

昼夜节律和生物钟基因与糖尿病视网膜病变发病的相关性研究进展

田思雯^{1*}, 刘秋平^{1*}, 马继贤¹, 杨佳洁¹, 李晶明²

引用:田思雯,刘秋平,马继贤,等. 昼夜节律和生物钟基因与糖尿病视网膜病变发病的相关性研究进展. 国际眼科杂志 2023; 23(8):1290-1294

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81960177);江西省自然科学基金项目(No.20192BAB205049)

作者单位:¹(330006)中国江西省南昌市,南昌大学附属眼科医院;²(710061)中国陕西省西安市,西安交通大学第一附属医院眼科

*:田思雯和刘秋平对本文贡献一致。

作者简介:田思雯,南昌大学在读硕士研究生;刘秋平,毕业于南昌大学,博士,副主任医师,硕士研究生导师,研究方向:玻璃体视网膜疾病。

通讯作者:李晶明,毕业于中山大学,博士,副主任医师,硕士研究生导师,研究方向:糖尿病视网膜病变的发病机制. jingming_li@126.com

收稿日期:2022-11-22 修回日期:2023-06-29

摘要

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病患者最常见的微血管并发症,已成为全球工作年龄人群视力障碍的主要原因之一。DR的发生是多种机制共同作用的结果,越来越多的研究表明昼夜节律及生物钟基因与DR的发病密切相关。昼夜节律是受生物钟基因调控,以24h为周期,与外界明暗变化相一致的生理过程,生物钟调控机体的各种生理活动。昼夜节律紊乱通过影响糖尿病患者的血糖水平和眼部的生理稳态等诱导DR的发生,生物钟基因可能通过调控DR的氧化应激反应、炎症反应、视网膜自噬节律、线粒体功能障碍以及内皮祖细胞功能等各方面参与DR的发病。本文介绍了昼夜节律的产生及调控机制,以及视网膜内在昼夜节律生物钟,深入探讨了昼夜节律系统以及生物钟基因在DR发生发展过程中的影响,旨在为DR的预防及治疗提供参考。

关键词:糖尿病视网膜病变;昼夜节律;生物钟基因

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2023.8.10

Research progress on the correlation between circadian rhythm and clock genes and the pathogenesis of diabetic retinopathy

Si-Wen Tian^{1*}, Qiu-Ping Liu^{1*}, Ji-Xian Ma¹, Jia-Jie Yang¹, Jing-Ming Li²

Foundation items: National Natural Sciences Foundation of China (No.81960177); Natural science Foundation of Jiangxi Province

(No.20192BAB205049)

¹Affiliated Eye Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China; ²Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China

Co-first authors: Si-Wen Tian and Qiu-Ping Liu

Correspondence to: Jing-Ming Li. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China. jingming_li@126.com

Received: 2022-11-22 Accepted: 2023-06-29

Abstract

• Diabetic retinopathy (DR) is the most common microvascular complication of patients with diabetes mellitus, and it has become one of the leading causes of visual impairment among working-age people worldwide. The pathogenesis of DR is complicated with multiple mechanisms. Plenty of studies have indicated that circadian rhythm and clock genes are closely related to the pathogenesis of DR. Circadian rhythm is a physiological process regulated by clock genes, which takes 24h as a cycle and is consistent with the changes of light and dark outside. Circadian rhythm regulates various physiological activities of the body. The disturbance of circadian rhythm induces DR by affecting the blood glucose level and the physiological homeostasis of the eye in patients with diabetes mellitus, and clock genes may be involved in the pathogenesis of DR by regulating oxidative stress response, inflammatory response, retinal autophagy rhythm, mitochondrial dysfunction and endothelial progenitor cell function. This paper will introduce the generation and regulation mechanism of circadian rhythm, as well as the internal circadian rhythm of retina, and further discuss the influence of circadian rhythm and clock genes on the occurrence and development of DR, aiming to provide a reference for the prevention and treatment of DR.

