

· 专家述评 ·

## 重视不同糖尿病视网膜病变动物实验模型的差异及应用

陈大年 王钰娇

610041 成都, 四川大学华西医院眼科学研究室(陈大年、王钰娇); M5G1X5 加拿大多伦多, 多伦多大学眼科及西奈山医院研究所(陈大年)

通信作者: 陈大年, Email: danianchen2006@qq.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.06.002

**【摘要】** 糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病常见的眼部并发症,严重损害患者视力。由于DR发病机制仍未完全阐明,使得其防治仍然任重道远。实验动物模型在DR的发病机制和防治研究中必不可少。目前这些动物模型涉及了哺乳类和非哺乳类等多个物种,造模方法也包含了化学药物注射、高糖饮食喂养、基因编辑技术、体外全视网膜培养等。目前糖尿病鼠类模型应用最为广泛,但它仅适用于DR早期的病变研究,仍缺少可以完美模拟增生性DR(PDR)的动物模型。未来研究的重点应该是阐明早期DR的发病机制,进而找到如何防止早期非增生性DR(NPDR)过渡到PDR的策略。在选取DR动物模型时,应当考虑各自的特点,并结合自己的实验设计和目的选取合适的动物模型。

**【关键词】** 糖尿病; 糖尿病视网膜病变; 动物模型

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(81371022、81570860)

**Paying attention to the differences and applications of animal models of diabetic retinopathy** Chen Danian, Wang Yujiao

Research Laboratory of Ophthalmology and Vision Sciences, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China (Chen DN, Wang YJ); Lunenfeld-Ta Nenbaum Research Institute, Sinai Health System, Department of Ophthalmology and Visual Science, and Laboratory Medicine and Pathobiology, University of Toronto, Toronto M5G1X5 Ontario, Canada (Chen DN)  
Corresponding author: Chen Danian, Email: danianchen2006@qq.com

**【Abstract】** Diabetic retinopathy (DR) is a common complication of diabetes, and remains the leading cause of blindness among working-age individuals all over the world. Current treatments for DR mainly focus on the advanced stages of the disease and are associated with significant adverse effects. As the pathogenesis of DR is not thoroughly revealed, the development of more effective therapy of DR is challenging, in which a good DR animal model is essential. At present, these animal models involve mammals, non-mammals and other species. The modeling methods also include chemical injection, high glucose diet, genetic engineering and *ex vivo* retinal explant cultures. Although most of the models discussed, especially the rodent models, have demonstrated the basic features of NPDR, the key feature of human PDR (pre-retinal neovascularization secondary to diabetes per se) is not recapitulated in any diabetic animal models. Therefore, choosing the appropriate DR animal model according to the purpose of research will be very important in understanding development of the disease and new approaches that prevent or delay the onset of DR.

**【Key words】** Diabetes; Diabetic retinopathy; Animal model

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81371022, 81570860)

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病的主要并发症,也是全球工作年龄段人群致盲的首要原因。2015年,全球有近4.2亿糖尿病患者;至2040年,预计糖尿病患者人数将达6.4亿<sup>[1]</sup>。其中大约1/3患者有视网膜病变的体征,1/10患者有糖尿病性黄斑水肿及增生性DR(proliferative DR, PDR)。DR不仅威胁人类视力,更是糖尿病全身性血管并发症的一个重要危险因素。虽然目前DR相关研究很多,但

其发病机制还未完全明确,因而对该病变发展的控制和有效的治疗仍面临困难<sup>[2-4]</sup>。早期对糖尿病患者进行DR的筛查和防治对阻止视力丧失至关重要。然而长期的高血糖亦可引起视网膜不可逆的病理改变,进而导致伴有视网膜新生血管以及黄斑水肿的PDR。随着对病因和发病机制研究的深入,DR的治疗效果也在逐步提高;由于医学伦理的限制,多数对DR在视网膜结构、功能及生化方面的研究不能直接以人作为

研究对象。因此动物模型在 DR 的发病机制研究中显得尤为必要,可为 DR 治疗方案的选择提供参考。

## 1 DR 临床特点

虽然 DR 可以影响视网膜上的所有细胞类型,但是其微血管病变仍然是临床上关注的重点。ETDRS 根据视网膜微血管病变程度和相关缺血损害将 DR 分为非增生性 DR (non-proliferative DR, NPDR) 和 PDR 2 个阶段。NPDR 的典型体征包括微血管瘤、硬性渗出、棉绒斑、静脉扩张出血和视网膜内微血管异常。视网膜的新生血管化是 PDR 标志性特点,随着病变进展,纤维血管增生会引起玻璃体出血及牵拉性视网膜脱离,进而导致视力受损<sup>[5]</sup>。有研究显示,25% 的 1 型糖尿病患者以及 15% 的病程大于 25 年以上的 2 型糖尿病患者可出现 PDR。糖尿病性黄斑水肿也是 DR 的重要体征,但常被单独评估,因为其在 DR 的任何阶段都可出现并且严重威胁视力<sup>[6]</sup>。虽然视网膜血管无灌注是 DR 的重要体征,但早期视网膜神经功能受损早于血管病变出现。视觉电生理研究表明,糖尿病患者首先出现色觉、对比敏感度降低以及视网膜电图异常<sup>[7-9]</sup>。因此,DR 应该被视为一种神经血管性疾病,是视网膜血管细胞、神经元及胶质细胞功能紊乱的结果<sup>[10-12]</sup>。

