

小胶质细胞在糖尿病视网膜病变中的作用

易秋雪¹, 张敬法^{1,2}, 柳林¹

引用: 易秋雪, 张敬法, 柳林. 小胶质细胞在糖尿病视网膜病变中的作用. 国际眼科杂志 2019;19(12):2048-2052

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (No.81570852); 上海申康医院发展中心临床科技创新项目 (No.SHDC12016116); 上海交通大学医学院附属仁济医院临床科研创新培育基金 (No.PYIII-17-030)

作者单位:¹(200127) 中国上海市, 上海交通大学医学院附属仁济医院眼科;²(200080) 中国上海市, 上海交通大学附属上海市第一人民医院眼科

作者简介: 易秋雪, 在读博士研究生, 研究方向: 糖尿病视网膜病变。

通讯作者: 柳林, 博士, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 白内障、眼底病. 18918358758@163.com; 张敬法, 博士, 副教授, 研究方向: 糖尿病视网膜病变. 13917311571@139.com

收稿日期: 2019-05-05 修回日期: 2019-10-31

摘要

糖尿病视网膜病变(DR)作为糖尿病最常见的并发症之一,是世界范围内工作人群主要的致盲疾病。DR曾被认为是视网膜微血管病变。随着研究的不断深入,视网膜神经病变和中低度炎症也被证实是DR的重要发病机制。小胶质细胞是视网膜内的常驻巨噬细胞,主要分布在内层视网膜,负责监控视网膜内微环境变化。在异常刺激下,小胶质细胞活化并与视网膜内不同类型的细胞发生复杂的相互作用。在DR中,小胶质细胞被激活,活化的小胶质细胞内关键因子或多条通路被激活,产生大量的炎症因子、趋化因子等。同时,活化的小胶质细胞增殖能力及迁移增强,外层视网膜内小胶质细胞数量增多。小胶质细胞的过度活化最终引起视网膜神经元凋亡、血-视网膜屏障破坏,导致视力丢失。

关键词: 糖尿病视网膜病变; 小胶质细胞; 炎症; 血-视网膜屏障

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.12.11

Function of microglia in diabetic retinopathy

Qiu-Xue Yi¹, Jing-Fa Zhang^{1,2}, Lin Liu¹

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No.81570852); Shanghai Shenkang Hospital Development Center's Clinical Science and Technology Innovation Project (No. SHDC12016116); Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Clinical Research Innovation and Cultivation Foundation (No.PYIII-17-030)

¹Department of Ophthalmology, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong

University School of Medicine, Shanghai 200127, China; ²Department of Ophthalmology, Shanghai General Hospital (Shanghai First People's Hospital), Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200080, China

Correspondence to: Lin Liu. Department of Ophthalmology, Renji Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200127, China. 18918358758@163.com; Jing-Fa Zhang. Department of Ophthalmology, Shanghai General Hospital (Shanghai First People's Hospital), Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200080, China. 13917311571@139.com

Received:2019-05-05 Accepted:2019-10-31

Abstract

• Diabetic retinopathy (DR), one of the most common complications of diabetes mellitus, is the leading cause of blindness in working-age population. DR, previously regarded as a microvascular disease, is also considered as neuronopathy and low-to-moderate inflammation in retina with research progression. Microglia, the resident macrophage in the inner retina, are responsible for surveillance of the microenvironment in retina. Under abnormal conditions, microglia are activated and interact with different types of cells in retina. In DR, microglia become activated, as evidenced by the activation of the key molecules or signal transduction pathways, such as the nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B) and extracellular signal-regulated kinase (ERK) signaling pathways, which lead to the increased production of pro-inflammatory factors, chemokines, etc. At the same time, the proliferation and migration of activated microglia are enhanced, and microglia migrate to the outer retina. The over-activation of microglia causes neuronal cell apoptosis and blood-retinal barrier breakdown, resulting in vision loss.

