

豚鼠形觉剥夺性近视视网膜中视黄酸转运系统的研究

黄佳 瞿小妹 褚仁远

Research on retinoic acid system in retina of guinea pig eyes with form deprivation myopia

Huang Jia, Qu Xiaomei, Chu Renyuan. Department of Ophthalmology, Eye & ENT Hospital, Fudan University, Shanghai 200031, China

Abstract Objective Development of eyeball is visually regulated by messengers that released from the retina, and research demonstrated that retinoic acid (RA) is the only extrinsic biochemical candidate that could act as a growth controller. Present study was designed to evaluate the RA system in retina of guinea pig eye with experimental form deprivation myopia. **Methods** The form deprivation myopia models were monocularly established in the 24 2-week-old guinea pigs by occluding the lateral eyes using white translucent hemispheres for two weeks, and the fellow eyes were as normal control. Refraction diopter was detected with streak retinoscopy after cycloplegia, and axial length and vitreous depth were calculated with Cinescan A/B ultrasonography before and 2 weeks after experiment. All animals were sacrificed and retina was dissected 2 weeks after experiment. The RA level in retina was detected by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The expressions of RA-binding proteins I (CRABP-I) and RA receptor- β (RAR- β) protein and mRNA were assayed by Western-blotting and Real-time PCR, respectively. The experiment and use of animals followed the Standard of Association for Research in Vision and Ophthalmology. **Results** The spherical equivalent refraction was ($+3.00 \pm 0.75$) D in the model group and ($+2.88 \pm 0.67$) D in control eyes ($t = 0.672, P > 0.05$), the ocular axial length was (7.822 ± 0.083) mm in model group and (7.791 ± 0.073) mm in control eyes before experiment ($t = 0.346, P > 0.05$). In 2 weeks after experiment, the spherical equivalent refraction was (-3.82 ± 0.13) D versus (1.99 ± 0.58) D and axial length was (8.346 ± 0.047) mm versus (7.888 ± 0.042) mm between model eyes and control eyes ($t = 8.376, P < 0.001; t = 3.343, P < 0.05$). No significant difference in the level of RA in retina before and after experiment ($1.394 \pm 0.079 \mu\text{g/g}$ vs $1.295 \pm 0.023 \mu\text{g/g}$) ($t = 0.897, P > 0.05$) but obviously elevated after experiment in model eyes compared with control eyes ($2.356 \pm 0.098 \mu\text{g/g}$ vs $1.499 \pm 0.035 \mu\text{g/g}$) ($t = 4.934, P < 0.01$). The expression of CRABP-I and RAR- β mirrored these directional changes. **Conclusion** The RA system in retina is upregulated in the eye of guinea pig with form deprivation myopia. This findings suggests that RA may act as a messenger in the development of experimental myopia.

Key words retinoic acid system; form deprivation myopia; retinoic acid-binding proteins I; retinoic acid receptor- β

摘要 目的 了解视黄醇(RA)转运系统在豚鼠近视发生发展中的作用。**方法** 2周龄英国短毛豚鼠48只,随机分为形觉剥夺组($n=24$)和正常对照组($n=24$)。形觉剥夺组随机取1只眼,用白色半透明眼罩遮盖形成形觉剥夺,遮盖时间为2周,干预前后均采用睫状肌麻痹后带状光检影法测定其屈光不正状态,用Cinescan A/B型超声仪测定玻璃体腔深度和眼轴长度。处死后取视网膜,用HPLC法测定视网膜中的RA水平,Western blot法定量检测视网膜中视黄酸结合蛋白-I (CRABP-I)和视黄酸核受体- β (RAR- β)的蛋白水平,并用Real-time PCR法测定其mRNA水平。**结果** 形觉剥夺后模型眼的等效球镜为(-3.82 ± 0.13) D,对照眼为(1.99 ± 0.58) D,差异有统计学意义($t = 8.376, P < 0.01$);形觉剥夺组眼轴长度为(8.346 ± 0.047) mm,对照组眼轴长度为(7.888 ± 0.042) mm,差异有统计学意义($t = 3.343, P <$

