

利用单细胞测序技术探究小胶质细胞在青光眼视神经损伤中的作用

邱乐怡 原慧萍

哈尔滨医科大学附属第二医院眼科, 哈尔滨 150086

通信作者: 原慧萍, Email: yuanhp2013@126.com

【摘要】 青光眼是以视网膜神经节细胞进行性损伤为特征的一类视神经退行性眼病, 目前的研究认为其发病与小胶质细胞激活密切相关。小胶质细胞激活后具有双向作用, 既可以损害神经元, 又可以对神经元起到保护作用; 在青光眼中, 小胶质细胞激活可导致视网膜神经节细胞损伤, 从而影响其发生与发展。利用单细胞测序技术可以检测出组织中小胶质细胞的基因表达情况, 并对其表达特征进行系统性统计分析, 从而弥补传统研究方法的技术局限性。探究小胶质细胞活化在青光眼发病机制中所起的作用, 对于青光眼的预防及治疗有重要意义。本文就小胶质细胞在青光眼视神经损伤中的作用和单细胞测序技术在单细胞研究中的应用研究进展进行综述, 以期探究青光眼的发病机制及制定更有效的治疗方案提供参考。

【关键词】 青光眼; 视网膜神经节细胞; 小胶质细胞; 单细胞测序技术; 视神经损伤

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (82070956); 黑龙江省科学技术厅重点科研项目 (2022ZX06C14)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20241211-00346

Single-cell sequencing technology in exploring the role of microglia in glaucomatous optic nerve injury

Qiu Leyi, Yuan Huiping

Department of Ophthalmology, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China

Corresponding author: Yuan Huiping, Email: yuanhp2013@126.com

【Abstract】 Glaucoma is characterized by the progressive damage of retinal ganglion cell (RGC) and is recognized as a neurodegenerative ocular disease. Current research suggests that its pathogenesis is closely associated with microglial activation. Upon activation, microglia exert a dual effect: they can be both neurotoxic and neuroprotective to neurons. In glaucoma, microglial activation leads to RGC injury, thereby influencing the onset and progression of the disease. Single-cell sequencing technology enables the detection of microglial gene expression profiles in tissues and the systematic statistical analysis of their expression characteristics, thus overcoming the technical limitations of traditional research methods. Investigating the role of microglial activation in the pathogenesis of glaucoma is of great significance for its prevention and treatment. This article reviews the role of microglia in glaucomatous optic nerve injury and the research progress on the application of single-cell sequencing technology in microglial studies, aiming to provide a reference for exploring the mechanisms of glaucoma and developing more effective treatment strategies.

【Key words】 Glaucoma; Retinal ganglion cell; Microglia; Single-cell sequencing; Optic nerve injury

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82070956); The Key Scientific Research Projects of Heilongjiang Provincial Science and Technology Department (2022ZX06C14)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20241211-00346

青光眼是一种以视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cell, RGC) 进行性凋亡和视神经损伤为主要特征的致盲性视网膜神经退行性疾病, 是全球不可逆性盲的主要原因之一^[1-2]。随着人口老龄化进程的加剧, 青光眼发病率正不断攀升, 许多患者因青光眼导致视力受损, 进而影响日常生活。目前, 尚无有效

治疗方法可恢复由青光眼引起的视力损伤, 因此, 青光眼的早期诊断和有效治疗尤为重要。探究青光眼视神经损伤的机制不仅可为青光眼的有效治疗提供科学依据, 也可为延缓视神经的进行性损伤提供指导意义。小胶质细胞 (microglia, MG) 活化与青光眼视神经损伤之间具有紧密联系。传统的研究方法在

分离 MG 方面存在局限性,仅能对其形态和亚型进行评估,难以准确反映 MG 在分子水平上的改变。应用单细胞测序技术可检测到每个 MG 的基因表达情况,并进行综合性分析,从而弥补了传统研究方法的不足。在分子层面探讨 MG 与青光眼视神经损伤的相关性,可为青光眼的视神经保护治疗提供新的视角。本文就利用单细胞测序技术探究 MG 在青光眼视神经损伤中的作用研究进展进行综述。

