

· 综 述 ·

糖尿病视网膜病变细胞模型的制作及应用研究进展

樊蕊嫣 综述 李筱荣 审校

天津医科大学眼科医院 天津医科大学眼视光学院 天津医科大学眼科研究所 国家眼耳鼻喉疾病临床医学研究中心天津市分中心 天津市视网膜功能与疾病重点实验室, 天津 300384
通信作者: 李筱荣, Email: xiaorli@163.com

【摘要】 糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病常见的严重微血管并发症之一,但目前更多的研究显示 DR 是视网膜神经血管单位损伤所导致的。由于目前对 DR 发病机制的认识仍较为局限,现有的治疗手段无法从发病机制的根本层面上起到延缓疾病进展、完全治愈疾病的理想效果。为了进一步明确 DR 的发生和发展机制,探索更有效的预防和治疗方法,现已研发出多种涉及 DR 病理改变的细胞模型,将其作为针对特定细胞靶点和信号通路的研究对象。这些细胞模型大多可以较好地模拟 DR 的部分病理改变,但仍不能完全模拟体内的生理和病理环境,因此研究者需要根据实际研究目的和观测指标综合考量,选择合适细胞模型的同时进一步结合动物实验予以证实。本文就 DR 所涉及的各类细胞的正常分布、生理功能、病理改变和常见细胞模型的造模方法、病理表现及研究应用相关进展进行综述。

【关键词】 糖尿病视网膜病变; 发病机制; 细胞模型; 神经-血管单位

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82471106)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20211010-00557

Research progress on the production and application of cellular models of diabetic retinopathy

Fan Ruiyan, Li Xiaorong

Tianjin Medical University Eye Hospital, Eye Institute and School of Optometry, Tianjin Key Laboratory of Retinal Functions and Diseases, Tianjin Branch of National Clinical Research Center for Ocular Disease, Tianjin 300384, China
Corresponding author: Li Xiaorong, Email: xiaorli@163.com

【Abstract】 Diabetic retinopathy (DR) is one of the most common serious microvascular complications of diabetes. Many studies have shown that DR is caused by damage to the retinal neurovascular unit. As our understanding of the pathogenesis of DR is still limited, existing treatment methods have not achieved the ideal effect of delaying progression and curing the disease at the fundamental level of pathogenesis. To further clarify the occurrence and development mechanism of DR and explore more effective prevention and treatment methods, researchers have developed and used various cell models targeting specific cells and signaling pathways. Most of these cell models can simulate part of the pathological changes of DR, but they cannot fully simulate the physiological and pathological environments in the body. Therefore, researchers must consider the research purpose and observation indicators comprehensively, select an appropriate cell model, and confirm it through animal experiments. This review provides a comprehensive discussion about the normal distribution, physiological functions, pathological changes of DR and the modeling methods, pathological manifestations and research applications of these models.

【Key words】 Diabetic retinopathy; Pathogenesis; Cell model; Retinal neurovascular unit

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82471106)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20211010-00557

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病常见的严重微血管并发症之一。研究显示,以视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)丢失和对比敏感度下降为特征的神经变性是 DR 更为早期的表现,发病早期以神经胶质细胞功能障碍、RGCs 凋亡和炎症反应为主^[1],随着疾病进展出现微血管并发症,最终进展为增生性糖尿病视网膜病变(proliferative

diabetic retinopathy, PDR)。神经血管单位由 RGCs 与神经胶质细胞组成的神经单位和内皮细胞与周细胞组成的血管单位 2 个部分构成,也有研究者认为 DR 的发病是由视网膜神经血管单位损伤所造成的^[2]。为了进一步明确 DR 的发生和发展机制,探索更为有效的预防和治疗方法,动物模型往往是基础研究的首选模型,体内实验可以更好地还原机体发病过程中多因

素的相互作用,但目前尚缺乏模拟 DR 全部病理过程的动物模型。与动物模型相比,细胞模型具有造模周期短、稳定性高、重复性好、成本低等优点,可更好地探究单一因素(如致病因子或治疗药物)的影响,因此可以将细胞模型作为靶点来进一步探索新型治疗药物对于细胞的安全性、治疗效果及作用机制。本文就 DR 所涉及的各类细胞正常分布、生理功能、病理改变以及常见细胞模型的造模方法、病理表现及研究应用进行综述。

1 视网膜血管单位及其细胞模型

DR 微血管病变的典型特征包括血-视网膜屏障(blood-retinal barrier, BRB)破坏和新生血管形成,伴随视网膜水肿、渗漏和出血。BRB 主要包括由视网膜内皮细胞(retinal endothelial cells, RECs)及细胞间的紧密连接、周细胞、基底膜、星形胶质细胞和 Müller 细胞末端膨大包裹 RECs 的血管足所构成的内屏障,以及由视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞及其紧密连接所构成的外屏障。BRB 中的 RECs 和周细胞作为视网膜血管结构和功能的基本单位,在维持视网膜稳态中发挥着重要作用。

1.1 RECs 的细胞模型

RECs 因其复杂的紧密连接成为 BRB 的重要组成部分,在微动脉中呈纺锤形,在微静脉中呈多边形。RECs 调控血液和细胞间质之间的物质交换和运输,并参与调节血管生成和炎症反应。在 DR 的病理进展中,毛细血管闭塞造成视网膜缺血、缺氧,使血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达显著增加,造成 RECs 过度增殖而形成大量病理性新生血管,从而导致微血管瘤、血管渗漏和出血^[3]。

