· 基础研究 ·

小鼠视神经损伤对视网膜神经节细胞存活率的影响

杨宁　张宁致　何雪俊　邢怡桥
武汉大学人民医院眼科中心眼二科　430060
通信作者：杨宁，Email：rootyangning@whu. edu. cn，电话：027-88041911-81217

【摘要】 目的　探讨小鼠视神经钳夹损伤（ONC）后视网膜神经节细胞（RGCs）存活率变化。**方法**　选取97只6~8周龄雄性C57BL/6J小鼠，按照随机数字表法分为正常组（5只）、假手术组（5只）、ONC组（87只）。正常组双眼不进行任何操作；假手术组左眼不进行任何操作，右眼行假手术操作；ONC组左眼行ONC，右眼行假手术对照。正常组分别计算左右眼RGCs密度，比较其差异；假手术组计算假手术眼RGCs密度，比较其与正常组平均RGCs密度的差异；ONC组中，以左眼（ONC眼）与右眼（假手术眼）RGCs密度的比值计算RGCs存活率，然后比较不同钳夹持续时间（5，10，20，30 s）的RGCs存活率差异（取材时间统一为钳夹后7 d），以及不同取材时间（3，4，5，7，14，30，60，90，180 d）的RGCs存活率差异（钳夹持续时间统一为20 s）。**结果**　正常组左右眼RGCs密度分别为（5 167. 3±55. 6）个/mm^{2}和（5 199. 6±44. 8）个/mm^2，差异无统计学意义（P>0. 05）。正常组与假手术组RGCs密度分别为（5 183. 5±33. 4）个/mm^{2}和（5 151. 5±87. 6）个/mm^2，差异无统计学意义（P>0. 05）。ONC组不同钳夹时间（5，10，20，30 s）的RGCs存活率分别为（37. 6±1. 1）%、（34. 0±0. 9）%、（33. 6±1. 6）%、（30. 3±0. 6）%（P<0. 01）。钳夹5 s与30 s相比，ONC组小鼠RGCs存活率差异有统计学意义（P<0. 01）；其余不同钳夹时间相比，ONC组小鼠RGCs存活率差异均无统计学意义（P>0. 05）。ONC组不同取材时间（3，4，5，7，14，30，60，90，180 d）的RGCs存活率分别为（85. 4±2. 0）%、（67. 6±3. 1）%、（43. 0±1. 0）%、（33. 6±1. 6）%、（22. 7±2. 0）%、（12. 8±0. 6）%、（10. 4±0. 8）%、（8. 6±0. 5）%、（6. 7±0. 2）%（P<0. 01），尤其3~5 d，RGCs存活率大幅下降，30 d后RGCs存活率呈平稳下降趋势。**结论**　在ONC小鼠模型中，不同钳夹持续时间对RGCs造成的损伤程度不同，且ONC后RGCs死亡呈进行性发展，提示在原发性损伤（钳夹）后，小鼠的RGCs经历了继发性损伤。因此，有效控制RGCs的继发性损伤，可能成为治疗视神经损伤性疾病的关键。

【关键词】 视神经损伤；　视网膜神经节细胞；　存活率
基金项目： 湖北省自然科学基金面上项目（2020CFB240）；中央高校基本科研业务费专项资金资助（2042020kf0065）
DOI：10. 3760/cma. j. cn501098-20210528-00324

Survival rate change of retinal ganglion cells following optic nerve injuries in mice

Yang Ning, Zhang Ningzhi, He Junxue, Xing Yiqiao
Department of Ophthalmology, People's Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China
Corresponding author: Yang Ning, Email: rootyangning@whu. edu. cn, Tel: 0086-27-8804-1911-81217