1 MG 在青光眼视神经损伤中的作用

1.1 青光眼视神经损伤机制

青光眼视神经损伤机制涉及多种因素的复杂交互作用^[3],包括眼压升高、视神经局部缺血、MG 激活以及神经炎症的参与^[4]。虽然高眼压是青光眼的主要危险因素之一,但正常眼压性青光眼同样表现出视神经的慢性损伤,提示神经炎症和免疫调节异常在青光眼的发生和发展中具有重要作用。近年来的研究表明,MG 在青光眼视神经损伤中发挥重要作用,其既可通过促炎信号加剧视神经损伤,也可在早期阶段提供一定的神经保护作用^[5]。

1.2 MG 的生理学特征和表型转换

MG 是中枢神经系统的固有免疫细胞,在神经系统发育、稳态维持和炎症损伤中发挥重要作用。在健康状态下,MG 呈细长且分支状的形态,可动态监测中枢神经系统的异常变化。当神经系统发生损伤、感染或功能紊乱时,MG 迅速激活,表现为胞体增大、分支减少,并展现出强大的吞噬功能^[6]。激活后的 MG 按功能可分为促炎的 M1 型和抗炎的 M2 型,其表型转换主要由微环境中的信号分子(如脂多糖)等因素调控。这种表型的可塑性反映了 MG 在神经炎症和稳态调节中的双重角色。

1.3 MG 的生物学功能和调控

MG 在神经损伤中扮演着关键角色。在疾病早期阶段,MG 通过清除坏死细胞、分泌抗炎细胞因子对神经系统起到保护作用,但随着病程进展,过度激活的 MG 反而会加剧炎症反应,进而导致神经损伤^[7]。特别是在青光眼中,MG 可通过其促炎作用直接参与视神经损伤,并推动 RGC 的进行性凋亡。在青光眼视神经损伤过程中,MG 的激活状态从 M2 型向 M1 型转变, M1 型 MG 过度激活后可释放大量促炎细胞因子,进一步加剧视神经损伤。此过程推动了 RGC 的凋亡,是青光眼进展的重要机制。

MG 的激活及功能状态受其微环境调控。在诸多神经退行性疾病中,MG 的过度激活或持续激活与神经炎症反应增强及神经元损伤密切相关。例如,在阿尔茨海默病中,MG 激活后可通过加剧神经炎症推动神经元凋亡;在帕金森病中, α -突触核蛋白的沉积通过激活 MG,引发神经炎症;在急性脑损伤(如缺血性脑卒中)中,MG 在不同阶段呈现动态的功能状态变化,早期可能参与组织修复,而持续的促炎表型则与继发性神经损伤相关^[8-9]。因此,调控 MG 表型,抑制过度炎症反应,被认为是治疗神经退行性疾病的干预策略之一。在视神经脊髓炎谱系疾病中,MG 可通过释放促炎细胞因子加剧神经损伤。星形胶质细胞分泌补体 C3a 激活 MG,形成炎症反馈回路。白细胞介

素-6(interleukin-6,IL-6)和 I 型干扰素是关键调节因子,二者通过激活相关信号通路,加剧炎症反应^[10]。此外, I 型干扰素还通过激活 JAK-STAT 通路进一步激活 MG,促进其抗炎和神经保护功能。但持续的信号激活可能导致 M1 型占主导地位,从而加剧神经元损伤^[11]。干扰素调节因子 7(interferon regulatory factor 7,IRF7)作为关键转录因子,可能通过调节信号通路参与炎症调控,促进 MG 由 M1 型向 M2 型转换,增强视神经保护作用^[12-13](图 1)。

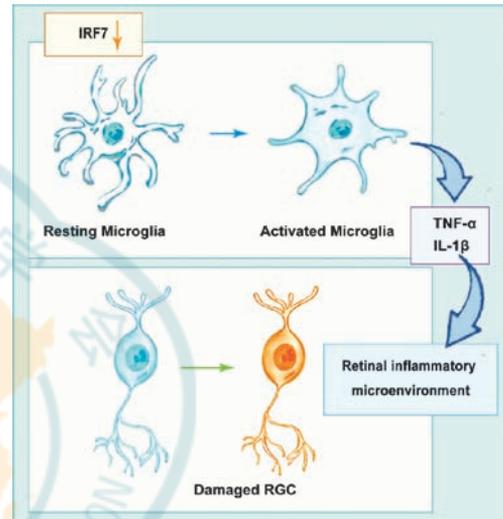


图 1 小胶质细胞的活化过程及其对 RGC 的影响 小胶质细胞在静息状态下受到刺激(如 IRF7 水平下降)后转变为激活状态,并释放大量促炎细胞因子(如 TNF- α 和 IL-1 β),形成视网膜炎症微环境,导致 RGC 受损 RGC:视网膜神经节细胞;IRF7:干扰素调节因子 7; TNF- α :肿瘤坏死因子 α ;IL-1 β :白细胞介素 1 β