目前,RECs 体外模型常用的是从牛和人供体眼球中分离的 RECs,其次是猪、恒河猴、猫、大鼠和小鼠 RECs。牛来源的 RECs 是有细胞间紧密连接的单层结构,而来源于人的 RECs 细胞间连接不紧密,2 种模型均可用于探究 DR 相关的促炎因子和促血管生成因子对细胞间紧密连接的作用。

RECs 常用的体外诱导条件包括:(1)糖尿病或 DR 发病的明确诱导因素,如高糖、晚期糖基化终末产物(advanced glycation end-products, AGEs)、饱和脂肪酸、omega 6 多不饱和脂肪酸、神经酰胺、胆固醇、细胞因子、VEGF 和脂质氧化应激产物 4-羟基壬烯醛(4-hydroxynonenal, 4-HNE)^[4-8];(2)缺氧环境或缺氧模拟剂 CoCl₂ 诱导假性缺氧^[9]。此外,从 DR 捐献者或 DR 动物模型中分离的 RECs 原代细胞由于具有“代谢记忆”,在正常的培养条件下仍表现出糖尿病表型^[10],可直接作为 RECs 损伤模型研究其损害、修复机制及药物的作用效果。RECs 常见的体外诱导损伤模型可总结为增殖模型、缺氧损伤模型和氧化应激模型。VEGF 可诱导 RECs 形成增殖模型^[7]。将 RECs 置于缺氧条件下或采用 CoCl₂ 诱导可形成缺氧损伤模型,其增殖、迁移和管腔形成能力均增强,缺氧细胞中的 VEGF 显著上调^[9]。氧化应激模型则多采用高糖^[4]、AGEs^[5]或 4-HNE^[8]诱导,其线粒体活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)产生增加;4-HNE 的诱导浓度较低(10 和 20 μmol/L)时,显著促进 RECs 增殖,诱导浓度较高(50 μmol/L)时,RECs 的增殖明显被抑

制^[8]。内皮细胞模型多用于辅助评估药物抗新生血管的作用效果。

1.2 周细胞的细胞模型

周细胞是视网膜微血管的壁细胞,被基底膜包绕,是调节血管形成、血流以及维持 BRB 结构和功能的关键因素^[11]。周细胞被炎症介质激活后,可以发挥消炎和促进组织修复的作用^[12]。Cogan 等^[13]在 1961 年首次报道了周细胞丢失是 DR 的早期特征之一,周细胞丢失与高糖导致的氧化应激、炎症反应及凋亡通路的激活有关^[14]。周细胞丢失后对内皮细胞增生的控制作用减弱,视网膜中周细胞与内皮细胞的比例由 1:1 变为 1:4,形成新生血管和无细胞毛细血管^[15],导致视网膜缺血-缺氧性损伤^[16];且由于周细胞丢失,局部毛细血管管壁变薄造成微血管瘤及破裂出血^[17]。

目前研究中常用的是从人、牛和小鼠分离出来的原代周细胞,其中 DR 捐献者及 DR 动物模型中分离出来的原代周细胞同样具有“代谢记忆”。常见的体外模型主要是凋亡模型和氧化应激模型。凋亡模型多由高糖诱导产生,表现为细胞变形、体积变小、存活率显著降低^[18];氧化应激模型多采用 H₂O₂ 和 AGEs 处理周细胞形成,细胞内 ROS 增多,JC-1 和流式细胞术显示线粒体膜电位下降、凋亡细胞数量增加。该模型多用于研究周细胞凋亡的机制,从而探索早期干预 DR 进展的方法。

2 视网膜神经单位及其细胞模型

视网膜神经单位包括 RGCs、胶质细胞和其他类型的神经细胞,共同发挥信息传递、营养神经及免疫应答的作用^[19]。DR 早期病理改变以胶质细胞功能障碍、RGCs 凋亡和炎症反应为主。

2.1 RGCs 的细胞模型

RGCs 是唯一可以将视觉信息传递到脑部的神经元,高糖环境所导致的 RGCs 结构和功能的损伤是 DR 早期神经变性的基本病理特征^[20]。高糖环境会导致 RGCs 的 Ca²⁺释放增加,激活与神经退行性变化相关的钙蛋白酶 1 和钙蛋白酶 2,进而激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(cysteine aspartate proteinase-3, caspase-3),诱导 RGCs 凋亡^[21]。caspase-3 是凋亡的重要执行因子,bcl-2 为凋亡抑制因子,bax 为促凋亡因子,三者 RGCs 凋亡过程中均发挥重要作用。此外,炎症反应和氧化应激也是 RGCs 凋亡的主要机制^[22]。

