retinitis pigmentosa[J]. Arch Ophthalmol,2008,126(9):1301 - 1307
32 Papaioannou M,Chakarova CF,Prescott DC,et al. A new locus (RP31) for autosomal dominant retinitis pigmentosa maps to chromosome 9p[J]. Hum Genet,2005,118(3 - 4):501 - 503
33 Zhao C, Lu S, Zhou X, et al. A novel locus (RP33) for autosomal dominant retinitis pigmentosa mapping to chromosomal region 2cen-q12.1 [J]. Hum Genet,2006,119(6):617 - 623
34 Grover S, Fishman GA, Stone EM. A novel IMPDH1 mutation (Arg231Pro) in a family with a severe form of autosomal dominant retinitis pigmentosa[J]. Ophthalmology,2004,111(10):1910 - 1916
35 于永斌,杨洪滨,徐洋,等. 视网膜色素变性一家系与 IMPDH1 基因突变相关[J]. 眼科新进展,2007,27(9):649 - 652
36 Mortimer SE, Hedstrom L. Autosomal dominant retinitis pigmentosa mutations in inosine 5'-monophosphate dehydrogenase type Ⅰ disrupt nucleic acid binding[J]. Biochem J,2005,390(Pt1):41 - 47
37 Bowne SJ,Liu Q,Sullivan LS,et al. Why do mutations in the ubiquitously expressed housekeeping gene IMPDH1 cause retina-specific photoreceptor degeneration[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2006,47(9):3754 - 3765
38 Wang DY, Chan WM, Tam PO, et al. Genetic markers for retinitis pigmentosa[J]. Hong Kong Med J,2005,11(4):281 - 288

(收稿:2009 - 02 - 17 修回:2009 - 10 - 09)

(本文编辑:尹卫靖)

·短篇论著·

蛋白激酶 C 抑制剂 GF109203X 对豚鼠形觉剥夺性近视的影响

毛俊峰 刘双珍 秦文娟 李凤云 谭 浅 吴小影 夏朝华

蛋白激酶 C(protein kinase C,PKC)是一类重要的蛋白质磷酸化激酶,哺乳动物视网膜双极细胞[1-3]、无长突细胞[3-4]、Müller 细胞[1]均表达多种 PKC 亚型。目前尚不清楚 PKC 在近视发生中的作用。本研究将 GF109203X 注入豚鼠玻璃体,研究其对近视形成的影响,报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料 3 周龄三色豚鼠 40 只(中南大学动物部),分为 4 组:对照组、遮盖组、遮盖 + GF109203X 组和遮盖 + 二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO)组,右眼为遮盖眼,每组 10 只。GF109203X(美国 Calbiochem 公司)被溶解于 DMSO;PKC 活性测定试剂盒(美国 Promega 公司);TUNEL 试剂盒(南京凯基生物发展公司)。

1.2 方法 近视模型的制作参见文献[5 - 6]。遮盖前和遮盖第 7 天,向遮盖 + GF109203X 组右眼玻璃体内注射 20 ng GF109203X,共 10 μL,以 DMSO 作为对照。遮盖 14 d 后,检测眼球屈光状态并记录闪光视网膜电图(flash electroretinogram, F-ERG)。参照文献[7],记录 F-ERG 最大反应的 a 波、b 波。按 PKC 活性测定试剂盒测定视网膜 PKC 活性。按 TUNEL 试剂盒检测视网膜凋亡细胞。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 11.0 统计学软件进行分析。各组间比较采用 One-way ANOVA 检验,左眼、右眼间的比较采用 t 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GF109203X 对眼球屈光状态的影响 遮盖 14 d 后,豚鼠遮盖眼眼轴延长,近视形成。玻璃体内注射 20 ng GF109203X 后,遮盖眼眼轴延长减慢、近视度数降低($P<0.05$)。注射 GF109203X 的遮盖眼仍表现 - 1.15 D 的近视,与对照眼比较差异有统计学意义($P<0.05$)。玻璃体内注射 DMSO 对遮盖眼的屈光度和眼轴长度均无影响($P>0.05$)(表 1)。

表 1 GF109203X 对遮盖眼屈光状态的影响($\bar{x}\pm s$,$n=8$)

