

Müller 细胞胶质间质转化在视网膜纤维化疾病中的作用

王乾坤, 索龙, 刘爽

引用: 王乾坤, 索龙, 刘爽. Müller 细胞胶质间质转化在视网膜纤维化疾病中的作用. 国际眼科杂志, 2024, 24(11): 1747-1752.

基金项目: 宿迁市自然科学基金项目 (No.K202312); 南京医科大学科技发展基金项目 (No.NMUB20220215)

作者单位: (223800) 中国江苏省宿迁市, 国家区域医疗中心 江苏省人民医院宿迁医院眼科 南京医科大学附属宿迁第一人民医院眼科

作者简介: 王乾坤, 在读硕士研究生, 住院医师, 研究方向: 眼底病、青光眼。

通讯作者: 刘爽, 硕士研究生, 住院医师, 研究方向: 眼底病、近视防治. drophliu@163.com

收稿日期: 2024-01-03 修回日期: 2024-09-18

摘要

胶质细胞间质转化 (GMT) 指胶质细胞在各种因素刺激下逐渐获得间质细胞表型和特征的生物学过程, 与视网膜纤维化疾病密切相关。Müller 细胞是视网膜最主要的大胶质细胞, 在受到各种病理因素刺激时被激活并发生转分化。目前, 已有研究表明, Müller 细胞 GMT 与糖尿病视网膜病变、特发性黄斑前膜 (iERM)、年龄相关性黄斑变性 (ARMD)、增生性玻璃体视网膜病变 (PVR) 等多种疾病密切相关。尽管 GMT 相关调控机制尚不完全明确, 但其作为一个潜在的干预靶点, 具有良好的研究前景。了解 Müller 细胞 GMT 在视网膜疾病中的研究进展, 能够为多种视网膜疾病的早期诊断和治疗提供新思路, 对于全面揭示细胞转型家族在视网膜疾病中的交互作用具有重要的临床和科学意义。

关键词: Müller 细胞; 胶质间质转化; 视网膜纤维化

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2024.11.11

Roles of Müller glial - mesenchymal transition in retinal fibrosis diseases

Wang Qiankun, Suo Long, Liu Shuang

Foundation items: Natural Science Foundation of Suqian (No. K202312); Science and Technology Development Foundation of Nanjing Medical University (No.NMUB20220215)

National Regional Medical Center; Department of Ophthalmology, Jiangsu Province (Suqian) Hospital; Department of Ophthalmology, Suqian First Hospital, Nanjing Medical University, Suqian 223800, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Liu Shuang. National Regional Medical Center; Department of Ophthalmology, Jiangsu Province (Suqian) Hospital;

Department of Ophthalmology, Suqian First Hospital, Nanjing Medical University, Suqian 223800, Jiangsu Province, China. drophliu@163.com

Received: 2024-01-03 Accepted: 2024-09-18

Abstract

• Glial - mesenchymal transition (GMT) is a biological process of transdifferentiation where endothelial cells gradually adopt the phenotypic characteristics of mesenchymal cells under the influence of various factors. GMT is closely associated with retinal fibrosis diseases. Müller cells, the predominant retinal macroglia, undergo activation and transdifferentiation in response to diverse stimuli and pathological conditions. Researches indicate that GMT plays a significant role in the pathogenesis of diseases such as diabetic retinopathy (DR), idiopathic epiretinal membrane (iERM), age - related macular degeneration (ARMD), and proliferative vitreoretinopathy (PVR). Although the exact mechanism of GMT is not well understood, it has showed great promise as potential target. Clarifying the research progress of GMT provides new ideas in the early diagnosis and treatments of retinal diseases, which is clinically and scientifically important for revealing interactive effects of cell transdifferentiation families in retinal diseases.

• KEYWORDS: Müller cells; glial - mesenchymal transition; retinal fibrosis

Citation: Wang QK, Suo L, Liu S. Roles of Müller glial - mesenchymal transition in retinal fibrosis diseases. Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci), 2024, 24(11): 1747-1752.

0 引言

上皮细胞间质转化 (epithelial - mesenchymal transition, EMT) 是研究最早、最广泛的细胞转型机制, 参与多种眼部纤维化疾病的病理生理过程, 如角膜创伤修复、后发性白内障、增生性玻璃体视网膜病变 (proliferative vitreoretinopathy, PVR)、视网膜下纤维化疾病等^[1]。胶质细胞间质转化 (glial - mesenchymal transition, GMT) 作为细胞转型家族的新成员, 最先在胶质瘤的机制研究中被描述和定义, 与经典的 EMT 既有相似之处, 也有其独特性^[2]。Müller 细胞是视网膜中重要的神经胶质细胞, 具有机械支撑、维持稳态、生理代谢以及维持视网膜的稳定性等作用^[3]。各种视网膜病变常伴随 Müller 细胞变性和损伤, 且在病理状态下 Müller 细胞可发生 GMT, 与视网膜纤维化疾病密切相关。本文将从 GMT 概念的提出及其特征出

发,重点阐述 Müller 胶质细胞的活化及其与 GMT 关系,以及 GMT 在相关视网膜疾病中的作用和机制,以期对视网膜纤维化疾病的基础研究和临床治疗提供新的视角和参考。