RGCs 体外模型常用的是 RGC-5 细胞系和从小鼠分离的原代细胞。永生化的 RGC-5 细胞系最初被认为是来自大鼠的 RGCs,随后该细胞系被多个实验室验证确认为小鼠来源,并通过细胞核型分析、遗传及蛋白质谱分析发现是小鼠 SV-40 T 抗原转化的感光细胞系 661W,因此 RGC-5 细胞系不能作为 RGCs 使用。此外,取 1 日龄(postnatal 1, P1)~P4 的 C57BL/6 小鼠或 P8~P10 的大鼠视网膜组织来制备单细胞悬液,并用抗体介导的平板黏附技术实现纯化,从而获取纯度较高的原代 RGCs。常用的 RGCs 体外模型是使用高糖诱导的凋亡模型^[23],细胞凋亡增加,ROS 和 caspase-3 上调。该模型多用于评估药物对 RGCs 神经保护的作用效果。

2.2 神经胶质细胞的细胞模型

视网膜胶质细胞包括大胶质细胞和小胶质细胞,是联系视网膜神经元和血管的重要纽带,在稳定视网膜内环境和损伤修复中发挥重要作用。

2.2.1 大胶质细胞的细胞模型 Müller 细胞和星形胶质细胞同属于大胶质细胞,均分布在血管周围。Müller 细胞占视网膜胶质细胞的 90%,胞体位于内核层,两端突起分别终止于内、外界膜而贯穿视网膜全层,包绕 RGCs 和血管壁^[24],是视网膜组织营养物质和氧气交换的核心,具有维持视网膜水电解质平衡、循环神经递质、清除多余谷氨酸、参与类维 A 酸循环等功能。星形胶质细胞分布在视网膜最内层,在 DR 发病早期,激活的 Müller 细胞释放神经保护因子,发挥保护和修复感光细胞的作用;而过度的激活会造成细胞代谢功能紊乱,引起细胞死亡和视网膜退行性变,形成胶质瘢痕,最终导致不可逆的视力损害。过表达的胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP) 是 Müller 细胞胶质增生的敏感标志物,早期过表达的 GFAP 会导致星形胶质细胞增生,但随着病情的进展,星形胶质细胞丢失增加。在视网膜持续缺血缺氧状态下,星形胶质细胞和 Müller 细胞过表达 VEGF,促进病理性新生血管的形成;并释放大量的炎症因子,如肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 1β (interleukin- 1β , IL- 1β) 和 IL-6 等,引发慢性炎症和神经元功能障碍^[25]。

目前,有关星形胶质细胞的报道较少,Müller 细胞体外模型常用的是人源细胞系 CRL-2712、大鼠源细胞系 rMC-1 和人体中分离的原代细胞,包括缺氧损伤模型和高糖损伤模型。将 Müller 细胞置于缺氧环境或用 CoCl_2 诱导形成缺氧损伤模型,细胞凋亡率升高,caspase-3 和 ROS 表达上调^[26]。高糖损伤模型中,30 mmol/L 的高糖处理 Müller 细胞后 24 h,细胞存活率升高,GFAP 表达上调,可以此模拟 Müller 细胞的活化增生^[27]。但有研究表明 25 mmol/L 的高糖诱导 72 h 后,细胞凋亡率升高,上清中的 TNF- α 、IL-8、环氧化酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 等炎症因子和 VEGF 显著升高^[28]。以上研究表明在高糖浓度相近时,细胞的增殖活性会随着刺激时间的延长而降低。因此,Müller 细胞的体外模型可用于评估药物的抗炎效果及作用机制。

2.2.2 小胶质细胞的细胞模型 小胶质细胞主要分布于视网膜内层,是视网膜固有免疫细胞,通过细胞表面受体和分支状突起的伸展和收缩,来监测视网膜内环境的改变^[29]。小胶质细胞在 DR 发病早期被快速激活呈阿米巴样,数量增多,体积增大,随着 DR 病理进展浸润到外核层及视网膜下组织,发挥其递呈抗原、吞噬细胞碎片、分泌神经保护因子及抗炎因子的作用。当病理刺激短暂出现后消失,小胶质细胞就转变为正常的静息状态;当刺激持续存在时,则维持激活状态^[30]。激活的小胶质细胞有 2 种极化状态,DR 早期以 M2 型极化为主,分泌多种抗炎因子及神经营养因子,抑制视网膜的炎症反应,保护 RGCs 和感光细胞,参与组织修复;随着病程逐渐进展,则以 M1 型极化为主,释放大量的炎症因子及氧化自由基,促进病理性损害的发展。

小胶质细胞体外模型常用的是鼠源原代细胞、人源和鼠源的细胞系。鼠源原代细胞可以通过神经胶质细胞的混合培养和纯化分离获得,但提取步骤复杂,培养周期长,增殖分化速度慢,现多用永生化的小胶质细胞系,小鼠源的有 BV-2、N9、M4T.4、M4T.6、EOC13;大鼠源的有 MLS-9、RTMGL1;人源的有 THP-1、HMO6、CHME3、C13NJ。常用的小胶质细胞体外模型有高糖损伤模型和缺氧损伤模型。经高糖处理的小胶质细胞,细胞凋亡率升高,其特异性的激活标志物离子钙结合衔接分子 1 表达上调^[31]。将其直接置于缺氧环境中诱导形成缺氧损伤模型,细胞体积增大,分支增加,凋亡率升高,VEGF、ROS 和炎症因子 IL- 1β 、IL-3、IL-6、TNF- α 、COX-2、细胞间黏附分子 1 等上调^[32]。因此,小胶质细胞的体外模型可以用于探索药物抗凋亡和抗炎的作用效果及机制。

