

胡海坚,张旭. 斑马鱼动物模型在眼科中的应用研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(7): 966-972.

Hu HJ, Zhang X. Research progress on the application of zebrafish animal models in ophthalmology [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(7): 966-972.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.07.012

斑马鱼动物模型在眼科中的应用研究进展

胡海坚,张旭*

(南昌大学附属眼科医院,江西省眼科学与视觉科学研究所,江西省眼科疾病临床医学研究中心,
国家眼耳鼻喉疾病临床医学研究中心江西省分中心,南昌 330006)

【摘要】 斑马鱼已成为一种广泛用于研究脊椎动物发育、疾病遗传机制和药物毒理学的模式生物。由于斑马鱼与人类的眼睛在形态、生理、功能和基因表达的相似性,胚胎容易获得、发育很快而且易于观察和操作等特点,使其成为人类眼科疾病的良好动物模型,并为进一步探究疾病发生机制和治疗方法提供新的见解。本综述将介绍斑马鱼的眼部特征、斑马鱼动物模型在眼科疾病及药物疗效、药物眼毒性评估中的应用。

【关键词】 斑马鱼;动物模型;眼科疾病;药物

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2022) 07-0966-07

Research progress on the application of zebrafish animal models in ophthalmology

HU Haijian, ZHANG Xu*

(Affiliated Eye Hospital of Nanchang University, Jiangxi Research Institute of Ophthalmology and Visual Science, Jiangxi Clinical Research Center of Ophthalmic Disease, Jiangxi Branch of National Clinical Research Center for Ocular Diseases, Nanchang 330006, China)

Corresponding author: ZHANG Xu. E-mail: xuzhang19@163.com

【Abstract】 Zebrafish has become a widely used model organism to study vertebrate development, genetic mechanisms of diseases, and drug toxicology. There is high similarity in the morphology, physiology, functions, and gene expression of zebrafish and human eyes. Furthermore, zebrafish embryos are easy to obtain, develop rapidly, and easily observed and manipulated. Therefore, zebrafish has become a good animal model for human ophthalmic diseases and provide new insights to further explore the pathogenesis of diseases and treatment method. This review introduces the ocular characteristics of zebrafish, the application of zebrafish animal models in ophthalmic diseases, and evaluation of ophthalmic drug efficacy and ocular toxicity of drugs.

【Keywords】 zebrafish; animal models; ophthalmic diseases; drugs

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

斑马鱼已成为一种广泛用于研究脊椎动物发育、疾病遗传机制和药物毒理学的模式生物,其原因在于斑马鱼体外发育的胚胎透明,使发育的可视化成为可能^[1-2]。此外,斑马鱼世代时间很短,每周可产生约200个后代,可以大量繁殖,

并且易于维护,成本相对较低^[3]。而且,斑马鱼胚胎发育很快,大脑、心脏、肝、肠道和眼睛等大部分器官在受精后1 d内发育并在7 dpf(day post fertilization, dpf)内发挥作用,胚胎在3 dpf左右孵化并且可以自由游动,5 dpf左右显示出功能性视

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81860170),江西省自然科学基金项目(20181ACG70010)。

Funded by National Natural Science Foundation of China (81860170), Jiangxi Provincial Natural Science Foundation (20181ACG70010).

【作者简介】 胡海坚(1995—),男,博士,研究方向:青光眼。Email:863148576@qq.com

【通信作者】 张旭,男,博士,主任医师,教授,博士生导师,研究方向:青光眼。Email:xuzhang19@163.com

觉^[4]。斑马鱼的眼睛与体型大小相比,相对较大,使得在早期胚胎发生过程中进行眼芽操作是可行的^[1]。同时,斑马鱼所具备的强大的视觉行为,包括视动反应、眼动反应、趋光反应、惊恐反应和逃避反应等,使视功能结果容易获得^[5]。基因组测序表明,71.4%的人类基因及82%的人类致病基因至少有一种斑马鱼直系同源物^[6]。综上所述,斑马鱼已成为人类眼科疾病的良好的动物模型,并为进一步探究疾病发病机制和治疗方

