

小胶质细胞在眼病中的研究进展

崔凌*, 黄光怡*, 徐帆

引用: 崔凌, 黄光怡, 徐帆. 小胶质细胞在眼病中的研究进展. 国际眼科杂志 2020; 20(3): 472-476

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81760172, 81560166); 广西自然科学基金资助项目 (No. 2018GXNSFAA281128)

作者单位: (530021) 中国广西壮族自治区南宁市, 广西壮族自治区人民医院眼科

*: 崔凌和黄光怡对本文贡献一致。

作者简介: 崔凌, 男, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 视网膜玻璃体疾病的诊治和基础研究; 黄光怡, 女, 本科, 住院医师, 研究方向: 白内障和眼底病的诊治。

通讯作者: 徐帆, 男, 博士, 副主任医师, 研究方向: 白内障和眼底病的诊治和基础研究. oph_fan@163.com

收稿日期: 2019-07-05 修回日期: 2020-02-21

摘要

小胶质细胞是中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 的神经胶质细胞的主要类型之一, 发挥着巨噬细胞的功能, 参与 CNS 的免疫反应。静息状态下的小胶质细胞时刻监视着其周围微环境的各种病理变化。在各种损伤因素的刺激下, 激活的小胶质细胞发挥着保护和损伤组织的双重作用。小胶质细胞的异常活化, 介导了视网膜炎症反应, 加重了眼部原有的病变。随着我们对小胶质细胞和视网膜细胞之间相互作用机制的日益深入的了解, 正在为治疗性干预确定潜在的细胞和分子靶点, 这些治疗性干预将来可能应用于视神经损伤、糖尿病视网膜病变、青光眼等疾病。同时, 评估靶向干预小胶质细胞对于上述各类疾病的潜在治疗效果, 也为未来的临床转化研究奠定基础。在这篇综述中, 我们将探讨眼科疾病与小胶质细胞活性之间的潜在联系。

关键词: 小胶质细胞; 视神经损伤; 糖尿病视网膜病变; 青光眼; 靶向治疗; 基础研究

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2020.3.14

Research progress of microglia in eye disease

Ling Cui*, Guang-Yi Huang*, Fan Xu

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No.81760172, 81560166); Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region (No.2018GXNSFAA281128)

Department of Ophthalmology, People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Co-first authors: Ling Cui and Guang-Yi Huang.

Correspondence to: Fan Xu. Department of Ophthalmology, People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. oph_fan@163.com

Received: 2019-07-05 Accepted: 2020-02-21

Abstract

• Microglia are the resident macrophages of the central nervous system (CNS). Microglia constantly monitor the pathological changes of the surrounding microenvironment. Activated microglia play key roles in tissue protection and injury under the stimulation of various injury factors. Abnormal activation of microglia mediates retinal inflammation and aggravates the original ophthalmic diseases. Our growing understanding of the mechanisms of the interaction between microglia and retinal cells is identifying potential cellular and molecular targets for therapeutic interventions that may be apply to optic nerve injury, diabetic retinopathy, glaucoma and other diseases in the future. In this review, potential links between ophthalmic diseases and microglial activity will be explored.

• **KEYWORDS:** microglia; optic nerve injury; diabetic retinopathy; glaucoma; targeted therapy; basic research

Citation: Cui L, Huang GY, Xu F. Research progress of microglia in eye disease. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020; 20(3): 472-476

0 引言

小胶质细胞是中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 中神经胶质细胞的主要类型之一, 发挥着巨噬细胞的功能, 参与 CNS 的免疫反应^[1-2]。视网膜和视神经作为 CNS 的外延, 小胶质细胞在各类疾病的发生和发展中均扮演着重要的角色^[3-4]。

静息状态下, 小胶质细胞呈分枝状, 时刻监视着其周围微环境的各种病理变化; 在各种损伤因素的刺激下, 例如视神经损伤、炎症、光损伤、视网膜脱离和视网膜色素变性等, 小胶质细胞立即激活, 并改变其形态进而向病变区域迁移, 发挥着保护和损伤组织的双重作用; 一方面, 小胶质细胞通过吞噬异己成分、分泌神经营养因子等促进神经细胞存活和组织再生; 而另一方面, 小胶质细胞的过度活化也可能通过分泌细胞毒性物质, 例如白介素 (interleukin, IL)-1、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 等诱导神经元凋亡, 进而加重组织损伤^[5-6]。近十余年来, 随着分子生物学技术的快速发展, 人们对于小胶质细胞的生物学功能与眼科疾病的相关性及其具体分子机制有了更为深刻的认识。本文将针对小胶质细胞与眼科疾病的关系进行综述。