1.4 青光眼视神经损伤中视网膜 MG 的作用

视网膜中的 MG 是固有免疫细胞,其功能高度多样化且对维持组织稳态和调节免疫反应至关重要。在健康条件下,MG 可调控离子平衡和神经递质摄取,与其他视网膜细胞协作共同维持神经元功能。然而,在青光眼中,MG 的过度活化会释放大促炎细胞因子,加剧 RGC 凋亡并推动视神经损伤^[14]。因此,维持 MG 的稳态功能并适当调控其激活状态,是阻止青光眼及其他视网膜退行性疾病进展的重要策略。这不仅有助于减轻炎症引发的组织损伤,还可能为疾病的治疗提供潜在的干预靶点。

MG 在青光眼视神经损伤中发挥着关键作用^[15],其能够迅速响应局部环境变化,展现出神经保护与损伤的双重功能。一方面,MG 通过释放促炎细胞因子加剧炎症,直接损害神经元^[16],并通过与星形胶质细胞的相互作用形成炎症反馈回路,进一步放大炎症反应;另一方面,通过分泌神经营养因子和抗氧化剂,清除毒性淀粉样蛋白,发挥一定的神经保护作用,从而延缓神经退行性病变^[17]。在青光眼视神经损伤早期, M2 型 MG 通过清除凋亡细胞和受损神经元,释放抗炎细胞因子和神经营养因子,如胰岛素样生长因子 1,抑制炎症反应并促进组织修复。此外,还能通过补体介导的突触修剪维持神经元发育和

突触功能,从而减轻神经损伤。然而,随着疾病进展,MG 可能由 M2 型向 M1 型转换,促炎反应逐渐占据主导地位,加剧 RGC 损伤。

青光眼的显著特征是 RGC 的进行性凋亡。MG 通过与 RGC 的复杂双向通信,直接参与神经元稳态的维持及神经退行性损伤的发生^[18]。研究表明,激活的 MG 与 RGC 的退行性变密切相关。Miao 等^[19]和 Ahmad 等^[20]研究发现,MG 通过释放促炎细胞因子改变细胞外基质,导致 RGC 损伤;Tezel^[15]的研究进一步揭示了 MG 激活炎症小体后,诱导炎症反应并释放神经毒性因子,进一步加剧 RGC 损伤。这些发现都表明,MG 介导的炎症反应可作用于 RGC 并影响青光眼的发生和发展^[21]。

2 单细胞测序技术在 MG 研究中的应用

2.1 单细胞测序技术概述

传统的细胞检测方法通常基于多细胞样本,这可能会低估细胞间的个体异质性。为深入理解细胞间的分子调控机制和相互作用规律,单细胞水平的基因表达分析变得尤为重要。基于此需求,单细胞转录组测序技术应运而生。2009 年,国外首次报道了基于高通量测序的单细胞 RNA 测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)技术^[22],自此,单细胞测序技术迅速发展。

scRNA-seq 技术为揭示细胞类型的发育和演化提供了全新视角,能够在单细胞分辨率上展示全基因组的表达模式。该技术通过对单个细胞的转录组进行扩增,从而获取细胞水平的基因表达信息并进行全面分析。这项技术可揭示细胞群体间的差异、细胞发育进程,并阐明不同细胞类型或亚群在疾病发生和发展中的作用,为疾病的诊断和治疗提供新思路^[23]。其主要流程包括单细胞分离、全基因组扩增、文库构建、高通量测序及数据分析。

随着技术的不断发展,scRNA-seq 技术可更精确地检测细胞的基因表达,甚至能够检测到微量表达的非编码 RNA。特别是在特殊样本的测序中,该技术展现出显著优势,可克服样本量不足的挑战,使传统上难以检测但具有重要生物学意义或临床价值的稀有细胞的基因组分析成为可能。