目前的治疗方式还不能完全消除 DR 致盲的风险,也不能从根本上解决视网膜缺血及炎症的原因<sup>[13-16]</sup>。目前高血糖对视网膜的影响和调控机制仍未能完全明了,很多关键问题,如 DR 早期的视网膜神经损伤和血管异常的关联机制、炎症对 DR 神经变性的影响、DR 的代谢不平衡是否特异性地损伤视网膜的某些层次或细胞及 DR 的遗传学理论依据等也还无法解答<sup>[17]</sup>。基于这些难题,需要选择合适的动物疾病模型来指导今后的研究,通过模拟人 DR 的结构、功能及代谢特征来探索其发病机制和开发新型治疗以期阻止或者延缓 DR 进程。

## 2 DR 的动物模型

近二十年来,动物模型已在糖尿病研究中广泛运用。迄今为止,很多物种,如小鼠、大鼠、犬、猪和非人灵长类已作为实验模型为 DR 的细胞和分子机制研究提供了很多有价值的信息。通常使用腹腔内注射化学药物、手术切除胰腺、选择性饮食喂养以及基因工程技术来诱导动物性糖尿病模型<sup>[18-20]</sup>。然而糖尿病所引起的全身和视网膜局部异常涉及多条分子通路,使 DR 的机制更加复杂与多元化,加上 DR 的病程长及临

床表现的复杂性,单一的动物模型仍不能重现人类 DR 的所有表现,给动物模型的建立带来了重大挑战。因此应当仔细评估并恰当应用各种糖尿病动物模型。

### 2.1 啮齿动物的 DR 模型

**2.1.1 化学方法诱导啮齿动物的 DR 模型** 啮齿类具有体积小、繁殖能力强、成本低的优点。鼠类在视网膜结构上是以视杆细胞为主,无黄斑结构,视锥细胞较少,但其视网膜血管系统及神经胶质结构与人类相似,是常用的 DR 动物模型。链脲霉素 (streptozocin, STZ) 和四氧嘧啶常用于破坏胰腺  $\beta$  细胞,从而诱发动物的 1 型糖尿病。有研究表明,追踪 STZ 诱导啮齿动物形成糖尿病 24 个月期间可出现 DR 的早期病变,包括血管病变(基底膜增厚、血管渗漏加剧、视网膜周细胞减少及毛细血管闭塞)及非血管改变(神经及胶质细胞受影响)<sup>[21-23]</sup>。在 STZ 诱导的糖尿病大鼠持续高血糖 1~2 个月也可能出现这些视网膜生理及生化的改变<sup>[24-26]</sup>。但是目前所报道糖尿病对视网膜的影响在不同品种,甚至相同品系之间都有很大差异<sup>[27]</sup>。有研究比较了 Sprague Dawley、Lewis 和 Wistar STZ 诱导型糖尿病大鼠在 DR 早期病变的差异,结果显示在糖尿病 8 个月时,Lewis 大鼠丧失了较多的视网膜毛细血管和神经节细胞,Wistar 大鼠出现视网膜毛细血管的变性,但未见明显的神经细胞受损,而 SD 大鼠视网膜却未显示任何病变<sup>[28]</sup>。

以往经验认为小鼠诱导形成糖尿病比大鼠困难,因为小鼠较易对 STZ 诱导的糖尿病产生耐受,因而需要更大剂量 STZ。有研究显示,单次大剂量 STZ 小鼠腹腔注射并没有产生预期的糖尿病<sup>[29]</sup>,再加上糖尿病模型小型动物存活时间较短,因此 STZ 诱导型糖尿病小鼠模型很少用于 DR 研究。但目前公认的标准方案,即连续 5 d 低剂量注射 STZ 可以成功建立小鼠糖尿病模型<sup>[30]</sup>。STZ 诱导的糖尿病 B6 小鼠在高血糖 6 个月后可出现典型的 DR 早期血管病变,即视网膜出现无细胞毛细血管、血管周细胞消退<sup>[31]</sup>,但是在神经节细胞凋亡方面存在争议。有研究发现在 STZ 诱导小鼠糖尿病模型 10~14 周后可出现视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cell, RGC) 减少,视网膜内外核层显著变薄<sup>[32-33]</sup>;但有研究并未发现糖尿病小鼠的 RGC 受到影响<sup>[31,34-35]</sup>。总之,由于啮齿动物寿命短,在能检测到 PDR 病变之前,这些糖尿病模型动物已经死亡,所以这类模型大多用于阐明 DR 早期病变,而无法用于研究 PDR。