• KEYWORDS: diabetic retinopathy; microglia; inflammation; blood-retinal barrier

Citation: Yi QX, Zhang JF, Liu L. Function of microglia in diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019;19(12):2048-2052

0 引言

糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病最常见的并发症之一,是世界范围内工作人群主要的致盲疾病^[1]。DR被认为是视网膜微血管疾病,但随着研究的不断深入,人们发现视网膜内,除微血管病变外,其他类型的细胞也发生了相应的改变,如星形胶质细胞、小胶质细胞、Müller细胞和神经元等也参与了DR的发生发展。因此,目前认为,DR

除了微血管病变外,还包括视网膜神经元病变及中低度炎症反应。小胶质细胞作为视网膜中主要的免疫细胞,监控整个视网膜的微环境变化,在参与炎症反应时产生大量的炎症因子,并且有多种特异性受体可以和其他细胞相互反应。所以,基于已知的 DR 发病机制和小胶质细胞的功能特性,我们认为小胶质细胞在 DR 的发病过程中起到重要的作用。本文旨在综述小胶质细胞的特性,DR 发生发展过程中小胶质细胞如何被激活以及激活的小胶质细胞如何参与 DR 发生发展过程中视网膜的微血管病变和神经退行性病变。

1 小胶质细胞在视网膜中的作用及变化

小胶质细胞源自造血干细胞,是中枢神经系统中的巨噬细胞;同时,小胶质细胞还可以自我更新,寿命较长^[2]。在健康的视网膜中,分支状的小胶质细胞主要分布于内层视网膜,包括神经纤维层、神经节细胞层、内丛状层及外丛状层,负责监控整个视网膜内微环境的变化^[3]。在正常视网膜内,分支状的小胶质细胞处于静息状态,但参与了许多生理过程以维持视网膜内环境的稳态,如小胶质细胞的突触处于活动状态,不断地伸长缩短达到监控整个微环境的目的^[4]。通过细胞间的相互作用,分泌细胞因子和生长因子,小胶质细胞参与正常视网膜生长发育、神经发生、突触修剪、血管形成等过程^[5]。

作为神经胶质细胞中的一员,小胶质细胞对正常神经元的成熟起到了重要作用。在神经元发育过程中,小胶质细胞通过 CX3CR1 受体(又称 fractalkine 受体)与神经元的突触不断接触,监控突触的状态,并通过补体标记的方式对突触进行适当修剪,保证神经元的正常发育^[6]。不仅如此,小胶质细胞还参与了血管形成的过程。在氧诱导视网膜病变的大、小鼠动物模型中发现,在血管生成过程中小胶质细胞与血管发生端密切接触;利用氯膦酸盐脂质体清除小胶质细胞后,视网膜内血管密度和面积均有所减少。不仅如此,生理状态下,小胶质细胞还会分泌神经营养因子和抗炎因子,如胰岛素样生长因子(IGF-1)^[7]。表明生理状态下,小胶质细胞对于神经及血管的发育都有其重要的作用。

病理情况下,胶质细胞的激活主要由胞外环境改变引起,如组织间液的分子浓度改变、神经元损伤及细胞凋亡等。小胶质细胞有各种特异性受体,可以感知不同的病理生理变化,如糖基化终产物受体(RAGE 受体)感知糖基化终末产物(AGE),嘌呤受体 P2Y 家族感知胞外三磷酸腺苷(ATP)的浓度改变,清道夫受体结合各类可吞噬的蛋白,Toll 样受体(TLR)感知病原体成分并介导炎症反应,钾离子通道受体感知胞外钾离子浓度的变化,血管紧张素受体 1(AT1)感知肾素-血管紧张素-醛固酮系统激活引起的血管紧张素浓度的变化等^[8-12]。激活的小胶质细胞表型和功能都发生了一系列变化,根据功能的不同可分为促炎 M1 型和抗炎 M2 型^[13]。M1 型小胶质细胞多由 Th1 细胞因子如干扰素 γ 或脂多糖诱导,由小胞体、长突触、分枝状逐步转变为大胞体、短突触、阿米巴样,增殖活跃,迁移性增强,可以迅速迁移至损伤部位,促炎因子(如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 等)表达及释放增多,具有一定的细胞毒性。M2 型小胶质细胞多由 Th2 细胞因子(如 IL-4、IL-10、IL-13)诱导,细胞维持长突触形态,增殖性和迁移

