

miR-182 在多氯联苯(PCB₁₂₅₄)暴露后视网膜神经节细胞内的表达及意义

张晓倩^{1,2}, 张 昕³, 李 楠¹, 池 霞^{1,3}, 郭锡熔^{1,3}, 童梅玲^{3*}

(¹南京医科大学儿科研究所, 江苏 南京 210029; ²南京市中医院儿科, 江苏 南京 210001; ³南京医科大学附属妇产医院儿童保健科, 江苏 南京 210004)

[摘要] 目的: 研究多氯联苯(polychlorinated biphenyls, PCBs) PCB₁₂₅₄ 引起视网膜神经节细胞毒性作用的可能机制。方法: 分别配制浓度为 0.125、0.250、0.500、1.000 mg/L 的 PCB₁₂₅₄ 对 RGC-5 细胞进行暴露处理, 并设立空白对照及 0.01% 甲醇对照组, 测定细胞内 miR-182 表达水平; 利用 miR-182 类似物或抑制剂转染 RGC-5 细胞, 使 miR-182 上调或下调, 分别检测细胞凋亡、细胞增殖功能和细胞周期; 使用 0.5、1.0 mg/L 的 PCB₁₂₅₄ 刺激 RGC-5 细胞, 再转染 miR-182 类似物, 分别检测细胞凋亡、细胞增殖功能。结果: 随着 PCB₁₂₅₄ 浓度的增高, RGC-5 细胞内 miR-182 的表达逐渐被抑制, 当浓度 ≥ 0.5 mg/L 时, 与对照组的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。在 RGC-5 细胞内沉默 miR-182 可导致 Caspase-3 活性增高 ($P < 0.05$), 表明 miR-182 沉默促进细胞凋亡; CCK-8 法显示 miR-182 沉默会导致 RGC-5 细胞活力降低 ($P < 0.05$), 表明 miR-182 沉默会抑制细胞增殖; miR-182 沉默对 RGC-5 细胞周期无显著影响 ($P > 0.05$)。使用 miR-182 类似物干预 0.5、1.0 mg/L PCB₁₂₅₄ 暴露后的 RGC-5 细胞, 发现细胞内 Caspase-3 活性下降 ($P < 0.05$)、细胞活力增加 ($P < 0.05$), 表明 miR-182 可改善 PCB₁₂₅₄ 对 RGC-5 细胞凋亡及增殖功能的影响。结论: PCB₁₂₅₄ 可能通过抑制 miR-182 的表达来影响 RGC-5 细胞的增殖和凋亡, 进而导致视功能损害。

[关键词] 多氯联苯; PCB₁₂₅₄; miR-182; RGC-5 细胞; 细胞增殖; 细胞凋亡

[中图分类号] R994.6

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)01-0035-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20170107

Expression and effects of miR-182 in retinal ganglion cells exposed to PCB₁₂₅₄

Zhang Xiaoqian^{1,2}, Zhang Xin³, Li Nan¹, Chi Xia³, Guo Xirong^{1,3}, Tong Meiling^{3*}

(¹Institute of Pediatrics, NJMU, Nanjing 210029; ²Department of Pediatrics, Nanjing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210001; ³Department of Child Health Care, Obstetrics and Gynecology Hospital Affiliated to NJMU, Nanjing 210004, China)