【Abstract】 Objective　To investigate the survival rate change of retinal ganglion cells (RGCs) in a mouse of optic nerve crush (ONC). **Methods**　Ninety-seven male C57BL/6J mice (6 to 8 weeks) were selected and divided into normal group (n=5), sham-operation group (n=5) and ONC group (n=5) according to the random number table. In normal group, both eyes of the mice did not receive any intervention. In sham-operation group, the right eye of the mice received sham operation, while the left eye reveived no intervention. In ONC group, the left eye received ONC, and the right eye received sham operation. In normal group, the density of RGCs in both eyes was quantified and compared. In sham-operatioin group, the density of RGCs in the sham operation eye was calculated and then compared to the average density of RGCs in normal group. In ONC group, the survival rate of RGCs was set as the ratio between the left eye (ONC eye) and the right eye (sham-operation eye). The survival rate of RGCs in ONC group was compared after crush injury for 5, 10, 20, 30 seconds) (the sacrifice time was set at day 7), and

was compared after sampling on days 3, 4, 5, 7, 14, 30, 60, 90, 180 (the duration of crush injury was set as 20 seconds). **Results** In normal group, the density of RGCs in the right eye was (5, 167. 3±55. 6)cell/mm^2, with no statistical difference from that in the left eye [(5, 199. 6±44. 8)cell/mm^2] (P>0. 05). The density of RGCs in normal group and sham-operation group was (5, 183. 5±33. 4)cell/mm^2 and (5, 151. 5±87. 6)cell/mm^2, showing no statistical difference (P>0. 05). The survival rate of RGCs in ONC group after crush injury for 5, 10, 20, 30 seconds was (37. 6±1. 1)%, (34. 0±0. 9)%, (33. 6±1. 6)% and (30. 3±0. 6)% (P<0. 01). In comparison, there was statistical difference in the survival rate of RGCs between crush injury for 5 seconds and for 30 seconds (P<0. 01), but not among other duration of crush injury (P>0. 05). The survival rate of RGCs in ONC group after sampling on days 3, 4, 5, 7, 14, 30, 60, 90, 180 was (85. 4±2. 0)%, (67. 6±3. 1)%, (43. 0±1. 0)%, (33. 6±1. 6)%, (22. 7±2. 0)%, (12. 8±0. 6)%, (10. 4±0. 8)%, (8. 6±0. 5)% and (6. 7±0. 2)% (P<0. 01), showing the most obvious drop from day 3 to day 5. Additionally, the curve became flattened after 30 days. **Conclusions** In a mouse model of ONC, varying durations of crushing will lead to different damage to RGCs in a progressive mode, indicating that following the primary injury (ONC), the RGCs suffer secondary injury as well. Therefore, effectively controlling the secondary injury may be the key point of treating optic nerve injuries.

【Key words】 Optic nerve injuries;　Retinal ganglion cells;　Survival rate

Fund programs: Provincial Natural Science Foundation of Hubei Province (2020CFB240); Fundamental Research Fund for the Central Universities (2042020kf0065)

DOI: 10. 3760/cma. j. cn501098-20210528-00324

外伤性视神经病变(traumatic optic neuropathy, TON)是创伤性脑损伤(traumatic brain injury, TBI)的重要并发症之一,其重要的病理特征是进行性的视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)死亡。而RGCs胞体通过视神经轴突与大脑相连,视网膜组织本身也是中枢神经系统的一部分。目前,通过视神经钳夹损伤(optic nerve crush, ONC),诱发RGCs进行性死亡来模拟TON和青光眼等病变的特征、已经在动物实验研究中广泛应用[1]。通过显微操作将实验动物的视神经分离暴露后,可以对其进行ONC或视神经横断(optic nerve transection, ONT)处理,为后续的研究创造条件[2],如视神经损伤和保护的机制研究,视神经轴索损伤和再生的研究等。研究还表明,ONC具有许多与青光眼小鼠模型相同或相似的分子变化[3],可用来研究青光眼的分子生物学机制及靶向治疗。此外,与ONT模型相比,ONC模型的优势在于损伤相对较小,并且不会影响眼底视网膜的血供[4],这也为后续的实验研究创造了有利条件。

目前ONC模型绝大多数研究都采用了相似的操作,即使用反式夹持镊钳夹小鼠视神经,给予视神经持续且一致的压力。不过,由于实验设计和实验目的等不同,这些研究采用的钳夹持续时间各不相同,钳夹后取材的时间点也各不相同,甚至得到的RGCs存活率差异很大[5-9],这给其他研究者评估和使用ONC模型时造成了一定的困扰。因此,笔者通过建立小鼠ONC模型,探究不同钳夹持续时间及不同取材时间RGCs存活率差异,寻找较为理想的钳夹持续时间和取材时间点,为今后ONC模型在外伤性视神经病变研究的应用提供基础和方向。