2.2 单细胞测序技术与 MG

Garcia 等^[24]的研究成功鉴定出 MG 的多种标志物,其中常见的细胞表面标志物包括 Cd45 和 Cd11b。Cx3c 趋化因子受体 1(CX3C-chemokine receptor 1, Cx3cr1)是神经肌动蛋白 Cx3c 趋化因子的特异性受体,通过 Wu 等^[25]和 Li 等^[26]的研究进一步发现, Cx3cr1 基因的缺失揭示了 MG 在中枢神经系统中的多重功能,由此 Cx3cr1 被认为是 MG 激活的标记基因。此外包括 Cd68、Tmem119、Trem2、P2ry12、Fcrls、C1qa、Slc2a5、Cd45 和 Cd11b 在内的许多基因都可用于识别 MG^[27-30]。

在确定了 MG 的常见标记基因后, Aibar 等^[31]从幼年小鼠的脑组织中分离出 3 005 个细胞,并通过聚类分析鉴定了 MG 中的许多关键网络调节因子,如 PU. 1/Ets 家族、NF-κb、IRF 和 AP-1/Maf 等转录因子。Suo 等^[32]进一步鉴定了由 Mafb、IRF2 和 Nfkb1 组成的免疫基因网络,这些基因在 MG 中高度表达。

Mafb 作为一种关键的 MG 主要调节因子,参与 MG 的发育和免疫调控。

MG 的促炎功能在过度激活时可能加剧组织损伤。Hammond 等^[28]通过单细胞测序技术揭示了 MG 的 9 种不同转录状态。该研究表明,某些 MG 群体在不同转录状态下表现出特定的功能,同时还发现,一些富含趋化因子的炎症 MG 在整个周期中持续存在,在衰老的脑组织中显著增加。这项研究也为理解 MG 不同独特亚群的功能提供了新见解。

利用 scRNA-seq 技术可以根据 MG 亚型的功能差异对其进行分类,促进了对疾病相关 MG 的深入研究。TNF-α、IL-1β 和 IL-6 等促炎细胞因子可以特异性识别 M1 型 MG,而转化生长因子 β 则用于区分 M2 型 MG^[33]。借助该技术,研究人员能够在疾病发展的不同时间节点,探究不同亚型 MG 在疾病发展中的作用和调控机制,从而为青光眼等神经退行性疾病的研究提供更加精确、深入的见解(图 2)。

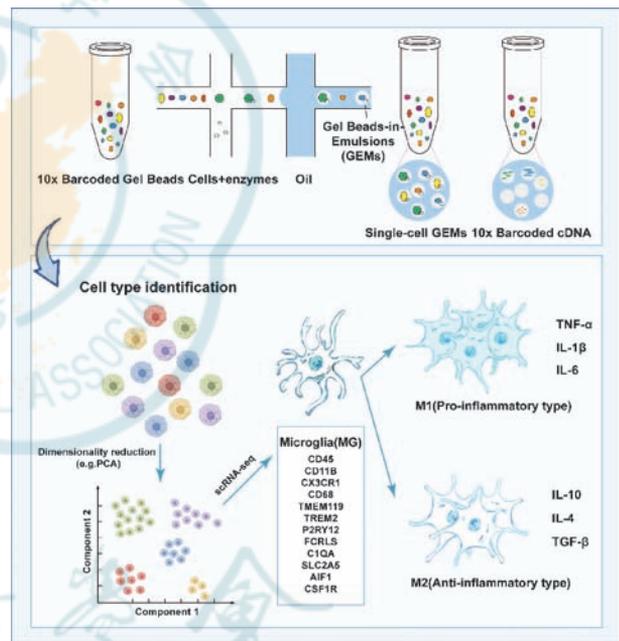


图 2 scRNA-seq 流程图 通过 10x Genomics 技术进行细胞捕获与测序、MG 细胞类型鉴定,并进一步区分为 M1 型(促炎性)和 M2 型(抗炎性)MG scRNA-seq:单细胞 RNA 测序;MG:小胶质细胞;GEMs:凝胶珠包裹的乳液微反应体系;TNF-α:肿瘤坏死因子 α;IL:白细胞介素;TGF:转化生长因子

