论著

文章编号:1000-5404(2012)10-0948-05

Nogo-A/B 蛋白在 RCS 大鼠视网膜色素变性过程中的表达

耿慧萍,贺翔鸽 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所眼科)

[摘要] **目的** 观察髓磷脂抑制蛋白 Nogo-A/B 在遗传性视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)遗传模型皇家外科学院大鼠(Royal college of surgeons rat, RCS)视网膜变性发展过程中的表达并探讨其意义。**方法** 按出生后视网膜变性的发展程度将 RCS-p+(视网膜含色素的变性大鼠)分为 P15d、P30d、P60d 和 P90d 4 组,采用相应时期的 RCS-rdy+p+(视网膜含色素的正常大鼠)作为对照,5 只/时间点,利用免疫组织化学技术及免疫印迹检测 2 组(共 40 只)RCS 视网膜上 Nogo-A/B 蛋白的表达趋势。**结果** 与对照组相比,①P15d、P30d RCS-p+大鼠视网膜各层结构和细胞数目无明显变化,仅节细胞数目轻微减少;P60d、P90d 大鼠视网膜外核层(outer nuclear layer,ONL)和内核层(inner nuclear layer,INL)结构出现明显紊乱,细胞数目的减少以 ONL 和神经节细胞层(ganglion cell layer,RGC)层为主。②IH 显示 Nogo-A/B 蛋白在 RCS-p+大鼠各时间段视网膜表达均为阳性,P15d 开始出现,随变性过程呈升高趋势,主要表达在 INL 和 RGC 层,阳性细胞数目显著高于对照组。③WB 免疫印迹检测结果显示 P15d、P30d、P60d 和 P90d Nogo-A 蛋白表达量分别为(0.827 37±0.212 92)、(1.110 19±0.089 99)、(1.315 52±0.028 57)、(1.268 81±0.080 42),与对照组相比有显著差异($P<0.05$)。Nogo-B2 蛋白与 Nogo-A 蛋白表达趋势一致,但总体表达量较低。**结论** Nogo-A 蛋白可能参与了视网膜色素变性过程中视神经损伤后的再生修复抑制。

[关键词] 视网膜色素变性;Nogo 蛋白;皇家外科学院大鼠(RCS)

[中图法分类号] R329.26;R341;R774.13 [文献标志码] A

Expression of Nogo-A/B proteins in degeneration of RCS rat retinitis pigmentosa

Geng Huiping, He Xiangge (Department of Ophthalmology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the expression of Nogo-A/B proteins in the retina of Royal college of surgeons (RCS) rats (a classic genetic animal model with hereditary retinal degeneration) and its significance. **Methods** According to the development status of retinal degeneration, the RCS-p+ (RCS rats with inherited retinal dystrophy) rats were divided into 4 groups including a P15d group, a P30d group, a P60d group and a P90d group, and RCS-rdy+p+ (RCS rats without retinal degeneration) rats of the corresponding periods were used as control groups (C15d group, C30d group, C60d group and C90d group, $n=5$). Immunohistochemical assay and Western blot analysis were used to detect the expression patterns of Nogo-A/B proteins in the retinal tissues of the RCS rats (RCS-p+/RCS-rdy+p+). **Results** (1) Compared with the control groups, no obvious change of the cell numbers and thickness of retina were observed in the P15d and P30d groups, except for a slight decrease of retinal ganglion cell (RGC) number. In the P60d and P90d groups, apparent structural disorder was observed in the outer nuclear layer (ONL) and inner nuclear layer (INL) of the retina. In addition, the cell number decrease was significant in the ONL and RGC layers. (2) The immunohistochemistry results showed that the positive expression of Nogo-A/B proteins was detected in each time period, and the Nogo-A/B expression upregulated along with the retinal degeneration process from P15d, mainly locating in the INL and RGC layers. The number of Nogo-A/B-positive cells was significantly greater in the RCS-p+ rats than in the RCS-rdy+p+ rats. (3) Western blot analysis showed that the protein expression of Nogo-A of the RCS-p+ rats at P15d, P30d, P60d and P90d were (0.827 37±0.212 92), (1.110 19±0.089 99), (1.315 52±0.028 57) and (1.268 81±0.080 42), respectively, which were significantly different from those of the control groups ($P<0.05$). The trend of Nogo-B2 protein expression was consistent with that of the Nogo-A protein expression, but the quantity is relatively low. **Conclusion** Nogo-A protein may be involved in the inhibition of the regeneration and repair of optic nerve in retinitis pigmentosa.

