

# 先天性白内障小鼠视网膜发育过程中 *Acin1* 表达的变化

李德卫, 姜涛, 仝晓燕, 王晓川, 王双双

作者单位: (266003) 中国山东省青岛市, 青岛大学附属医院眼科  
作者简介: 李德卫, 男, 在读硕士研究生, 研究方向: 眼底病及眼外伤。

通讯作者: 姜涛, 博士, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 眼底病及眼外伤. lanlandetian20000@163.com

收稿日期: 2015-01-28 修回日期: 2015-04-20

## Changes of *Acin1* expression in congenital cataract mouse during retinal development

De-Wei Li, Tao Jiang, Xiao-Yan Tong, Xiao-Chuan Wang, Shuang-Shuang Wang

Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

**Correspondence to:** Tao Jiang. Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China. lanlandetian20000@163.com

Received: 2015-01-28 Accepted: 2015-04-20

### Abstract

• **AIM:** To observe the expression of *Acin1* (apoptotic chromatin condensation inducer 1) in congenital cataract mouse retina during development and investigate the differences of retinal apoptosis and the connection of lens and retina development between congenital cataract mouse and normal mouse.

• **METHODS:** There were congenital cataract mice (10 female and 5 male) and normal C57BL/6 mice (10 female and 5 male). One male and two female mice were fed in the same cage randomly. The young mice were divided into two groups; congenital cataract group and normal control group. Five young mice were treated each group on 1, 5, 9, 14, 17, 21, 26, 60d. The left eyes were fixed with 4% neutral formalin to detect ACIN1 protein by immunohistochemistry and retinas from right eyes were used to detect the mRNA expression of *Acin1*.

• **RESULTS:** *Acin1* had sustained expression in each group. ACIN1 protein gradually expressed from the ganglion cell layer, inner nuclear layer to the outer nuclear layer following retinal development. It mainly expressed on ganglion cell layer and inner nuclear layer, but not neuroblastoma layer. ACIN1 protein positive cells on P1 ~ P14d increased in normal control group, P17d reduced, after P21d positive cells of each layers decreased. The overall trend was similar in congenital cataract group with normal control group, P1 ~ P14d positive cells count was lower than normal control group, P17 ~ P21d positive cells were flat and higher than the normal control group. Compared with the same day of

the two groups, the differences except for P17, P26, P60d were significant ( $P < 0.05$ ). The overall difference was statistically significant in congenital cataract group ( $F_{\text{cataract}} = 295.07$ ,  $P < 0.01$ ); in addition to P1 and P5, P17 and P21, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ) compared with each other in congenital cataract group. The overall difference was statistically significant in control group ( $F_{\text{normal}} = 214.21$ ,  $P < 0.01$ ); in addition to P1 and P5d, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ) compared with each other in control group. The expression of P17d in congenital cataract group was lower compared with that of P14d in control group, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). *Acin1* mRNA trends of two groups were similar with ACIN1 protein. Compared with the same day of the two groups, the difference was significant except for P17, P21, P60d ( $P < 0.05$ ). The overall difference was statistically significant in each other of the two groups ( $F_{\text{cataract}} = 522.29$ ,  $P < 0.01$ ;  $F_{\text{normal}} = 472.05$ ,  $P < 0.01$ ). The difference was statistically significant compared with each day in control group ( $P < 0.05$ ). Compared with all the rest of days except for P21 and P26d, the difference was statistically significant in congenital cataract group ( $P < 0.05$ ).

• **CONCLUSION:** *Acin1* exist differential expression of time and space in mouse retina during development, congenital cataract crystal developmental disorder may affect the expression of *Acin1* and retinal cell apoptosis and development.