另外,由于小鼠模型成本较低进而拓宽了分子及转基因技术的使用范围,在剖析 DR 分子机制上有着

显著价值,如通过 STZ 诱导转基因或基因敲除小鼠形成糖尿病来评估单基因在 DR 发病机制中的作用。Li 等<sup>[36]</sup>采用 STZ 诱导 *eNOS*<sup>-/-</sup> 小鼠形成糖尿病进而研究内皮型一氧化氮合酶在 DR 病因中的作用,结果表明 STZ 诱导的这类小鼠糖尿病比野生型 B6 小鼠更快出现 DR,包括视网膜渗漏、神经胶质和无细胞毛细血管增多以及视网膜毛细血管基膜增厚。今后的研究也希望通过这类模型深入研究 DR 在细胞和分子方面的作用机制。

### 2.1.2 自发性啮齿动物 DR 模型 (1) NPDR 模型

自发性糖尿病是基于鼠的胰岛素相关基因突变或者是对肥胖和胰岛素抵抗的遗传易感性而形成。这类疾病动物模型的优点是能够自发形成 1 型或 2 型糖尿病,避免了化学方法诱导可能会带来器官的非糖尿病效应。而该类模型造模成本高、繁殖力低,尤其在某些模型中,只有纯合子或者单一性别的鼠才能自发形成糖尿病,进而增加了动物的饲养数量。目前已有的自发性 2 型糖尿病大鼠品系包括 Zucker 糖尿病大鼠(肥胖型)、WBN/Kob 大鼠、Otsula LongEvans Tokushima 大鼠(肥胖型)、Goto-Kakizaki (GK) 大鼠(非肥胖型)和 Torii 大鼠(非肥胖型),以及自发性 1 型糖尿病大鼠,如 biobreeding (BB) 大鼠。另外自发性 1 型糖尿病小鼠品系,包括非肥胖型糖尿病小鼠(NOD)、OB/OB 小鼠和 Ins2Akita (Akita) 小鼠,以及自发性 2 型糖尿病小鼠,如 db/db 小鼠。已经有研究报道在这些糖尿病模型中视网膜的生物化学及组织病理学改变,如血管病变及视网膜神经病变<sup>[37-38]</sup>,其中 Ins2Akita 小鼠已被广泛用于 DR 的实验研究。(2) PDR 模型 虽然很多研究尝试建立 DR 的晚期病变模型,但是仍无法复制出视网膜无灌注和新生血管等严重的 DR 病变。因此,一些非糖尿病动物模型常用来研究 PDR。目前广泛用于研究视网膜新生血管化的 PDR 鼠类模型有以下几种:Kimba 小鼠[基于光感受器细胞过表达血管内皮生长因子 165 (vascular endothelial growth factor 165, VEGF165) 蛋白使视网膜出现新生血管化、血管渗漏增加、周细胞和内皮细胞损失、血管迂曲、白细胞淤滞等]<sup>[39-40]</sup>、视网膜过表达 IGF1 的转基因小鼠[视网膜出现周细胞损失、毛细血管基膜增厚、视网膜内微血管异常 (intra-retinal microvascular abnormality, IRMA) 改变及新生血管形成等类似 DR 病变的症状]、氧诱导的 DR 和视网膜分支静脉阻塞模型<sup>[41-43]</sup>。

2.1.3 饮食诱导的啮齿类 DR 模型 根据饮食营养超标可导致糖尿病的原理,给予鼠类高脂饮食喂养使其能够出现糖耐量异常及胰岛素抵抗,并发展为 2 型

糖尿病<sup>[44]</sup>。有研究根据沙鼠视网膜富含视锥细胞的特点,利用选择性饮食诱导其形成 2 型糖尿病。该研究显示给予沙鼠喂养高脂饮食 4~7 个月,60% 以上沙鼠可出现 2 型糖尿病的症状,包括 DR 表型,如血-视网膜屏障 (blood-retina barrier, BRB) 功能障碍、视网膜神经细胞减少及毛细血管消退,也会出现一定程度的视网膜前新生血管<sup>[45]</sup>。另外,长时间喂养鼠类含 30%~50% 高半乳糖饮食可形成高半乳糖血症模型,这种模型虽然缺乏很多糖尿病代谢异常的特征,但伴有类似早期 DR 症状,包括毛细血管及周细胞损失、IRMA 等<sup>[46-47]</sup>。高半乳糖血症小鼠在 8 个月时视网膜出现微动脉瘤,随着病程延长,DR 病变也越明显。这种模型虽然缺乏很多糖尿病代谢异常的特征,但是它可以发展出很多视网膜的并发症,因此高半乳糖血症模型对于研究 DR 病因是有价值的。

