

DOI:10.16781/j.0258-879x.2017.11.1439

• 综述 •

氧诱导视网膜病变小鼠模型的研究进展

赵子畅, 赵世红*

第二军医大学长海医院眼科, 上海 200433

[摘要] 视网膜新生血管性疾病是一类严重的致盲性疾病, 构建与之相关的动物模型是进行该疾病机制研究的重要基础, 有利于在临床中更好地预防、诊断和治疗。氧诱导视网膜病变小鼠模型是目前研究视网膜新生血管性疾病最常用的动物模型, 此模型构建过程与人类早产儿视网膜新生血管病变的发生、发展极为相似, 具有制作方法简单、重复性好等优点。本文重点阐述氧诱导视网膜病变小鼠模型的构建方法及原理, 模型相关细胞因子的作用, 模型构建的影响因素如动物品种、氧气的百分含量、高氧对母鼠的影响、产后体质量增加量、光照暴露等, 并简要介绍模型中常用的量化评估方法, 为研究人员准确、有效地构建和评估氧诱导视网膜病变小鼠模型提供帮助。

[关键词] 早产儿视网膜病; 新生血管化; 氧诱导视网膜病变; 动物模型

[中图分类号] R 774.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2017)11-1439-05

Research advances in mouse model of oxygen-induced retinopathy

ZHAO Zi-chang, ZHAO Shi-hong*

Department of Ophthalmology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] Retinal neovascular disease is a serious blinding disease. The construction of the related animal models is an important basis for conducting mechanism research and can contribute to better prevention, diagnosis and treatment of the disease. The mouse model of oxygen-induced retinopathy is the most commonly used animal model for studying retinal neovascular diseases, and its construction is similar to the development of retinopathy of prematurity, with the advantages of simple preparation method and good reproducibility. In this paper, we focused on the construction methods and principles of mouse models with oxygen-induced retinopathy, the role of model-related angiogenic cytokines, and factors influencing the construction of models (animal species, percentage of oxygen, effects of hyperoxia on maternal mice, postnatal weight gain, exposure of light and so on). Meanwhile, we briefly introduced the quantitative evaluation methods commonly used in the model, hoping to help researchers to accurately and effectively construct and evaluate the mouse model with oxygen-induced retinopathy.

[Key words] retinopathy of prematurity; neovascularization; oxygen-induced retinopathy; animal models

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2017, 38(11): 1439-1443]

早产儿视网膜病变 (retinopathy of prematurity, ROP) 是发生于新生早产儿的血管增生性视网膜病变, 病理表现为视网膜组织缺氧、视网膜新生血管 (retinal neovascularization, RNV) 形成、纤维增生等^[1]。20世纪50年代, 大量临床研究发现高浓度给氧可以明显改善早产儿呼吸状况, 因此早产儿的补充氧气疗法在当时广泛应用, 但 ROP 的发病率也在逐年增加^[2]。自此, 研究人员开始尝试将

氧气与 ROP 联系在一起, 探索构建各种动物模型以了解 ROP 及 RNV 的发生机制。Smith 等^[3]在 1994 年首先成功构建氧诱导视网膜病变 (oxygen-induced retinopathy, OIR) 小鼠模型, 通过数年的改进和完善后该模型不仅构建方法简单、重复性好、成功率高, 而且与电凝法、药物诱导法、转基因法、光凝法等^[4-5]其他方法相比, 其视网膜病变过程更接近人类 ROP 新生血管的发生过程, 故被广泛应用。

[收稿日期] 2017-03-08 **[接受日期]** 2017-09-07

[基金项目] 国家自然科学基金(81470652)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81470652)。

