

Müller 细胞在糖尿病视网膜病变中的研究进展

杨曼, 谭薇

引用: 杨曼, 谭薇. Müller 细胞在糖尿病视网膜病变中的研究进展. 国际眼科杂志 2019;19(11):1874-1876

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No.81660162)

作者单位: (563000) 中国贵州省遵义市, 遵义医科大学第三附属医院眼科 遵义市眼科临床医学中心

作者简介: 杨曼, 在读硕士研究生, 研究方向: 糖尿病视网膜病变。

通讯作者: 谭薇, 毕业于第三军医大学, 博士, 主任医师, 主任, 硕士研究生导师, 研究方向: 青光眼、视网膜疾病. tanwei950118@sina.com

收稿日期: 2019-02-28 修回日期: 2019-09-23

摘要

Müller 细胞是脊椎动物视网膜最主要的神经胶质细胞, 从内界膜到外界膜纵贯视网膜全层, 参与构成血-视网膜屏障, 积极参与视网膜发育并通过许多细胞内机制促进和维持视网膜稳态。Müller 细胞在糖尿病视网膜病变的发生发展过程中扮演重要角色, 其病理生理改变仍有待深入研究。本文就 Müller 细胞在糖尿病视网膜病变中的病理生理改变以及近年研究进展作一综述。

关键词: 糖尿病视网膜病变; 胶质细胞; Müller 细胞; 视网膜胶质增生; 谷氨酸; 血管内皮生长因子; Kir4.1; 炎症因子
DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.11.13

Research progress of Müller cells in diabetic retinopathy

Man Yang, Wei Tan

Foundation item: Natural Science Foundation of China (No. 81660162)

Department of Ophthalmology, the Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University; Zunyi City Eye Clinic Medical Center, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Correspondence to: Wei Tan. Department of Ophthalmology, the Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University; Zunyi City Eye Clinic Medical Center, Zunyi 563000, Guizhou Province, China. tanwei950118@sina.com

Received: 2019-02-28 Accepted: 2019-09-23

Abstract

• Müller cells are the most important glial cells in the vertebrate retina. They extend from the inner limiting membrane to the outer membrane through the entire retina, participate in the blood-retinal barrier, and actively participate in retinal development and promote the maintenance of retinal homeostasis through many intracellular mechanisms. Müller cells play an important role in the development of diabetic retinopathy. The

pathophysiological changes in diabetic retinopathy remain to be further studied. This article reviews the pathophysiological changes of Müller cells in diabetic retinopathy and the recent research progress.

• **KEYWORDS:** diabetic retinopathy; glial cells; Müller cells; retinal gliosis; glutamate; vascular endothelial growth factor; Kir4.1; inflammatory factor

Citation: Yang M, Tan W. Research progress of Müller cells in diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019;19(11): 1874-1876

0 引言

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病 (diabetic mellitus, DM) 严重的微血管病变, 是目前全球第二大致盲性眼病。DR 不仅影响视网膜微血管系统和视网膜神经元, 还影响视网膜神经胶质细胞^[1-3]。Müller 细胞是视网膜最主要的胶质细胞, 其可分泌营养因子, 回收神经递质, 防止谷氨酸 (Glu) 毒性, 通过空间缓冲重新分配离子, 参与类视黄醇循环, 并通过多种机制调节营养供应, 在维持血-视网膜屏障 (blood-retinal barrier, BRB) 的形态结构和保护神经元的完整性、代谢、视网膜内环境稳态等方面均发挥着重要作用^[4-6]。DR 可导致 Müller 细胞发生一系列病理性改变, 如反应性胶质化增生^[7]、谷氨酰胺合成酶 (GS) 合成减少、谷氨酸转运体 (GLAST) 转运能力减弱^[8]、分泌大量血管内皮生长因子 (VEGF)^[9]、Kir4.1 通道表达下调^[10]、释放炎症因子, 形成慢性炎症性视网膜环境^[11]等, 这些病理改变可能在 DR 视网膜神经变性及微循环调节障碍的发生发展中发挥重要作用。