• KEYWORDS: diabetic retinopathy; circadian rhythm; clock genes

Citation: Tian SW, Liu QP, Ma JX, et al. Research progress on the correlation between circadian rhythm and clock genes and the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023;23(8):1290-1294

0 引言

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病最常见的微血管并发症,占比约为22.27%^[1]。目前我

国的糖尿病患者人数位列全球第一,国际糖尿病联盟2021年报告显示,我国工作年龄人群糖尿病患病率为10.6%,远高于全球其他国家^[2]。同时由于人群总体预期寿命延长,因DR导致视力损害的人数可能会继续增加。DR是一种进行性的终身疾病,其病理过程主要为视网膜微血管系统受损,血-视网膜屏障(blood-retinal barrier, BRB)破坏及神经元的功能障碍,最终导致视力下降^[3]。目前DR的发病机制尚未完全阐明,在参与DR发病的诸多因素中,昼夜节律及生物钟基因的作用受到越来越多学者的关注。本文现就昼夜节律、生物钟基因与DR发病的相关性作一综述,旨在为DR的预防、治疗及预后提供新的思路。

1 昼夜节律及昼夜节律紊乱与DR的发病

1.1 昼夜节律的产生及调控机制

昼夜节律是一种存在于所有生物体中并受生物钟系统调控的时间程序,涉及从基因表达到行为调控等各个层面,该过程大约以24h为一个周期^[4]。生物钟自主调节睡眠/觉醒行为、认知、进食、心跳、血压、肾功能以及消化等各种生物学活动^[5]。哺乳动物的生物钟系统由位于下丘脑视交叉上核(suprachiasmatic nucleus, SCN)的中央生物钟和外周生物钟共同组成。位于SCN的中央生物钟接受内在光敏性视网膜神经节细胞(intrinsically photosensitive retinal ganglion cells, ipRGCs)所投射的光信号,整合机体的代谢过程,使其与外界环境变化同步^[6]。中央生物钟系统通过转录-翻译反馈环(transcription-translation feedback loop, TTFL)机制调控基因和蛋白质的周期性表达。在哺乳动物细胞中,*Bmal1*和*Clock*组成的异二聚体*Clock:Bmal1*可激活*Per*和*Cry*的基因转录,*Per*和*Cry*蛋白在细胞质中累积并形成复合物*Per:Cry*,进入到细胞核抑制*Clock:Bmal1*转录活性,降低其自身的表达,这一调控过程称为核心TTFL;此外,*Per*和*Cry*可被E3泛素连接酶降解,解除其对*Clock:Bmal1*的转录抑制作用^[7-8]。除*Per*和*Cry*基因外,*Clock:Bmal1*靶基因还包括*Rev-erba/β*,*Clock:Bmal1*可激活*Rev-erba/β*转录,而*Rev-erba/β*可与转录激活因子*Rora/β/γ*竞争*Bmal1*启动子上的ROR反应元件,抑制*Bmal1*转录,形成第二个TTFL。*Rev/Ror* TTFL确保了*Bmal1*的节律性表达,有助于维持生物钟的稳定^[9]。SCN中有近20000个生物钟细胞,这些细胞相互作用形成强大的节律控制网络,Morris等^[10]对SCN器官切片及单细胞测序分离得到11个不同的参与昼夜节律控制的神经元亚群,并揭示了Prok2-Prokr2神经肽能轴信号通路为SCN周期和节律调节的关键因子。核心TTFL与*Rev/Ror* TTFL之间的协同作用,保证了生物钟系统的抗干扰能力,有助于维持精确的昼夜节律周期,从而优化参与外周生理反应的基因表达^[11-12]。另外昼夜节律受多种因素的影响,其中最重要的影响因子是光线^[13]。光感受器在感知到光信号后,通过各种级联反应致使生物体内源性周期与外界环境因素变化相同步。在现代生活中,夜间光线的过度使用会影响扰乱昼夜节律,破坏机体的生理动态平衡,造成各种代谢性疾病发生。

1.2 视网膜内在昼夜节律生物钟

哺乳动物视网膜拥有一个内在的不受SCN影响的生物钟,可调节眼内各种节律性变化,例如视觉敏感性、眼压变化、褪黑素和多巴胺的释放、脱落吞噬以及视网膜对光的电反应^[14]。研究表明视锥细胞、多巴胺能无长突细胞和ipRGCs等多种视网膜

神经元中存在生物钟蛋白,其中视锥细胞中可观察到所有生物钟蛋白的昼夜节律性表达,多巴胺能无长突细胞中仅存在*Cry2*的节律性表达,而视杆细胞仅低水平表达生物钟蛋白^[15]。Ruan等^[16]的研究表明视网膜内源性生物钟蛋白独立于光感受器和SCN,表达在内核层和神经节细胞层中。小鼠*Per1* mRNA只定位于内核层和神经节细胞层,并且昼夜节律相关激素褪黑素的关键调节酶AA-NAT也在视网膜的内核层和神经节细胞层进行转录^[17-18]。以上研究皆证明了视网膜内存在着独立的生物钟系统,而视网膜生物钟系统紊乱会影响眼部的生理稳态,促进疾病的发生发展。