3 RPE 细胞的细胞模型

RPE 细胞是位于脉络膜和视网膜神经上皮层之间的单层细胞,可分泌色素上皮衍生因子 (pigment epithelial-derived factor, PEDF),发挥营养神经、抗新生血管、抗炎和抗氧化的作用。RPE 细胞可分泌低浓度 VEGF 以保护 RECs;通过细胞间的紧密连接选择性介导溶质在视网膜外层被动扩散;通过与神经元直接接触,参与感光细胞末端的吞噬作用^[33]。高糖环境会破坏 RPE 细胞的紧密连接,损伤视网膜的外屏障功能,加快疾病进展;缺氧导致 RPE 细胞异常增生活化,参与形成 PDR 的增殖膜,上调缺氧诱导因子 1α (hypoxia inducible factor-1, HIF- 1α),激活 VEGF 下游基因的转录和表达,诱发生成血管的形成^[34]。

RPE 细胞的体外模型常用 ARPE-19 细胞系和人、牛、猪及鼠源的原代细胞,主要包括高糖损伤模型和缺氧损伤模型。经高糖处理的 RPE 细胞,细胞形态变大、变长,排列紊乱,细胞核欠规则,粗面内质网稍肿胀,细胞质中可见自噬小体及自噬溶酶体^[35]。研究显示,用 30 mmol/L 的高糖刺激人原代 RPE 细胞时,细胞增殖和迁移能力均增强^[35],而用相同浓度刺激 RPE 细胞系 ARPE-19,细胞增殖活性降低、迁移能力增强。缺氧损伤模型多采用 CoCl_2 诱导^[36],细胞增殖活性升高,HIF- 1α 和 VEGF 表达增加。该模型可用于评估药物抗氧化应激的作用效果,此外高糖损伤模型也可用于探索 RPE 细胞葡萄糖转运和代谢的相关影响因素及机制。

4 感光细胞的细胞模型

感光细胞位于视网膜外层,包括视杆细胞和视锥细胞,由脉络膜血管提供营养,感光细胞的损伤会直接影响视觉传导通路造成视力受损。由于光转导的作用,感光细胞是视网膜组织耗氧和耗能的主体,其快速代谢的状态会加重 DR 所致的缺氧,且当视杆细胞在黑暗环境下出现暗电流时,缺氧状态更为严重^[37]。

目前常用的感光细胞是小鼠 SV-40T 抗原转化的感光细胞系 661W,用高糖处理 661W 细胞系,细胞凋亡增加,ROS、DNA 氧化损伤标志物 8-羟基脱氧鸟苷和 DNA 修复酶 PARP 上调^[38],

该模型可用于探究药物对感光细胞抗凋亡及抗氧化应激的作用效果。

5 细胞共培养模型

DR 的病理改变十分复杂,单一的细胞体外模型病理表征较局限,而细胞共培养模型可以更好地模拟体内多致病因素所造成的 DR 病理表现。常见的共培养模型有 RECs 和周细胞共培养模型、小胶质细胞和 RECs/周细胞共培养模型以及 BRB 模型。

RECs 和周细胞共培养模型可直接将从糖尿病患者分离的周细胞和正常 RECs 共培养,或用糖尿病患者周细胞来源的培基诱导正常 RECs,两者之间的连接蛋白-43 表达降低,RECs 的增殖和管腔形成能力增强,可用于综合评估药物抗新生血管的作用效果^[39]。

小胶质细胞与 RECs/周细胞多采用 Transwell 体系共培养。在小胶质细胞和 RECs 共培养体系中,使用纤维粘连蛋白预涂

跨孔膜模拟基底膜结构,将 BV2 与 RECs 置于低氧环境中共培养 9 h,或将人原代小胶质细胞与 RECs 置于低氧环境中 48 h 可形成缺氧损伤模型,常氧环境下未检测到小胶质细胞的迁移,而缺氧环境中激活的小胶质细胞迁移及吞噬能力均明显增强,可跨孔至对侧吞噬 RECs^[32]。在小胶质细胞和周细胞共培养体系中,经脂多糖激活的小胶质细胞中 ROS、TNF-α 和 IL-1β 均明显上调,跨膜扩散后诱导周细胞凋亡增加^[40]。该共培养模型可用于研究激活的小胶质细胞在 DR 进展中的作用机制。

此外,Fresta 等^[41]将人 RECs、人视网膜周细胞和人视网膜星形胶质细胞用 Transwell 体系在体外建立了三重共培养模型^[42],高糖处理后 RECs 的闭合小带蛋白 1 和血管内皮细胞钙粘连蛋白表达均降低,BRB 的完整性被破坏,通透性升高,体系内的 ROS 和炎症因子 IL-1β、TNF-α、IL-6 表达升高,该 BRB 模型较接近人体的内环境,为研发 DR 的新型治疗药物提供了有价值的工具。

