

斑马鱼视觉损伤和视神经再生的研究进展

陈维昕, 金 铭, 张 旭

引用: 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. 国际眼科杂志 2021; 21(10): 1711-1715

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 81860170); 江西省科技厅自然科学基金重点项目 (No. 20181ACG70010)

作者单位: (330006) 中国江西省南昌市, 南昌大学附属眼科医院
南昌大学眼视光学院

作者简介: 陈维昕, 南昌大学在读本科, 研究方向: 斑马鱼视神经再生。

通讯作者: 张旭, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 青光眼. xuzhang19@163.com

收稿日期: 2021-01-14 修回日期: 2021-08-20

摘要

斑马鱼因其视觉系统与人类的相似性和其视网膜再生的巨大潜能, 成为目前研究眼变性疾病的热门模型。眼变性疾病特别是视网膜变性、视神经变性会严重影响视力, 并且病变后再生修复十分有限, 严重者甚至导致失明。与哺乳动物相反, 斑马鱼能修复视神经轴突损伤, 刺激视网膜 Müller 胶质细胞去分化为多能祖细胞, 从而实现视网膜神经元及神经轴突再生, 恢复正常视功能。本文主要从斑马鱼模型在眼病方面的应用, 斑马鱼视网膜神经元和 Müller 胶质细胞响应损伤启动再生修复的关键信号通路方面作一综述。

关键词: 斑马鱼; 眼病; 视神经再生; 视网膜再生

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2021.10.09

Research progress on visual impairment and optic nerve regeneration in zebrafish

Wei-Xin Chen, Ming Jin, Xu Zhang

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 81860170); Key Project of Natural Science Foundation of Science and Technology Department of Jiangxi Province (No. 20181ACG70010)

Affiliated Eye Hospital of Nanchang University; Nanchang University School of Ophthalmology & Optometry, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Xu Zhang. Affiliated Eye Hospital of Nanchang University; Nanchang University School of Ophthalmology & Optometry, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. xuzhang19@163.com

Received: 2021-01-14 Accepted: 2021-08-20

Abstract

• Zebrafish has become a popular model for the study of ocular degenerative diseases due to its similarity with human visual system and its great potential of retinal

regeneration. The degenerative diseases, especially retinal degeneration and optic nerve degeneration, can seriously affect visual acuity, also the regeneration and repair are very limited, which can lead to blindness in severe cases. In contrast to mammals, zebrafish can repair optic nerve axon damage and stimulate retinal Müller glial cells to differentiate into multifunctional progenitor cells, thereby, regenerating retinal neurons and nerve axons and restoring normal visual function. This review focuses on the application of zebrafish model in eye diseases and the key signaling pathways of zebrafish retinal neurons and Müller glial cells to initiate regeneration and repair in response to injury.

• KEYWORDS: zebrafish; eye disease; optic nerve regeneration; retina regeneration

Citation: Chen WX, Jin M, Zhang X. Research progress on visual impairment and optic nerve regeneration in zebrafish. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2021; 21(10): 1711-1715

0 引言

与哺乳动物不同的是, 斑马鱼具有强大的再生潜能, 视神经受损后神经节细胞可再生轴突, 并在斑马鱼有利的神经系统微环境中迅速生长实现神经功能的恢复。斑马鱼被证明能够再生受损的视网膜, 再生的关键是 Müller 胶质细胞, 可对视网膜损伤做出一系列的反应, 并去分化为祖细胞, 继而分裂分化为再生所需的视网膜神经元类型。在哺乳动物中, 视网膜的损伤导致 Müller 细胞反应性神经胶质增生, 这是典型的神经胶质反应, 通常不利于视力恢复。在啮齿动物中, Müller 胶质细胞可以响应 N-甲基-D-天冬氨酸 (N-Methyl-D-aspartic acid, NMDA) 损伤和生长因子刺激而形成新的神经元, 但数量非常有限^[1], 而且 Müller 胶质细胞的再生潜力随生长而减弱^[2]。两栖动物的视网膜再生主要是以视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 转分化的形式实现^[3]。斑马鱼视网膜受损后, Mapk/Erk, Gsk3 β / β -catenin 和 Jak/Stat3 等信号通路被激活, 与再生相关的细胞骨架蛋白, 转录因子以及轴突生长指导因子等的表达被上调, 在此过程中, 转录因子 Ascl1a 被证明在各信号通路的联结和调节起关键作用。此外, 有体外研究发现, 人的 Müller 胶质细胞在适当条件下可表现祖细胞特性, 可产生光感受器和视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cell, RGC), 将其移植到受损的啮齿动物视网膜可表现出一定的修复能力^[4]。本综述归纳了斑马鱼视网膜、视神经再生相关机制的最新研究, 这些研究有助于为不可逆视网膜视神经变性疾病的细胞替代疗法提供新的治疗思路。