0.05)。形觉剥夺组视网膜 RA 水平较对照组高,差异有统计学意义($t=4.934, P<0.01$);模型眼视网膜中 CRABP-I 和 RAR- β 的含量较对照组均提高($P<0.05$)。结论 豚鼠形觉剥夺性近视眼视网膜中 RA 转运系统水平显著上升,RA 可能是近视发展的信使。

关键词 视黄酸转运系统;形觉剥夺性近视;视黄酸结合蛋白-I;视黄酸核受体- β

分类号 R 778 **文献标识码** A **文章编号** 1003-0808(2009)11-1006-05

眼球的生长发育受视网膜接受视觉信息后所释放的介质调控,视黄酸(retinoic acid, RA)是目前所知的唯一可以通过外源性途径导致眼轴增长的物质。RA 进入细胞后与 RA 结合蛋白(retinoic acid-binding proteins, CRABP)结合,CRABP 是调控细胞内 RA 水平的主要因子^[1];通过与 RA 核受体- β (retinoic acid receptor- β , RAR- β)结合作为转录因子对细胞发挥作用^[2],可以调节 300 个以上不同目标基因的转录,其中包括对眼球发育起重要作用的 bFGF、TGF- β 等的基因。本实验采用豚鼠为实验对象,诱导形觉剥夺性近视模型,通过对视网膜中的 RA 转运系统进行研究,了解 RA 转运系统在豚鼠近视发生发展中的作用。

1 材料与方 法

1.1 材料

取 2 周龄英国短毛花豚鼠(复旦大学医学院动物实验中心提供)48 只,体重 150~200 g,其中雌性 20 只,雄性 28 只。按随机数字表法将动物随机分为形觉剥夺实验组 24 只和正常对照组 24 只。所有动物均在自然明/暗周期光线环境中饲养,提供足量的水、豚鼠饲料、干草及新鲜蔬菜,补充适量维生素 C。室内温度为 22℃。

1.2 方法

1.2.1 形觉剥夺性近视动物模型的建立 任意取实验组豚鼠的 1 只眼进行眼罩遮盖,对侧眼为对照眼。眼罩由白色半透明膜制成,质地为橡胶,诱导时间为 2 周,整个诱导过程密切观察实验组豚鼠,保证半透明膜眼罩始终遮盖实验眼。对照组不做任何干预。

1.2.2 眼屈光参数的测定 用 0.25% 托吡卡胺滴眼液散瞳,每 5 min 1 次,共 3 次;第 1 次散瞳 45 min 后以带状光检影法测定其屈光不正状态,用 Cinescan A/B 型超声仪(Optikon 2000 S. P. A., 敏感度 0.01 mm)测量眼轴长度和玻璃体腔深度,A 型超声检测角膜前表面、晶状体的前后界面、视网膜的前界面及巩膜的后界面。眼轴长定义为角膜前表面到巩膜后界面的距离。屈光不正值以等效球面屈光不正度数表示(球镜 + 1/2 的柱镜)。验光时应确保为中央区的影光,由于豚鼠的调节非常大,验光应在睫状肌充分麻痹后并在短

时间内完成。所有的数据共测量 5 次,取其平均值,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。分别于处理前和实验 2 周干预结束后测量上述屈光参数。

1.2.3 视网膜样品的采集 2 组动物实验 2 周完成生物学测量后处死,摘除眼球,自锯齿缘处分离,得到完整的眼后段,轻微牵拉玻璃体,将视网膜层与脉络膜巩膜层分离,仔细剔除色素层。该过程在低温及较弱的灯光下完成。为了取得足够量的样本,视情况将同组内 1~2 只眼球的视网膜作为一个样品。取得样品后立刻置于 -70℃ 液氮中保存,随机选取样本进行视网膜中 RA、CRABP-I 和 RAR- β 含量的测定。