[作者简介] 赵子畅, 硕士生。E-mail: 15821693392@163.com

* 通信作者 (Corresponding author)。Tel: 021-31161991, E-mail: zhaosh2001@sina.com

1 OIR 小鼠模型的构建方法及原理

将出生后第7天(P7)的小鼠与哺乳母鼠一起放置于密闭氧箱中,氧浓度维持在 $75\% \pm 2\%$;哺乳5 d后将第12天(P12)小鼠与哺乳母鼠放回室内标准环境下饲养(氧浓度 21%),饲养5 d后即小鼠出生后第17天(P17)时模型构建结束^[3]。小鼠玻璃体血管和视网膜血管的发育存在一种相反的关系,即玻璃体血管在刚出生时存在,但随时间延长逐渐退化,而视网膜血管在出生时基本不存在,但在出生后第1周内逐渐生长。根据此生理现象,研究人员发现小鼠在P7时玻璃体血管的退化程度最大,视网膜血管的发育程度最低,随后易出现可视化的新生血管,同时可减少玻璃体血管造成的干扰,因此形成了最佳造模时间^[6]。ROP可分为两个典型的发展阶段:不成熟血管闭塞阶段和新生血管病理性增生阶段^[6]。在此模型中,第一个阶段从P7到P12,此阶段未成熟的视网膜血管经历退化。大多数的血管闭塞出现在高氧暴露下的第一个48 h,有观点认为这是机体为维持正常氧浓度发生的可逆性血管痉挛收缩^[7]。在第9天可观察到最早的血管再生长,此时小鼠仍处于高氧环境,这可能是发育中的视网膜因丢失大量血管故而需要增加营养的反应。P12到P17为第二阶段,P12时将小鼠转移至室内正常空气中,此时血管闭塞区域相对缺氧刺激促血管生成因子产生,从而形成RNV,这是OIR模型第二阶段的标志,也是导致视力障碍最主要的原因。新生血管在P12开始发育,第14天(P14)快速增生,到P17时达最高峰^[3,7]。随着血管不断修复,促血管生成因子不断减少,P17时新生血管开始消退,第25天(P25)时几乎完全消退被正常血管系统替代^[8]。通常,使用第8天(P8)至P12的视网膜评估第一阶段,即视网膜血管闭塞阶段;P17的视网膜用于第二阶段新生血管形成的检测。

2 OIR 小鼠模型相关细胞因子作用

大量研究证实血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达对于OIR模型中正常视网膜血管发育和新生血管异常增生至关重要。高氧会抑制OIR小鼠模型中VEGF产生,从而抑制血管生长导致初期不成熟血管消退,当小鼠重新回到正常空气环境中时中央视网膜相对缺氧会上调VEGF水平,从而促进病理性新生血管的增生^[1,7,9]。进一步研究发现VEGF只是OIR模型中所涉及到的许多血管生长因子之一,外源性促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)、类胰岛素生长因子

1及其受体(insulin-like growth factor 1/receptor, IGF-1/IGF-1R)、 ω -3-多不饱和脂肪酸等细胞因子也有明显作用^[10]。有研究表明,在OIR新生血管病理性增生阶段用siRNA敲低EPO表达可减少新生血管形成,表明该阶段高水平EPO促进病理性视网膜血管生成^[11];用IGF-1R抑制剂抑制IGF-1活性可减少RNV形成,加速生理血管再生,改善视网膜功能,而这与VEGF水平无关,可能是通过调节基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinases-2, MMP-2)发挥作用^[12]。细胞色素P450 CYP 2C8 ω -3-长链多不饱和脂肪酸代谢产物可增加小鼠病理性RNV形成,因此CYP 2C8可能影响了RNV形成中异常脂代谢途径^[13]。