### 2.2 大型哺乳动物的 DR 模型

2.2.1 犬 DR 模型 除了啮齿动物,自发性或者实验性的糖尿病犬也可以发展形成类似人 DR 的症状<sup>[22]</sup>。与鼠类相比,犬的主要优势在于寿命长而易于持续保持糖尿病,并且研究发现 5 年病程的高血糖或半乳糖血症犬比鼠更易产生类似临床的 NPDR 病变<sup>[48]</sup>。虽然有动物伦理学的限制及犬成本高的缺点,但犬是 DR 早期临床疾病研究很好的模型。多数研究仍采用化学药物或半乳糖喂养法构建犬糖尿病模型<sup>[49]</sup>。已报道糖尿病犬模型可出现视网膜病变,包括微血管瘤、毛细血管退化及基膜增厚、IRMA 和视网膜点状出血等。此外,糖尿病犬模型也能够模拟人类糖尿病的血糖记忆现象<sup>[50]</sup>。高半乳糖血症犬的 DR 症状也与人相似,且较糖尿病犬模型应用更加广泛<sup>[49-50]</sup>。有研究表明犬在持续高半乳糖血症 3 年后可出现视网膜点状出血,血管周细胞死亡,毛细血管消失及微动脉瘤;6 年后病变更广泛融合,约 7 年可出现视网膜新生血管<sup>[50]</sup>,该模型也常用于评估实验药物的疗效<sup>[48]</sup>。

2.2.2 猪 DR 模型 由于猪视网膜中央区富含视锥细胞,并且猪眼较大,可供成像及手术,也为 DR 建模带来优势。目前常通过化学性药物与高脂饮食喂养相结合来诱导猪形成糖尿病<sup>[51]</sup>。在追踪了其高血糖 4 个月后,猪视网膜可出现血管周细胞退化、毛细血管基膜增厚等 DR 症状<sup>[52]</sup>。然而由于猪糖尿病模型存在造模成本高、缺乏针对猪的特异性分子抗体、以及基因编辑技术在大动物的精准性不如小动物等缺点,使这类动物模型并未被广泛使用。

### 2.3 非人灵长类动物 DR 模型

非人灵长类动物作为糖尿病模型最大的优势在于

其视网膜结构与人类很相似,具有黄斑区。目前用于 DR 研究的常见模型是化学诱导或者胰腺切除诱导的恒河猴 1 型糖尿病模型;另外,也有恒河猴和食蟹猴自发性糖尿病模型。但与人类一样,灵长类动物的 DR 发展非常缓慢。有研究表明,在化学诱导猴 1 型糖尿病形成 15 年后,仅出现视网膜及黄斑区缺血,少有其他血管病变<sup>[53]</sup>。对老龄猴的自发性糖尿病研究显示视网膜可出现 IRMA、黄斑水肿及无灌注区的微血管瘤<sup>[54]</sup>。灵长类 2 型糖尿病模型可出现视网膜出血、大面积视网膜无灌注区形成、视网膜微血管瘤、棉绒斑、黄斑硬性渗出和视网膜内出血等<sup>[55]</sup>。然而至今,灵长类 DR 模型的 PDR 病变还未见报道。虽然非人灵长类动物与人的视网膜结构和功能非常类似,但是相比较其他动物模型,也面临很多不足:首先,灵长类同样存在大动物基因编辑操作上的困难以及可用的特异性分子抗体稀少;其次,灵长类动物妊娠期较长,出生率低;再者,灵长类 DR 进展缓慢,耗时长,造模成本高以及动物伦理学的问题也使该 DR 模型的深入研究受到一定程度的限制<sup>[56]</sup>。因此应该综合各种哺乳动物模型的特点,制作适合用于 DR 研究的模型。

#### 2.4 非哺乳动物 DR 模型

由于哺乳动物模型的高成本及动物伦理上的限制,非哺乳类,尤其是斑马鱼(*Danio rerio*)被引入到 DR 建模中。基于目前成像技术的提高,并结合斑马鱼繁殖周期短及其胚胎、解剖和遗传方面的特点,该模型活体建模的成功率高。现已成功使用 STZ 注射斑马鱼诱导糖尿病模型,其同样具有血糖记忆现象<sup>[57-58]</sup>。将斑马鱼放入高糖的水中可诱导其高血糖症形成,当斑马鱼暴露于高糖水中 28 d 后出现了视网膜神经变性,而且当斑马鱼持续 30 d 处于浓度不稳定的高糖水中,也可诱发视锥细胞变性、视网膜毛细血管基膜增厚及 BRB 受损等<sup>[59]</sup>。

#### 2.5 体外全视网膜培养 DR 模型

上述各种糖尿病动物模型虽然可以在一定程度上模拟人 DR 表型,但是实验耗时较长,加重了动物的痛苦,个体差异也比较明显,且随着动物老龄化,视网膜进行性变薄也影响实验观察。因此人们也一直在寻找合适的体外 DR 研究体系。虽然高糖条件下的视网膜细胞培养能为糖尿病对细胞的作用机制研究提供帮助,但是其不能体现视网膜不同类型神经元、胶质细胞、血管细胞之间复杂的相互联系<sup>[60]</sup>。因此有研究引入了视网膜体外培养模型,全视网膜可以在体外特定的无血清培养基中存活至少 2 周,小鼠胚胎期神经视网膜于体外培养后,视网膜前体细胞可分化为各种神

