

· 实验研究 ·

外源性 IGF-2 对单眼形觉剥夺小鼠视皮层可塑性及视觉功能的保护作用

付婧¹ 李雯¹ 刘政海² 王曦琅¹ 刘玉婷¹ 陶利娟¹ 罗瑜琳¹¹湖南省儿童医院眼科 南华大学儿科学院 中南大学湘雅医学院附属儿童医院 湖南省儿童眼病筛查与防治临床医学研究中心,长沙 410007;²南华大学衡阳医学院应用解剖学与生殖医学研究所,衡阳 421001

通信作者:罗瑜琳,Email:luoyulin2000@126.com

【摘要】 目的 探讨胰岛素样生长因子 2 (IGF-2) 对单眼形觉剥夺 (MD) 小鼠视皮层突触后致密蛋白 95 (PSD95)、突触蛋白 1 (SYN1)、突触素 (SYP) 表达和视觉功能的影响。**方法** 选取 64 只 SPF 级 3 周龄雄性昆明小鼠,采用随机数字表法随机分为正常对照组、MD 组、MD+IGF-2 重组蛋白组 (MD+IGF-2 组) 和 MD+氟西汀 (FLX) 组,每组 16 只。其中,MD 组、MD+IGF-2 组、MD+FLX 组在 3 周龄时建立 MD 模型,5 周龄时打开眼睑;MD+IGF-2 组在 MD 期间腹腔注射 IGF-2 重组蛋白,MD+FLX 组在打开眼睑后饮水中添加 FLX 喂养 4 周;正常对照组和 MD 组 3~5 周龄期间每天腹腔注射牛血清白蛋白。5 和 9 周龄时采用前爪触地实验检测各组小鼠主观视功能。9 周龄时采用闪光视觉诱发电位检测小鼠客观视功能;处死小鼠后取各组小鼠左侧视皮层组织,采用 Western blot 法检测 SYP、SYN1、PSD95 蛋白相对表达量。**结果** 5 和 9 周龄时,各组小鼠前爪触地成功率总体比较差异均有统计学意义 ($F=4.83, 3.36$, 均 $P<0.05$)。其中,5 周龄时 MD 组和 MD+FLX 组小鼠前爪触地成功率明显低于正常对照组,MD+IGF-2 组小鼠前爪触地成功率明显高于 MD 组,差异均有统计学意义 (均 $P<0.05$);9 周龄时 MD 组小鼠前爪触地成功率明显低于正常对照组,MD+IGF-2 组和 MD+FLX 组小鼠前爪触地成功率明显高于 MD 组,差异均有统计学意义 (均 $P<0.05$)。各组小鼠 F-VEP 的 P2 波振幅比较差异有统计学意义 ($F=13.99, P<0.01$),其中 MD 组振幅明显低于正常对照组和 MD+IGF-2 组,差异均有统计学意义 (均 $P<0.01$)。各组间小鼠 F-VEP 的 P2 波潜伏期比较差异无统计学意义 ($F=2.83, P=0.07$)。正常对照组、MD 组、MD+IGF-2 组和 MD+FLX 组 PSD95 蛋白相对表达量分别为 1.00 ± 0.41 、 0.32 ± 0.27 、 0.78 ± 0.32 和 0.89 ± 0.65 , SYN1 蛋白相对表达量分别为 1.00 ± 0.10 、 0.68 ± 0.20 、 0.91 ± 0.18 和 0.98 ± 0.28 , SYP 蛋白相对表达量分别为 1.00 ± 0.27 、 0.56 ± 0.28 、 0.94 ± 0.22 和 0.94 ± 0.47 。各组小鼠视皮层突触相关蛋白 PSD95、SYN1 和 SYP 相对表达量总体比较差异均有统计学意义 ($F=4.24, 5.32, 3.40$, 均 $P<0.05$),其中 MD 组 PSD95、SYN1 和 SYP 蛋白相对表达量明显低于正常对照组,MD+IGF-2 组 PSD95、SYN1 和 SYP 蛋白相对表达量明显高于 MD 组,差异均有统计学意义 (均 $P<0.05$)。**结论** 关键期内给予 MD 小鼠外源性 IGF-2 可维持视皮层可塑性,对小鼠的视觉功能具有一定保护作用。

【关键词】 胰岛素样生长因子 2; 弱视; 视皮层; 可塑性; 单眼形觉剥夺**基金项目:** 湖南省自然科学基金面上项目 (2021JJ30392); 湖南省科技厅临床创新引导项目 (2021SK50520)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20250313-00080

Protective effects of exogenous IGF-2 on mouse visual cortex plasticity and visual function after monocular form deprivationFu Jing¹, Li Wen¹, Liu Zhenghai², Wang Xilang¹, Liu Yuting¹, Tao Lijuan¹, Luo Yulin¹¹Department of Ophthalmology, Hunan Children's Hospital, Academy of Pediatrics of University of South China, Children's Hospital Affiliated with Xiangya School of Medicine of Central South University, Hunan Clinical Medical Research Center for Children's Eye Disease Screening and Prevention, Changsha 410007, China; ²Clinical Anatomy and Reproductive Medicine Application Institute, Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang 421001, China

Corresponding author: Luo Yulin, Email: luoyulin2000@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of insulin-like growth factor 2 (IGF-2) on the expression of postsynaptic density protein 95 (PSD95), synaptophysin-1 (SYN1), and synaptophysin (SYP) in the mouse visual cortex and visual function after monocular deprivation (MD). **Methods** Sixty-four SPF male Kunming mice aged 3 weeks were randomly divided into 4 groups: normal control group, MD group, MD+IGF-2 recombinant protein (MD+IGF-2) group, and MD+fluoxetine (FLX) group, with 16 mice in each group. The MD group, MD+IGF-2 group and