法提供新的见解。本综述将介绍斑马鱼的眼部特征,斑马鱼动物模型在眼科疾病及药物疗效、药物眼毒性评估中的应用。

1 斑马鱼的眼部特征

斑马鱼眼睛在形态、生理、功能和基因表达上与人类眼睛相似,但同时也存在一些差异(见表1),以下将通过角膜、前房角、晶状体、视网膜和视神经等方面进行阐述。

表1 斑马鱼与人类眼部特征比较

Table 1 Comparison of the eye features between zebrafish and human

结构 Structure	人类 Human	斑马鱼 Zebrafish
角膜 Cornea	基质层较厚,存在角膜神经纤维 Thicker corneal stroma, included corneal nerve fibers	基质层较薄,缺乏角膜神经纤维 Thinner corneal stroma, absent corneal nerve fibers
前房角 Anterior chamber angle	小梁网结构 Trabecular meshwork	腹侧管状网络结构 Ventral canalicular network
晶状体 Lens	椭圆形 Ellipsoidal	接近球形 Nearly spherical
视网膜 Retina	厚度较厚,神经节细胞高度密集,包含黄斑结构 Thicker retina, highly populated ganglion cells, included macula	厚度较薄,神经节细胞相对稀少,缺乏黄斑结构 Thinner retina, less densely populated ganglion cells, absent macula
髓鞘 Myelination	视网膜内轴突无髓鞘,而视神经轴突有髓鞘 Retinal axons are unmyelinated, while optic nerve axons are myelinated	全部轴突都有髓鞘 Whole axons are myelinated
视神经纤维 投射 Optic nerve fiber projection	每只眼睛一半视神经纤维投射到大脑同侧,另一半穿过视交叉,投射到大脑对侧 Half of the optic nerve fibers in each eye project to the same side of the brain, while the other half project to the opposite side of the brain through the optic chiasm	每只眼睛所有的视神经纤维都穿过视交叉,并延伸到大脑对侧 All of the optic nerve fibers in each eye pass through the optic chiasm and extend to the opposite side of the brain
视觉 Vision	视锥细胞主导的三色视觉,缺乏紫外线敏感的视锥细胞 Cone-dominated trichromatic vision, absent UV-sensitive cones	视锥细胞主导的四色视觉,包含紫外线敏感的视锥细胞 Cone-dominated tetrachromatic vision, included UV-sensitive cones
眼位 Eye position	双眼高度重叠视觉的正视眼 Frontal eyes with highly overlapped binocular vision	双眼较少重叠视觉的侧视眼 Lateral eyes with less overlapped binocular vision

1.1 角膜

斑马鱼和人类的角膜都包括五层:角膜上皮层、前弹力层、基质层、后弹力层和角膜内皮层。而且与其他脊椎动物一样,斑马鱼角膜也是无血管的^[7]。但斑马鱼角膜与人类角膜相比也存在一定的差异,如角膜神经纤维缺乏,基质层厚度较薄等^[8]。

1.2 前房角

大多数哺乳动物介导房水产生和清除的组织在前房角呈对称分布,房水主要通过前房角向四周流动^[9]。而斑马鱼房水从背侧睫状体上皮产生,流到腹侧管状网络和玻璃体-视网膜血管^[10]。虽然斑马鱼前房角的整体结构与哺乳动物不同,但睫状体

上皮细胞和房水流出通路的细胞仍具有高度的保守性^[10]。

1.3 晶状体

斑马鱼和人类的晶状体均由紧密排列的晶状体纤维组成,它们在前外周被单层晶状体上皮细胞包围^[3]。哺乳动物晶状体上皮细胞的末端位于晶状体赤道附近,而斑马鱼晶状体上皮细胞的末端则进一步向后延伸^[3]。此外,斑马鱼的晶状体形状也比人类更接近球形,几乎负责所有光折射,而其他脊椎动物大部分光折射由角膜完成^[11]。人类和斑马鱼中都有 α 、 β 和 γ 三种晶状体蛋白,晶状体蛋白的相似性使其成为研究活体动物晶状体的绝佳模型^[12]。

1.4 视网膜

与人类相似,斑马鱼光感受器由视锥细胞和视杆细胞组成。斑马鱼视锥细胞可分为蓝色、绿色、红色和紫外线敏感视锥细胞,因此斑马鱼的视觉是四色的。而人眼缺乏紫外线敏感视锥细胞,只有三色视觉^[5]。虽然斑马鱼和啮齿动物都没有黄斑,但由于斑马鱼有白天活动的节律,而且视网膜以视锥细胞为主,因此具有良好的色觉^[4]。斑马鱼视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)密度大于大鼠和小鼠,具有较高的视力,因此更接近人类视觉^[5]。与哺乳动物不同,斑马鱼能够再生受损的视网膜,其再生的关键是 Müller 胶质细胞,它能够分裂并产生多能视网膜祖细胞和再生主要的视网膜神经元^[13]。