经元及胶质细胞,并最后形成接近体内的三层视网膜结构,能够很好地模拟体内视网膜的发育过程<sup>[61]</sup>。该视网膜体外培养体系也适用于基因编辑技术,例如通过逆转录病毒载体能将目标基因有效地转移到视网膜细胞内<sup>[62]</sup>。通过将视网膜在体外高糖环境中培养来模拟体内 DR 病变,同时结合转基因技术可进一步研究与 DR 相关的目标基因功能及其分子机制。

该模型最主要的优点在于能够直观体现糖尿病的高血糖环境对视网膜神经元的直接作用,从而排除了经由视网膜血管及免疫系统介导的糖尿病全身系统对视网膜的间接影响。早期的研究是将成年 SD 大鼠视网膜剪碎成 0.4 mm×0.4 mm 的小块,并置于含有高糖的胶原凝胶培养基中培养 7 d 可出现视网膜神经细胞凋亡<sup>[63-64]</sup>,但这种培养方法破坏了视网膜原有的完整形态。也有研究将完整视网膜置于富含糖基化终末产物的培养基中孵育 4 d 后也可出现神经视网膜的退化及胶质活化<sup>[65]</sup>。本课题组在前人研究经验的基础上,使用出生后 8 d 的 C57B6 和 *E2f1*<sup>-/-</sup> 小鼠完整视网膜,于体外改良后的含高糖无血清培养基中培养 7 d,发现高糖环境下野生型视网膜神经节细胞层和内核层凋亡增多,其中双极细胞显著凋亡,而敲除 *E2f1KO* 可阻断高糖诱导的神经细胞凋亡。此外,高糖环境可激活 Müller 细胞重新进入细胞周期形成异位分裂,并且在体外培养时高糖能够抑制视网膜血管消退<sup>[66]</sup>,但其具体的分子机制还需要进一步研究。因此,全视网膜体外培养可以提供近似体内的生理环境模拟 DR 早期的神经变性、胶原活化和血管增生。该体外模型不仅减轻了活体动物建模所承受的痛苦,而且减少了实验动物所需数量,为 DR 病变机制的研究和药效分析提供了新的手段。

### 3 小结

虽然目前在 DR 的早期筛查及治疗方法上均有改善,但是仍缺乏有效措施来干预 DR 的进展。通过动物模型探索 DR 病变发展对明确人 DR 的发病机制以及在临床前开发新型的治疗方法至关重要。目前已建立的各种 DR 动物模型各具优点及局限性,都只能模拟部分人类 NPDR 的早期特征,目前并没有一种动物模型可以完美模拟人 DR 的所有特征。探索可以模拟 PDR 的动物模型是本研究领域最大的挑战。未来研究的重点应该是阐明早期 DR 的发病机制,进而找到如何防止早期 NPDR 过渡到 PDR 的策略。在选择 DR 动物模型时,应当考虑各自的特点,包括不同动物视觉系统的结构和生化特点、进行基因编辑的可操

作性、造模的成本和可行性、估计病程的耗时和医学动物伦理学的问题等,并结合自己的实验设计和目的选取适合的动物模型。目前仍需要大量的实验研究并结合先进的检测技术建立更具前瞻性的动物模型,以模拟更精确的疾病表型,克服现在 DR 发病机制研究中的重重困难,并最终为 DR 的防治带来福音。

