

脂联素对视网膜血管内皮细胞缺氧损伤的保护作用及机制研究

姚国敏¹, 古丽努尔·买买提², 李蓉¹, 邓颖¹, 焦聪¹

引用:姚国敏,古丽努尔·买买提,李蓉,等.脂联素对视网膜血管内皮细胞缺氧损伤的保护作用及机制研究.国际眼科杂志2020;20(8):1320-1324

基金项目:陕西省卫生健康科研基金项目(No.2018D074);陕西省科技厅自然科学基金配套基金(No.XYFYPT-2020-07)

作者单位:¹(710077)中国陕西省西安市,西安医学院第一附属医院眼科;²(830001)中国新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市,新疆维吾尔自治区人民医院眼科

作者简介:姚国敏,毕业于山西医科大学,硕士,主治医师,讲师,研究方向:视网膜疾病。

通讯作者:李蓉,毕业于第四军医大学,博士,副主任医师,副教授,硕士研究生导师,研究方向:视网膜疾病. rechelrong198222@163.com

收稿日期:2020-03-04 修回日期:2020-06-29

摘要

目的:研究脂联素对缺氧损伤的恒河猴脉络膜/视网膜内皮(RF/6A)细胞的保护作用及相关机制。

方法:将体外培养的RF/6A细胞随机分为对照组、缺氧损伤(CoCl₂刺激诱导24h)组和缺氧损伤+脂联素(5、50、100μmol/L脂联素预处理6h)组。采用MTT法检测细胞活力,选择合适的脂联素内皮细胞保护作用浓度,并采用Western blot检测凋亡相关因子Bax、Bcl-2的表达情况,同时测定细胞内活力氧簇(ROS)的表达水平。

结果:与对照组相比,缺氧损伤组和各浓度脂联素预处理的RF/6A细胞活力均下降(均 $P < 0.01$);与缺氧损伤组相比,各浓度脂联素预处理后细胞活力均显著增加(均 $P < 0.05$),其中50μmol/L脂联素是较为合适的保护作用浓度。与对照组相比,缺氧损伤组细胞活力降低,Bax蛋白表达量升高,Bcl-2蛋白表达量降低,ROS生成增加($P < 0.01$);与缺氧损伤组相比,脂联素预处理后细胞活力增加,Bax蛋白表达量降低,Bcl-2蛋白表达量增加,ROS生成减少($P < 0.01$)。

结论:脂联素可明显减轻缺氧造成的视网膜血管内皮细胞损伤和凋亡,其机制可能与脂联素减轻氧化应激有关。

关键词:脂联素;RF/6A细胞;缺氧;氧化应激;细胞活力;凋亡

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.8.05

Study on the protective effect and mechanism of adiponectin on hypoxic injury of retinal vascular endothelial cells

Guo-Min Yao¹, Gulnuer Maimaiti², Rong Li¹, Ying Deng¹, Cong Jiao¹

Foundation items: Health Research Foundation of Shaanxi Province

(No. 2018D074); Matching Foundation of Shaanxi Provincial Science and Technology Department (No.XYFYPT-2020-07)

¹Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an 710077, Shaanxi Province, China;

²Department of Ophthalmology, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumchi 830001, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Rong Li. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an 710077, Shaanxi Province, China. rechelrong198222@163.com

Received:2020-03-04 Accepted:2020-06-29

Abstract

• AIM: To investigate the protective effect of adiponectin on hypoxia-damaged rhesus monkey choroid/retinal vascular endothelial cells (RF/6A) and related mechanisms.

• METHODS: *In vitro* cultured RF/6A cells were randomly divided into the control group, hypoxic injury (induced by CoCl₂ stimulation) group and hypoxic injury + adiponectin (5μmol/L, 50μmol/L and 100μmol/L) group. Cell viability was assessed using the MTT assay and optimal concentration of adiponectin was selected. Western blot was used to detect the expression of Bax and Bcl-2 in RF/6A cells. Reactive oxygen species (ROS) detection kit was used to detect the content of ROS in RF/6A cells.