1 视神经损伤和小胶质细胞

小胶质细胞对死亡的神经元的吞噬,在视神经损伤患者的视功能预后中发挥着重要作用。在视神经损伤的患者中,视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)凋亡相关因子会呈现爆发式增长,RGCs凋亡是其主要的病理变化,并导致不可逆的视功能丧失,严重威胁患者的生活质量^[7]。当发生视神经损伤时,小胶质细胞立即开始识别和迁移至损伤部位,发挥其吞噬功能,清除凋亡的神经元细胞。为了研究视网膜小胶质细胞的吞噬功能,研究人员利用4Di-10ASP染料对RGCs进行染色,当小胶质细胞吞噬RGCs后,亦可在小胶质细胞中观察到4Di-10ASP染色的情况^[8]。完成了首次吞噬的小胶质细胞,仍可继续迁移,并再次吞噬死亡的RGCs。与大脑中小胶质细胞激活后,其分枝状形态完全改变为变形虫样的过程不同,视网膜小胶质细胞在受到损伤刺激后,仍部分保留分枝状的形态。当损伤刺激停止后,小胶质细胞可以重新迁移至节细胞层和内丛状层,并恢复为分枝状的形态^[9]。

为进一步分析小胶质细胞吞噬功能对视神经损伤后RGCs发挥了何种作用,研究人员利用各类小胶质细胞激活抑制剂进行干预,观察RGCs存活率的变化。近年来研究证实,利用亚精胺^[10]、腺苷酸激酶抑制剂^[11-12]、ASK1-p38信号通路抑制剂^[13]、枸杞^[14]等均可以通过抑制小胶质细胞激活,进而保护视神经损伤后的RGCs,提高细胞存活率。同时,小胶质细胞和RGCs之间,也能通过细胞间的表面受体和配体,如Recombinant Cluster of Differentiation 200 (CD200),及受体Recombinant CD200 Receptor 1 (CD200R1),发挥相互的调控作用^[15]。上述研究提示我们,通过干预视网膜小胶质细胞异常活化,能够对视神经损伤诱导的RGCs死亡发挥调控作用。

此外,视神经损伤的程度也决定了小胶质细胞行为^[16]。在轻度的视神经损伤小鼠模型中,利用TUNAL染色和电镜观察,证实在损伤后2~28d,RGCs的数量和活力均没有显著下降。同时,在视神经损伤的近端重建过程中,并没有小胶质细胞激活。与此相反,在伤后7~28d激活的小胶质细胞紧密包裹着损伤的视神经远端断裂的神经轴突周围。而这些现象对于轻度视神经损伤治疗策略制定和其下游分子机制,仍有待研究。

值得注意的是,单眼视神经损伤或干预也可能引起对侧视网膜小胶质细胞改变。Cen等^[17]对单眼视神经横断伤大鼠的双眼小胶质细胞形态、分布和功能进行了分析。他们发现小胶质细胞密度在视神经损伤3d~2wk后快速升高,在3~12wk又逐渐减低,在1~3wk时还伴随着节细胞层(ganglion cell layer, GCL)小胶质细胞分枝状形态的转变。损伤眼中,小胶质细胞数量和形态随着时间而发生变化。而在非损伤眼中,尽管仅在视网膜中央区域检测到小胶质细胞密度的增加具有统计学上的意义,但是小胶质细胞形态的变化及其趋势与损伤眼相似。而Galindo-Romero对单侧视神经横断伤眼玻璃体腔注射脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF),也发现在对侧眼小胶质细胞显著激活并发挥吞噬作用^[18]。上述结果提示我们,在单眼视神经损伤的动物模型中,利用对侧眼作为对照组时应考虑小胶质细胞变化的因素。