1 斑马鱼模型在眼病中的应用

斑马鱼属脊椎动物, 其组织系统结构和功能与人相似, 且基因高度保守^[5], 其器官组织有巨大的再生潜能, 目

前已有大量关于斑马心脏、肾脏等在再生方面的研究^[6-9]。而同样作为视觉系统研究的热门动物模型,斑马鱼主要具有以下三方面的优势:(1)斑马鱼的胚胎和幼鱼透明,体外发育,易于在显微镜下观察操作,发育为成鱼后体积较小(约4cm),眼部所占比例较大,视觉系统与其他脊椎动物相似,更重要的是具有优于啮齿动物、雏鸡等其他视觉系统模式动物的视觉神经系统的再生潜能^[10];(2)成本低,易于饲养,繁殖能力强,生长发育周期短等特点,适用于大样本量的药物筛选,遗传发育筛选来评估眼病相关突变体^[11];(3)已建立有成功的视觉系统损伤方式,包括遗传突变模型^[12],光损伤模型^[13],化学药物损伤模型^[14],机械性损伤模型^[15]以及缺氧模型^[16]等。斑马鱼转基因模型(*rpe65a:nfsB-eGFP*)用于研究RPE功能障碍和变性,对于与年龄相关的黄斑变性等疾病的研究有重要意义^[17]。Cao等^[16]利用斑马鱼建立出第一个与临床眼病高度相关的低氧诱导的视网膜血管生成的成年*fli-EGFP*转基因斑马鱼模型,*vhl*突变体则是另一种病理血管生成和血管视网膜病变的临床相关模型^[18],且这两种模型都可以潜在的用于筛选和评估与血管生成相关的药物及其疗效。斑马鱼*irp2*突变模型则模拟了近视和青光眼危险因素,为研究近视的遗传原因和机制提供了有力依据^[19]。值得一提的是,斑马鱼显示出的视网膜细胞(包括神经节细胞)的再生能力使其成为研究神经节细胞及神经节细胞轴突存活相关疾病的不二之选,并且已经有不少的研究鉴定出在斑马鱼视网膜再生过程中必不可少的基因,我们将在后面的内容中进行简单介绍。

2 视神经轴突再生

2.1 RGC 感受损伤 视神经损伤后可能会向周围的神经胶质和神经元发出死亡信号,导致RGC选择性死亡。大鼠视神经受损后30min内发出信号,并在6h内激活细胞死亡途径信号通路,在视神经挤压模型7d后损失20%的RGC^[20]。而在斑马鱼视神经挤压模型中几乎所有的RGC都能幸存下来,并表现出惊人的轴突再生速率^[21]。

2.2 视神经轴突再生 研究表明斑马鱼可以在视神经挤压伤后5d内将RGC轴突再生至顶盖^[22],在20~25dpi内恢复视觉功能^[23]。影响轴突再生主要取决于两个因素:轴突再生的微环境和神经元生长相关蛋白的表达^[24]。