性不强,主要执行吞噬功能且表达高水平 IL-10。长期炎症刺激下,M1/M2 型小胶质细胞的平衡被打破,小胶质细胞逐渐转化为 M1 型,释放大量的炎症因子,参与视网膜疾病的发生发展。

2 小胶质细胞在 DR 中的激活

近年来,小胶质细胞在 DR 中的作用研究较多。研究表明高血糖、视网膜缺血缺氧、血脂异常和内质网应激等均可激活小胶质细胞,从而参与 DR 的发病过程^[14]。在 DR 中可观察到小胶质细胞一系列的形态变化。链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病大鼠视网膜内小胶质细胞的形态由分支状转变为阿米巴样,表现为突触变短、胞体变大、数量增多,并迁移到外层视网膜^[15]。在糖尿病患者的视网膜中也观察到小胶质细胞的数量及分布发生改变,小胶质细胞不仅数量增加,而且聚集在微血管瘤和视网膜出血病灶的周围。糖尿病黄斑水肿患者的视网膜及视网膜下腔均发现了大量的小胶质细胞^[16]。除了形态上的改变,小胶质细胞 M1/M2 型在 DR 中的活化呈现出动态变化过程,随着疾病进程互相转化^[17]。db/db 糖尿病小鼠模型中,早期 DR 即发现 M2 型抗炎小胶质细胞的存在。然而,随着糖尿病的进展,M2 型小胶质细胞数量逐渐减少,而 M1 型小胶质细胞变多,且促炎因子如 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6、半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶 1(caspase-1)和 NLRP3 炎症小体的表达也增多。当 DR 进展至较晚期,M1 型小胶质细胞的数量又出现回落^[17-18]。上述证据表明小胶质细胞参与了 DR 的发生发展,此外,DR 视网膜中长期中低度炎症反应也促进了小胶质细胞的转变^[19]。

2.1 小胶质细胞在 DR 中对神经元变性的影响 在 DR 中,活化的 M1 型小胶质细胞分泌大量神经毒性因子,如半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶(caspase)、金属基质蛋白酶(MMP)、NLRP3 炎症小体和一氧化氮(NO)等^[20]。在病理情况下(如 DR),分泌神经营养因子的小胶质细胞数量逐渐减少,分泌神经毒性因子的 M1 型小胶质细胞逐渐增多,造成神经营养因子和神经毒性因子的失衡,从而导致神经元损伤。特别是细胞外谷氨酸蓄积导致离子型谷氨酸受体[主要包括 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸(AMPA)和 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体]过度活化,引起神经元细胞内钙超载和细胞死亡^[21]。体外高糖条件培养小胶质细胞和神经元,发现小胶质细胞的嘌呤能受体上调,导致钙内流促进相关炎症介质的释放,而引起神经元凋亡^[22]。另外,有研究报道,将损伤的神经元培养物与 M1 和 M2 型小胶质细胞分别进行共培养,发现相比 M1 型小胶质细胞,M2 型小胶质细胞能够吞噬更多的受损神经元^[23]。因此,在 DR 中神经元损伤和小胶质细胞活化之间的关系尚需深入研究。

2.2 小胶质细胞在 DR 中对血-视网膜屏障的影响 健康的视网膜拥有 2 套脉管系统供应,即视网膜中央动脉和脉络膜动脉。视网膜中央动脉供应内层视网膜,大血管位于内界膜下方,深层毛细血管网位于外丛状层与内核层交界。血管内皮细胞间形成紧密连接,内皮细胞被周细胞覆盖,血管外围包绕 Müller 细胞和星形胶质细胞,共同构成血-视网膜内屏障^[24]。外层视网膜本身没有血管,光感受器对营养和氧气的需求量较高,由血供丰富的脉络膜毛细血管供应。营养物质通过视网膜色素上皮(RPE)细胞以