在具有视神经再生能力的两栖动物中,小胶质细胞激活和作用的方式具有独特性。Zou等^[19]研究发现在斑马

鱼视神经损伤模型中,RGCs的存活率和神经轴突再生对于斑马鱼视功能的恢复具有重要作用。由于RGCs死亡率低,因而小胶质细胞数量仅在伤后3d短暂升高,在伤后14d逐渐下降^[19]。在这过程中,较低的三碘甲状腺氨酸(T3)水平,可以有效地抑制小胶质细胞激活,并快速降低视神经损伤引起的炎症反应程度^[20]。在视神经横断的有爪蟾中,小胶质细胞在伤后18h,开始聚集于视网膜并沿视神经排列。在再生的视神经轴突进入大脑前5d达到高峰,并于连接视网膜和中脑顶盖神经纤维的重建后逐渐减低^[15]。上述结果提示我们,小胶质细胞在视神经横断后的再生中扮演了重要角色。

2 糖尿病视网膜病变和小胶质细胞

高血糖状态不仅诱发新生血管形成,同时也伴随着神经元的死亡,表明糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)符合视网膜神经退行性改变的特征^[21-22]。大量的研究表明,DR进程中存在着视网膜的慢性炎症^[23-24],而慢性炎症会引起视网膜炎症因子的升高,如TNF、IL-1、IL-6等^[25-27],进而影响视网膜血管渗透性和细胞凋亡^[28-29]。同时,血糖升高也能引起微环境中相关分子的变化而激活小胶质细胞。因此,小胶质细胞与DR的关系逐渐受到学者重视。

糖尿病导致的血液高糖状态能够激活视网膜小胶质细胞^[3,30]。研究表明,糖尿病能够导致醛糖还原酶表达升高,而醛糖还原酶的积累又是诱导炎症反应的重要因素。学者在此基础上进一步证实,DR患者的视网膜组织中醛糖还原酶的堆积,能够促使视网膜小胶质细胞活化,进而增强其迁移和炎症因子分泌^[31]。利用小胶质细胞标志物CD45、CD68和人类白细胞抗原(human leukocyte antigen DR, HLA-DR)对小胶质细胞进行标记,发现在增殖性糖尿病视网膜病变患者中,小胶质细胞数量显著增加,且主要围绕视网膜动脉、扩张的静脉、棉绒斑和视网膜内层的微血管瘤。在增殖性糖尿病视网膜病变患者的GCL层和玻璃体腔新生血管区域,小胶质细胞活化数量也显著升高。而在糖尿病黄斑水肿的患者中,小胶质细胞活化广泛存在于整个视网膜和视网膜下腔区域^[32]。在DR的大鼠中也可以观察到小胶质细胞的激活^[33]。小胶质细胞数量在诱导性糖尿病4wk后显著增加。激活的小胶质细胞向视网膜损伤部位聚集,并促进了DR的神经损伤进程。在增殖性糖尿病视网膜病变中,小胶质细胞会在视网膜神经纤维层的新生血管周围聚集。当新生血管突破内界膜并长入玻璃体腔时,其周围可检测到显著增加的小胶质细胞标志物,如HLA-DR、CD45和CD68^[34]。在天然形成的2型糖尿病大鼠模型中,小胶质细胞会在视网膜下腔集聚,并在视网膜色素上皮层(retinal pigment epithelium, RPE)中形成微孔结构,允许炎症因子穿过^[35]。此外,在病变早期仅有电生理改变时^[36],小胶质细胞可通过释放促炎因子,加重炎症反应^[37]。利用光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)进行视网膜形态学分析,也发现在视网膜下有散在高密度光点形成,其与小胶质细胞增殖及分布一致^[38]。此外,小胶质细胞还能够通过与RPE相互作用,进而影响外层血视网膜屏障的完整性^[39]。另一方面,在糖尿病小鼠中进行玻璃体腔注射炎症因子,也可以诱导小胶质细胞活化,并加重视网膜水肿、渗出、新生血管等病理过程^[35]。上述结果表明,小胶质细胞活化在DR中扮演着重要的角色。