1　材料与方法

1. 1　主要试剂与仪器

主要试剂:50 g/L胎牛血清(FBS)(美国Gibco公司),40 g/L多聚甲醛(武汉塞维尔生物公司),磷酸盐缓冲液(PBS)(武汉塞维尔生物公司),0. 5 g/L丙美卡因(美国爱尔康公司),多重剪接RNA结合蛋白(RBPMS)抗体(美国PhosphoSolutions公司),Cyanine Cy3荧光二抗(美国Jackson ImmunoResearch公司)。

主要仪器:激光共聚焦显微镜FV1200(日本Olympus公司)、Dumont#7自闭式反式镊(瑞士Dumont公司),实验动物解剖显微镜(上海光学仪器厂)。

1. 2　实验动物

97只雄性C57BL/6J小鼠(6~8周龄),由武汉大学实验动物中心提供(动物许可证号:SYKX鄂2015-0027),体重18~24 g,双眼等大,角膜和晶状体均透明,眼压正常,瞳孔对光反射敏感。小鼠饲养于食物和水充足的清洁级环境中,室温(23±2)℃,12 h明/12 h暗循环。所有实验操作符合国家科学技术委员会《实验动物管理条例》的规定。本研究获武汉大学人民医院动物伦理委员会许可[WDRM动(福)第20190113号]。

1. 3　实验分组及ONC模型建立

按照随机数字表法将小鼠分为正常组(5只)、

假手术组(5 只)、ONC 组(87 只)。其中正常组双眼不进行任何操作;假手术组左眼不进行任何操作,右眼行假手术操作;ONC 组左眼行 ONC,右眼行假手术操作。

参考文献[1,10]建立 ONC 模型。实验采用左右眼对照,左眼行 ONC,右眼行假手术进行对照。具体 ONC 操作如下:0.1 ml 腹腔注射 15 g/L 戊巴比妥钠麻醉小鼠,同时眼表给予数滴 0.5 g/L 丙美卡因行局部麻醉,然后使用显微镊轻柔夹住并提起结膜,在颞侧结膜处开口后,钝性分离眶组织,暴露小鼠视神经(注意避免损伤血管,术后确认视网膜血供无损伤)。用 Dumont#7 自闭式反式镊(图 1A)在眼球后约 1 mm 处夹住视神经,并按实验要求持续一定时间(5,10,20,30 s)。术后使用抗生素眼膏涂眼以防止感染,然后将小鼠置于保温垫上待小鼠苏醒。术后每日密切监测小鼠潜在的感染、出血等情况。

1.4　视网膜铺片

颈椎脱臼法处死小鼠后迅速摘除眼球,在 40 g/L 多聚甲醛中固定 30 min 后,去除眼前节后分离玻璃体,仔细分离出视网膜,小心处理色素膜和其他杂质,将视网膜剪切平铺呈四叶草状。然后将视网膜置于 50 g/L 胎牛血清白蛋白和 Triton X-100 的 PBS 中 4℃下封闭过夜,RBPMS 抗体(种属为豚鼠,稀释比例 1∶400)4℃下孵育 48 h,PBS 漂洗后孵育 Cyanine Cy3 荧光二抗(种属为驴抗豚鼠,稀释比例 1∶200),4℃下过夜后,PBS 漂洗数次,于激光共聚焦扫描显微镜观察并拍照。如文献报道的方法[1],400 倍视野下,分别在距视盘中心 600 μm 处取 4 个野(图 1B),共计 16 个视野,拍照后并用 ImageJ 软件(美国国立卫生研究院)叠加后计数。取材后,利用视网膜铺片荧光染色标记小鼠 RGCs。