• RESULTS: Compared with the control group, the cell viability of RF/6A cells in the hypoxic injury group and each adiponectin pretreatment group decreased (all $P < 0.01$). Compared with the hypoxic injury group, the cell viability of RF/6A cells in each adiponectin pretreatment group was significantly increased (all $P < 0.05$), and adiponectin of 50μmol/L was the appropriate protective concentration. Compared with the control group, the viability of RF/6A cells decreased, the protein expression level of Bax increased, the protein expression level of Bcl-2 decreased, and the content of ROS increased in the hypoxic injury group (all $P < 0.01$). Compared with the hypoxic injury group, the viability RF/6A cells increased, the expression level of Bax decreased, the expression level of Bcl-2 increased, and the content of ROS decreased in the adiponectin pretreatment group (all $P < 0.01$).

• CONCLUSION: Our findings suggest that adiponectin can significantly alleviate retinal vascular endothelial cell damage and apoptosis caused by hypoxia, and the mechanism may be related to the inhibition of oxidative stress by adiponectin.

• KEYWORDS: adiponectin; RF/6A cell; hypoxia; oxidative stress; cell viability; apoptosis

Citation: Yao GM, Maimaiti G, Li R, *et al.* Study on the protective effect and mechanism of adiponectin on hypoxic injury of retinal vascular endothelial cells. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020;20(8):1320-1324

0 引言

视网膜属于中枢神经系统,是人体内最具代谢活性的组织之一^[1]。视网膜的高能量需求是由于它是一个将光能转化为神经元信号的高度敏感和高效的系统,这也是视网膜比其他组织更快消耗氧气的原因^[2]。因此,在能量需求增加的时候,氧气成为视网膜中最有限的代谢物之一。视网膜对缺氧很敏感,在多种视网膜疾病中,缺氧和/或缺血扮演了重要的病因学角色,如视网膜血管阻塞、早产儿视网膜病变、糖尿病视网膜病变、青光眼、年龄相关性黄斑变性或高海拔视网膜病变^[3]。氧化应激是指活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生与内源性抗氧化系统清除活性氧的能力之间的不平衡。自由基和活性氧通过氧化脂质、蛋白质和核酸而对细胞膜、DNA 和其他细胞结构造成不可逆损伤,引起细胞凋亡或细胞死亡,并由大分子损伤引起细胞变性和神经变性^[4]。研究证实,缺氧导致的氧化应激在缺血性视网膜疾病的发病机制中起重要作用^[5]。

脂联素是由脂肪细胞分泌的一种内源性生物活性蛋白质,也是分泌最多的脂肪因子。研究表明,脂联素具有改善机体胰岛素抵抗、调节脂质代谢、重塑受损血管和抑制动脉粥样硬化保护心血管系统、抗氧化应激及抗炎等多种生理功能^[6]。脂联素及其受体在人眼组织中广泛表达,在视网膜中可以检测到脂联素的表达,而脂联素受体位于不同的视网膜细胞中^[7]。越来越多的证据表明,脂联素通过与受体结合发挥作用,激活下游分子通路,在多种疾病中具有神经保护作用^[7]。缺乏脂联素可能导致视网膜新生血管,而脂联素通路的激活可能恢复能量代谢,从而抑制视网膜病变代偿性的病理性新生血管形成^[8]。既往研究显示,脂联素可减轻小鼠氧诱导视网膜病变模型中视网膜无血管区面积的形成和病理性新生血管的生成,但对于其具体机制尚不完全明确^[9]。基于此,我们以恒河猴脉络膜/视网膜内皮(RF/6A)细胞为研究对象,进一步观察脂联素对缺氧条件下视网膜血管内皮细胞活性和凋亡的影响并探讨其具体机制。