1 GMT 的起源和特点

1.1 GMT 的起源 GMT 的概念起源于胶质瘤的相关研究^[4]。EMT 是恶性肿瘤细胞获得迁移和侵袭能力的重要生物学过程,其在上皮性肿瘤中的作用已得到了广泛的研究和证实,如结直肠癌、乳腺癌等^[5-7]。然而,在初始的研究中,胶质瘤是否可以发生 EMT 或命名为 EMT 是否科学,存在一定争议。一方面由于胶质瘤细胞缺少典型上皮细胞的特征,命名为“上皮”转换名不副实;另一方面有关胶质瘤细胞是否出现经典的“钙黏蛋白转换(cadherin switch)”尚存在争议^[8-9]。所谓“钙黏蛋白转换”,是指 EMT 过程中出现的 E-钙黏蛋白表达降低而 N-钙黏蛋白表达升高的过程^[10]。近来研究^[11]表明,恶性胶质瘤确可发生 EMT 或 EMT 样改变,并开始大量使用 EMT 这一描述。但由于胶质瘤细胞在发生学上来源于神经胶质细胞,因而有学者提议用“胶质间质转化”,即 GMT 代替 EMT,也逐渐为研究者所接受,这也是 GMT 这一术语的滥觞^[2]。

1.2 Müller 细胞胶质化与 GMT Müller 细胞是视网膜上最主要的胶质细胞,纵贯视网膜全层,在维持视网膜神经血管单元的内环境稳态等方面发挥重要作用^[12-13]。Müller 细胞在外界环境刺激下可发生胶质化,主要特征包括:Müller 细胞肥大、增殖能力增强以及波形蛋白和胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)的表达上调^[14-15]。这与经典 EMT 在形态、功能和表型方面的变化具有极大类似性。EMT 过程中细胞在形态上从纺锤形变成细长梭形,功能上增殖和迁移能力增强,在表型上 E-钙粘蛋白表达降低,而 N-钙粘蛋白、 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)、成纤维细胞特异性蛋白-1(fibroblast specific protein-1, FSP-1)表达升高^[10]。

目前 Müller 细胞 GMT 的相关研究主要聚焦在功能和表型方面,且在相关标志蛋白的检测方面存在一定的争议。GFAP 被认为是星形胶质细胞的标志物,但也可以由 Müller 细胞表达,作为视网膜应激的指标,在多种视网膜疾病中表达升高^[16-18]。有研究发现,在转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)刺激下,Müller 细胞中谷氨酰胺合成酶(glutamine synthetase, GS)表达明显降低^[19-20]。Liu 等^[21]发现乙酰胆碱可逆转链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导的 DR 小鼠模型中视网膜 Müller 细胞上的 GS 表达降低和 GFAP 的表达升高,并抑制新生血管形成。McGillem 等^[22]分离了兔视网膜 Müller 细胞,培养 2 d 后 GFAP 和 GS 开始持续表达,6 d 后 α -SMA 表达逐渐增多,至传代后期甚至出现了 GFAP 的表达缺失,且伴随着 Müller 细胞形态的改变。McGillem 等^[23]在另一项研究中将兔原代 Müller 细胞注射到兔玻璃体腔中以制作 PVR 模型,对眼球视网膜切片进行抗原标定时发现,位于色素上皮层部分的 Müller 细胞大量表达 α -SMA,而与对照相比,GFAP 的表达无明显变化。Limb 等^[24]成功分离培养出经典的永生化 Müller 细胞系(MIO-M1),在对其

进行免疫荧光鉴定时发现,MIO-M1 可同时表达 GFAP 及间质细胞标志物 α -SMA,证实 Müller 细胞可发生表型转换。

以上研究表明,Müller 细胞的标志蛋白 GFAP 和 GS 的表达在体内、体外、不同疾病以及疾病不同阶段存在一定差异,有待进一步深化研究;但相关研究在 Müller 细胞发生 GMT 的检测上也存在一定共识,即发生 GFAP 或 GS 与间质标志物 α -SMA 的同时表达,同时伴随着 Müller 细胞形态和功能的转变。

2 GMT 在视网膜疾病中的作用

EMT 分为三种类型,1 型 EMT 主要与胚胎发育相关,2 型 EMT 主要与损伤修复、组织再生和器官纤维化相关,3 型 EMT 主要涉及恶性肿瘤相关的表型转化和侵袭^[25]。胶质瘤的 GMT 主要与 3 型 EMT 相关,而 Müller 细胞 GMT 与 2 型 EMT 的特点类似,主要参与视网膜纤维化疾病的病理过程。

2.1 糖尿病视网膜病变 糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病导致的视网膜微血管损害所引起的一系列病变,主要分为非增殖性 DR(non proliferative diabetic retinopathy, NPDR)和增殖性 DR(proliferative diabetic retinopathy, PDR)^[26]。病理性新生血管的形成是 PDR 主要标志。新生血管的形成伴随纤维血管膜(fibrovascular membrane, FVM)的形成,其特征是以 α -SMA 为标志的肌成纤维细胞的大量形成和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的异常蓄积^[27]。由于正常视网膜上并不存在表达 α -SMA 的细胞,因而 FVM 上的肌成纤维细胞必定来自其他类型细胞的转化和迁移,包括 GMT、内皮细胞间质转化(endothelial-mesenchymal transition, EndoMT)、经典的 EMT 以及巨噬细胞间质转化(macrophage-mesenchymal transition, MMT)等^[28-30]。