1 Müller 细胞在视网膜的分布

Müller 细胞是脊椎动物视网膜神经大胶质细胞的一个子集, 是生物学家 Heinrich Müller 在视网膜中发现的一种呈细长形且在视网膜上呈特异性放射状分布、对组织结构具有支持作用的胶质纤维, 也称 Müller 纤维, 其来源于室管膜细胞 (ependymal cell)。有研究表明^[12], 灵长类动物的视网膜黄斑中央凹由 25~35 个独特的呈倒锥形的 Müller 细胞形成, 且覆盖在光感受器高密度区域。在成熟视网膜中, Müller 细胞从内界膜到外界膜纵贯整个神经视网膜, 位于所有核层和丛状层, 包绕各级视网膜神经元胞体及突触, 又紧密包裹视网膜血管, 其特化的足板附着于视网膜毛细血管壁参与构成 BRB^[13-14]。有研究采用^[15], Müller 细胞在视网膜各层形态、大小较为一致, 但在视网膜各层中的分布不同, 与其线粒体在视网膜分布趋势相一致, 表现为从感光细胞层到节细胞及神经纤维层逐渐增多。DR 可导致 Müller 细胞胞体及内外侧突起发生肿胀, 线粒体数量减少, 空泡化程度加深, 细胞器减少等改变, 且最早发生这种形态学改变是在视网膜神经纤维层、节细胞层和内丛状层。

2 DR 发生过程中 Müller 细胞的病理生理改变及研究进展

2.1 反应性胶质化增生 反应性胶质化增生可能是 DM 早期 Müller 细胞的主要病理改变之一。实验性和人自发的早期 DR 均可引起 Müller 细胞活化。持续性反应性胶质化增生是早期视网膜损害的标志^[7]。反应性胶质化增生的特征改变包括 Müller 细胞肥大和增生,中间丝波形蛋白和巢蛋白以及胶质细胞纤维酸性蛋白(GFAP)表达上调^[16]。近年 Xie 等^[17]研究发现,视网膜下移植嗅鞘细胞(OEC)和嗅神经成纤维细胞,二者可能与 Müller 细胞相互作用,并通过抑制 Notch 信号通路显著抑制 Müller 细胞的活化和退行性视网膜病变中的神经胶质化增生。GFAP 过度表达是反应性胶质化增生最常见的标志。Müller 细胞中的 GFAP 表达增加,可导致 Müller 细胞肥大和神经胶质瘢痕形成。通常 GFAP 由视网膜星形胶质细胞表达,而 Müller 细胞不表达。有研究采用链脲佐菌素(STZ)诱导大鼠发生 DM, 2mo 后进行免疫组织化学检测结果发现 Müller 细胞和星形胶质细胞均表达 GFAP, Müller 细胞中 GFAP 表达增加,而星形胶质细胞中 GFAP 表达减少。该研究还发现,在糖尿病大鼠视网膜中, Müller 细胞的增生先于 GFAP 过度表达,这通常被认为是神经胶质化增生的关键特征^[7]。多种类型的视网膜的损伤均可导致 Müller 细胞中 GFAP 的快速上调而不是细胞增生。Wei 等^[18]发现富含氯的生理盐水可抑制 Müller 细胞 GFAP 的表达。周伟等^[19]研究指出褪黑素可降低 DM 大鼠视网膜 GFAP 的阳性表达。Jung 等^[20]研究也证实芦荟素可呈剂量依赖性降低 Müller 细胞中 GFAP 表达,且芦荟素对 Müller 细胞胶质增生具有预防作用。Wang 等^[21]最新研究发现,转录因子 SOX9 敲除不仅能够抑制大鼠 Müller 细胞 GFAP 表达,而且能减弱细胞迁移能力,表明抑制 SOX9 活性可能是降低神经胶质细胞活性的新型治疗策略。