与哺乳动物不同,斑马鱼神经系统内似乎存在允许神经再生的微环境。Nogo-A, Semaphorin 3A, 硫酸软骨素在哺乳动物中枢神经系统参与抑制神经轴突的再生,但在斑马鱼体内,Nogo-A不仅被发现缺乏抑制域相关的序列^[25-26],而且可能具有促进轴突生长的作用^[27];Semaphorin 3A的两个同源物在成年斑马鱼的病变视神经束中未检测到表达^[28];而硫酸软骨素免疫反应增加表明神经胶质瘢痕的产生,被视为神经再生失败的证据,但在斑马鱼病变的神经中未发现其表达的上调^[29]。斑马鱼视神经轴突再生的第二个原因是视神经变性后斑马鱼神经节细胞会迅速上调与生长相关的信号和蛋白,如轴突生长指导信号、细胞骨架蛋白、转录因子等。视神经受损3wk后,睫生蛋白-R在病变神经相邻接结构中的表达上调,斑马鱼视神经节细胞还会通过接触排斥机制来引导新添加和再生的视神经轴突;而降低睫生蛋白-R的表达会减少神经轴突的生成^[30]。 α 微管蛋白1(*tuba1*)在视神经受损1d后上调达到峰值,生长相关蛋白43(*gap43*)在第4d达到最大值^[20],构成蛋白质复合物和信号转导的中心微域支架蛋白Reggie-1a, -2a,

-2b, 转录因子KLF6a, KLF7a在轴突再生过程中表达均被上调,并且下调Reggie-1a, -2a, -2b会显著抑制斑马鱼RGC轴突再生^[31-32]。最新研究发现Jak/Stat信号也参与斑马鱼的视神经再生,IL-6家族的细胞因子,通过Gp130偶联的受体,在视神经损伤后刺激视网膜神经节细胞中的Jak/Stat3信号传导,并发现细胞因子CNTF, IL-11和Clcf1/Crfl1a均可以刺激视神经轴突再生^[33]。

2.3 视神经髓鞘化和功能恢复 髓磷脂在中枢神经系统中由少突胶质细胞提供,为轴突提供营养和代谢支持,在神经元的正常功能中发挥关键作用^[34]。视神经损伤后,L1相关基因,Contactin1b和髓磷脂蛋白零(PO)在少突胶质细胞中观察到有表达,可能反映髓鞘再生^[35-37]。最新的研究发现了一种新型的髓磷脂相关蛋白Claudin k,能在轴突周围形成松散的包裹薄膜,成年斑马鱼视神经挤压损伤后,Claudin k蛋白水平出现降低,在病变后4wk内恢复,此过程伴有视神经髓磷脂的降解与再生^[38],在斑马鱼视神经轴突切断后20~25d,其视动反应迅速恢复,在损伤后80~100d,追赶行为(学习行为)也逐渐恢复^[23],这种视觉功能的基础恢复和早期学习功能的恢复反映了再生视神经轴突正确的投射到顶盖和突触被精细化修饰的结果。

3 Müller 胶质细胞主导的视网膜再生与主要的相关基因

与哺乳动物不同,斑马鱼被证明能够再生受损的视网膜,再生的关键是Müller胶质细胞。Müller胶质细胞是一种星形胶质细胞,跨越从玻璃体表面到视网膜下间隙整个视网膜结构,除了行使与普通胶质细胞相似的神元代谢与结构支持功能,离子缓冲,维持神经递质稳态等基础功能之外,最新研究发现Müller胶质细胞能够引导光线通过视网膜的内部组织,并保留了传播图案中光图案的空间分布^[39],并且还在视网膜损伤后充当视网膜干细胞的角色^[40]。其特殊的解剖位置使其与视网膜每层神经元和鞘神经元及血管周围的细胞外间隙相接触,活跃地参与视网膜的正常生理活动和视网膜变性过程^[39]。Müller胶质细胞是如何感受损伤,重编程过程中哪些信号分子发生明显变化,有哪些主要信号通路参与损伤后再生,接下来我们将进行简单的阐述。