在光诱导的昼夜节律中起主要作用的视网膜细胞包括视杆细胞、视锥细胞和ipRGCs等,研究发现小鼠视网膜ipRGCs仅占总RGC细胞数的4%~5%,这一小部分细胞向大脑传递光信号产生非图像形成功能^[14]。ipRGCs表达一种蓝光敏感的视色素melanopsin,可以直接接受光信号,这一过程不依赖于功能性视锥细胞和视杆细胞,直接参与光诱导的昼夜节律调控^[19]。对melanopsin敲除小鼠(*Opn4^{-/-}*)进行视网膜电图检测,研究者们发现melanopsin缺失会导致视锥细胞的昼夜节律性减弱,即melanopsin对光感受器产生的视觉信息的昼夜节律具有调节作用^[20]。此外,melanopsin具有调节视觉成像过程的功能,且它的活动需要同步控制视网膜内部对光的电反应的视网膜生物钟细胞群^[21]。环境光信号的变化对睡眠的影响主要通过ipRGCs将视细胞和melanopsin驱动的光信号输送到大脑,以调节其昼夜节律^[22]。上述研究都证明了ipRGCs及melanopsin对于维持视网膜昼夜节律的稳态具有不可比拟的重要性。

1.3 昼夜节律紊乱与DR的发病

工业革命以来,工作周期和工作环境的改变以及人工光源的过度使用,使得人类视网膜接收的光照越来越多,会引起睡眠周期及昼夜节律的改变。长期的轮班工作会扰乱生物钟系统,造成昼夜节律紊乱,增加2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的发病率^[23]。睡眠时间受昼夜节律和体内平衡机制调控,是胰岛素抵抗和T2DM的危险因素。中国一项关于T2DM患者主观睡眠时间和睡眠质量的研究表明:49.12%的T2DM患者存在极端的睡眠时间($\geq 9h$ 或 $\leq 6h$),60.3%的T2DM患者存在睡眠质量^[24]。此外,有学者研究了血糖水平对T2DM、糖尿病前期(pre-diabetes)、正常糖耐量(normal glucose tolerance, NGT)者客观睡眠质量的影响,结果显示三组患者的睡眠质量与糖化血红蛋白呈现显著负相关,睡眠质量的下降普遍存在于糖尿病前期和T2DM早期阶段,其中T2DM组的睡眠质量最差^[25],即使参与者尚未意识到其睡眠出现障碍,睡眠质量仍随着血糖水平升高而显著降低。韩国一项基于40岁糖尿病患者的横断面研究发现,过长($\geq 9h$)或过短($\leq 5h$)的睡眠时间均与男性DR的患病率升高有关^[26]。过长或过短的睡眠时间可能通过破坏昼夜节律或引发糖代谢异常对DR的发展产生影响。综上,昼夜节律紊乱为T2DM患者血糖控制带来了难度,增加了微血管系统及神经系统的患病风险。

高血糖状态造成的视网膜微血管损伤和神经元功能障碍在DR发生发展中起着重要作用^[27]。糖尿病早期甚至在DR相关微血管改变之前,就可观察到视网膜神经变性。糖尿病动物模型中初期就可观察到感光细胞凋亡,