2.2 谷氨酸兴奋性毒性 视网膜中多数兴奋性信号由 Glu 介导。Glu 是视网膜最主要的神经递质,但神经突触间隙中过量的 Glu 可引起视网膜神经元损伤甚至死亡。Müller 细胞参与了突触间隙中 Glu 的摄取,避免了 Glu 兴奋性毒性。此外, Glu 在 Müller 细胞中还被回收转化为谷氨酰胺,并返回给神经元,为神经递质的合成提供底物^[22]。DR 发病初期, Müller 细胞就开始发生功能改变。正常情况下, Glu 清除主要通过 GLAST。Müller 细胞被病理性活化可导致 GS 表达降低, GLAST 活性降低^[8]。研究表明^[23],在糖尿病发生 4wk 后,通过 GLAST 转运的 Glu 显著减少,导致细胞外 Glu 浓度升高, Glu 水平升高也可导致 Glu 受体表达改变,破坏视网膜 Glu 稳态。DR 进展期间, Müller 细胞通过降低 K⁺摄取而间接促成 K⁺浓度失衡和 K⁺稳态改变,导致神经元兴奋和 Glu 毒性。当视网膜内 Glu 浓度升高到一定浓度时可造成神经元发生严重的不可逆性损伤,即 Glu 兴奋性毒性。曾凯宏等^[24]通过高糖诱导 DM 大鼠进行体内研究,结果表明牛磺酸可增加 Müller 细胞中 GLAST 的表达活性,从而抑制 DM 引起的视网膜 Müller 细胞功能改变。Zeng 等^[25]研究也发现白藜芦醇可预防 DM 大鼠视网膜中 GLAST 和 GS mRNA 与蛋白表达下调。上述研究结果可作为应对 DM 发生过程中视网膜兴奋性毒性的补充策略。

2.3 病理性血管内皮生长因子的产生 VEGF 可促进血管通透性增加,细胞外基质变性、血管内皮细胞迁移、增殖和血管形成,是目前已知的最强的促进内皮细胞有丝分裂因子和血管生成因子,被认为是与增殖性 DR 新生血管形成

联系最紧密的一种因子^[26-27]。Müller 细胞主要通过产生 VEGF 或 VEGF-A 参与视网膜炎症、新血管的形成、血管渗漏和损伤,这也是与 DR 相关的关键病理过程^[28]。Mu 等^[9]研究证实,在高糖诱导下, Müller 细胞可分泌大量 VEGF。近年有学者^[29-31]通过条件性敲除 DR 小鼠 Müller 细胞 VEGF 基因,结果发现小鼠视网膜 VEGF 表达下降。表明 Müller 细胞可能是 DR 发生过程中 VEGF 的主要来源之一。VEGF 可诱发视网膜病理性新生血管形成,新生血管长入玻璃体并引起玻璃体积血,最终可引起牵拉性视网膜脱离等。此外, VEGF 可显著增加微血管的通透性,破坏 BRB,使细胞外液积聚于黄斑,引起黄斑水肿,导致视力减退。目前,玻璃体内注射抗 VEGF 药物(贝伐单抗、雷珠单抗、康柏西普等)是临床上普遍采用的抗视网膜新生血管的治疗方法。近年, Shen 等^[32]研究提供了一种潜在的新型组合方法,即联合使用靶向内皮糖蛋白和 VEGF-A 比单独使用抗 VEGF-A 和抗内皮因子对 Müller 细胞破坏所引起的视网膜下纤维新生血管形成的抑制作用更强。Coughlin 等^[33]最新研究发现白细胞介素-6(IL-6)可通过 VEGF-A 信号传导保护 Müller 细胞免受高葡萄糖毒性,该结果对靶向 IL-6 的药物开发具有临床意义。