Müller 细胞是视网膜上最主要的大胶质细胞,贯穿视网膜全层,因而 Müller 细胞的活化迁移及转分化成可产生基质和有收缩能力的肌成纤维细胞可能是视网膜纤维化的关键环节^[31-32]。Yes 相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)信号通路是 Müller 细胞活化的重要调控途径^[31]。YAP 在 DR 大鼠视网膜中的表达增加,血浆来源外泌体通过靶向 YAP 信号激活 PI3K-Akt 通路促进 Müller 细胞增殖、迁移和 GMT,使用 YAP 抑制剂能阻断 Müller 细胞增生、分化和 ECM 产生^[33]。ECM 硬度增加可刺激 YAP 活化和促纤维化因子表达,进而诱导 Müller 细胞持续活化并分化为肌成纤维细胞;ECM 的产生促进了肌成纤维细胞的增殖,从而进一步增加了 ECM 的硬度并刺激了 YAP 的激活,这种 ECM-YAP-GMT-ECM 构成的正反馈环路导致视网膜纤维化的持续形成^[34],为临床探索靶向 YAP 信号通路抑制 GMT 从而治疗 DR 视网膜纤维化奠定了理论基础。

Kim 等^[27]对 11 例 PDR 患者的 FVM 进行了特定标记物表征及细胞分离培养,首先在对 6 例 FVM 的免疫组化标记中发现血管周围和基质内存在 GFAP 及 α -SMA 的共定位,随后对余下的 FVM 进行体外分离并成功传代 α -SMA、CD31、GFAP 阳性的 3 种细胞,表明 GMT 参与了

Müller细胞转分化过程,同时也证明此过程还涉及 EndoMT 过程。Zhou 等^[35]在对 FVM 的免疫组化分析中也发现了 GMT 现象,同时通过对 STZ 诱导的糖尿病小鼠视网膜切片进行免疫荧光共定位分析发现 Müller 细胞上 α -SMA 及 N-钙粘蛋白表达明显增高,该研究还发现,Snail 在促进 Müller 细胞发生 GMT 的同时还促进了 Müller 细胞 GFAP 的表达,表明 Müller 细胞的活化与转分化之间可能存在某种串扰关系。Xue 等^[36]发现,人参皂苷 Rg1 可逆转高糖诱导的 Müller 细胞间质标志物 α -SMA、N-钙粘蛋白的表达上调,表明 Rg1 可通过抑制 Müller 细胞 GMT 发挥一定的抗纤维化作用。Luo 等^[37]对暴露于含有 TGF- β 1 的高糖培养液的 Müller 细胞进行检测后发现, α -SMA 和纤维粘连蛋白 (fibronectin, FN) 的表达明显增高,同时 Müller 细胞迁移功能增强,表明高糖和 TGF- β 1 可协同促进 Müller 细胞的活化及 GMT 过程。Wu 等^[32]研究发现, TGF- β 诱导的 GMT 和血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 诱导的视网膜血管生成介导了 Müller 细胞向肌成纤维细胞的转分化过程,并促进了 DR 视网膜纤维化的进展。

研究表明,FVM 微血管密度、GFAP 表达量与 PDR 分期呈正相关^[38-39]。陈松教授团队使用 CD31 荧光染色量化微血管密度,并首次采用 GMT 指数 (GFAP/ α -SMA 的相对表达比) 这一指标半量化 FVM 的 GMT 程度,并评价玻璃体腔内注射雷珠单抗对 PDR 患者血管生成及 Müller 细胞胶质活性的影响。结果表明,雷珠单抗可明显降低 FVM 上微血管密度以及 Müller 细胞胶质活性,促进 GMT 过程和 α -SMA 的表达,并导致 FVM 的成熟及收缩性增强^[39]。类似研究^[40]指出,抗 VEGF 治疗后会增加 FVM 的收缩力。雷珠单抗可导致 Müller 细胞中炎症因子白介素-18 (interleukin, IL-18) 以及 TGF- β 等促进细胞转型和纤维化相关因子的释放^[41-42]。微血管密度降低的可能机制是 EndoMT 引起的血管收缩和 CD31 表达减少,并诱导 FVM 中血管内皮细胞凋亡^[43]。单纯的抗 VEGF 治疗虽然降低了新生血管密度,但也增加了血管纤维化风险,因而有学者提出双靶点治疗的策略,即抑制视网膜新生血管和抑制纤维化在 DR 的治疗中同样重要。