3 OIR 小鼠模型构建的影响因素

3.1 动物种类 20世纪50年代,许多OIR模型的研究并没有特定的动物种类,学者们尝试用猫、家兔、犬、大鼠、小鼠等动物构建OIR模型,因小鼠具有体型小、繁殖快、易饲养、品种多、遗传背景详尽等优点逐渐脱颖而出。目前常用的小鼠品种为具有较低眼部先天性变异率的C57BL/6小鼠。随着对血管再生的深入研究和基因技术的进步,不同品种小鼠的眼部血管再生对外源性血管生成因子、炎症因子和血管系统的反应具有较大的遗传异质性^[14]。C57BL/6小鼠较BALB/c小鼠有更强的视网膜感受器对氧分压的易感性^[15],而与129S3/SyIM小鼠相比具有较低的血管生成水平^[16]。为减少小鼠品种因素对实验结果的干扰,小鼠应从指定供应商的相同品种中进行筛选,且实验应包括同种体内对照和多个同窝抽样等,以使年龄和遗传异质性最小化。转基因小鼠研究的实验组和对照组小鼠也应有相同的遗传背景。

3.2 氧气的百分含量 OIR模型构建的高氧环境是模拟人类早产儿出生时的环境暴露,氧箱内氧气百分含量的选择是影响造模成功与否的关键因素。早前,有些组织对于引发视网膜病变的氧气浓度的阈值见解不一,研究表明,随着氧浓度增加血管的增生性反应相应增加,较低的氧浓度(低于 75%)下小鼠无明显的血管闭塞和新生血管性反应^[3],但若氧浓度超过 80% 视网膜血管的增生性反应增加的幅度相对较小,哺乳期母鼠和幼崽的死亡率骤升,加大了实验难度^[17],因此,选择 75% 的氧浓度作为基本实验条件,不仅可使小鼠视网膜产生一致的血管增生性反应也可减少动物消耗。

3.3 高氧对哺乳期母鼠的影响 高氧毒性是OIR小鼠模型的主要问题。早期OIR小鼠模型实验报

道哺乳期母鼠对高氧环境耐受能力低于其幼崽^[6], 高氧不仅会影响母鼠的哺乳行为和生育能力, 严重时还可使母鼠肺部中毒而死亡。因此, 在造模期间适当替换母鼠十分重要。此外, 我们在实验中观察到哺乳期母鼠暴露于高氧后不能再多地繁殖, 因此不应用于育种目的, 并且在高氧环境和正常氧环境下频繁处理饲养笼易引起母鼠吞食其幼崽。由于小鼠幼崽在刚出生的 21 d 内依赖母鼠乳汁汲取营养, 所以母鼠或替代母鼠的生理健康和精神行为正常对于小鼠幼崽的存活至关重要(结果未发表)。据报道, 构建 OIR 小鼠模型时, 将每日持续高氧暴露改为 22 h 高氧暴露+2 h 常氧暴露, 可最大限度降低高氧对母鼠的不利影响^[17]。近期我们在改良实验中发现 2 只母鼠 12 h 交替哺乳可显著改善母鼠的营养水平, 并降低母鼠死亡和吞食小鼠的发生率, 较 6 h 交替哺乳相比既节省人力也提高了效率(结果未发表)。

3.4 产后体质量增加量(postnatal weight gain, PWG) 产后体质量增加量是新生儿营养状况的指标之一。近年来, 监测 PWG 和 IGF-1 已成为预测 ROP 的可靠方法^[18-19]。因此, PWG 也引起了许多动物建模者的关注。Vanhaesebrouck 等^[20]发现来自大窝的小鼠具有较低的体质量且存在更严重的 RNV 病变, 同时强调了幼崽数量对出生后小鼠生长和营养状况的重要性。Stahl 等^[21]研究发现与中等 PWG(5~7.5 g)和较高 PWG(> 7.5 g)的幼崽相比, 较低 PWG(<5 g)的幼崽具有明显延长的血管闭塞和新生血管阶段, 随后他们探究了替代母鼠和幼崽的数量对 PWG 的影响, 结果发现通过第一阶段额外替代母鼠的使用和减少幼崽数量可提高幼崽的 PWG, 改善其营养状况。此外, 我们在 OIR 造模中发现体质量较小的小鼠对于麻醉药耐受能力差、死亡率较高, 严重影响后续玻璃体内注射等干预实验的开展(结果未发表)。因此, 记录幼崽数量是 OIR 小鼠模型构建中十分重要的环节, 因为其可以显著影响 OIR 小鼠的 PWG 和视网膜病变程度。目前有学者建议将一窝小鼠的数量限制为 8 只以保证每只小鼠达到较佳的营养状况, 记录所有 OIR 实验中的体质量数据, 并在 P17 时剔除体质量低于 6 g 的小鼠^[6], 以确保比较时使用的小鼠体质量基本一致。