24wk 时视网膜外核层厚度明显降低^[28]。研究发现 T2DM 患者的视网膜内丛状层 (inner plexiform layer, IPL) 和视网膜外层均变薄,且这种改变与睡眠障碍具有显著相关性^[29]。睡眠时间受昼夜节律和体内平衡机制的控制,而 ipRGCs 可调控机体的昼夜节律^[19]。根据以上两点可推断 T2DM 患者昼夜节律的紊乱与 ipRGCs 功能障碍具有一定的相关性。Reutrakul 等^[30]的研究证实了上述推断,DR 患者的 ipRGCs 功能异常与昼夜节律失调及睡眠障碍有关。研究发现糖尿病患者睡眠质量差与威胁视力的 DR 之间存在显著相关性^[31]。SOMNUS 研究组对 DR 严重性与睡眠质量的相关性进行了深入探讨,结果显示 DR 严重程度对睡眠质量没有影响,研究者推论可能的原因是研究中所纳入的受试者至少存在一眼视力较好,在视力较好眼中 ipRGCs 功能可能还没有受损,因此不会对患者的主观睡眠质量产生影响^[32]。ipRGCs 参与许多生物节律的信息传递,包括褪黑素的分泌和昼夜节律调控^[14]。对伴有或不伴有 DR 的糖尿病患者的唾液褪黑素水平以及活动/休息间隔进行研究,结果显示所有糖尿病患者凌晨时的褪黑素峰值和夜间平均褪黑素水平均显著降低,然而仅伴有 DR 的糖尿病患者的活动/休息间隔显示每日变异性增加,表明 DR 患者的昼夜节律出现紊乱^[33]。褪黑素具有脂溶性和水溶性,且作为抗炎剂和强抗氧化剂,可有效减轻糖尿病患者视网膜组织的局部氧化应激反应,对高糖诱导的视网膜组织损伤具有保护作用^[34]。以上研究均表明 DR 患者的 ipRGCs 功能障碍与昼夜节律紊乱密切相关,针对 DR 患者 ipRGCs 功能的治疗有望改善其视网膜损害。

2 生物钟基因与 DR 的发病

DR 的发病机制错综复杂,目前研究证明的机制主要包括氧化应激反应、炎症反应、自噬失调、线粒体功能受损和血管内皮祖细胞功能障碍等,生物钟基因可能通过调控上述过程参与 DR 的发生发展。

2.1 生物钟基因调控 DR 氧化应激反应

尽管 DR 的发病机制涉及多种生化途径,但对视网膜的主要损害是由氧化应激反应引起的^[35]。氧化应激启动了 DR 发病机制中的四个主要通路,如多元醇合成增加,晚期糖基化终末产物 (advanced glycosylation end products, AGEs) 的形成,蛋白激酶 C (protein kinase, PKC) 的激活和己糖胺途径。高糖条件下周细胞内过量的葡萄糖转化为代谢缓慢的山梨醇并蓄积在细胞中,机体蛋白质非酶糖化形成的 AGEs 大量堆积,均可引起周细胞死亡、视网膜血管内皮受损,导致 BRB 破坏以及视网膜血管渗漏^[27,36]。糖尿病患者的视网膜中,普遍观察到活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平升高,ROS 被认为是 DR 发展的主要致病因素^[37]。高血糖状态下二酰甘油 (diacylglycerol, DAG) 合成增加,进而激活 DAG-PKC 通路,形成大量 ROS,造成视网膜血管通透性增加^[38]。大量积累的 ROS 导致糖酵解产物流入己糖胺途径,生成的葡萄糖胺增加了过氧化物的产生,导致氧化增加,细胞内皮改变,血管通透性增加^[37]。生物钟基因 *Clock* 和 *Bmal1* 可以通过启动子上的 E-BOX 元件调控 NRF2 及其下游抗氧化应激蛋白的节律性表达,发挥抗氧化应激作用^[39]。*Clock* 基因活性的丧失会损害线粒体的代谢功能,造成线粒体的自噬受损,而线粒体功能障碍所引起的氧化应激会促进 DR 的发展^[40-41]。因此,生物钟基因可通过调控氧化应激通路影响 ROS 的产生,减少视网膜血管神经损伤。

2.2 生物钟基因调控 DR 炎症反应

在 DR 的发生发展过程中,始终伴随着炎症反应。促炎细胞因子的释放和视网膜毛细血管白细胞黏附是 DR 发展的最初变化^[41]。高血糖所引起的 ROS 增加和氧化应激可通过 NF- κ B 的核易位诱导视网膜炎症反应,而视网膜炎症反应主要由小胶质细胞活化引起^[42-43]。过度反应的小胶质细胞会分泌大量促炎细胞因子和细胞毒性因子,如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、ROS 和活性氮 (reactive nitrogen species, RNS)^[44]。这些因子会引起慢性炎症,导致糖尿病患者的 BRB 损伤,进而加快 DR 进展。小胶质细胞的过度反应和促炎细胞因子与趋化因子水平的升高是 DR 的重要病理标志^[45]。脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 可诱导小胶质细胞中促炎细胞因子的表达增加,而在 *Bmal1* 缺陷小鼠的小胶质细胞中 LPS 诱导的 IL-6 表达减弱,即 *Bmal1* 可在小胶质细胞炎症反应中发挥作用^[46]。应用 *Rev-erba* 激动剂 GSK4112 预处理小胶质细胞,可通过抑制 NF- κ B 通路降低 LPS 诱导的 IL-6 与 TNF α 的表达和分泌^[47]。上述研究均表明生物钟基因对于炎症反应具有重要的调节作用。