1.2.4 视网膜中 RA、CRABP-I 和 RAR- β 含量的测定 视网膜样品中 RA 水平的测定采用高效液相色谱仪(performance liquid chromatography, HPLC)。Mertz 等^[3]曾详细报道该方法,本实验中色谱条件的选择和标准曲线的制作均采用相同的方法,RA 水平的测定时间点分别为干预前及干预后。而 CRABP-I 和 RAR- β 的含量则分别采用 2 种方法,选择 Western blot 法测定蛋白含量,Real-time PCR 法测定 mRNA 的量,测量时间点为形觉剥夺模型建立后。

1.2.5 Western blot 法测定视网膜中 CRABP-I 和 RAR- β 的蛋白含量 分别在各组样品中加入 PBS 溶液 100 μ L,同时加入适当浓度的蛋白抑制剂 PMSF,冰上超声波处理至组织完全分散,然后测定蛋白含量,将样品稀释至相同总蛋白含量,取 100 μ L 样品加入 5 \times SDS 上样缓冲液,95℃ 处理 10 min。每个上样孔加样 30 μ L。蛋白含量的测定采用 Bradford 比色法进行。然后行 SDS-PAGE 电泳,取处理好的电泳样品,按预定的顺序加样,每孔加入 30 μ L 样品,接通电源,以电压 120 V、电流 60 mA 电泳,等到溴酚蓝跑出分离胶即停止电泳。Western blot 实验流程:小心将胶置于 100 mL 阴极缓冲液中,平衡 15 min;用尺子量作胶的大小,剪同样大小的 1 片 PVDF 膜,用 100% 甲醇浸泡 15 s,再用双蒸水浸泡 2 min,取出后用阳极缓冲液 II 平衡 10 min;采用半干法转膜,按顺序放胶、膜和滤纸,插上电源,1.2 mA/cm² 转膜 1 h。转膜完成后将膜放入甲醇中 10 s,用镊子取出置于滤纸上,待甲醇蒸干(约 15 min)。用丽春红溶液检测转膜效率,再用去离子水

洗去丽春红;将膜在一抗中孵育 2 h,4 ℃ 过夜(一抗溶于封闭液,1:200 稀释),用 TTBS 洗 3 次,每次 10 min,在二抗(1:2 000)中孵育 1 h,用 TTBS 洗 3 次,每次 10 min,用 DAB 溶液显色,当显色达到需要时用水洗膜以终止反应,膜用 TANON GIS-2008 凝胶成像仪拍照并用天能 GIS 凝胶图像处理系统进行数据处理。以上所有一抗、二抗均采用美国 Santa Cruze 公司产品,对于 CRABP-I,一抗为抗 CRABP-I (K-14),二抗为猴抗山羊 IgG-HRP;对于 RAR-β,一抗为兔多克隆 IgG、二抗为山羊抗兔 IgG-HRP。

1.2.6 Real-time PCR 法定测定视网膜中 CRABP-I 和 RAR-β 的 mRNA 含量

总 RNA 抽提:加 1 mL Trizol 在样品中,按操作规程抽提总 RNA,将干燥后的 RNA 溶解于 DEPC 处理水中,将总 RNA 作适当稀释后,分光光度计测 OD260/OD280 值,并定量分析。定量公式为:RNA 浓度(μg/mL) = OD260 值 × 40 × 稀释倍数(本实验为 400 倍)。逆转录:所用总 RNA 量为 2 μg,反应总体积为 20 μL 体系,按操作规程将 RNA 逆转录为 cDNA。荧光定量 PCR 的引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 The sequences for the primers

Primer	Upstream sequence	Downstream sequence
CRABP-I	5'-TGAACGCCATGCTGAGGAA-3'	5'-GGCGCCAAATGTCAGGATTA-3'
RAR-β	5'-TAAGATCGTGGAGTTCGCCA-3'	5'-TTTCCAAAGGCCAGGACGTG-3'
GAPDH	5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3'	5'-TCCACCACCCTGTGTCTGTA-3'

1.3 统计学方法

采用 SPSS 11.5 统计学软件进行统计学分析。豚鼠眼屈光度、眼轴长度以及视网膜中 RA 表达值均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,形觉剥夺性近视眼与对照眼的各项指标比较采用配对 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 形觉剥夺性及离焦性近视模型的建立