MD+FLX group were treated with right eyelid suturing at the beginning of 3 weeks old and eyelid opening at the end of 5 weeks old. The MD+IGF-2 group was intraperitoneally injected with IGF-2 recombinant protein during MD. The MD+FLX group was given fluoxetine via drinking water for 4 weeks after eyelid opening. The normal control group and MD group were injected intraperitoneally with bovine serum albumin every day from 3 to 5 weeks of age. At the end of 5 and 9 weeks of age, subjective visual function was evaluated by fore paw touching ground reflex experiment. At the end of 9 weeks of age, objective visual function was assessed by flash visual evoked potentials. After the mice were sacrificed, the left visual cortex of mice in each group was taken, and the expression of PSD95, SYN1, and SYP was assessed by Western blot. This study was approved by the Ethics Committee of Hunan Children's Hospital (No. HCHDWLL-2022-16). The handling of experimental animals was carried out in accordance with the Guidelines for the Management and Use of Laboratory Animals in Hunan Children's Hospital. **Results** At the end of 5 and 9 weeks of age, there were overall significant differences in the success rate of fore paw touching ground among different groups of mice ($F=4.83, 3.36$; both $P<0.05$). At the end of 5 weeks of age, the success rate was lower in MD group and MD+FLX group than in normal control group, and significantly higher in MD+IGF-2 group than in MD group, with statistically significant differences (all $P<0.05$). At the end of 9 weeks of age, the success rate was lower in MD group than in normal control group, and significantly higher in MD+IGF-2 group and MD+FLX group than in MD group (all $P<0.05$). There was a significant overall difference in P2 wave amplitude in F-VEP examination among different groups of mice ($F=13.99, P<0.01$). The P2 wave amplitude was significantly lower in MD group than in normal control group and MD+IGF-2 group (both $P<0.01$). There was no significant difference in the P2 wave latency of F-VEP among the four groups of mice ($F=2.83, P=0.07$). The relative expression levels of PSD95, SYN1 and SYP proteins were $1.00\pm0.41, 1.00\pm0.10$ and 1.00 ± 0.27 in normal control group, $0.32\pm0.27, 0.68\pm0.20$ and 0.56 ± 0.28 in MD group, $0.78\pm0.32, 0.91\pm0.18$ and 0.94 ± 0.22 in MD+IGF-2 group, $0.89\pm0.65, 0.98\pm0.28$ and 0.94 ± 0.47 in MD+FLX group, respectively. There were significant differences in levels of PSD95, SYN1 and SYP in mice visual cortex among different groups ($F=4.24, 5.32, 3.40$; all $P<0.05$). The expressions of PSD95, SYN1 and SYP proteins in the visual cortex were lower in MD group than in normal control group, and higher in MD+IGF-2 group than in MD group (all $P<0.05$). **Conclusions** Administration of exogenous IGF-2 to mice that underwent MD during the critical period can maintain visual cortex plasticity and protect the visual function to a certain extent.

[Key words] Insulin-like growth factor-2; Amblyopia; Visual cortex; Plasticity; Monocular deprivation

Fund program: Hunan Provincial Natural Science Foundation General Project (2021JJ30392); Clinical Innovation Guidance Project of Hunan Provincial Department of Science and Technology (2021SK50520)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20250313-00080

弱视是异常视觉经验,如形觉剥夺、单眼斜视、高度屈光不正或未矫正屈光参差引起的单眼或双眼最佳矫正视力低于同龄正常儿童视力;或双眼视力相差2行及以上者,视力较差眼为弱视^[1]。本课题组前期研究已证实,视觉发育关键期内正常小鼠视皮层中胰岛素样生长因子2(insulin-like growth factor-2, IGF-2)的表达与关键期起止有一定关联,而单眼形觉剥夺(monocular form deprivation, MD)模型小鼠视皮层中IGF-2表达明显减少^[2],提示IGF-2可能参与视觉发育关键期视皮层可塑性调控,但其潜在分子机制尚不清楚。IGF-2作为调控细胞分化、器官发育的重要分子,既往对其研究主要集中在肿瘤、内分泌疾病等领域,其也在大脑中参与神经发育、学习记忆等过程^[3]。IGF-2是重要的神经营养因子,且能够通过血-脑屏障,有重要的临床治疗基础,但IGF-2是否可对视功能及视皮层可塑性产生影响尚不清楚。本研究在视觉发育关键期对MD模型小鼠补充外源性IGF-2,观察小鼠视功能及视皮层可塑性变化,以探究IGF-2是否作为关键分子参与弱视发生,寻找重新激活视皮层突触联系的干预手段。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选取64只SPF级3周龄雄性昆明小鼠,标准环境下饲养,12 h光照昼夜循环,环境温度(22 ± 2)℃、相对湿度为50%~60%,自由摄食、饮水。所有实验动物均购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司[动物使用许可证号:SYXK(湘)2020-002]。本研究经湖南省儿童医院伦理委员会审核批准(批文号:HCHDWLL-2022-16),实验动物的处理按照《湖南省儿童医院实验室动物管理与使用指导书》实施。

1.1.2 主要试剂及仪器 β -微管蛋白(β -Tubulin)小鼠单克隆抗体(66375-1-Ig)、突触素(synaptophysin, SYP)兔多克隆抗体(17785-1-AP)、突触蛋白1(synaptophysin-1, SYN1)兔多克隆抗体(20285-1-AP)、突触后致密蛋白95(postsynaptic density protein 95, PSD95)兔多克隆抗体(20665-1-AP)、HRP标记羊抗兔抗体(SA00001-2)、HRP标记羊抗小鼠抗体(SA00001-1)(武汉三鹰生物技术有限公司);水合氯