1 材料和方法

1.1 材料 恒河猴 RF/6A 细胞系(中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库)。主要试剂:重组人脂联素(美国 BioVision 公司);噻唑蓝(MTT)试剂盒(北京索莱宝生物技术有限公司);DMEM 培养基、胎牛血清、胰蛋白酶(美国 Gibco 公司);ROS 检测试剂盒-DCFH-DA(西安科昊生物科技有限公司);兔单抗 Bax、兔单抗 Bcl-2(美国 Cell signaling 公司)。主要仪器设备:全自动酶标仪(美国 Thermo scientific 公司, Multiskan MK3 型);激光共聚焦荧光显微镜(日本 Nikon 公司, C2 型);荧光酶标仪(美国 Bio-Tek 公司, ELX800 型)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 将 RF/6A 细胞置于 37℃、体积分数 5% CO₂、95%湿度的培养箱中常规培养,在含有胎牛血清(体积分数 10%)和抗生素的 DMEM 培养液中常规培养。取对数生长期、生长状态良好的细胞进行实验。

1.2.2 实验分组及模型建立 将细胞按照随机对照原则分为五组,对照组(加入 PBS 液)、缺氧损伤组、缺氧损伤+脂联素组(按照脂联素浓度分为 5、50、100 μmol/L 三组),用以选择合适的脂联素作用浓度进行后续研究。然后将细胞按照随机对照原则分为三组,对照组(加入 PBS 液)、缺氧损伤组、缺氧损伤+脂联素(50 μmol/L)组。缺氧模型的建立参照文献[10]的方法,细胞接种 24h 后,对照组换新鲜培养液,缺氧损伤组换 CoCl₂(作用浓度 125 μmol/L)工作液,继续培养 24h。脂联素处理组在细胞接种 24h 后,构建缺氧模型前加入相应浓度的脂联素作用 6h。

1.2.3 细胞活力检测 采用 MTT 法检测细胞活力。取对数生长期细胞,弃上清液,用胰蛋白酶消化后,加入含体积分数 10%的 DMEM 培养液,制成细胞浓度为 5×10⁴个/mL 的细胞悬液。取 200 μL 接种于 96 孔板,培养板置于 37℃、体积分数 5% CO₂及饱和湿度培养箱中孵育 24h,弃去原培养液,按上述方法分为 5 组,每组设置 6 个复孔,在完成培养后,每孔加入 5mg/mL 的 MTT 溶液 20 μL,置于培养箱中继续孵育 4h,弃去各孔培养液,每孔加入 200 μL 二甲亚砜(DMSO),振荡 15min,使结晶物充分溶解。用自动酶标仪在 490nm 波长处测定每孔的吸光度值(optical density, OD)。每组重复检测 3 次。细胞活力(%) = $(OD_{\text{实验组}} - OD_{\text{空白组}}) / (OD_{\text{对照组}} - OD_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。

1.2.4 Bax、Bcl-2 蛋白表达检测 采用 Western blot 法检测 Bax、Bcl-2 蛋白的表达。各组 RF/6A 细胞用 PBS 清洗后进行细胞裂解,提取蛋白,用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白定量。经 SDS-PAGE 分析,半干转移法转至 PVDF 膜,用 50g/L 脱脂牛奶室温封闭 1h。分别加入稀释的兔抗 Bax、Bcl-2 抗体及 β-actin 抗体(1:1000),4℃孵育过夜。次日, TBST 洗膜 10min×3 次,加入 HRP 标记的山羊抗兔 IgG(1:2000),室温孵育 1h; TBST 洗 10min×3 次,后用 ECL 化学发光试剂盒在 Tanon 凝胶图像处理系统显影,计算 Bax 和 Bcl-2 的相对蛋白表达。

1.2.5 细胞内 ROS 的检测 各组细胞以每孔 1×10⁶个接种于 6 孔板,处理结束后,加入 DCFH-DA 探针(10 μmol/L)孵育 90min,用 PBS 漂洗 2 次,然后用温无血清培养基继续培养 30min,置于荧光显微镜下观察拍照,荧光酶标仪读取各组荧光强度。