形觉剥夺性近视模型成功建立,在干预前即 2 周龄豚鼠中,实验组平均等效球镜度数为(3.00 ± 0.75)D,对照组为(2.88 ± 0.67)D,2 组间差异无统计学意义;实验组平均眼轴长度为(7.822 ± 0.083)mm,对照组为(7.791 ± 0.073)mm,2 组间差异无统计学意义。在诱导 2 周后,实验组平均等效球镜度数为(-3.82 ± 0.13)D,对照组为(1.99 ± 0.58)D,2 组间差异有统计

学意义(*t* = 8.376, *P* < 0.01),近视相对漂移的量为 -5.93 D;实验组平均眼轴长度为(8.346 ± 0.047)mm,对照组为(7.888 ± 0.042)mm,2 组间差异有统计学意义(*t* = 3.343, *P* < 0.05);实验组眼轴相对增长 0.447 mm(表 2)。

表 2 形觉剥夺性近视屈光参数及 RA 水平的变化($\bar{x} \pm s$)
Table 2 The refraction,axial length and retinal RA level in model eyes and control eyes before and after visual manipulation($\bar{x} \pm s$)

	Model eyes		<i>t</i>	<i>P</i>	Control eyes		<i>t</i>	<i>P</i>
	Pre-op	Post-op			Pre-op	Post-op		
Refraction(D)	3.000 ± 0.750	-3.820 ± 0.130	10.385	<0.01	2.880 ± 0.670	1.990 ± 0.580	3.977	<0.05
Axial length (mm)	7.822 ± 0.083	8.346 ± 0.047	3.257	<0.05	7.791 ± 0.073	7.888 ± 0.042	1.124	<0.05
Retinal RA (μg/g wet wt)	1.394 ± 0.079	2.356 ± 0.098	5.133	<0.01	1.295 ± 0.023	1.499 ± 0.035	3.563	<0.05

(Paired *t* test)

2.2 形觉剥夺性近视组 RA 水平的变化

HPLC 测定视网膜中 RA 的水平显示,在干预前,即 2 周龄豚鼠中,实验组平均 RA 水平为(1.394 ± 0.079)μg/g 湿重,对照组为(1.295 ± 0.023)μg/g 湿重,2 组间差异无统计学意义;而在干预 2 周之后,实验组平均 RA 水平明显增加,为(2.356 ± 0.098)μg/g 湿重,对照组为(1.499 ± 0.035)μg/g 湿重,实验组视网膜平均 RA 水平明显高于对照组(*t* = 4.934, *P* < 0.01)(表 2,图 1);对照组的 RA 水平从 2~4 周龄也有轻度的增加,差异有统计学意义(*t* = 3.563, *P* < 0.05)。

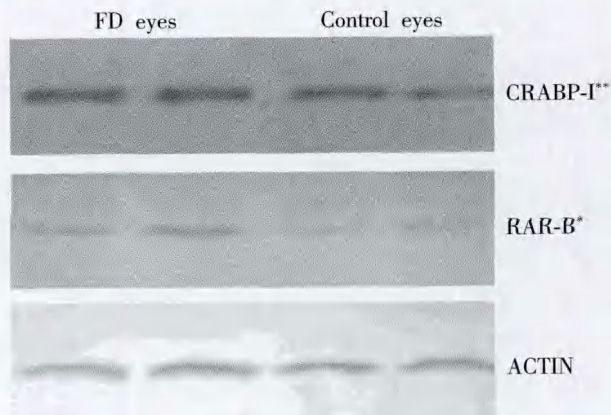


图 1 Western blot 法定测定视网膜 CRABP-I 和 RAR-β 蛋白水平的变化 与对照眼比较, **P* < 0.05, ***P* < 0.01 (配对 *t* 检验)

Fig. 1 Expression of CRABP-I and RAR-β protein in retina in model eyes and control eyes by Western blot (**P* < 0.05, ***P* < 0.01 vs respective control group)(Paired *t* test)