醛(北京国药集团化学试剂有限公司);BCA 蛋白定量试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司);十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)(美国 Sigma 公司);IGF-2 重组蛋白(武汉华美生物工程有限公司)。双垂直转印电泳槽(SH85690,上海琪特分析仪器有限公司);全自动酶标仪(RS-232C,美国 Thermo labsystems 公司);涡旋混合器(D1008E,广东麒麟医用仪器设备);化学发光成像分析系统(Tanon5500,上海天能科技有限公司);7-0 非吸收外科缝线(威海威高富森医用材料有限公司)。

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分为正常对照组、MD 组、MD+IGF-2 重组蛋白组(MD+IGF-2 组)和 MD+氟西汀(floxetine, FLX)组,每组 16 只。其中,MD 组、MD+IGF-2 组和 MD+FLX 组均在 3 周龄缝合右眼上下睑至 5 周龄打开眼睑;MD 组建立模型期间(3~5 周龄)每天腹腔注射牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA);MD+IGF-2 组建立模型期间每天腹腔注射 IGF-2 重组蛋白($1.5 \mu\text{g/kg}$ IGF-2 重组蛋白溶于 0.05 g/ml BSA);MD+FLX 组在模型建立后于饮水中添加 FLX(0.2 mg/ml)至 9 周龄;正常对照组 3~5 周龄期间每天腹腔注射 BSA;各组因麻醉意外或建模失败均各剔除 1 只,所有小鼠均在正常环境下饲养至成年,即 9 周龄。

1.2.2 MD 弱视小鼠模型建立 取 4% 水合氯醛($1 \text{ ml}/100 \text{ g}$)腹腔注射麻醉小鼠,聚维酮碘溶液常规消毒眼睑周围,自内眦到外眦剪除上下眼睑缘 $0.5 \sim 1.0 \text{ mm}$,将上下眼睑缘对合良好后用 7-0 不可吸收丝线缝合。术毕涂抗生素眼膏,术后 1 周内每天检查伤口情况,避免伤口感染及缝线脱落,期间发现伤口感染及缝线脱离的小鼠予以剔除。在标准环境下饲养至 5 周时剪开缝合眼睑,并对小鼠进行闪光视觉诱发电位(flash visual evoked potential, F-VEP)检测,MD 小鼠较正常小鼠 P2 波潜伏期延长、波幅下降提示建模成功。

1.2.3 小鼠前爪触地成功率检测 5 和 9 周龄时,采用前爪触地实验评估小鼠主观视功能,检测方法参照 Drapeau 等^[3]的描述,具体操作流程如下:遮盖小鼠正常眼并提起小鼠至距离台面约 20 cm 的高处后将其缓慢下降,若小鼠的前爪在胡须或鼻子触碰到桌面之前出现前伸探爪样动作,则视为视功能正常,重复 3 次,每次间隔 3 min ,记录每只小鼠前爪触地成功率。该部分检测均由同一实验人员完成,观察与记录均采用盲法。

1.2.4 小鼠 F-VEP 检测 根据 ISCEV 标准化建议^[4],小鼠 9 周龄时用 4% 水合氯醛 $1 \text{ ml}/100 \text{ g}$ 腹腔注射麻醉后向右眼结膜囊滴入复方托吡卡胺滴眼液扩瞳,暗适应 30 min ,采用银针电极分别置于枕骨粗隆、两耳连线与正中中线交点及同侧耳处;小鼠平稳放置于检查台面,正常眼用自制不透光黑布遮盖,调整双眼视轴使角膜缘与地面垂直,采用闪烁光为刺激光,频率 1.0 Hz ,通频带宽 $1 \sim 100 \text{ Hz}$,叠加 60 次,放大 30 倍,记录 P2 波潜伏期及振幅,连续 3 次,取平均值。

1.2.5 Western blot 法检测小鼠视皮层中 PSD95、SYN1 和 SYP 蛋白表达 依据本课题组前期实验方法^[5]并参照《Wistar 小鼠脑立体定位图谱》及小鼠脑三维图谱^[6],断颈法处死 9 周龄各组小鼠后,取左侧视皮层组织(前囟点向后 $2.8 \sim 3.8 \text{ mm}$,从矢状缝旁开 $2 \sim 3 \text{ mm}$,深度 1 mm),提取蛋白,变性后电泳,转移至 PVDF 膜,用含 5% BSA 的 TBST 封闭,用一抗 SYN1 多克隆抗体($1:5000$)、SYP 多克隆抗体($1:10000$)、PSD95 多克隆抗体($1:500$)、 β -Tubulin 单克隆抗体($1:5000$), 4°C 孵育过夜, TBST 洗 3 次,每次 5 min ,使用 HRP 标记羊抗兔 IgG($1:1000$)、HRP 标记羊抗小鼠 IgG($1:1000$)孵育 1 h , TBST 洗 3 次,每次 5 min ,化学发光法检测蛋白表达结果,ImageJ 软件分析各条带灰度值。以 β -Tubulin 为内参,目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白条带灰度值/ β -Tubulin 蛋白条带灰度值。

1.3 统计学方法

采用 Graphpad Prism 6.0 软件进行统计分析。计量资料数据经 Shapiro-Wilk 检验证实符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间各指标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 各组小鼠前爪触地成功率比较

5 周龄时,各组小鼠前爪触地成功率总体比较差异有统计学意义($F = 4.83, P < 0.01$),其中 MD 组和 MD+FLX 组小鼠前爪触地成功率明显低于正常对照组,MD+IGF-2 组小鼠前爪触地成功率明显高于 MD 组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。9 周龄时,各组小鼠前爪触地成功率总体比较差异有统计学意义($F = 3.36, P < 0.05$),其中 MD 组小鼠前爪触地成功率明显低于正常对照组,MD+IGF-2 组和 MD+FLX 组小鼠前爪触地成功率明显高于 MD 组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表 1)。