2.4 Kir4.1 通道的表达下调 迄今为止,已在 Müller 细胞中鉴定出 6 个内向整流 K⁺(Kir)通道(Kir1~Kir6),其中 Kir4.1 大量表达。Kir4.1 和视网膜 Müller 细胞中的水通道蛋白 4(AQP4)的共表达紧密调节视网膜水稳态, Müller 细胞通过 Kir4.1 通道维持视网膜 K⁺浓度^[34-35]。DR 发生过程中, Müller 细胞中 Kir4.1 表达下降,可导致 Müller 细胞肿胀,视网膜血管渗漏等。Thompson 等^[36]将大鼠 Müller 细胞在晚期糖基化终产物修饰的层粘连蛋白培养皿上进行培养,并通过免疫荧光和 Western blot 检测发现, Müller 细胞中 Kir4.1 表达水平降低,且 Kir4.1 通道功能降低,表明晚期糖基化终产物修饰的层粘连蛋白对 Kir4.1 通道是有害的。Hassan 等^[37]研究结果表明, Kir4.1 通道具有昼夜节律,这种节律因 DM 而减弱,此外,视网膜中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的增加也可导致 Kir4.1 表达降低。Jung 等^[20]研究证实,芦荟素可对 Müller 细胞中钾和水的转运过程发挥关键作用,可抑制由 Kir4.1 通道下调介导的 Müller 细胞肿胀。Yang 等^[38]在慢性高血压模型大鼠玻璃体腔注射腺苷受体拮抗剂 SCH442416,其可上调 Müller 细胞 Kir4.1、GS 和 GLAST 表达并增强内向钾电流,表明 SCH442416 不仅可以改善相关蛋白的表达,还可以改善 Müller 细胞中的钾通道功能。

2.5 炎症因子的释放 Müller 细胞是视网膜细胞因子的主要来源, DR 发生过程中,活化的 Müller 细胞可释放炎症因子和细胞因子,如诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)、VEGF、成纤维细胞生长因子-2(FGF-2)、TNF- α 、白细胞介素-1 β (IL-1 β)等,形成慢性炎症性视网膜环境,加重视网膜神经元的损伤和凋亡,破坏 BRB 结构的完整,诱发血管渗漏、黄斑水肿及新生血管生成等^[4,39]。Eastlake 等^[11]对炎症因子表达的比较分析结果表明,除某些趋化因子外, Müller 细胞可在体外产生多数细胞因子和炎症因子,包括粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)、血小板衍生因子(PDGF-Bb)、VEGF 和组织生长因子(TGF- β 2)等。因此 Müller 细胞靶向炎症因子的产生可能是预防视网膜神经胶质增生期间神经损伤的有效方法。Lu 等^[40]使用体内和体外应激模型探索 670nm 光的生物调节对激活的 Müller 细胞的影响,结果发

现采用 670nm 光进行早期治疗能够减少氧化损伤后 Müller 细胞活化,降低 GFAP 和 FGF-2 在视网膜中的表达,减少 Müller 细胞产生促炎细胞因子(如 IL-1 β 等)。

3 小结

Müller 细胞独特的排列结构跨越视网膜全层,是连接神经元和血管的一种功能纽带。DR 发生发展过程中,长时间高血糖状态会影响 Müller 细胞的正常生理功能,因此了解视网膜中 Müller 细胞的病理生理改变,能够为治疗 DR 提供靶点,也为有效治疗 DR 提供理论基础。