跨膜主动转运及胞旁途径的方式从脉络膜供应外层视网膜。同时,RPE细胞间的紧密连接构成了血-视网膜外屏障。RPE细胞的紧密连接复合物和细胞膜蛋白的不均匀分布,有效地阻止水和蛋白质从脉络膜进入视网膜下腔,并促使视网膜下腔内的水沿渗透压梯度排至脉络膜。在DR中,活化的小胶质细胞对视网膜内、外屏障均有影响。

2.2.1 小胶质细胞对血-视网膜内屏障的影响 小胶质细胞参与血-视网膜内屏障的破坏,包括紧密连接蛋白的改变,细胞通透性的改变以及内皮细胞和周细胞的丢失等。DR中,小胶质细胞分泌TNF- α ,通过蛋白激酶C(PKC)激活NF- κ B通路降低紧密连接蛋白ZO-1和claudin-5的表达,并改变其在视网膜内皮细胞中的分布^[25]。同时,小胶质细胞产生的MMP(如MMP-2、MMP-9)可以降解occludin^[26]。另外,小胶质细胞在高糖环境下产生IL-6诱导occludin和ZO-1下调,同时激活STAT3通路促进血管内皮生长因子(VEGF)产生^[27]。caspase-1可以激活并调节小胶质细胞分泌IL-1 β 和VEGF^[28]。VEGF作为DR进展的重要因子,可通过增加质膜囊泡关联蛋白(PLVAP)参与的跨内皮蛋白转运诱导细胞通透性增加^[29]。VEGF的升高进一步促进了DR中视网膜新生血管的产生^[30]。DR视网膜内AGE持续升高,与小胶质细胞表面的RAGE结合,不仅激活NADPH氧化酶产生大量活性氧产物(ROS),加重了视网膜内的氧化应激,而且增加了视网膜血管的通透性,提示AGE-RAGE通路参与了DR血-视网膜屏障的破坏^[31]。活化的小胶质细胞分泌TNF- α 提高了caspase-3的活性,诱导血管内皮细胞的凋亡^[32]。小胶质细胞合成的诱导型一氧化氮合酶(iNOS)可以通过钙调蛋白依赖性蛋白激酶(CAMK II)诱导周细胞丢失或凋亡,分泌的MMP-2使细胞外基质降解^[33]。

2.2.2 小胶质细胞对血-视网膜外屏障的影响 RPE细胞功能受损导致血-视网膜外屏障的破坏在DR中已经被证实,但小胶质细胞和血-视网膜外屏障的破坏是否有明确的因果关系尚不明确。在糖尿病大鼠及小鼠模型中,RPE细胞层中发现有小胶质细胞的迁移,提示活化的小胶质细胞可能以跨色素上皮细胞的方式向视网膜外迁移^[34]。这说明小胶质细胞本身及其释放的炎症因子可能对RPE细胞的屏障功能有一定的影响。活化的小胶质细胞产生氧化应激产物,而氧化应激产物可以导致局灶或弥散性RPE屏障功能障碍^[35]。另外,小胶质细胞分泌的促炎因子也参与了血-视网膜外屏障的破坏,如TNF- α 可以通过激活p38 MAPK通路直接影响RPE细胞ZO-1的分布,IL-1 β 则直接或通过激活其他因子诱导下调occludin和上调claudin-1表达,MMP特别是活化的MMP-9被氧化应激产物激活后导致occludin的水解^[34,36-37]。DR中小胶质细胞分泌的炎症因子可以破坏RPE细胞的屏障功能,但小胶质细胞是否能够通过细胞间的相互作用改变RPE细胞的功能还需要深入研究。

3 DR治疗对小胶质细胞的作用

3.1 抗VEGF药物 大量证据表明,阻断VEGF通路对新生血管的形成有强烈的抑制作用。但是,阻断小胶质细胞的VEGF通路对其功能的影响尚不清楚。最近的一项研究表明,阻断血管内皮细胞生长因子受体VEGFR1和VEGFR2可以减少激光诱导的脉络膜新生血管(CNV)中