组别	眼别	角膜曲率(mm)	屈光度(D)	眼轴长度(mm)
对照	右	3.46 ± 0.04	+ 1.23 ± 0.55	8.19 ± 0.05
	左	3.46 ± 0.05	+ 1.28 ± 0.46	8.19 ± 0.03
遮盖	右	3.46 ± 0.05	- 3.86 ± 1.08^{beh}	8.34 ± 0.05^{beh}
	左	3.45 ± 0.06	+ 1.23 ± 0.60	8.20 ± 0.06
GF109203X	右	3.46 ± 0.03	- 1.15 ± 0.52^{be}	8.25 ± 0.04^{be}
	左	3.46 ± 0.04	+ 1.31 ± 0.40	8.19 ± 0.03
DMSO	右	3.47 ± 0.03	- 3.95 ± 1.21^{beh}	8.35 ± 0.04^{beh}
	左	3.46 ± 0.07	+ 1.43 ± 0.50	8.18 ± 0.02
F		0.573	16.827	6.492
P		>0.05	<0.01	<0.01

$^{b}P<0.05$ *vs* 对照组;$^{e}P<0.05$ *vs* 各自的左眼值;$^{h}P<0.05$ *vs* GF109203X 组

2.2 GF109203X 对视网膜 PKC 活性的影响 遮盖14 d后,遮盖眼视网膜 PKC 活性升高,与对照眼比较差异有统计学意义($P<0.05$)。GF109203X 注射后,遮盖眼 PKC 活性降低($P<0.05$)。DMSO 注射对 PKC 活性无影响($P>0.05$)(图 1,表 2)。

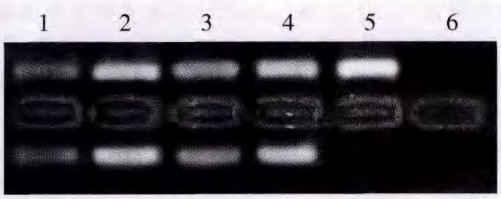

图1 视网膜 PKC 活性测定电泳图 1:对照组 2:遮盖组 3:GF109203X 组 4:DMSO 组 5:阴性对照 6:空白对照

2.3 GF109203X 对视网膜毒性的观察 F-ERG 最大反应可记录到典型的 a 波、b 波。遮盖 14 d 后,遮盖眼 a 波、b 波振幅无明显变化,与对照眼比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。

本课题为国家自然科学基金青年基金(30600694)、湖南省科技厅项目(08SK3101)资助

作者单位:410008 长沙,中南大学湘雅医院眼科
通讯作者:毛俊峰(Email:mao_junfeng@163.com)

表 2　GF109203X 对遮盖眼视网膜 PKC 活性及 ERG a 波、b 波振幅的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	PKC 活性[μmol/(min · L)]	a 波振幅(μV)	b 波振幅(μV)
对照	$0.18 \times 10^{-4} \pm 0.06 \times 10^{-4}$	89.28 ± 12.25	93.44 ± 13.57
遮盖	$0.38 \times 10^{-4} \pm 0.09 \times 10^{-4}$ [be]	90.62 ± 11.35	91.83 ± 11.96
GF109203X	$0.21 \times 10^{-4} \pm 0.05 \times 10^{-4}$	88.73 ± 12.40	95.29 ± 10.13
DMSO	$0.37 \times 10^{-4} \pm 0.07 \times 10^{-4}$ [be]	89.02 ± 12.47	93.64 ± 12.09
F	7.061	0.430	0.526
P	<0.01	>0.05	>0.05

[b] $P < 0.05$ *vs* 对照组；[e] $P < 0.05$ *vs* GF109203X 组

GF109203X、DMSO 注射对 ERG 的 a 波、b 波振幅均无影响($P > 0.05$)(表 2)。TUNEL 染色各组视网膜均未发现凋亡细胞。

3　讨论

眼罩遮盖豚鼠 14 d 能诱导近视的形成，且其视网膜 PKC 活性升高；玻璃体内注射 20 ng GF109203X 能通过降低视网膜 PKC 活性，抑制近视形成，且对视网膜无毒性，表明视网膜 PKC 参与豚鼠近视的发生。

我们前期的研究以 Müller 细胞为目的细胞，发现遮盖诱导的豚鼠近视眼 Müller 细胞 PKC 蛋白表达升高[6]，GF109203X 能调控一些与近视眼发生有关的视网膜因子，如一氧化氮、碱性成纤维细胞生长因子、酪氨酸羟化酶等基因的表达[5]。推测 GF109203X 抑制近视眼形成的机制可能与干预视网膜近视相关因子的表达有关。

本研究发现，20 ng GF109203X 虽能有效抑制豚鼠近视的形成，但并不能完全阻止，分析其可能的原因：(1)近视发生时只有部分视网膜近视信号的传递涉及到 PKC 的激活。(2)GF109203X 未达最大有效剂量。(3)存在除 GF109203X 作用位点之外的其他 PKC 的亚型参与近视的形成。

