

视网膜 Müller 细胞的研究进展

石瑜珍, 过贵元

基金项目:中国南京军区医学科研重点课题(No. 09Z036)
作者单位:(350002)中国福建省福州市,福建医科大学教学医院
南京军区福州总医院 476 医院眼科
作者简介:石瑜珍,在读硕士研究生,研究方向:糖尿病视网膜
病变。
通讯作者:过贵元,硕士,主任医师,研究方向:糖尿病视网膜病
变. guoguiyuan1962@163. com
收稿日期:2011-06-24 **修回日期:**2011-09-06

Research advances on retinal Müller cells

Yu-Zhen Shi, Gui-Yuan Guo

Foundation item: Key Project of Medical Research of Nanjing
Military Region, China (No. 09Z036)

Department of Ophthalmology, No. 476 Hospital of Fuzhou General
Hospital, Nanjing Military Area Command, Fuzhou 350002, Fujian
Province, China

Correspondence to: Gui-Yuan Guo. Department of Ophthalmology,
No. 476 Hospital of Fuzhou General Hospital, Nanjing Military Area
Command, Fuzhou 350002, Fujian Province, China. guoguiyuan1962
@163. com

Received: 2011-06-24 Accepted: 2011-09-06

Abstract

• Müller cells are the specialized glial cell of the retina. They span the entire thickness of the retina, have a close contact with retinal neurons, other glial cells and retinal blood vessels. Müller cells play a decisive role in the normal development of the retina, and can support neuronal activity, regulate neurotransmitter cycle, maintain homeostasis of the extracellular environment, regulate retinal vascular permeability. Dysmetabolism in retinal Müller cells will result in loss of visual function, neuronal cell death, retinal edema, *et al.* Therefore, Müller cells play an important role in retinal physiology. This paper reviewed recent Müller cells research.

• **KEYWORDS:** retina; Müller cells; progress

Shi YZ, Guo GY. Research advances on retinal Müller cells. *Guoji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011;11(11):1938-1940

摘要

Müller 细胞是视网膜特化的胶质细胞,它贯穿于视网膜全层,与视网膜神经元、其它胶质细胞、视网膜血管等紧密联系。Müller 细胞不但对视网膜正常发育起着决定性作用,而且能支持神经元活动、调节神经递质循环、维持细胞外环境平衡、调节视网膜血管通透性。视网膜 Müller 细胞代谢障碍将导致视功能丧失、神经元细胞死亡、视网膜水肿

等。因此, Müller 细胞对维持视网膜的正常生理功能起着重要作用。我们就近年来 Müller 细胞的研究进展作一综述。

关键词: 视网膜; Müller 细胞; 进展

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2011. 11. 020

石瑜珍, 过贵元. 视网膜 Müller 细胞的研究进展. 国际眼科杂志 2011;11(11):1938-1940

0 引言

哺乳动物视网膜含 3 种胶质细胞: Müller 细胞、星形胶质细胞、小胶质细胞,其中 Müller 细胞是脊椎动物视网膜最主要的胶质细胞,约占视网膜细胞的 4% ~ 5%,占视网膜胶质细胞的 90%。它主要调节视网膜中神经元和血管的正常功能,已被认为是多种视网膜疾病始发和进展因素。

1 Müller 细胞

1.1 Müller 细胞的发育 Müller 细胞由视网膜中央向周边逐渐生成,刚生成的 Müller 细胞为简单的细胞结构,但中央视网膜的 Müller 细胞在形态上逐渐发育成熟,至产生 1mo 时,中央视网膜几乎所有 Müller 细胞都有复杂的突起,而周边视网膜在形态发育上明显滞后^[1]。为了对神经元提供各种支持功能,早期 Müller 细胞要进行基本分化,从不成熟胶质细胞分化为成熟 Müller 细胞。除了发生形态变化,生化和电生理特性也发生改变,如:胶质特异性酶(GS)的积累^[2],Kir4.1、钙结合蛋白、整合蛋白 V、水孔蛋白 4、载脂蛋白 E 等的高表达。此外, Müller 细胞还表达神经递质受体(如 GABA 受体、NMDA 受体等)、神经递质转运体(如 GLAST 和 GABA 转运体等)及其它转运体(如 Na⁺/H⁺ 交换体、Na⁺/HCO₃⁻ 共转运体等)^[3],为调节离子平衡、神经递质传递、胶质细胞与神经元细胞间物质交换奠定了基础。