小胶质细胞的浸润^[38]。该研究发现VEGFR1在CNV早期表达,而VEGFR2在晚期表达。阻断VEGFR1在早期和晚期都抑制了小胶质细胞的浸润,而阻断VEGFR2仅在晚期抑制了小胶质细胞的浸润。此外,使用抗VEGF药物后,视网膜内的多种细胞因子和趋化因子表达均有所下降^[39]。这些证据表明小胶质细胞可能是抗VEGF药物治疗DR的一个靶细胞。然而,最近的一项实验表明,对大鼠进行单次玻璃体腔注射贝伐单抗或者等量的药物溶剂,视网膜小胶质细胞密度显著增加,多次玻璃体腔注射后小胶质细胞的密度继续增加^[40]。提示我们小胶质细胞的激活可能不是因为特定的药物种类,而是对玻璃体腔注射眼损伤的反应。既往也有研究发现,玻璃体腔注射贝伐单抗引起小胶质细胞的激活,比其他抗VEGF抗体的免疫应答更强^[41]。在DR中抗VEGF药物对小胶质细胞功能的影响尚无定论。

3.2 糖皮质激素 糖皮质激素具有强效抗炎的作用。眼内常用的糖皮质激素包括曲安奈德(TA)、缓释型地塞米松眼内植入物(Ozurdex)和缓释型氟轻松眼内植入物(Retisert)。糖皮质激素治疗DR的详细机制还未完全阐明,但已发现其通过多种机制发挥作用,包括下调RPE细胞VEGF的表达和其他炎症因子的表达^[42]。在DR中糖皮质激素如何影响小胶质细胞尚不清楚,但在其他模型中糖皮质激素对小胶质细胞的作用已有大量报道。在NMDA诱导的青光眼模型中,注射TA减少了活化小胶质细胞的数量^[43]。而在部分敲除Müller细胞的视网膜变性模型中,注射TA可减少光感受器的变性和小胶质细胞的活化。此外,TA抑制了TNF- α 的表达和p38/应激活化蛋白激酶(p38/SAPK)通路的激活^[44]。然而这些证据尚不能确定是否能够通过TA单独抑制小胶质细胞引起的改变。体外实验发现小胶质细胞有特定的糖皮质激素受体(GR),与糖皮质激素结合后能抑制细胞增殖^[45]。视网膜脱离模型中,玻璃体腔注射地塞米松显著减少了小胶质细胞的数量,同时光感受器细胞凋亡减少^[46]。急性脑组织损伤诱导的小胶质细胞激活能被地塞米松有效抑制,主要体现在小胶质细胞增殖减少、迁移变慢以及炎症因子表达下调^[47]。在帕金森病模型中,小胶质细胞的GR表达降低,研究人员将小胶质细胞GR基因敲除后,发现小胶质细胞通过持续激活NF- κ B通路上调铯样受体9(TLR9)和TNF- α 的表达^[48-49]。说明GR受体可以减少小胶质细胞的反应性,GR受体的失调可能导致持续炎症介导神经元损伤。另外,在S334ter-4大鼠视网膜变性模型中,玻璃体腔注射氟轻松后活化的小胶质细胞数量减少了4倍,iNOS、COX-2和TNF- α 的含量也有所下降^[50]。因此,糖皮质激素作为抗炎药物,抑制了小胶质细胞的活化,减弱促炎介质的表达,对视网膜整体都具有保护作用。

4 结论和展望

目前,许多研究已证实小胶质细胞在DR中发挥重要作用。在DR中,小胶质细胞被激活,形态由分支状转为阿米巴样,增殖和迁移能力增强,分泌大量促炎因子并与其他细胞发生相互作用,进而参与视网膜神经元病变、血-视网膜屏障破坏和中低度炎症反应。小胶质细胞参与的慢性炎症可导致神经毒性因子的持续释放和神经营养因子的表达下降,诱导了早期DR神经元的凋亡,凋亡

的神经元进一步激活小胶质细胞并被其吞噬。小胶质细胞还通过下调多种紧密连接蛋白、诱导内皮细胞和周细胞的凋亡,引起血-视网膜屏障功能的破坏。在小胶质细胞分泌的众多炎症因子中,每种因子的作用机制都不相同,其发挥的具体作用仍需更多的实验来证实。