统计学分析:实验结果采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。数据以均数±标准差表示,多组间均数的比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 LSD-*t* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度脂联素对缺氧损伤 RF/6A 细胞活力的影响 MTT 结果显示,对照组、缺氧损伤组、缺氧损伤+5 μmol/L 脂联素组、缺氧损伤+50 μmol/L 脂联素组、缺氧损伤+100 μmol/L 脂联素组的细胞活力分别为 100.05% ± 3.34%、54.28% ± 4.16%、63.65% ± 2.95%、78.00% ± 5.10%、75.48% ± 6.56%,五组之间细胞活力比较差异有统计学意义(*F* = 42.03, *P* < 0.001)。与对照组相比,缺氧损伤组和缺氧损伤+脂联素(5、50、100 μmol/L)组细胞活力均下降(*t* = 14.85、14.13、6.26、5.78,均 *P* < 0.01)。与缺氧损伤组相比,缺氧损伤+脂联素(5、50、100 μmol/L)组细胞活力均显著增加(*t* = -3.18、-6.24、-4.73,均 *P* < 0.05),提示脂联素对缺氧损伤的 RF/6A 细胞存活具有促进作用。与缺氧损伤+5 μmol/L 脂联素组相比,50、100 μmol/L 脂

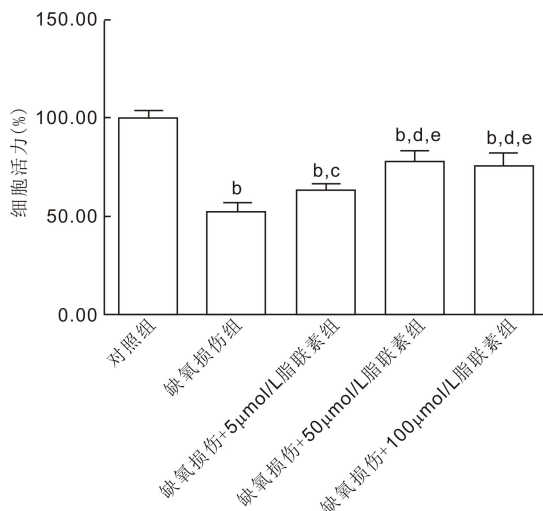


图1 各组 RF/6A 细胞活力比较 ^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 缺氧损伤组; ^e $P < 0.05$ vs 缺氧损伤+5μmol/L 脂联素组。

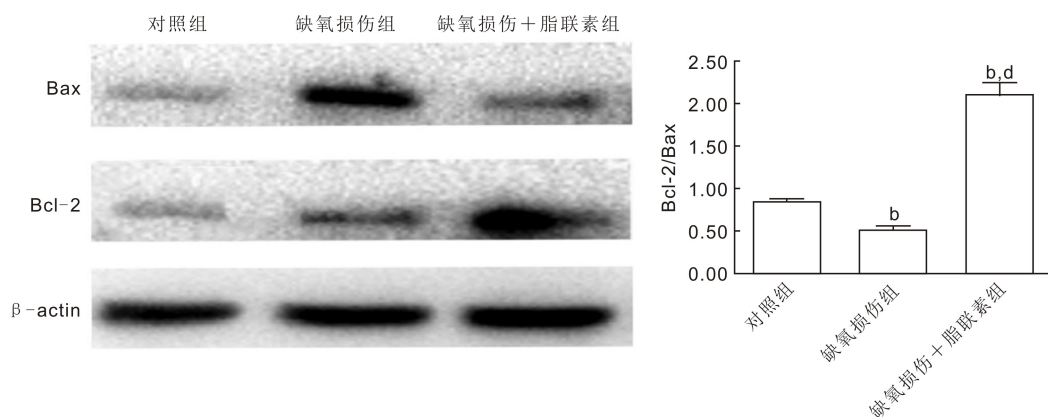


图2 各组 RF/6A 细胞表达 Bax 及 Bcl-2 蛋白条带及统计学比较 ^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^d $P < 0.01$ vs 缺氧损伤组。

联素组细胞活力均增加($t = -4.21, -2.84$, 均 $P < 0.05$), 但 $50\mu\text{mol/L}$ 较 $100\mu\text{mol/L}$ 脂联素预处理的细胞活力无明显变化, 差异无统计学意义($t = 0.52, P > 0.05$), 提示 $50\mu\text{mol/L}$ 脂联素是较为合适的保护作用浓度(图1)。因此, 本研究选择后续实验中脂联素的作用浓度为 $50\mu\text{mol/L}$ 。