1.5 视神经

人类筛板前的视神经轴突没有髓鞘,筛板后的视神经轴突有髓鞘,而斑马鱼全部视神经轴突都有髓鞘,视网膜内轴突有松散的单层髓鞘,视神经轴突则由致密的髓鞘包裹^[14]。人类每只眼睛一半视神经纤维投射到大脑同侧,另一半穿过视交叉,投射到大脑对侧,而斑马鱼每只眼睛所有的视神经纤维都穿过视交叉并延伸到大脑对侧^[15]。

2 斑马鱼动物模型在眼科疾病的应用

斑马鱼已广泛用于了解人类疾病相关基因的生物活性,去除斑马鱼基因功能的方法包括基于吗啉代寡核苷酸(morpholino oligonucleotides, Mos)的基因敲除技术来影响靶基因的翻译或剪接、使用成簇的规律间隔短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeat, CRISPR)及其相关蛋白 9(CRISPR-associated protein 9, Cas9)的基因编辑技术来实现靶基因的突变。此外,一些基于药物、光照或机械损伤等诱因建立的斑马鱼动物模型在眼科疾病中也得到了良好的应用。以下将对斑马鱼动物模型在角膜疾病、白内障、青光眼、视网膜疾病和视神经损伤等眼科疾病中的应用进行阐述。

2.1 角膜疾病

角膜营养不良是一组具有遗传异质性的疾病。人类 *MAB21L* 基因突变会导致角膜营养不良,斑马鱼 *mab21l1* 基因突变表现为角膜变薄,并随着年龄的增长而发展,还表现为角膜细胞死亡增加,角膜转化为皮肤样上皮细胞^[16]。Zebrafish 是一组能够对整个生物体或特定的组织进行多色标记的转基因

斑马鱼,有研究者使用 Zebrafish 成功实现了角膜细胞的可视化和跟踪,这些发现对于深入了解这些细胞在角膜疾病如角膜缘干细胞缺乏症中的作用至关重要^[17]。此外, Ikkala 等^[18]使用机械损伤的方法建立了一种可重复操作的斑马鱼角膜上皮擦伤模型,该模型中角膜上皮伤口可以快速愈合,具有强大的上皮再生能力,使其成为揭示角膜上皮再生具体机制的有用模型。

2.2 青光眼

青光眼疾病风险表型在斑马鱼中得到了很好的研究,低密度脂蛋白受体相关蛋白 2(low density lipoprotein receptor-related protein 2, *lrp2*) 基因突变的斑马鱼表现为成年发病的严重近视,眼球突出,眼压升高和进行性 RGCs 死亡^[19]。细胞色素 P450 家族 1B1(recombinant cytochrome P450 1B1, *CYP1B1*) 基因突变是原发性婴儿型青光眼常见原因,斑马鱼研究揭示了 *cyp1b1* 基因是通过改变神经嵴迁移来影响眼前段的发育^[20]。Axenfeld-Rieger 综合征(axenfeld-rieger syndrome, ARS)是一组眼前段发育不良,并可伴全身发育异常的疾病,而眼前节畸形常导致继发性青光眼,*foxc1* 和 *pitx2* 基因突变斑马鱼可表现出 ARS 眼相关表型^[21]。我们使用 N-甲基 D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA) 玻璃体腔注射或水浴建立了一种青光眼兴奋性毒性模型,表现为视网膜神经纤维层和 RGCs 层厚度增加,而 RGCs 数量减少^[22-23]。另有研究使用过氧化氢玻璃体腔注射建立了一种青光眼氧化应激模型,表现为 RGCs 层凋亡细胞增加^[24]。