• **KEYWORDS:** congenital cataract; retina; development; apoptosis; *Acin1*

**Citation:** Li DW, Jiang T, Tong XY, *et al.* Changes of *Acin1* expression in congenital cataract mouse during retinal development. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2015;15(5):767-771

### 摘要

**目的:** 观察先天性白内障小鼠发育过程中视网膜 *Acin1* 基因 (apoptotic chromatin condensation inducer 1, 凋亡染色体凝聚诱导 1) 表达的变化及差异, 探讨先天性白内障小鼠与正常小鼠视网膜细胞凋亡的差异及晶状体与视网膜发育的联系。

**方法:** 选取先天性白内障小鼠和正常 C57BL/6 小鼠各 15 只, 其中雌性各 10 只, 雄性各 5 只, 两种小鼠各随机按 1 雄 2 雌合笼正常饲养, 雌鼠受孕后单独饲养, 待其分娩后将对应幼鼠分为先天性白内障组和正常对照组, 各组于 1, 5, 9, 14, 17, 21, 26, 60d 分别处理 5 只幼鼠, 取左眼球 4% 中性甲醛固定行免疫组化检测 ACIN1 蛋白 (ACINUS) 表达, 右眼取视网膜行 PCR 检测 *Acin1* mRNA 表达。

**结果:** *Acin1* 在两组幼鼠视网膜各日龄均有持续表达; 随着视网膜各层细胞的分化, ACIN1 蛋白从神经节细胞层、内

核层至外核层逐渐表达,以神经节细胞和内核层为主,神经母细胞层未见阳性表达,正常对照组 P1 ~ P14d ACIN1 阳性细胞逐渐增多,P17d 开始减少,P21d 之后各层阳性细胞明显减少;先天性白内障组整体变化趋势同正常对照组类似,P1 ~ P14d 阳性细胞数低于正常对照组,P17 ~ P21d 阳性细胞数持平且高于正常对照组;同日龄两组比较,除 P17,P26,P60d 外,其余差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );先天性白内障组内不同日龄总体比较差异有统计学意义( $F_{\text{先白}} = 295.07, P < 0.01$ ),两两比较除 P1 与 P5d, P17 与 P21d 外其余各日龄间均有统计学意义( $P < 0.05$ );正常组内不同日龄总体比较差异有统计学意义( $F_{\text{正常}} = 214.21, P < 0.01$ ),除 P1 与 P5d 外其余各日龄间两两比较均有统计学意义( $P < 0.05$ );先天性白内障组 P17d 表达量低于正常组 P14d 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。两组 *Acin1* mRNA 变化趋势与蛋白相似,两组同日龄比较,除 P17,P21,P60d 外差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );两组组内不同日龄总体比较差异均有统计学意义( $F_{\text{先白}} = 522.29, P < 0.01$ ;  $F_{\text{正常}} = 472.05, P < 0.01$ );两两比较先天性白内障组除 P21 与 P26d 外其余各日龄间均有统计学差异( $P < 0.05$ ),正常组各日龄间两两比较均有统计学差异( $P < 0.05$ )。

**结论:**小鼠视网膜发育过程中存在 *Acin1* 时间和空间的差异性表达,先天性白内障晶状体发育障碍可能会影响视网膜细胞 *Acin1* 的表达及视网膜细胞的凋亡及发育。

**关键词:**先天性白内障;视网膜;发育;凋亡;*Acin1*

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.5.06

**引用:**李德卫,姜涛,全晓燕,等.先天性白内障小鼠视网膜发育过程中 *Acin1* 表达的变化.国际眼科杂志 2015;15(5):767-771

## 0 引言

细胞凋亡是生理性的细胞程序性死亡过程,在胚胎发育、造血、免疫系统的成熟以及维护正常组织和器官的细胞恒定与生长平衡<sup>[1,2]</sup>,乃至机体衰老方面都起着重要作用,如眼玻璃体血管、晶状体血管膜的退化,晶状体、视网膜的分化发育<sup>[3]</sup>。*Acin1* (apoptotic chromatin condensation inducer 1, 凋亡染色体凝聚诱导因子 1) 为一种凋亡相关基因,编码 ACIN1 蛋白即 ACINUS (Apoptotic chromatin condensation inducer in the nucleus) 蛋白一分为 L,S,S' 三种异构体(不同的 RNA 剪接),ACINUS 被 CASP3 剪切激活后单独诱导染色体凝聚,而不引起 DNA 降解<sup>[4,5]</sup>。不同 ACINUS 异构体参与形成 ASAP-凋亡和剪接相关蛋白复合体,注入 ASAP 可以抑制细胞 RNA 编辑,促进细胞凋亡并在凋亡启动后随即被分解<sup>[6]</sup>;同时,ACINUS 参与 BCL2L/BCL-X 等分子的剪接,尤其是抑制 BCL-X(S) 等凋亡前体的形成<sup>[7]</sup>。Singh 等<sup>[8]</sup>对比 ACINUS, caspase-3 与 TUNEL,指出 ACINUS 可以更好的进行图像分析和计数细胞凋亡率。先天性白内障是儿童常见的致盲性眼病,其发病率约为 0.01% ~ 0.06%<sup>[9]</sup>,为胎儿发育过程中晶状体发育障碍的结果,近 1/3 的先天性白内障为单基因遗传病<sup>[10]</sup>,其发生存在多种基因突变,而有研究指出其发育异常可以诱导眼部其他组织的异常发育分化。关于 *Acin1* 在先天性白内障及正常视网膜发育过程中的表达研究鲜有报道,因此我们采用免疫组织化学和 RT-PCR 方法检测先天性白内障小鼠和正常小鼠视网膜发育过程中 *Acin1*