[通信作者] 贺翔鸽,E-mail: hexiangge2011@126.com

[**Key words**] retinitis pigmentosa; Nogo protein; Royal college of surgeons rat

Corresponding author: He Xiangge, E-mail: hexiangge2011@126.com

原发性视网膜色素变性亦称为色素性视网膜炎(retinitis pigmentosa,RP),是一类以进行性感光细胞和色素上皮层功能障碍为特征的遗传性视网膜退行性疾病。RCS鼠不仅以感光细胞凋亡为特点而且存在RGC形态和功能改变[1],导致RP视神经损伤的因素尚不清楚。影响CNS及视神经损伤后再生修复困难的因素是多方面的,其中髓磷脂抑制蛋白Nogo是最主要的抑制因素[2-4]。鉴于此,本研究主要对RCS大鼠视网膜变性过程中视网膜上Nogo-A/B蛋白的表达趋势进行观察,以探讨Nogo-A/B在RP变性过程中视网膜的表达规律,为揭示视网膜色素变性所致视神经损伤后再生困难的机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 分别取出生后15 d(标记为P15d)、30 d(P30d)、60 d(P60d)、90 d(P90d)4个时间点的RCS大鼠(RCS-p+,视网膜含色素的变性大鼠)作为实验组,以相同时间点的(RCS-rdy+p+,视网膜含色素的正常大鼠)作为对照组(由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供),每个时间点各取大鼠5只,雌雄不限。

1.1.2 主要试剂与仪器 兔抗大鼠Nogo A+B多克隆抗体(英国Abcam公司,ab47085),辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗兔IgG抗体(北京中杉金桥生物技术公司),Triton X-100(美国,sigma公司,9002-93-1),光学显微镜(德国Leica公司),DU-600紫外分光光度计(Beckman,美国),电泳仪及电泳槽(Bio-Bad,美国),TRANS-BLOT SD半干电转移细胞(Bio-Rad,美国),扫描分析软件系统(Labworks Aanlysis Software,美国)。

1.2 方法

1.2.1 亲和免疫组织化学技术

1.2.1.1 视网膜石蜡切片准备 速眠新(1 ml/kg)腹腔麻醉,打开胸腔左心室插管,剪开右心房,0.9% NaCl溶液灌注冲洗至流出液基本清亮,用预冷的4%多聚甲醛灌注,取双侧眼球置于4%的多聚甲醛4 ℃固定过夜。Zeiss手术显微镜下去除眼前节及玻璃体,常规石蜡包埋,制成5 μm厚的连续石蜡切片。

1.2.1.2 免疫组化反应 石蜡切片脱蜡至水,蒸馏水冲洗,PBS浸泡5 min,采用胰酶修复抗原后3% H_2O_2室温孵育5~10 min,PBS冲洗5 min,置于0.3% Triton X-100浸泡10 min,室温下5%~10%血清封闭30 min,在PBS漂洗5 min。将切片用兔抗大鼠Nogo-A/B多克隆抗体(1∶1 000,北京中杉金桥生物技术公司抗体专用稀释液稀释)先4 ℃过夜,后室温37 ℃下孵育60 min;对照组用PBS液代替一抗。接着PBS漂洗5 min×3次。滴加适当比例稀释的山羊抗兔生物素标记二抗(1∶200),37 ℃或室温孵育60 min。PBS漂洗5 min×3次,滴加辣根过氧化物酶标记链霉素卵白素,37 ℃或室温孵育30 min。PBS漂洗5 min×3次,DAB显色,复染,脱水,透明,封片。最后在光学纤维镜下观察,拍照。