2.3 Western blot 及实时 PCR 法定形觉剥夺性近视视网膜中 CRABP-I 和 RAR-β 的水平

Western blot 法测定形觉剥夺性近视组中视网膜 CRABP-I 和 RAR- β 的蛋白水平的结果显示:在形觉剥夺性近视组的视网膜中,实验组 CRABP-I 的蛋白表达明显高于对照组,实验组平均水平为对照组的 1.55 倍,二者差异有统计学意义 ($t = 4.214, P < 0.01$);实验组 RAR- β 表达高于对照组,实验组平均水平为对照组的 1.23 倍,二者差异有统计学意义 ($t = 2.236, P < 0.05$) (图 1)。

Real-time PCR 法在 mRNA 表达水平测定形觉剥夺性近视模型中视网膜 CRABP-I 和 RAR- β 变化的结果见图 2。实验组 CRABP-I 的 mRNA 水平高于对照组,实验组平均水平为对照组的 1.31 倍,二者差异有统计学意义 ($t = 2.996, P < 0.05$);实验组 RAR- β 的 mRNA 水平高于对照组,实验组平均水平为对照组的 1.28 倍,二者差异有统计学意义 ($t = 2.538, P < 0.05$)。

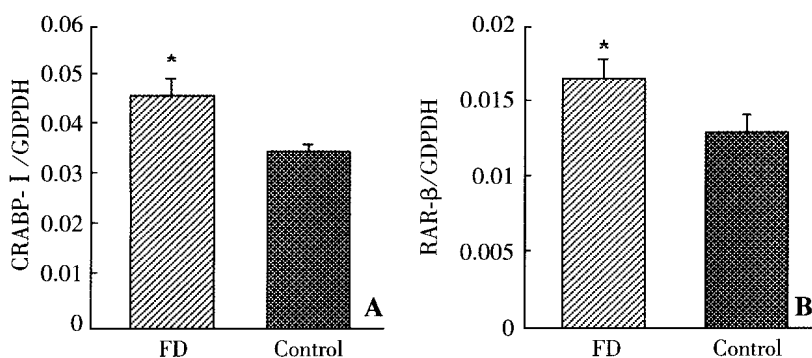


图 2 Real-time PCR 法测定 CRABP-I (A) 和 RAR- β (B) mRNA 表达水平的变化 与对照眼比较, * $P < 0.05$ (配对 t 检验)

Fig. 2 Changes of CRABP-I and RAR- β mRNA in FD groups and control group by Real-time PCR (* $P < 0.05$ vs control eyes) (Paired t test)

3 讨论

3.1 实验性近视眼动物模型的建立

实验性近视的诱导目前主要采用半透明膜遮盖形觉剥夺法。Wiesel 等^[4]早在 1977 年便报道将新生猴眼睑缝合可以导致近视发生,眼轴拉长。这种通过眼睑缝合或者雾视形觉剥夺造成的近视即形觉剥夺性近视眼已经在包括猴、鸡、豚鼠、树鼩等多种动物中被诱导出。近年来,有研究开始应用半透明膜遮盖法造形成形觉剥夺诱导近视。本研究采用形觉剥夺法成功建立了近视眼模型,2 周内形觉剥夺组诱导出 -5.93 D 的近视漂移,眼轴长度也较对照组增长 0.427 mm,分析均显示与对照组间的差异有统计学意义。