## 参考文献

- [1] Cho NH. Q&A: five questions on the 2015 IDF Diabetes Atlas [J]. *Diabet Res Clin Pract*, 2016, 115: 157-159.
- [2] Simó R, Hernández C. Neurodegeneration is an early event in diabetic retinopathy: therapeutic implications [J]. *Br J Ophthalmol*, 2012, 96(10): 1285-1290. DOI:10.1136/bjophthalmol-2012-302005.
- [3] Hernández C, Simó R. Neuroprotection in diabetic retinopathy [J]. *Curr Diab Rep*, 2012, 12(4): 329-337. DOI:
- [4] 李筱荣,刘巨平. 重视糖尿病眼部并发症的诊断和治疗 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2017, 35(7): 577-580. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.07.001.  
Li XR, Liu JP. Paying close attention to diagnosis and management of diabetic ocular complications [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2017, 35(7): 577-580. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.07.001.
- [5] Ferris FL. Photocoagulation for diabetic retinopathy. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group [J]. *Jama J American Med Associat*, 1991, 266(9): 1263-1265.
- [6] Klein R, Klein BE, Moss SE, et al. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years [J]. *Arch Ophthalmol*, 1984, 102(4): 520-526.
- [7] Roy MS, Gunkel RD, Podgor MJ. Color vision defects in early diabetic retinopathy [J]. *Arch Ophthalmol*, 1986, 104(2): 225-228.
- [8] Sokol S, Moskowitz A, Skarf B, et al. Contrast sensitivity in diabetics with and without background retinopathy [J]. *Arch Ophthalmol*, 1985, 103(1): 51-54.
- [9] Tzekov R, Arden GB. The electroretinogram in diabetic retinopathy [J]. *Surv Ophthalmol*, 1999, 44(1): 53-60.
- [10] Antonetti DA, Barber AJ, Bronson SK, et al. Diabetic retinopathy: seeing beyond glucose-induced microvascular disease [J]. *Diabetes*, 2006, 55(9): 2401-2411. DOI:10.2337/db05-1635.
- [11] Curtis TM, Gardiner TA, Stitt AW. Microvascular lesions of diabetic retinopathy: clues towards understanding pathogenesis? [J]. *Eye (Lond)*, 2009, 23(7): 1496-1508. DOI:10.1038/eye.2009.108.
- [12] Villarreal M, Ciudin A, Hernández C, et al. Neurodegeneration: an early event of diabetic retinopathy [J]. *World J Diabetes*, 2010, 1(2): 57-64. DOI:10.4239/wjd.v1.i2.57.
- [13] 马列,黎晓新. 玻璃体腔注射雷珠单抗对增生性糖尿病视网膜病变玻璃体切割术后再出血的防治作用 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2017, 35(1): 69-72. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.01.014.  
Ma L, Li XX. Preventive effect of intravitreal injection of ranibizumab on rehaemorrhagia following vitrectomy for proliferative diabetic retinopathy [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2017, 35(1): 69-72. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.01.014.
- [14] Cheung AK, Fung MK, Lo AC, et al. Aldose reductase deficiency prevents diabetes-induced blood-retinal barrier breakdown, apoptosis, and glial reactivation in the retina of db/db mice [J/OL]. *Diabetes*, 2005, 54(11): 3119-3125 [2017-06-21]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16249434>.
- [15] Truong A, Wong TY, Khachigian LM. Emerging therapeutic approaches in the management of retinal angiogenesis and edema [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2011, 89(4): 343-361. DOI:10.1007/s00109-010-0709-z.
- [16] 郑志. 糖尿病视网膜病变临床防治: 进展、挑战与展望 [J]. *中华眼底病杂志*, 2012, 28(3): 209-214. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2012.03.001.  
Zheng Z. Prevention and treatment of diabetic retinopathy: progress, challenges and future prospects [J]. *Chin J Ocul Fundus Dis*, 2012, 28(3): 209-214. DOI:10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2012.03.001.
- [17] Robinson R, Barathi VA, Chaurasia SS, et al. Update on animal models of diabetic retinopathy: from molecular approaches to mice and higher mammals [J]. *Dis Model Mech*, 2012, 5(4): 444-456. DOI:10.1242/dmm.009597.
