DOI:10.16016/j.1000-5404.201907167

Angptl2 通过 PirB 激活视网膜 Müller 细胞参与眼内炎症

黄 瑶,范 围,杨 梅,袁容娣 400037 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院眼科

[摘要] **目的** 探讨血管生成素样蛋白 2(angiopoietin-like protein 2,Angptl2)在眼内促进炎症的作用和机制。**方法** 实验组大鼠玻璃体腔注射 0.2 mg LPS,对照组加入等量 PBS,RT-PCR 检测两组大鼠视网膜 Angptl2 的表达。以原代培养的 SD 大鼠视网膜 Müller 细胞为研究对象,加入外源性 Angptl2 后,细胞计数观察 Müller 细胞增殖变化,免疫荧光观察 Müller 细胞 GFAP 的表达以及 RT-PCR 检测促炎因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 的表达变化。免疫荧光观察配对免疫球蛋白样受体 B(paired immunoglobulin-like receptorB,PirB)在 Müller 细胞上的表达;Müller 细胞外源性加入 Angptl2 后,再分别转染 Ad-PirB-siRNA 腺病毒载体和腺病毒对照 Ad-C,分为 PBS 对照组、Angptl2 组、Ad-C+Angptl2 组、Ad-PirB-siRNA+Angptl2 组,RT-PCR 观察炎症因子的表达变化。**结果** LPS 组 Angptl2 mRNA 表达较对照组明显增加($P<0.05$);Angptl2 组较 PBS 对照组 Müller 细胞增殖增多,GFAP 表达增加,IL-1β、IL-6、TNF-α 表达也增加,差异具有统计学意义($P<0.05$);Müller 细胞表达 Angptl2 的配体 PirB,Ad-PirB-siRNA 干扰 Müller 细胞 PirB 表达后,Ad-PirB-siRNA+Angptl2 组较 Angptl2 组和 Ad-C+Angptl2 组炎症因子 IL-6、TNF-α 降低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** Angptl2 通过 PirB 激活 Müller 细胞分泌促炎因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 参与眼内炎症。

[关键词] 血管生成素样蛋白 2;配对免疫球蛋白样受体 B;视网膜;Müller 细胞;炎症
[中图法分类号] R322.91; R363.21; R364.5 [文献标志码] A

Angptl2 mediates intraocular inflammation by activating Müller cells through PirB

HUANG Yao, FAN Wei, YANG Mei, YUAN Rongdi Department of Ophthalmology, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400037, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the pro-inflammatory effects and mechanisms of angiopoietin-like protein 2 (Angptl2) in the eyes. **Methods** SD rats (8 weeks old) were given a single intravitreal injection of 0.2 mg LPS or PBS to establish intraocular inflammation model or sham operation. Then the Angptl2 expression in the retina was examined by real-time PCR (RT-PCR). Müller cells were isolated from the retina of newborn SD rats (with 24 h after born). After the obtained cells were purified and identified, the recombinant Angptl2 was added to the primarily cultured cells. Cell count, immunofluorescence assay and RT-PCR were used to assess the proliferation of Müller cells, the expression of GFAP, and levels of interleukin-1 beta (IL-1β), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor (TNF-α), respectively. The expression of Angptl2 ligand, paired immunoglobulin-like receptor B (PirB), in the Müller cells was observed by immunofluorescence assay. RT-PCR was employed to observed the expression of IL-6 and TNF-α in the Müller cells of PBS group, Angptl2 group, Ad-C (transfection of adenovirus negative control Ad-C)+Angptl2 group, and Ad-PirB-siRNA (transfection of adenovirus Ad-PirB-siRNA)+Angptl2 group. **Results** The mRNA level of Angptl2 was increased notably in the retina of the LPS-treated rats (intraocular inflammation model) than the control rats ($P<0.05$). Exogenous Angptl2 treatment resulted in higher proliferation rate, expression of GFAP and the levels of IL-1β, IL-6 and TNF-α in Müller cells ($P<0.05$). PirB was expressed in the retinal Müller cells. Interference of PirB by adenovirus Ad-PirB-siRNA significantly decreased the levels of IL-6 and TNF-α ($P<0.05$). **Conclusion** Angptl2 mediates acute intraocular inflammation by activating Müller cells

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81470630)
[通信作者] 袁容娣,E-mail:1253450264@qq.com

to secrets IL-1β, IL-6 and TNF-α though PirB.