1.2 Müller 细胞的形态 成熟的 Müller 细胞胞体位于内核层,外侧突起较细,止于外界膜,并伸出微绒毛至视网膜下间隙。内侧突起较粗,形成足板,附于视网膜毛细血管壁,构成血-视网膜屏障和内界膜。其余的突起从胞体产生,包绕神经细胞胞体及突触^[4]。Müller 细胞胞核大、染色质细、可见 1 ~ 2 个核仁。细胞内含大量的直径约 10 ~ 12nm 微丝、纵形排列的线粒体、囊泡状滑面内质网、直径 25 ~ 30nm 高密度糖原颗粒、直径 10 ~ 15nm 高密度核糖体颗粒^[5]。

2 Müller 细胞在视网膜发育中的作用

胚胎发育期, Müller 细胞对视网膜的发育起着重要作用。研究显示^[6],鼠视网膜细胞的发育于胚胎第 10wk 开始,产后第 12wk 停止,而 Müller 的发育主要在胚胎第 18wk 至产后第 12wk。在神经元早期发育阶段, Müller 细胞晚于神经节细胞、无长突细胞的出现,所以 Müller 细胞未能引导早期出现的神经元细胞迁移^[3]。在晚期发育阶

段, Müller 细胞与来源于同一祖细胞的视杆细胞、双极细胞及一些无长突细胞一起发育,形成了以 Müller 细胞为中心,神经元围绕在周围的柱状结构^[7],为神经元的发育和迁移提供了稳固的支架。同时这种柱状结构及 Müller 细胞规则、平行的排列方式能使光穿过视网膜到达光感受器外节部分^[8],为视觉的形成奠定了基础。并且研究发现^[9], Müller 细胞在建立视网膜极性和正确的视网膜分层中发挥着决定性的作用。

3 Müller 细胞在正常视网膜中的作用

3.1 提供神经元能量 与其它神经元细胞相比, Müller 细胞能抵抗较长时间的缺血、缺氧、低糖等病理情况,而且在有氧的情况下,能通过对乳酸盐、丙酮酸盐、谷氨酸盐等的代谢来抵抗低糖的损害^[10]。Müller 细胞中储存的糖原经酵解产生乳酸,在乳酸脱氢酶、丙酮酸激酶等的作用下转变为丙酮酸,丙酮酸通过单羧酸转运蛋白 2 释放出细胞,并被神经元细胞摄取^[11],供给神经元活动。神经元活动产生的谷氨酸盐被 Müller 细胞摄取,在谷氨酰胺合成酶的作用下合成谷氨酰胺,不但为神经元活动提供能量来源,而且也降低了谷氨酸盐的神经毒性。除了合成反应以外, Müller 细胞还可以通过谷氨酸与丙酮酸转氨基作用,生成丙氨酸和 α -酮戊二酸;草酰乙酸与谷氨酸转氨基作用生成天冬氨酸和 α -酮戊二酸;谷氨酸脱氨基作用生成氨和 α -酮戊二酸,其中 α -酮戊二酸进入三羧酸循环,供给神经元能量^[12]。