3.5 光照暴露 早期 OIR 研究发现, 暴露于第一阶段高氧的小鼠在黑暗中比在光照中生成更多的新生血管, 这种差异可能是由于夜间视网膜较高的代谢需求所致。进一步研究证实暗环境下视网膜光感受器中的视杆细胞代谢旺盛, 耗氧量大, 加速了病理性新生血管的发展^[22]。在照明环境中视锥细胞的

活动可显著抑制视杆细胞的活动, 从而减少了视网膜的耗氧量, 在一定程度上减少了促新生血管生成因子的释放, 进而抑制了 RNV 的生成^[23]。Natoli 等^[24]研究发现, OIR 小鼠模型在构建期间暴露于 670 nm 红光可减少 OIR 小鼠血-视网膜屏障破坏、血管闭塞和视网膜血管分支形成, 并显著减轻肺损害。因此, 可以推断与昼夜节律有关的光照暴露可能对 OIR 发挥着重要作用, 在同一时间开始实验和样品收集对减少这种因素所造成的潜在变异十分重要。

4 OIR 小鼠模型的评估

近年来荧光标记外源性凝集素染色法、荧光素异硫氰酸葡聚糖(fluorescein isothiocyanate-dextran, FITC-dextran)灌注法、CD31 抗体玻璃体腔注射法的出现大大提高了小鼠视网膜中血管的可视化^[25-26]。Li 等^[27]研究表明达到视网膜染色相同效果的情况下, FITC-dextran 眶后注射法比心脏灌注法节约了更多的 FITC-dextran, 操作程序也更为简单, 同时他们用此方法观察了第 2 天(P2)、P8 和 P17 正常小鼠中视网膜血管的荧光染色, 结果表明 FITC-dextran 的眶后注射可适用于所有年龄段的小鼠。通过免疫荧光标记血管内皮特异性抗原 CD31 可显著标记 RNV 的分布和无血管区域。值得注意的是, 与正常血管相比 CD31 能更明显地标记出病理性 RNV, 并且几乎不存在 FITC-dextran 心脏灌注法因视网膜病理性新生血管不完全吻合的微血管腔所造成的“盲区”^[26], 因此提高了 RNV 量化的准确度。Liang 等^[26]研究表明, 西非单豆凝集素(*Griffonia simplicifolia* lectin, GSL)染色的冷冻切片可以清楚地显示 OIR 小鼠视网膜深部和浅表毛细血管床的新生血管簇, GSL 结合于内皮细胞的表面可短时间内在视网膜中清楚地鉴别出病理性新生血管, 与过碘酸-希夫(periodic acid-Schiff, PAS)或苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, H-E)染色的切片中计数穿透内界膜的细胞核数, 比较发现 GSL 染色方法更加客观有效。在 OIR 动物模型中眼底荧光素血管造影术(fundus fluorescein angiography, FFA)相比于前面所提及的染色技术, 其优势是在活体中进行动态观察减少了动物损耗, 但因其对动物大小和操作技术的要求过高, 故而在 OIR 小鼠模型中运用较少。此外, 病理性新生血管与正常血管具有较高对比度, 加上 ImagePro[®] Plus 软件的自动识别功能、Adobe Photoshop 软件的图像跟踪和像素计算, 可对 OIR 小鼠模型视网膜结果进行综合详细的定量评估, 增加实验数据的准确性和客观性^[28]。

