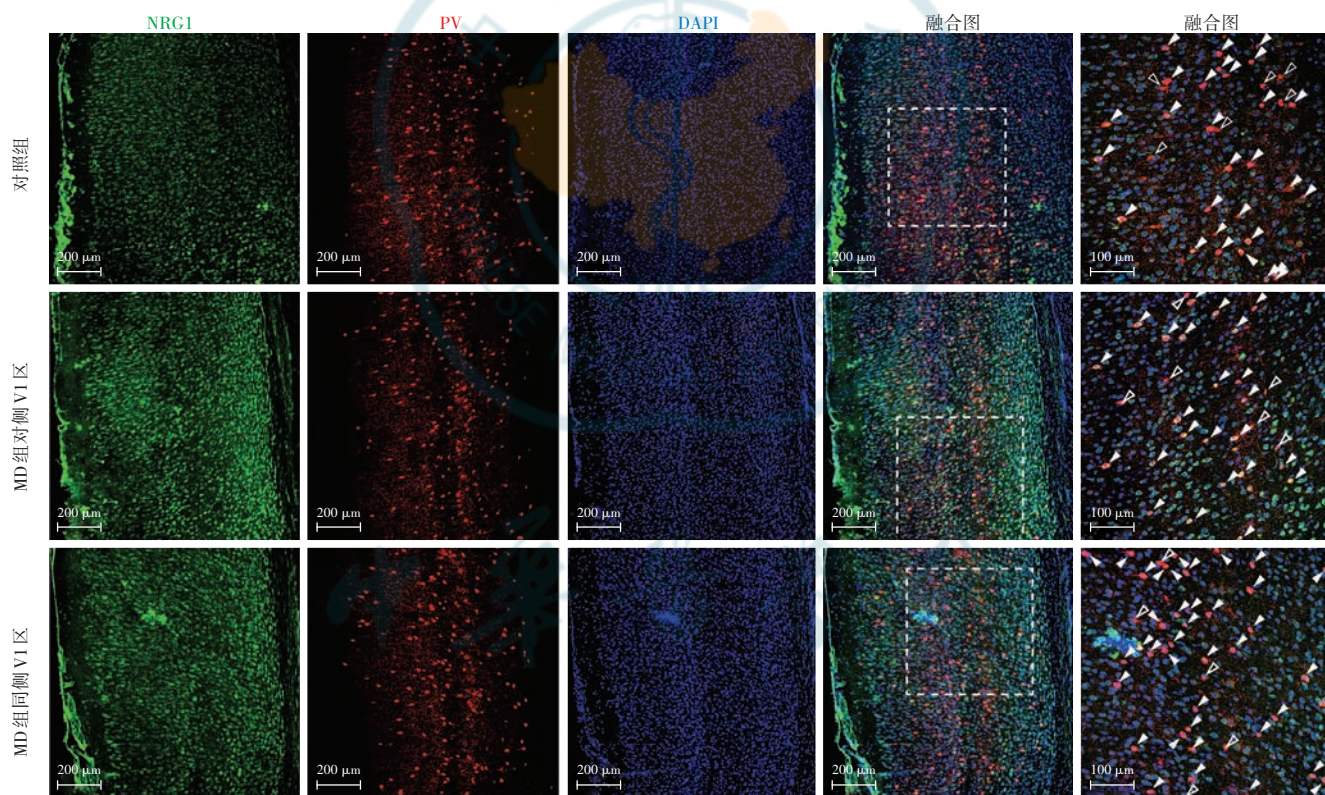


图 2 免疫荧光染色检测对照组和 MD 组小鼠 V1 区 PV⁺/NRG1⁺ 和 PV⁺/NRG1⁻ 神经元分布密度(标尺 = 200 μm,最右侧融合图:标尺 = 100 μm) 细胞核呈蓝色荧光,PV⁺ 神经元呈红色荧光(Alexa Fluor 594),NRG1⁺ 神经元呈绿色荧光(Alexa Fluor 488),PV⁺/NRG1⁺ 用实心箭头表示,PV⁺/NRG1⁻ 用空心箭头表示。MD 组对侧 V1 区 PV⁺/NRG1⁺ 神经元密度明显低于对照组和同侧 V1 区,同侧 V1 区与对照组相比无明显差异;对照组与 MD 组两侧 V1 区 PV⁺/NRG1⁻ 神经元分布密度均无明显差异 NRG1:神经调节蛋白 1;PV:小清蛋白;DAPI:4',6-二脒基-2-苯基吲哚;MD:单眼形觉剥夺;V1:初级视觉皮层

