3 讨论

Long Evans 大鼠是 Wistar 大鼠和野生鼠的杂交鼠，眼部含有色素，与人视网膜结构更为接近，适合眼科学实验研究。本实验用 Long Evans 大鼠来研究胚胎视杯干细胞的定位和分化特点。

视网膜干细胞存在于各发育阶段的视杯视网膜中，视杯干细胞是视杯发育成胚眼之前的视网膜干细胞，CHX10 是视网膜胚胎发育阶段原始细胞表达的特异性标记[6]。在胚胎视网膜发生过程中，视杯干细胞最开始广泛分布于视杯的内层和外层，以后不断分裂增殖。视杯内层最终形成成年的视网膜感觉部，这种视网膜的发生层在发育期指的是视杯边缘层，在成年期指的是睫状缘区[1]。在发育过程中，视杯内层视网膜干细胞最早分化为神经节细胞[7]。Thy1.1 是视网膜神经节细胞表达的特异性标记，在胞浆内合成，最终定位于胞膜上，它的出现，意味着胚胎发育阶段的原始视网膜细胞向神经节细胞分化。在 12.5 d 的胚胎中，CHX10 阳性细胞广泛分布于视杯的内外两层和边缘层中，但前脑泡中也有表达，而且此时还未出现视网膜神经节细胞的分化，说明由于视杯刚从前脑泡中发育衍生而来，这时前脑泡细胞和视杯干细胞表现出一定的一致性。在 13.5 d 的胚胎中，CHX10 阳性细胞仍广泛分布于视杯的内层和边缘层中，而且此时视杯内层晶体侧部分细胞胞浆中出现 Thy1.1 阳性，说明这些细胞胞浆内开始合成神经节细胞的标志蛋白，可能是向神经节细胞分化进程已经启动的表现。而在 14.5 d 的胚胎中，CHX10 主要分布于视杯的内外两层靠近边缘层处，即以后发育成的视网膜睫状缘部的部位，而视杯内层晶体侧的部分细胞胞膜呈 Thy1.1 强阳性，而且伸出的突起的膜也表达 Thy1.1，说明此时视杯内层晶体侧已经出现了向神经节细胞的分化，但视杯内层外侧细胞仍保持着较原始的未分化状态。前脑泡未见 CHX10 阳性细胞，这时前脑泡细胞已经向神经细胞特化，与视杯干细胞出现了较大的差异。

在 11.5 ~ 14.5 d 龄的胚胎发育过程中 PKC 和 Rhodopsin 始终阴性，以上结果显示，12.5 d 大鼠胚胎的视杯中干细胞丰富，从视杯中取材视杯干细胞，将有可能获得较原始、未分化、更易富集的细胞。

本组研究结果显示：①尾芽胚期大鼠的胚胎视杯干细胞，主要分布于视杯内层、外层和边缘层；②12.5 d 龄大鼠胚胎视杯干细胞已经增多增厚，但还未见明显的神经节细胞分化，此时取材获得的视杯干细胞，相对较丰富。这一实验结果可能为视网膜移植提供了新的种子细胞。

（致谢：感谢第三军医大学基础医学部组织胚胎学蔡文琴教授、周德山教授、李泽桂教授的指导和帮助，感谢病理生理学教研室谭小玲博士在研究工作和论文撰写中的积极参与和大力支持。）

参考文献：

[1] Tropepe V, Coles B L K, Chiasson B J, *et al*. Retinal stem cells in the adult mammalian eye[J]. Science, 2000, 287: 2032 - 2036.

[2] Schraermeyer U, Thumann G, Luther T, *et al*. Subretinally transplanted embryonic stem cells rescue photoreceptor cells from degeneration in the RCS rats[J]. Cell Transplant, 2001, 10(8): 673 - 680.

[3] Van Hoffelen S J, Young M J, Shatos M A, *et al*. Incorporation of murine brain progenitor cells into the developing mammalian retina[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, 44(1): 426 - 434.

[4] Smith L E H. Bone marrow-derived stem cells preserve cone vision in retinitis pigmentosa[J]. J Clin Invest, 2004, 114(6): 755 - 757.

[5] Chacko D M, Rogers J A, Turner J E, *et al*. Survival and differentiation of cultured optic cup progenitors transplanted in the subretinal space of the rat [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 268: 842 - 846.

[6] Gilbert S F, College S. Developmental biology[M]. 6th edi. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland, 2000. 90 - 94.

[7] Fischer A J, McGuire C R, Dierks B D. Insulin and fibroblast growth factor 2 activate a neurogenic program in Müller glia of the chicken retina[J]. J Neurosci, 2002, 22(21): 9387 - 9398.

（编辑 汪勤俭）

作者书写数字须知

根据《关于出版物上数字用法的规定》，本刊实行三位分节法（即从小数点算起，向左向右每 3 位分 1 节，节间留出一定空隙），废除千分撇分节法（如 2,431 改为 2 431）。但年份、页数、部队编号、仪表型号、标准号不用三位分节法。中文出现的数字，凡属计数数值，一律用阿拉伯数字表示。

本刊编辑部