

两个豚鼠品系眼球生物学特性比较及视网膜 近视相关机制研究

陈雁虹, 卫振, 艾志鹏, 刘迪文*

(浙江大学实验动物中心, 杭州 310058)

【摘要】 目的 比较 Zmu-1:DHP 与 DHP 两品系豚鼠眼球相关生物学特性,并初步探索 Zmu-1:DHP 豚鼠自发性近视产生的视网膜相关机制。**方法** 通过对 Zmu-1:DHP 近交系豚鼠和 DHP 豚鼠屈光度、角膜曲率与眼轴长度的测定,进行两品系眼球相关生物学特性比较,并对筛选出的自发性近视 Zmu-1:DHP 豚鼠和 DHP 豚鼠进行视网膜组织结构观察和视网膜信号因子 mRNA 的表达测定。**结果** 3 周龄时,Zmu-1:DHP 豚鼠近视率 90.21%,DHP 豚鼠近视率 18.00%;4~12 周,随周龄增长,Zmu-1:DHP 豚鼠左右眼近视度数与眼轴长度大于 DHP 豚鼠,角膜曲率小于 DHP 豚鼠,两者比较差异有显著性($P < 0.01$)。视网膜组织结构观察显示,Zmu-1:DHP 豚鼠较 DHP 豚鼠视网膜外层薄,细胞体积小,分布数目少,脉络膜萎缩变薄,色素上皮细胞层未见明显色素颗粒,而 DHP 豚鼠色素上皮细胞层内分布有大量棕黄色色素颗粒。PCR 结果显示,Zmu-1:DHP 豚鼠酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)表达降低($P < 0.01$),酪氨酸激酶(tyrosine kinases, TK)表达增强($P < 0.01$),诱导型 NO 合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、神经型 NO 合成酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast cell growth factor, bFGF)和转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF β)的表达增强($P < 0.05$),视黄醛脱氢酶(retinal dehydrogenase, RALDH)和醛脱氢酶(aldehyde dehydrogenase, ALDH)虽然表达增强,但差异无显著性。**结论** Zmu-1:DHP 豚鼠自发性近视高发,为轴性近视,其分子机制与视网膜近视信号因子的调控有关。

【关键词】 豚鼠;屈光度;视网膜;近视因子

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2018) 02-0201-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.02.010

Comparison of biological characteristics related to eyeballs between two strains of guinea pigs and the retinal mechanism of myopia

CHEN Yanhong, WEI Zhen, AI Zhipeng, LIU Diwen*

(Zhejiang University Laboratory Animal Center, Hangzhou 310058, China)

Corresponding author: LIU Diwen. E-mail: liudiwen2004@163.com

【Abstract】 Objective To compare the biological characteristics of eyeballs between Zmu-1:DHP and DHP guinea pigs, and to explore the retinal mechanism of myopia in Zmu-1:DHP guinea pigs. **Methods** To measure the refraction, corneal curvature and axial length of the two guinea pig strains at age of 4–12 weeks. Those spontaneous myopic Zmu-1:DHP guinea pigs were chosen to take the retina for pathological examination. The pathological changes in the retina were determined and compared with the DHP guinea pigs. The expression of RALDH, ALDH, TH, TK, iNOS, nNOS, bFGF and TGF β mRNA in the retina were detected by real time-PCR. **Results** The myopic rate of 3-week old Zmu-1:DHP guinea pigs was 90.21%, while of the DHP guinea pig was only 18.00%. From 4 to 12 weeks, compared with the

[基金项目] 浙江省实验动物科技计划项目(No. 2014C37001)。

Funded by Experimental Animal Science and Technology Project of Zhejiang Province(No. 2014C37001)。

[作者简介] 陈雁虹(1982—),女,硕士。研究方向,实验动物模型与动物实验。

[通信作者] 刘迪文,研究员。研究方向,实验动物学。Email:liudiwen2004@163.com

DHP guinea pigs, myopia and axial length of the Zmu-1:DHP guinea pigs were significantly increased ($P < 0.01$), and the corneal curvature of Zmu-1:DHP guinea pigs was significantly less than the DHP guinea pigs ($P < 0.01$). The retina outer nuclear layer of Zmu-1:DHP guinea pigs was reduced in thickness, the cell volume was smaller, and the cell number was less compared with the DHP guinea pigs. The choroid of Zmu-1:DHP guinea pigs showed atrophy and became thinner. There were few pigment granules in the pigment epithelium of Zmu-1:DHP guinea pigs, while there were plenty of pigment granules in the DHP guinea pigs. Compared with the DHP guinea pigs, the expression of TH mRNA was significantly down-regulated in the retina of Zmu-1:DHP guinea pigs ($P < 0.01$), and the expression of TK, iNOS, nNOS, bFGF and TGF β was significantly down-regulated ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.05$). **Conclusions** Zmu-1:DHP strain guinea pig has a high rate of spontaneous axial myopia. The retinal mechanism of myopia has a relationship with the regulation of several myopia factors.