[Abstract] **Objective:** To study the mechanism of toxic effect of polychlorinated biphenyls PCB₁₂₅₄ on retinal ganglion cells (RGC-5). **Methods:** After RGC-5 cells were exposed to 0.125, 0.250, 0.500, 1.000 mg/L PCB₁₂₅₄, 0.01% methanol, and pure water, the level of miR-182 was detected in every group. In addition, by using the miR-182 mimics or miR-182 inhibitor to up-regulate or down-regulate the expression of miR-182 in RGC-5, apoptosis, proliferation, and cell cycle were observed. After the treatment with 0.5 mg/L and 1.0 mg/L PCB₁₂₅₄, miR-182 mimics were transfected into RGC-5 cells to observe the apoptosis and proliferation. **Results:** ① With the increasing concentration of PCB₁₂₅₄, the expression of miR-182 was declined. When the concentration was ≥ 0.5 mg/L, there were significant differences between experimental groups and the control group ($P < 0.05$). ② MiR-182 silencing led to increased Caspase-3 activity in RGC-5 cells, which indicated that miR-182 silencing promoted apoptosis ($P < 0.05$). CCK-8 assay showed that the cell viability was lower in miR-182 inhibitor group than that in the negative control group, which indicated that miR-182 silencing inhibited cell proliferation ($P < 0.05$). There were no significant differences in cell cycle between the negative control group and the miR-182 inhibitor group ($P > 0.05$). ③ When miR-182 were transfected in RGC-5 exposed to 0.5 and 1.0 mg/L PCB₁₂₅₄, the caspase-3 activity decreased ($P < 0.05$), and cell viability increased ($P < 0.05$). It showed that miR-182 could improve the toxic effect of PCB₁₂₅₄ in cell apoptosis and proliferation. **Conclusion:** Our findings suggest that the PCB₁₂₅₄ may affect the proliferation and apoptosis of RGC-5 by inhibiting the expression of miR-182, which may lead to the damage of visual function.

[Key words] polychlorinated biphenyls; PCB₁₂₅₄; miR-182; RGC-5; cell apoptosis; cell proliferation

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(01):0035-0039]

[基金项目] 国家自然科学基金(81170889);江苏省“六大人才高峰”第七批高层次人才项目(2010001);南京市医学科技发展基金项目(YKK10032)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: meilingtong111@126.com

多氯联苯 (polychlorinated biphenyls, PCBs) 又称氯化联苯, 是斯德哥尔摩公约中首批优先控制的 12 类有机污染物之一。在前期研究中, 本课题组利用斑马鱼作为动物模型, 并利用常见的多氯联苯混合物工业制剂 PCB₁₂₅₄ 作为研究工具^[1-3], 发现 PCB₁₂₅₄ 暴露可导致斑马鱼胚胎畸形率、死亡率增加^[4], 引起幼年期斑马鱼视网膜神经节细胞层及感光细胞层增厚、细胞排列紊乱^[5], 导致幼年期斑马鱼视动反应敏感性降低^[6]。在此基础上, 我们又进一步研究发现 PCB₁₂₅₄ 暴露可促进大鼠视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGCs) 模型 RGC-5 细胞凋亡, 抑制 RGC-5 细胞增殖 (数据未发表)。本研究通过揭示 PCB₁₂₅₄ 影响 RGC-5 细胞功能的机制, 探讨环境中的多氯联苯对儿童视觉系统发育的危害作用, 为如何防治多氯联苯的毒性作用提供初步的科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

大鼠 RGC-5 细胞株购于美国 ATCC 细胞库, DMEM 培养基 (Hyclone 公司, 美国); 胎牛血清、青链霉素、0.25% 胰酶 (Gibco 公司, 美国); PCB₁₂₅₄ (Sigma 公司, 美国); Taqman miR-182 及 U6 探针、Taqman MicroRNA Reverse Transcription Kit、Taqman Universal Master Mix II、Lipofectamine 2000 Transfection Reagent (Life Technologies 公司, 美国); rno-miR-182 mimics、rno-miR-182 inhibitor、negative control (上海吉玛基因公司), Caspase-3 分光光度法检测试剂盒、细胞 DNA 含量检测试剂盒 (南京凯基生物公司), CCK-8 试剂盒 (南京诺维赞生物公司)、高速冷冻离心机 (Beckman 公司, 美国), ABI7500 RT-PCR 仪 (ABI 公司, 美国), 二氧化碳恒温培养箱 (Thermo 公司, 美国), 酶标仪 (Bio-Rad 公司, 美国), BD FACS Calibur 流式细胞仪 (BD 公司, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

RGC-5 细胞使用 DMEM 完全培养基 (含 10% 胎牛血清, 1% 青链霉素), 置于 37℃ 含 5% CO₂ 的培养箱中进行培养, 待细胞增长至 80% 以上融合时传代培养, 染毒或转染前, 使用 6 孔板并调整细胞浓度为 5×10⁶ 个/L 接种细胞, 待细胞生长至 70% 融合时进行染毒或转染。