既往关于小胶质细胞与 RPE 细胞相互作用的研究较少,最新的一些研究成果显示,小胶质细胞在 DR 中可以迁移至 RPE 细胞层,导致炎症因子的表达上调。但研究小胶质细胞与 RPE 细胞相互作用的难点在于对 RPE 细胞层进行免疫荧光染色时,难以区别脉络膜来源的巨噬细胞和视网膜来源的小胶质细胞。巨噬细胞和小胶质细胞的表面抗原相似,流式细胞术通过多抗原的标记才可进行区分。近来有许多研究团队在探索如何特异性地标记小胶质细胞,但目前还没有很好的手段可以做到这一点。

此外,小胶质细胞对 DR 治疗的反应尚未得到充分研究。抗 VEGF 药物虽然可以通过受体抑制小胶质细胞的浸润和迁移,但玻璃体腔注射也会引起小胶质细胞的反应,多次注射引起的反应性更高,这种反应是否造成不良后果尚无相关报道。糖皮质激素作为抗炎药物对视网膜整体包括小胶质细胞都有保护作用,不同类型的糖皮质激素的作用不尽相同,但值得注意的是小胶质细胞的 GR 在其他疾病模型中起着十分重要的作用,尤其是一些神经变性的疾病模型。这意味着糖皮质激素的应用除了有抗炎、减轻视网膜水肿的作用外,可能还具有减缓 DR 中神经变性的潜能。这些假设都需要在细胞实验和动物实验中证实。考虑到小胶质细胞与其他细胞相互作用,通过影响接触细胞的功能和结构从而发挥作用,所以抑制小胶质细胞的活化可以减轻对多种细胞或微环境的继发损害从而改善 DR。未来,探索涉及到 DR 多个发病机制的治疗手段应当是 DR 治疗研究的重点。

参考文献

- Bourne RR, Stevens GA, White RA, et al. Causes of vision loss worldwide, 1990–2010; A systematic analysis. *Lancet Glob Health* 2013; 1(6): e339–e349
- Colonna M, Butovsky O. Microglia Function in the Central Nervous System During Health and Neurodegeneration. *Annu Rev Immunol* 2017; 35: 441–468
- McMenamin PG, Saban DR, Dando SJ. Immune cells in the retina and choroid: Two different tissue environments that require different defenses and surveillance. *Prog Retin Eye Res* 2019; 70: 85–98
- Kierdorf K, Prinz M. Microglia in steady state. *J Clin Invest* 2017; 127(9): 3201–3209
- Huang T, Cui J, Li L, et al. The role of microglia in the neurogenesis of zebrafish retina. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 421(2): 214–220
- Wang X, Zhao L, Zhang J, et al. Requirement for microglia for the maintenance of synaptic function and integrity in the mature retina. *J Neurosci* 2016; 36(9): 2827–2842
- Arroba AI, Alvarez-Lindo N, van Rooijen N, et al. Microglia-mediated IGF-1 neuroprotection in the rd10 mouse model of retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(12): 9124–9130
- Nguyen HM, Grössinger EM, Horiuchi M, et al. Differential Kv1.3, KCa3.1, and Kir2.1 expression in “classically” and “alternatively” activated microglia. *Glia* 2017; 65(1): 106–121
- Yu LE, Lai CL, Lee CT, et al. Highly electronegative low-density lipoprotein L5 evokes microglial activation and creates a