因为小胶质细胞的激活在DR中的促进作用,利用药物靶向抑制小胶质细胞激活成为了干预初期DR的方向^[40]。利用链脲霉素和四氧嘧啶破坏胰岛 β 细胞,进而诱导大鼠1型糖尿病模型,是研究糖尿病早期病变的经典动物模型^[41]。在链脲霉素诱导后4wk,既可观察到视网膜小胶质细胞激活,以及高水平的TNF- α 和IL-1 β 分泌^[42]。糖化白蛋白可通过促分裂原活化蛋白(mitogen activated protein, MAP)激酶信号通路加速糖尿病视网膜小胶质细胞激活和炎症因子的释放。利用糖化白蛋白特异性抗体进行中和,可以阻断小胶质细胞激活和TNF- α 的分泌^[43]。利用天然黄酮高良姜进行干预,能够抑制视网膜小胶质诱导的糖尿病中血视网膜屏障的破坏^[44]。相似的,灯盏乙素也能抑制小胶质细胞活化,进而减少糖尿病中血视网膜屏障的氧化应激损伤^[45]。同时,学者们也发现利用CD5-2能够通过抑制mircoRNA-27a,并抑制小胶质细胞活化,能够抑制糖尿病引起的视网膜心血管异常状态^[46]。通过抑制小胶质细胞的激活,能有效的缓解DR的进展。

近几年,针对抑制小胶质细胞活化进而改善DR的临床研究也陆续展开。在了一项糖尿病黄斑水肿治疗的研究中,利用二甲胺四环素抑制小胶质细胞活化,可以改善中央黄斑水肿、视功能和血管渗漏情况^[47]。在另一项随机双盲对照临床试验中,研究人员挑选轻型的非增殖期糖尿病视网膜病变或没有高危因素的增殖期糖尿病视网膜病变患者,利用强力霉素(一种半合成的次生四环素)治疗,同样具有抗炎效果,并改善黄斑中心凹倍频视野,表明视网膜内层功能得到改善^[48]。因此,抑制小胶质细胞激活的靶向药物对DR的治疗有重要的作用。

3 青光眼和小胶质细胞

青光眼是神经退行性疾病,伴随着RGCs死亡和视野进行性丧失^[49-50]。眼压升高是目前公认的青光眼最主要的危险因素。尽管通过药物、手术或激光治疗,可以使眼压降低到适当水平,但是仍有大部分患者视功能仍然进行性的减退。神经炎症被认为在这其中扮演了重要的角色。研究人员已经证实,在临床患者和青光眼动物模型中,视网膜和前房可以检测出升高的炎症介质,例如TNF、IL-6、IL-9、IL-10、IL-12和NO。而这些炎症因子诱导的慢性炎症,是青光眼中RGCs丧失的重要原因^[51]。因此,探究青光眼患者视网膜和视神经慢性炎症相关机制,逐步受到人们的重视。

小胶质细胞被认为是青光眼诱导的炎性激活的重要因素之一。在青光眼中,小胶质细胞通过形态、基因表达、细胞增殖、细胞黏附和免疫应答反应的改变,参与了RGCs的退行性改变。在人类青光眼患者中,可以发现激活的小胶质细胞呈簇出现在视乳头^[51]。同时,在死亡的RGCs附近,也能直接观察到小胶质细胞增殖。Bosco等^[52]进一步研究发现,在DBA/2J色素播散型青光眼小鼠模型中,小胶质细胞在RGCs数量减少前就已经被激活,且聚集于视乳头以及筛板周围的无髓鞘视神经轴突,而这些部位被认为是DBA/2J小鼠视神经病变起始部位^[53-54]。随着病情进展,小胶质细胞逐渐迁移至内层视网膜。伴随着DBA/2J小鼠小胶质细胞激活,基因微阵列分析中视网膜和视乳头基因表达的改变也证实了固有免疫反应的激活^[55-56]。此外,利用二甲胺四环素抑制小胶质细胞的激活也可以减少缺血和青光眼模型中RGCs的死亡^[57]。上

述研究证实,小胶质细胞激活在青光眼RGCs死亡中发挥着重要的作用。

小胶质细胞在青光眼病情进展中也可能发挥着保护作用^[58]。在青光眼患者眼中,小胶质细胞可呈现出较多的变形虫样的形态,并呈簇包围着筛板和视网膜血管,提示我们小胶质细胞可能在防止血视网膜屏障破坏方面发挥着保护效应^[59]。在单眼的青光眼动物模型的正常对照眼中,也可以观察到与损伤眼形态不同的小胶质细胞分布于视网膜各个层次,表明小胶质细胞可能参与了组织的稳态调节,保护非损伤眼的神经轴突^[60]。上述内容提示,小胶质细胞对于青光眼的发病进展及治疗效果仍有待研究。