1.2.2 PCB₁₂₅₄ 染毒液配置

PCB₁₂₅₄ 以甲醇为助溶剂配成浓度 1.0 g/L 的储备液备用。使用 DMEM 完全培养基将 1.0 g/L 的

PCB₁₂₅₄ 储备液稀释为 4 个工作浓度, 分别为 0.125、0.250、0.500、1.000 mg/L, 并且设立空白对照组及 0.01% 甲醇对照组。

1.2.3 细胞转染试剂的配置

转染前 6 孔板细胞需更换为不含胎牛血清的 DMEM 培养基每孔 1.5 mL, 使用不含胎牛血清的 DMEM 培养基 250 μL 分别与 5 μL 的 negative control、5 μL 的 rno-miR-182 mimics、10 μL 的 rno-miR-182 inhibitor、5 μL Lipofectamine 2000 混合静置 5 min, 再分别将含有 negative control、rno-miR-182 mimics、rno-miR-182 inhibitor 的 DMEM 培养基与含有 Lipofectamine 2000 的 DMEM 培养基混合静置 20 min, 最后加入已接种 RGC-5 细胞的 6 孔板, 每孔 500 μL, 其中, negative control、rno-miR-182 mimics、rno-miR-182 inhibitor 的工作终浓度为 50 nmol/L, negative control 为对照组。

1.2.4 PCB₁₂₅₄ 染毒后 RGC-5 细胞中 miR-182 表达量的检测及 miR-182 转染效率的测定

PCB₁₂₅₄ 染毒 48 h 后, 或 RGC-5 细胞进行转染 24 h 后收集各组细胞, 使用 TRIzol 提取总 RNA, 1% 密度凝胶电泳法及紫外分光光度计分析 RNA 的完整性和纯度, 使用探针法根据试剂盒说明将总 RNA 逆转录成 cDNA, 定量 PCR 法检测 miR-182 的表达, 内参采用 U6, 反应体系为 20 μL, miR-182 的表达计算使用 2^{-ΔΔCt} 法。

1.2.5 RGC-5 细胞转染后细胞功能的检测

根据试剂盒说明书, 使用 Caspase-3 分光光度法试剂盒, 测定转染 24 h 后各组细胞在 405 nm 波长的吸光度, 使用公式: caspase-3 活化程度 = 实验组吸光度值 / 对照组吸光度值, 计算出各实验组 caspase-3 活化程度观察细胞凋亡水平的改变。使用 CCK-8 试剂盒检测 RGC-5 细胞的增殖能力, 在转染 24 h 后各组细胞中加入 CCK 试剂, 测定 1 h 后 450 nm 波长处的吸光度, 使用公式: 细胞活力 (%) = (实验组吸光度值 - 空白吸光度值) / (对照组吸光度值 - 空白吸光度值), 计算出各组细胞活力百分比来反映细胞的增殖能力。使用细胞 DNA 含量检测试剂盒及流式细胞仪检测细胞周期。

1.3 统计学方法

所有实验均重复 3 次。实验数据使用 SPSS19.0 软件建立数据库, 以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组实验数据均经过方差齐性检验, 组间数据比较采用单因素方差分析及两两比较, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PCB₁₂₅₄ 染毒后 RGC-5 细胞中 miR-182 表达水平的变化

低浓度组细胞内的 miR-182 表达水平与对照组无明显差异, 而高浓度组(0.500、1.000 mg/L)中的 miR-182 水平显著低于对照组($P < 0.05$, 图 1)。

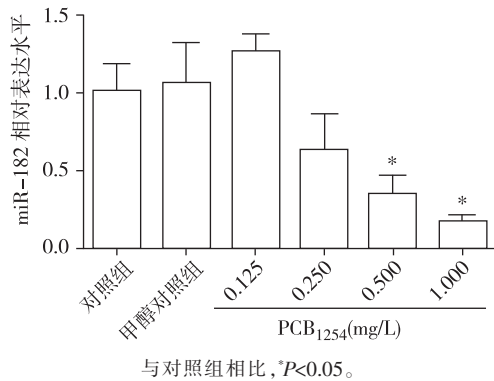


图 1 不同浓度多氯联苯暴露后各组细胞内 miR-182 的表达水平

Figure 1 Levels of miR-182 in each group of RGC-5 cells exposed to different concentrations of PCB₁₂₅₄