Müller 细胞的 GMT 过程还参与了糖尿病性黄斑水肿的形成。DR 患者的内界膜上附着多种细胞成分,包括胶质细胞、肌成纤维细胞、巨噬细胞和多种炎症细胞,且 GFAP 及 α -SMA 呈现高表达,表明内界膜上出现了胶质细胞的活化及间质转化^[29]。Müller 胶质细胞的活化增多为 α -SMA 阳性的肌成纤维细胞提供了收缩的支架,并产生切向牵引导致视网膜增厚。DR 患者内界膜中 IV 型胶原蛋白增多,同时出现了原本不存在的纤维粘连蛋白 (FN 阳性) 和肌成纤维细胞蛋白 (α -SMA 阳性),暗示了 Müller 细胞介导的 GMT 和纤维化过程可能通过改变内界膜上细胞的蛋白成分而影响内界膜厚度^[44-45]。以上研究提示:高糖刺激导致 Müller 细胞增生与转分化,进而引起内界膜厚度的增加和玻璃体黄斑界面牵引力的增加,促进黄斑水肿的形成。

Hu 等^[46]通过对 FVM 进行单细胞测序研究发现,

FVM 上表达 I 型胶原 (COL1A1、COL1A2),表明成纤维细胞参与 FVM 形成;免疫荧光发现小胶质细胞标志物 IBA1 和 FN 存在共定位,表明小胶质细胞 GMT 在 FVM 的形成过程中也发挥重要作用。

2.2 特发性黄斑前膜和黄斑裂孔 特发性黄斑前膜 (idiopathic epiretinal membrane, iERM) 是肌成纤维细胞在视网膜前增殖形成的无血管纤维膜。肌成纤维细胞的增殖、迁移和转分化被认为是 iERM 形成和进展的关键环节,并与 ECM 和胶原的形成以及收缩活性的产生密切相关^[19]。超微结构观察、免疫组化分析以及基因表达分析表明,多种细胞类型如神经胶质细胞 (包括小胶质细胞、Müller 细胞和星形胶质细胞)、透明细胞、视网膜色素上皮细胞、血源性免疫细胞和肌成纤维细胞等被确定参与 iERM 形成,其中 Müller 细胞、透明细胞和肌成纤维细胞是 iERM 中最主要的细胞类型^[47-48]。

Bu 等^[49]检测了 iERM 患者黄斑前膜标本后发现了 GFAP 和 α -SMA 的共定位,证实 GMT 促进了视网膜前膜的形成;体外研究发现,Müller 细胞和透明细胞产生的 TGF- β 1 可通过自分泌或旁分泌的方式促进 Müller 细胞表达 α -SMA 和 I 型胶原,从而促进细胞收缩性和胶原沉积。Krishna Chandran 等^[50]报道了玻璃体成分诱导的 GMT 在 iERM 形成过程中起关键作用。根据不同 iERM 玻璃体成分对 GMT 相关基因表达的影响差异将 GMT 分为“完全 GMT”和“部分 GMT”两种形式,“完全 GMT”的 Müller 细胞同时发生视黄醇结合蛋白 1 (retinaldehyde-binding protein 1, RLBP1) 和 GFAP 的下调以及成纤维细胞标记物肌动蛋白 α 2 (actin alpha 2, ACTA2) 和转胶蛋白 (transgelin, TAGLN) 的显著上调;而对照组玻璃体样品对 Müller 细胞 ACTA2 和 TAGLN 的表达没有影响,仅引起 RLBP1 和 GFAP 的表达下调,故称之为“部分 GMT”。由于该研究是直接玻璃体成分用于体外刺激 Müller 细胞,未对 iERM 发病前后玻璃体成分差异进行检测,因而无法区分玻璃体成分变化与 GMT 或黄斑前膜之间的因果关系。Song 等^[51]探讨了 IL-4 对白内障术后 iERM 形成及早期进展的影响。iERM 患者白内障术前房水样本中 IL-4 浓度明显高于无 iERM 的白内障患者,体外研究表明,IL-4 可通过不依赖于 TGF- β 1 的方式刺激 Müller 胶质细胞增殖、迁移和 GMT,在 iERM 形成中发挥重要的促纤维化作用。

黄斑裂孔是一种具有复杂发病机制的玻璃体黄斑界面疾病。Müller 细胞末端参与形成玻璃体黄斑界面,是黄斑牵引力产生的重要介质和响应者,因而存在 Müller 细胞发生转分化及纤维化的结构基础^[52]。Bu 等^[53]获取了与黄斑裂孔形成相关的黄斑前膜标本进行检测后发现,细胞增殖明显的黄斑前膜术中内界膜的剥离难度较大,密集增殖的细胞存在 GFAP 和 α -SMA 的共定位以及 I 型、III 型和 V 型胶原沉积,表明 Müller 细胞转分化参与了黄斑裂孔相关 ERM 的形成;ERM 中新形成的胶原和增殖的细胞可以诱导玻璃体视网膜粘连增强,促进黄斑裂孔形成,也导致手术难度的增加。Schumann 等^[54]也发现黄斑裂孔的形成与内界膜上细胞的迁移和增殖有关,透射电镜和免疫组

化结果表明内界膜上胶质细胞和透明细胞占主导地位,且在胶质细胞和透明细胞中均出现了 α -SMA的表达。因而胶质细胞的增殖和转分化导致的玻璃体视网膜界面的切向牵引力增加可能是黄斑裂孔进展的主要原因之一。