【Key words】 guinea pig; refraction; retina; myopia factors

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

近视是指眼在不使用调节时,平行光线通过眼的屈光系统屈折后,焦点落在视网膜之前的一种屈光状态。在亚洲进行的近视流行病学调查结果显示中国人近视率普遍高于白色人种^[1],尤其是中国大陆、中国台湾、中国香港和新加坡青少年的近视发病率高于世界其他地区。针对近视患病率急剧升高的现状,科学家们已陆续开展对近视病因和发病机制的研究。20 世纪 70 年代近视动物模型的建立,为近视研究开辟了一条新的途径,一些无法在人类身上进行的研究可以通过动物模型来实现。合适的近视动物模型将直接决定实验研究是否成功和实验结果是否准确。

豚鼠因其出生后即开眼,眼球的发育过程与人类相似,视力优于大小鼠,温顺配合好,易获得测量数据等优势,而成为目前最常用于近视疾病模型研究的实验动物。Zmu-1:DHP 豚鼠是浙江大学实验动物中心经过近二十年悉心培育获得的近交系品系^[2],在该品系豚鼠用于眼科实验的过程中发现,该纯白色豚鼠品系与 DHP 豚鼠品系相比,具有易自发性近视的特点^[3-4]。因此,作者选择将 Zmu-1:DHP 和 DHP 两个豚鼠品系进行眼球相关生物学特性比较,并对视网膜近视相关机制展开研究。

视黄酸(retinoic acid, RA)能够在视网膜细胞内合成,是影响巩膜发育、光感受器细胞分化、成熟的重要信使分子^[5],视黄醛脱氢酶(retinal dehydrogenase, RALDH)和醛脱氢酶(aldehyde dehydrogenase, ALDH)是 RA 合成酶^[6]。而酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)、酪氨酸激酶(tyrosine kinases, TK)、诱导型 NO 合成酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)、神经型 NO 合成酶(neuronal nitric oxide synthase, nNOS)、碱性成纤维

细胞生长因子(basic fibroblast cell growth factor, bFGF)和转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF β)是已知参与调控近视发生发展的视网膜信号因子^[7],通过对这些因子 mRNA 的表达检测,研究 Zmu-1:DHP 易自发性近视的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

3 周龄清洁级 Zmu-1:DHP 豚鼠 327 只和 DHP 豚鼠 100 只,体重 140 ~ 180 g,由浙江大学实验动物中心提供【SCXK(浙)2012-0052】,动物饲养在浙江大学实验动物中心清洁级屏障【SYXK(浙)2012-0178】。动物实验方案经浙江大学实验动物福利伦理审查委员会审查通过【ZJU2015-496-04】。

1.1.2 试剂与仪器

动物组织 RNA 提取和实时荧光定量试剂盒购自 TaKaRa 公司;引物由赛默飞世尔科技(中国)有限公司合成;眼球固定液由浙江大学医学院公共技术平台提供。

红外偏心摄影验光仪(eccentric infrared photoretinoscope, EIR),实验室自行搭建;角膜曲率计(OM. 4, Topcon, Japan),实验室改良;A 超测定仪(AVISO Echograph Class I-Type Bat, Quantel Medical, Clermont-Ferrand, France);脱水机(ASP300S, Leica, Germany),切片机(RM2235, Leica, Germany),摊烤片机(TEC-2500, Hestion),包埋机(EC350-1, Microm, Germany);倒置显微镜(U-25ND6, Olympus, Japan);CFX Connect 实时荧光定量 PCR 仪(Bio-Rad, USA)。

1.2 方法

1.2.1 屈光度、角膜曲率与眼轴长度的测定^[8]

豚鼠置于暗室检测台上,将待测眼对准验光仪的光源,调整豚鼠位置使 Purkinje 影像位于眼球瞳孔中央,待瞳孔和屈光状态稳定时,记录屈光值。每次连续测量三次,取平均值。