2.3 白内障

白内障在老年人群中最为普遍,但具有遗传易感性的儿童也会发生先天性白内障。斑马鱼晶状体蛋白基因突变体可表现为晶状体中可见散在圆形闪亮液滴或晶状体中央可见大小不规则的突起^[25]。转录调节因子包括热休克蛋白转录因子 4(heat shock factor 4, *HSF4*)^[26],同源盒基因 3(pituitary homeobox 3, *PITX3*)等基因突变可导致晶状体发育不良而引起晶状体混浊^[27]。晶状体膜蛋白包括水通道蛋白 0(aquaporin 0, *AQP0*)^[28],缝隙连接蛋白 $\alpha 8$ (gap junction protein alpha 8, *GJA8*)^[29]等基因突变,可引起膜蛋白结构异常,导致细胞间营养物质运输和通讯障碍,晶状体发生代谢紊乱而混浊。此外,在斑马鱼前房内注射过氧化氢,几乎可以立即形成高度不透明的白内障,且随着时间的

推移,晶状体清晰度逐渐恢复^[30]。

2.4 视网膜疾病

2.4.1 糖尿病视网膜病变

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病常见的微血管并发症。斑马鱼中参与糖代谢的器官如胰腺、肝等在进化上具有保守性,使其成为糖代谢研究的理想动物模型^[31]。斑马鱼暴露于2%和0%葡萄糖交替条件下1个月后,血糖水平增加3倍,内丛状层和外丛状层厚度增加,视网膜电图受损^[32]。缺氧用于模拟增殖性DR,斑马鱼在相对空气饱和度为10%的水中保持10 d,可导致视网膜新生血管和血管通透性改变^[33]。链脲霉素(streptozotocin, STZ)可通过破坏胰岛 β 细胞而导致高血糖^[34]。斑马鱼腹腔内注射STZ,可引起血糖升高,表现出类似于人类DR的视网膜退化^[35]。乙二醛酶1(glyoxalase 1, *GLO1*)缺失会导致甲基乙二醛水平升高和糖尿病表型,*glo1*^{-/-}斑马鱼表现为空腹血糖水平升高,视网膜血管芽增加^[36]。

2.4.2 年龄相关性黄斑变性

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)分为干性和湿性。Saito等^[37]将斑马鱼暴露在高强度白光下,建立了一种干性AMD模型,表现为视网膜外核层厚度和细胞核数量减少,凋亡细胞增加,而抗氧化剂可有效逆转这些变化。Cao等^[38]将斑马鱼暴露于不同浓度空气饱和水并分析血管生成反应,建立了一种血管生成与缺氧呈剂量依赖性关系的湿性AMD模型,且抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)药物可阻断新生血管的生成。丝氨酸蛋白酶1(high-temperature requirement factor A1, *HTRA1*)与AMD有很强的遗传相关性,过表达*htra1*基因的斑马鱼表现出视网膜色素上皮细胞形态变化,脂褐素积累和光感受器细胞死亡,这些特征与早期AMD相似^[39]。希佩尔-林道(von hippel-lindau, *vhl*)基因突变的斑马鱼在大脑、眼睛和躯干中形成严重的新生血管,出现视网膜新生血管、血管渗漏、黄斑水肿和视网膜脱离,而抗VEGF药阻断了眼部的血管生成,提示*vhl*^{-/-}斑马鱼是湿性AMD的一个很好的模型^[40]。

2.4.3 早产儿视网膜病变

早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP)是婴儿失明的常见原因。Wu等^[41]使用缺氧诱导剂建立了斑马鱼ROP模型,表现为视网膜血管

出现更多的分支和芽,血管渗漏增加,且与缺氧诱导剂呈剂量依赖性关系,而VEGF抑制剂可减轻新生血管生成和渗漏。缺氧是病理性新生血管形成的关键驱动力,而视网膜新生血管生成是DR、AMD和ROP的共同特征,因此缺氧可作为这些疾病的共同诱因^[33,38]。

2.4.4 视网膜色素变性

视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)是一组视杆细胞退行性疾病。视蛋白视紫红质(rhodopsin, *rho*)基因突变的斑马鱼表现为视杆细胞在发育后不久即出现退化并持续到成年,而视锥细胞不受影响^[42]。人类*USH2A*基因突变是RP的常见原因,其中最常见的两个突变均位于第13号外显子,外显子跳跃是指一个外显子和它两端的内含子被剪接而不出现在成熟mRNA中。基于MOs技术的第13号外显子跳跃后的斑马鱼可恢复正常的蛋白质表达和视觉功能,该研究为RP等遗传性疾病的基因治疗提供了可能^[43]。N-甲基-N-亚硝基脲(N-methyl-N-nitrosourea, MNU)是一种烷化剂,可将其甲基转移到核酸上,导致DNA突变和损伤,MNU诱导的斑马鱼可产生类似于RP的视杆细胞退化^[44]。