2.2 细胞转染效率的测定

RGC-5 细胞转染 24 h 后, RT-PCR 结果显示, 与对照组相比, miR-182 mimics 组 miR-182 的表达水平明显上调($P < 0.05$), miR-182 inhibitor 组的表达明显下调($P < 0.01$), 表明转染效率高(图 2)。

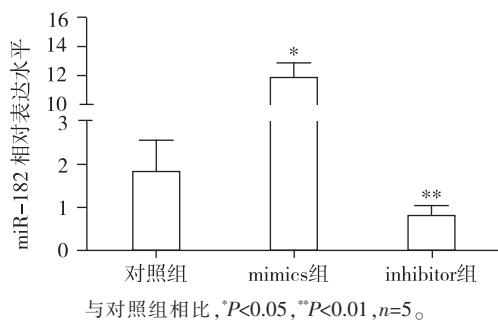


图 2 转染后各组 miR-182 的表达水平

Figure 2 Levels of miR-182 after transfection in each group

2.3 过表达或沉默 miR-182 对 RGC-5 细胞凋亡及增殖的影响

使用 Caspase-3 分光光度法试剂盒检测 RGC-5 凋亡比例, 结果发现, miR-182 mimics 组 caspase-3 活化程度与对照组相比无明显差异 ($P > 0.05$), 而 miR-182 inhibitor 组则显著升高($P < 0.05$, 图 3)。

使用 CCK-8 试剂盒检测 RGC-5 细胞的增殖能力, 结果发现 miR-182 mimics 组细胞活力与对照组

相比无明显差异($P > 0.05$), 而 miR-182 inhibitor 组细胞活力则明显下降($P < 0.01$, 图 4)。

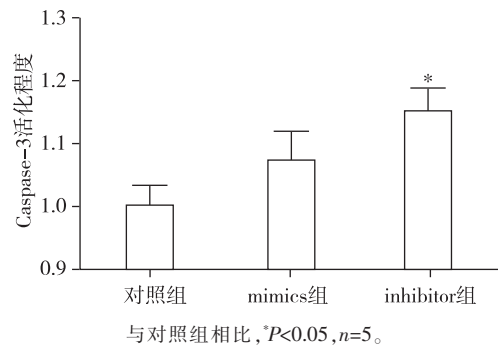


图 3 转染后各组细胞内 caspase-3 活化程度
Figure 3 Activity of caspase-3 after transfection in each group

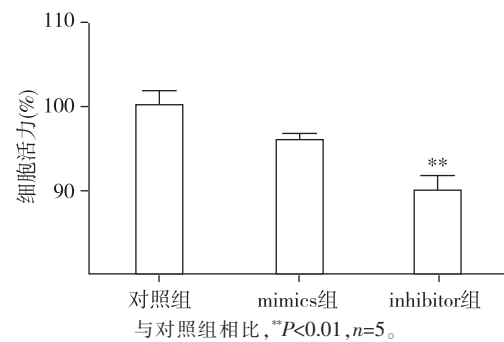


图 4 转染后 CCK-8 法测定各组细胞的活力
Figure 4 Cell viability after transfection in each group by CCK-8

使用流式细胞仪来分析 miR-182 对 RGC-5 细胞周期的影响。结果发现, miR-182 mimics 组和 miR-182 inhibitor 组无论是 G0/G1 期比例还是 G2/S 期比例都与对照组无明显差异($P > 0.05$, 表 1), 反映 miR-182 对 RGC-5 细胞周期无显著影响。

表 1 转染后各组细胞周期比较

Table 1 Comparison of cell cycle after transfection in each group (% , $\bar{x} \pm s$)

分期	对照组 (n=5)	miR-182 mimics 组(n=5)	miR-182 inhibitor 组(n=5)
G0/G1 期	65.73±1.00	67.47±0.74	66.36±0.58
G2/S 期	34.26±0.15	32.54±0.74	33.63±0.57

2.4 过表达 miR-182 对 PCB₁₂₅₄ 暴露后 RGC-5 细胞凋亡及增殖的影响

设置空白对照组、0.5 mg/L 及 1.0 mg/L 的 PCB₁₂₅₄ 暴露组, 将每组 RGC-5 细胞又分别分为未转染 miR-182 mimics 组和转染 miR-182 mimics 组, 发现 0.5 mg/L 及 1.0 mg/L PCB₁₂₅₄ 暴露后 RGC-5 细胞内 caspase-3 的活化程度与对照组相比显著升高(数据未发表),