4 小结

此外,小胶质细胞还参与了视网膜色素变性、视网膜光损伤、视神经炎、年龄相关性黄斑病变等一系列眼病^[61-62]。小胶质细胞异常活化,介导了视网膜炎症反应加重了眼部原有的病变。因此,我们需要探讨视网膜小胶质细胞异常活化的分子调控网络,以及小胶质细胞和视网膜各类细胞间的相互作用,以期寻找合适的干预靶点。在此基础上,评估靶向干预小胶质细胞对于上述各类疾病的潜在治疗效果,为未来的临床转化研究奠定基础。

参考文献

- Madore C, Yin Z, Leibowitz J, et al. Microglia, Lifestyle Stress, and Neurodegeneration. *Immunity* 2020;S1074-7613(19):30499-30496
- Cianciulli A, Porro C, Calvillo R, et al. Microglia Mediated Neuroinflammation: Focus on PI3K Modulation. *Biomolecules* 2020;10(1):E137
- Li F, Jiang D, Samuel MA. Microglia in the developing retina. *Neural Dev* 2019;14(1):12
- Rashid K, Akhtar-Schaefer I, Langmann T. Microglia in Retinal Degeneration. *Front Immunol* 2019;10:1975
- Jung YJ, Tweedie D, Scerba MT, et al. Neuroinflammation as a Factor of Neurodegenerative Disease: Thalidomide Analogs as Treatments. *Front Cell Dev Biol* 2019;7:313
- Dinet V, Petry KG, Badaut J. Brain-Immune Interactions and Neuroinflammation After Traumatic Brain Injury. *Front Neurosci* 2019;13:1178
- Alqawlaq S, Flanagan JG, Sivak JM. All roads lead to glaucoma: Induced retinal injury cascades contribute to a common neurodegenerative outcome. *Exp Eye Res* 2019;183:88-97
- Bodeutsch N, Thanos S. Migration of phagocytotic cells and development of the murine intraretinal microglial network: an *in vivo* study using fluorescent dyes. *Glia* 2000;32(1):91-101
- Li L, Eter N, Heiduschka P. The microglia in healthy and diseased retina. *Exp Eye Res* 2015;136:116-130
- Noro T, Namekata K, Kimura A, et al. Spermidine promotes retinal ganglion cell survival and optic nerve regeneration in adult mice following optic nerve injury. *Cell Death Dis* 2015;6:e1720
- Ahmad S, Elsherbiny NM, Bhatia K, et al. Inhibition of adenosine kinase attenuates inflammation and neurotoxicity in traumatic optic neuropathy. *J Neuroimmunol* 2014;277(1-2):96-104
- Ahmad S, Fattah N, El-Sherbiny NM, et al. Potential role of A2A adenosine receptor in traumatic optic neuropathy. *J Neuroimmunol* 2013;264(1-2):54-64
- Katome T, Namekata K, Guo X, et al. Inhibition of ASK1-p38 pathway prevents neural cell death following optic nerve injury. *Cell Death Differ* 2013;20(2):270-280
- Li HY, Huang M, Luo QY, et al. Lycium barbarum (Wolfberry)