本研究在豚鼠近视眼的视网膜中未发现凋亡细胞，但既往研究发现鸡近视眼视网膜内核层细胞、外核层细胞有凋亡现象[8]，分析此差别的原因是：鸡形觉剥夺时间为 12 周、近视度数为 −17 ~ −18 D，豚鼠为 2 周、−3 ~ −4 D 的近视，鸡的近视度数明显高于豚鼠，且其眼底有漆裂纹样病变[9]，因此鸡近视眼视网膜凋亡细胞的产生是眼轴过度延长、视网膜营养供应相对缺乏所致，这与人类高度近视视网膜细胞凋亡的现象一致[10]。

参考文献

1 Osborne NN, Wood J, Groome N. The occurrence of three calcium-independent protein kinase C subspecies (delta, epsilon and zeta) in retina of different species[J]. Brain Res, 1994, 637(1-2): 156-162

2 蔡艳，张恩东，王晓晟，等. 大鼠视神经切断后视网膜双极细胞 PKC-α 和 recoverin 的表达[J]. 神经解剖学杂志，2008，24(3)：251-255

3 Fvk-Kolodziei B, Cai W, Pourcho RG. Distribution of protein kinase C isoforms in the cat retina[J]. Vis Neurosci, 2002, 19(5): 549-562

4 Kosaka J, Suzuki A, Morii E, et al. Differential localization and expression of alpha and beta isoenzymes of protein kinase C in the rat retina[J]. J Neurosci Res, 1998, 54(5): 655-663

5 毛俊峰，刘双珍，秦文娟，等. PKC 对豚鼠近视眼视网膜 Müller 细胞近视因子基因的调控作用[J]. 眼科研究，2009，27(2)：86-90

6 毛俊峰，刘双珍，秦文娟，等. 蛋白激酶 C 活性调节剂对豚鼠近视眼视网膜 Müller 细胞的作用及意义[J]. 眼科研究，2009，27(1)：5-9

7 余继锋，马飞，龙潭，等. 正常豚鼠视网膜电图的特点及记录方法[J]. 眼科新进展，2005，25(6)：535-537

8 Mao J, Liu S, Wen D, et al. Basic fibroblast growth factor suppresses retinal neuronal apoptosis in form deprivation myopia in chicks[J]. Curr Eye Res, 2006, 31(11): 983-987

9 毛俊峰，刘双珍，文丹，等. 鸡形觉剥夺性近视眼的眼底病变[J]. 眼科研究，2005，23(1)：15

10 徐格致，李维英，曹安民. 病理性近视眼视网膜中感光细胞的凋亡[J]. 中华眼底病杂志，1996，12：144-146

(收稿：2009-09-19)

(本文编辑：尹卫靖)

清　息

第二届中国眼科学基础研究大会暨研究生导师论坛会议通知(第一轮)

中国工程院医学科学前沿学术研讨会、第二届中国眼科学基础研究大会暨研究生导师论坛(Chinese Congress of Research in Vision and Ophthalmology)将于 2010 年 3 月 25 ~ 28 日在山东省青岛市召开，本次会议由中国工程院医药卫生学部与中华医学会眼科学分会和山东省眼科研究所联合主办，中华医学会眼科学分会青年学组与山东省眼科研究所联手承办。

本届大会的主题是“青春、未来”，届时将邀请多位从事基础医学研究的中国科学院和工程院院士、国内外著名的眼科研究领军人物，结合眼科面临的基本科学问题以及组织工程与干细胞、遗传学、免疫学等学科的最新研究进展，讲述当今基础医学和眼科基础研究的最新成果和发展趋势，展示国内外基础医学研究、眼科基础研究、生物技术和研究生教育等多方面的最新成果。大会还将邀请相关的生物技术公司专家讲述生物医学研究领域的新技术和新方法，为国内眼科基础研究领域的专家及青年学者构建一个崭新的交流平台，并为研究生导师提供一个相互交流和学习的机会。

我们诚邀各位眼科同道汇聚岛城，聆听专家精彩讲座，把握科研动态，研讨眼科科学问题，共同提高学术水平，促进国内眼科学基础研究的发展。

1. 征文要求：凡报送参加大会交流的论文均需要提交中英文对照的论文摘要一份(按照目的、方法、结果、结论的结构式摘要格式规范书写，中文要求 800 字以内)。采用网络投稿方式，登录大会网站 www.cornea.org.cn 递交您的论文摘要。征文截稿日期：2009 年 12 月 31 日。

2. 会务组通讯地址：山东省青岛市燕儿岛路 5 号，266071，联系人：王茜　刘波；电话：0532-85898319；传真：0532-85891110；Email：ccrvo2010@yahoo.cn

(第二届中国眼科学基础研究大会组委会)