表 1 各组小鼠前爪触地成功率比较 ($\bar{x}\pm s, \%$)
Table 1 Comparison of the success rate of fore paw touching ground among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	样本量	5 周龄	9 周龄
正常对照组	15	84.47±6.41	86.73±5.44
MD 组	15	55.60±7.07 ^a	59.93±7.46 ^a
MD+IGF-2 组	15	77.80±7.05 ^b	80.07±6.35 ^b
MD+FLX 组	15	53.40±7.87 ^a	84.40±7.21 ^b
F 值		4.83	3.36
P 值		<0.01	0.02

注:与正常对照组比较,^a $P<0.05$;与 MD 组比较,^b $P<0.05$ (单因素方差分析,LSD- t 检验) MD:单眼形觉剥夺;IGF-2:胰岛素样生长因子 2;FLX:氟西汀
Note:Compared with normal control group,^a $P<0.05$;compared with MD group,^b $P<0.05$ (One-way ANOVA, LSD- t test) MD: monocular form deprivation;IGF-2: insulin-like growth factor-2;FLX: fluoxetine

2.2 各组小鼠 P2 波潜伏期和振幅比较

各组小鼠 F-VEP 的 P2 波振幅比较差异有统计学意义($F=13.99, P<0.01$),其中 MD 组振幅明显低于正常对照组和 MD+IGF-2 组,差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。各组间小鼠 F-VEP 的 P2 波潜伏期比较差异无统计学意义($F=2.83, P=0.07$)(图 1,表 2)

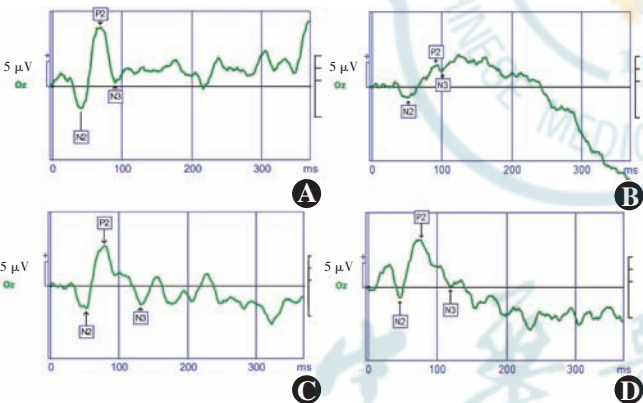


图 1 各组小鼠 F-VEP 的 P2 波潜伏期和振幅比较 A:正常对照组 B:MD 组 C:MD+IGF-2 组 D:MD+FLX 组 F-VEP:闪光视觉诱发电位
Figure 1 Comparison of latency and amplitude of P2 wave of F-VEP among different groups of mice A: Normal control group B: MD group C: MD+IGF-2 group D: MD+FLX group F-VEP: flash visual evoked potential

2.3 各组小鼠 PSD95、SYN1 和 SYP 蛋白表达比较

各组小鼠视皮层突触相关蛋白 PSD95、SYN1 和 SYP 相对表达量总体比较差异均有统计学意义($F=4.24、5.32、3.40$, 均 $P<0.05$),其中 MD 组 PSD95、SYN1 和 SYP 蛋白相对表达量明显低于正常对照组,MD+IGF-2 组 PSD95、SYN1 和 SYP 蛋白相对表达量明显高于 MD 组,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)(图 2,表 3)。

表 2 各组小鼠 F-VEP 的 P2 波潜伏期和振幅比较 ($\bar{x}\pm s$)
Table 2 Comparison of latency and amplitude of P2 wave of F-VEP among different groups of mice ($\bar{x}\pm s$)

组别	样本量	潜伏期 (ms)	振幅 (μV)
正常对照组	15	69.08±1.33	11.11±0.07
MD 组	15	75.46±6.32	5.99±1.15 ^a
MD+IGF-2 组	15	75.71±4.08	9.69±1.15 ^b
MD+FLX 组	15	74.53±3.20	9.68±1.08
F 值		2.83	13.99
P 值		0.07	<0.01

注:与正常对照组比较,^a $P<0.01$;与 MD 组比较,^b $P<0.01$ (单因素方差分析,LSD- t 检验) F-VEP:闪光视觉诱发电位;MD:单眼形觉剥夺;IGF-2:胰岛素样生长因子 2;FLX:氟西汀
Note:Compared with normal control group,^a $P<0.01$;compared with MD group,^b $P<0.01$ (One-way ANOVA, LSD- t test) F-VEP: flash visual evoked potential;MD: monocular form deprivation;IGF-2: insulin-like growth factor-2;FLX: fluoxetine

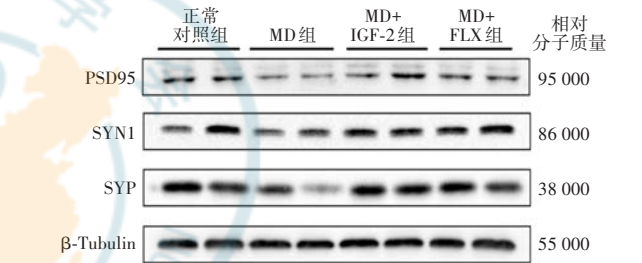


图 2 各组小鼠视皮层组织 PSD95、SYN1 和 SYP 蛋白表达电泳图 PSD95:突触后致密蛋白 95;SYN1:突触蛋白 1;SYP:突触素;β-Tubulin:β-微管蛋白;MD:单眼形觉剥夺;IGF-2:胰岛素样生长因子 2;FLX:氟西汀
Figure 2 Electrophoretogram of PSD95, SYN1 and SYP proteins expressions in mouse visual cortex detected by Western blot PSD95: postsynaptic density protein 95; SYN1: synaptophysin-1; SYP: synaptophysin; MD: monocular form deprivation; IGF-2: insulin-like growth factor-2;FLX: fluoxetine