Figure 2 Distribution density of PV⁺/NRG1⁺ and PV⁺/NRG1⁻ neurons in V1 area of control group and MD group detected by immunofluorescence staining (scale bar = 200 μm, Merged image on the far right; scale bar = 100 μm) Nuclei were blue. PV⁺ neurons were red (Alexa Fluor 594). NRG1⁺ neurons were green (Alexa Fluor 488). PV⁺/NRG1⁺ were indicated by solid arrows and PV⁺/NRG1⁻ were indicated by hollow arrows. The distribution density of PV⁺/NRG1⁺ neurons were significantly lower in the contralateral V1 area of MD group than in control group and the ipsilateral V1 area of MD group. There was no significant difference in the density of PV⁺/NRG1⁺ neurons between the ipsilateral V1 area of MD group and control group. There was also no significant difference in the density of PV⁺/NRG1⁻ neurons between the control group and bilateral V1 of MD group NRG1: neuregulin-1; PV: parvalbumin; DAPI: 4', 6-diamidino-2-phenylindole; MD: monocular form deprivation; V1: primary visual cortex

3 讨论

哺乳动物的皮层中存在多种抑制性中间神经元,占皮层神经元总数的 15%~20%^[17],在视皮层中最主要的中间神经元表达 PV、生长抑素以及血管活性肠肽,其中占主导地位的亚群是 PV⁺ 神经元^[18-19]。虽然在生理学方面有关视皮层眼优势可塑性的研究早已提出^[20-21],近年来的研究也揭示了细胞外基质、Nogo-A 受体、配对免疫球蛋白样受体 B、Lynx1 等均与关键期可塑性密切相关^[22-25],但目前我们对调控眼优势可塑性的关键细胞类型和分子机制仍了解有限。

NRG1 是神经调节蛋白中特征较为明显的一类介导细胞间相互作用的信号蛋白,属于表皮生长因子,参与组织细胞的发育和成熟。NRG1 也是中枢神经系统的一种神经营养因子,具有神经保护作用,与神经元生长、迁移、分化和突触可塑性等生理功能密切相关。NRG1 通过激活表皮生长因子受体家族中的 ErbB4,在中枢神经系统的发育中发挥至关重要的作用^[26]。

既往研究表明,PV⁺ 抑制性神经元是调控关键期视皮层可塑性的核心细胞类型^[14]。PV⁺ 抑制性神经元的 NRG1/ErbB4 信号通路对视皮层可塑性的激活至关重要,通过控制 PV⁺ 神经元的兴奋性突触输入,从而在形觉剥夺后控制 PV 神经元介导的皮层抑制,最终调节视皮层的眼优势可塑性^[13,27-28]。Xu 等^[15] 的研究也表明,PV⁺ 抑制性神经元是 NRG1/ErbB4 信号通路在调节 GABA 能传递和锥体神经元活动中的主要细胞靶点。Kuhlman 等^[14] 研究表明,在视觉发育关键期进行 MD 破坏了单个神经元抑制和兴奋的双眼间平衡,导致 PV⁺ 神经元被迅速抑制。本研究发现,与对照组相比,MD 组小鼠形觉剥夺眼对侧 V1 区 PV⁺ 神经元密度显著降低,进一步支持了 PV⁺ 神经元在调控视皮层关键期可塑性中的作用。有趣的是,PV 在视皮层中的表达水平随着发育逐渐升高,至关键期达高峰,且并不随着关键期的结束而降低^[14]。因此,是否是 PV 神经元中的某类细胞发挥了关键的调控作用仍需进一步探讨。Sun 等^[13] 研究发现,PV⁺ 细胞中 NRG1 的峰值约出现在小鼠 P28 时,这与视皮层关键期的高峰期一致,而随着 NRG1 表达的减少,视皮层关键期也逐渐关闭。此外,与大脑其他部位 NRG1 的表达活性调节一致,MD 可快速下调视皮层 PV⁺ 神经元中 NRG1 的表达及其下游信号的转导^[14,29]。Nissl 染色和 TUNEL 染色的结果也表明,激活 NRG1/ErbB4 信号通路对 MD 后视皮层神经元的凋亡有抑制作用^[15]。Sun 等^[13] 研究表明,PV 神经元比其周围的神经元有更集中的 NRG1