2.3 生物钟基因调控视网膜自噬节律

自噬是一种保守的细胞分解代谢机制,通过形成自噬溶酶体以促进受损细胞成分的降解。在应激条件下,自噬机制通过清除亚细胞碎片来维持细胞完整性^[48]。光感受器膜盘脱落在视网膜中具有昼夜节律性,这种节律性与光感器外段的吞噬摄取和自噬降解的紧密联系是维持视网膜稳态的关键因素^[49-50]。而自噬失调将导致视网膜功能障碍和神经变性^[51-52]。研究发现自噬蛋白在小鼠和大鼠的视网膜神经元和血管内皮细胞中大量表达,并表现出不同的昼夜节律。其中自噬相关蛋白 7 (autophagy related protein 7, ATG7) 的表达水平在上午 8:00 左右达到峰值,ATG9 和自噬标志物轻链 3 (light chain 3, LC3) 的表达水平在上午和晚上 8:00 左右达到最高水平,BECLIN1 的表达在午夜观察到最高水平。然而在糖尿病小鼠中,这些自噬蛋白的表达均显著减少,其独特的昼夜节律也明显受损^[53]。自噬的关键调节因子 mTOR 的活性受生物钟基因的调控,节律性激活的 mTOR 可反过来增强生物钟基因的调控功能^[54]。Lipton 等^[55]的研究结果表明,生物钟基因 *Bmal1* 是连接昼夜节律周期与 mTOR 信号通路的翻译因子。深入研究生物钟基因与自噬调节因子之间的相互作用,明确自噬节律在视网膜中的重要性,可为 DR 提供新的治疗策略。

2.4 生物钟基因调控 DR 线粒体功能障碍

线粒体是细胞进行有氧呼吸,产生能量的重要部位^[56]。视网膜作为机体高耗能组织,大量消耗葡萄糖会导致通过呼吸链的电子通量增加,复合物 III 的活性降低,使得 ROS 积累增加。正常情况下,ROS 的生成受到内源性抗氧化剂的控制,但高糖环境下,线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 修复系统受损,胞质内 ROS 持续破坏线粒体的完整性,最终造成视网膜细胞凋亡^[57]。*Clock* 蛋白可以与线粒体膜转运蛋白 SLC25A10 相结合,进而控制线粒体的代谢功能^[58]。生物钟基因 *Bmal1* 作为氧化代谢的正反馈因子,其功能丧失会加剧线粒体功能障碍^[59]。糖尿病患者视网膜中线粒体融合蛋白 2 (mitofusin 2, Mfn2) 表达降低,Mfn2 通过调控线粒体 ATP 氧化、膜电位和氧化磷酸化来调节线粒体代谢^[60]。研究表明 *Bmal1* 缺失抑制了胰腺 β 细胞中 Mfn2

的蛋白表达,导致线粒体膜电位和结构发生异常,大量 ROS 积累^[61]。DR 患者视网膜细胞中线粒体稳态出现异常,生物钟基因 *Bmal1* 和 *Clock* 具有调节线粒体代谢的能力,靶向 *Bmal1* 和 *Clock* 基因对于 DR 的治疗具有一定的参考价值。

2.5 生物钟基因调控 DR 内皮祖细胞功能 内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) 起源于血管母细胞,并保留了形成新生血管的能力^[62]。EPCs 在高糖环境下功能失调,导致血管修复不完全,外周循环受损^[63]。血管修复不完全可导致 BRB 破坏,诱发糖尿病性黄斑水肿的发生。糖尿病患者血液循环中的 EPCs 数量减少,迁移能力降低,造成其修复能力下降,可能导致视网膜血管损伤。DR 患者中 EPCs 的形态发生改变,同时在增殖、黏连和血管新生等方面表现出功能障碍^[62]。生物钟基因 *Per2* 突变小鼠表现出进行性视网膜血管功能障碍,视网膜血管通透性增加并生成新生血管^[64]。*Per2* 突变小鼠表现出的以上血管变化与糖尿病相似,即 EPCs 出现功能障碍。*Cry1* 和 *Cry2* 双敲除小鼠的内皮细胞增殖能力、迁移能力下降,导致血管新生功能受损^[65]。上述研究均显示出生物钟基因可通过影响视网膜血管功能调控 DR 的进展。