目前常见的 DR 细胞模型及对应的造模方法、病理改变和检测方法见表 1。

表 1 常见 DR 细胞模型诱导方法、病理改变及检测方法

细胞类型	诱导方法	病理改变	检测方法
RECs ^[5,8-9]	VEGF(10 ng/ml)	新生血管形成	划痕实验、Transwell、管腔形成实验
	缺氧(1% O ₂)	缺氧、细胞增生	CCK-8
	CoCl ₂ (200 μmol/L)		
	高糖(30 mmol/L)	氧化应激增强	MitoSOX 染色、荧光探针
	AGEs(150 μg/ml)		
周细胞 ^[18-20,39]	4-HNE(10 μmol/L)		
	高糖(30 mmol/L)	凋亡增加	CCK-8、TUNEL 染色法
	H ₂ O ₂ (200 μmol/L)	氧化应激增强	MitoSOX 染色、荧光探针、JC-1 和流式细胞术
RGCs ^[23]	AGEs(100 μg/ml)		
	高糖(35 mmol/L)	凋亡增加	CCK-8、TUNEL 染色法
Müller 细胞 ^[27-28]	高糖(25/35 mmol/L)	炎症反应、细胞增生(24 h)/凋亡增加(72 h)	PCR、ELISA、Western blot、免疫荧光、CCK-8
	CoCl ₂ (200 μmol/L)	缺氧、凋亡	CCK-8、TUNEL 染色法
小胶质细胞 ^[31-32,40]	高糖(25 mmol/L)	凋亡增加、炎症反应增强	CCK-8、TUNEL 染色法、PCR、ELISA、Western blot、免疫荧光
	缺氧(1% O ₂)	缺氧、凋亡增加、炎症反应增强	
RPE 细胞 ^[35-36,42]	高糖(30 mmol/L)	细胞增生(人原代 RPE 细胞)/凋亡增加 (ARPE-19)、迁移	CCK-8、划痕实验、Transwell
	CoCl ₂ (150 μmol/L)	缺氧、细胞增生	CCK-8
感光细胞 ^[38]	高糖(35 mmol/L)	凋亡增加、氧化应激增强	荧光探针、JC-1、流式细胞术、CCK-8
RECs 和周细胞共培养 ^[39]	-	新生血管形成	划痕实验、Transwell、管腔形成实验
小胶质细胞和 RECs 共培养 ^[32]	缺氧(1% O ₂)	小胶质细胞迁移、吞噬增强	Transwell、免疫荧光、PCR、Western blot
小胶质细胞和周细胞共培养 ^[40]	脂多糖(100 ng/ml)	小胶质细胞激活、周细胞凋亡	免疫荧光、Western blot、PCR、TUNEL 染色法
RECs、周细胞和星形胶质细胞共培养 ^[41]	高糖(40 mmol/L)	BRB 通透性升高、氧化应激增强、炎症反应增强	免疫荧光、Western blot、PCR

注:DR:糖尿病视网膜病变;RECs:视网膜内皮细胞;RGCs:视网膜神经节细胞;RPE:视网膜色素上皮;VEGF:血管内皮生长因子;AGEs:晚期糖基化终末产物;BRB:血-视网膜屏障;CCK-8:细胞计数试剂盒-8;TUNEL:脱氧核糖核酸末端转移酶介导的缺口末端标记法;PCR:聚合酶链式反应;ELISA:酶联免疫吸附剂测定;-:无

6 展望

微血管病变和神经变性作为 DR 的典型特征,共同参与 DR 的病程进展。基于 DR 病理变化的复杂性,细胞模型可用于研究特定的细胞靶点和信号通路;且相较于动物模型,细胞模型具有建模周期短、成本低、操作简单、处理因素明确、病理改变稳定、重复性好等优点,其中细胞共培养模型可以更好地模拟体内多致病因素所造成的 DR 病理表现。但体外培养条件不能完全模拟人体内的生理及病理状态,因此研究者应明确不同细胞模型之间的特征性病理改变,在选择合适靶细胞模型的同时,也需要选择合适的动物模型,以提供更加科学的依据。此外,我们仍需开发能够更精准模拟 DR 疾病表型的细胞模型,以扩展对 DR 发病机制及防治策略的探索,这对于现阶段降低 DR 的致盲率有重要的临床价值和社会意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