3.1 Müller 胶质细胞对损伤的感受 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)是视网膜细胞受损后由凋亡的视网膜神经元产生的诱导Müller胶质细胞增殖的第一个信号,TNF- α 在受损后16h表达升高^[41],并且在损伤部位的Müller胶质细胞中检测到肝素结合性表皮生长因子(heparin binding EGF, HB-EGF)表达量的升高,它们可能通过旁分泌或自分泌的方式将视网膜受损的信号传递给Müller胶质细胞,同时还作用于Mapk/Erk, Wnt/ β -catenin, Jak/Stat3等信号转导级联刺激Müller胶质细胞去分化和增殖^[42-43]。在这个过程中TNF- α 被证明是Müller胶质细胞重编程和祖细胞形成所必需的,而HB-EGF可能通过EGFR和Mapk/Erk通路发挥扩增信号的作用诱导Müller胶质细胞最大化地去分化和增殖最大化^[42]。HB-EGF在损伤后激活再生的必要性还需要进一步研究。

3.2 Müller 胶质细胞对损伤的反应 大量的研究表明,转录因子Ascl1a在Müller胶质细胞整个去分化和增殖过程的各个信号通路中发挥关键的调节作用。视网膜损伤后4h内,Müller胶质细胞诱导了Ascl1a的表达^[44],Ascl1a上调与干细胞更新有关的mRNA结合蛋白Lin-28的表达。降低Lin-28可促进再生相关基因*let-7*的抑制,所以

Ascl1a 上调会促进 Müller 胶质细胞去分化^[45]。此外受损视网膜中 Müller 胶质细胞以 Lin28/Ascl1a 依赖性方式表达信号转导因子和转录激活因子 Stat3 (signal transducer and activator of transcription 3, Stat3)^[46],但它们复杂的调节机制还未阐明,可能存在调节回路,也有可能其他的细胞因子参与作用。Sox2 就是可能参与其中的因子之一,Sox2 是成熟的神经元干细胞相关转录因子,可调节脊椎动物的神经发育和成年的神经发生^[47]。最新的研究表明 Sox2 能使静止状态的 Müller 胶质细胞重新进入细胞周期并分化为神经细胞,并且 Sox2 具有诱导 Ascl1a 和 Atoh7 表达的能力,有趣的是,抑制 Sox2 的表达显著降低 Ascl1a 表达,但它不影响 Stat3 表达^[48],而之前的研究表明下调 Ascl1a 显著降低了 Stat3 表达^[46],这种差异可能是由 Sox2 敲低导致的,或者,有可能 Sox2 的丢失仍使 Stat3 上游的通路起作用。无论如何,Sox2 在斑马鱼视网膜中差异性调节 Stat3 和 Ascl1a 的早期表达,表明 Müller 胶质细胞依赖性视网膜再生需要不同的信号通路。另外,Müller 胶质细胞来源的神经元祖细胞后期持续增殖以及视锥细胞感光细胞的最大化再生中,都需要 Sox2 参与作用^[48]。另一方面,Ascl1a 不仅刺激信号途径,还可以通过控制祖细胞形成和增殖蛋白质和 miRNA 的表达,例如 Dkk, Notch, Insm1a 等促进 Müller 胶质细胞去分化和祖细胞形成^[42,49]。

最近有研究尝试探索 Müller 胶质细胞增殖过程中 DNA 去甲基化的作用,下调去甲基化胞苷脱氨酶 Apobec2a 或 Apobec2b, Müller 胶质细胞的增殖反应显著降低,有趣的是同时发现损伤依赖性的 *ascl1a* 及其靶基因诱导也被抑制,表明 Ascl1a 和 Apobec 蛋白之间也存在调节反馈环,且不依赖于 Lin28,是独立的信号传导途径^[50]。再次证明了 Ascl1a 在 Müller 胶质细胞增殖过程调节各个信号通路的关键性作用,同时也暗示 DNA 脱甲基化可能是 Müller 胶质细胞重编程产生和再生反应的基础。