2.2 脂联素对缺氧损伤的 RF/6A 细胞凋亡蛋白表达的影响 Western blot 结果显示, 对照组、缺氧损伤组、缺氧损伤+脂联素组细胞凋亡蛋白 Bax 相对表达水平分别为 $0.21 \pm 0.04, 0.79 \pm 0.03, 0.38 \pm 0.04$; Bcl-2 相对表达水平分别为 $0.17 \pm 0.04, 0.42 \pm 0.03, 0.81 \pm 0.03$; Bcl-2/Bax 分别为 $0.84 \pm 0.04, 0.53 \pm 0.03, 2.11 \pm 0.14$ 。三组之间 Bcl-2/Bax 比较差异有统计学意义($F = 294.80, P < 0.001$)。与对照组相比, 缺氧损伤组细胞 Bcl-2/Bax 表达下调($t = 11.56, P < 0.001$), 缺氧损伤+脂联素组细胞 Bcl-2/Bax 表达上调($t = -15.32, P < 0.001$); 与缺氧损伤组相比, 缺氧损伤+脂联素组细胞 Bcl-2/Bax 表达上调($t = -19.34, P < 0.001$, 图2)。

2.3 脂联素对缺氧损伤的 RF/6A 细胞内 ROS 水平的影响 荧光染色结果显示, 对照组细胞在荧光显微镜下可见微弱荧光; 而 CoCl_2 诱导缺氧后细胞内可见到较强的荧光, 说明缺氧损伤可使 RF/6A 细胞内 ROS 生成增多, 引起细胞内的氧化应激反应; 但使用脂联素预处理后 RF/6A 细胞内的荧光强度较缺氧损伤组明显减弱, 说明脂联素可减少 CoCl_2 诱导的缺氧损伤后细胞内的 ROS 生成。统计分析显示, 对照组、缺氧损伤组、缺氧损伤+脂联素组细胞

的 ROS 水平依次为 $10.00 \pm 1.00, 245.98 \pm 23.52, 108.23 \pm 9.51$, 三组细胞中的 ROS 水平比较差异具有统计学意义($F = 196.23, P < 0.001$)。与对照组相比, 缺氧损伤组和缺氧损伤组+脂联素组细胞内 ROS 水平明显升高($t = -17.37, -17.79$, 均 $P < 0.001$); 与缺氧损伤组相比, 缺氧损伤+脂联素组细胞内的 ROS 水平明显降低, 差异具有统计学意义($t = 9.41, P < 0.01$, 图3)。

3 讨论

缺血性视网膜病变是一类临床常见、波及年龄范围较为广泛的复杂眼病, 病理机制受到多种细胞因子、细胞外基质成分及信号网络等的紧密调控和相互作用^[11]。虽然在防治方面取得了一些进展, 但此类疾病多进展迅速, 部分患者治疗效果并不理想, 则很快进展到增殖期, 带来严重的视力损害, 因此研究这些视网膜病变发生进展的机制、找寻新的治疗靶点至关重要^[12]。多种原因可导致局部视网膜缺血缺氧, 激活缺氧诱导因子(HIF)/血管内皮生长因子(VEGF)信号通路, 从而导致病理性新生血管的形成^[13]。近年来内源性脂肪因子与多种疾病发生的密切关系备受关注, 其中脂联素的保护作用也成为研究热点^[6-8]。鉴于此, 我们的前期研究利用动物模型观察了脂联素对病理性视网膜新生血管形成的作用。结果显示, 在小鼠氧诱导视网膜病变模型中, 外源性脂联素可以明显减轻视网膜血管损伤, 从而减少视网膜无灌注区, 进而减少继发性病理性新生血管, 证实脂联素对视网膜新生血管具有抑制作用^[9]。缺血、缺氧是氧诱导视网膜病变成膜的关