1.2.2 Western blot免疫印迹技术

1.2.2.1 视网膜组织蛋白提取及鉴定 速眠新麻醉,断颈处死,直接取双侧眼球置于冰盒内,Zeiss显微镜下去除眼前节,剥离视网膜,剪取1~2 g置于冻存管中,-80 ℃保存备用。取视网膜标本2 g加细胞裂解液1 ml,冰浴下超声破碎15 s,冰浴30 min,4 ℃,2 000×g,30 min。上清冷冻干燥24 h,用含蛋白酶稀释剂的PBS稀释蛋白沉淀。每个标本蛋白浓度用考马斯亮蓝法定量,制作蛋白标准曲线,找到样品蛋白对应的光密度值和浓度,该浓度乘以样品的稀释倍数即为样品的原始浓度。

1.2.2.2 蛋白质SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离及转移 按常规制备体积分数7.5%的分离胶和体积分数为4%的积层胶,各取20μl上清液,100 ℃加热变性5 min,通电电泳后用半干电转移法将蛋白质转移至PVDF膜,根据所需蛋白质的质量按Marker剪开膜后加入封闭液室温封闭1~2 h,置于4 ℃冰箱过夜。后PBS冲洗加入兔抗大鼠Nogo A+B多克隆抗体20 μl(1∶1 000),同时加入山羊抗GAPDH单克隆抗体10 μl(1∶2 000)/小鼠抗β-action单克隆抗体10 μl(1∶2 000),室温反应1 h。PBS洗涤后加入抗鼠和抗兔HRP-IgG 3% 30 ml各加12 μl(1∶2 500),室温孵育1h后充分洗涤,加入发光底物,经胶片曝光、显影、定影,显现特异蛋白质信号。实验重复3次,条件完全一致。

1.3 统计学分析

采用SPSS 13.0统计学软件,计量数据以$\bar{x}\pm s$表示。使用Quantity one灰度分析软件和IPP图像分析软件,对不同时间点实验组和对照组目的蛋白质灰度值与内参蛋白质灰度值的比值来表示目标蛋白的表达强度。在符合正态性和方差齐性的条件下,进行单因素方差分析法分析。