由助手固定豚鼠,操作改良角膜曲率计,使光标清晰并呈正圆形,然后调整曲率计进行读数。每只眼连续测量 3 次,记录水平子午线的角膜曲率度数,测量时间控制在 5 min 内。豚鼠眼睛滴入一滴 0.5% 盐酸丙美卡因滴眼液(Alcon, Puurs, Belgium),使用 A 超探头测量眼轴长度。

327 只 Zmu-1:DHP 豚鼠和 100 只 DHP 豚鼠 3 周龄时通过屈光度测定,统计自发性近视发生率,并从筛选出的 295 只自发性近视 Zmu-1:DHP 豚鼠与 100 只 DHP 豚鼠中随机选取各 12 只豚鼠分别在 4、6、8、10、12 周时进行屈光度、角膜曲率与眼轴长

度的连续测定。

1.2.2 视网膜组织结构的观察

12 周时,处死 Zmu-1:DHP 豚鼠和 DHP 豚鼠各 6 只,取出一侧眼球,固定于眼球固定液中,进行常规病理取材、制片和 HE 染色,显微镜下进行组织结构观察。

1.2.3 实时 PCR 检测视网膜信号因子 mRNA 的表达

12 周时,处死 Zmu-1:DHP 豚鼠和 DHP 豚鼠各 6 只,豚鼠视网膜剥离后,按照说明书提取视网膜总 RNA,逆转录获得 cDNA,在实时 PCR 专用 96 孔板中配制标准反应体系,进行 SYBR Green I 实时荧光定量 PCR 扩增,95℃ 孵育 3 min,95℃ 10 s,60℃ 32 s,40 个循环,融解曲线分析:95℃ 10 s,65℃ 5 s。各引物序列见表 1。用基因相对定量法($2^{-\Delta\Delta Ct}$)计算目的基因相对表达。

表 1 视网膜近视因子的 PCR 引物

Tab.1 PCR primers of the myopia factors in retina		
引物 Primers	序列 Sequences	长度 Length (bp)
TH	Forward:5'-GGCCCTTGCCTGGAATACTT-3'	276
	Reverse: 5'-ACCGTGCTTGTACTGGAAGG-3'	
TK	Forward:5'-TTCGAAGCCACATACGACC-3'	268
	Reverse: 5'-AGTATTGTCCAGCAAGGAGC-3'	
iNOS	Forward:5'-AAGACTAAGAACCCCCACTGC-3'	321
	Reverse: 5'-AACCTTCTTGGCAGTCCCTG-3'	
nNOS	Forward:5'-CGGATCGGTCCTGCATATT-3'	614
	Reverse: 5'-GCTGACCCGTTCCTTTACCA-3'	
bFGF	Forward:5'-AGGAGTGAAGTGGGGAGTGA-3'	423
	Reverse: 5'-AGTGCCACATACCAACTGGAG-3'	
TGFβ	Forward:5'-AACCCGAGCCGGACTACTAT-3'	431
	Reverse: 5'-GGGACCGATCCCGTTGATTT-3'	
RALDH	Forward:5'-ACATGTGACCCCCAAATCCT-3'	223
	Reverse: 5'-GGACGTCGTAAGTGCTGGAA-3'	
ALDH	Forward:5'-CCCCTGGAGTGGTGAATGTC-3'	236
	Reverse: 5'-TTCATGACATGGTCCACGG-3'	
β-actin	Forward:5'-ATCACTGCCACCCAGAAGAC-3'	800
	Reverse: 5'-TCCACAACCGACACATTAGG-3'	

1.3 统计学分析

实验结果数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SPSS 16.0 统计软件进行分析,组间比较采用 *t* 检验。 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两个豚鼠品系 3 周龄屈光度比较

3 周龄时,327 例 Zmu-1:DHP 豚鼠左、右眼屈光度平均值分别为 -4.24 和 -6.27,以屈光度小于 -0.25 D 作为近视的标准,近视率达到 90.21%,较 DHP 豚鼠左右眼屈光度平均值 3.84 和 1.78,差异有显著性($P < 0.01$),见表 2。