2.3 scRNA-seq 在青光眼视神经损伤中的应用

近年来,在青光眼相关研究中,scRNA-seq 技术逐渐被用于解析视神经损伤过程中不同胶质细胞的应答模式及其分子特征。相较于传统转录组分析,scRNA-seq 能够在单细胞分辨率下区分不同细胞类型及其状态变化,为理解青光眼视神经损伤不同阶段的各种胶质细胞功能状态变化和细胞间通讯改变以及房水流出通道组织结构的细胞和分子层面变化提供了新的研究手段^[34]。

通过 scRNA-seq 技术,研究者在单细胞水平上全面解析了青光眼视网膜中 MG 的异质性及其发育起源。借助细胞聚类、

差异表达分析、拟时序分析和细胞通讯分析等方法,揭示了 MG 在疾病不同阶段呈现出显著不同的转录特征和功能状态^[35]。这些研究不仅有助于识别和分类 MG 的不同亚群,还进一步阐明了其在不同发育阶段和病理状态下的特定功能,为深入理解青光眼视神经损伤的细胞学机制提供了全新视角。

除视网膜神经组织外,scRNA-seq 技术还被应用于青光眼相关结构的系统研究中。已有研究构建了人类及多种动物模型的房水流出通路细胞图谱,系统揭示了小梁网及其周围组织的细胞组成及功能特性,为从细胞和分子层面深入理解青光眼的发病机制提供了重要依据^[36]。此外,基于 scRNA-seq 的研究还为青光眼潜在治疗靶点的发现提供了新思路。进一步研究表明,房水流出通路中不同细胞群之间的相互作用在调控眼压稳态和疾病进展中具有重要作用,并为潜在治疗靶点的筛选指明了新方向^[37]。

在功能机制层面,基于兴奋毒性诱导的视网膜损伤模型,已有研究利用 scRNA-seq 技术系统分析了胶质细胞在损伤条件下的转录响应特征。Todd 等^[38]对 N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)损伤的小鼠视网膜进行单细胞转录组测序,发现 Müller 胶质细胞在损伤后显著上调 *Slc1a3*、*Lhx2*、*Vim*、*Sox9* 和 *Rlbpl* 等基因,提示其在损伤应答及视网膜稳态调节中处于高度活化状态。进一步分析发现,反应性 MG 可通过 IL-1 β /IL-1R1 信号通路与 Müller 胶质细胞等其他胶质细胞发生相互作用,从而对视网膜神经元产生保护效应。

除炎症相关信号通路外,scRNA-seq 技术还揭示了细胞外基质重塑在视网膜损伤应答中的潜在作用机制。Campbell 等^[39]基于正常及 NMDA 损伤的鸟类视网膜构建了 scRNA-seq 文库,系统分析了基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)及其亚型的细胞来源,结果显示,MMP-2 主要表达于少突胶质细胞及非星形胶质的内层视网膜胶质细胞,而 MMP-9 在 Müller 胶质细胞及部分神经元中呈低水平表达,提示细胞外基质降解及重塑过程可能参与调控胶质细胞的功能状态。

进一步,scRNA-seq 技术通过整合拟时序分析、细胞通讯分析及转录调控网络推断,为胶质细胞功能状态变化的解析提供了重要依据。相关研究表明,在视网膜损伤和青光眼相关模型中,MG 可由稳态向炎症应答或神经保护相关状态转变,并伴随特定信号通路和转录调控因子活性的动态变化^[35,38]。通过分析 MG 与 Müller 胶质细胞、神经元及其他细胞类型之间的配体-受体互作关系,研究者进一步揭示了胶质细胞在损伤微环境中通过细胞间通讯参与炎症调控和神经保护的潜在机制^[38]。

此外,基于 scRNA-seq 技术获得的细胞状态信息和分子特征,部分研究尝试将单细胞转录组数据与功能实验相结合,用于评估特定信号通路或分子调控对疾病相关细胞状态及其功能效应的影响,其中部分研究进一步关注胶质细胞在神经保护中的作用。这类研究为从单细胞层面识别调控 MG 功能状态转化的关键分子节点、探索潜在干预靶点提供了新的研究思路,并为进一步理解青光眼相关视神经损伤的细胞学基础奠定了实验依据。