参考文献

- 1 Barber AJ. Diabetic retinopathy: recent advances towards understanding neurodegeneration and vision loss. *Sci China Life Sci* 2015; 58(6): 541-549
- 2 Jonsson KB, Frydkjaer-Olsen U, Grauslund J. Vascular Changes and Neurodegeneration in the Early Stages of Diabetic Retinopathy: Which Comes First? *Ophthalmic Res* 2016; 56(1): 1-9
- 3 Sorrentino FS, Allkabet M, Salsini G, et al. The importance of glial cells in the homeostasis of the retinal microenvironment and their pivotal role in the course of diabetic retinopathy. *Life Sci* 2016; 162: 54-59
- 4 Araújo RS, Santos DF, Silva GA. The role of the retinal pigment epithelium and Müller cells secretome in neovascular retinal pathologies. *Biochimie* 2018; 155: 104-108
- 5 Subirada PV, Paz MC, Ridano ME, et al. A journey into the retina: Müller Glia commanding survival and death. *Eur J Neurosci* 2018; 47(12): 1429-1443
- 6 Zhu L, Shen W, Lyons B, et al. Dysregulation of inter-photoreceptor retinoid-binding protein (IRBP) after induced Müller cell disruption. *J Neurochem* 2015; 133(6): 909-918
- 7 Rungger-Brändle E, Dosso AA, Leuenberger PM. Glial reactivity, an early feature of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41(7): 1971-1980
- 8 Li Q, Puro DG. Diabetes - Induced Dysfunction of the Glutamate Transporter in Retinal Müller Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43(9): 3109-3116
- 9 Mu H, Zhang XM, Liu JJ, et al. Effect of high glucose concentration on VEGF and PEDF expression in cultured retinal Muller cells. *Mol Biol Rep* 2009; 36(8): 2147-2151
- 10 Xie B, Jiao Q, Cheng Y, et al. Effect of pigment epithelium-derived factor on glutamate uptake in retinal Muller cells under high-glucose conditions. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53(2): 1023-1032
- 11 Eastlake K, Banerjee PJ, Angbohang A, et al. Müller glia as an important source of cytokines and inflammatory factors present in the gliotic retina during proliferative vitreoretinopathy. *Glia* 2016; 64(4): 495-506
- 12 Syrbe S, Kuhrt H, Gärtner U, et al. Müller glial cells of the primate foveola: An electron microscopical study. *Exp Eye Res* 2018; 167: 110-117
- 13 黎晓新, 白玉婧. 重视 Müller 细胞在糖尿病视网膜病变中作用的基础研究. *中华眼科杂志* 2015; 51(5): 321-322
- 14 Lynch SK, Abramoff MD. Diabetic retinopathy is a neurodegenerative disorder. *Vision Res* 2017; 139: 101-107
- 15 郑宏华. 大鼠视网膜 Müller 细胞的分布及糖尿病视网膜 Müller 细胞形态变化. 福建医科大学 2009
- 16 Graca AB, Hippert C, Pearson RA. Müller Glia Reactivity and Development of Gliosis in Response to Pathological Conditions. *Adv Exp Med Biol* 2018; 1074: 303-308
- 17 Xie J, Huo S, Li Y, et al. Olfactory Ensheathing Cells Inhibit Gliosis in Retinal Degeneration by Downregulation of the Müller Cell Notch Signaling Pathway. *Cell Transplant* 2017; 26(6): 967-982
- 18 Wei L, Ge L, Qin S, et al. Hydrogen-rich saline protects retina against glutamate-induced excitotoxic injury in guinea pig. *Exp Eye Res* 2012; 94(1): 117-127