的表达及其差异,以期了解 *Acin1* 在视网膜细胞凋亡中的作用,以及先天性白内障小鼠与正常小鼠视网膜细胞凋亡发育的差异。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 成年 *lop 11* (lens opacity locus 11) 先天性白内障小鼠 10 雌 5 雄(中国中医科学院眼科医院惠赠,经连续 3 次封闭交配生产幼鼠均发生白内障),健康成年 C57BL/6 小鼠 10 雌 5 雄(由青岛市动物实验与实验动物中心提供),各小鼠屏障环境饲养,控制室温  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ,相对湿度 50% ~ 60%,小鼠维持饲料喂养,常规饮水,20:00 至次日 6:00 按 2:1 雌雄合笼,并阴道涂片查到精子的雌鼠单独喂养,记录受孕日期。小鼠分娩记为幼鼠第 1 日龄(P1d),根据母鼠将幼鼠分为先天性白内障组和正常对照组。两组幼鼠分别于 P1,5,9,14,17,21,26,60d 随机取 5 只水合氯醛麻醉,生理盐水心脏灌注,体式显微镜下摘取眼球,左眼固定石蜡包埋,右眼分离视网膜用于 PCR 检测 mRNA。

## 1.2 方法

**1.2.1 切片制备** 各组幼鼠左眼置入 4% 中性甲醛固定液 24h,流水冲洗 2h,依次经 55%,65%,75%,85%,95%,95%,100% 乙醇各 1h 梯度脱水,二甲苯 20min 透明化,60℃ 硬蜡浸蜡 5h 后包埋,Lasic 轮式切片机平行于矢状轴连续切片,每张切片厚 4 $\mu\text{m}$ ,42℃ 水浴展片,将切片捞于粘附载玻片上,60℃ 温箱烤片,过夜。

**1.2.2 HE 染色及免疫组化检测** 各组每日龄 5 只眼球,每只眼球随机取三张不连续切片行 HE 染色,观察视网膜形态发育。另取五张行免疫组化检测 ACIN1 蛋白。本实验采用山羊抗鼠 anti-Acinus 一抗(Santa Cruz 公司 sc-5432)、超敏二步法兔抗山羊检测试剂盒 PV-9003(中杉金桥公司)。切片按说明书经过夜烤片、脱蜡复水、柠檬酸高压抗原修复、 $\text{H}_2\text{O}_2$  灭活内源性过氧化物酶、滴加一抗 37℃ 孵育 2h、滴加 PV-9003 试剂、DAB 显色,取两张苏木素复染,阴性对照选用 PBS 代替一抗。视网膜各层细胞核出现棕黄色颗粒者记为阳性细胞,每张切片 400 $\times$  镜下随机选取 5 个视野计数阳性细胞。