2.4.5 先天性色觉障碍

先天性色觉障碍也称为色盲,是由视锥细胞特异性光转导机制或离子通道的异常改变引起,并阻止视锥细胞将信息传递给下游神经元。生物钟基因2(period2, *PER2*)是一种光调节基因,*per2*基因突变的斑马鱼表现为视网膜带状突触结构异常,视锥细胞视蛋白表达降低,视功能下降^[45]。

2.5 视神经损伤

视神经损伤(optic nerve injury, ONI)也称为外伤性视神经病变。与哺乳动物不同,斑马鱼中枢神经系统具有很强的神经再生能力,可在ONI后完全恢复视觉功能,RGCs及其轴突再生是主要原因^[14]。Diekmann等^[46]构建了生长相关蛋白(growth associated protein-43, GAP-43)启动子调控绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)表达的转基因斑马鱼,该模型可在ONI后,显著诱导GFP高表达于RGCs及其轴突,使轴突再生的可视化成为可能,并且该模型与基因敲除或药物处理相结合,可以分析轴突再生过程中的信号级联反应和特定蛋白的作用。还有研究者使用GFP-微管相关蛋白1轻链3(microtubule-associated protein 1 light 3, LC3)转基因

斑马鱼,观察 ONI 后不同时间点的 RGCs 及其轴突的自噬反应,并且证明了自噬参与 RGCs 及其轴突再生的过程,而自噬抑制剂可以促进轴突再生,这些证据表明自噬反应可作为中枢神经系统再生的潜在治疗靶点^[47]。因此,进一步明确斑马鱼视神经再生机制,有望为人类视神经损伤等疾病治疗提供新的见解^[48]。

2.6 其他

斑马鱼还广泛应用到其他眼部疾病的研究中。眼皮肤白化病 2 (oculocutaneous albinism 2, *OCA2*) 基因突变患者头发、皮肤和眼睛的黑色色素沉着下降,斑马鱼 *oca2* 基因突变表现为皮肤、视网膜色素上皮、虹膜载黑素细胞数量下降,黑色素产生减少^[49]。性别决定相关基因簇 2 (sex-determining region Y-box 2, *SOX2*) 基因突变占人类无眼症或小眼症等出生缺陷的 20%,斑马鱼 *sox2* 基因突变导致眼部发育缺陷,引起无眼症或小眼症,类似于人类 *SOX2* 基因缺陷的表现^[50]。

3 斑马鱼动物模型在药物疗效和眼毒性评估中的应用

3.1 斑马鱼动物模型在眼科药物疗效评估中的应用

斑马鱼动物模型为筛选治疗眼部疾病的药物提供了可能。由于斑马鱼的眼睛与人类的眼睛的相似性,并且斑马鱼还表现出强大的视觉行为,使其成为视网膜变性疾病如 AMD、RP 等疾病的药物筛选的合适的动物模型^[51]。缺氧诱导的斑马鱼视网膜新生血管模型被用于测试抗 VEGF 药物的作用,该药逆转了视网膜新生血管^[38]。此外,抗 VEGF 药物阻断了 *vhl*^{-/-} 斑马鱼眼部的新生血管生成^[40]。高强度白光诱导的斑马鱼干性 AMD 模型中,抗氧化剂可以有效逆转视网膜的退行性改变,且与药物浓度呈剂量依赖性^[37]。这些研究表明斑马鱼可以作为新药疗效评估的有效工具。

3.2 斑马鱼动物模型在药物眼毒性评估中的应用

斑马鱼可作为一种临床前阶段预测药物眼毒性的动物模型。在一项研究中,3 dpf 的斑马鱼暴露于 6 种已知具有眼毒性的药物 2 d 后,其中 5 种药物导致斑马鱼视觉功能受损,从而证实了这些药物对人眼的潜在毒性^[52]。由于许多药物表现出较差的水溶性,需要有机溶剂来溶解以保证适当的生物利用率,斑马鱼胚胎可作为评估有机溶剂眼毒性的良好动物模型^[53]。此外,斑马鱼还可作为小分子的

筛选工具,有研究使用斑马鱼胚胎成功从大约 2000 种小分子中筛选出 4 种在特定浓度下会影响视网膜血管形态的小分子^[54]。这些研究表明斑马鱼成功地反映了药物眼毒性的特征,并可作为预测新药眼毒性的工具。