[**Key words**] angiopoietin-like protein 2; paired immunoglobulin-like receptor B; retina; Müller cells; inflammation

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81470630). Corresponding author: YUAN Rongdi, E-mail: 1253450264@qq.com

血管生成素样蛋白2(angiopoietin-like protein 2, Angptl2)属于血管生成素样蛋白家族(angiopoietin-like proteins,ANGPTLs),是一种分泌性糖蛋白,在全身各个器官中都有表达。在缺氧、高压、炎症等刺激下,Angptl2表达会增高[1-2]。它在全身各种急慢性炎症中被认为是重要的炎症诱导因子[3-5]。炎症性病变在眼内也非常常见,如眼内炎、视网膜炎、葡萄膜炎等。研究表明当眼内发生炎症性病变时,Angptl2的mRNA表达也会增高,并可诱导巨噬细胞向眼内迁移,释放IL-1β、IL-6和TNF-a等促炎因子[6-7]。但Angptl2在眼内诱导炎症的机制及通路尚不完全明确。既往研究表明Angptl2诱导炎症的主要机制是通过结合单核/巨噬细胞来促进促炎症因子的释放[8-9],而视网膜中缺乏单核/巨噬细胞,Müller胶质细胞被认为是视网膜炎症因子的主要来源[10]。因此,我们推测Angptl2可能激活视网膜Müller细胞参与眼内炎症。本研究旨在证明Angptl2在眼内促进炎症的作用和机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞 提取的原代Müller细胞来自于SD新生大鼠(24 h之内),雌雄不限。

1.1.2 主要试剂 Angptl2抗体(R&D systems,美国),重组Angptl2(R&D systems,美国),PirB一抗(R&D systems,美国),Ad-PirB-siRNA(R&Dsystems,美国),LPS(碧云天)。IL-1β正向引物:5′-GAGTCTGCACAGTTCCCCAA-3′,反向引物:5′-ATGTCCCGACCATTGCTGTT-3′;IL-6正向引物:5′-ACCCCAACTTCCAATGCTCT-3′,反向引物:5′-GGTTTGCCGAGTAGACCTC-3′;TNF-α正向引物:5′-AACACACGAGACGCTGAAGT-3′,反向引物:5′-TCCAGTGAGTTCCGAAAGCC-3′(擎瑞科技)。

1.2 实验方法

1.2.1 急性眼内炎症模型的诱导 SD大鼠雄性,8周龄,体质量180~200 g,由陆军军医大学大坪医院实验动物中心提供[许可证号:SCXK(渝)20020003]。实验组大鼠单眼玻璃体腔注射用PBS稀释的0.2 mg LPS(R&D,美国)[7],对照组注射同等体积的PBS,所有大鼠在LPS注射6 h后检测视网膜基因的表达。

1.2.2 Müller原代细胞培养 SD大鼠(出生24 h之内)用75%乙醇消毒、处死,立即摘取眼球置于含10% FBS的DMEM培养基中,于37 ℃ CO_2培养箱中孵育24 h,解剖显微镜下沿角巩膜缘剪除角膜,显微镊夹出晶状体以及玻璃体,分离出视网膜,剪碎,转移到含10% FBS的4 mL DMEM培养基中,37 ℃ CO_2培养箱中孵育3~5 d后换液,7 d后传代。

1.2.3 Müller细胞纯度鉴定 将Müller细胞依次用4%多聚甲醛室温固定,0.1% Triton打孔,10%山羊血清封闭,分别加入一抗(兔单克隆抗Vimentin 1∶200)以及PBS代替一抗做阴性对照,4 ℃孵育过夜。第2天,两组皆加入羊抗兔荧光二抗(1∶300),DAPI染核(1∶1 000)。荧光显微镜下每孔细胞在左上、右上、中、左下、右下等5个区域,每个区域拍一张照片,对Vimentin阳性表达细胞计数。Müller细胞纯度=Vimentin阳性细胞表达数/DAPI核染阳性细胞总数×100%。

1.2.4 细胞计数板计数观察Müller细胞的增殖 以最终浓度1 μg/mL的外源性Angptl2加入Müller细胞中,培养0、6、18、24 h后,用胰酶消化Müller细胞,离心,去上清,加入200 μL DMEM轻轻吹打混匀,取20 μL滴于细胞计数板上,在计数仪上读取数值。重复3次取均值。