- Increases Retinal Ganglion Cell Survival and Affects both Microglia/Macrophage Polarization and Autophagy after Rat Partial Optic Nerve Transection. *Cell Transplant* 2019;28(5):607-618
- 15 Huang R, Lan Q, Chen L, et al. CD200Fc Attenuates Retinal Glial Responses and RGCs Apoptosis After Optic Nerve Crush by Modulating CD200/CD200R1 Interaction. *J Mol Neurosci* 2018;64(2):200-210
- 16 Wang J, Fox MA, Povlishock JT. Diffuse traumatic axonal injury in the optic nerve does not elicit retinal ganglion cell loss. *J Neuropathol Exp Neurol* 2013;72(8):768-781
- 17 Cen LP, Han M, Zhou L, et al. Bilateral retinal microglial response to unilateral optic nerve transection in rats. *Neuroscience* 2015;311:56-66
- 18 Galindo-Romero C, Valiente-Soriano FJ, Jimenez-Lopez M, et al. Effect of brain-derived neurotrophic factor on mouse axotomized retinal ganglion cells and phagocytic microglia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(2):974-985
- 19 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
- 20 Bhumika S, Lemmens K, Vancamp P, et al. Decreased thyroid hormone signaling accelerates the reinnervation of the optic tectum following optic nerve crush in adult zebrafish. *Mol Cell Neurosci* 2015;68:92-102
- 21 Rodriguez ML, Perez S, Mena-Molla S, et al. Oxidative Stress and Microvascular Alterations in Diabetic Retinopathy: Future Therapies. *Oxid Med Cell Longev* 2019;2019:4940825
- 22 Kusahara S, Fukushima Y, Ogura S, et al. Pathophysiology of Diabetic Retinopathy: The Old and the New. *Diabetes Metab J* 2018;42(5):364-376
- 23 Rubsam A, Parikh S, Fort PE. Role of Inflammation in Diabetic Retinopathy. *Int J Mol Sci* 2018;19(4):? E942
- 24 Tang J, Kern TS. Inflammation in diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res* 2011;30(5):343-358
- 25 Dong N, Chang L, Wang B, et al. Retinal neuronal MCP-1 induced by AGEs stimulates TNF-alpha expression in rat microglia via p38, ERK, and NF-kappaB pathways. *Mol Vis* 2014;20:616-628
- 26 Abcouwer SF. Angiogenic Factors and Cytokines in Diabetic Retinopathy. *J Clin Cell Immunol* 2013;Suppl 1(11)
- 27 Liu Y, Biarnes Costa M, Gerhardinger C. IL-1beta is upregulated in the diabetic retina and retinal vessels: cell-specific effect of high glucose and IL-1beta autostimulation. *PLoS One* 2012;7(5):e36949
- 28 Altmann C, Schmidt MHH. The Role of Microglia in Diabetic Retinopathy: Inflammation, Microvasculature Defects and Neurodegeneration. *Int J Mol Sci* 2018;19(1):E110
- 29 Brucklacher RM, Patel KM, VanGuilder HD, et al. Whole genome assessment of the retinal response to diabetes reveals a progressive neurovascular inflammatory response. *BMC Med Genomics* 2008;1:26
- 30 Ding X, Gu R, Zhang M, et al. Microglia enhanced the angiogenesis, migration and proliferation of co-cultured RMECs. *BMC Ophthalmol* 2018;18(1):249
- 31 Chang KC, Shieh B, Petrash JM. Role of aldose reductase in diabetes-induced retinal microglia activation. *Chem Biol Interact* 2019;302:46-52
- 32 Grigsby JG, Cardona SM, Pouw CE, et al. The role of microglia in diabetic retinopathy. *J Ophthalmol* 2014;2014:705783
- 33 Rungger-Brandle E, Dosso AA, Leuenberger PM. Glial reactivity, an early feature of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(7):1971-1980
- 34 Zeng HY, Green WR, Tso MO. Microglial activation in human diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 2008;126(2):227-232
- 35 Omri S, Behar-Cohen F, de Kozak Y, et al. Microglia/macrophages migrate through retinal epithelium barrier by a transcellular route in diabetic retinopathy: role of PKCzeta in the Goto Kakizaki rat model. *Am J Pathol* 2011;179(2):942-953
- 36 Gaucher D, Chiappare JA, Paques M, et al. Microglial changes occur without neural cell death in diabetic retinopathy. *Vision Res* 2007;47(5):612-623
- 37 Zeng XX, Ng YK, Ling EA. Neuronal and microglial response in the retina of streptozotocin-induced diabetic rats. *Vis Neurosci* 2000;17(3):463-471
- 38 Vujosevic S, Bini S, Midena G, et al. Hyperreflective intraretinal spots in diabetics without and with nonproliferative diabetic retinopathy: an *in vivo* study using spectral domain OCT. *J Diabetes Res* 2013;2013:491835
- 39 Jo DH, Yun JH, Cho CS, et al. Interaction between microglia and retinal pigment epithelial cells determines the integrity of outer blood-retinal barrier in diabetic retinopathy. *Glia* 2019;67(2):321-331
- 40 Mugisho OO, Rupenthal ID, Squirrell DM, et al. Intravitreal pro-inflammatory cytokines in non-obese diabetic mice: Modelling signs of diabetic retinopathy. *PLoS One* 2018;13(8):e0202156
- 41 Lai AK, Lo AC. Animal models of diabetic retinopathy: summary and comparison. *J Diabetes Res* 2013;2013:106594
- 42 Krady JK, Basu A, Allen CM, et al. Minocycline reduces proinflammatory cytokine expression, microglial activation, and caspase-3 activation in a rodent model of diabetic retinopathy. *Diabetes* 2005;54(5):1559-1565
- 43 Ibrahim AS, El-Remessy AB, Matragoon S, et al. Retinal microglial activation and inflammation induced by amadori-glycated albumin in a rat model of diabetes. *Diabetes* 2011;60(4):1122-1133
- 44 Zhang T, Mei X, Ouyang H, et al. Natural flavonoid galangin alleviates microglia-triggered blood-retinal barrier dysfunction during the development of diabetic retinopathy. *J Nutr Biochem* 2019;65:1-14
- 45 Mei X, Zhang T, Ouyang H, et al. Scutellarin alleviates blood-retina-barrier oxidative stress injury initiated by activated microglia cells during the development of diabetic retinopathy. *Biochem Pharmacol* 2019;159:82-95
- 46 Ting KK, Zhao Y, Shen W, et al. Therapeutic regulation of VE-cadherin with a novel oligonucleotide drug for diabetic eye complications using retinopathy mouse models. *Diabetologia* 2019;62(2):322-334
- 47 Cukras CA, Petrou P, Chew EY, et al. Oral minocycline for the treatment of diabetic macular edema (DME): results of a phase I/II clinical study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(7):3865-3874
- 48 Scott IU, Jackson GR, Quillen DA, et al. Effect of doxycycline vs placebo on retinal function and diabetic retinopathy progression in mild to moderate nonproliferative diabetic retinopathy: a randomized proof-of-concept clinical trial. *JAMA Ophthalmol* 2014;132(9):1137-1142
- 49 Occhiutto ML, Maranhao RC, Costa VP, et al. Nanotechnology for Medical and Surgical Glaucoma Therapy-A Review. *Adv Ther* 2020;37(1):155-199
- 50 Tsai T, Reinehr S, Maliha AM, et al. Immune Mediated Degeneration and Possible Protection in Glaucoma. *Front Neurosci* 2019;13:931
- 51 Adornetto A, Russo R, Parisi V. Neuroinflammation as a target for glaucoma therapy. *Neural Regen Res* 2019;14(3):391-394
- 52 Bosco A, Steele MR, Vetter ML. Early microglia activation in a mouse model of chronic glaucoma. *J Comp Neurol* 2011;519(4):