3.3 Müller 胶质细胞损伤后再生 经过重编程的反应性 Müller 胶质细胞的细胞核从 INL 迁移到 ONL(此过程称为运动核迁移),并在 ONL 进行不对称分裂,产生多能祖细胞,该多能祖细胞迅速分裂并以 N-钙黏着蛋白依赖性方式迁移到 INL 中,从而产生用于视网膜所需的神经元^[51], Mapk/Erk, Gsk3 β / β -catenin 和 Stat 等信号通路参与其中并促进祖细胞的形成^[42,46,52-53],但在反应性 Müller 胶质细胞运动核迁移过程中细胞黏附作用和细胞极性的变化及其分子机制,以及邻近细胞膜表面感受分子的变化与祖细胞分化命运的关系还有待进一步阐明。目前有研究发现在机械损伤模型中,Notch 信号抑制 *hb-egf* 和 *ascl1a* 基因表达以限制受损视网膜中增殖祖细胞的区域,可能控制祖细胞的扩增,却不抑制最初的 Müller 胶质细胞分裂产生祖细胞的过程,同时 Notch 信号还参与祖细胞的分化,刺激神经胶质细胞的感光细胞形成^[42]。在多能祖细胞进一步分化为视网膜所需神经元过程中,有研究表明下调 Müller 胶质细胞中 Drgal1-L2 表达会导致视杆感光细胞的再生减少,但不会影响损伤诱导的增殖和视锥感光细胞的再生^[54];此外,在选择性损伤感光细胞的再生模型中,*hspd1* 和 *mps1* 基因促进视锥感光细胞的再生^[55],但 *O-phospho-L-serine* 则起相反的作用^[56]。这些基因之间的相互作用决定多能祖细胞的分化方向,但反应性 Müller 胶质细胞不能无限制地去分化为多能祖细胞,目前研究发现一些负性

调控因子控制着反应性 Müller 胶质细胞退出细胞周期。Insm1a 是一种表现出双相表达模式的转录阻遏物,对视网膜的再生至关重要,Insm1a 通过调节 *hb-egfa* 基因表达来帮助塑造反应性 Müller 胶质细胞的反应区域^[49],抑制细胞周期相关基因,并增强编码细胞周期蛋白依赖性激酶 (Cdk) 抑制剂的基因 *p57kip2* 的表达来促进退出细胞周期进程^[49]。此外,似乎存在 Ascl1a - Insm1a - dkk 信号级联^[49],它们联结 Müller 胶质细胞再生过程的首尾,有助于 Ascl1a 和 Insm1a 的动态表达,实现整体和谐的视网膜再生。

4 未来研究面对的问题和挑战

视网膜再生从根本上是细胞的感受,细胞反应,细胞再生模式的选择和形态的变化,再加上再生结局,视功能的恢复,这其中仍有许多问题尚未解决。目前的研究揭示在斑马鱼视网膜再生中,Ascl1a 分子在 Müller 胶质细胞的细胞去分化和增殖,甚至 Müller 胶质细胞祖细胞退出细胞周期中都起着关键性的联结作用,但各个通路之间是否存在一定的反馈作用,无数的分子和信号通路是如何在再生过程中被严格的调控联系在一起,这些问题仍需进一步的研究。值得注意的是,目前对 Müller 胶质细胞祖细胞退出细胞周期的机制了解甚少,哪些分子信号会激活 Müller 胶质细胞的不对称自我分裂,而不是诱导神经胶质瘢痕形成?为什么 Müller 胶质细胞保留其神经胶质特性并退出细胞周期,而神经胶质源性视网膜祖细胞分裂为子代细胞增殖并分化为神经元?目前研究已经发现的在退出细胞周期中起关键作用的 Insm1a, Notch, HB-EGF 和 Ascl1a 为进一步探究 Müller 胶质细胞增殖分化命运提供重要的提示。

综上所述,斑马鱼的视网膜再生研究建立在可靠的基础上,进一步的研究将通过解决许多遗留的机制缺陷和与不同物种视网膜再生间的比较来构建出更完整的神经再生前景。更深入全面地了解斑马鱼的再生潜能与机制,旨在发挥人类 Müller 胶质细胞的再生潜力,并创造有利的微环境,以便对受损或患病的视觉系统进行功能性临床修复。