**1.2.3 RT-PCR 检测视网膜 *Acin1* 的表达** *Acin1* 引物:F 5' - GGATCGGGACAAAGTTCGAGA - 3', R 5' - CAGTGGGAGCCAATAGATGCAG-3',内参  $\beta$ -actin 引物:F 5' - GGATCGGGACAAAGTTCGAGA - 3', R 5' - GGATCGGGACAAAGTTCGAGA-3',由宝生物工程(大连)有限公司合成,逆转录试剂盒及 SYBR 荧光染料选用宝生物工程产品。Tri reagent(美国 MRC 公司)提取视网膜总 mRNA,紫外分光光度计测定 260nm/280nm 处吸光度(optical density, OD)值以及  $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$  比值,计算反应量。据逆转录试剂盒操作步骤,取总 mRNA 2 $\mu\text{g}$  为模板,选用 Random 6mers 和 Oligo dT Primer 混合引物,合成 cDNA。RT-PCR 反应体系:10 $\mu\text{L}$  LSYBR、0.5 $\mu\text{L}$  上游引物、0.5 $\mu\text{L}$  下游引物、2 $\mu\text{L}$  cDNA 溶液、7 $\mu\text{L}$  RNase Free  $\text{dH}_2\text{O}$ ,反应条件:95℃ 预变形 30s,95℃ 扩增 5s,60℃ 退火 30s 共 40 个循环,95℃ 15s,60℃ 30s,95℃ 15s 检测溶解曲线。荧光定量 PCR 仪(eppendorf Mastercycler ep realplex)绘制荧光扩增曲线和溶解曲线,得出 Ct 值,应用  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  ( $\Delta\Delta\text{Ct} = \Delta\text{Ct}$  待测样本 -  $\Delta\text{Ct}$  对照样本,  $\Delta\text{Ct} =$  目的基因 Ct 值 - 内参 Ct 值)法分析结果。



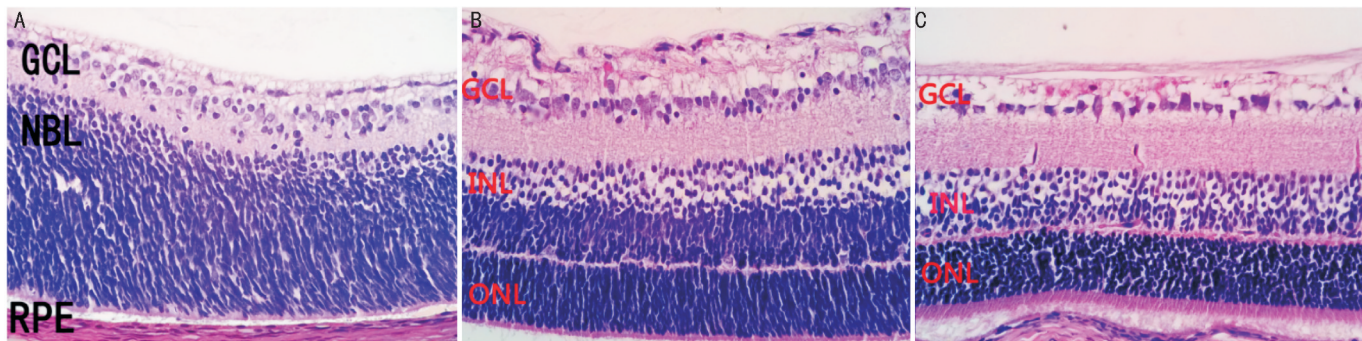


图1 正常组幼鼠视网膜形态发育(HE×400) A:P1d,视网膜由GCL、NBL和RPE三层组成,GCL层有多层细胞,排列较疏松,NBL层占据视网膜厚度的大部分,由20~24层排列密集的椭圆形细胞组成,细胞核深染;B:P5d,NBL层分化出内、外核层,GCL层变薄,细胞减少;C:P14d,视网膜可见:RPE层、内、外核层,内丛状层和神经节细胞层;内、外核层分界清楚,同时可见较短的感光细胞内、外节。