3.2 储存与缓冲钾离子 Müller 细胞表达各种不同亚型的 K^+ 通道,对 K^+ 高度通透。Kir2.1 分布于包绕神经元的 Müller 细胞膜上^[13],主要调节向内 K^+ 流,几乎无向外 K^+ 流^[14]。Kir4.1 主要表达于极化 Müller 细胞的血管周膜、内外界膜上^[13],可同时调节向内、向外 K^+ 流^[15]。TASK 通道亚细胞分布与 Kir2.1 相似,而且主要分布于微绒毛上,去极化时允许 K^+ 外流^[16],此外还有 Kir5.1、钙离子依赖性钾通道等。当神经元活动时,在内外丛状层 K^+ 浓度升高, Müller 细胞通过 Kir2.1 通道快速摄取 K^+ ,使细胞去极化,通过 Kir4.1 通道将 K^+ 释放入血液、玻璃体、视网膜下腔隙,实现空间缓冲作用,其它亚型的 K^+ 通道则维持辅助作用^[17],这对维持神经元细胞的活性具有重要意义。

3.3 调节细胞外的 pH 值 由于神经元细胞自身不能处理 CO_2 , Müller 细胞摄取神经元活动产生的 CO_2 ,在碳酸酐酶作用下转化成 HCO_3^- ,通过 H^+/HCO_3^- 交换体进入玻璃体腔或血管,或用于合成脂质^[18]。 H^+ 则在 Müller 细胞去极化时流出细胞,使细胞外酸化,抑制神经元突触传递的效率。此外, Müller 细胞内及胞膜外含有大量的碳酸酐酶,对 pH 值的调节也起到了一定的作用。

3.4 调节视网膜内水平衡 视网膜组织内的液体来源于自身代谢、血管渗透、葡萄糖的吸引及眼内压。Bringmann 等^[19]发现 Müller 细胞参与内层视网膜组织的脱水。且在 1999 年 Nagelhus 等^[20]就发现水孔蛋白 4 和 Kir4.1 共同表达于 Müller 细胞膜的不同区域,他们指出 K^+ 的空间缓冲和水的转运是共同发生的,即 K^+ 流的损害会干扰水转运,水转运的抑制也会延缓 K^+ 流。这一理论在 Li 等^[21]的实验中也得到证实。已有研究显示^[22],水孔蛋白 4 和 Kir4.1 的分布是由肌营养不良蛋白(Dp71)和抗肌萎缩蛋白相关复合体(DAPs)决定的。Dp71 基因的异常将导致通道易位, Müller 细胞功能遭到损害,导致视网膜水肿。

3.5 调节钙离子平衡 在视网膜中,许多神经活性成分均可诱导 Müller 细胞内 Ca^{2+} 浓度升高,形成 Ca^{2+} 波。光诱导的神经元活动也能激发 Müller 细胞胞质 Ca^{2+} 升高,升高的 Ca^{2+} 从视网膜内丛状层向细胞足板蔓延^[23],当这些 Ca^{2+} 波通过视网膜神经节细胞时,可以对光刺激的轴突传导频率产生影响,并引发局部神经元的兴奋或抑制^[24]。胶质细胞间 Ca^{2+} 波的传递依靠两种途径:通过缝隙连接在细胞间传递的 IP_3 介导和通过细胞外信使 ATP 的释放来介导,其中以 ATP 的释放为主^[25]。神经元通过释放 ATP 与活化的胶质细胞 P_2Y 受体结合来调节 Müller 细胞活动, Müller 细胞则通过 Ca^{2+} 波调节神经元的兴奋性和血管收缩反应^[26]。