参考文献

- Hamon A, Roger JE, Yang XJ, et al. Müller glial cell-dependent regeneration of the neural retina: an overview across vertebrate model systems. *Dev Dyn* 2016;245(7):727-738
- Jorstad NL, Wilken MS, Grimes WN, et al. Stimulation of functional neuronal regeneration from Müller Glia in adult mice. *Nature* 2017;548(7665):103-107
- Langhe R, Chesneau A, Colozza G, et al. Müller glial cell reactivation in xenopus models of retinal degeneration. *Glia* 2017;65(8):1333-1349
- Lawrence JM, Singhal S, Bhatia B, et al. MIO-M1 cells and similar muller glial cell lines derived from adult human retina exhibit neural stem cell characteristics. *Stem Cells* 2007;25(8):2033-2043
- Barbazuk WB, Korf I, Kadavi C, et al. The syntenic relationship of the zebrafish and human genomes. *Genome Res* 2000;10(9):1351-1358
- Drummond IA, Davidson AJ. Zebrafish kidney development. *Methods Cell Biol* 2016;134:391-429
- Marí-Beffa M, Santamaría JA, Murciano C, et al. Zebrafish fins as a model system for skeletal human studies. *Scientific World J* 2007;7:1114-1127
- González - Rosa JM, Burns CE, Burns CG. Zebrafish heart regeneration: 15 years of discoveries. *Regeneration (Oxf)* 2017;4(3):105-123