2.3 年龄相关性黄斑变性 年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, ARMD)是老年人群低视力乃至失明的主要原因^[55]。新生血管性 ARMD(neovascular age-related macular degeneration, nARMD)也称为渗出性或湿性 ARMD,占 ARMD 相关病变所致视力损失的90%以上^[55]。纤维化瘢痕形成是 nARMD 患者预后差的重要指标,因而及时破解视网膜下纤维化的分子机制具有重要意义。同其他纤维化疾病类似,视网膜下纤维化特点也是肌成纤维细胞的大量形成以及 ECM 蛋白的过量沉积,其细胞成分还包括神经胶质细胞、免疫细胞和视网膜色素上皮细胞等^[56-57]。

研究^[56]表明,中枢神经系统中的纤维化病灶包含致密的胶质瘢痕,该瘢痕主要由胶质细胞构成,可将炎症局限于病灶核心,以减少周围正常神经组织的损伤。Jo 等^[58]采用激光灼伤 Bruch 膜及视网膜下注射巨噬细胞的方法建立小鼠视网膜下纤维化模型,免疫组化发现视网膜下 α -SMA的表达初步验证了模型的可靠性;为进一步评估模型的效率,GFAP 作为间接指标用于量化纤维化面积,结果发现大部分 GFAP 阳性区域呈瘢痕状,且免疫荧光实验发现 GFAP 与直接纤维化指标 I 型胶原存在几乎重合的共定位表达,表明巨噬细胞可促进胶质细胞发生 GMT 从而促进视网膜下纤维化。该研究^[58]还发现活化的巨噬细胞可促进 RPE 细胞分泌炎症因子诱导自身 EMT 参与视网膜下纤维化进程,表明 GMT 和 EMT 之间可能存在一定串扰或级联放大机制,协同促进疾病进程。

Yi 等^[59]发现巨噬细胞标志物 F4/80 与 I 型胶原标志物 COL1 的共表达,同时在人眼黄斑纤维化组织中发现小胶质细胞标志蛋白 IBA1 和基质金属蛋白酶-12(matrix metalloproteinase-12, MMP-12)的共表达,提示巨噬细胞 MMT 和小胶质细胞 GMT 参与了纤维化过程。还有研究表明,EndoMT、周细胞-肌成纤维细胞转化(pericyte-myofibroblast transition, PMT)过程在诱导视网膜下新生血管及纤维化进程中起重要作用^[60-62]。因此,破解各种细胞转型之间的交互作用和共同靶点于 nARMD 的治疗具有重要意义。

2.4 PVR PVR 是眼外伤、孔源性视网膜脱离及玻璃体视网膜手术后的常见并发症,其主要特征是在视网膜前形成的无血管纤维膜。RPE 细胞通过 EMT 转分化形成肌成纤维细胞而导致的增殖膜的收缩是导致视网膜复位手术失败的重要原因^[63]。超微结构和免疫病理研究^[64]表明,多种细胞参与 PVR 的发生与发展,如 RPE 细胞、神经胶质细胞和肌成纤维细胞等,因而胶质细胞在 PVR 发生、发展中的作用也不容忽视。

Motulsky 等^[65]发现水通道蛋白-1(aquaporin-1, AQP1)在继发于视网膜脱离患者的 PVR 膜上有表达,且主要表达在增生膜的边缘,并分别与 α -SMA 或 GFAP 共定位;由于增生膜边缘的细胞通常是参与增殖和迁移的前

沿细胞,推测 AQP1 阳性细胞可能是转分化的胶质细胞,并因此获得较强的迁移、增殖能力,促进增生膜的形成。TGF- β 抑制剂 Galunisertib 可通过抑制 SMAD2/3 通路抑制 TGF- β 诱导的 Müller 细胞迁移、增殖以及 GMT,减少细胞的活动性和收缩性,降低视网膜前膜牵引力的形成,为玻璃体视网膜纤维收缩性疾病的治疗提供了新的干预靶点^[20]。Bu 等^[66]发现机械应力和基质硬度与纤维化密切相关,基质硬化显著促进了 α -SMA 阳性的 Müller 细胞应力纤维的有序排列,而在软性基质中培养的 Müller 细胞中 α -SMA 表达不明显,且应力纤维紊乱。在视网膜纤维化过程中,视网膜 Müller 细胞从“较软”的视网膜内环境中迁移到内界膜时遭遇到“更硬”的环境,促进了 Müller 细胞形态改变和 α -SMA 的表达,有助于 Müller 细胞获得肌成纤维细胞样表型。组织硬度的增加可以提供细胞外微环境,进一步促进视网膜 Müller 细胞中 α -SMA 的上调以及视网膜收缩;此外,TGF- β 的存在增强了这一过程中肌成纤维细胞样细胞胶原的分泌和沉积,进一步促进了 ECM 硬度的增加^[66],该研究有助于从组织工程角度寻找治疗视网膜增殖和纤维化的治疗策略。