表达,而本研究结果发现在关键期 MD 后,仅形觉剥夺眼对侧 V1 区 PV⁺/NRG1⁺ 神经元密度相对于对照组降低,而 PV⁺/NRG1⁻ 神经元密度变化则无统计学意义,进一步说明了其中对视皮层可塑性起主要作用的是 NRG1⁺ 的 PV 神经元,而非 NRG1⁻ 的 PV 神经元。

尽管已有研究证明,视觉发育关键期短暂的 MD 会下调 PV 神经元中 NRG1/ErbB4 信号通路的传导,导致 PV 神经元的兴奋性输入减少,但尚不清楚 NRG1/ErbB4 信号通路介导 PV 神经元功能变化的内在机制,仍需进一步研究。此外,NRG1/ErbB4 信号传导缺陷和 PV 抑制性神经元缺陷也是精神分裂症的危险因素^[26,30],探讨 NRG1 信号在视皮层发育中的作用可能有助于了解视皮层发育和可塑性障碍的机制。

综上所述,本研究观察到在视皮层发育关键期行 MD 后,MD 组小鼠剥夺眼对侧 V1 区的 PV⁺ 和 PV⁺/NRG1⁺ 神经元密度较对照组显著下降,而 PV⁺/NRG1⁻ 神经元密度无明显变化,这提示 NRG1⁺ 的 PV 神经元,而非 NRG1⁻ 的 PV 神经元,是调控关键期 V1 区发育的主要细胞类型。本研究结果对于进一步探索不同 PV 神经元亚群在弱视发生机制中的作用提供了实验基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 叶京京: 酝酿和设计实验、实施研究、采集数据、分析/解释数据、统计分析、起草及修改文章;李新宇: 实施研究、分析/解释数据、统计分析;凌颖: 分析/解释数据、统计分析、起草文章;栾长霖: 实施研究、统计分析、起草文章;史学锋: 酝酿和设计实验、分析/解释数据、指导研究、对文章的知识性内容作批评性审阅及定稿

参考文献

- [1] 中华医学会眼科学分会斜视与小儿眼科学组,中国医师协会眼科医师分会斜视与小儿眼科学组. 中国儿童弱视防治专家共识(2021年)[J]. 中华眼科杂志, 2021, 57(5): 336-340. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112142-20210109-00014. Chinese Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus, Pediatric Ophthalmology and Strabismus Group of Chinese Ophthalmologist Association. Expert consensus on prevention and treatment of amblyopia in children [J]. Chin J Ophthalmol, 2021, 57(5): 336-340. DOI: 10. 3760/cma. j. cn112142-20210109-00014.
- [2] 王珏, 张伟, 史学锋. 视皮层神经元结构可塑性研究进展[J]. 中华实验眼科杂志, 2022, 40(6): 582-587. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-20200415-00263. Wang Y, Zhang W, Shi XF. Research progress on the structural plasticity of neurons in the visual cortex [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2022, 40(6): 582-587. DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-20200415-00263.
- [3] Hao X, Liu Q, Chan J, et al. Binocular visual experience drives the maturation of response variability and reliability in the visual cortex [J/OL]. iScience, 2022, 25(9): 104984 [2024-09-08]. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36105593/. DOI: 10. 1016/j. isci. 2022. 104984.
- [4] Hooks BM, Chen C. Circuitry underlying experience-dependent plasticity in the mouse visual system [J]. Neuron, 2020, 106(1): 21-36. DOI: 10. 1016/j. neuron. 2020. 01. 031.
- [5] Gordon JA, Stryker MP. Experience-dependent plasticity of binocular responses in the primary visual cortex of the mouse [J]. J Neurosci, 1996, 16(10): 3274-3286. DOI: 10. 1523/JNEUROSCI. 16-10-