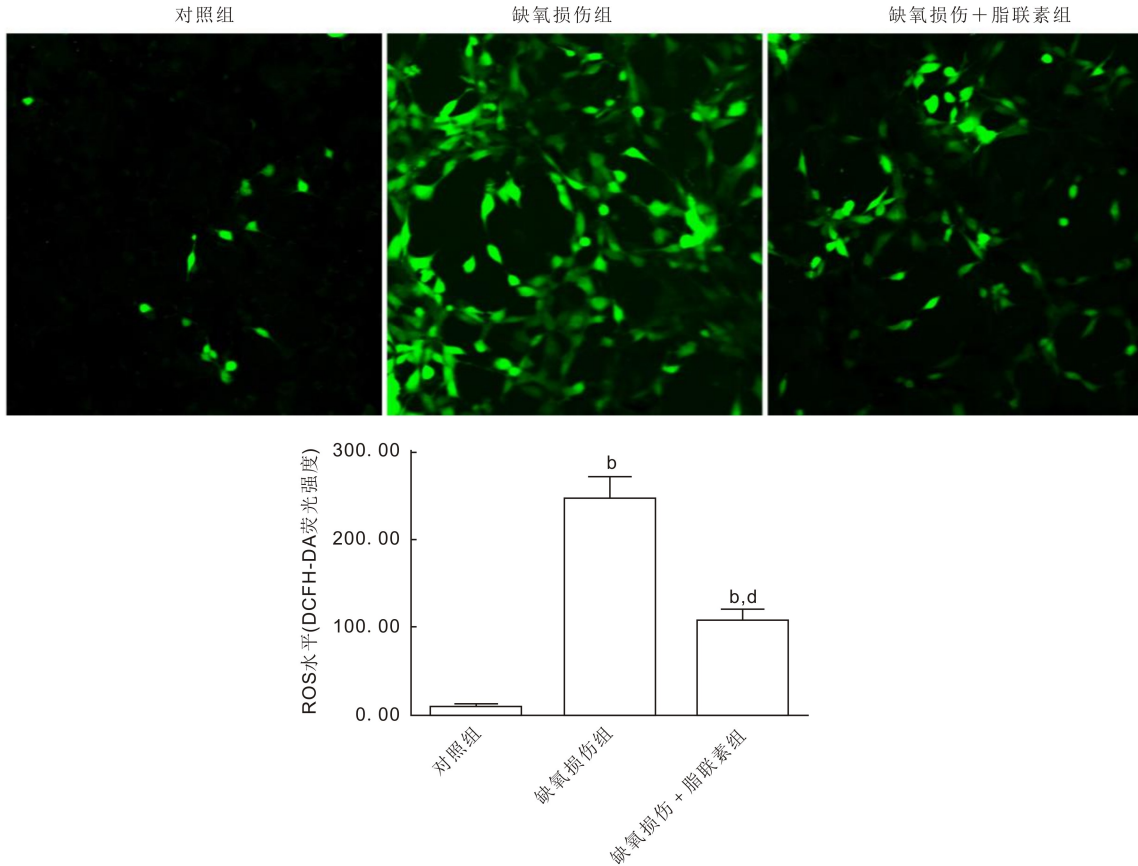


图3 RF/6A 细胞内 ROS 生成的荧光图像 (×200) 及统计学比较 ^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^d $P < 0.01$ vs 缺氧损伤组。

键机制,因此本研究进一步观察了脂联素对缺氧应激条件下视网膜内皮细胞是否具有保护作用。在本实验中,通过 MTT 检测发现 CoCl_2 诱导的缺氧可明显抑制 RF/6A 细胞的活力,与既往研究结果一致^[10]。不同浓度的脂联素预处理后可减轻 CoCl_2 诱导的缺氧对 RF/6A 细胞的损伤,以 $50\mu\text{mol/L}$ 浓度的保护作用最为显著,这与我们在高糖诱导的 RF/6A 细胞损伤中观察到的结果相似^[14-15],提示脂联素对应激条件下的 RF/6A 细胞具有保护作用,以利于维持细胞正常的生理功能。