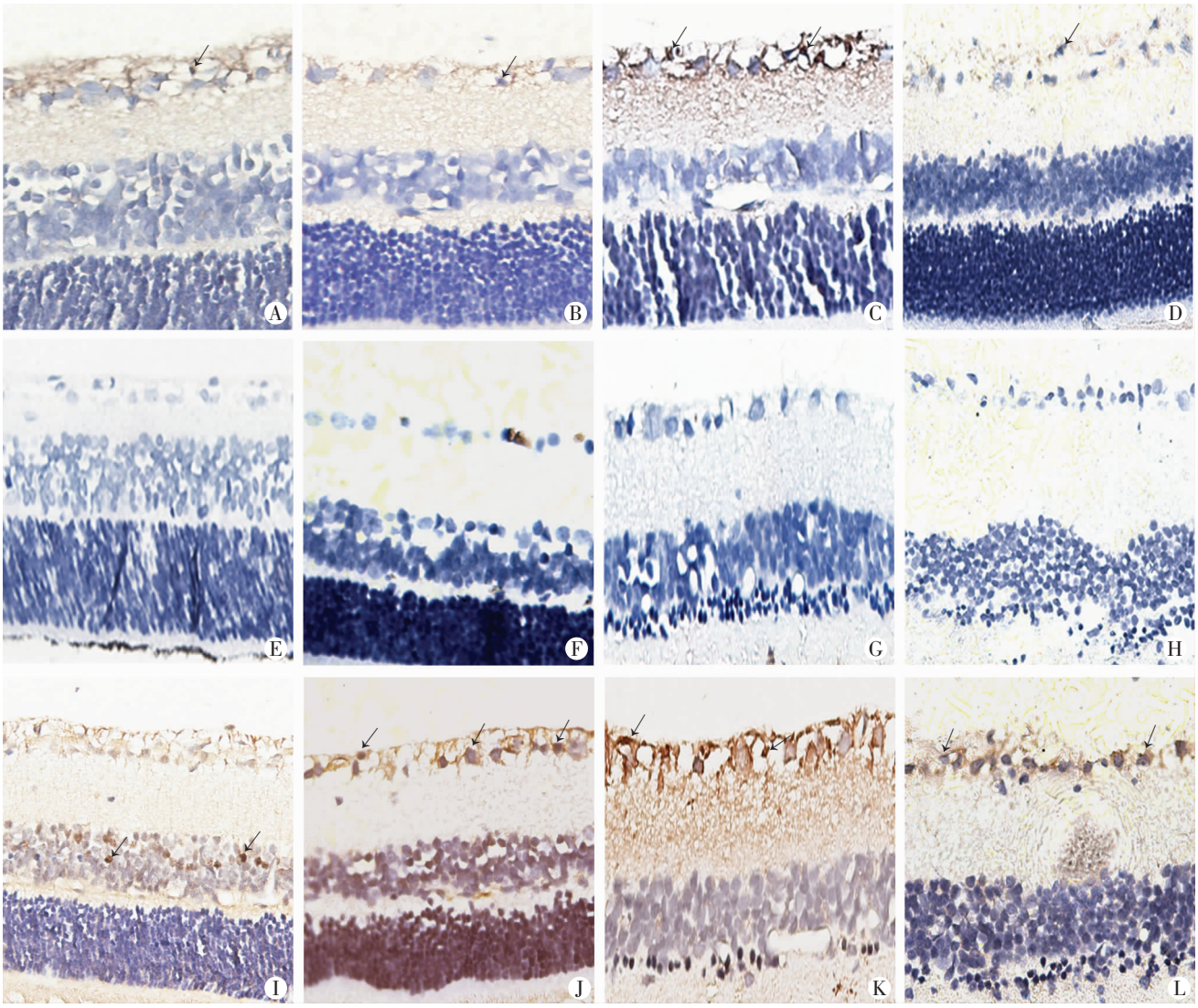
2 结果

2.1 免疫组化结果

RCS-rdy+p+(含色素的正常大鼠)不同变性阶段视网膜Nogo-A/B蛋白表达均为阳性,可见RGC层呈少量阳性染色,各年龄阶段Nogo-A/B蛋白表达无明显差异(图1A~D)。RCS-p+(含色素的变性大鼠-免疫组化染色阴性对照)变性过程中视网膜结构变化,中后期P60d和晚期P90d视网膜ONL层结构重度紊乱,厚度明显变薄,INL层结构明显紊乱,但厚度轻度变薄(图1E~H);RCS-p+(含色素的变性大鼠)不同变性阶段视网膜Nogo-A/B蛋白表达为强阳性,尤其视网膜RGC层呈明显阳性染色,INL层染色以P15d较明显,ONL层几乎无表达,RP发展过程中RGC层Nogo-A/B蛋白阳性表达呈动态变化,随变性发展过程呈表达增加趋势(图1I~L)。

2.2 Western blot结果

视网膜组织各组不同时间点Nogo蛋白表达情况见图2,表1~3。与对照组相比,Nogo-A蛋白灰度值在P15d就显著增高



A～D:分别为对照组 RCS-rdy+p+(含色素的正常大鼠)出生后发育过程中 P15d、P30d、P60d、P90d NogoA+B 蛋白在视网膜上的表达,可见 RGC 层呈少量阳性染色(箭头示);E～H:分别为 RCS-p+(含色素的变性大鼠-免疫组化染色阴性对照)出生后 P15d、P30d、P60d、P90d 病变过程视网膜结构变化;I～L:分别为 RCS-p+(含色素的变性大鼠)出生后病变过程中 P15d、P30d、P60d 和 P90d Nog-A/B 蛋白在视网膜上的表达,可见视网膜 RGC 层呈明显阳性染色,INL 层染色以 P15d 较明显(箭头示)