03274. 1996.
- [6] Thompson B, Concetta Morrone M, Bex P, et al. Harnessing brain plasticity to improve binocular vision in amblyopia: an evidence-based update[J]. *Eur J Ophthalmol*, 2024, 34(4): 901-912. DOI: 10. 1177/11206721231187426.
- [7] Cang J, Fu J, Tanabe S. Neural circuits for binocular vision: ocular dominance, interocular matching, and disparity selectivity[J/OL]. *Front Neural Circuits*, 2023, 17: 1084027 [2024-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36874946/>. DOI: 10. 3389/fncir. 2023. 1084027.
- [8] Levine JN, Chen H, Gu Y, et al. Environmental enrichment rescues binocular matching of orientation preference in the mouse visual cortex[J]. *J Neurosci*, 2017, 37(24): 5822-5833. DOI: 10. 1523/JNEUROSCI. 3534-16. 2017.
- [9] Priya R, Rakela B, Kaneko M, et al. Vesicular GABA transporter is necessary for transplant-induced critical period plasticity in mouse visual cortex[J]. *J Neurosci*, 2019, 39(14): 2635-2648. DOI: 10. 1523/JNEUROSCI. 1253-18. 2019.
- [10] Fagiolini M, Hensch TK. Inhibitory threshold for critical-period activation in primary visual cortex[J]. *Nature*, 2000, 404(6774): 183-186. DOI: 10. 1038/35004582.
- [11] Mukerji A, Byrne KN, Yang E, et al. Visual cortical γ -aminobutyric acid and perceptual suppression in amblyopia[J/OL]. *Front Hum Neurosci*, 2022, 16: 949395 [2024-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36118971/>. DOI: 10. 3389/fnhum. 2022. 949395.
- [12] Hu H, Gan J, Jonas P. Interneurons. Fast-spiking, parvalbumin⁺ GABAergic interneurons: from cellular design to microcircuit function[J/OL]. *Science*, 2014, 345(6196): 1255263 [2024-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25082707/>. DOI: 10. 1126/science. 1255263.
- [13] Sun Y, Ikrar T, Davis MF, et al. Neuregulin-1/ErbB4 signaling regulates visual cortical plasticity[J]. *Neuron*, 2016, 92(1): 160-173. DOI: 10. 1016/j. neuron. 2016. 08. 033.
- [14] Kuhlman SJ, Olivas ND, Tring E, et al. A disinhibitory microcircuit initiates critical-period plasticity in the visual cortex[J]. *Nature*, 2013, 501(7468): 543-546. DOI: 10. 1038/nature12485.
- [15] Xu L, Li Z, Rong J, et al. Effect of regulation of the NRG1/ErbB4 signaling pathway on the visual cortex synaptic plasticity of amblyopic adult rats[J/OL]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2021, 35(9): e22841 [2024-09-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34273906/>. DOI: 10. 1002/jbt. 22841.
- [16] Chan J, Hao X, Liu Q, et al. Closing the critical period is required for the maturation of binocular integration in mouse primary visual cortex[J/OL]. *Front Cell Neurosci*, 2021, 15: 749265 [2024-09-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34899187/>. DOI: 10. 3389/fncel. 2021. 749265.
- [17] Rodarie D, Veraszto C, Roussel Y, et al. A method to estimate the cellular composition of the mouse brain from heterogeneous datasets[J/OL]. *PLoS Comput Biol*, 2022, 18(12): e1010739 [2024-09-11]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36542673/>. DOI: 10. 1371/journal. pcbi. 1010739.
- [18] Znamenskiy P, Kim MH, Muir DR, et al. Functional specificity of recurrent inhibition in visual cortex[J]. *Neuron*, 2024, 112(6): 991-1000. DOI: 10. 1016/j. neuron. 2023. 12. 013.
- [19] Xu X, Roby KD, Callaway EM. Immunohistochemical characterization of inhibitory mouse cortical neurons: three chemically distinct classes of inhibitory cells[J]. *J Comp Neurol*, 2010, 518(3): 389-404. DOI: 10. 1002/cne. 22229.
- [20] Hubel DH, Wiesel TN. Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex[J]. *J Physiol*, 1962, 160(1): 106-154. DOI: 10. 1113/jphysiol. 1962. sp006837.
- [21] Hubel DH, Wiesel TN. The period of susceptibility to the physiological effects of unilateral eye closure in kittens[J]. *J Physiol*, 1970, 206(2): 419-436. DOI: 10. 1113/jphysiol. 1970. sp009022.
- [22] Sigal YM, Bae H, Bogart LJ, et al. Structural maturation of cortical perineuronal nets and their perforating synapses revealed by superresolution imaging[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(14): 7071-7076. DOI: 10. 1073/pnas. 1817222116.
- [23] Frantz MG, Crouse EC, Sokhadze G, et al. Layer 4 gates plasticity in visual cortex independent of a canonical microcircuit[J]. *Curr Biol*, 2020, 30(15): 2962-2973. DOI: 10. 1016/j. cub. 2020. 05. 067.
- [24] Hensch TK, Quinlan EM. Critical periods in amblyopia[J/OL]. *Vis Neurosci*, 2018, 35: E014 [2024-09-13]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29905116/>. DOI: 10. 1017/S0952523817000219.
- [25] Birch EE, Duffy KR. Leveraging neural plasticity for the treatment of amblyopia[J]. *Surv Ophthalmol*, 2024, 69(5): 818-832. DOI: 10. 1016/j. survophthal. 2024. 04. 006.
- [26] Shi L, Bergson CM. Neuregulin 1: an intriguing therapeutic target for neurodevelopmental disorders[J/OL]. *Transl Psychiatry*, 2020, 10(1): 190 [2024-09-13]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32546684/>. DOI: 10. 1038/s41398-020-00868-5.
- [27] Grieco SF, Holmes TC, Xu X. Neuregulin directed molecular mechanisms of visual cortical plasticity[J]. *J Comp Neurol*, 2019, 527(3): 668-678. DOI: 10. 1002/cne. 24414.
- [28] Gu Y, Tran T, Murase S, et al. Neuregulin-dependent regulation of fast-spiking interneuron excitability controls the timing of the critical period[J/OL]. *J Neurosci*, 2016, 36(40): 10285-10295 [2024-09-13]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27707966/>. DOI: 10. 1523/JNEUROSCI. 4242-15. 2016.
- [29] Ozaki M, Itoh K, Miyakawa Y, et al. Protein processing and releases of neuregulin-1 are regulated in an activity-dependent manner[J]. *J Neurochem*, 2004, 91(1): 176-188. DOI: 10. 1111/j. 1471-4159. 2004. 02719. x.
- [30] Zhang XQ, Xu L, Zhu XY, et al. D-serine reconstitutes synaptic and intrinsic inhibitory control of pyramidal neurons in a neurodevelopmental mouse model for schizophrenia[J/OL]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 8255 [2024-09-13]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38086803/>. DOI: 10. 1038/s41467-023-43930-8.