2.2 两个豚鼠品系 4~12 周屈光度、角膜曲率与眼轴长度变化比较

4~12 周,Zmu-1:DHP 豚鼠随周龄增长,左右眼近视度数均不断加深,而 DHP 豚鼠双眼均未近视,两品系间屈光度比较有显著性差异($P < 0.01$)。两个豚鼠品系左右眼的角膜曲率均随周龄增长而逐渐增大,但 Zmu-1:DHP 豚鼠较 DHP 豚鼠增长幅度较小,前者左眼第 10、12 周,右眼第 12 周角膜曲率明显小于后者($P < 0.01$)。4~12 周,Zmu-1:DHP 豚鼠眼轴长度从 8.4 mm 增长至约 9.3 mm,DHP 豚鼠眼轴长度从 8.1 mm 增长至约 8.8 mm,前者眼轴长度大于后者,差异有显著性($P < 0.01$)。见表 3。

表 2 Zmu-1 ;DHP 和 DHP 豚鼠 3 周龄屈光度比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of refraction between the Zmu-1 ;DHP and DHP guinea pigs at the age of three weeks($\bar{x} \pm s$)				
品系 Strains	样本数 No.	屈光度(D) Refraction		近视(%) Myopia(%)
		L	R	
Zmu-1 ;DHP	327	-4. 24 ± 4. 74 **	-6. 27 ± 3. 32 **	90. 21
DHP	100	3. 84 ± 3. 49	1. 78 ± 3. 34	18. 00

注;L 表示左眼,R 表示右眼,** 表示与 DHP 比较差异有显著性($P < 0. 01$)。
Note. Symbol L means the left eye, R means the right eye; ** $P < 0. 01$, compared with DHP guinea pigs.

表 3 Zmu-1 ;DHP 和 DHP 豚鼠 4 ~ 12 周屈光度、角膜曲率、眼轴长度变化比较($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Tab. 3 Changes of refraction, corneal curvature and axial length at 4 – 12 weeks of age in the Zmu-1 ;DHP and DHP guinea pigs($\bar{x} \pm s, n = 12$)						
品系 Strains	4 周 4 weeks	6 周 6 weeks	8 周 8 weeks	10 周 10 weeks	12 周 12 weeks	
屈光度(D) Refraction						
Zmu-1 ;DHP	L	- 7. 66 $\pm$ 4. 11 **	- 9. 65 $\pm$ 5. 55 **	- 11. 88 $\pm$ 6. 86 **	- 12. 84 $\pm$ 7. 58 **	- 13. 67 $\pm$ 9. 05 **
	R	- 9. 01 $\pm$ 3. 89 **	- 10. 51 $\pm$ 5. 38 **	- 11. 87 $\pm$ 6. 71 **	- 12. 88 $\pm$ 7. 54 **	- 13. 88 $\pm$ 7. 90 **
DHP	L	4. 64 $\pm$ 2. 01	4. 88 $\pm$ 1. 27	4. 00 $\pm$ 1. 02	4. 39 $\pm$ 0. 88	3. 71 $\pm$ 1. 37
	R	2. 47 $\pm$ 1. 41	2. 66 $\pm$ 1. 85	2. 88 $\pm$ 1. 44	3. 07 $\pm$ 1. 54	3. 23 $\pm$ 1. 33
角膜曲率(mm) Corneal curvature						
Zmu - 1 ;DHP	L	3. 45 $\pm$ 0. 08	3. 57 $\pm$ 0. 07	3. 66 $\pm$ 0. 08	3. 69 $\pm$ 0. 07 **	3. 76 $\pm$ 0. 08 **
	R	3. 45 $\pm$ 0. 08	3. 56 $\pm$ 0. 08	3. 65 $\pm$ 0. 08	3. 68 $\pm$ 0. 08	3. 77 $\pm$ 0. 08 **
DHP	L	3. 50 $\pm$ 0. 07	3. 58 $\pm$ 0. 07	3. 71 $\pm$ 0. 08	3. 78 $\pm$ 0. 09	3. 88 $\pm$ 0. 07
	R	3. 49 $\pm$ 0. 07	3. 56 $\pm$ 0. 07	3. 70 $\pm$ 0. 08	3. 77 $\pm$ 0. 09	3. 87 $\pm$ 0. 07
眼轴长度(mm) Axial length						
Zmu - 1 ;DHP	L	8. 42 $\pm$ 0. 17 **	8. 71 $\pm$ 0. 22 **	8. 92 $\pm$ 0. 20 **	9. 00 $\pm$ 0. 25 **	9. 26 $\pm$ 0. 31 **
	R	8. 47 $\pm$ 0. 17 **	8. 75 $\pm$ 0. 20 **	8. 99 $\pm$ 0. 17 **	9. 15 $\pm$ 0. 22 **	9. 33 $\pm$ 0. 28 **
DHP	L	8. 11 $\pm$ 0. 09	8. 27 $\pm$ 0. 08	8. 49 $\pm$ 0. 10	8. 66 $\pm$ 0. 07	8. 76 $\pm$ 0. 12
	R	8. 13 $\pm$ 0. 10	8. 30 $\pm$ 0. 11	8. 49 $\pm$ 0. 09	8. 68 $\pm$ 0. 06	8. 77 $\pm$ 0. 08