然而,目前针对青光眼中特定胶质细胞亚群(如 MG)的 scRNA-seq 研究仍相对有限,其在疾病分期解析和治疗响应评估中的应用价值仍有待更多研究进行验证。未来,随着单细胞技术的不断优化和数据累积,有望实现对相关细胞类型更为精细的分类及功能解析,从而为青光眼的早期干预和精准治疗策略探索提供更可靠的实验基础。

3 小结与展望

青光眼是导致视力低下和不可逆性盲的主要眼病之一,对其视功能损伤机制的深入研究、早期干预和及时治疗具有重要意义。MG 在青光眼中表现出广泛的表型和功能异质性^[40-41]。因此,探讨调节 MG 稳态和功能的机制及因素,对于制定青光眼视神经保护治疗新策略具有重要意义。

MG 同时具有抗炎和促炎功能,其在不同病理环境下的功能状态转变受到多种转录调控因子的精细调节。IRF7 作为重要的免疫调控因子,可通过调节 MG 的免疫反应参与炎症微环境的重塑,并影响视神经保护机制。近期研究结合 scRNA-seq 分析及功能实验,从单细胞层面进一步验证了 IRF7 在 MG 炎症反应调控中的作用,为理解青光眼相关视神经损伤的分子机制提供了新的实验证据^[42]。未来仍需进一步探讨 IRF7 在青光眼 MG 中的具体调控网络及其与其他信号通路的相互作用等,以期为靶向 MG 的神经保护治疗策略制定提供更为坚实的理论依据。

总体而言,scRNA-seq 技术的应用为青光眼研究提供了全新的研究范式。从细胞图谱构建到分子特征解析,该技术为深入理解视神经损伤相关胶质细胞的异质性及其功能状态变化提供了重要依据。结合 scRNA-seq 分析与功能研究,已初步揭示了 MG 在炎症调控、细胞间通讯及神经保护中的潜在调控机制,并为探索疾病相关分子靶点提供了新的线索。然而,现阶段相关研究多处于机制探索阶段,其在药物疗效预测和临床转化中的应用价值仍有待进一步验证。随着单细胞技术的不断发展和数据累积,未来有望更加深入地认识 MG 在健康和病理条件下的异质性和可塑性,为青光眼及其他视网膜退行性疾病的干预与治疗提供新方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] GBD 2019 Blindness and Vision Impairment Collaborators; Vision Loss Expert Group of the Global Burden of Disease Study. Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: the Right to Sight: an analysis for the Global Burden of Disease Study[J/OL]. Lancet Glob Health, 2021, 9(2): e144-e160[2025-08-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33275949/>. DOI: 10.1016/S2214-109X(20)30489-7.
- [2] Artero-Castro A, Rodriguez-Jimenez FJ, Jendelova P, et al. Glaucoma as a neurodegenerative disease caused by intrinsic vulnerability factors[J]. Prog Neurobiol, 2020, 193: 101817. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2020.101817.
- [3] Wei X, Cho KS, Thee EF, et al. Neuroinflammation and microglia in glaucoma: time for a paradigm shift[J]. J Neurosci Res, 2019, 97(1): 70-76. DOI: 10.1002/jnr.24256.
- [4] You M, Rong R, Zeng Z, et al. Transneuronal degeneration in the