5 小结和展望

目前 OIR 小鼠模型已被广泛接受并应用于研究 RNV 形成的分子机制、病理生理和靶向治疗中,如 CD34^[29]、白细胞介素 12 (interleukin-12, IL-12)^[30] 等分子在病理性 RNV 形成中的作用研究等。此外,关于此模型氧化应激的作用也进行了大量研究^[31-32],内源性和人工合成的抗氧化剂在抗 OIR 中可能起关键作用^[17]。 β -肾上腺素能受体活性的调节可改变 OIR 中的血管生成活性^[33]。Kim 等^[34]发现自然免疫的主要组成部分即补体替代途径可在不损坏正常视网膜血管系统的情况下协助清除病理性的新生血管,且这一作用不受 VEGF 的影响。正常情况下视网膜血管表达的补体抑制因子会阻碍病理性新生血管的清除,而在 OIR 第二阶段即病理性新生血管形成阶段补体抑制因子的水平发生了下调,因此研究人员认为病理性的新生血管可能会被补体替代途径定向消除。未来随着免疫染色和遗传操作技术的进步,在 OIR 小鼠模型的基础上,可能会建立新的血管增生性视网膜病变动物模型,如 RNV 病变斑马鱼模型的发展^[35-36]。但是,目前 OIR 小鼠模型的地位是不可替代的,其为研究许多眼部疾病的新生血管生成、神经炎症和探索新治疗策略奠定了坚实基础。

【参考文献】

- [1] KANDASAMY Y, HARTLEY L, RUDD D, SMITH R. The association between systemic vascular endothelial growth factor and retinopathy of prematurity in premature infants: a systematic review [J]. *Br J Ophthalmol*, 2017, 101: 21-24.
- [2] SHAH P K, PRABHU V, KARANDIKAR S S, RANJAN R, NARENDRAN V, KALPANA N. Retinopathy of prematurity: past, present and future [J]. *World J Clin Pediatr*, 2016, 5: 35-46.
- [3] SMITH L E, WESOLOWSKI E, McLELLAN A, KOSTYK S K, D'AMATO R, SULLIVAN R, et al. Oxygen-induced retinopathy in the mouse [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1994, 35: 101-111.
- [4] CHUNG S H, SHEN W, JAYAWARDANA K, WANG P, YANG J, SHACKEL N, et al. Differential gene expression profiling after conditional Müller-cell ablation in a novel transgenic model [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54: 2142-2152.
- [5] YOSHIKAWA N, NODA K, OZAWA Y, MASHIMA Y, ISHIDA S. Blockade for vascular adhesion protein-1 suppresses pathological neovascularization in oxygen-induced retinopathy [J/OL]. *Acta Ophthalmol*, 2013, 91: e409-e410. doi:10.1111/aos.12128.
- [6] CONNOR K M, KRAH N M, DENNISON R J, ADERMAN C M, CHEN J, GUERIN K I, et al. Quantification of oxygen-induced retinopathy in the mouse: a model of vessel loss, vessel regrowth and pathological angiogenesis [J]. *Nat Protoc*, 2009, 4: 1565-1573.
- [7] STAHL A, CONNOR K M, SAPIEHA P, CHEN J, DENNISON R J, KRAH N M, et al. The mouse retina as an angiogenesis model [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51: 2813-2826.
- [8] MEZU-NDUBUISI O J. *In vivo* angiography quantifies oxygen-induced retinopathy vascular recovery [J]. *Optom Vis Sci*, 2016, 93: 1268-1279.
- [9] VELEZ-MONTOYA R, CLAPP C, RIVERA J C, GARCIA-AGUIRRE G, MORALES-CANTÓN V, FROMOW-GUERRA J, et al. Intraocular and systemic levels of vascular endothelial growth factor in advanced cases of retinopathy of prematurity [J]. *Clin Ophthalmol*, 2010, 4: 947-953.
- [10] KERMORVANT-DUCHEMIN E, SAPIEHA P, SIRINYAN M, BEAUCHAMP M, CHECCHIN D, HARDY P, et al. Understanding ischemic retinopathies: emerging concepts from oxygen-induced retinopathy [J]. *Doc Ophthalmol*, 2010, 120: 51-60.
- [11] WEN C T, HE T, XING Y Q. Erythropoietin promotes retinal angiogenesis in a mouse model [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10: 2979-2984.
- [12] LORENC V E, SUBIRADA CALDARONE P V, PAZ M C, FERRER D G, LUNA J D, CHIABRANDO G A, et al. IGF-1R regulates the extracellular level of active MMP-2, pathological neovascularization, and functionality in retinas of OIR mouse model [J/OL]. *Mol Neurobiol*, 2017. doi: 10.1007/s12035-017-0386-9.
- [13] SHAO Z, FU Z, STAHL A, JOYAL J S, HATTON C, JUAN A, et al. Cytochrome P450 2C8 ω 3-long-chain polyunsaturated fatty acid metabolites increase mouse retinal pathologic neovascularization—brief report [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34: 581-586.
- [14] VAN WIJNGAARDEN P, COSTER D J, BRERETON H M, GIBBINS I L, WILLIAMS K A. Strain-dependent differences in oxygen-induced retinopathy in the inbred rat [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46: 1445-1452.
- [15] WALSH N, BRAVO-NUEVO A, GELLER S, STONE J. Resistance of photoreceptors in the C57BL/6-c, C57BL/6J, and BALB/cJ mouse strains to oxygen stress: evidence of an oxygen phenotype [J]. *Curr Eye Res*, 2004, 29: 441-447.
- [16] CHAN C K, PHAM L N, ZHOU J, SPEE C, RYAN S J, HINTON D R. Differential expression of pro- and antiangiogenic factors in mouse strain-dependent