图1 免疫组化检测 RCS 大鼠出生后视网膜 Nogo-A/B 表达(SABC ×400)

($P<0.05$),持续增高至 60 d,90 d 时有所下降($P<0.01$);与对照组相比,视网膜 Nogo-B_1 蛋白的表达量无明显趋势变化规律,15 d、90 d 表达高($P>0.05$),30、60 d 表达稍低($P<0.01$);视网膜 Nogo-B_2 蛋白的表达量和 Nogo-A 具有一致的表达趋势,随病程呈现显著升高趋势($P<0.01$)。

表1 不同时期视网膜表达 Nogo-A 蛋白灰度值比较($n=4$, $\bar{x}\pm s$)

组别	15 d	30 d	60 d	90 d
实验组	0.827 37±0.212 92[a]	1.110 19±0.089 99[a]	1.315 52±0.028 57[a]	1.268 81±0.080 42[a]
对照组	0.428 17±0.189 69	0.406 34±0.064 88	0.445 01±0.058 35	0.409 06±0.081 59
P 值	0.031	0.000	0.000	0.000

a: $P=0.000$,4 个时间点两两比较

表2 不同时期视网膜表达 Nogo-B1 蛋白灰度值比较($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

组别	15 d	30 d	60 d	90 d
实验组	0.120 27±0.013 86[a]	0.066 82±0.009 67[a]	0.044 67±0.012 15[a]	0.191 86±0.021 38[a]
对照组	0.117 28±0.165 17	0.146 60±0.017 61	0.129 03±0.014 02	0.161 53±0.006 81
P 值	0.977	0.002	0.001	0.079

a: $P=0.000$,4 个时间点两两比较

表3 不同时期视网膜表达 Nogo-B2 蛋白灰度值比较($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

组别	15 d	30 d	60 d	90 d
实验组	0.319 4±0.004 43[a]	0.369 96±0.004 45[a]	0.415 83±0.004 48[a]	0.428 23±0.009 42[a]
对照组	0.280 1±0.018 61[a]	0.271 55±0.015 13[a]	0.236 50±0.023 21[a]	0.161 43±0.018 41[a]
P 值	0.024	0.000	0.000	0.000