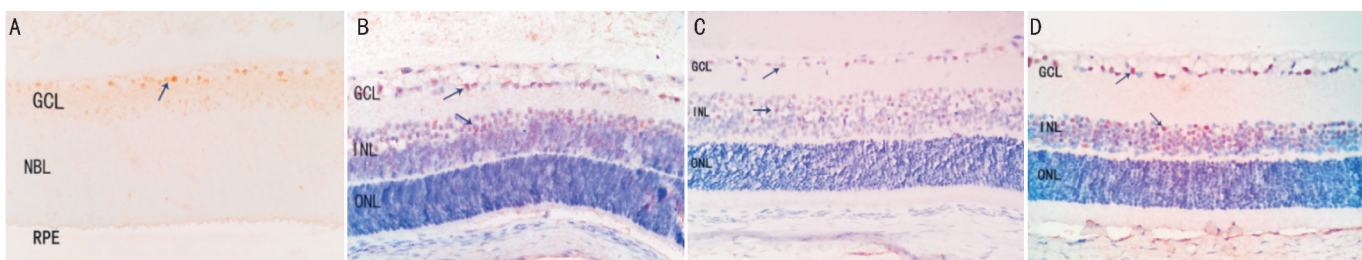


图2 先天性白内障组幼鼠视网膜ACIN1表达(IHC×400,箭头示阳性细胞) A:P1d未复染,GCL层可见阳性细胞,NBL层未见阳性着色;B:P14d复染,神经母细胞层分化出内、外核层,核大深染,各层轮廓明显,GCL、INL层可见阳性细胞;C:P17d复染,ONL层出现少量阳性着色,INL阳性细胞数目增多;D:P26d复染,视网膜各层分化逐渐成熟,GCL层接近单层排列,INL、ONL变薄,细胞核小清晰,各层少量阳性细胞散布。

表1 先天性白内障组和正常对照组幼鼠视网膜中ACIN1阳性细胞计数

( $\bar{x} \pm s$ , 个)

组别	眼数	P1d	P5d	P9d	P14d	P17d	P21d	P26d	P60d
先天性白内障组	40	19.00±1.58	21.80±1.30	26.00±2.35	58.00±4.74	70.20±3.56	69.00±2.92	43.80±4.15	8.20±2.86
正常对照组	40	24.20±2.86	27.80±2.78	33.20±2.77	77.20±5.50	69.20±4.49	59.80±4.32	48.60±3.21	7.40±2.61

统计学分析:采用SPSS 19.0统计软件,各组检测数据用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )来表示。同日龄两组幼鼠比较选用 $t$ 检验,同组内不同日龄幼鼠比较选用单因素方差分析和 $LSD-t$ 检验法, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 光镜观察** 两组幼鼠P1d视网膜组织均只有色素上皮细胞层(retinal pigment epithelium, RPE)、神经母细胞层(neuroblast layer, NBL)及神经节细胞层(ganglion cell layer, GCL),RPE层为排列整齐的单层细胞,细胞核深染;NBL层占据视网膜厚度的大部分,由20~24层排列密集的椭圆形细胞组成,细胞核深染;最内层为GCL层,排列疏松,大致成2~4层;色素上皮层与神经上皮层间可见潜在间隙。P5d NBL层分化出内、外核层(inner nuclear layer, INL、outer nuclear layer, ONL),两层分界不明显;GCL层变薄,排列整齐;色素上皮层与神经上皮层间隙消失。P9d分化出外网状层(outer plexiform layer, OPL),GCL层变为单层。P14d视网膜可见:RPE层、内、外核层,内丛状层和神经节细胞层;内、外核层分界清楚,同时可见较短的感光细胞内、外节。P17d可明显分清视网膜的10层结构,各层结构逐渐成熟,感光细胞内、外节仍较正常短。P21d之后视网膜各层结构与成年小鼠基本一致,见图1,2。

**2.2 ACIN1免疫组织化学染色** ACIN1阳性细胞在两组

幼鼠视网膜各日龄均有持续分布(图2)。正常对照组P1d GCL层有阳性细胞散布,NBL层未见阳性细胞;P5d内、外核层分化,内核层出现阳性细胞,外核层较少;P9~P14d GCL层、INL、ONL层阳性细胞逐渐增多,以INL层更为明显;P17,21d内、外核层阳性细胞逐渐减少,节细胞层略有减少;P26之后各层阳性细胞明显减少,但高于P1d。先天性白内障组整体变化趋势同正常对照组类似,P1~P14d阳性细胞数低于正常对照组,P17~P21d阳性细胞数接近且高于正常对照组。同日龄两组比较,除P17,P26,P60d外差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );先天性白内障组内不同日龄总体比较差异有统计学意义( $F_{\text{先白}} = 295.07, P < 0.01$ ),两两比较除P1与P5d,P17与P21d外其余各日龄间均有统计学差异( $P < 0.05$ );正常组内不同日龄总体比较差异有统计学意义( $F_{\text{正常}} = 214.21, P < 0.01$ ),除P1与P5d外其余各日龄间两两比较均有统计学意义( $P < 0.05$ );先天性白内障组P17d表达量低于正常组P14d差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表1。