3 小结

综上所述,昼夜节律的紊乱和生物钟基因的异常表达在 DR 的发病过程中起着重要的作用,但其具体的分子机制以及与 DR 发病的因果关系尚未完全清楚。在今后的研究学习中,应当系统性地将昼夜节律以及生物钟基因的作用机制和 DR 的病理生理学联系在一起,为 DR 的综合防治提供更加全面有效的方案。现有研究提示,针对 ipRGCs 功能和生物钟基因调控功能的治疗方案,可以为 DR 的预防、治疗以及预后提供新的思路。此外,使用褪黑素以及改善睡眠、加强锻炼有望成为辅助治疗手段。

参考文献

- 1 Teo ZL, Tham YC, Yu M, *et al.* Global prevalence of diabetic retinopathy and projection of burden through 2045: systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology* 2021;128(11):1580-1591
- 2 Magliano DJ, Boyko EJ, IDF Diabetes Atlas 10th edition scientific committee 10th edition. IDF Diabetes Atlas. Brussels: International Diabetes Federation 2021
- 3 Solanki A, Bhatt LK, Johnston TP, *et al.* Targeting matrix metalloproteinases for diabetic retinopathy: the way ahead? *Curr Protein Pept Sci* 2019;20(4):324-333
- 4 Roenneberg T, Merrow M. The circadian clock and human health. *Curr Biol* 2016;26(10):R432-R443
- 5 Sehgal A. Physiology flies with time. *Cell* 2017;171(6):1232-1235
- 6 Do MTH. Melanopsin and the intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: biophysics to behavior. *Neuron* 2019;104(2):205-226
- 7 Cox KH, Takahashi JS. Circadian clock genes and the transcriptional architecture of the clock mechanism. *J Mol Endocrinol* 2019;63(4):R93-R102
- 8 Patke A, Young MW, Axelrod S. Molecular mechanisms and physiological importance of circadian rhythms. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2020;21(2):67-84
- 9 Ukai-Tadenuma M, Yamada RG, Xu HY, *et al.* Delay in feedback repression by cryptochrome 1 is required for circadian clock function. *Cell* 2011;144(2):268-281
- 10 Morris EL, Patton AP, Chesham JE, *et al.* Single - cell

- transcriptomics of suprachiasmatic nuclei reveal a Prokineticin - driven circadian network. *EMBO J* 2021;40(20):e108614
- 11 Brown SA, Kowalska E, Dallmann R. (Re)inventing the circadian feedback loop. *Dev Cell* 2012;22(3):477-487
 - 12 Liu AC, Tran HG, Zhang EE, *et al.* Redundant function of REV-ERB α and β and non-essential role for *Bmal1* cycling in transcriptional regulation of intracellular circadian rhythms. *PLoS Genet* 2008;4(2):e1000023
 - 13 周琦, 祁玉麟, 薛愚愚, 等. 眼的生物钟调控机制研究进展. 国际眼科杂志 2022;22(3):416-419
 - 14 Bhatwadekar AD, Rameswara V. Circadian rhythms in diabetic retinopathy: an overview of pathogenesis and investigational drugs. *Expert Opin Invest Drugs* 2020;29(12):1431-1442
 - 15 Liu XQ, Zhang ZJ, Ribelayga CP. Heterogeneous expression of the core circadian clock proteins among neuronal cell types in mouse retina. *PLoS One* 2012;7(11):e50602
 - 16 Ruan GX, Zhang DQ, Zhou TR, *et al.* Circadian organization of the mammalian retina. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103(25):9703-9708
 - 17 Witkovsky P, Weisenberger E, LeSauter J, *et al.* Cellular location and circadian rhythm of expression of the biological clock GenePeriod 1 in the mouse retina. *J Neurosci* 2003;23(20):7670-7676
 - 18 Liu CM, Fukuhara C, Wessel JH, *et al.* Localization of *Aa-nat* mRNA in the rat retina by fluorescence *in situ* hybridization and laser capture microdissection. *Cell Tissue Res* 2004;315(2):197-201
 - 19 Lazzarini Ospri L, Prusky G, Hattar S. Mood, the circadian system, and melanopsin retinal ganglion cells. *Annu Rev Neurosci* 2017;40:539-556
 - 20 Barnard AR, Hattar S, Hankins MW, *et al.* Melanopsin regulates visual processing in the mouse retina. *Curr Biol* 2006;16(4):389-395
 - 21 Storch KF, Paz C, Signorovitch J, *et al.* Intrinsic circadian clock of the mammalian retina: importance for retinal processing of visual information. *Cell* 2007;130(4):730-741
 - 22 Altimus CM, Güler AD, Villa KL, *et al.* Rods-cones and melanopsin detect light and dark to modulate sleep independent of image formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(50):19998-20003
 - 23 Vetter C, Dashti HS, Lane JM, *et al.* Night shift work, genetic risk, and type 2 diabetes in the UK biobank. *Diabetes Care* 2018;41(4):762-769
 - 24 Zeng YB, Wu JL, Yin JH, *et al.* Association of the combination of sleep duration and sleep quality with quality of life in type 2 diabetes patients. *Qual Life Res* 2018;27(12):3123-3130
 - 25 Hur MH, Lee MK, Seong K, *et al.* Deterioration of sleep quality according to glycemic status. *Diabetes Metab J* 2020;44(5):679-686
 - 26 Jee D, Keum N, Kang S, *et al.* Sleep and diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol* 2017;95(1):41-47
 - 27 Wang W, Lo ACY. Diabetic retinopathy: pathophysiology and treatments. *Int J Mol Sci* 2018;19(6):1816
 - 28 Park SH, Park JW, Park SJ, *et al.* Apoptotic death of photoreceptors in the streptozotocin-induced diabetic rat retina. *Diabetologia* 2003;46(9):1260-1268
 - 29 Ishibashi F, Tavakoli M. Thinning of macular neuroretinal layers contributes to sleep disorder in patients with type 2 diabetes without clinical evidences of neuropathy and retinopathy. *Front Endocrinol* 2020;11:69
 - 30 Reutrakul S, Crowley SJ, Park JC, *et al.* Relationship between intrinsically photosensitive ganglion cell function and circadian regulation in diabetic retinopathy. *Sci Rep* 2020;10(1):1560