a: $P=0.000$,4 个时间点两两比较

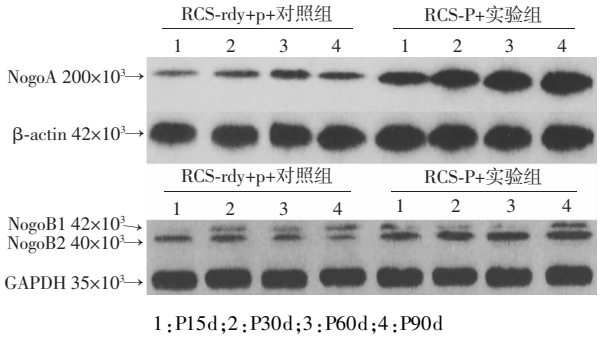


图 2 免疫印记法检测 Nogo-A、Nogo-B（B1/B2）蛋白在 RP（8RCS-p+/RCS-rdy+p+）病程 4 个阶段中视网膜中的表达

3 讨论

视网膜色素变性亦称为色素性视网膜炎，是一种遗传性视网膜变性疾病。RCS 大鼠是研究 RP 的经典遗传模型，具有和人类 RP 相似的病理变化及功能特征[5]。一般认为 RP 病理改变以初始感光细胞变性为主，并继发引起视网膜内层细胞的重塑[6]，研究指出 RP 变性所致 RGC 损伤存在和青光眼 RGC 损伤类似的轴突转导功能的缺陷，说明 RP 变性过程中不仅存在感光细胞的变性还存在 RGC 的损伤[1]，且 RCS 大鼠出生后早期已经出现 RGC 电生理的异常[7]。甚至有研究提出初始视杆细胞的凋亡可能是早期神经节细胞轴突神经转导功能异常所致[8]，以上表明 RGC 细胞的变性是 RP 病理变化过程中重要的一部分，且早期出现功能改变，但 RGC 形态改变如何尚未报道，研究 RGC 在视网膜色素变性过程中形态和数量上的变化，可以为理解视网膜色素变性病理特点提供依据。本实验对 RCS 大鼠视网膜结构观察发现：变性早期视网膜外层结构尚未显著改变，内层 RGC 细胞数目却已经出现轻微减少，这进一步验证 RP 变性中确实存在 RGC 细胞的损伤，且在 RP 变性早期即出现，但 RGC 细胞缺失的数目并不显著，可能是 RP 变性过程中存在异位细胞如 Muller 迁入视网膜内层和胶质细胞增生，因此节细胞数量上的缺失易被掩盖[9]，故早期检测到轻微的节细胞缺失即意味着比较严重的 RGC 的改变。但也有研究对 RP 其他遗传模型进行形态和功能检测得到不一致的结论[10-12]，以上表明在视网膜色素变性的早期不仅存在感光细胞的变性，也存在 RGC 的凋亡，但存在模型差异性。因此，对 RP 治疗策略的相关研究不应只局限于感光细胞的变性对 RP 的影响，病变早期给予 RGC 的神经保护性干预对延缓 RP 患者视力的丧失具有重要意义。

目前 RP 视网膜细胞变性的因素包括低水平的视紫质磷酸化[13]，细胞所处内环境中抑制蛋白 arrestin 表达增加[14] 和 NT 减少[15] 等，关于髓磷脂抑制蛋白 Nogo 少见报道。Nogo 蛋白是少突胶质细胞源性的髓磷脂抑制因子，对 CNS 及机械伤、钳夹伤、高眼压所致眼部视神经损伤均具有重要抑制作用。Nogo-A 蛋白是 Nogo 基因编码的最主要的抑制蛋白，一般表达在少突胶质细胞和一些神经元中[16-17]，主要通过和其受体 NgR [16,18] 及共受体 P75NTR[19] 结合发挥抑制作用。研究证实 RCS 大鼠的 RGC 和感光细胞均表达 P75NTR 受体，并和 RP 所致视网膜细胞的凋亡存在直接关系[20]，因此我们设想髓磷脂抑制因子 Nogo-A 蛋白可能参与 RP 变性中 RGC 损伤后的再生抑制。为验证这一假设本实验利用亲和免疫组织化学技术检测 Nogo-A 蛋白在 RCS 大鼠视网膜上的表达，结果显示 RP 变性的 4 个阶段中 Nogo-A 蛋白均有表达，且在变性早期即出现，主要位于 RGC 层和 INL 层，ONL 层几乎无表达。Nogo-A 蛋白在变性早期主要表达在 INL，而后以 RGC 层为主的原因可能和 Muller 在视网膜的分布状态相关。Muller 是视网膜内发挥重要连接作用的胶质细胞，其胞体主要位于 INL 层靠近 RGC 的一侧，而与靠近 ONL 层的感光细胞仅以长突触连接，且 Nogo-A 蛋白活性功能区域 Nogo66 和 amino-Nogo（NIG），一般在髓磷脂和少突胶质细胞 Muller 细胞等受损后暴露出来，后随蛋白被分泌进入到细胞外基质发挥抑制作用[21]，因此 Nogo-A 在其主要来源 Muller 所处部位 INL 层含量较高，随后分泌到视网膜内层如 RGC 所处微环境中，以最终发挥对 RGC 抑制作用。免疫印迹法 Western blot 进一步定量检测发现 Nogo-A 蛋白随病程发展呈现逐渐增加的趋势，表明 Nogo-A 蛋白可能参与了 RP 变性过程。WB 显示 Nogo-A 蛋白在 P60d 达到高峰，P90d 相比稍下降的原因可能是 RP 变性晚期视网膜全层出现不可逆缺失和变构[6]，在一定程度上抑制了 Nogo-A 蛋白的分泌。本研究结果表明 Nogo-A 蛋白可能参与了 RP 变性过程，其在视网膜上的动态表达变化也进一步验证了在视网膜色素变性过程中视神经损伤的存在及 Muller 细胞的激活，以上结果表明 Nogo-A 蛋白可能参与了 RP 视网膜变性视神经损伤后的再生抑制。