**2.3 Acin1 mRNA在视网膜的表达** 正常组小鼠P1~P14d Acin1 mRNA表达量逐渐上升,在P14d达到高峰逐渐下降,P21d后迅速下降,以P60d表达量最少;先天性白内障组表达高峰在P17d,P21d后迅速下降(图3)。两组同日龄比较,除P17,P21,P60d外差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );正常组内不同日龄总体比较差异有统计学意义

表2 先天性白内障组和正常对照组幼鼠视网膜 *Acin1* mRNA 相对表达量

组别	眼数	P1d	P5d	P9d	P14d	P17d	P21d	P26d	P60d
先天性白内障组	40	0.59±0.10	1.38±0.25	2.58±0.13	4.91±0.28	5.98±0.33	5.09±0.28	1.35±0.13	0.38±0.05
正常对照组	40	1.01±0.21	2.13±0.28	3.46±0.33	6.47±0.20	5.57±0.30	4.92±0.25	1.54±0.10	0.30±0.10

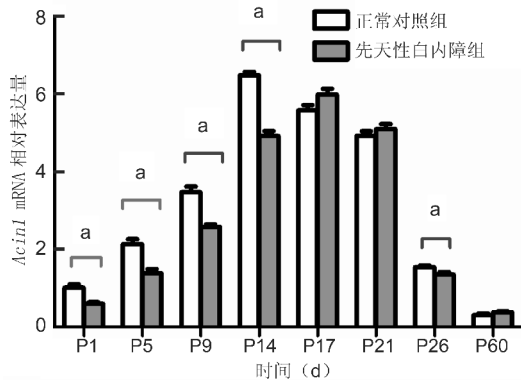


图3 先天性白内障组和正常对照组各日龄幼鼠视网膜 *Acin1* mRNA 相对表达量 ( $^a P < 0.05$ )。

( $F_{\text{正常}} = 472.05, P < 0.01$ ), 各日龄间两两比较均有统计学差异 ( $P < 0.05$ ); 先天性白内障组内不同日龄总体比较差异有统计学意义 ( $F_{\text{先白}} = 522.29, P < 0.01$ ), 除 P21 与 P26d 外其余各日龄间两两比较均有统计学差异 ( $P < 0.05$ ), 见表 2。

### 3 讨论

新生小鼠其视网膜是不成熟的, 视网膜发育分化主要集中在出生后至 2wk, 幼鼠出生时, 视网膜大部分是未分化的神经母细胞, 逐渐分化出各层细胞, 约 15d 时基本发育完善<sup>[11,12]</sup>。视网膜神经上皮的 6 种细胞是由同一个前体细胞分化而来, 具有严格的时间和空间发育顺序, 视网膜神经节细胞第一个分化, 接着是水平细胞、视锥细胞、无长突细胞、视杆细胞、双极细胞、Müller 细胞; 在空间发育上: 从中央到周边, 从内向外逐渐移行, 首先分化的神经节细胞位于视网膜内侧近玻璃体面。我们对先天性白内障小鼠与正常小鼠视网膜发育的观察发现, 先天性白内障小鼠视网膜发育分化的时空顺序同正常小鼠趋势相同。