表 3 各组小鼠视皮层组织 PSD95、SYN1 和 SYP 蛋白相对表达量比较 ($\bar{x}\pm s$)
Table 3 Comparison of the relative expression of PSD95, SYN1 and SYP proteins in the visual cortex among different groups of mice ($\bar{x}\pm s$)

组别	样本量	PSD95	SYN1	SYP
正常对照组	15	1.00±0.41	1.00±0.10	1.00±0.27
MD 组	15	0.32±0.27 ^a	0.68±0.20 ^a	0.56±0.28 ^a
MD+IGF-2 组	15	0.78±0.32 ^b	0.91±0.18 ^b	0.94±0.22 ^b
MD+FLX 组	15	0.89±0.65	0.98±0.28	0.94±0.47
F 值		4.24	5.32	3.40
P 值		0.01	0.04	0.03

注:与正常对照组比较,^a $P<0.05$;与 MD 组比较,^b $P<0.05$ (单因素方差分析,LSD- t 检验) PSD95:突触后致密蛋白 95;SYN1:突触蛋白 1;SYP:突触素;MD:单眼形觉剥夺;IGF-2:胰岛素样生长因子 2;FLX:氟西汀
Note:Compared with normal control group,^a $P<0.05$;compared with MD group,^b $P<0.05$ (One-way ANOVA, LSD- t test) PSD95: postsynaptic density protein 95; SYN1: synaptophysin-1; SYP: synaptophysin; MD: monocular form deprivation; IGF-2: insulin-like growth factor-2;FLX: fluoxetine

3 讨论

哺乳动物出生后,视觉系统能够根据视觉经验调整 and 改变与生俱有的神经联系和突触结构,这种变化能力称为视觉发育可塑性,这一改变发生的最敏感时期称为视觉发育关键期^[7-8]。小鼠出生后 14~42 d 是视觉发育可塑性关键期^[9],在视皮层可塑性关键期内,异常视觉经验,如形觉剥夺会导致弱视的发生,MD 引起的眼优势转移被认为是研究视觉乃至大脑可塑性机制非常有价值的模型^[10]。

传统观念认为,成年哺乳动物中枢神经系统的细胞已不具备增殖和分裂能力,即不能再产生新的神经元,但原有的神经元却保持着修饰其微观结构及形成新突触连接的能力,其受一些细胞内外因子以及外界环境的影响,这种能力是中枢神经系统可塑性的基础。研究发现,减少小鼠体内抑制性神经递质 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 的合成能改善视皮层可塑性^[11]; Maya Vetencourt 等^[12]通过向大鼠腹腔注射 FLX,提高了细胞外间质中 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 的水平,上调 5-HT 介导的信号传导通路,逆转大鼠视皮层区固有的结构与功能,从而激活了大鼠神经元的可塑性;此外,FLX 还可以通过上调海马体中 IGF-2 的表达,对成年神经元具有“去成熟化”作用^[13],提示 IGF-2 可能是调控可塑性的关键因子,因此本研究将 FLX 作为阳性对照。本课题组前期也进行了大量关于成年动物视皮层可塑性再激活机制的研究^[14],先后证实了抑制性髓磷脂蛋白 Nogo-A 的受体 NgR 拮抗剂 NEP1-40 侧脑室注药可重新激活成年大鼠的视皮层结构及功能可塑性,有效改善大鼠客观视功能^[15-16];以及丰富环境可通过 IGF-1 介导信号通路参与成年视皮层可塑性的再激活作用^[17]。国外也有研究发现 IGF-1 在视觉发育及视皮层可塑性方面具有一定作用^[18];IGF-2 在神经系统方面的作用与 IGF-1 具有相似性,不仅参与了细胞生长发育等过程,还在调节神经元可塑性、促进树突棘成熟分化等过程中发挥着重要作用^[19-21]。

本研究在小鼠 3 周龄时建立 MD 弱视模型,在关键期内对 MD 小鼠外源性补充 IGF-2 重组蛋白,并在 9 周龄时通过前爪触地实验和 F-VEP 分别检测 IGF-2 对主观和客观视功能的影响。评估弱视眼视功能的经典方法通常是采用 Morris 水迷宫,本研究在实验条件有限的情况下,参考 Drapeau 等^[3]采用前爪触地实验方法评估主观视功能,同时采用 F-VEP 进一步证实 MD 对视功能的损害。F-VEP 作为一种客观检查手

段,可反映从视网膜神经节细胞至视皮层的视觉传导功能。李兰等^[22]通过 F-VEP 检查来验证 MD 小鼠模型是否成功,主要指标为 N1-P1 波振幅下降。本研究结果显示,模型小鼠前爪触地成功率显著降低,剥夺眼 P2 波潜伏期延长、振幅下降,证实 MD 弱视小鼠模型建立成功。关键期内对 MD 小鼠外源性补充 IGF-2 重组蛋白后,小鼠的前爪触地成功率明显高于 MD 组,同时 F-VEP 检查提示振幅较 MD 组小鼠明显上调。随后提取 9 周龄成熟小鼠左侧视皮层,检测突触相关蛋白表达水平,结果显示 MD 可导致 PSD95、SYN1 和 SYP 表达下调,而外源性补充 IGF-2 可上调视皮层中 PSD95、SYN1 和 SYP 的表达。