志谢 感谢徐曼鸿在文章撰写及审阅中提供的指导及帮助

参考文献

- [1] Duh EJ, Sun JK, Stitt AW. Diabetic retinopathy: current understanding, mechanisms, and treatment strategies [J/OL]. JCI Insight, 2017, 2(14): e93751 [2025-03-19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28724805/>. DOI: 10.1172/jci.insight.93751.
- [2] Simó R, Stitt AW, Gardner TW. Neurodegeneration in diabetic retinopathy: does it really matter? [J]. Diabetologia, 2018, 61(9): 1902-1912. DOI: 10.1007/s00125-018-4692-1.
- [3] Caprnda M, Kubatka P, Saxena S, et al. The impact of hyperglycemia on VEGF secretion in retinal endothelial cells [J]. Folia Med (Plovdiv), 2017, 59(2): 183-189. DOI: 10.1515/folmed-2017-0029.
- [4] Zhu Y, Zhao Q, Jiang Y. Lycium barbarum polysaccharides attenuates high glucose-induced diabetic retinal angiogenesis by rescuing the expression of miR-15a-5p in RF/6A cells [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 283: 114652. DOI: 10.1016/j.jep.2021.114652.
- [5] 徐曼鸿, 凌晨, 刘勋, 等. 聚噻啶束结合蛋白相关剪接子高表达对糖基化终末产物诱导下人视网膜微血管内皮细胞氧化损伤的作用 [J]. 中华眼底病杂志, 2020, 36(8): 633-640. DOI: 10.3760/cma.j.cn511434-20181012-00344.
- [6] Xu MH, Qi C, Liu X, et al. The effects of highly expression of polypyrimidine tract binding protein-associated splicing factor on advanced glycation end-products-induced human retinal microvascular endothelial cells [J]. Chin J Ocul Fund Dis, 2020, 36(8): 633-640. DOI: 10.3760/cma.j.cn511434-20181012-00344.
- [7] Capozzi ME, McCollum GW, Cousins DB, et al. Linoleic acid is a diabetes-relevant stimulator of retinal inflammation in human retinal Müller cells and microvascular endothelial cells [J]. J Diabetes Metab, 2016, 7(12): 718. DOI: 10.4172/2155-6156.1000718.
- [8] Fan R, Su L, Zhang H, et al. Enhanced therapeutic effect of PEDF-loaded mesenchymal stem cell-derived small extracellular vesicles against oxygen-induced retinopathy through increased stability and penetrability of PEDF [J]. J Nanobiotechnology, 2023, 21(1): 327. DOI: 10.1186/s12951-023-02066-z.
- [9] 肖静, 张晓敏, 邵先锋, 等. 4-羟基壬稀酸刺激人视网膜微血管内皮细胞的定量蛋白质组学研究 [J]. 中华眼底病杂志, 2019, 35(5): 488-493. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2019.05.012.
- [10] Xiao J, Zhang XM, Shao XF, et al. Quantitative proteomic analysis of human retinal microvascular endothelial cells stimulated with 4-Hydroxynonenal [J]. Chin J Ocul Fund Dis, 2019, 35(5): 488-493. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2019.05.012.
- [11] 徐曼鸿, 王林妮, 林婷婷, 等. 多聚噻啶序列结合蛋白相关剪接因子对缺氧诱导人视网膜微血管内皮细胞功能的影响 [J]. 中华眼底病杂志, 2020, 36(2): 135-142. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2020.02.010.
- [12] Xu MH, Wang LN, Lin TT, et al. Effects of pyrimidine bundle-binding protein-associated splicing factors on the function of hypoxia-induced human retinal microvascular endothelial cells [J]. Chin J Ocul Fund Dis, 2020, 36(2): 135-142. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2020.02.010.
- [13] Kady N, Yan Y, Salazar T, et al. Increase in acid sphingomyelinase level in human retinal endothelial cells and CD34⁺ circulating angiogenic cells isolated from diabetic individuals is associated with dysfunctional retinal vasculature and vascular repair process in diabetes [J]. J Clin Lipidol, 2017, 11(3): 694-703. DOI: 10.1016/j.jacl.2017.03.007.
- [14] Caporarello N, D'Angeli F, Cambria MT, et al. Pericytes in microvessels: from "Mural" function to brain and retina regeneration [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(24): 6351. DOI: 10.3390/ijms20246351.
- [15] Spencer BG, Estevez JJ, Liu E, et al. Pericytes, inflammation, and diabetic retinopathy [J]. Inflammopharmacology, 2020, 28(3): 697-709. DOI: 10.1007/s10787-019-00647-9.
- [16] Cogan DG, Toussaint D, Kuwabara T. Retinal vascular patterns. Iv. Diabetic retinopathy [J]. Arch Ophthalmol, 1961, 66: 366-378. DOI: 10.1001/archophth.1961.00960010368014.
- [17] Wang W, Zhao H, Chen B. DJ-1 protects retinal pericytes against high glucose-induced oxidative stress through the Nrf2 signaling pathway [J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 2477. DOI: 10.1038/s41598-020-59408-2.
- [18] Beltramo E, Porta M. Pericyte loss in diabetic retinopathy: mechanisms and consequences [J]. Curr Med Chem, 2013, 20(26): 3218-3225. DOI: 10.2174/09298673113209990022.
- [19] Eshaq RS, Aldalati A, Alexander JS, et al. Diabetic retinopathy: breaking the barrier [J]. Pathophysiology, 2017, 24(4): 229-241. DOI: 10.1016/j.pathophys.2017.07.001.
- [20] Ferland-McCollough D, Slater S, Richard J, et al. Pericytes, an overlooked player in vascular pathobiology [J]. Pharmacol Ther, 2017, 171: 30-42. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2016.11.008.
- [21] 肖梦然, 张晓敏, 邵先锋, 等. 高糖条件下人视网膜微血管周细胞的定量蛋白组学研究 [J]. 中华实验眼科杂志, 2019, 37(9): 707-712. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.09.004.
- [22] Xiao MR, Zhang XM, Shao XF, et al. Proteomic research of human retinal microvascular pericytes stimulated with high glucose [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2019, 37(9): 707-712. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.09.004.
- [23] Wu S, Mo X. Optic nerve regeneration in diabetic retinopathy: potentials and challenges ahead [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(2): 1447. DOI: 10.3390/ijms24021447.
- [24] Peng H, Han W, Ma B, et al. Autophagy and senescence of rat retinal precursor cells under high glucose [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2022, 13: 1047642. DOI: 10.3389/fendo.2022.1047642.
- [25] Liu XF, Zhou DD, Xie T, et al. The Nrf2 signaling in retinal ganglion cells under oxidative stress in ocular neurodegenerative diseases [J]. Int J Biol Sci, 2018, 14(9): 1090-1098. DOI: 10.7150/ijbs.25996.
- [26] Cui Y, Xu N, Xu W, et al. Erratum to: mesenchymal stem cells attenuate hydrogen peroxide-induced oxidative stress and enhance neuroprotective effects in retinal ganglion cells [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2017, 53(4): 336. DOI: 10.1007/s11626-017-0139-0.
- [27] 杨慧慧, 阙全娥, 于璐, 等. 小干扰 RNA-TLR9 对高糖下大鼠视网膜神经节细胞凋亡的抑制作用及其机制 [J]. 中华实验眼科杂志, 2020, 38(1): 38-44. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.10.008.1.
- [28] Yang HH, Kan QE, Yu L, et al. Inhibitory effect of small interfering RNA-TLR9 on high glucose-induced retinal ganglion cell apoptosis [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2020, 38(1): 38-44. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.10.008.1.
- [29] Coughlin BA, Feenstra DJ, Mohr S. Müller cells and diabetic retinopathy [J]. Vision Res, 2017, 139: 93-100. DOI: 10.1016/j.visres.2017.03.013.
- [30] Zhou P, Xie W, Meng X, et al. Notoginsenoside R1 ameliorates diabetic retinopathy through PINK1-dependent activation of mitophagy [J]. Cells, 2019, 8(3): 213. DOI: 10.3390/cells8030213.
- [31] Ahmad A, Nawaz MI, Siddique MM, et al. Apocynin ameliorates NADPH oxidase 4 (NOX4) induced oxidative damage in the hypoxic human retinal Müller cells and diabetic rat retina [J]. Mol Cell Biochem, 2021, 476(5): 2099-2109. DOI: 10.1007/s11010-021-04071-y.
- [32] Tu Y, Zhu M, Wang Z, et al. Melatonin inhibits Müller cell activation and pro-inflammatory cytokine production via upregulating the MEG3/miR-204/Sirt1 axis in experimental diabetic retinopathy [J]. J Cell Physiol, 2020, 235(11): 8724-8735. DOI: 10.1002/jcp.29716.
- [33] 金轶平, 朱皓皓, 廖宇洁, 等. 黄连素对高糖培养的大鼠视网膜 Müller 细胞的抗凋亡和抗炎作用及其机制 [J]. 中华实验眼科杂志, 2020, 38(12): 1016-1024. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200917-00647.
- [34] Jin YP, Zhu HH, Liao YJ, et al. Anti-apoptosis and anti-inflammation effects and mechanism of berberine on high-concentration glucose induced rat retinal Müller cells [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2020, 38(12): 1016-1024. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200917-00647.
- [35] Arroba AI, Valverde ÁM. Modulation of microglia in the retina: new insights into diabetic retinopathy [J]. Acta Diabetol, 2017, 54(6): 527-533. DOI: 10.1007/s00592-017-0984-z.
- [36] Hu A, Schmidt M, Heinig N. Microglia in retinal angiogenesis and