注;L 表示左眼,R 表示右眼,** 表示与 DHP 比较差异有显著性($P < 0. 01$)。
Note. Symbol L means the left eye, R means the right eye; ** $P < 0. 01$, compared with the DHP guinea pigs.

2.3 两个豚鼠品系视网膜组织结构比较

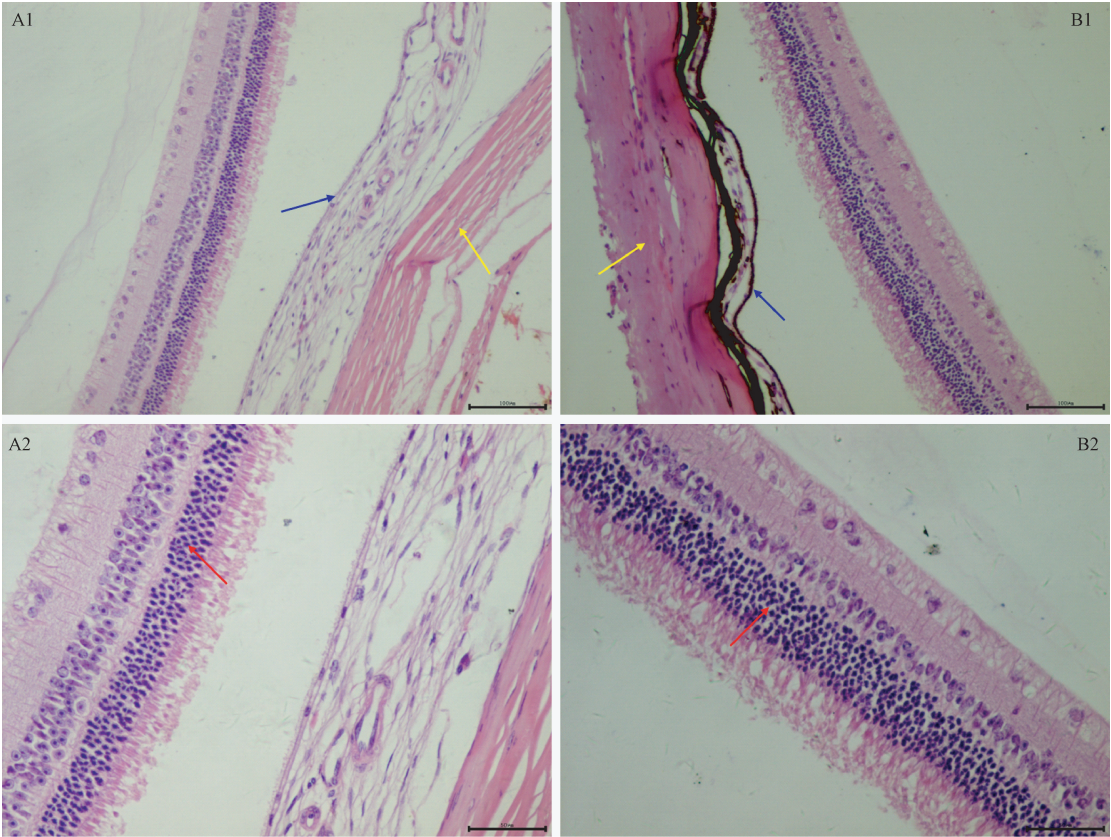
显微镜观察结果见图 1。视网膜分为视神经纤维层、神经节细胞层、内丛状层、内核层、外丛状层、外核层、视杆与视锥层、色素上皮层。由图可见,两品系的视网膜分层清晰可见,Zmu-1 ;DHP 豚鼠视网膜内核层较厚,外核层较薄,外核层细胞体积小,分布数目少;DHP 豚鼠视网膜内核层较薄,而外核层较厚,外核层细胞体积大,分布数目较多(红色箭头示)。Zmu-1 ;DHP 豚鼠色素上皮细胞层未见明显色素颗粒,而 DHP 豚鼠色素上皮细胞层内分布有大量棕黄色色素颗粒(蓝色箭头示)。同时 Zmu-1 ;DHP 豚鼠脉络膜较 DHP 豚鼠萎缩变薄(黄色箭头示)。