- neuroinflammatory stress via Toll-like receptor 4 signaling. *J Neurochem* 2017; 142(2): 231–245
- Lui H, Zhang J, Makinson SR, et al. Progranulin Deficiency Promotes Circuit-Specific Synaptic Pruning by Microglia via Complement Activation. *Cell* 2016; 165(4): 921–935
- Phipps JA, Vessey KA, Brandli A, et al. The Role of Angiotensin II/AT1 Receptor Signaling in Regulating Retinal Microglial Activation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59(1): 487–498
- Gaikwad S, Patel D, Agrawal-Rajput R. CD40 Negatively Regulates ATP-TLR4-Activated Inflammasome in Microglia. *Cell Mol Neurobiol* 2017; 37(2): 351–359
- Tang Y, Le W. Differential Roles of M1 and M2 Microglia in Neurodegenerative Diseases. *Mol Neurobiol* 2016; 53(2): 1181–1194
- Fumagalli S, Perego C, Pischiutta F, et al. The ischemic environment drives microglia and macrophage function. *Front Neurol* 2015; 6: 81
- Cardona SM, Mendiola AS, Yang YC, et al. Disruption of Fractalkline Signaling Leads to Microglial Activation and Neuronal Damage in the Diabetic Retina. *ASN Neuro* 2015; 7(5): 17590914
- Fehér J, Taurone S, Spoletini M, et al. Ultrastructure of neurovascular changes in human diabetic retinopathy. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2018; 31: 394632017748841
- Arroba AI, Alcalde-Estevéz E, García-Ramírez M, et al. Modulation of microglia polarization dynamics during diabetic retinopathy in db/db mice. *Biochim Biophys Acta* 2016; 1862(9): 1663–1674
- Cai Y, Kong H, Pan YB, et al. Procyanidins alleviates morphine tolerance by inhibiting activation of NLRP3 inflammasome in microglia. *J Neuroinflammation* 2016; 13(1): 53
- Bogdanov P, Corraliza L, Villena JA, et al. The db/db mouse: a useful model for the study of diabetic retinal neurodegeneration. *PLoS One* 2014; 9(5): e97302
- 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
- Gu L, Xu H, Wang F, et al. Erythropoietin exerts a neuroprotective function against glutamate neurotoxicity in experimental diabetic retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55(12): 8208–8222
- Pereira Tde O, da Costa GN, Santiago AR, et al. High glucose enhances intracellular Ca²⁺ responses triggered by purinergic stimulation in retinal neurons and microglia. *Brain Res* 2010; 1316: 129–138
- Haga A, Takahashi E, Inomata Y, et al. Differentiated Expression Patterns and Phagocytic Activities of Type 1 and 2 Microglia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57(6): 2814–2823
- Hwang TS, Miao Z, Bhavsar K, et al. Visualization of 3 distinct retinal plexuses by projection-resolved optical coherence tomography angiography in diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol* 2016; 134(12): 1411–1419
- Aveleira CA, Lin CM, Abcouwer SF, et al. TNF- α signals through PKC ζ /NF- κ B to alter the tight junction complex and increase retinal endothelial cell permeability. *Diabetes* 2010; 59(11): 2872–2882
- Kowluru RA, Mishra M. Regulation of Matrix Metalloproteinase in the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy. *Progress Mol Biol Transl Sci* 2017; 148: 67–85
- Yun JH, Park SW, Kim KJ, et al. Endothelial STAT3 Activation Increases Vascular Leakage Through Downregulating Tight Junction Proteins: Implications for Diabetic Retinopathy. *J Cell Physiol* 2017; 232(5): 1123–1134
- 胡至察, 王雨生, 徐文芹, 等. Caspase-1 对氧诱导视网膜病变中小胶质细胞参与视网膜新生血管生成的促进作用及其机制. *国际眼科杂志* 2018; 18(4): 615–620