1.5　观察指标

正常组分别计算左右眼的 RGCs 密度,比较其差异;假手术组计算假手术眼 RGCs 密度,比较其与正常组平均 RGCs 密度的差异;ONC 组中,以左眼(ONC 眼)与右眼(假手术眼)的 RGCs 平均密度的比值计算 RGCs 存活率,然后比较不同钳夹持续时间(5,10,20,30 s)的 RGCs 存活率差异(取材时间统一为钳夹后 7 d),以及不同取材时间(3,4,5,7,14,30,60,90,180 d)的 RGCs 存活率差异(钳夹持续时间统一为 20 s)。

1.6　统计学分析

应用 GraphPad Prism 8.0 统计软件,采用 Kolmogorov-Smirnov 法对数据进行正态性检验,符合正态分布的计量资料以 *Mean*±*SD* 表示,两组数据比较采用配对或非配对 *t* 检验;多组数据比较采用 ANOVA 法进行分析,采用 Bonferroni 检验进行两两比较。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

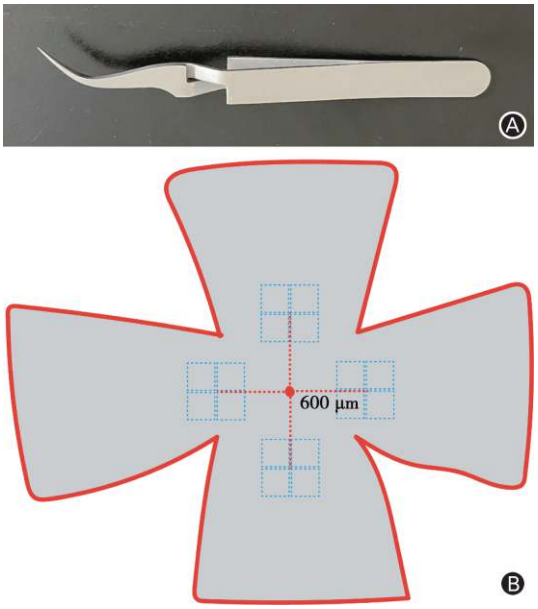


图 1　视神经钳夹自闭镊及视网膜视野选取模式图。A. Dumont#7 自闭式反式镊;　B. 视网膜拍照视野选取模式图

2　结果

2.1　正常视网膜与假手术视网膜 RGCs 密度比较

正常组左眼 RGCs 密度为(5 167.3±55.6)个/mm^2,右眼 RGCs 密度为(5 199.6±44.8)个/mm^2,两者差异无统计学意义(t=0.593,P>0.05);假手术组假手术眼 RGCs 密度为(5 151.5±87.6)个/mm^2,正常组平均 RGCs 密度为(5 183.5±33.4)个/mm^2,两者差异无统计学意义(t=0.418,P>0.05)。

2.2　不同钳夹持续时间小鼠 RGCs 存活率的比较

钳夹 5 s 与 30 s 相比,ONC 组小鼠 RGCs 存活率差异有统计学意义(P<0.01);其余不同钳夹时间相比,ONC 组小鼠 RGCs 存活率差异均无统计学意义(P>0.05)。见表 1。视网膜铺片结果如图 2 所示。

2.3　不同取材时间小鼠 RGCs 存活率的比较

结果显示,ONC 组不同取材时间 RGCs 存活率呈持续性进行性下降趋势(P<0.01),其中 3~5 d 的下降幅度最大,30 d 后呈平稳下降趋势。见表 2。视网膜铺片结果如图 3 所示。

表 1　不同钳夹持续时间 ONC 组小鼠 RGCs 存活率的比较（%，*Mean*±*SD*）

时间（s）	鼠数	RGCs 存活率
5	6	37. 6±1. 1
10	10	34. 0±0. 9
20	8	33. 6±1. 6
30	10	30. 3±0. 6[a]
F 值		7. 283
P 值		<0. 01

注：ONC 为视神经钳夹损伤，RGCs 为视网膜神经节细胞。与钳夹 5 s 比较：[a]*P*<0. 01

表 2　不同取材时间 ONC 组小鼠 RGCs 存活率的比较（%，*Mean*±*SD*）

时间（d）	鼠数	RGCs 存活率
3	7	85. 4±2. 0
4	5	67. 6±3. 1[a]
5	6	43. 0±1. 0[b]
7	8	33. 6±1. 6[c]
14	6	22. 7±2. 0[d]
30	6	12. 8±0. 6[e]
60	5	10. 4±0. 8[f]
90	5	8. 6±0. 5
180	5	6. 7±0. 2
F 值		309. 490
P 值		<0. 01