2.4 两个豚鼠品系视网膜信号因子 mRNA 表达差异

与 DHP 豚鼠比较,Zmu-1 ;DHP 豚鼠视网膜 TH 的表达明显降低($P < 0. 01$),TK 的表达显著增强($P < 0. 01$),iNOS、nNOS、bFGF 和 TGFβ 的表达明显增强($P < 0. 05$),而 RALDH 和 ALDH 虽然表达增强,但差异无显著性。见图 2。

3 讨论

通常,在正常视觉环境下,大多数幼年动物的双眼均朝正视化方向发展,如普通 DHP 豚鼠,出生时呈远视状态,随年龄增长,屈光状态逐渐调整,最终完成正视化过程。但达到正视化并非屈光度数为零,而是仍有一定的远视,这可能是豚鼠适应环境的一种表现。Zmu-1 ;DHP 豚鼠却正好相反,出生时大部分呈近视状态,近视自发率达到 90. 21%,之后随年龄增加,近视不断加深,不能完成正视化过程。根据对 Zmu-1 ;DHP 豚鼠眼轴长度测量结果的分析,可以推测,该品系的近视是由于眼球前后径生长过快引起的轴性近视。光镜下观察视网膜组织切片,Zmu-1 ;DHP 豚鼠脉络膜萎缩变,使得玻璃体腔深度增加,眼轴变长,视网膜成像焦点落后,从而导致近视,为上述推测提供了依据。人类近视的主要致病原因是遗传和环境^[9],其中一种轴性近视即由于眼轴增长,脉络膜变薄而形成。Zmu-1 ;DHP 豚鼠的自发性近视与人类的轴性近视极为相似,可以作为实验动物模型应用于人类近视机制的研究。

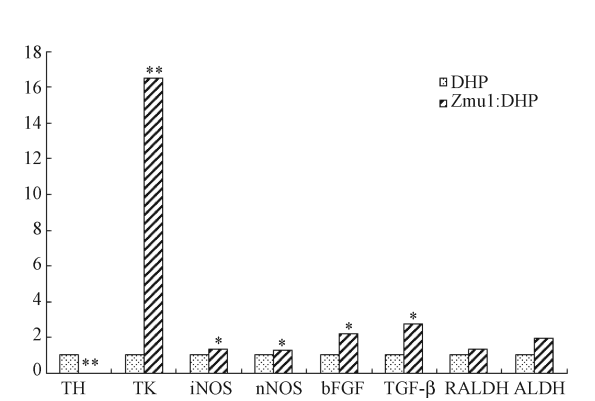


注:A; Zmu-1;DHP 豚鼠;B; DHP 豚鼠(1. HE 染色, ×100; 2. HE 染色, ×200)。红色箭头示视网膜外核层,蓝色箭头示色素上皮细胞层,黄色箭头示脉络膜。

图 1 Zmu-1;DHP 和 DHP 豚鼠视网膜组织结构比较

Note. A; Zmu-1;DHP guinea pigs; B; DHP guinea pigs (1. HE staining, ×100; 2. HE staining, ×200). The red arrow refers to retinal outer nuclear layer, the blue arrow refers to pigment epithelium, the yellow arrow refers to choroid.

Fig. 1 Histological structure of the retina of the Zmu-1;DHP and DHP guinea pigs



注: * 表示与 DHP 比较差异有显著性 ($P < 0.05$), ** 表示与 DHP 比较差异有显著性 ($P < 0.01$)。

图 2 Zmu-1;DHP 和 DHP 豚鼠视网膜信号因子 mRNA 的表达差异

Note. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with the DHP guinea pigs.