- 19 周伟, 刘学政. 褪黑素对糖尿病大鼠早期视网膜神经组织 GFAP 表达影响的实验研究. *生物医学工程与临床* 2010; 14(5): 447-449
- 20 Jung E, Kim J. Aloidin Inhibits Müller Cells Swelling in a Rat Model of Thioacetamide - Induced Hepatic Retinopathy. *Molecules* 2018; 23(11): E2806
- 21 Wang X, Shu Q, Ni Y, et al. CRISPR-mediated SOX9 knockout inhibits GFAP expression in retinal glial (Müller) cells. *Neuroreport* 2018; 29(17): 1504-1508
- 22 高丽园, 张丽琼, 刘子睿, 等. Müller 细胞与视网膜病变. *现代生物医学进展* 2015; 15(5): 963-965
- 23 Coughlin BA, Feenstra DJ, Mohr S. Müller cells and diabetic retinopathy. *Vision Res* 2017; 139: 93-100
- 24 曾凯宏, 许红霞, 糜漫天, 等. 牛磺酸对高糖刺激大鼠视网膜 Müller 细胞 GLAST 和 GS 表达的影响. *国际眼科杂志* 2008; 8(1): 41-44
- 25 Zeng K, Yang N, Wang D, et al. Resveratrol Prevents Retinal Dysfunction by Regulating Glutamate Transporters, Glutamine Synthetase Expression and Activity in Diabetic Retina. *Neurochem Res* 2016; 41: 1050-1064
- 26 蔡宇豪, 管军. 血管内皮生长因子基因多态性与冠心病相关性研究进展. *中西医结合心血管病电子杂志* 2018; 6(7): 44, 48
- 27 Ferrara N. VEGF and Intraocular Neovascularization: From Discovery to Therapy. *Transl Vis Sci Technol* 2016; 5(2): 10
- 28 Le YZ. VEGF production and signaling in Müller glia are critical to modulating vascular function and neuronal integrity in diabetic retinopathy and hypoxic retinal vascular diseases. *Vision Res* 2017; 139: 108-114
- 29 Wang J, Xu X, Elliott MH, et al. Müller Cell-Derived VEGF Is Essential for Diabetes - Induced Retinal Inflammation and Vascular Leakage. *Diabetes* 2010; 59(9): 2297-2305
- 30 Simmons AB, Bretz CA, Wang H, et al. Correction to: Gene therapy knockdown of VEGFR2 in retinal endothelial cells to treat retinopathy. *Angiogenesis* 2018; 21(4): 765
- 31 Fu S, Dong S, Zhu M, et al. VEGF as a Trophic Factor for Müller Glia in Hypoxic Retinal Diseases. *Adv Exp Med Biol* 2018; 1074: 473-478
- 32 Shen W, Lee SR, Yam M, et al. A Combination Therapy Targeting Endoglin and VEGF-A Prevents Subretinal Fibro-Neovascularization Caused by Induced Müller Cell Disruption. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59(15): 6075-6088
- 33 Coughlin BA, Trombley BT, Mohr S. Interleukin-6 (IL-6) mediates protection against glucose toxicity in human Müller cells via activation of VEGF - A signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2019; 517(2): 227-232
- 34 Christie MJ. Molecular and functional diversity of K⁺ channels. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995; 22(12): 944-951
- 35 Paulo K, Paul C, Zahs KR, et al. Genetic Inactivation of an Inwardly Rectifying Potassium Channel (Kir4.1 Subunit) in Mice: Phenotypic Impact in Retina. *J Neurosci* 2000; 20(15): 5733-5740
- 36 Thompson K, Chen J, Luo Q, et al. Advanced glycation end (AGE) product modification of laminin downregulates Kir4.1 in retinal Müller cells. *PLoS One* 2018; 13: e0193280
- 37 Hassan I, Luo Q, Majumdar S, et al. Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) Disrupts Kir4.1 Channel Expression Resulting in Müller Cell Dysfunction in the Retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58(5): 2473-2482
- 38 Yang Z, Huang P, Liu X, et al. Effect of adenosine and adenosine receptor antagonist on Müller cell potassium channel in Rat chronic ocular hypertension models. *Sci Rep* 2015; 5(4): 11294
- 39 Zou YY, Kan EM, Lu J, et al. Primary blast injury-induced lesions in the retina of adult rats. *J Neuroinflammation* 2013; 10: 79
- 40 Lu YZ, Fernando N, Natoli R, et al. 670nm light treatment following retinal injury modulates Müller cell gliosis: Evidence from *in vivo* and *in vitro* stress models. *Exp Eye Res* 2018; 169: 1-12