凋亡是组织正常生长发育的必要条件, 视网膜细胞的凋亡对于视网膜的正常分化发育极其重要, 例如早期神经节细胞的凋亡是视网膜神经成熟的重要过程, 部分节细胞凋亡可以为成熟的神经节细胞轴索向视乳头汇集让出空间, 促进神经纤维的发育。细胞凋亡包括细胞皱缩, 胞质密度增加, 线粒体膜电位消失, 通透性改变, 核质浓缩, 核膜核仁破碎, DNA 降解等改变<sup>[13]</sup>, 是多基因严格控制的过程, 例如 Bcl-2 家族、caspase 家族、癌基因如 C-myc、抑癌基因 p53 等。*Acin1* 基因编码 ACINUS 蛋白, 定位于核小点, 被 SRPK2 磷酸化后脱离核小点到核质, 并且在 A1 期发挥功能<sup>[14]</sup>; Sahara 等<sup>[4]</sup> 在体外实验中发现, ACINUS 被 CASP3 剪切激活后可以单独诱导染色体凝聚, 而不引起 DNA 降解。ACINUS 被 CASP3 剪切后其 p17 片段促进 PKC- $\delta$  磷酸化 H2B, 进而促进染色体凝聚<sup>[15]</sup>。Schwerk 等<sup>[6]</sup> 的研究表明 ACINUS 存在 SR 结合域可以识别结合

RNA, 参与形成 ASAP——凋亡和剪接相关蛋白复合体, ASAP 可以抑制 RNA 编辑, 促进细胞凋亡并在凋亡启动后随即被分解。Shu 等<sup>[16]</sup> 对肺癌细胞的研究发现其 *ACIN1* 基因高度甲基化。细胞凋亡中 CASP 依赖性和非依赖性两种通路诱导了细胞核的凋亡, 而 ACINUS 的激活可能需要两种通路的成分<sup>[17]</sup>。本实验中我们发现, *Acin1* 在两组幼鼠视网膜中存在表达, 且具有时间和空间上的变化; P1 ~ P14d, 视网膜神经母细胞层在两组幼鼠中均未出现阳性细胞, 伴随视网膜的分化发育, 神经节细胞层、内核层和外核层依次分化成熟, 阳性细胞分布从神经节细胞层到外核层逐渐出现且主要集中在神经节细胞层和内核层, *Acin1* 阳性细胞在 P1d 即在神经节细胞出现并随着视网膜分化逐渐增多。Young<sup>[18]</sup> 对小鼠幼鼠视网膜神经元的凋亡研究指出: 小鼠 P4d 神经上皮中出现细胞凋亡, 节细胞凋亡发生于 P11d, 持续 2 ~ 5d, 双极细胞和 Müller 细胞(内核层) 凋亡发生于 P8 ~ P11d, P5d 外核层分化出视杆细胞后发生凋亡并持续到生后 2wk。我们的实验结果与上述 Young 的研究略有不同, 因此我们推测, 视网膜分化过程中, 原始的神经母细胞不表达 *Acin1*, 随着各细胞层的分化, 从内向外逐渐表达 *Acin1*, 并参与视网膜细胞的凋亡, 这提示视网膜神经母细胞的凋亡方式可能与分化后的其它各层不同, 同时 *Acin1* 在神经节细胞的较早期表达表明 *Acin1* 存在基础表达, 其诱导染色体凋亡凝聚的功能依赖上游的激活信号。

眼球各部分的发育及其调控与其它部分的发育和调控有着不可分割的联系, 视网膜和晶状体分别由神经外胚层和表皮外胚层发育而来, 眼胚胎发育过程中存在胚胎诱导 (embryonic induction)——胚胎发育中, 两种胚胎组织通过相互作用对其中一种或两种形态发生产生影响, 从而决定其分化方向的现象, 有研究指出晶状体发育分化是眼球发育特化中的关键中间环节, 例如晶状体对视网膜神经节细胞的投射发挥作用, 而其发育异常可以诱导眼部其他组织的异常发育分化<sup>[19]</sup>。先天性白内障主要由于遗传性的晶状体和眼周围组织的发育异常所致, 其发生存在多种基因突变, 如 Pax6, Mip, Lim2, Gja3, Cat3, Cryaa 等基因突变, 可导致晶状体膜、晶状体纤维、晶状体蛋白等的发育异常<sup>[20,21]</sup>。本实验中 PCR 和免疫组化均表明凋亡高峰期 P5 ~ P14d, 两组幼鼠相同日龄视网膜 *Acin1* 表达存在差异, P14d 正常幼鼠视网膜各层细胞 *Acin1* 表达达到高峰, 先天性白内障组高峰延迟且 P17d 峰值表达量低于正常小鼠 P14d 表达量, 差异有统计学意义, P17d 之后两组表达逐渐接近, 这可能与幼鼠 P14d 睁眼后光刺激加强有关, 因此我们推测先天性白内障小鼠晶状体发育障碍会影响视网膜 *Acin1* 的表达, 可能会影响视网膜细胞的凋亡及分化发育, 而 *Acin1* 对视网膜细胞凋亡标记的特异性以及晶状体与视网膜细胞凋亡发育的联系需要更深入的研究。