IGF 系统属于神经营养因子家族,包括 IGF-1、IGF-2、IGF 受体 (IGF receptor, IGF-R)、IGF 结合蛋白和水解 IGF 结合蛋白的蛋白酶^[23],是动物界高度保守的信号分子之一,因其在神经可塑性、认知和神经保护中的作用以及其穿过血-脑屏障的能力而受到关注^[24-25],IGF-2 在突触前膜末端以自分泌的方式与 IGF2R 或 IGF1R 结合发挥其作用,其中 IGF1R 是一种受体酪氨酸激酶,可调节蛋白质局部翻译,IGF2R 则可通过 G 蛋白发出信号影响钙离子的稳态,而突触前端钙离子的释放是神经传递的重要环节^[26]。此外,IGF-2 也可影响 GABA、乙酰胆碱、谷氨酸等神经递质含量,调节大脑皮层和边缘脑区的突触可塑性^[27]。同时 IGF2R 介导 MEK/ERK 信号通路^[20,28],将各种膜受体的激活与下游转录因子的激活联系起来^[29],加速树突棘和突触形成^[30],恢复由于神经递质,如谷氨酸受体紊乱所造成的突触之间的传递效能降低^[31]。本研究结果显示,MD 可使小鼠视皮层中突触可塑性蛋白明显下调,提示视觉发育关键期内的 MD 可影响神经元之间的突触递质功能传递,这是视功能损害的结构基础,表现在主观及客观视功能均有不同程度受损;而外源性补充 IGF-2 后小鼠视皮层突触可塑性蛋白上调,突触活性增加,改善神经传导,在一定程度上保护了 MD 所致的视功能损伤。

本研究从突触蛋白、行为学、电生理方面证实 IGF-2 对 MD 小鼠视皮层可塑性的保护作用,这可能是由于 IGF-2 激活相关信号通路后使得 SYN1、SYP 和 PSD95 蛋白表达上调,改善突触间的传递效能,或调控神经递质来影响视皮层可塑性,从而在一定程度上保护视觉功能。然而本研究仅探讨了视皮层突触相关蛋白的表达差异,未对树突棘数量与形态以及其他可塑性相关指标进行研究,未来本课题组也将进一步探讨其相关机制,以期为弱视治疗提供新的思路。



利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 付婧:实施研究、分析数据、统计分析、起草文章;李雯:实施研究、采集数据、统计分析;刘政海:设计实验、分析数据;王曦琅、刘玉婷:实施研究、采集数据;陶利娟:设计实验、对文章审阅修改及定稿;罗瑜琳:设计实验、指导实验、分析数据、对文章审阅修改及定稿