Gerhart 等^[67]检测了 3 例继发于外伤性视网膜脱离患者的 PVR 增殖膜上 Myo/Nog 细胞及纤维化蛋白的表达。其中的 2 例切片中 80% 以上的细胞同时表达 Myo/Nog 细胞标志蛋白 G8 和 Noggin,且大多数 Myo/Nog 细胞中存在 α -SMA 的表达,提示 PVR 增殖膜中的收缩性肌成纤维细胞还可能来源于分化的 Myo/Nog 细胞。该研究为进一步破解视网膜纤维化增殖膜中收缩细胞的起源问题提供了新的思路。

3 总结与展望

综上所述,Müller 细胞 GMT 是细胞转型家族的重要成员,Müller 细胞通过 GMT 发生形态、表型和功能方面的改变,在视网膜纤维化疾病中发挥关键作用。然而,相关研究仍存在以下问题:(1) GMT 的研究并不成熟,目前并无统一的定义和检测标准,于疾病发生的早期标志物研究是个严峻挑战;(2) GMT 在相关疾病发生过程中的精确生物学效应和相关分子调控机制尚不明确;(3) Müller 细胞 GMT 与其他类型胶质细胞(小胶质细胞、星形胶质细胞) GMT 之间有何异同和关系以及 GMT 和其他细胞转型类型(如 EMT、EndoMT、MMT、PMT 等)之间的交互关系有待深入探索;(4) Müller 细胞 GMT 介导的视网膜纤维化与新生血管形成的关系以及如何平衡抗-VEGF 治疗与抗纤维化治疗的双靶点关系也是亟待解决的问题。因此,仍需进一步基础研究和临床证据的支持,从而全面揭示 GMT 在视网膜疾病中的作用机制,为相关生物标志物的探索和抗纤维化药物的临床转化提供有力的科学依据。

参考文献

- [1] Zhang J, Green CR, Mugisho OO. Cell transdifferentiation in ocular disease: potential role for connexin channels. *Exp Cell Res*, 2021, 407(2):112823.
- [2] Mahabir R, Tanino M, Elmansuri A, et al. Sustained elevation of Snail promotes glial-mesenchymal transition after irradiation in malignant glioma. *Neuro Oncol*, 2014, 16(5):671-685.
- [3] Reichenbach A, Bringmann A. Glia of the human retina. *Glia*,

2020,68(4):768–796.

[4] Neftel C, Laffy J, Filbin MG, et al. An integrative model of cellular states, plasticity, and genetics for glioblastoma. *Cell*, 2019,178(4):835–849.

[5] Lu J, Zhao J, Jia C, et al. FPR2 enhances colorectal cancer progression by promoting EMT process. *Neoplasma*, 2019,66(5):785–791.

[6] Grasset EM, Dunworth M, Sharma G, et al. Triple-negative breast cancer metastasis involves complex epithelial–mesenchymal transition dynamics and requires vimentin. *Sci Transl Med*, 2022,14(656):eabn7571.

[7] Dongre A, Weinberg RA. New insights into the mechanisms of epithelial–mesenchymal transition and implications for cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019,20(2):69–84.

[8] Mikheeva SA, Mikheev AM, Petit A, et al. TWIST1 promotes invasion through mesenchymal change in human glioblastoma. *Mol Cancer*, 2010,9:194.

[9] Carro MS, Lim WK, Alvarez MJ, et al. The transcriptional network for mesenchymal transformation of brain tumours. *Nature*, 2010,463(7279):318–325.

[10] Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014,15(3):178–196.

[11] Setlai BP, Hull R, Reis RM, et al. MicroRNA interrelated epithelial mesenchymal transition (EMT) in glioblastoma. *Genes*, 2022,13(2):244.

[12] 刘晨宇, 张喜梅, 岳慧芳, 等. Müller 细胞在黄斑裂孔发生和发展中作用的研究进展. *中华眼科杂志*, 2023,59(11):948–953.

[13] 李雪, 李晓华. 视网膜胶质细胞与增生性玻璃体视网膜病变形成的关联. *中华实验眼科杂志*, 2022,40(12):1197–1201.

[14] Li H, Chen DL, Sun W, et al. KATP opener attenuates diabetic-induced Müller gliosis and inflammation by modulating Kir6.1 in microglia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2021,62(2):3.

[15] 李传旭, 梁林晖, 景连喜, 等. 体外培养视网膜 Müller 细胞损伤后早期的反应性改变. *国际眼科杂志*, 2012,12(8):1455–1458.

[16] 张悦, 刘含若. Müller 细胞在视网膜疾病发病机制中的作用. *国际眼科纵览*, 2022,46(2):179–184.

[17] Yu Y, Xue SD, Chen KQ, et al. The G–protein–coupled chemoattractant receptor Fpr2 exacerbates neuroglial dysfunction and angiogenesis in diabetic retinopathy. *FASEB Bioadv*, 2020,2(10):613–623.

[18] Yu Y, Bao ZY, Wang XF, et al. The G–protein–coupled chemoattractant receptor Fpr2 exacerbates high glucose–mediated proinflammatory responses of Müller glial cells. *Front Immunol*, 2017,8:1852.

[19] Kanda A, Noda K, Hirose I, et al. TGF- β -SNAIL axis induces Müller glial–mesenchymal transition in the pathogenesis of idiopathic epiretinal membrane. *Sci Rep*, 2019,9(1):673.