注：ONC 为视神经钳夹损伤，RGCs 为视网膜神经节细胞。与 3 d 比较：[a]*P*<0. 01；与 4 d 比较：[b]*P*<0. 01；与 5 d 比较：[c]*P*<0. 01；与 7 d 比较：[d]*P*<0. 01；与 14 d 比较：[e]*P*<0. 01；与 30 d 比较：[f]*P*>0. 05

3　讨论

TON 是一类以 RGCs 进行性损伤为特征的退行性视神经病变。在动物实验中 ONC 模型常被用来模拟 TON 造成的 RGCs 损伤。研究表明，ONC 造成的 RGCs 死亡是缓慢和持续发生的[1,3,11]。其中，ONC 小鼠模型现已被广泛用于实验研究中，如视神经轴突再生和 RGCs 进行性死亡的研究[12]。因为小鼠易于进行转基因操作，故可用来进行视神经损伤的机制和其保护的研究，所以近年来 ONC 小鼠模型被大量应用于实验研究中[1-2,8]。而以往研究中，ONC 小鼠模型中的钳夹持续时间从 3，5，10，15 s 不等，无统一标准，在大鼠 ONC 中甚至有 60 s[5-9]。另外，不同的研究在 ONC 后的取材时间也大不相同，目前亦无统一标准。本研究结果表明，不同钳夹持续时间造成的小鼠 RGCs 存活率差异有统计学意义。ONC 造成的 RGCs 死亡呈进行性发展，尤其从 3~5 d，RGCs 存活率大幅下降，30 d 后 RGCs 存活率呈平稳下降趋势。提示在原发性损伤（钳夹）后，小鼠的 RGCs 仍然经历了继发性损伤。

有学者研究利用 4’，6-二脒基-2-苯基吲哚（DAPI）对视网膜节细胞层（GCL）层的细胞核进行染色，发现 ONC 后 GCL 层的细胞存活率从 93% 下降到 57%（钳夹后 2~28 d）[13]，考虑到 GCL 层有超过 50% 左右的异位无长突细胞、活化的胶质细胞和血管内皮细胞等，推测 28 d 时 RGCs 剩余很少，而这样对 RGCs 存活率的间接反映，并不如 RGCs 直接标记更加直观明了。在动物实验中，RGCs 的标记方法不断地被探索和发现，如逆行性荧光金标记被认为是准确可靠的 RGCs 标记方法[14]。此外，许多 RGCs 标记物如 Thy1、Brn3a、神经微丝等也被用来标记 RGCs[14]。2014 年，研究证实 RBPMS 在视网膜 RGCs 上选择性表达，可作为健康和病理状态时 RGCs 的良好标记物[15]。该研究结果现已得到广泛认可和应用[7,16-19]。因此，笔者推荐在进行 ONC 后 RGCs 的存活率计算时，采用视网膜铺片 RGCs 染色，直接计算 RGCs 及其密度，比通过 DAPI 染色间接计算更加直观、准确和可靠。此外，由于标记方法和标记物以及计算方法的差异，成鼠健康视网膜的平均 RGCs 密度存在差异，研究者需引起注意。

在本实验中，笔者对不同的钳夹持续时间造成的 RGCs 损伤进行了研究，结果发现，5，10，20，30 s 等不同钳夹持续时间造成的损伤存在一定的统计学差异，但是差异不大，结合实验操作的实际需求，笔者推荐 20 s 作为合理的钳夹持续时间；在有助手辅助计时的情况下，10 s 的钳夹持续时间也可被采纳。文献报道 ONC 后 1 d RGCs 开始发生进行性死亡，在 30 d 左右到达高峰[3,20]。因此，笔者详细观察了不同取材时间小鼠 RGCs 的存活情况，验证了 ONC 模型 3 d 内 RGCs 的死亡有限，存活率为（85. 4±2. 0）%，而在 5 d 后发生大幅度的死亡，RGCs 存活率为（43. 0±1. 0）%，并呈稳定的持续性进行性死亡的模式，自 30~180 d RGCs 存活率从（12. 8±0. 6）%降至（6. 7±0. 2）%，变化幅度不大。笔者推荐在实验研究中，钳夹后 5 d 和 7 d 可作为常用的取材时间。