Nogo-B 蛋白和 Nogo-A 蛋白都是由 Nogo 基因编码的蛋白质，它们存在共有的活性区域氨基末端和含 66 个氨基酸序列，在神经损伤后的再生修复中发挥重要作用，研究表明 Nogo-B 在 CNS 和 PNS 中均有广泛分布[22]。目前对 Nogo-B 蛋白功能研究较少，其亚型 Nogo-B1 和 Nogo-B2 的分布主要集中于血管内皮细胞[23]，以血管相关功能为主，目前 Nogo-B 抑制神经再生的功能尚有争议[24]。研究指出 NogoA 蛋白和NogoB

蛋白之间尚存在复杂的相互作用[22],在 Nogo-A 基因敲除小鼠中同时出现了 Nogo-B 蛋白的表达上调[25]。本实验免疫印迹结果显示 Nogo-B1 蛋白在 RCS 大鼠视网膜中的表达无明显规律。Nogo B2 蛋白表达量在90d 时较 15、30 d 升高,说明 Nogo B2 可能也参与了 RP 变性过程,但对照组 90d 时反而较前期下降,原因可能和 Nogo-A 一样均受到 RP 变性晚期视网膜全层细胞变性凋亡的影响[6],和 Nogo-B 蛋白的血管作用及三种蛋白之间相互作用有无联系尚不明确。总之,Nogo-B 蛋白在 RP 变性过程中的作用尚不确定,需深入验证。

以往关于 RP 治疗方法的研究主要针对初始病变感光细胞,并未考虑到视网膜变性过程中抑制性因素对视神经再生的影响。目前对 RP 导致视神经再生修复困难的原因尚无确切的结论。本研究从另一个角度证实在 RP 变性过程中存在少突胶质细胞源性的髓磷脂抑制因子 Nogo-A 蛋白的表达,这将对进一步探索 RP 的病理机制和治疗方法具有重要意义。

参考文献:

[1] Sposato V, Iovieno A, Sornelli F, *et al*. Axonal transport deficit in the optic nerve of rats with inherited retinitis pigmentosa and experimentally induced glaucoma [J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2008, 246(11): 1553 - 1558.

[2] Su Y, Wang F, Zhao S G, *et al*. Axonal regeneration after optic nerve crush in Nogo-A/B/C knockout mice[J]. Mol Vis, 2008, 14: 268 - 273.

[3] Delekate A, Zagrebelsky M, Kramer S, *et al*. NogoA restricts synaptic plasticity in the adult hippocampus on a fast time scale[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(6): 2569 - 2574.

[4] Liao X X, Chen D, Shi J, *et al*. The expression patterns of Nogo-A, myelin associated glycoprotein and oligodendrocyte myelin glycoprotein in the retina after ocular hypertension: the expression of myelin proteins in the retina in glaucoma [J]. Neurochem Res, 2011, 36(11): 1955 - 1961.

[5] Rivas M A. Vecino E. Animal models and different therapies for treatment of retinitis pigmentosa[J]. Histol Histopathol, 2009, 24(10): 1295 - 1322.

[6] Jones B W, Marc R E. Retinal remodeling during retinal degeneration [J]. Exp Eye Res, 2005, 81(2): 123 - 137.

[7] Chen Z S, Yin Z Q, Chen S, *et al*. Electrophysiological changes of retinal ganglion cells in Royal College of Surgeons rats during retinal degeneration [J]. Neuroreport, 2005, 16(9): 971 - 975.

[8] Morrison, J C, Johnson E C, Cepurna W, *et al*. Understanding mechanisms of pressure-induced optic nerve damage [J]. Prog Retin Eye Res, 2005, 24(2): 217 - 240.