转染 miR-182 mimics 可降低 0.5 mg/L 及 1.0 mg/L 的 PCB₁₂₅₄ 暴露后 RGC-5 细胞内的 caspase-3 活化程度 ($P < 0.05$, 图 5)。

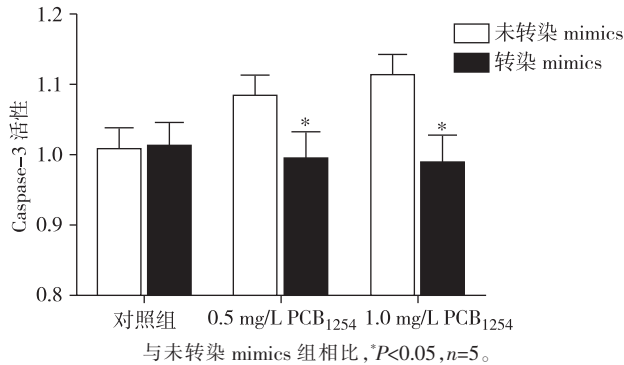


图 5 暴露 PCB₁₂₅₄ 后转染 miR-182 mimics 细胞内 caspase-3 活化程度

Figure 5 Activity of caspase-3 after transfection in RGC-5 exposed to PCB₁₂₅₄

细胞增殖能力检测结果发现 0.5 mg/L 及 1.0 mg/L PCB₁₂₅₄ 暴露后 RGC-5 细胞的活力与对照组相比显著降低 (数据未发表), 而在转染 miR-182 mimics 后, 与未转染组相比细胞活力明显增加 ($P < 0.05$, 图 6)。

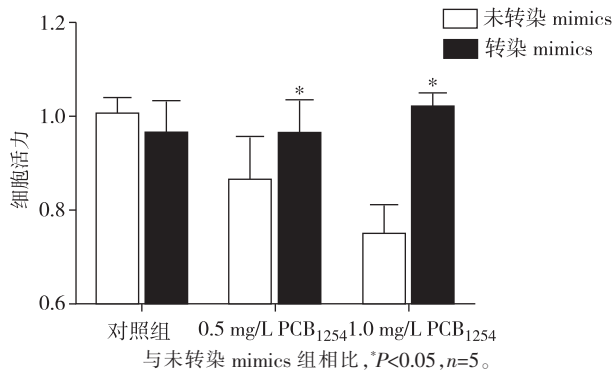


图 6 暴露 PCB₁₂₅₄ 并转染 miR-182 mimics 各组细胞的活力

Figure 6 Cell viability after transfection in RGC-5 exposed to PCB₁₂₅₄

3 讨论

视觉系统的发育起始于胚胎期,其功能的成熟完善一直持续到儿童期,其中学龄前期是视觉发育的关键期和敏感期^[7],这一时期,各种不利的因素都将影响儿童视觉的发育^[8]。流行病学调查显示,遗传因素、妊娠因素、营养因素、环境因素是影响儿童视觉功能发育的重要因素^[9],而环境因素对儿童视觉功能发育的影响日益严重^[10]。多氯联苯作为一种常见的有机污染物,长期暴露可引起人体神经系统的损害,包括头痛、记忆丧失、四肢麻木及感觉迟钝;不同年

龄组儿童暴露多氯联苯均表现为不同程度的智能受损及注意力缺陷^[11];更有研究显示乳母暴露多氯联苯可通过授乳导致婴儿体内多氯联苯蓄积,致其视觉功能受损^[12]。在我国,多氯联苯的污染现状已达到中等风险水平,研究显示我国近海海域多氯联苯的平均浓度为 985 ng/L,明显高于国外海水中多氯联苯的浓度^[13];长江入海口表层沉积物中多氯联苯的质量分数平均值为 41.65 ng/L^[14],高于加拿大海洋环境沉积物质量标准中规定的 22.5 ng/g,结合国外文献报道及本课题组前期研究结果,我们必须重视环境中的多氯联苯对儿童视觉功能发育的不良影响。本研究旨在揭示 PCB₁₂₅₄ 影响视网膜神经节细胞增殖及凋亡功能的可能机制,探讨环境中多氯联苯对儿童视觉功能的毒性作用,为防治多氯联苯对儿童视觉功能的损伤提供初步的科学依据及指导。