总之，在 ONC 小鼠模型中，不同钳夹持续时间对 RGCs 造成的损伤程度不同。且 ONC 后 RGCs 死亡呈进行性发展。有效控制 RGCs 的继发性损伤，可能成为治疗视神经损伤性疾病的关键。此外，可设置不同的钳夹持续时间或取材时间来进行视神

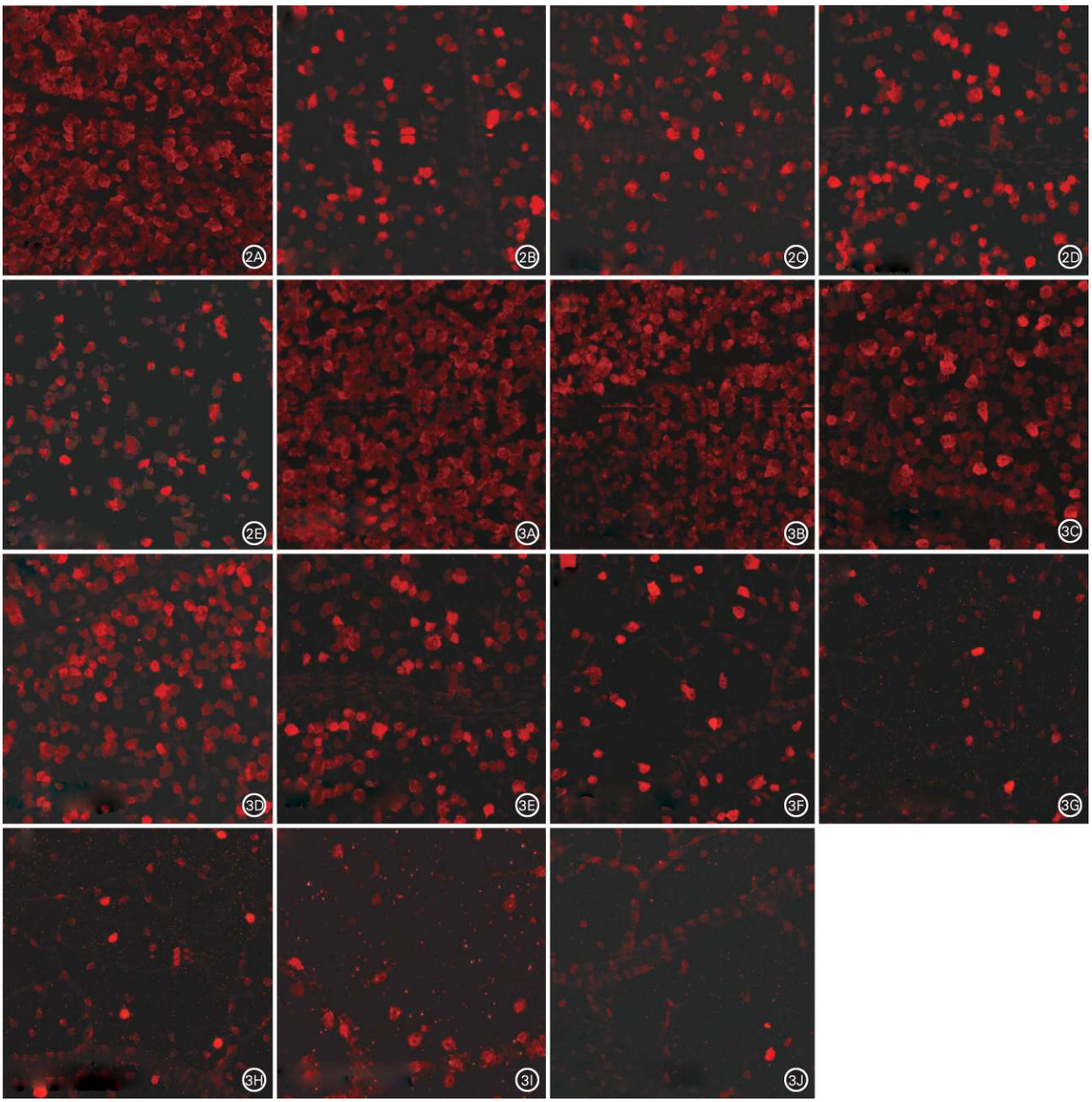


图 2　ONC 组视网膜铺片（RBPMS 染色，×400）。 A. 假手术对照眼视网膜铺片； B~E. 分别为不同钳夹持续时间（5，10，20，30 s）视网膜铺片；注：红色为视网膜神经节细胞；ONC 为视神经钳夹损伤，RBPMS 为多重剪接 RNA 结合蛋白　**图 3**　ONC 组视网膜铺片（RBPMS 染色，×400）。 A. 假手术对照眼视网膜铺片； B~J. 分别为不同取材时间（3，4，5，7，14，30，60，90，180 d）视网膜铺片。注：红色为视网膜神经节细胞；ONC 为视神经钳夹损伤，RBPMS 为多重剪接 RNA 结合蛋白

经损伤的研究和探索，为以 RGCs 损伤为病理特征的疾病（如外伤性视神经病变和青光眼）的诊疗提供研究基础和方向。本文尚有一些不足，如无法研究所有钳夹持续时间或取材时间，未来的研究中需要进一步研究和完善。

利益冲突　所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明　杨宁：课题设计、数据整理及分析、论文撰写、经费支持；张宁致：数据分析、论文修改；何雪俊：实验操作、资料收集；邢怡桥：研究指导、论文修改

参　考　文　献

[1] Yang N, Young BK, Wang P, et al. The susceptibility of retinal ganglion cells to optic nerve injury is type specific [J]. Cells, 2020, 9(3):677. DOI:10. 3390/cells9030677.

[2] Duan X, Qiao M, Bei F, et al. Subtype-specific regeneration of retinal ganglion cells following axotomy: effects of osteopontin and mTOR signaling [J]. Neuron, 2015, 85 (6): 1244-1256. DOI:10. 1016/j. neuron. 2015. 02. 017.

[3] Yasuda M, Tanaka Y, Nishiguchi KM, et al. Retinal transcriptome profiling at transcription start sites: a cap analysis of gene expression early after axonal injury [J]. BMC Genomics, 2014,