[20] da Silva RA, de Paiva Roda VM, Akamine PS, et al. Blockade of the TGF- β pathway by galunisertib inhibits the glial–mesenchymal transition in Müller glial cells. *Exp Eye Res*, 2023,226:109336.

[21] Liu QP, Zhang X, Qin YZ, et al. Acetylcholinesterase inhibition ameliorates retinal neovascularization and glial activation in oxygen–induced retinopathy. *Int J Ophthalmol*, 2020,13(9):1361–1367.

[22] McGillem GS, Guidry C, Dacheux RF. Antigenic changes of rabbit retinal Müller cells in culture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1998,39(8):1453–1461.

[23] McGillem GS, Dacheux RF. Rabbit retinal Müller cells undergo

antigenic changes in response to experimentally induced proliferative vitreoretinopathy. *Exp Eye Res*, 1999,68(5):617–627.

[24] Limb GA, Salt TE, Munro PM, et al. In vitro characterization of a spontaneously immortalized human Müller cell line (MIO-M1). *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002,43(3):864–869.

[25] Debnath P, Huiem RS, Dutta P, et al. Epithelial–mesenchymal transition and its transcription factors. *Biosci Rep*, 2022,42(1):BSR20211754.

[26] Lin KY, Hsieh WH, Lin YB, et al. Update in the epidemiology, risk factors, screening, and treatment of diabetic retinopathy. *J Diabetes Investig*, 2021,12(8):1322–1325.

[27] Kim LA, Wong LL, Amarnani DS, et al. Characterization of cells from patient–derived fibrovascular membranes in proliferative diabetic retinopathy. *Mol Vis*, 2015,21:673–687.

[28] Lou XY, Liu S, Shi J, et al. The G–protein–coupled formyl peptide receptor 2 promotes endothelial–mesenchymal transition in diabetic retinopathy. *Ophthalmic Res*, 2023,66(1):681–691.

[29] 刘爽, 俞莹. 内皮细胞间质转化在糖尿病视网膜病变发病机制中的作用. *国际眼科纵览*, 2021,45(2):110–117.

[30] Yoshida S, Nakama T, Ishikawa K, et al. Periostin in vitreoretinal diseases. *Cell Mol Life Sci*, 2017,74(23):4329–4337.

[31] 张惟, 陈松. Hippo–Yap 信号通路在视网膜疾病中的作用研究进展. *中华眼底病杂志*, 2022,38(10):867–871.

[32] Wu D, Kanda A, Liu Y, et al. Involvement of Müller glial autoinduction of TGF- β in diabetic fibrovascular proliferation *via* glial–mesenchymal transition. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2020,61(14):29.

[33] Zhang W, Jiang H, Kong YC. Exosomes derived from platelet-rich plasma activate YAP and promote the fibrogenic activity of Müller cells *via* the PI3K/Akt pathway. *Exp Eye Res*, 2020,193:107973.

[34] Zhang W, Kong YC. YAP is essential for TGF- β -induced retinal fibrosis in diabetic rats *via* promoting the fibrogenic activity of Müller cells. *J Cell Mol Med*, 2020,24(21):12390–12400.

[35] Zhou T, Che D, Lan YQ, et al. Mesenchymal marker expression is elevated in Müller cells exposed to high glucose and in animal models of diabetic retinopathy. *Oncotarget*, 2017,8(3):4582–4594.

[36] Xue LP, Fu XL, Hu M, et al. Rg1 inhibits high glucose–induced mesenchymal activation and fibrosis *via* regulating miR–2113/RP11–982M15.8/Zeb1 pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018,501(4):827–832.

[37] Luo WT, Hu LM, Li WY, et al. Epo inhibits the fibrosis and migration of Müller glial cells induced by TGF- β and high glucose. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2016,254(5):881–890.

[38] Le YZ. VEGF production and signaling in Müller Glia are critical to modulating vascular function and neuronal integrity in diabetic retinopathy and hypoxic retinal vascular diseases. *Vision Res*, 2017,139:108–114.

[39] Liang ZY, Wang YP, Li J, et al. Effect of intravitreal ranibizumab on fibrovascular membranes in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Int J Ophthalmol*, 2022,15(10):1577–1585.

[40] Pattwell DM, Stappeler T, Sheridan C, et al. Fibrous membranes in diabetic retinopathy and bevacizumab. *Retina*, 2010,30(7):1012–1016.

[41] Song S, Yu XB, Zhang P, et al. Increased levels of cytokines in the aqueous humor correlate with the severity of diabetic retinopathy. *J Diabetes Complications*, 2020,34(9):107641.

[42] Forooghian F, Kertes PJ, Eng KT, et al. Alterations in intraocular cytokine levels following intravitreal ranibizumab. *Can J Ophthalmol*, 2016,51(2):87–90.