4 结语

视力障碍是世界范围内的主要健康问题,疾病相关发病机制的理解对于开发新的治疗方法至关重要。许多人类视觉障碍相关的表型已在斑马鱼中重现,斑马鱼动物模型有助于了解人类疾病的发病机制,为更好的诊断、治疗开辟途径。此外,斑马鱼还广泛用于眼科药物疗效和药物眼毒性的评估中,成为筛选新药越来越有吸引力的模型。虽然斑马鱼眼睛在形态、生理、功能和基因表达上与人类相似,但在某些情况下,斑马鱼的基因功能差异,足以破坏斑马鱼突变体和人类疾病综合症的表型相似性,并且斑马鱼的生理学差异也会使疾病模型复杂化。而且与哺乳动物相比,斑马鱼在解释人类眼科疾病,以及评估眼科药物疗效和药物眼毒性时,通常需要面临更大的挑战。尽管斑马鱼可能存在这些不足之处,但其仍然是广泛用于人类眼部疾病和药物评估的良好动物模型。未来,基因治疗技术的发展,以及进一步明确斑马鱼视网膜和视神经再生的关键参与者,有望为人类眼部疾病治疗提供新的见解。

参 考 文 献 (References)

- [1] Richardson R, Tracey-White D, Webster A, et al. The zebrafish eye—a paradigm for investigating human ocular genetics [J]. *Eye (Lond)*, 2017, 31(1): 68–86.
- [2] 王明亮, 丁永芳, 印鑫, 等. 斑马鱼在毒理学中的应用研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2020, 28(3): 390–396.
Wang ML, Ding YF, Yin X, et al. Research progress regarding the application of zebrafish in toxicology [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2020, 28(3): 390–396.
- [3] Bibliowicz J, Tittle RK, Gross JM. Toward a better understanding of human eye disease insights from the zebrafish, *danio rerio* [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2011, 100: 287–330.
- [4] Chhetri J, Jacobson G, Gueven N. Zebrafish-on the move towards ophthalmological research [J]. *Eye (Lond)*, 2014, 28(4): 367–380.
- [5] Stella SL Jr, Geathers JS, Weber SR, et al. Neurodegeneration, neuroprotection and regeneration in the zebrafish retina [J]. *Cells*, 2021, 10(3): 633.
- [6] Howe K, Clark MD, Torroja CF, et al. The zebrafish reference