15(1):982. DOI:10. 1186/1471-2164-15-982.
[4] Sánchez-Migallón MC, Valiente-Soriano FJ, Nadal-Nicolás FM, et al. Survival of melanopsin expressing retinal ganglion cells long term after optic nerve trauma in mice[J]. Exp Eye Res, 2018, 174:93-97. DOI:10. 1016/j. exer. 2018. 05. 029.
[5] Mac Nair CE, Schlamp CL, Montgomery AD, et al. Retinal glial responses to optic nerve crush are attenuated in Bax-deficient mice and modulated by purinergic signaling pathways[J]. J Neuroinflammation, 2016, 13(1): 93. DOI: 10. 1186/s12974-016-0558-y.
[6] Locri F, Cammalleri M, Dal Monte M, et al. Protective efficacy of a dietary supplement based on forskolin, homotaurine, spearmint extract, and group B vitamins in a mouse model of optic nerve injury[J]. Nutrients, 2019, 11(12):2931. DOI:10. 3390/nu11122931.
[7] Stankowska DL, Dibas A, Li L, et al. Hybrid compound SA-2 is neuroprotective in animal models of retinal ganglion cell death[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2019, 60(8):3064-3073. DOI:10. 1167/iovs. 18-25999.
[8] Ha Y, Liu W, Liu H, et al. AAV2-mediated GRP78 transfer alleviates retinal neuronal injury by downregulating ER stress and tau oligomer formation[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018, 59(11):4670-4682. DOI:10. 1167/iovs. 18-24427.
[9] Lucas-Ruiz F, Galindo-Romero C, Salinas-Navarro M, et al. Systemic and intravitreal antagonism of the TNFR1 signaling pathway delays axotomy-induced retinal ganglion cell loss[J]. Front Neurosci, 2019, 13:1096. DOI:10. 3389/fnins. 2019. 01096.
[10] He T, Mortensen X, Wang P, et al. The effects of immune protein CD3ζ development and degeneration of retinal neurons after optic nerve injury[J]. PLoS One, 2017, 12(4):e0175522. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0175522.
[11] Schwartz M. Optic nerve crush: protection and regeneration[J]. Brain Res Bull, 2004, 62(6): 467-471. DOI: 10. 1016/S0361-9230(03)00076-5.
[12] Templeton JP, Geisert EE. A practical approach to optic nerve crush in the mouse[J]. Mol Vis, 2012, 18:2147-2152.
[13] Vasalauskaite A, Morgan JE, Sengpiel F. Plasticity in adult mouse visual cortex following optic nerve injury[J]. Cereb Cortex, 2019, 29(4):1767-1777. DOI:10. 1093/cercor/bhy347.
[14] Chiu K, Lau WM, Yeung SC, et al. Retrograde labeling of retinal ganglion cells by application of fluoro-gold on the surface of superior colliculus[J]. J Vis Exp, 2008, (16): 819. DOI: 10. 3791/819.
[15] Kwong JM, Caprioli J, Piri N. RNA binding protein with multiple splicing: a new marker for retinal ganglion cells[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51(2): 1052-1058. DOI: 10. 1167/iovs. 09-4098.
[16] Christensen I, Lu B, Yang N, et al. The susceptibility of retinal ganglion cells to glutamatergic excitotoxicity is type-specific[J]. Front Neurosci, 2019, 13:219. DOI:10. 3389/fnins. 2019. 00219.
[17] Rodriguez AR, de Sevilla Müller LP, Brecha NC. The RNA binding protein RBPMS is a selective marker of ganglion cells in the mammalian retina[J]. J Comp Neurol, 2014, 522(6): 1411-1443. DOI:10. 1002/cne. 23521.
[18] Mori S, Kurimoto T, Maeda H, et al. Dimethyl fumarate promotes the survival of retinal ganglion cells after optic nerve injury, possibly through the Nrf2/HO-1 pathway[J]. Int J Mol Sci, 2020, 22(1):297. DOI:10. 3390/ijms22010297.
[19] Hilla AM, Diekmann H, Fischer D. Microglia are irrelevant for neuronal degeneration and axon regeneration after acute injury[J]. J Neurosci, 2017, 37(25):6113-6124. DOI:10. 1523/JNEUROSCI. 0584-17. 2017.
[20] Xia X, Yu CY, Bian M, et al. MEF2 transcription factors differentially contribute to retinal ganglion cell loss after optic nerve injury[J]. PLoS One, 2020, 15(12):e0242884. DOI:10. 1371/journal. pone. 0242884.

（收稿日期：2021-05-28）

本文引用格式

杨宁, 张宁致, 何雪俊, 等. 小鼠视神经钳夹损伤后视网膜神经节细胞存活率的研究[J]. 中华创伤杂志, 2021, 37(12): 1135-1140. DOI: 10.3760/cma.j.cn501098-20210528-00324.

·读者·作者·编者·

《中华创伤杂志》对一稿两投的处理办法

作者在收到本刊的稿件回执后，若3个月内未收到稿件处理结果的通知，系稿件仍在审理过程中。作者可通过电话、电子邮件或在本刊网站上专门通道向本刊编辑查询稿件处理情况。本刊稿件查询电话：023-68757481，Email:zhcszz@163.com，网站：http://zhcszz.yiigle.com。作者如欲改投他刊，请先与本刊联系，作出说明。切勿一稿两投或多投。

本刊谴责并抵制一稿两投甚至一稿多投行为，一经发现将立即退稿，并作如下处理：(1)刊登撤销该论文及该文系重复发表的声明，并在中华医学会系列杂志上通报；(2)向作者所在单位和该领域内的其他学术期刊通报；(3)本刊2年内拒绝发表该文第一作者的任何来稿。

已在非公开发表的刊物上发表，或曾在学术会议上交流，或已以其他文种发表过的文稿，不属于一稿多投，但作者须在投稿时说明首次发表的刊物及刊出的时间。