- hypoxia-induced retinal neovascularization [J]. *Lab Invest*, 2005, 85: 721-733.
- [17] TAN S M, STEFANOVIC N, TAN G, WILKINSON-BERKA J L, DE HAAN J B. Lack of the antioxidant glutathioneperoxidase-1 (GPx1) exacerbates retinopathy of prematurity in mice [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54: 555-562.
- [18] GURWIN J, TOMLINSON L A, QUINN G E, YING G S, BAUMRITTER A, BINENBAUM G; Postnatal Growth and Retinopathy of Prematurity (G-ROP) Study Group and the Telemedicine Approaches to Evaluating Acute-Phase Retinopathy of Prematurity (e-ROP) Cooperative Group. Tiered approach to retinopathy of prematurity screening (TARP) using a weight gain predictive model and a telemedicine system[J/OL]. *JAMA Ophthalmol*, 2017. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2016.5203.
- [19] KOÇAK N, NIYAZ L, ARITURK N. Prediction of severe retinopathy of prematurity using the screening algorithm WINROP in preterm infants[J]. *J AAPOS*, 2016, 20: 486-489.
- [20] VANHAESEBROUCK S, DANIELS H, MOONS L, VANHOLE C, CARMELIET P, DE ZEGHER F. Oxygen-induced retinopathy in mice; amplification by neonatal IGF-I deficit and attenuation by IGF-I administration[J]. *Pediatr Res*, 2009, 65: 307-310.
- [21] STAHL A, CHEN J, SAPIEHA P, SEAWARD M R, KRAH N M, DENNISON R J, et al. Postnatal weight gain modifies severity and functional outcome of oxygen-induced proliferative retinopathy [J]. *Am J Pathol*, 2010, 177: 2715-2723.
- [22] FULTON A B, AKULA J D, MOCKO J A, HANSEN R M, BENADOR I Y, BECK S C, et al. Retinal degenerative and hypoxic ischemic disease[J]. *Doc Ophthalmol*, 2009, 118: 55-61.
- [23] PERKINS B D, FADOOL J M. Photoreceptor structure and development analyses using GFP transgenes[J]. *Methods Cell Biol*, 2010, 100: 205-218.
- [24] NATOLI R, VALTER K, BARBOSA M, DAHLSTROM J, RUTAR M, KENT A, et al. 670 nm photobiomodulation as a novel protection against retinopathy of prematurity; evidence from oxygen induced retinopathy models[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8: e72135. doi: 10.1371/journal.pone.0072135.
- [25] HUANG S, LIANG J, YAM G H, LU Z, PANG C P, CHEN H. Comparison of dextran perfusion and GSI-B4 isolectin staining in a mouse model of oxygen-induced retinopathy[J]. *Eye Sci*, 2015, 30: 70-74.