3.2 形觉剥夺性近视眼中 RA 转运系统水平的提高

视觉错误信号如何引起巩膜化学和生理学的改变

目前仍不清楚。最有可能的一种介质是全反式 RA, RA 作为维生素 A 的活性代谢物,是细胞分化与生长的有效调控因子,在胚胎早期视网膜发育阶段就起了非常重要的作用,研究表明它还可以促使大部分细胞成为神经细胞^[5]。RA 主要是通过与核受体结合作为转录因子对细胞发挥作用^[2]。因此,RA 本身和它对靶细胞的敏感性都应该被紧密调控。RA 本身的调控主要通过它的合成和代谢速率,以及 RA 受体的数量和位置的改变。RA 的合成,则依赖于所需合成酶的活性和数量。控制 RA 数量的一个重要步骤是视黄醛至 RA 不可逆的氧化过程。类视黄醇以及 RA 转入细胞内是分别由细胞视黄醇结合蛋白 (cellular retinol-binding proteins, CRBP) 和细胞 CRABP 调控的。RA 一旦进入细胞后需要与 CRABP 结合,细胞内 CRABP 的数量可以反映出细胞对 RA 的需求量^[6]。CRABP 对调控 RA 的血浆稳态浓度和促进其新陈代谢都有重要的作用^[7]。所以了解 CRABP 的变化也可以反映出 RA 转运系统的状态,由于视网膜主要为 CRABP-I 分布,故本研究将其作为主要研究指标之一,目前国内研究尚无 CRABP-I 在实验性近视眼动物模型中的相关报道。RA 进入细胞后主要是通过与核受体结合作为转录因子对细胞发挥作用,调控下游相关基因的转录。RAR- β 有多种亚型,其中全反式 RA 的作用对象为 RAR- β ,故本实验将 RAR- β 作为研究指标,且首次在豚鼠眼中进行研究。

已经证实在诱导鸡产生近视时,即采用雾视镜片导致视网膜物象模糊的条件下,全反式 RA 的量确实受到影响^[8-9]。另外,玻璃体腔注射双硫仑,一种 RA 合成的抑制剂,会减少由于形觉剥夺造成的近视度数^[10]。配戴附加镜片时视网膜 RA 的水平也会发生改变;当配戴 -15 D 的负透镜时眼球加速增长,RA 水平升高;而配戴 +15 D 的正透镜时眼轴增长减慢,RA 水平也降低^[9]。而在鸡脉络膜中 RA 的水平改变与视网膜中的相反。然而,鸡不同于哺乳类和灵长类动物,它的巩膜具有软骨层和纤维层 2 层结构。对于离焦有着显著的脉络膜反应^[11],并且相较于哺乳类和灵长类动物对离焦的反应量更大、更明显^[12]。所以本研究选取豚鼠作为动物模型探讨 RA 的转运机制在近视导致的眼球增长中的作用。

McFadden 等^[13]运用豚鼠作为动物模型已经证实,运用形觉剥夺和离焦诱发的近视眼中视网膜 RA 的量均增长,他们还用 25 mg/kg 的 RA 喂养豚鼠时引

起豚鼠的眼轴生长速度为正常的 5 倍,但并未能引起屈光状态的改变^[13]。李瑾等^[14]发现应用局部球旁注射全反式 RA 可诱导豚鼠近视漂移,提示它是动物模型中近视的信使。并且认为可能首先通过使脉络膜变薄引起玻璃体腔的深度增加,从而致视网膜成像焦点落后导致近视。本研究在形觉剥夺性豚鼠近视眼中发现近视组视网膜 RA 水平较对照组均有提高,这与 McFadden 等^[13]的研究结果一致。

CRABP 蛋白有 2 个亚型,作为一个核受体,它们均可调节下游 RA 的效应。其中 CRABP-I 主要是通过提高 RA 代谢酶的产生以及增加 RA 的降解率负向调节 RA 的活性,而 CRABP-II 则增强 RA 直接与 RA 受体(RAR)的结合,促进 RA 调节的基因转录^[15]。在形觉剥夺性近视组视网膜中 CRABP-I 和 RAR- β 的含量较对照组均有明显提高。CRABP-I 的提高反映出细胞对增高的 RA 水平作出了反应,提高的 CRABP-I 将使得 RA 代谢增多,水平下降;然而在形觉剥夺性近视组视网膜中测得的 RA 水平远远大于对照组,这表明 CRABP-I 的作用仍然不足以调整细胞内的 RA 至正常水平,且 CRABP-I 增高与 RA 增高的先后顺序目前的实验也无法解释,需要进一步的研究。

与此同时,视网膜细胞中 RAR- β 的量也增加,这说明有更多的 RA 被转运到细胞核与其核受体 RAR- β 结合。当核受体结合 RA 分子后,即聚合成二聚体,然后二聚体与靶基因上游顺式作用元件即 RA 反应元件相结合,已知 RA 反应元件不但存在于很多功能基因中,而且还参与这些基因的转录表达,其中包括对眼球发育起重要作用的 bFGF、TGF- β 等基因,甚至在 RAR- β 本身基因中也含有 RA 反应元件,这样就形成了一个正反馈,RAR- β 的增多可以再结合更多的 RA,从而进一步通过各项神经生物学因子的改变促进近视不断加深。