3.6 调节神经递质的循环^[27] Müller 细胞膜上表达了各种神经递质转运体,能摄取谷氨酸、GABA、甘氨酸、d-丝氨酸,同时也降解和去除嘌呤受体激动剂。双极细胞、神经节细胞、光感受器细胞释放兴奋性递质谷氨酸, Müller 细胞通过谷氨酸天冬氨酸转运体摄取谷氨酸,在细胞内谷氨酰胺合成酶的作用下生成谷氨酰胺,降低了谷氨酸的神经毒性,并提供给神经元作为合成谷氨酸和 GABA 的原料。同时 Müller 细胞摄取的甘氨酸、半胱氨酸可与谷氨酸结合生成谷胱甘肽,对抗氧自由基的损害。GABA 是视网膜内主要的抑制性递质,在哺乳动物视网膜内层由无长突细胞和 Müller 细胞摄取,在视网膜外层只由 Müller 细胞摄取。Müller 细胞通过 GABA 转运体摄取 GABA,并在 GABA 转氨酶作用下,生成谷氨酰胺。这不但快速终止了突触传递,而且为神经元提供了递质前体物质。甘氨酸既是抑制性递质,也是 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体的联合激动剂,近年来研究证明在低等脊椎动物视网膜 Müller 细胞中存在甘氨酸转运体,而在人等高级脊椎动物视网膜 Müller 细胞中不表达,但在离体培养状态下可表达。d-丝氨酸可增强神经节细胞中 NMDA 受体活性, Müller 细胞通过 d-丝氨酸的释放来调节神经元的兴奋性。

4 Müller 细胞神经源性潜能

随着细胞移植工程的开展,人们提出移植 Müller 细胞治疗视网膜病变。Fischer 等^[1]研究发现,鸡视网膜内 Müller 细胞是出生后神经元再生的前体细胞,在损害或外源性生长因子的刺激下, Müller 细胞表现为去分化、增生、表达转录因子,从而生成新的神经元和胶质细胞。Das 等^[28]也通过向正常眼移植入受伤激活的 Müller 细胞,证实了 Müller 细胞具有神经源性潜能。对 Müller 细胞基因的研究发现, Müller 细胞与视网膜祖细胞具有重叠的基因表达,63 种表达于成熟 Müller 细胞中的基因有 61 种表达于视网膜祖细胞中^[29],很有可能视网膜晚期祖细胞通过增加基因的表达来生成 Müller 细胞,生成的 Müller 细胞保留有祖细胞基因^[3],这更让我们相信 Müller 细胞是一种晚期视网膜祖细胞,在视网膜受到急性损伤时能增殖并产生神经元。

5 小结

我们从 Müller 细胞的发育和形态、Müller 细胞在视网膜发育和成熟视网膜中的作用及 Müller 细胞的神经源性潜能进行综述,阐述了 Müller 细胞在视网膜中的重要作用。目前人们对 Müller 细胞的研究已从分子水平进入到基因水平,这为进一步了解视网膜疾病的发病机制和治疗奠定了基础。