- brain during glaucoma[J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13 : 643685. DOI: 10.3389/fnagi.2021.643685.
- [5] Ji S, Peng Y, Liu J, et al. Human adipose tissue-derived stem cell extracellular vesicles attenuate ocular hypertension-induced retinal ganglion cell damage by inhibiting microglia- TLR4/MAPK/NF- κ B proinflammatory cascade signaling [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2024, 12(1) : 44. DOI: 10.1186/s40478-024-01753-8.
- [6] Masuda T, Sankowski R, Staszewski O, et al. Spatial and temporal heterogeneity of mouse and human microglia at single-cell resolution [J]. *Nature*, 2019, 566(7744) : 388–392. DOI: 10.1038/s41586-019-0924-x.
- [7] Amato S, Arnold A. Modeling microglia activation and inflammation-based neuroprotectant strategies during ischemic stroke[J]. *Bull Math Biol*, 2021, 83(6) : 72. DOI: 10.1007/s11538-021-00905-4.
- [8] Leng F, Edison P. Neuroinflammation and microglial activation in Alzheimer disease: where do we go from here? [J]. *Nat Rev Neurol*, 2021, 17(3) : 157–172. DOI: 10.1038/s41582-020-00435-y.
- [9] Tansey MG, Wallings RL, Houser MC, et al. Inflammation and immune dysfunction in Parkinson disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2022, 22(11) : 657–673. DOI: 10.1038/s41577-022-00684-6.
- [10] Li W, Liu J, Tan W, et al. The role and mechanisms of microglia in neuromyelitis optica spectrum disorders [J]. *Int J Med Sci*, 2021, 18(14) : 3059–3065. DOI: 10.7150/ijms.61153.
- [11] Jiménez-Munguía I, Beaven AH, Blank PS, et al. Interferon-induced transmembrane protein 3 (IFITM3) and its antiviral activity[J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2022, 77 : 102467. DOI: 10.1016/j.sbi.2022.102467.
- [12] Qing F, Liu Z. Interferon regulatory factor 7 in inflammation, cancer and infection[J]. *Front Immunol*, 2023, 14 : 1190841. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1190841.
- [13] Zhang XJ, Wang Z, Chen JW, et al. The neuroprotective effect of near infrared light therapy in aged mice with postoperative neurocognitive disorder by upregulating IRF7 [J]. *J Affect Disord*, 2024, 349 : 297–309. DOI: 10.1016/j.jad.2024.01.074.
- [14] Chen J, Zhong H, Yu H, et al. Interleukin-17A modulates retinal inflammation by regulating microglial activation via the p38 MAPK pathway in experimental glaucoma neuropathy [J/OL]. *FASEB J*, 2023, 37(6) : e22945 [2025–08–20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37144630/>. DOI: 10.1096/fj.202202056RR.
- [15] Tezel G. Molecular regulation of neuroinflammation in glaucoma: current knowledge and the ongoing search for new treatment targets[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2022, 87 : 100998. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2021.100998.
- [16] Edwards FA. A unifying hypothesis for Alzheimer's disease: from plaques to neurodegeneration [J]. *Trends Neurosci*, 2019, 42(5) : 310–322. DOI: 10.1016/j.tins.2019.03.003.
- [17] Prinz M, Jung S, Priller J. Microglia biology: one century of evolving concepts[J]. *Cell*, 2019, 179(2) : 292–311. DOI: 10.1016/j.cell.2019.08.053.
- [18] Marinelli S, Basilico B, Marrone MC, et al. Microglia-neuron crosstalk: signaling mechanism and control of synaptic transmission[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2019, 94 : 138–151. DOI: 10.1016/j.semdb.2019.05.017.
- [19] Miao Y, Zhao GL, Cheng S, et al. Activation of retinal glial cells contributes to the degeneration of ganglion cells in experimental glaucoma[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2023, 93 : 101169. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2023.101169.
- [20] Ahmad I, Subramani M. Microglia: friends or foes in glaucoma? A developmental perspective[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2022, 11(12) : 1210–1218. DOI: 10.1093/stcltm/szac077.
- [21] Xu MX, Zhao GL, Hu X, et al. P2X7/P2X4 receptors mediate proliferation and migration of retinal microglia in experimental glaucoma in mice[J]. *Neurosci Bull*, 2022, 38(8) : 901–915. DOI: 10.1007/s12264-022-00833-w.
- [22] Tang F, Barbacioru C, Wang Y, et al. mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell[J]. *Nat Methods*, 2009, 6(5) : 377–382. DOI: 10.1038/nmeth.1315.
- [23] Yasen A, Aini A, Wang H, et al. Progress and applications of single-cell sequencing techniques[J]. *Infect Genet Evol*, 2020, 80 : 104198. DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104198.