- genome sequence and its relationship to the human genome [J]. *Nature*, 2013, 496(7446): 498–503.
- [7] Gestri G, Link BA, Neuhauss SCF. The visual system of zebrafish and its use to model human ocular diseases [J]. *Dev Neurobiol*, 2012, 72(3): 302–327.
- [8] Puzzolo D, Pisani A, Malta C, et al. Structural, ultrastructural, and morphometric study of the zebrafish ocular surface: a model for human corneal diseases? [J]. *Curr Eye Res*, 2018, 43(2): 175–185.
- [9] Goel M, Picciani RG, Lee RK, et al. Aqueous humor dynamics: a review [J]. *Open Ophthalmol J*, 2010, 4: 52–59.
- [10] Gray MP, Smith RS, Soules KA, et al. The aqueous humor outflow pathway of zebrafish [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(4): 1515–1521.
- [11] Wang K, Vorontsova I, Hoshino M, et al. Optical development in the zebrafish eye lens [J]. *FASEB J*, 2020, 34(4): 5552–5562.
- [12] Hong Y, Luo Y. Zebrafish model in ophthalmology to study disease mechanism and drug discovery [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2021, 14(8): 716.
- [13] Wan J, Goldman D. Retina regeneration in zebrafish [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2016, 40: 41–47.
- [14] Zou S, Tian C, Ge S, et al. Neurogenesis of retinal ganglion cells is not essential to visual functional recovery after optic nerve injury in adult zebrafish [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e57280.
- [15] Maurer CM, Huang YY, Neuhauss SC. Application of zebrafish oculomotor behavior to model human disorders [J]. *Rev Neurosci*, 2011, 22(1): 5–16.
- [16] Seese SE, Deml B, Muheisen S, et al. Genetic disruption of zebrafish *mab2111* reveals a conserved role in eye development and affected pathways [J]. *Dev Dyn*, 2021, 250(8): 1056–1073.
- [17] Adil MT, Henry JJ. Understanding cornea epithelial stem cells and stem cell deficiency: lessons learned using vertebrate model systems [J]. *Genesis*, 2021, 59(1–2): e23411.
- [18] Ikkala K, Stratoulas V, Michon F. Unilateral zebrafish corneal injury induces bilateral cell plasticity supporting wound closure [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 161.
- [19] Veth KN, Willer JR, Collery RF, et al. Mutations in zebrafish *lrp2* result in adult-onset ocular pathogenesis that models myopia and other risk factors for glaucoma [J]. *PLoS Genet*, 2011, 7(2): e1001310.
- [20] Williams AL, Eason J, Chawla B, et al. *Cyp1b1* regulates ocular fissure closure through a retinoic acid-independent pathway [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(2): 1084–1097.
- [21] French CR. Mechanistic insights into axenfeld-riege syndrome from zebrafish *foxc1* and *pitx2* mutants [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(18): 10001.
- [22] Sheng W, Lu Y, Mei F, et al. Effect of resveratrol on sirtuins, OPA1, and Fis1 expression in adult zebrafish retina [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59(11): 4542–4551.
- [23] Luo ZW, Wang HT, Wang N, et al. Establishment of an adult zebrafish model of retinal neurodegeneration induced by NMDA [J]. *Int J Ophthalmol*, 2019, 12(8): 1250–1261.
- [24] Giannaccini M, Usai A, Chiellini F, et al. Neurotrophin-conjugated nanoparticles prevent retina damage induced by oxidative stress [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(7): 1255–1267.
- [25] Wu SY, Zou P, Fuller AW, et al. Expression of Cataract-linked γ -crystallin variants in zebrafish reveals a proteostasis network that senses protein stability [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(49): 25387–25397.
- [26] Cui XK, Du CX, Wan SM, et al. Deficiency of heat shock factor 4 promotes lens epithelial cell senescence through upregulating *p21(cip1)* expression [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2021, 1867(11): 166233.
- [27] Sorokina EA, Muheisen S, Mlodik N, et al. *Mip/aquaporin 0* represents a direct transcriptional target of *pitx3* in the developing lens [J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): e21122.
- [28] Wang KH, Vorontsova I, Hoshino M, et al. Aquaporins have regional functions in development of refractive index in the zebrafish eye lens [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2021, 62(3): 23.
- [29] Ping XY, Liang JC, Shi KX, et al. Rapamycin relieves the cataract caused by ablation of *gja8b* through stimulating autophagy in zebrafish [J]. *Autophagy*, 2021, 17(11): 3323–3337.
- [30] Prior HM, Letwin K, Tuininga A, et al. A simple method of cataract induction in adult zebrafish [J]. *Zebrafish*, 2018, 15(2): 211–212.
- [31] 王雪, 韩利文, 何秋霞, 等. 斑马鱼模型在糖尿病研究中的应用 [J]. *中国比较医学杂志*, 2017, 27(8): 1–5.
Wang X, Han LW, He QX, et al. Application of zebrafish models in research of diabetes [J]. *Chin J Comp Med*, 2017, 27(8): 1–5.
- [32] Tanvir Z, Nelson RF, DeCicco-Skinner K, et al. One month of hyperglycemia alters spectral responses of the zebrafish photopic electroretinogram [J]. *Dis Model Mech*, 2018, 11(10): dmm035220.
- [33] Ali Z, Mukwaya A, Biesecker A, et al. Intussusceptive vascular remodeling precedes pathological neovascularization [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(7): 1402–1418.
- [34] 王娇娇, 李苗, 史平玲, 等. 糖尿病视网膜病变动物模型研究进展 [J]. *中国实验动物学报*, 2021, 29(5): 681–688.
Wang JJ, Li M, Shi PL, et al. Research progress of animal model of diabetic retinopathy [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2021, 29(5): 681–688.
- [35] Wang S, Du SS, Wang WZ, et al. Therapeutic investigation of quercetin nanomedicine in a zebrafish model of diabetic retinopathy [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 130: 110573.
- [36] Lodd E, Wigganhauser LM, Morgenstern J, et al. The combination of loss of glyoxalase1 and obesity results in hyperglycemia [J]. *JCI Insight*, 2019, 4(12): e126154.
- [37] Saito Y, Tsuruma K, Shimazawa M, et al. Establishment of a