- 29 Wisniewska – Kruk J, van der Wijk AE, van Veen HA, *et al.* Plasmalemma vesicle-associated protein has a key role in blood-retinal barrier loss. *Am J Pathol* 2016; 186(4): 1044-1054
- 30 宋丽君, 王艺, 陈迪, 等. 糖尿病大鼠早期视网膜形态观察和 Bcl-2、Bax 及 VEGF 表达的意义. *国际眼科杂志* 2018; 18(11): 19-25
- 31 Kay AM, Simpson CL, Stewart JA Jr. The Role of AGE/RAGE Signaling in Diabetes – Mediated Vascular Calcification. *J Diabetes Res* 2016; 2016: 6809703
- 32 Zhang W, Liu H, Al-Shabrawey M, *et al.* Inflammation and diabetic retinal microvascular complications. *J Cardiovasc Dis Res* 2011; 2(2): 96-103
- 33 Kim YH, Kim YS, Park SY, *et al.* CaMK II regulates pericyte loss in the retina of early diabetic mouse. *Mol Cells* 2011; 31(3): 289-293
- 34 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
- 35 Omri S, Behar – Cohen F, Rothschild PR, *et al.* PKC ζ mediates breakdown of outer blood-retinal barriers in diabetic retinopathy. *PLoS One* 2013; 8(11): e81600
- 36 Shirasawa M, Sonoda S, Terasaki H, *et al.* TNF – α disrupts morphologic and functional barrier properties of polarized retinal pigment epithelium. *Exp Eye Res* 2013; 110: 59-69
- 37 Kowluru RA, Zhong Q, Santos JM. Matrix metalloproteinases in diabetic retinopathy: potential role of MMP-9. *Expert Opin Investig Drugs* 2012; 21(6): 797-805
- 38 Huang H, Parlier R, Shen JK, *et al.* VEGF receptor blockade markedly reduces retinal microglia/macrophage infiltration into laser-induced CNV. *PLoS One* 2013; 8(8): e71808
- 39 He J, Wang H, Liu Y, *et al.* Blockade of vascular endothelial growth factor receptor 1 prevents inflammation and vascular leakage in diabetic retinopathy. *J Ophthalmol* 2015; 2015: 605946
- 40 Di Pierdomenico J, Garcia – Ayuso D, Jiménez – López M, *et al.* Different Ipsi – and Contralateral Glial Responses to Anti – VEGF and Triamcinolone Intravitreal Injections in Rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57(8): 3533-3544
- 41 Meyer JH, Cunea A, Licha K, *et al.* *In Vivo* Imaging of Fluorescent Probes Linked to Antibodies Against Human and Rat Vascular Endothelial Growth Factor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57(2): 759-770
- 42 Zhou H, Yang L, Li H, *et al.* Downregulation of VEGF mRNA expression by triamcinolone acetonide acetate-loaded chitosan derivative nanoparticles in human retinal pigment epithelial cells. *Int J Nanomedicine* 2012; 7: 4649-4660
- 43 Singhal S, Lawrence JM, Salt TE, *et al.* Triamcinolone attenuates macrophage/microglia accumulation associated with NMDA – induced RGC death and facilitates survival of Müller stem cell grafts. *Exp Eye Res* 2010; 90(2): 308-315
- 44 Shen W, Lee SR, Araujo J, *et al.* Effect of glucocorticoids on neuronal and vascular pathology in a transgenic model of selective Müller cell ablation. *Glia* 2014; 62(7): 1110-1124
- 45 Nakatani Y, Amano T, Tsuji M, *et al.* Corticosterone suppresses the proliferation of BV2 microglia cells via glucocorticoid, but not mineralocorticoid receptor. *Life Sci* 2012; 91(15-16): 761-770
- 46 Gallina D, Zelinka CP, Cebulla CM, *et al.* Activation of glucocorticoid receptors in Müller glia is protective to retinal neurons and suppresses microglial reactivity. *Exp Neurol* 2015; 273: 114-125
- 47 Kozai TDY, Jaquins – Gerstl AS, Vazquez AL, *et al.* Dexamethasone retrodialysis attenuates microglial response to implanted probes *in vivo*. *Biomaterials* 2016; 87: 157-169
- 48 Ros – Bernal F, Hunot S, Herrero MT, *et al.* Microglial glucocorticoid receptors play a pivotal role in regulating dopaminergic neurodegeneration in parkinsonism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108(16): 6632-6637
- 49 Maatouk L, Compagnion AC, Sauvage MC, *et al.* TLR9 activation via microglial glucocorticoid receptors contributes to degeneration of midbrain dopamine neurons. *Nat Commun* 2018; 9(1): 2450
- 50 Glybina IV, Kennedy A, Ashton P, *et al.* Intravitreal delivery of the corticosteroid fluocinolone acetonide attenuates retinal degeneration in S334ter-4 Rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(8): 4243-4252