- 9 Cao Y, Semanchik N, Lee SH, *et al.* Chemical modifier screen identifies HDAC inhibitors as suppressors of PKD models. *PNAS* 2009; 106(51):21819–21824
- 10 Barbosa-Sabanero K, Hoffmann A, Judge C, *et al.* Lens and retina regeneration; new perspectives from model organisms. *Biochem J* 2012; 447(3):321–334
- 11 Shin JT, Fishman MC. From Zebrafish to human: modular medical models. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2002;3:311–340
- 12 Patton EE, Zon LI. The art and design of genetic screens: zebrafish. *Nat Rev Genet* 2001;2(12):956–966
- 13 Vihtelic TS, Hyde DR. Light-induced rod and cone cell death and regeneration in the adult albino zebrafish (*Danio rerio*) retina. *J Neurobiol* 2000;44(3):289–307
- 14 Luo Z. Establishment of an adult zebrafish model of retinal neurodegeneration induced by NMDA. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019;12(8):1250–1261
- 15 McCurley AT, Callard GV. Time course analysis of gene expression patterns in zebrafish eye during optic nerve regeneration. *J Exp Neurosci* 2010;2010(4):17–33
- 16 Cao Z, Jensen LD, Rouhi P, *et al.* Hypoxia-induced retinopathy model in adult zebrafish. *Nat Protoc* 2010;5(12):1903–1910
- 17 Hanovice NJ, Leach LL, Slater K, *et al.* Regeneration of the zebrafish retinal pigment epithelium after widespread genetic ablation. *PLoS Genet* 2019;15(1):e1007939
- 18 Martins Metelo A, Noonan HR, Li X, *et al.* Pharmacological HIF2 α inhibition improves VHL disease-associated phenotypes in zebrafish model. *J Clin Invest* 2015;125(5):1987–1997
- 19 Veth KN, Willer JR, Coltery RF, *et al.* Mutations in zebrafish *lrp2* result in adult-onset ocular pathogenesis that models myopia and other risk factors for *Glaucoma*. *PLoS Genet* 2011;7(2):e1001310
- 20 Agudo M, Pérez-Marín MC, Lönngrén U, *et al.* Time course profiling of the retinal transcriptome after optic nerve transection and optic nerve crush. *Mol Vis* 2008;14:1050–1063
- 21 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. *PLoS One* 2013;8(2):e57280
- 22 Wyatt C, Ebert A, Reimer MM, *et al.* Analysis of the *astray/robo2* zebrafish mutant reveals that degenerating tracts do not provide strong guidance cues for regenerating optic axons. *J Neurosci* 2010;30(41):13838–13849
- 23 Kaneda M, Nagashima M, Nunome T, *et al.* Changes of phospho-growth-associated protein 43 (phospho-GAP43) in the zebrafish retina after optic nerve injury: a long-term observation. *Neurosci Res* 2008;61(3):281–288
- 24 Fawcett JW. Intrinsic neuronal determinants of regeneration. *Trends Neurosci* 1992;15(1):5–8
- 25 Diekmann H, Klinger M, Oertle T, *et al.* Analysis of the reticulon gene family demonstrates the absence of the neurite growth inhibitor Nogo-A in fish. *Mol Biol Evol* 2005;22(8):1635–1648
- 26 Kim WY, Snider WD. Neuroscience: overcoming inhibitions. *Science* 2008;322(5903):869–872
- 27 Abdesselem H, Shypitsyna A, Solis GP, *et al.* No Nogo66- and NgR-mediated inhibition of regenerating axons in the zebrafish optic nerve. *J Neurosci* 2009;29(49):15489–15498
- 28 Becker CG, Becker T. Growth and pathfinding of regenerating axons in the optic projection of adult fish. *J Neurosci Res* 2007;85(12):2793–2799
- 29 Becker CG, Becker T. Repellent guidance of regenerating optic axons by chondroitin sulfate glycosaminoglycans in zebrafish. *J Neurosci* 2002; 22(3):842–853
- 30 Becker CG, Schweitzer J, Feldner J, *et al.* Tenascin-R as a repellent guidance molecule for newly growing and regenerating optic axons in adult zebrafish. *Mol Cell Neurosci* 2004;26(3):376–389
- 31 Munderloh C, Solis GP, Bodrikov V, *et al.* Reggies/flotillins regulate retinal axon regeneration in the zebrafish optic nerve and differentiation of hippocampal and N2a neurons. *J Neurosci* 2009;29(20):6607–6615
- 32 Veldman MB, Bembem MA, Goldman D. Tuba1a gene expression is regulated by KLF6/7 and is necessary for CNS development and regeneration in zebrafish. *Mol Cell Neurosci* 2010;43(4):370–383
- 33 Elsaedi F, Bembem MA, Zhao XF, *et al.* Jak/Stat signaling stimulates zebrafish optic nerve regeneration and overcomes the inhibitory actions of Socs3 and Sfpq. *J Neurosci* 2014;34(7):2632–2644
- 34 Saab AS, Tzvetanova ID, Nave KA. The role of myelin and oligodendrocytes in axonal energy metabolism. *Curr Opin Neurobiol* 2013; 23(6):1065–1072
- 35 Haenisch C, Diekmann H, Klinger M, *et al.* The neuronal growth and regeneration associated *Cntn1* (F3/F11/Contactin) gene is duplicated in fish: expression during development and retinal axon regeneration. *Mol Cell Neurosci* 2005;28(2):361–374
- 36 Bernhardt RR, Tongiorgi E, Anzini P, *et al.* Increased expression of specific recognition molecules by retinal ganglion cells and by optic pathway glia accompanies the successful regeneration of retinal axons in adult zebrafish. *J Comp Neurol* 1996;376(2):253–264
- 37 Bai Q, Parris RS, Burton EA. Different mechanisms regulate expression of zebrafish myelin protein zero (P0) in myelinating oligodendrocytes and its induction following axonal injury. *J Biol Chem* 2014;289(35):24114–24128
- 38 Münzel EJ, Schaefer K, ObireiB, *et al.* Claudin k is specifically expressed in cells that form myelin during development of the nervous system and regeneration of the optic nerve in adult zebrafish. *Glia* 2012; 60(2):253–270
- 39 Reichenbach A, Bringmann A. New functions of Müller cells. *Glia* 2013;61(5):651–678
- 40 Bernardos RL, Barthel LK, Meyers JR, *et al.* Late-stage neuronal progenitors in the Retina are radial muller glia that function as retinal stem cells. *J Neurosci* 2007;27(26):7028–7040
- 41 Nelson CM, Ackerman KM, O'Hayer P, *et al.* Tumor necrosis factor- α is produced by dying retinal neurons and is required for Müller glia proliferation during zebrafish retinal regeneration. *J Neurosci* 2013;33(15):6524–6539
- 42 Wan J, Ramachandran R, Goldman D. HB-EGF is necessary and sufficient for Müller glia dedifferentiation and retina regeneration. *Dev Cell* 2012;22(2):334–347
- 43 Conner C, Ackerman KM, Lahne M, *et al.* Repressing notch signaling and expressing TNF α are sufficient to mimic retinal regeneration by inducing Müller glial proliferation to generate committed progenitor cells. *J Neurosci* 2014;34(43):14403–14419
- 44 Fausett BV, Gumerson JD, Goldman D. The proneural basic helix-loop-helix gene *ascl1a* is required for retina regeneration. *J Neurosci* 2008;28(5):1109–1117
- 45 Shyh-Chang N, Daley GQ. Lin28: primal regulator of growth and metabolism in stem cells. *Cell Stem Cell* 2013;12(4):395–406
- 46 Nelson CM, Gorsuch RA, Bailey TJ, *et al.* Stat3 defines three populations of Müller glia and is required for initiating maximal Müller glia proliferation in the regenerating zebrafish retina. *J Comp Neurol* 2012;520(18):4294–4311
- 47 Avilion AA, Nicolis SK, Pevny LH, *et al.* Multipotent cell lineages in early mouse development depend on SOX2 function. *Genes Dev* 2003;17(1):126–140