参考文献

- 1 Fischer AJ, Reh TA. Potential of Müller glia to become neurogenic retinal progenitor cells. *Glia* 2003; 43(1):70-76
- 2 Bringmann A, Pannicke T, Grosche J, et al. Müller cells in the healthy and diseased retina. *Prog Retin Eye Res* 2006;25(4):397-424
- 3 Jadhav AP, Roesch K, Cepko CL. Development and neurogenic potential of Müller glial cells in the vertebrate retina. *Prog Retin Eye Res* 2009;28(4):249-262
- 4 Reichenbach A, Reichelt W. Postnatal development of radial glial (Müller) Cells of the rabbit retina. *Neurosci Lett* 1986;71(2):125-130
- 5 过贵元,郑宏华,陈秀丽. 正常大鼠视网膜苗勒(Müller)细胞的形态学结构特点. *东南国防医药* 2009;11(3):193-195
- 6 Rapaport DH, Wong LL, Wood ED, et al. Timing and topography of cell genesis in the rat retina. *J Comp Neurol* 2004;474(2):304-324
- 7 Reichenbach A, Robinson SR. Phylogenetic constraints on retinal organization and development: an Haeckelian perspective. *Prog Retin Eye Res* 1995; 15(1):139-171
- 8 Franze K, Grosche J, Skatchkov SN, et al. Müller cells are living optical fibers in the vertebrate retina. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(20):8287-8292
- 9 Willbold E, Rothermel A, Tomlinson S, et al. Müller glia cells reorganize reaggregating chicken retinal cells into correctly laminated *in vitro* retinae. *Glia* 2000;29(1):45-57
- 10 Winkler BS, Arnold MJ, Brassell MA, et al. Energy metabolism in human retinal Müller cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(10):3183-3190
- 11 Lin RY, Vera JC, Chaganti RS, et al. Human monocarboxylate transporter 2 (MCT2) is a high affinity pyruvate transporter. *J Biol Chem* 1998;273(44):28959-28965
- 12 Poitry S, Poitry-Yamate C, Ueberfeld J, et al. Mechanisms of glutamate metabolic signal in gin retinal glial(Müller) cells. *J Neurosci* 2000;20(5):1809-1821
- 13 Kofuji P, Biedermann B, Siddharthan V, et al. Kir potassium channel subunit expression in retinal glial cells; implications for spatial potassium buffering. *Glia* 2002;39(3):292-303
- 14 Kubo Y, Baldwin TJ, Jan YN, et al. Primary structure and functional expression of a mouse inward rectifier potassium channel. *Nature* 1993; 362(6416):127-133
- 15 Takumi T, Ishii T, Horio Y, et al. A novel ATP-dependent inward rectifier potassium channel expressed predominantly in glial cells. *J Biol Chem* 1995;270(27):16339-16346
- 16 Skatchkov SN, Eaton MJ, Shuba YM, et al. Tandem-pore domain potassium channels are functionally expressed in retinal (Müller) glial cells. *Glia* 2006;53(3):266-276
- 17 Reichenbach A, Henke A, Eberhardt W, et al. K⁺ ion regulation in retina. *Can J Physiol Pharmacol* 1992;70(Suppl):S239-S247
- 18 Cammer W. Immunostaining of carbamoylphosphate synthase II and fatty acid synthase in glial cells in rat, mouse, and hamster brains suggests roles for carbonic anhydrase in biosynthetic processes. *Neurosci Lett* 1991; 129(2):247-250
- 19 Bringmann A, Reichenbach A, Wiedemann P. Pathomechanisms of cystoid macular edema. *Ophthalmic Res* 2004;36(5):241-249
- 20 Nagelhus EA, Horio Y, Inanobe A, et al. Immunogold evidence suggests that coupling of K⁺ siphoning and water transport in rat retinal Müller cells is mediated by a coenrichment of Kir4.1 and AQP4 inspecific membrane domains. *Glia* 1999;26(1):47-54
- 21 Li J, Patil RV, Verkman AS. Mildly abnormal retinal function in transgenic mice without Müller cell aquaporin-4 water channels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(2):573-579
- 22 Fort PE, Sene A, Pannicke T, et al. Kir4.1 and AQP4 associate with Dp71- and utrophin-DAPs complexes in specific and defined microdomains of Müller retinal glial cell membrane. *Glia* 2008;56(6):597-610
- 23 Newman EA. Calcium increases in retinal glial cells evoked by light-induced neuronal activity. *J Neurosci* 2005;25(23):5502-5510
- 24 Poitry S, Poitry-Yamate C, Ueberfeld J. Mechanisms of glutamate metabolic signaling in retinal glial (Müller) cells. *J Neurosci* 2000;20(5):1809-1821
- 25 Newman EA. Propagation of intercellular calcium waves in retinal astrocytes and Müller cells. *J Neurosci* 2001;21(7):2215-2223
- 26 Metea MR, Newman EA. Calcium signaling in specialized glial cells. *Glia* 2006;54(7):650-655
- 27 Bringmann A, Pannicke T, Biedermann B, et al. Role of retinal glial cells in neurotransmitter uptake and metabolism. *Neurochem Int* 2009;54(3-4):143-160
- 28 Das AV, Mallya KB, Zhao X, et al. Neural stem cell properties of Müller glia in the mammalian retina: regulation by Notch and Wnt signaling. *Dev Biol* 2006;299(1):283-302
- 29 Blackshaw S, Harpavat S, Trimarchi J. Genomic analysis of mouse retinal development. *PLoS Biol* 2004;2(9):E247