- [26] LIANG X L, LI J, CHEN F, DING X Y, YANG X X, LONG L X. A comparing study of quantitative staining techniques for retinal neovascularization in a mouse model of oxygen-induced retinopathy[J]. *Int J Ophthalmol*, 2012, 5: 1-6.
- [27] LI S, LI T, LUO Y, YU H, SUN Y, ZHOU H, et al. Retro-orbital injection of FITC-dextran is an effective and economical method for observing mouse retinal vessels[J]. *Mol Vis*, 2011, 17: 3566-3573.
- [28] 蒋金玲, 刘卫仁, 于颖彦, 倪培华, 吴建林, 计骏, 等. 肿瘤血管形成的模型建立与显微图像定量分析研究[J]. *中华病理学杂志*, 2011, 40: 475-479.
- [29] SIEMERINK M J, HUGHES M R, DALLINGA M G, GORA T, CAIT J, VOGEL I M, et al. CD34 Promotes pathological epi-retinal neovascularization in a mouse model of oxygen-induced retinopathy[J/OL]. *PLoS One*, 2016, 11: e0157902. doi: 10.1371/journal.pone.0157902.
- [30] ZHOU Y, YOSHIDA S, KUBO Y, KOBAYASHI Y, NAKAMA T, YAMAGUCHI M, et al. Interleukin-12 inhibits pathological neovascularization in mouse model of oxygen-induced retinopathy[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 28140. doi: 10.1038/srep28140.
- [31] WANG H, ZHANG S X, HARTNETT M E. Signaling pathways triggered by oxidative stress that mediate features of severe retinopathy of prematurity [J]. *JAMA Ophthalmol*, 2013, 131: 80-85.
- [32] WILKINSON-BERKA J L, DELIYANTI D, RANA I, MILLER A G, AGROTIS A, ARMANI R, et al. NADPH oxidase, NOX1, mediates vascular injury in ischemic retinopathy [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20: 2726-2740.
- [33] TAN S M, DELIYANTI D, FIGGETT W A, TALIA D M, DE HAAN J B, WILKINSON-BERKA J L. Ebselen by modulating oxidative stress improves hypoxia-induced macroglial Muller cell and vascular injury in the retina[J]. *Exp Eye Res*, 2015, 136: 1-8.
- [34] KIM C, SMITH K E, CASTILLEJOS A, DIAZAGUILAR D, SAINTGENIEZ M, CONNOR K M. The alternative complement pathway aids in vascular regression during the early stages of a murine model of proliferative retinopathy[J]. *FASEB J*, 2016, 30: 1300-1305.
- [35] WU Y C, CHANG C Y, KAO A, HSI B, LEE S H, CHEN Y H, et al. Hypoxia-induced retinal neovascularization in zebrafish embryos; a potential model of retinopathy of prematurity [J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10: e0126750. doi: 10.1371/journal.pone.0126750.
- [36] JUNG S H, KIM Y S, LEE Y R, KIM J S. High glucose-induced changes in hyaloid-retinal vessels during early ocular development of zebrafish; a short-term animal model of diabetic retinopathy [J]. *Br J Pharmacol*, 2016, 173: 15-26.