- [18] Cheța D. Animal models of type I (insulin-dependent) diabetes mellitus [J]. *J Pediatr Endocrinol Metab Jpem*, 1998, 11(1): 11.
- [19] Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy [J]. *Diabetes Care*, 2012, 35(3): 556-564. DOI:10.2337/dc11-1909.
- [20] 何森. 糖尿病视网膜病变的动物模型及药理研究进展 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2015, 33(1): 87-92. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.01.019.  
He M. Advance in animal model and pharmacological research for diabetic retinopathy [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2015, 33(1): 87-92. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.01.019.
- [21] Hammes HP, Kerner W, Hofer S, et al. Diabetic retinopathy in type 1 diabetes—a contemporary analysis of 8,784 patients [J]. *Diabetologia*, 2011, 54(8): 1977-1984. DOI:10.1007/s00125-011-2198-1.
- [22] Zheng L, Kern TS. *In vivo* models of diabetic retinopathy [J]. *Front Diabetes*, 2008, 20: 42-60.
- [23] Timmers AM, Miller CM, Zhu L. Animal models of diabetic retinopathy [M]//Pang IH, Clark A. *Animal models for retinal diseases*. USA: Humana Press, 2010: 113-138.
- [24] Barber AJ, Lieth E, Khin SA, et al. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin [J]. *J Clin Invest*, 1998, 102(4): 783-791. DOI:10.1172/JCI2425.
- [25] Zeng XX, Ng YK, Ling EA. Neuronal and microglial response in the retina of streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Vis Neurosci*, 2000, 17(3): 463-471.
- [26] Kohzaki K, Vingrys AJ, Bui BV. Early inner retinal dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(8): 3595-3604. DOI:10.1167/iovs.08-1679.
- [27] 周伟,靳春杰,孟兆联,等. 糖尿病视网膜病变模型鼠品系的选择 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2014, 32(1): 32-35. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2014.01.007.  
Zhou W, Jin CJ, Meng ZL, et al. Selection of two types of rat strains for easily diabetic retinopathy [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2014, 32(1): 32-35. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2014.01.007.
- [28] Kern TS, Miller CM, Tang J, et al. Comparison of three strains of diabetic rats with respect to the rate at which retinopathy and tactile allodynia develop [J]. *Mol Vis*, 2010, 16: 1629-1639.
- [29] Cox OT, Simpson DA, Stitt AW, et al. Sources of PDGF expression in murine retina and the effect of short-term diabetes [J]. *Mol Vis*, 2003, 9: 665-672.
- [30] McVicar CM, Hamilton R, Colhoun LM, et al. Intervention with an erythropoietin-derived peptide protects against neuroglial and vascular degeneration during diabetic retinopathy [J]. *Diabetes*, 2011, 60(11): 2995-3005. DOI:10.2337/db11-0026.
- [31] Feit-Leichman RA, Kinouchi R, Takeda M, et al. Vascular damage in a mouse model of diabetic retinopathy: relation to neuronal and glial changes [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46(11): 4281-4287. DOI:10.1167/iovs.04-1361.
- [32] Martin PM, Roon P, Van Ells TK, et al. Death of retinal neurons in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45(9): 3330-3336. DOI:10.1167/iovs.04-0247.
- [33] Barber AJ, Antonetti DA, Kern TS, et al. The Ins2Akita mouse as a model of early retinal complications in diabetes [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46(6): 2210-2218. DOI:10.1167/iovs.04-1340.
- [34] Asnaghi V, Gerhardinger C, Hoehn T, et al. A role for the polyol pathway in the early neuroretinal apoptosis and glial changes induced by diabetes in the rat [J]. *Diabetes*, 2003, 52(2): 506-511.
- [35] Gastinger MJ, Singh RS, Barber AJ. Loss of cholinergic and dopaminergic amacrine cells in streptozotocin-diabetic rat and Ins2Akita-diabetic mouse retinas [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006,