参考文献

- [1] 中华医学会眼科学分会斜视与小儿眼科学组. 弱视诊断专家共识 (2011 年) [J]. 中华眼科杂志, 2011, 47(8): 768. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2011. 08. 027.
- [2] Luo Y, Liu Z, Luo S, et al. The developmental and experience-dependent expression of IGF-2 in mice visual cortex [J]. *Neurosci Lett*, 2020, 721: 134828. DOI: 10. 1016/j. neutlet. 2020. 134828.
- [3] Drapeau E, Dorr NP, Elder GA, et al. Absence of strong strain effects in behavioral analyses of Shank3-deficient mice [J]. *Dis Model Mech*, 2014, 7(6): 667-681. DOI: 10. 1242/dmm. 013821.
- [4] Odom JV, Bach M, Brigell M, et al. ISCEV standard for clinical visual evoked potentials: (2016 update) [J]. *Doc Ophthalmol*, 2016, 133(1): 1-9. DOI: 10. 1007/s10633-016-9553-y.
- [5] 涂艳琼, 罗瑜琳, 刘政海, 等. AMPK-SIRT1 通路介导的热量限制对成年单眼剥夺弱视小鼠视皮层可塑性的再激活作用 [J]. 中华实验眼科杂志, 2018, 36(5): 330-336. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2018. 05. 003.
Tu YQ, Luo YL, Liu ZH, et al. Reactivation of visual cortical plasticity by caloric restriction mediated by AMPK-SIRT1 pathway from monocular deprivation in adult mice [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2018, 36(5): 330-336. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2018. 05. 003.
- [6] Wang Q, Ding SL, Li Y, et al. The Allen mouse brain common coordinate framework: a 3D reference atlas [J]. *Cell*, 2020, 181(4): 936-953. DOI: 10. 1016/j. cell. 2020. 04. 007.
- [7] Hensch TK, Quinlan EM. Critical periods in amblyopia [J/OL]. *Vis Neurosci*, 2018, 35: E14 [2025-06-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29905116/>. DOI: 10. 1017/S0952523817000219.
- [8] Yaeger CE, Ringach DL, Trachtenberg JT. Neuromodulatory control of localized dendritic spiking in critical period cortex [J]. *Nature*, 2019, 567(7746): 100-104. DOI: 10. 1038/s41586-019-0963-3.
- [9] Ma Y. Relationship between monocularly deprivation and amblyopia rats and visual system development [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2014, 7(7): 568-571. DOI: 10. 1016/S1995-7645(14)60095-X.
- [10] Wiesel TN, Hubel DH. Single-cell responses in striate cortex of kittens deprived of vision in one eye [J]. *J Neurophysiol*, 1963, 26: 1003-1017. DOI: 10. 1152/jn. 1963. 26. 6. 1003.
- [11] Haraurov A, Spolidoro M, DiCristo G, et al. Reducing intracortical inhibition in the adult visual cortex promotes ocular dominance plasticity [J]. *J Neurosci*, 2010, 30(1): 361-371. DOI: 10. 1523/JNEUROSCI. 2233-09. 2010.
- [12] Maya Vetencourt JF, Sale A, Viegi A, et al. The antidepressant fluoxetine restores plasticity in the adult visual cortex [J]. *Science*, 2008, 320(5874): 385-388. DOI: 10. 1126/science. 1150516.
- [13] Poggini S, Golia MT, Alboni S, et al. Combined fluoxetine and metformin treatment potentiates antidepressant efficacy increasing IGF2 expression in the dorsal hippocampus [J]. *Neural Plast*, 2019, 2019: 4651031. DOI: 10. 1155/2019/4651031.
- [14] 罗瑜琳, 罗俊, 邓姿峰, 等. 早期单眼剥夺对大鼠视网膜中 BDNF 及受体 TrkB 表达的影响 [J]. 国际眼科杂志, 2013, 13(1): 38-41. DOI: 10. 3980/j. issn. 1672-5123. 2013. 01. 07.
Luo YL, Luo J, Deng ZF, et al. Influence of early monocular deprivation on the expression of brain derived neurotrophic factor and TrkB receptor in rats' retina [J]. *Int Eye Sci*, 2013, 13(1): 38-41. DOI: 10. 3980/j. issn. 1672-5123. 2013. 01. 07.
- [15] Luo Y, Wu X, Liu S, et al. Reactivation of visual cortical plasticity by NEP1-40 from early monocular deprivation in adult rats [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 494(3): 196-201. DOI: 10. 1016/j. neutlet. 2011. 03. 011.
- [16] Wu X, Luo Y, Liu S, et al. Experience-dependent expression of Nogo-A and Nogo receptor in the developing rat visual cortex [J]. *Neural Regen Res*, 2012, 7(1): 13-17. DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-5374. 2012. 01. 002.
- [17] 罗瑜琳, 罗诗诗, 刘政海, 等. IGF-1 介导的丰富环境对成年弱视小鼠视皮层可塑性的影响 [J]. 国际眼科杂志, 2020, 20(2): 224-229. DOI: 10. 3980/j. issn. 1672-5123. 2020. 2. 06.
Luo YL, Luo SS, Liu ZH, et al. Effects of IGF-1 mediated enrichment environment on visual cortex plasticity in adult amblyopic mice [J]. *Int Eye Sci*, 2020, 20(2): 224-229. DOI: 10. 3980/j. issn. 1672-5123. 2020. 2. 06.
- [18] Baroncelli L, Cenni MC, Melani R, et al. Early IGF-1 primes visual cortex maturation and accelerates developmental switch between NKCC1 and KCC2 chloride transporters in enriched animals [J]. *Neuropharmacology*, 2017, 113(Pt A): 167-177. DOI: 10. 1016/j. neuropharm. 2016. 02. 034.
- [19] Chen DY, Stern SA, Garcia-Osta A, et al. A critical role for IGF- II in memory consolidation and enhancement [J]. *Nature*, 2011, 469(7331): 491-497. DOI: 10. 1038/nature09667.
- [20] Schmeisser MJ, Baumann B, Johannsen S, et al. IκB kinase/nuclear factor κB-dependent insulin-like growth factor 2 (Igf2) expression regulates synapse formation and spine maturation via Igf2 receptor signaling [J]. *J Neurosci*, 2012, 32(16): 5688-5703. DOI: 10. 1523/JNEUROSCI. 0111-12. 2012.
- [21] Pascual-Lucas M, Viana da Silva S, Di Scala M, et al. Insulin-like growth factor 2 reverses memory and synaptic deficits in APP transgenic mice [J]. *EMBO Mol Med*, 2014, 6(10): 1246-1262. DOI: 10. 15252/emmm. 201404228.
- [22] 李兰, 丁素真, 杨春先, 等. 弱视视觉诱发电位波幅降低提示视皮层突触可塑性受损 [J]. 中国斜视与小儿眼科杂志, 2019, 27(3): 33, 后插 7-7 后插 8, 34. DOI: 10. 3969/J. ISSN. 1005-328X. 2019. 03. 010.
Li L, Ding SZ, Yang CX, et al. Decreased amplitude of visual evoked potential in amblyopia suggests impaired synaptic plasticity in the visual cortex [J]. *Chin J Strab Pediat Ophthalmol*, 2019, 27(3): 33, back cover 7-7 back cover 8, 34. DOI: 10. 3969/J. ISSN. 1005-328X. 2019. 03. 010.
- [23] Werner H, LeRoith D. Insulin and insulin-like growth factor receptors in the brain: physiological and pathological aspects [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2014, 24(12): 1947-1953. DOI: 10. 1016/j. euroneuro. 2014. 01. 020.
- [24] Reinhardt RR, Bondy CA. Insulin-like growth factors cross the blood-brain barrier [J]. *Endocrinology*, 1994, 135(5): 1753-1761. DOI: 10. 1210/endo. 135. 5. 7525251.
- [25] Fernández-Pereira C, Agís-Balboa RC. The insulin-like growth factor family as a potential peripheral biomarker in psychiatric disorders: a systematic review [J]. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(6): 2561. DOI: 10. 3390/ijms26062561.
- [26] Wang CS, Monteggia LM, Kavalali ET. Spatially non-overlapping Ca²⁺ signals drive distinct forms of neurotransmission [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(10): 113201. DOI: 10. 1016/j. celrep. 2023. 113201.
- [27] Mellott TJ, Pender SM, Burke RM, et al. IGF2 ameliorates amyloidosis, increases cholinergic marker expression and raises BMP9 and neurotrophin levels in the hippocampus of the APP^{swe}PS1^{dE9} Alzheimer's disease model mice [J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94287 [2025-06-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24732467/>. DOI: 10. 1371/journal.pone. 0094287.
- [28] Li Y, Chen Y, Gao X, et al. The behavioral deficits and cognitive impairment are correlated with decreased IGF- II and ERK in depressed mice induced by chronic unpredictable stress [J]. *Int J Neurosci*, 2017, 127(12): 1096-1103. DOI: 10. 1080/00207454. 2017. 1337014.
- [29] Aceti M, Creson TK, Vaissiere T, et al. Syngap1 haploinsufficiency damages a postnatal critical period of pyramidal cell structural



maturation linked to cortical circuit assembly [J]. Biol Psychiatry, 2015, 77(9): 805-815. DOI: 10. 1016/j. biopsych. 2014. 08. 001.

[30] Vazquez LE, Chen HJ, Sokolova I, et al. SynGAP regulates spine formation[J]. J Neurosci, 2004, 24(40): 8862-8872. DOI: 10. 1523/JNEUROSCI. 3213-04. 2004.