Fig. 2 Myopia factors mRNA expression in the retina of Zmu-1;DHP and DHP guinea pigs

在近视的发生发展中,已知受到多种近视因子影响,而视网膜作为感知视觉的组织在其中起到了重要的作用。目前较为公认的机制是在视网膜调控下,巩膜基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase 2,MMP-2)与其抑制因子组织金属蛋白酶抑制剂 2(tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 2,TIMP-2)二者表达失衡,巩膜主动重塑,引起眼轴过度延长。

本文通过对两个豚鼠品系视网膜信号因子 RALDH、ALDH、TH、TK、iNOS、nNOS、bFGF、TGFβ 的 mRNA 表达检测,发现,Zmu-1;DHP 豚鼠 RALDH、ALDH 表达增强,可能导致视网膜合成 RA 增加,从而引起 MMP-2/TIMP-2 表达失衡,促使巩膜细胞外基质重塑;同时 TH 表达降低,TH 是多巴胺(dopamine,DA)的合成酶,DA 是黑色素合成的前体,其表达降低使得 DA 合成减少,含量下降,视网膜黑色素缺乏,导致进入眼内的光线增加,散射增多,视网膜成像质量下降,从而进一步引起视网膜

合成、分泌其它信号因子,如 TK、iNOS、nNOS、bFGF、TGF β ,这些信号因子共同作用,使得 Zmu-1:DHP 豚鼠形成自发性近视。

综上所述,Zmu-1:DHP 豚鼠可以为眼科学科研工作者研究近视相关病理、生理变化过程及机制提供一个遗传背景清楚,近视发病率高,近视状态稳定的疾病动物模型选择,其自发性近视更多机制有待后续更进一步的研究。

参 考 文 献(References)

- [1] Seet B, Wong TY, Tan DT, et al. Myopia in Singapore: taking a public health approach [J]. *Brit J Ophthalmol*, 2001, 85(5): 521–526.
- [2] 刘迪文, 谢敏, 陈雁虹, 等. Zmu-1:DHP 近交系豚鼠的培育及其分子遗传结构初步鉴定 [J]. *中国实验动物学报*, 2017, 25(1): 90–96.
- Liu DW, Xie M, Chen YH, et al. Breeding of Zmu-1:DHP inbred strain guinea pig and preliminary analysis of molecular genetic structure of the strain [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2017, 25(1): 90–96.
- [3] Jiang L, Schaeffel F, Zhou X, et al. Spontaneous axial myopia and emmetropization in a strain of wild-type guinea pig (*Cavia porcellus*) [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009, 50(3): 1013–1019.
- [4] Jiang L, Long K, Schaeffel F, et al. Disruption of emmetropization and high susceptibility to deprivation myopia in

albino guinea pigs [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011, 52(9): 6124–6132.

- [5] Wang S, Liu S, Mao J, et al. Effect of retinoic acid on the tight junctions of the retinal pigment epithelium-choroid complex of guinea pigs with lens-induced myopia in vivo [J]. *Int J Mol Med*. 2014, 33(4): 825–832.
- [6] Rada JA, Hollaway LR, Lam W, et al. Identification of RALDH2 as a visually regulated retinoic acid synthesizing enzyme in the chick choroid [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012, 53(3): 1649–1662.
- [7] 毛俊峰, 刘双珍, 秦文娟, 等. PKC 对豚鼠近视视网膜 Müller 细胞近视因子基因的调控作用 [J]. *眼科研究*, 2009, 27(2): 86–90.
- Mao JF, Liu SZ, Qin WJ, et al. The modulation effects of PKC on gene expression of myopic factors in retinal Müller cells in myopic eye of guinea pig [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2009, 27(2): 86–90.
- [8] 卫振, 张森, 蒋丽琴, 等. 两品系豚鼠屈光状态和眼球径的发展和比较 [J]. *实验动物学报*, 2016, 24(1): 92–96.
- Wei Z, Zhang S, Jiang LQ, et al. Comparison of the refractive development and ocular growth between two strains of guinea pigs [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2016, 24(1): 92–96.
- [9] Sun J, Zhou J, Zhao P, et al. High prevalence of myopia and high myopia in 5060 Chinese university students in Shanghai [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012, 53(12): 7504–7509.

[收稿日期] 2017–10–21

《中国实验动物学报》 撰写研究性论文要求 5 – 关键词

从论文中提取的,表示论文主题内容信息条目的词组或术语,一般为 3~8 个。第 1 个关键词为该文研究内容所属二级学科名称或主要研究对象;第 2 个关键词为该文研究得到的成果,第 3 个关键词为得到成果或结论时采用的研究方法,第 4~8 个关键词为作者认为有利于检索和文献利用的其他关键词。

请注意中英文关键词的对应性。可以登录全国科学技术名词网站:<http://www.cnctst.cn/>核实。