- 31 Mersha GA, Alemu DS, Ferede MG, *et al.* Association of poor quality of sleep with vision-threatening diabetic retinopathy: a matched case-control study. *Ophthalmol Ther* 2023;12(2):1141-1153
- 32 Morjaria R, Alexander I, Purbrick RMJ, *et al.* Impact of diabetic retinopathy on sleep, mood, and quality of life. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2019;60(6):2304-2310
- 33 Ba-Ali S, Brøndsted AE, Andersen HU, *et al.* Assessment of diurnal melatonin, cortisol, activity, and sleep-wake cycle in patients with and without diabetic retinopathy. *Sleep Med* 2019;54:35-42
- 34 刁慧杰, 刘芳, 李金颖, 等. 褪黑素对大鼠糖尿病视网膜病变的影响. *国际眼科杂志* 2019;19(10):1663-1666
- 35 Mahajan N, Arora P, Sandhir R. Perturbed biochemical pathways and associated oxidative stress lead to vascular dysfunctions in diabetic retinopathy. *Oxid Med Cell Longev* 2019;2019:8458472
- 36 Kang QZ, Yang CX. Oxidative stress and diabetic retinopathy: molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications. *Redox Biol* 2020;37:101799
- 37 Calderon GD, Juarez OH, Hernandez GE, *et al.* Oxidative stress and diabetic retinopathy: development and treatment. *Eye* 2017; 31 (8): 1122-1130
- 38 Volpe CMO, Villar-Delfino PH, Dos Anjos PMF, *et al.* Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications. *Cell Death Dis* 2018;9(2):119
- 39 Tamaru T, Hattori M, Ninomiya Y, *et al.* ROS stress resets circadian clocks to coordinate pro-survival signals. *PLoS One* 2013;8(12):e82006
- 40 Rabinovich-Nikitin I, Rasouli M, Reitz CJ, *et al.* Mitochondrial autophagy and cell survival is regulated by the circadian Clock gene in cardiac myocytes during ischemic stress. *Autophagy* 2021; 17 (11): 3794-3812
- 41 Dehdashtian E, Mehrzadi S, Yousefi B, *et al.* Diabetic retinopathy pathogenesis and the ameliorating effects of melatonin; involvement of autophagy, inflammation and oxidative stress. *Life Sci* 2018;193:20-33
- 42 Liu T, Zhang LY, Joo D, *et al.* NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther* 2017;2:17023
- 43 Karlstetter M, Ebert S, Langmann T. Microglia in the healthy and degenerating retina; insights from novel mouse models. *Immunobiology* 2010;215(9-10):685-691
- 44 Du L, Zhang Y, Chen Y, *et al.* Role of microglia in neurological disorders and their potentials as a therapeutic target. *Mol Neurobiol* 2017; 54(10):7567-7584
- 45 Kinuthia UM, Wolf A, Langmann T. Microglia and inflammatory responses in diabetic retinopathy. *Front Immunol* 2020;11:564077
- 46 Nakazato R, Hotta S, Yamada D, *et al.* The intrinsic microglial clock system regulates interleukin-6 expression. *Glia* 2017;65(1):198-208
- 47 Guo DK, Zhu Y, Sun HY, *et al.* Pharmacological activation of REV-ERB α represses LPS-induced microglial activation through the NF- κ B pathway. *Acta Pharmacol Sin* 2019;40(1):26-34
- 48 Choi AMK, Ryter SW, Levine B. Autophagy in human health and disease. *N Engl J Med* 2013;368(7):651-662