[9] Marc R E, Jones B W, Anderson J R, *et al*. Neural reprogramming in retinal degeneration [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(7): 3364 - 3371.

[10] Kolomiets B, Dubus E, Simonutti M, *et al*. Late histological and functional changes in the P23H rat retina after photoreceptor loss [J]. Neurobiol Dis, 2010, 38(1): 47 - 58.

[11] Stasheff S F. Emergence of sustained spontaneous hyperactivity and temporary preservation of OFF responses in ganglion cells of the retinal degeneration (rd1) mouse [J]. J Neurophysiol, 2008, 99(3): 1408 - 1421.

[12] Mazzoni F, Novelli E, Strettoi E. Retinal ganglion cells survive and maintain normal dendritic morphology in a mouse model of inherited photoreceptor degeneration [J]. J Neurosci, 2008, 28(52): 14282 - 14292.

[13] Yamazaki H, Ohguro H, Maeda T, *et al*. Preservation of retinal morphology and functions in Royal College Surgeons rat by nilvadipine, a Ca^{2+} antagonist [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2002, 43(4): 919 - 926.

[14] Peterson J J, Tam B M, Moritz O L, *et al*. Arrestin migrates in photoreceptors in response to light: a study of arrestin localization using an arrestin-GFP fusion protein in transgenic frogs[J]. Exp Eye Res, 2003,76(5): 553 - 563.

[15] Amendola T, Fiore M, Aloe L. Postnatal changes in nerve growth factor and brain derived neurotrophic factor levels in the retina, visual cortex, and geniculate nucleus in rats with retinitis pigmentosa [J]. Neurosci Lett, 2003, 345(1): 37 - 40.

[16] Nyatia E, Lang D M. Localisation and expression of a myelin associated neurite inhibitor, Nogo-A and its receptor Nogo-receptor by mammalian CNS cells[J]. Res Vet Sci., 2007, 83(3): 287 - 301.

[17] Liu H, Ng C E, Tang B L. Nogo-A expression in mouse central nervous system neurons [J]. Neurosci Lett, 2002, 328(3): 257 - 260.

[18] 谢琳,贺翔鸽, 何凤慈, 等. Nogo-66 受体在大鼠神经组织中的表达[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27(23): 2335 - 2337.

[19] Yiu G, He Z. Glial inhibition of CNS axon regeneration [J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(8): 617 - 627.

[20] Sheedlo H J, Srinivasan B, Brun-Zinkernagel A M, *et al*. Expression of p75(NTR) in photoreceptor cells of dystrophic rat retinas [J]. Brain Res Mol Brain Res, 2002, 103(1/2): 71 - 79.

[21] Gonzenbach R R,Schwab M E, *et al*. Disinhibition of neurite growth to repair the injured adult CNS: focusing on Nogo[J]. Cell Mol Life Sci, 2008, 65(1): 161 - 176.

[22] Huber A B, Weinmann O, Brosamle C, *et al*. Patterns of Nogo mRNA and protein expression in the developing and adult rat and after CNS lesions[J]. J Neurosci, 2002, 22(9): 3553 - 3567.

[23] Pan J W, Zheng X, Yang P Y, *et al*. Different expressions of Nogo-B1 and Nogo-B2 in mouse heart microvascular endothelial cell dysfunction induced by lysophosphatidylcholine [J]. Microvasc Res, 2006, 72(1/2): 42 - 47.

[24] Zhao B, Chun C, Liu Z,*et al*. Nogo-B receptor is essential for angiogenesis in zebrafish via Akt pathway[J]. Blood, 2010, 116(24): 5423 - 5433.

[25] Simonen M, Pedersen V, Weinmann O, *et al*. Systemic deletion of the myelin-associated outgrowth inhibitor Nogo-A improves regenerative and plastic responses after spinal cord injury[J]. Neuron, 2003, 38(2): 201 - 211.

(**收稿**:2012-02-14;**修回**:2012-03-01)

(编辑 张 维)