microRNA 是一类内源性的具有调控功能的非编码 RNA,长度为 21~23 nt,能与靶向 mRNA 结合,使其降解或对其翻译产生抑制,从而阻断靶蛋白的形成,对细胞增殖、分化和凋亡等生物学过程发挥着重要的调节作用^[15]。miR-182,近年来有研究证明其是特异性表达于视网膜的 miRNA 之一,从胚胎期即在小鼠、大鼠及斑马鱼的视网膜及其他感觉器官中有特定表达^[16]。Ryan 等^[17]研究发现除视网膜色素上皮层以外,miR-182 高表达于其余视网膜各层;Jin 等^[18]实验结果又表明 miR-182 在啮齿类动物胚胎的视网膜内层中高表达,尤其强烈表达在新生鼠的视网膜神经节细胞层;此外,Xu 等^[19]学者证明了 miR-182 在成年小鼠视网膜的感光细胞、双极细胞和无长突细胞中高表达,并参与视网膜昼夜节律的调节。综合以上学者的研究成果,尽管各家对 miR-182 在视网膜各层中的表达看法不一,但我们不难发现 miR-182 参与调控了视网膜的发育及成熟过程,对维持哺乳动物的视觉功能有重要调控作用。

本研究利用视网膜神经节细胞的理想模型 RGC-5 细胞系^[20],观察到随着 PCB₁₂₅₄ 暴露的浓度逐渐增高,RGC-5 细胞内的 miR-182 表达逐渐被抑制,当浓度 ≥ 0.5 mg/L 时,细胞内 miR-182 的水平明显低于对照组,我们推测 miR-182 可能是 PCB₁₂₅₄ 引起 RGC-5 细胞毒性作用的中间“桥梁”。因此,我们使用 miR-182 mimics 或 miR-182 inhibitor 转染 RGC-5 细胞,使细胞内的 miR-182 水平上调或下调,结果发现沉默 miR-182 虽对 RGC-5 细胞周期无明显阻滞作用,但可促进细胞凋亡、抑制细胞增殖,这与我们前期研究发现的 PCB₁₂₅₄ 暴露对 RGC-5 细胞功能影响的结果一致,即 PCB₁₂₅₄ 暴露可抑制

RGC-5 细胞增殖,促进 RGC-5 细胞凋亡(数据未发表)。以上结果证实了我们的推测,PCB₁₂₅₄ 暴露抑制了 RGC-5 细胞内 miR-182 的表达,进而影响 RGC-5 细胞的凋亡及增殖活力。为进一步证实我们的结论,本研究又选取了与对照组相比,miR-182 表达被明显抑制的高浓度 PCB₁₂₅₄ (0.5、1.0 mg/L)暴露组为实验对象,在使用 PCB₁₂₅₄ 暴露的同时在细胞内转染 miR-182 mimics, 结果发现转染 miR-182 mimics 可缓解 PCB₁₂₅₄ 对 RGC-5 细胞凋亡及增殖能力的不良影响。由此,我们总结以上的研究结果并得出结论,miR-182 对维持视网膜神经节细胞的功能有重要作用,PCB₁₂₅₄ 正是抑制了 RGC-5 细胞内 miR-182 的表达造成了细胞增殖及凋亡功能的异常,在 PCB₁₂₅₄ 暴露后的 RGC-5 细胞内过表达 miR-182 可缓解对 PCB₁₂₅₄ 对细胞的毒性作用。

综上所述,环境毒物多氯联苯可促进视网膜神经节细胞凋亡、抑制其增殖,而视网膜神经节细胞是视神经的重要组成部分,损伤后不易再生,多氯联苯暴露可导致其在生物体内蓄积,影响视网膜神经节细胞的正常功能,进而导致视功能受损。儿童处于生长发育期,易受不良环境因素的影响,长期低水平暴露多氯联苯势必将引起儿童视功能的损害。我们必须重视环境因素对儿童视功能的影响,加强对环境污染物的监测及控制,积极宣传及普及儿童眼保健知识,深入研究环境污染对儿童视功能影响的毒性机制,真正做到多管齐下,为儿童视功能的健康发展保驾护航。