- drug evaluation model against light-induced retinal degeneration using adult pigmented zebrafish [J]. *J Pharmacol Sci*, 2016, 131(3): 215-218.
- [38] Cao RH, Jensen LD, Soll I, et al. Hypoxia-induced retinal angiogenesis in zebrafish as a model to study retinopathy [J]. *PLoS One*, 2008, 3(7): e2748.
- [39] Oura Y, Nakamura M, Takigawa T, et al. High-temperature requirement a 1 causes photoreceptor cell death in zebrafish disease models [J]. *Am J Pathol*, 2018, 188(12): 2729-2744.
- [40] Van Rooijen E, Voest EE, Logister I, et al. Von hippel-lindau tumor suppressor mutants faithfully model pathological hypoxia-driven angiogenesis and vascular retinopathies in zebrafish [J]. *Dis Model Mech*, 2010, 3(5-6): 343-353.
- [41] Wu YC, Chang CY, Kao A, et al. Hypoxia-induced retinal neovascularization in zebrafish embryos: a potential model of retinopathy of prematurity [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e126750.
- [42] Zelinka CP, Sotolongo-Lopez M, Fadool JM. Targeted disruption of the endogenous zebrafish *rhodopsin* locus as models of rapid rod photoreceptor degeneration [J]. *Mol Vis*, 2018, 24: 587-602.
- [43] Dulla K, Slijkerman R, van Diepen HC, et al. Antisense oligonucleotide-based treatment of retinitis pigmentosa caused by USH2A exon 13 mutations [J]. *Mol Ther*, 2021, 29(8): 2441-2455.
- [44] Tappeiner C, Balmer J, Igllicki M, et al. Characteristics of rod regeneration in a novel zebrafish retinal degeneration model using N-methyl-N-nitrosourea (MNU) [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e71064.
- [45] Huang DF, Wang MY, Yin W, et al. Zebrafish lacking circadian gene *per2* exhibit visual function deficiency [J]. *Front Behav Neurosci*, 2018, 12: 53.
- [46] Diekmann H, Kalbhen P, Fischer D. Characterization of optic nerve regeneration using transgenic zebrafish [J]. *Front Cell Neurosci*, 2015, 9: 118.
- [47] Beckers A, Vanhunsel S, Van Dyck A, et al. Injury-induced autophagy delays axonal regeneration after optic nerve damage in adult zebrafish [J]. *Neuroscience*, 2021, 470: 52-69.
- [48] 陈维昕, 金铭, 张旭. 斑马鱼视觉损伤和视神经再生的研究进展 [J]. *国际眼科杂志*, 2021, 21(10): 1711-1715.
Chen WX, Jin M, Zhang X. Research progress on visual impairment and optic nerve regeneration in zebrafish [J]. *Int Eye Sci*, 2021, 21(10): 1711-1715.
- [49] Beirl AJ, Linbo TH, Cobb MJ, et al. *Oca2* Regulation of chromatophore differentiation and number is cell type specific in zebrafish [J]. *Pigment Cell Melanoma Res*, 2014, 27(2): 178-189.
- [50] Dash S, Brastrom LK, Patel SD, et al. The master transcription factor SOX2, mutated in anophthalmia/microphthalmia, is post-transcriptionally regulated by the conserved RNA-binding protein RBM24 in vertebrate eye development [J]. *Hum Mol Genet*, 2020, 29(4): 591-604.
- [51] Ganzen L, Venkatraman P, Pang CP, et al. Utilizing zebrafish visual behaviors in drug screening for retinal degeneration [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(6): 1185.
- [52] Deeti S, O'Farrell S, Kennedy BN. Early safety assessment of human oculotoxic drugs using the zebrafish visualmotor response [J]. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 2014, 69(1): 1-8.
- [53] 邸亚男, 朱丽英, 沈婕, 等. 四种有机溶剂对斑马鱼眼睛发育的影响 [J]. *中国比较医学杂志*, 2020, 30(5): 75-80.
Di YN, Zhu LY, Shen J, et al. Effects of four carrier solvents on eye development in zebrafish embryos [J]. *Chin J Comp Med*, 2020, 30(5): 75-80.
- [54] Kitambi SS, McCulloch KJ, Peterson RT, et al. Small molecule screen for compounds that affect vascular development in the zebrafish retina [J]. *Mech Dev*, 2009, 126(5-6): 464-477.

[收稿日期] 2022-05-11