- [43] Abu El-Asrar AM, De Hertogh G, van den Eynde K, et al. Myofibroblasts in proliferative diabetic retinopathy can originate from infiltrating fibrocytes and through endothelial-to-mesenchymal transition (EndoMT). *Exp Eye Res*, 2015,132:179-189.
- [44] Tamura K, Yokoyama T, Ebihara N, et al. Histopathologic analysis of the internal limiting membrane surgically peeled from eyes with diffuse diabetic macular edema. *Jpn J Ophthalmol*, 2012,56(3):280-287.
- [45] To M, Goz A, Camenzind L, et al. Diabetes-induced morphological, biomechanical, and compositional changes in ocular basement membranes. *Exp Eye Res*, 2013,116:298-307.
- [46] Hu ZZ, Mao XY, Chen MK, et al. Single-cell transcriptomics reveals novel role of microglia in fibrovascular membrane of proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes*, 2022,71(4):762-773.
- [47] 张红梅,刘洪涛. 特发性黄斑前膜形成的危险因素及发生机制的研究现状. *中华眼底病杂志*, 2021,37(8):651-655.
- [48] da Silva RA, de Paiva Roda VM, Matsuda M, et al. Cellular components of the idiopathic epiretinal membrane. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2022,260(5):1435-1444.
- [49] Bu SC, Kuijjer R, van der Worp RJ, et al. Immunohistochemical evaluation of idiopathic epiretinal membranes and *in vitro* studies on the effect of TGF- β on Müller cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015,56(11):6506-6514.
- [50] Krishna Chandran AM, Coltrini D, Belleri M, et al. Vitreous from idiopathic epiretinal membrane patients induces glial-to-mesenchymal transition in Müller cells. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2021,1867(10):166181.
- [51] Song P, Li PF, Huang ZY, et al. Pro-fibrotic role of interleukin-4 in influencing idiopathic epiretinal membrane in cataract patients: analysis from clinical-experimental approaches. *Transl Vis Sci Technol*, 2023,12(11):23.
- [52] 步绍翀,李筱荣. 玻璃体视网膜界面细胞外基质蛋白的分子生物学. *中华眼底病杂志*, 2013,29(5):547-551.
- [53] Bu SC, Kuijjer R, van der Worp RJ, et al. Glial cells and collagens in epiretinal membranes associated with idiopathic macular holes. *Retina*, 2014,34(5):897-906.
- [54] Schumann RG, Eibl KH, Zhao F, et al. Immunocytochemical and ultrastructural evidence of glial cells and hyalocytes in internal limiting membrane specimens of idiopathic macular holes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011,52(11):7822-7834.
- [55] 中华医学会眼科学分会眼底病学组,中国医师协会眼科医师分会眼底病学组. 中国年龄相关性黄斑变性临床诊疗指南(2023年). *中华眼科杂志*, 2023,59(5):347-366.
- [56] Tenbrock L, Wolf J, Boneva S, et al. Subretinal fibrosis in neovascular age-related macular degeneration: current concepts, therapeutic avenues, and future perspectives. *Cell Tissue Res*, 2022,387(3):361-375.
- [57] Little K, Ma JH, Yang N, et al. Myofibroblasts in macular fibrosis secondary to neovascular age-related macular degeneration - the potential sources and molecular cues for their recruitment and activation. *EBioMedicine*, 2018,38:283-291.
- [58] Jo YJ, Sonoda KH, Oshima Y, et al. Establishment of a new animal model of focal subretinal fibrosis that resembles disciform lesion in advanced age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011,52(9):6089-6095.
- [59] Yi CJ, Liu J, Deng W, et al. Macrophage elastase (MMP12) critically contributes to the development of subretinal fibrosis. *J Neuroinflammation*, 2022,19(1):78.
- [60] Zhao ZZ, Zhang YM, Zhang CY, et al. TGF- β promotes pericyte-myofibroblast transition in subretinal fibrosis through the Smad2/3 and Akt/mTOR pathways. *Exp Mol Med*, 2022,54(5):673-684.
- [61] Zou R, Feng YF, Xu YH, et al. Yes-associated protein promotes endothelial-to-mesenchymal transition of endothelial cells in choroidal neovascularization fibrosis. *Int J Ophthalmol*, 2022,15(5):701-710.
- [62] Wang HB, Ramshekar A, Kunz E, et al. 7-ketocholesterol induces endothelial-mesenchymal transition and promotes fibrosis: implications in neovascular age-related macular degeneration and treatment. *Angiogenesis*, 2021,24(3):583-595.
- [63] Guenther SR, Schumann RG, Hagenau F, et al. Comparison of surgically excised premacular membranes in eyes with macular pucker and proliferative vitreoretinopathy. *Curr Eye Res*, 2019,44(3):341-349.
- [64] 杨俊楠,包秀丽. 微小RNA调控增生性玻璃体视网膜膜病变的研究进展. *国际眼科杂志*, 2022,22(1):67-70.
- [65] Motulsky E, Salik D, Janssens X, et al. Aquaporin-1 expression in proliferative vitreoretinopathy and in epiretinal membranes. *Sci World J*, 2014,2014:876208.
- [66] Bu SC, Kuijjer R, van der Worp RJ, et al. Substrate elastic modulus regulates the morphology, focal adhesions, and α -smooth muscle actin expression of retinal Müller cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015,56(10):5974-5982.
- [67] Gerhart J, Morrison N, Gugerty L, et al. Myo/Nog cells expressing muscle proteins are present in preretinal membranes from patients with proliferative vitreoretinopathy. *Exp Eye Res*, 2020,197:108080.