- 47(7):3143-3150. DOI:10.1167/iov.05-1376.
- [36] Li Q, Verma A, Han PY, et al. Diabetic eNOS-knockout mice develop accelerated retinopathy[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51(10): 5240-5246. DOI:10.1167/iov.09-5147.
- [37] Abari E, Kociok N, Hartmann U, et al. Alterations in basement membrane immunoreactivity of the diabetic retina in three diabetic mouse models[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2013, 251(3): 763-775. DOI:10.1007/s00417-012-2237-8.
- [38] Bogdanov P, Corraliza L, Villena JA, et al. The db/db mouse: a useful model for the study of diabetic retinal neurodegeneration[J/OL]. PLoS One, 2014, 9(5): e97302 [2017-12-02]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24837086. DOI:10.1371/journal.pone.0097302.
- [39] Okamoto N, Tobe T, Hackett SF, et al. Transgenic mice with increased expression of vascular endothelial growth factor in the retina: a new model of intraretinal and subretinal neovascularization[J]. Am J Pathol, 1997, 151(1): 281-291.
- [40] Tee LB, Penrose MA, O'Shea JE, et al. VEGF-induced choroidal damage in a murine model of retinal neovascularisation[J]. Br J Ophthalmol, 2008, 92(6): 832-838. DOI: 10.1136/bjo.2007.130898.
- [41] Ruberte J, Ayuso E, Navarro M, et al. Increased ocular levels of IGF-1 in transgenic mice lead to diabetes-like eye disease[J]. J Clin Invest, 2004, 113(8): 1149-1157. DOI:10.1172/JCI19478.
- [42] Holmes JM, Duffner LA. The effect of postnatal growth retardation on abnormal neovascularization in the oxygen exposed neonatal rat[J]. Curr Eye Res, 1996, 15(4): 403-409.
- [43] Zhang H, Sonoda KH, Qiao H, et al. Development of a new mouse model of branch retinal vein occlusion and retinal neovascularization[J]. Jpn J Ophthalmol, 2007, 51(4): 251-257. DOI:10.1007/s10384-007-0445-2.
- [44] Winzell MS, Ahrén B. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes[J]. Diabetes, 2004, 53 Suppl 3: S215-219.
- [45] Saïdi T, Mbarek S, Omri S, et al. The sand rat, *Psammomys obesus*, develops type 2 diabetic retinopathy similar to humans[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(12): 8993-9004. DOI:10.1167/iov.11-8423.
- [46] Kern TS, Engerman RL. Comparison of retinal lesions in alloxan-diabetic rats and galactose-fed rats[J]. Curr Eye Res, 1994, 13(12): 863-867.
- [47] Robison WG, Kador PF, Kinoshita JH. Retinal capillaries: basement membrane thickening by galactosemia prevented with aldose reductase inhibitor[J]. Science, 1983, 221(4616): 1177-1179.
- [48] Howell SJ, Mekhail MN, Azem R, et al. Degeneration of retinal ganglion cells in diabetic dogs and mice: relationship to glycemic control and retinal capillary degeneration[J]. Mol Vis, 2013, 19: 1413-1421.
- [49] Kador PF, Takahashi Y, Akagi Y, et al. Effect of galactose diet removal on the progression of retinal vessel changes in galactose-fed dogs[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2002, 43(6): 1916-1921.
- [50] Kern TS, Engerman RL. Capillary lesions develop in retina rather than cerebral cortex in diabetes and experimental galactosemia[J]. Arch Ophthalmol, 1996, 114(3): 306-310.
- [51] King JL, Mason JO, Cartner SC, et al. The influence of alloxan-induced diabetes on Müller cell contraction-promoting activities in vitreous[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(10): 7485-7491. DOI:10.1167/iov.11-7781.
- [52] Lee SE, Ma W, Rattigan EM, et al. Ultrastructural features of retinal capillary basement membrane thickening in diabetic swine[J]. Ultrastruct Pathol, 2010, 34(1): 35-41. DOI:10.3109/01913120903308583.
- [53] Büchi ER, Kurosawa A, Tso MO. Retinopathy in diabetic hypertensive monkeys: a pathologic study[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 1996, 234(6): 388-398.
- [54] Johnson MA, Luty GA, McLeod DS, et al. Ocular structure and function in an aged monkey with spontaneous diabetes mellitus[J]. Exp Eye Res, 2005, 80(1): 37-42.
- [55] Kim SY, Johnson MA, McLeod DS, et al. Retinopathy in monkeys with spontaneous type 2 diabetes[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2004, 45(12): 4543-4553. DOI:10.1167/iov.04-0519.
- [56] 王钰娇, 陈大年. 糖尿病视网膜病变的动物模型[M]//陈大年, 魏来. 眼科疾病的动物模型. 北京: 人民卫生出版社, 2017: 62-77.
- [57] Olsen AS, Sarras MP, Leontovich A, et al. Heritable transmission of diabetic metabolic memory in zebrafish correlates with DNA hypomethylation and aberrant gene expression[J]. Diabetes, 2012, 61(2): 485-491. DOI:10.2337/db11-0588.
- [58] Sarras MP, Leontovich AA, Olsen AS, et al. Impaired tissue regeneration corresponds with altered expression of developmental genes that persists in the metabolic memory state of diabetic zebrafish[J]. Wound Repair Regen, 2013, 21(2): 320-328. DOI:10.1111/wrr.12027.
- [59] Alvarez Y, Chen K, Reynolds AL, et al. Predominant cone photoreceptor dysfunction in a hyperglycaemic model of non-proliferative diabetic retinopathy[J]. Dis Model Mech, 2010, 3(3-4): 236-245. DOI:10.1242/dmm.003772.
- [60] Matteucci A, Varano M, Mallozzi C, et al. Primary retinal cultures as a tool for modeling diabetic retinopathy: an overview[J/OL]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 364924 [2017-06-22]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25688355. DOI:10.1155/2015/364924.
- [61] Gustmann S, Dünker N. *In vivo*-like organotypic murine retinal wholemount culture[J]. J Vis Exp Jove, 2010, 35(35): 1634-1634.
- [62] Hatakeyama J, Kageyama R. Retrovirus-mediated gene transfer to retinal explants[J]. Methods, 2002, 28(4): 387-395.
- [63] Oshitari T, Bikbova G, Yamamoto S. Increased expression of phosphorylated c-Jun and phosphorylated c-Jun N-terminal kinase associated with neuronal cell death in diabetic and high glucose exposed rat retinas[J]. Brain Res Bull, 2014, 101: 18-25. DOI:10.1016/j.brainresbull.2013.12.002.
- [64] Oshitari T, Yoshida-Hata N, Yamamoto S. Effect of neurotrophic factors on neuronal apoptosis and neurite regeneration in cultured rat retinas exposed to high glucose[J]. Brain Res, 2010, 1346: 43-51. DOI:10.1016/j.brainres.2010.05.073.
- [65] Lecleire-Collet A, Tessier LH, Massin P, et al. Advanced glycation end products can induce glial reaction and neuronal degeneration in retinal explants[J]. Br J Ophthalmol, 2005, 89(12): 1631-1633. DOI:10.1136/bjo.2005.079491.
- [66] Wang Y, Zhou Y, Xiao L, et al. E2f1 mediates high glucose-induced neuronal death in cultured mouse retinal explants[J]. Cell Cycle, 2017, 16(19): 1824-1834. DOI:10.1080/15384101.2017.1361070.

(收稿日期:2018-04-29 修回日期:2018-05-08)

(本文编辑:张宇)

读者·作者·编者

## 本刊对来稿中组织病理学彩色图片及电子显微镜图片中标尺的要求

如果作者稿件中包含有组织病理图、免疫荧光染色图、免疫组织化学图、电子显微镜图片,为了反映组织标本大小的最精确尺度,请在电子版图片的左下方附注标尺。

(本刊编辑部)