- diabetic retinopathy[J]. Angiogenesis, 2024, 27(3): 311–331. DOI: 10.1007/s10456-024-09911-1.
- [31] Huang L, You J, Yao Y, et al. High glucose induces pyroptosis of retinal microglia through NLRP3 inflammasome signaling[J]. Arq Bras Oftalmol, 2021, 84(1): 67–73. DOI: 10.5935/0004-2749.20210010.
- [32] Xie H, Zhang C, Liu D, et al. Erythropoietin protects the inner blood-retinal barrier by inhibiting microglia phagocytosis via Src/Akt/cofilin signalling in experimental diabetic retinopathy[J]. Diabetologia, 2021, 64(1): 211–225. DOI: 10.1007/s00125-020-05299-x.
- [33] Pavan B, Dalpiaz A. Retinal pigment epithelial cells as a therapeutic tool and target against retinopathies[J]. Drug Discov Today, 2018, 23(9): 1672–1679. DOI: 10.1016/j.drudis.2018.06.009.
- [34] Naylor A, Hopkins A, Hudson N, et al. Tight junctions of the outer blood retina barrier[J]. Int J Mol Sci, 2019, 21(1): 211. DOI: 10.3390/ijms21010211.
- [35] 侯文文, 石焕琦, 张真, 等. 自噬抑制剂 3-MA 对高糖诱导的人视网膜色素上皮细胞增生的抑制作用[J]. 中华实验眼科杂志, 2017, 35(1): 5–9. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.01.002.
- Hou WW, Shi HQ, Zhang Z, et al. Inhibitory effects of autophagy inhibitor 3-MA on high glucose-induced proliferation of human retinal pigment epithelium cells[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2017, 35(1): 5–9. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.01.002.
- [36] 雷祥, 栗占荣, 范珂. 丹参酮 II A 对缺氧状态下视网膜色素上皮细胞增生的抑制作用及其机制[J]. 中华实验眼科杂志, 2019, 37(5): 342–347. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.05.005.
- Lei X, Li ZR, Fan K. Inhibitory effect of Tanshinone II A on the proliferation of human retinal pigment epithelial cells in hypoxia and its mechanism[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2019, 37(5): 342–347. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.05.005.
- [37] Tonade D, Kern TS. Photoreceptor cells and RPE contribute to the development of diabetic retinopathy[J]. Prog Retin Eye Res, 2021, 83: 100919. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2020.100919.
- [38] Lai TT, Yang CM, Yang CH. Astaxanthin protects retinal photoreceptor cells against high glucose-induced oxidative stress by induction of antioxidant enzymes via the PI3K/Akt/Nrf2 pathway[J]. Antioxidants (Basel), 2020, 9(8): 729. DOI: 10.3390/antiox9080729.
- [39] Durham JT, Dulmovits BM, Cronk SM, et al. Pericyte chemomechanics and the angiogenic switch: insights into the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy? [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2015, 56(6): 3441–3459. DOI: 10.1167/iovs.14-13945.
- [40] Ding X, Zhang M, Gu R, et al. Activated microglia induce the production of reactive oxygen species and promote apoptosis of co-cultured retinal microvascular pericytes[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2017, 255(4): 777–788. DOI: 10.1007/s00417-016-3578-5.
- [41] Fresta CG, Fidilio A, Caruso G, et al. A new human blood-retinal barrier model based on endothelial cells, pericytes, and astrocytes[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(5): 1636. DOI: 10.3390/ijms21051636.
- [42] Wang SS, Liao X, Liu F, et al. miR-132 mediates cell permeability and migration by targeting occludin in high-glucose-induced ARPE-19 cells[J]. Endocr J, 2021, 68(5): 531–541. DOI: 10.1507/endocrj.EJ20-0277.