- [24] Garcia JA, Cardona SM, Cardona AE. Isolation and analysis of mouse microglial cells[J]. *Curr Protoc Immunol*, 2014, 104 : 14.35.1–14.35.15. DOI: 10.1002/0471142735.im1435s104.
- [25] Wu W, Li Y, Wei Y, et al. Microglial depletion aggravates the severity of acute and chronic seizures in mice[J]. *Brain Behav Immun*, 2020, 89 : 245–255. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.06.028.
- [26] Li Y, He X, Kawaguchi R, et al. Microglia-organized scar-free spinal cord repair in neonatal mice[J]. *Nature*, 2020, 587(7835) : 613–618. DOI: 10.1038/s41586-020-2795-6.
- [27] Blum JA, Klemm S, Shadrach JL, et al. Single-cell transcriptomic analysis of the adult mouse spinal cord reveals molecular diversity of autonomic and skeletal motor neurons[J]. *Nat Neurosci*, 2021, 24(4) : 572–583. DOI: 10.1038/s41593-020-00795-0.
- [28] Hammond TR, Dufort C, Dissing-Olesen L, et al. Single-cell RNA sequencing of microglia throughout the mouse lifespan and in the injured brain reveals complex cell-state changes[J]. *Immunity*, 2019, 50(1) : 253–271. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.11.004.
- [29] van der Poel M, Ulas T, Mizee MR, et al. Transcriptional profiling of human microglia reveals grey-white matter heterogeneity and multiple sclerosis-associated changes[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1) : 1139. DOI: 10.1038/s41467-019-08976-7.
- [30] Sankowski R, Böttcher C, Masuda T, et al. Mapping microglia states in the human brain through the integration of high-dimensional techniques[J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22(12) : 2098–2110. DOI: 10.1038/s41593-019-0532-y.
- [31] Aibar S, González-Blas CB, Moerman T, et al. SCENIC: single-cell regulatory network inference and clustering[J]. *Nat Methods*, 2017, 14(11) : 1083–1086. DOI: 10.1038/nmeth.4463.
- [32] Suo S, Zhu Q, Saadatpour A, et al. Revealing the critical regulators of cell identity in the mouse cell atlas[J]. *Cell Rep*, 2018, 25(6) : 1436–1445. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.10.045.
- [33] Jurga AM, Paleczna M, Kuter KZ. Overview of general and discriminating markers of differential microglia phenotypes [J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14 : 198. DOI: 10.3389/fncel.2020.00198.
- [34] Davis BM, Crawley L, Pahlitzsch M, et al. Glaucoma: the retina and beyond[J]. *Acta Neuropathol*, 2016, 132(6) : 807–826. DOI: 10.1007/s00401-016-1609-2.
- [35] Zong Y, Xiao S, Lei D, et al. Discoveries in retina physiology and disease biology using single-cell RNA sequencing [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2023, 28(10) : 247. DOI: 10.31083/j.fbl2810247.
- [36] van Zyl T, Yan W, McAdams A, et al. Cell atlas of aqueous humor outflow pathways in eyes of humans and four model species provides insight into glaucoma pathogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(19) : 10339–10349. DOI: 10.1073/pnas.2001250117.
- [37] Thomson BR, Liu P, Onay T, et al. Cellular crosstalk regulates the aqueous humor outflow pathway and provides new targets for glaucoma therapies[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1) : 6072. DOI: 10.1038/s41467-021-26346-0.
- [38] Todd L, Palazzo I, Suarez L, et al. Reactive microglia and IL1 β /IL-1R1-signaling mediate neuroprotection in excitotoxin-damaged mouse retina[J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1) : 118. DOI: 10.1186/s12974-019-1505-5.
- [39] Campbell WA 4th, Deshmukh A, Blum S, et al. Matrix-metalloproteinase expression and gelatinase activity in the avian retina and their influence on Müller glia proliferation[J]. *Exp Neurol*, 2019, 320 : 112984. DOI: 10.1016/j.expneurol.2019.112984.
- [40] Tang X, Huang Y, Lei J, et al. The single-cell sequencing: new developments and medical applications[J]. *Cell Biosci*, 2019, 9 : 53. DOI: 10.1186/s13578-019-0314-y.
- [41] Masuda T, Sankowski R, Staszewski O, et al. Microglia heterogeneity in the single-cell era[J]. *Cell Rep*, 2020, 30(5) : 1271–1281. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.01.010.
- [42] Qiu L, Guo F, Liu X, et al. Revealing the role of regulatory microglial IRF7-NLRP3 interactions in optic nerve damage of normal-tension glaucoma based on single-cell RNA sequencing[J]. *Front Immunol*, 2025, 16 : 1700998. DOI: 10.3389/fimmu.2025.1700998.

(收稿日期:2025-08-25 修回日期:2026-01-26)

(本文编辑:施晓萌 骆世平)