[31] Clement JP, Aceti M, Creson TK, et al. Pathogenic SYNGAP1 mutations impair cognitive development by disrupting maturation of dendritic spine

synapses [J]. Cell, 2012, 151(4): 709-723. DOI: 10. 1016/j. cell. 2012. 08. 045.

(收稿日期: 2025-07-20 修回日期: 2025-11-04)

(本文编辑: 刘艳 施晓萌)

• 病例报告 •

新型冠状病毒感染相关急性黄斑神经视网膜病变 4 例

吴红云¹ 唐薇¹ 丁小燕² 孙立梅²

¹赣州市人民医院眼科, 赣州 341000; ²中山大学中山眼科中心 眼科学国家重点实验室 广东省眼科视觉科学重点实验室 广东省眼部疾病临床医学研究中心, 广州 510060

通信作者: 孙立梅, Email: sunlimei@gzoc.com

基金项目: 国家自然科学基金(82401282)

Acute macular neuroretinopathy associated with COVID-19 infection: four case reports

Wu Hongyun¹, Tang Wei¹, Ding Xiaoyan², Sun Limei²

¹Department of Ophthalmology, Ganzhou People's Hospital, Ganzhou 341000, China; ²State Key Laboratory of Ophthalmology, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Ophthalmology and Visual Science, Guangdong Provincial Clinical Research Center for Ocular Diseases, Guangzhou 510060, China

Corresponding author: Sun Limei, Email: sunlimei@gzoc.com

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82401282)

DOI: 10. 3760/cma.j. cn115989-20230105-00007

例 1, 患者女, 37 岁, 2022 年 12 月 27 日因双眼视物模糊 1 周于赣州市人民医院眼科就诊。患者 1 周前患新型冠状病毒感染 (coronavirus disease 2019, COVID-19), 严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 型 (severe acute respiratory syndrome coronavirus-2, SARS-CoV-2) 核酸检测呈阳性, 患者高热 2 d (体温最高 39 °C) 后出现 2 d 低热 (体温最高 37.6 °C), 继而出现双眼视物模糊。患者既往体健, 无家族史、外伤史。眼部检查: 右眼、左眼最佳矫正视力 (best corrected visual acuity, BCVA) 分别为 1.0 (-4.00 DS/-0.75 DC×66°)、1.0 (-5.25 DS); 双眼眼压均为 17 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa); 双眼前节检查均未见明显异常; 眼底检查可见双眼视盘边界清晰, 颜色淡红。近红外反射成像 (infrared reflectance, IR) 检查可见双眼黄斑中心凹旁及中心凹边界清晰的楔形或片状低反射病变 (图 1A, B)。光学相干断层扫描 (optical coherence tomography, OCT) 检查显示右眼黄斑区外丛状层-外核层交界处不均匀中高反射伴小囊腔, 相应区域的椭圆体带反射减弱, 嵌合体带中断 (图 1C); 左眼黄斑

区外丛状层-外核层交界破坏, 相应区域的椭圆体带反射减弱, 嵌合体带中断 (图 1D)。OCT 血管成像 (OCT angiography, OCTA) 检查显示双眼视网膜浅层血管分布及密度均未见明显异常 (图 1E, F); 双眼深层毛细血管丛及脉络膜毛细血管层可见与 IR 影像上低反射区域相对应的局部血流信号减弱 (图 1G~J)。临床诊断: 双眼 SARS-CoV-2 感染相关急性黄斑神经视网膜病变 (acute macular neuroretinopathy, AMN); 双眼屈光不正。

例 2, 患者女, 12 岁 7 个月, 2022 年 12 月 27 日因双眼视力下降 3 d 于赣州市人民医院眼科就诊。患儿 3 d 前患 COVID-19 后出现高热 (体温最高 39.6 °C), 1 d 后出现双眼视力急剧下降并持续加重。患儿既往体健, 否认其他眼病史及外伤史。眼部检查: 视力右眼 0.04, 左眼 0.02, 均矫正无助; 眼压右眼 16 mmHg, 左眼 17 mmHg; 双眼前节检查均未见明显异常。IR 检查可见双眼黄斑区累及中心凹的边界清晰的不规则片状低反射病灶 (图 2A, B)。OCT 检查显示, 右眼外丛状层-外核层

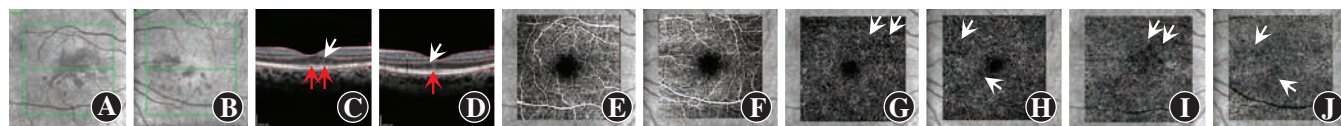


图 1 例 1 患者眼科影像学检查 A, B: IR 显示双眼黄斑区围绕中心凹及累及中心凹的边界清晰的楔形或片状低反射病变 C, D: OCT 显示黄斑区外丛状层-外核层交界处不均匀中高反射伴小囊腔 (白色箭头), 相应区域椭圆体带反射减弱, 嵌合体带中断不连续 (红色箭头); 左眼黄斑区外丛状层-外核层交界破坏 (白色箭头), 相应区域椭圆体带反射减弱, 嵌合体带中断 (红色箭头) E, F: OCTA 显示双眼视网膜浅层血管分布及血管密度均未见明显异常 G, H: 双眼深层毛细血管丛可见与 IR 影像上低反射区域相对应的局部血流信号减弱 (白色箭头) I, J: 双眼脉络膜毛细血管层可见与 IR 影像上低反射区域相对应的局部血流信号减弱 (白色箭头) A、C、E、G、I 为右眼, B、D、F、H、J 为左眼