(收稿日期: 2025-02-10 修回日期: 2025-09-02)

(本文编辑: 刘艳 施晓萌)

· 病例报告 ·

白内障术后急性黄斑旁中心中层视网膜病变伴急性脑梗死诊疗 1 例

毛春洁 孙亚杰 赫天耕

天津医科大学总医院眼科, 天津 300052

通信作者: 赫天耕, Email: hetiangeng@163.com

Diagnosis and treatment of cerebral infarction following paracentral acute middle maculopathy as a complication of cataract surgery: a case report

Mao Chunjie, Sun Yajie, He Tiangeng

Department of Ophthalmology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Corresponding author: He Tiangeng, Email: hetiangeng@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20230729-00052

患者男, 58 岁, 2020 年 11 月 21 日因左眼突视力下降 5 h 就诊于天津医科大学总医院眼科。患者既往体健, 否认高血压、糖尿病病史, 2 d 前因左眼白内障在表面麻醉下行常规超声乳化白内障摘出联合人工晶状体植入术, 手术过程顺利。术后第 1 天, 裸眼视力由术前的 0.1 提高至 1.0。患者生命体征平稳, 血压 120/80 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa)。眼科检查: 视力右眼 0.6, 矫正视力 1.0; 左眼 0.05, 矫正无提高。眼压右眼 15 mmHg, 左眼 12 mmHg。双眼角膜透明, 角膜后沉积物(-), 房水(-), 瞳孔直径 3 mm, 对光反射存在。右眼晶状体密度增加, 左眼人工晶状体在位。眼底检查可见双眼视盘边界清晰, 颜色正常, 视网膜血管走行正常, 黄斑区中心凹反光未见 (图 1A)。光学相干断层扫描 (optical coherence tomography, OCT) 检查显示左眼黄斑中心凹旁颞侧视网膜内丛状层与外丛状层之间不明显的带状强反射 (图 1B)。OCT 血管成像 (optical coherence tomography angiography, OCTA) 检查显示左眼沿静脉血管走行蕨类植物样灰白色病灶 (图 1C)。荧光素眼底血管造

影 (fundus fluorescein angiography, FFA) 联合吲哚菁绿血管造影 (indocyanine green angiography, ICGA) 检查显示, 左眼视网膜动脉充盈时间明显延迟, 于 25 s 开始充盈 (图 1D); 于 59 s 完成动静脉期 (图 1E)。右眼 OCT/OCTA, FFA/ICGA 检查均未见明显异常。血浆 D-二聚体水平升高, 为 593 ng/ml (正常 0~500 ng/ml)。初步诊断: 左眼急性黄斑旁中心中层视网膜病变 (paracentral acute middle maculopathy, PAMM)。立即给予血管扩张药物治疗。治疗后第 1 天, 患眼矫正视力为 0.2, 眼压 13 mmHg, 瞳孔直径约 4 mm, 发现相对传入性瞳孔阻滞, 其余眼前后节仍无明显临床表现。心脏多普勒超声检查未见明显异常。颈部血管多普勒显示左侧颈内动脉斑块, 中部血流速度减慢, 阻力指数增加。眼部血管多普勒检查示左侧眼动脉血流速度增快, 视网膜中央动脉、睫状后动脉血流不足。发生 PAMM 后第 2 天, 患者无明显诱因突发轻微言语障碍、反应迟钝, 行 MRI 检查诊断为左侧额颞叶脑梗死 (图 2A)。遂转诊到神经内科并接受抗血栓和稳定动脉粥样硬化斑块治疗。颅