(收稿日期: 2024-09-20 修回日期: 2024-12-30)

(本文编辑: 刘艳 施晓萌)

读者 · 作者 · 编者

本刊对存在科研诚信问题或发表流程中存在严重缺陷稿件的撤稿及其流程

依据中华医学会系列杂志论文发表后撤稿的推荐规范,如发生下列情况本刊将予以撤稿处理:(1)编辑部收到举报并已经证实论文存在较严重的不可信、学术不端或非主观的错误,以至于该论文所报道的发现和结果不可信。(2)论文存在剽窃问题。(3)论文所报道的研究违反医学伦理规范。(4)未被允许的重复发表。(5)在稿件发表流程中存在严重缺陷。上述问题经编辑部严格调查属实后将按照撤稿流程分别在纸质期刊、本刊网站刊登撤稿声明,刊登前编辑部 and 所有作者就撤稿声明的内容达成一致,以保证各方利益。但在无法就撤稿声明的内容与作者达成一致时,如已有充足证据表明必须撤稿,本刊将尽快刊出撤稿声明。撤稿声明对所有读者免费开放,以最大限度地减少该论文发表带来的负面影响。编辑对存在科研诚信问题或发表流程中存在严重缺陷稿件的撤稿拥有最终决定权。

(本刊编辑部)