- 49 Rodríguez - Muela N, Koga H, García - Ledo L, *et al.* Balance between autophagic pathways preserves retinal homeostasis. *Aging Cell* 2013;12(3):478-488
- 50 Yao JY, Jia L, Shelby SJ, *et al.* Circadian and noncircadian modulation of autophagy in photoreceptors and retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(5):3237-3246
- 51 Rodríguez - Muela N, Hernández - Pinto AM, Serrano - Puebla A, *et al.* Lysosomal membrane permeabilization and autophagy blockade contribute to photoreceptor cell death in a mouse model of retinitis pigmentosa. *Cell Death Differ* 2015;22(3):476-487
- 52 Mitter SK, Song CJ, Qi XP, *et al.* Dysregulated autophagy in the RPE is associated with increased susceptibility to oxidative stress and AMD. *Autophagy* 2014;10(11):1989-2005
- 53 Qi XP, Mitter SK, Yan YQ, *et al.* Diurnal rhythmicity of autophagy is impaired in the diabetic retina. *Cells* 2020;9(4):905
- 54 Cao RF. mTOR signaling, translational control, and the circadian clock. *Front Genet* 2018;9:367
- 55 Lipton JO, Yuan ED, Boyle LM, *et al.* The circadian protein BMAL1 regulates translation in response to S6K1-mediated phosphorylation. *Cell* 2015;161(5):1138-1151
- 56 Andrieux P, Chevillard C, Cunha-Neto E, *et al.* Mitochondria as a cellular hub in infection and inflammation. *Int J Mol Sci* 2021; 22 (21): 11338
- 57 Kowluru RA. Mitochondrial stability in diabetic retinopathy: lessons learned from epigenetics. *Diabetes* 2019;68(2):241-247
- 58 Cai TT, Hua BX, Luo DW, *et al.* The circadian protein CLOCK regulates cell metabolism via the mitochondrial carrier SLC25A10. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2019;1866(8):1310-1321
- 59 Alexander RK, Liou YH, Knudsen NH, *et al.* Bmal1 integrates mitochondrial metabolism and macrophage activation. *Elife* 2020; 9:e54090
- 60 Duraisamy AJ, Mohammad G, Kowluru RA. Mitochondrial fusion and maintenance of mitochondrial homeostasis in diabetic retinopathy. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2019;1865(6):1617-1626
- 61 Ye L, Wu HX, Xu WH. Deletion of Bmal1 impairs pancreatic β -cell function via mitochondrial signaling pathway. *BioMed Res Int* 2020; 2020:9803024
- 62 Shao Y, Li XR, Wood JW, *et al.* Mitochondrial dysfunctions, endothelial progenitor cells and diabetic retinopathy. *J Diabetes Complicat* 2018;32(10):966-973
- 63 Kim KA, Shin YJ, Akram M, *et al.* High glucose condition induces autophagy in endothelial progenitor cells contributing to angiogenic impairment. *Biol Pharm Bull* 2014;37(7):1248-1252
- 64 Bhatwadekar AD, Yan YQ, Qi XP, *et al.* Per2 mutation recapitulates the vascular phenotype of diabetes in the retina and bone marrow. *Diabetes* 2013;62(1):273-282
- 65 Tsuzuki K, Shimizu Y, Suzuki J, *et al.* Adverse effect of circadian rhythm disorder on reparative angiogenesis in hind limb ischemia. *J Am Heart Assoc* 2021;10(16):e020896