[参考文献]

[1] 聂湘平,张凤君,蓝崇钰. 多氯联苯(PCB₁₂₅₄)对斑马鱼(*Brachydanio rerio*)毒性及其组织结构的影响[J]. 生态科学, 2004, 23(2):106-109

[2] 鞠 黎,楼 跃,王艳萍,等. 多氯联苯暴露对斑马鱼脊柱形态及 BMP-2、BMP-4 基因表达的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2011, 31(9):1277-1281

[3] 陶 鸿,易丽娟,孙中文,等. 多氯联苯(PCB₁₂₅₄)诱导胰岛细胞凋亡的机制研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2015, 35(3):346-351

[4] 王艳萍,洪 琴,郭 凯,等. 多氯联苯暴露对斑马鱼胚胎发育的毒性效应[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2010, 30(11):1537-1541

[5] 王艳萍,洪 琴,寇春兆,等. 多氯联苯暴露对斑马鱼视

网膜形态学及 CRX 基因表达的影响[J]. 中国儿童保健杂志, 2010, 18(12):963-966

[6] 张 昕,洪 琴,杨 蕾,等. PCB₁₂₅₄暴露致幼年斑马鱼视动反应异常及感光细胞发育相关基因表达变化[J]. 东南大学学报(医学版), 2015, 34(1):7-12

[7] 童梅玲. 儿童早期视力筛查的意义及方法 [J]. 中国儿童保健杂志, 2012, 20(6):482-484

[8] 张桂英. 学龄前儿童视觉发育影响因素分析[J]. 中国儿童保健杂志, 2005, 13(2):174-176

[9] 李安乐. 视觉发育的影响因素[J]. 中国公共卫生, 2000, 16(8):77-78

[10] 颜崇准,沈晓明. 环境化学污染与儿童健康[J]. 中国儿童保健杂志, 2007, 15(4):334-336

[11] Berghuis SA, Bos AF, Sauer PJ, et al. Developmental neurotoxicity of persistent organic pollutants: an update on childhood outcome[J]. Arch Toxicol, 2015, 89(5):687-709

[12] Riva E, Grandi F, Massetto N, et al. Polychlorinated biphenyls in colostrum milk and visual function at 12 months of life[J]. Acta Paediatrica, 2004, 93(8):1103-1107

[13] 刘敏霞,杨玉义,李庆孝,等. 中国近海海洋环境多氯联苯(PCBs)污染现状及影响因素[J]. 环境科学, 2013, 34(8):3309-3315

[14] 黄 宏,尹 方,吴 莹,等. 长江口表层沉积物中多氯联苯残留和风险评价[J]. 同济大学学报(自然科学版), 2011, 39(10):1500-1505

[15] 刘利英,徐纪茹,宋土生,等. miRNA 及其靶位点多态性的研究进展[J]. 遗传, 2010, 32(11):1091-1096

[16] Pierce ML, Weston MD, Fritsch B, et al. MicroRNA-183 family conservation and ciliated neurosensory organ expression[J]. Evol Dev, 2008, 10(1):106-113

[17] Ryan DG, Oliveira-Fernandes M, Lavker RM. MicroRNAs of the mammalian eye display distinct and overlapping tissue specificity[J]. Mol Vis, 2006, 12(5):1175-84

[18] Jin ZB, Hirokawa G, Gui L, et al. Targeted deletion of miR-182, an abundant retinal microRNA [J]. Mol Vis, 2009, 15(52-53):523-533

[19] Xu S, Witmer PD, Lumayag S, et al. MicroRNA (miRNA) transcriptome of mouse retina and identification of a sensory organ-specific miRNA cluster[J]. J Biol Chem, 2007, 282(34):25053-66

[20] Krishnamoorthy RR, Agarwal P, Prasanna G, et al. RETRACTED: Characterization of a transformed rat retinal ganglion cell line[J]. Mol Brain Res, 2001, 86(1-2):1-12

[收稿日期] 2016-05-30