然而,升高的 RA 转运系统究竟是近视的起始信使还是近视发生过程中的产物目前尚不明确。今后的研究将针对 RA 转运系统中各项因子变化的时间点,并在相应时间点阻断 RA 转运系统,观察其对豚鼠近

视眼发生发展的影响,进一步了解 RA 转运系统在近视发生发展中的作用。

参考文献

- 1 Wei LN, Tao JL, ChuYS, et al. Molecular cloning and transcriptional mapping of the mouse cellular retinoic acid-binding protein gene [J]. *DNA Cell Biol*, 1990, 9: 471 - 478
- 2 Mangelsdorf DJ, Thummel C, Beato M, et al. The nuclear receptor superfamily: the second decade [J]. *Cell*, 1995, 83: 835 - 839
- 3 Mertz JR, Wallman J. Choroidal retinoic acid synthesis: A possible mediator between refractive error and compensatory eye growth [J]. *Exp Eye Res*, 2000, 70: 519 - 527
- 4 Wiesel TN, Raviola E. Myopia and eye enlargement after neonatal lid fusion in monkeys [J]. *Nature*, 1977, 266: 66 - 68
- 5 张良,唐仕波,张淳,等. 视黄酸联合视网膜细胞共培养对胚胎干细胞体外分化的诱导作用 [J]. *眼科研究*, 2004, 22(6): 565 - 568
- 6 Maden M, Ong DE, Summerbell D, et al. Cellular retinoic acid-binding protein and the role of retinoic acid in the development of the chick embryo [J]. *Dev Biol*, 1989, 135: 124 - 132
- 7 Napoli JL, Boerman MH, Chai X, et al. Enzymes and binding proteins affecting retinoic acid concentrations [J]. *Steroid Biochem Mol Biol*, 1995, 53: 497 - 502
- 8 Seko Y, Shimizu M, Tokoro T. Retinoic acid increases in the retina of the chick with form deprivation myopia [J]. *Ophthalmic Res*, 1998, 30: 361 - 367
- 9 Mertz JR, Howlett MC, McFadden S, et al. Retinoic acid from both the retina and choroid influences eye growth [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1999, 40: S849
- 10 Bitzer M, Feldkaemper M, Schaeffel F. Visually induced changes in components of the retinoic acid system in fundal layers of the chick [J]. *Exp Eye Res*, 2000, 70: 97 - 106
- 11 Wallman J. Retinal control of eye growth and refraction. // Osbourne N, Chader G, eds. *Progress in retinal research* [M]. Oxford: Pergamon Press, 1993: 133 - 153
- 12 Irving EL, Sivak JG, Callender MC. Refractive plasticity of the developing chick eye [J]. *Ophthalm Physiol Opt*, 1992, 12: 448 - 456
- 13 McFadden SA, Howlett MC, Mertz JR. Acute effects of dietary retinoic acid on ocular components in the growing chick [J]. *Exp Eye Res*, 2006, 88: 1 - 13
- 14 李瑾,瞿小妹,褚仁远. 全反视黄酸在近视形成中的作用 [J]. *眼视光学杂志*, 2006, 8: 69 - 72
- 15 Dong D, Ruuska SE, Levinthal DJ, et al. Distinct roles for cellular retinoic acid-binding proteins I and II in regulating signaling by retinoic acid [J]. *Biol Chem*, 1999, 274: 23695 - 23698

(收稿:2009-08-06 修回:2009-09-22)

(本文编辑:尹卫靖)

读者·作者·编者

本刊对前言的写作要求

前言主要回答“为什么研究”这个问题,简明扼要地介绍论文的研究背景即相关领域的研究历史与现状(此处应列出引用的参考文献),研究目的、范围和方法等;前言一般 200 字左右。勿将知识性、常识性的叙述写入前言。

(本刊编辑部)