视网膜内皮细胞是许多眼病中重要的细胞类型之一,它由视网膜血管的微血管内膜组成,广泛分布于外丛状层和神经节细胞层。视网膜血管内皮细胞的缺失是多种视网膜病变增殖前的损伤形式。多种应激因素包括缺氧、高糖等可引起视网膜内皮细胞凋亡,进而参与多种缺血性视网膜病变的发生^[16]。为了进一步了解脂联素对缺氧损伤的 RF/6A 细胞凋亡的影响,本研究利用 Western blot 技术对细胞中促凋亡蛋白 Bax 和抗凋亡蛋白 Bcl-2 进行了检测。Bax 和 Bcl-2 是近年来 Bcl-2 蛋白家族研究中最具有代表性的促凋亡因子及抗凋亡因子。正常生理情况下,两者以 Bax/Bcl-2 同源二聚体形式存在。当细胞中 Bax 表达增多时,Bax 蛋白之间相互作用形成同源二聚体,激活 Caspase 家族,从而促进细胞凋亡。当细胞中 Bcl-2 表达上调时,则促使 Bax/Bcl-2 二聚体解离,生成 Bax/Bcl-2 二聚体增多,抑制细胞凋亡。Bcl-2/Bax 比值决定着细胞凋亡的走向,Bcl-2/Bax 比值上调,抑制细胞凋亡;Bcl-2/Bax 比值下调,促进细胞凋亡^[17-18]。本研究中,Western blot 结果提示,缺氧损伤组 RF/6A 细胞的凋亡蛋白 Bax 和 Bcl-2 蛋白表达均较对照组明显上调,而 Bcl-2/Bax 比值

明显下调,提示在缺氧条件下,细胞凋亡信号通路被激活,以促凋亡为主;脂联素预处理后凋亡蛋白 Bax 表达明显下调,Bcl-2 蛋白表达明显上调,而 Bcl-2/Bax 比值显著上调,提示脂联素可抑制 RF/6A 细胞凋亡。以上结果与在高糖条件下观察到的脂联素抗凋亡效应一致^[14],提示脂联素可抑制缺氧等应激损伤造成的细胞凋亡,从而发挥保护细胞存活的作用。

在视网膜缺血等病理条件下,内源性抗氧化系统产生 ROS 和清除 ROS 能力之间的不平衡被扩大。氧化应激是缺血性视网膜病变的病理进程中视网膜血管内皮细胞损伤的重要机制之一,局部视网膜缺血缺氧可诱发过量的活性氧族/活性氮族(ROS/RNS)产生,进而触发多种氧化应激信号通路,影响细胞内的 DNA 和脂质,导致内皮细胞凋亡,直接对视网膜血管造成损伤^[4,19-20]。既往动物研究显示,在小鼠氧诱导视网膜病变模型中,外源性脂联素可激活内源性一氧化氮合酶(eNOS)促进生理性一氧化氮(NO)生成,同时又能抑制 ROS/RNS 的产生,从而减轻视网膜血管损伤^[9]。为了进一步研究脂联素对缺氧损伤的 RF/6A 细胞发挥保护作用的分子机制,本研究观察了脂联素对细胞中氧化应激重要指标 ROS 表达水平的影响。我们发现, CoCl_2 诱导的缺氧可导致 RF/6A 细胞中 ROS 生成明显增多,出现了明显的氧化应激表现,而脂联素预处理的 RF/6A 细胞中 ROS 生成明显降低,提示脂联素可抑制缺氧诱导的 RF/6A 细胞氧化应激反应。与在其他组织细胞中的研究相似,脂联素可抑制氧自由基的形成,减轻缺氧/缺血状态下心血管内皮细胞及神经元的氧化应激反应,从而保护这些细胞免受缺血性损伤^[21]。

近年来,随着对内源性脂肪因子功能的关注,越来越

多的研究发现脂联素可对人体起保护作用,但对其在视网膜疾病中的作用还有待研究。本研究证实,在视网膜缺氧模型中,脂联素可通过抑制 ROS 的形成,减轻缺氧诱导的 RF/6A 细胞的氧化应激反应,同时脂联素能促进细胞活力,抑制细胞凋亡,提示脂联素的血管内皮细胞保护作用机制可能与其减轻氧化应激有关,但二者之间是否为直接关系还需要进一步验证。总之,探究脂联素对缺氧损伤下的视网膜血管保护作用,不仅有助于进一步阐明缺血性视网膜病变的发病机制,也对寻找和调动内源性保护方法,减轻视网膜血管病变程度并改善疾病预后具有重要临床意义。