## 参考文献

- 1 Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007;35(4):495-516
- 2 Ouyang L, Shi Z, Zhao S, et al. Programmed cell death pathways in cancer: a review of apoptosis, autophagy and programmed necrosis. *Cell Prolif* 2012;45(6):487-498
- 3 Cook B, Portera-Cailliau C, Adler R. Developmental neuronal death is not a universal phenomenon among cell types in the chick embryo retina. *J Comp Neurol* 1998;396(1):12-19
- 4 Sahara S, Aoto M, Eguchi Y, et al. Acinus is a caspase-3-activated protein required for apoptotic chromatin condensation. *Nature* 1999;401(6749):168-173
- 5 Park HS, Seong KM, Kim JY, et al. Chronic low-dose radiation inhibits the cells death by cytotoxic high-dose radiation increasing the level of AKT and acinus proteins via NF-kappaB activation. *Int J Radiat Biol* 2013;89(5):371-377
- 6 Schwerk C, Prasad J, Degenhardt K, et al. ASAP, a novel protein complex involved in RNA processing and apoptosis. *Mol Cell Bio* 2003;23(8):2981-2990
- 7 Wang F, Soprano KJ, Soprano DR. Role of Acinus in Regulating Retinoic Acid-Responsive Gene Pre-mRNA Splicing. *J Cell Physiol* 2014;230(4):791-801
- 8 Singh SS, Mehedint DC, Ford OH, et al. Comparison of ACINUS, caspase-3, and TUNEL as apoptotic markers in determination of tumor growth rates of clinically localized prostate cancer using image analysis. *Prostate* 2009;69(15):1603-1610
- 9 Gilbert C, Foster A. Childhood blindness in the context of VISION 2020-the right to sight. *Bull World Health Organ* 2001;79(3):227-232
- 10 Reddy MA, Francis PJ, Berry V, et al. Molecular genetic basis of inherited cataract and associated phenotypes. *Surv Ophthalmol* 2004;49(3):300-315
- 11 孟旭霞,牛膺筠,张燕,等. 大鼠视网膜发育的形态学变化. *解剖学杂志* 2009;32(4):551-553
- 12 彭清,刘舒娅,任佩贤,等. 不同日龄新生小鼠视网膜组织学观察. *中华眼底病杂志* 1999;15(3):174
- 13 Hacker G. The morphology of apoptosis. *Cell Tissue Res* 2000;301(1):5-17
- 14 Jang SW, Yang SJ, Ehlen A, et al. Serine/arginine protein-specific kinase 2 promotes leukemia cell proliferation by phosphorylating acinus and regulating cyclin A1. *Cancer Res* 2008;68(12):4559-4570
- 15 Hu Y, Liu Z, Yang SJ, et al. Acinus-provoked protein kinase C delta isoform activation is essential for apoptotic chromatin condensation. *Cell Death Differ* 2007;14(12):2035-2046
- 16 Shu Y, Iijima T, Sun W, et al. The ACINI gene is hypermethylated in early stage lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 2006;1(2):160-167
- 17 Susin SA, Dugas E, Ravagnan L, et al. Two distinct pathways leading to nuclear apoptosis. *J Exp Med* 2000;192(4):571-580
- 18 Young RW. Cell death during differentiation of the retina in the mouse. *J Comp Neurol* 1984;229(3):362-373
- 19 葛坚,赵家良,黎晓新. 眼科学. 第2版. 北京:人民卫生出版社 2010;20-36
- 20 姚克. 关注先天性白内障的疾病相关基因研究. *中华实验眼科杂志* 2014;32(6):481-484
- 21 Santana A, Waiswo M. The genetic and molecular basis of congenital cataract. *Arq Bras Oftalmol* 2011;74(2):136-142