599-620

53 Soto I, Oglesby E, Buckingham BP, *et al.* Retinal ganglion cells downregulate gene expression and lose their axons within the optic nerve head in a mouse glaucoma model. *J Neurosci* 2008;28(2):548-561

54 Howell GR, Libby RT, Jakobs TC, *et al.* Axons of retinal ganglion cells are insulted in the optic nerve early in DBA/2J glaucoma. *J Cell Biol* 2007;179(7):1523-1537

55 Howell GR, Macalinao DG, Sousa GL, *et al.* Molecular clustering identifies complement and endothelin induction as early events in a mouse model of glaucoma. *J Clin Invest* 2011;121(4):1429-1444

56 Fan W, Li X, Wang W, *et al.* Early Involvement of Immune/Inflammatory Response Genes in Retinal Degeneration in DBA/2J Mice. *Ophthalmol Eye Dis* 2010;1:23-41

57 Levkovich-Verbin H, Waserzoog Y, Vander S, *et al.* Minocycline upregulates pro-survival genes and downregulates pro-apoptotic genes in

experimental glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2014;252(5):761-772

58 Wei X, Cho KS, Thee EF, *et al.* Neuroinflammation and microglia in glaucoma: time for a paradigm shift. *J Neurosci Res* 2019;97(1):70-76

59 Neufeld AH. Microglia in the optic nerve head and the region of parapapillary chorioretinal atrophy in glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1999;117(8):1050-1056

60 Rojas B, Gallego BI, Ramirez AI, *et al.* Microglia in mouse retina contralateral to experimental glaucoma exhibit multiple signs of activation in all retinal layers. *J Neuroinflammation* 2014;11:133

61 Silverman SM, Wong WT. Microglia in the Retina: Roles in Development, Maturity, and Disease. *Annu Rev Vis Sci* 2018;4:45-77

62 Zhang L, Cui X, Jauregui R, *et al.* Genetic Rescue Reverses Microglial Activation in Preclinical Models of Retinitis Pigmentosa. *Mol Ther* 2018;26(8):1953-1964