48 Gorsuch RA, Lahne M, Yarka CE, *et al.* Sox2 regulates Müller glia reprogramming and proliferation in the regenerating zebrafish retina via Lin28 and Ascl1a. *Exp Eye Res* 2017;161:174–192

49 Ramachandran R, Zhao XF, Goldman D. Insm1a – mediated gene repression is essential for the formation and differentiation of Müllerglia-derived progenitors in the injured retina. *Nat Cell Biol* 2012;14(10):1013–1023

50 Powell C, Elsaedi F, Goldman D. Injury-dependent Müllerglia and ganglion cell reprogramming during tissue regeneration requires Apobec2a and Apobec2b. *J Neurosci* 2012;32(3):1096–1109

51 Nagashima M, Barthel LK, Raymond PA. A self-renewing division of zebrafish Müller glial cells generates neuronal progenitors that require N-cadherin to regenerate retinal neurons. *Development* 2013;140(22):4510–4521

52 Meyers JR, Hu L, Moses A, *et al.* B-catenin/Wnt signaling controls progenitor fate in the developing and regenerating zebrafish retina. *Neural*

Dev 2012;7:30

53 Ramachandran R, Zhao XF, Goldman D. Ascl1a/Dkk/beta-catenin signaling pathway is necessary and glycogen synthase kinase – 3beta inhibition is sufficient for zebrafish retina regeneration. *PNAS* 2011;108(38):15858–15863

54 Craig SE, Thummel R, Ahmed H, *et al.* The zebrafish galectin Drgal1–12 is expressed by proliferating Müller glia and photoreceptor progenitors and regulates the regeneration of rod photoreceptors. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(6):3244–3252

55 Qin Z, Barthel LK, Raymond PA. Genetic evidence for shared mechanisms of epimorphic regeneration in zebrafish. *PNAS* 2009;106(23):9310–9315

56 Bailey TJ, Fossum SL, Fimbel SM, *et al.* The inhibitor of phagocytosis, O-phospho-L-serine, suppresses Müller glia proliferation and cone cell regeneration in the light-damaged zebrafish retina. *Exp Eye Res* 2010;91(5):601–612