参考文献

- 1 Ames A 3rd. Energy requirements of CNS cells as related to their function and to their vulnerability to ischemia; a commentary based on studies on retina. *Can J Physiol Pharmacol* 1992; 70 Suppl: S158-164
- 2 Eshaq RS, Wright WS, Harris NR. Oxygen delivery, consumption, and conversion to reactive oxygen species in experimental models of diabetic retinopathy. *Redox Biol* 2014; 2: 661-666
- 3 Grimm C, Willmann G. Hypoxia in the eye; a two-sided coin. *High Alt Med Biol* 2012; 13(3): 169-175
- 4 Tangvarasittichai O, Tangvarasittichai S. Oxidative Stress, Ocular Disease and Diabetes Retinopathy. *Curr Pharm Des* 2018; 24(40): 4726-4741
- 5 Li SY, Fu ZJ, Lo AC. Hypoxia-induced oxidative stress in ischemic retinopathy. *Oxid Med Cell Longev* 2012; 2012: 426769
- 6 Wang ZV, Scherer PE. Adiponectin, the past two decades. *J Mol Cell Biol* 2016; 8(2): 93-100
- 7 Li HY, Hong X, Cao QQ, et al. Adiponectin, exercise and eye diseases. *Int Rev Neurobiol* 2019; 147: 281-294
- 8 Fu Z, Gong Y, Lofqvist C, et al. Review: adiponectin in retinopathy. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1862(8): 1392-1400
- 9 朱巧平, 谢安明, 郝艳芳. 脂联素对小鼠氧诱导视网膜病变的保护作用. *国际眼科杂志* 2015; 15(10): 1695-1699
- 10 Li R, Du J, Chang Y. Role of autophagy in hypoxia-induced

angiogenesis of RF/6A cells *in vitro*. *Curr Eye Res* 2016; 41(12): 1566-1570

- 11 Jo DH, Kim JH, Kim JH. A platform of integrative studies from *in vitro* to *in vivo* experiments: towards drug development for ischemic retinopathy. *Biomed Pharmacother* 2015; 69: 367-373
- 12 Aouiss A, Anka Idrissi D, Kabine M, et al. Update of inflammatory proliferative retinopathy: Ischemia, hypoxia and angiogenesis. *Curr Res Transl Med* 2019; 67(2): 62-71
- 13 Xu Y, Lu X, Hu Y, et al. Melatonin attenuated retinal neovascularization and neuroglial dysfunction by inhibition of HIF-1 α -VEGF pathway in oxygen-induced retinopathy mice. *J Pineal Res* 2018; 64(4): e12473
- 14 李蓉, 杜军辉, 姚国敏, 等. 脂联素对高糖条件下 RF/6A 细胞的保护作用. *山西医科大学学报* 2019; 50(2): 169-174
- 15 李蓉, 姚国敏, 王小娣, 等. 脂联素对高糖条件下视网膜血管内皮细胞增殖、迁移和管腔形成的作用. *国际眼科杂志* 2019; 19(3): 363-367
- 16 Steinle JJ. Retinal endothelial cell apoptosis. *Apoptosis* 2012; 17(12): 1258-1260
- 17 Zhang Y, Yan H. Effect of simvastatin on retinal Bcl-2/Bax expression and cell apoptosis in rats with ischemia-reperfusion injury. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2014; 50(11): 826-832
- 18 Wang Q, Zhang L, Yuan X, et al. The relationship between the Bcl-2/Bax proteins and the mitochondria-mediated apoptosis pathway in the differentiation of adipose-derived stromal cells into neurons. *PLoS One* 2016; 11(10): e0163327
- 19 Stone WL, Shah D, Hollinger SM. Retinopathy of prematurity: an oxidative stress neonatal disease. *Front Biosci(Landmark Ed)* 2016; 21: 165-177
- 20 Rivera JC, Dabouz R, Noueihed B, et al. Ischemic retinopathies: oxidative stress and inflammation. *Oxid Med Cell Longev* 2017; 2017: 3940241
- 21 Esmaili S, Hemmati M, Karamian M. Physiological role of adiponectin in different tissues; a review. *Arch Physiol Biochem* 2020; 126(1): 67-73