1.2.5 免疫荧光观察Müller细胞胶质激活以及PirB在Müller细胞中的表达 将Müller细胞按照完全随机法分为实验组和对照组,实验组加入以最终浓度1 μg/mL的外源性Angptl2,对照组加入等体积PBS,37 ℃ CO_2培养箱中培养24 h。4%多聚甲醛(PFA)固定,0.1% Triton穿孔,室温封闭30 min,倾去,勿洗;滴加一抗(PirB山羊抗大鼠单克隆抗体,1∶200,GFAP:抗大鼠1∶150,PBS稀释,PBS代替一抗为阴性对照组),4 ℃孵育过夜;以下步骤注意避光:PBS清洗,滴加二抗(FITC标记驴抗山羊IgG,1∶150,FITC标记的兔抗大鼠IgG,1∶150,PBS稀释),37 ℃孵育90 min,PBS清洗;抗淬灭封片剂封片;荧光显微镜下照相。

1.2.6 Western blot检测Ad-PirB-siRNA的干扰效率 将Müller细胞按照完全随机法分为实验组和对照组,实验组加入Ad-PirB-siRNA腺病毒载体,对照组加入同等体积腺病毒对照Ad-C 0.5 μL,培养5 d,蛋白提取,SDS-PAGE电泳,一抗(山羊抗大鼠PirB多克隆抗体,1∶1 000,5%脱脂奶粉稀释;小鼠抗大鼠β-actin单克隆抗体,1∶1 000,5%脱脂奶粉稀释)4 ℃摇床孵育过夜,TBST漂洗;二抗(HRP标记的驴抗山羊IgG,兔抗小鼠IgG,1∶5 000,5%脱脂奶粉稀释)室温摇床孵育2 h,TBST漂洗;PVDF膜曝光。

1.2.7　Real-time PCR 检测 Müller 细胞中炎症因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 的表达　　实验分为 2 大组,第 1 大组:实验组中 Müller 细胞加入以最终浓度 1 μg/mL 的外源性 Angptl2,对照组中 Müller 细胞加同等体积 PBS,37 ℃ CO_2 培养箱培养 24 h;第 2 大组:Müller 细胞外源性加入 Angptl2 后,再分别转染 Ad-PirB-siRNA 腺病毒载体和腺病毒对照 Ad-C,分为 PBS 对照组、Angptl2 组、Ad-C+Angptl2 组、Ad-PirB-siRNA+Angptl2 组。采用 TRIzol Reagent 提取总 RNA,参照 PrimeScript™ RT reagent Kit 试剂盒说明对 RNA 进行逆转录,再采用 SYBR® Premix *Ex Taq*™ Ⅱ进行荧光定量 PCR 检测各组炎症因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 的 mRNA 表达。

1.3　统计学分析

使用 SPSS 21.0 统计软件进行分析,相对表达量以 $\bar{x}\pm s$ 表示,2 组间差异比较采用 t 检验,4 组间差异比较采用方差分析,差异有统计学意义时进一步用 LSD 法做两两比较,检验水准:$\alpha=0.05$。

2　结果

2.1　LPS 诱导眼内 Angptl2 的 mRNA 表达增加

LPS 玻璃体腔注射后,RT-PCR 显示实验组大鼠的 Angptl2 mRNA(2.153±0.129)表达较对照组(1.001±0.055)明显增高,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

2.2　Angptl2 激活 Müller 细胞增殖

在 Müller 细胞中加入外源性 Angptl2 后,Angptl2 组与 PBS 对照组的 24 h 细胞增殖率分别为 478%、103%,24 h 的细胞计数曲线显示 Angptl2 组较 PBS 组增殖速率加快(图 1);低倍显微镜下可见在 18、24 h 的 Müller 细胞,Angptl2 组增殖较 PBS 组多,0、6 h 无明显变化(图 2),与细胞计数增殖曲线相符。

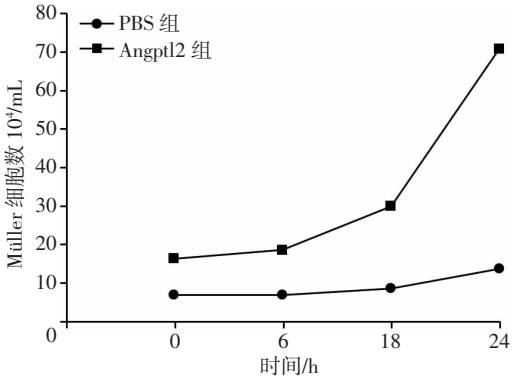


图 1　加入外源性 Angptl2 后 Müller 24 h 的细胞计数分析

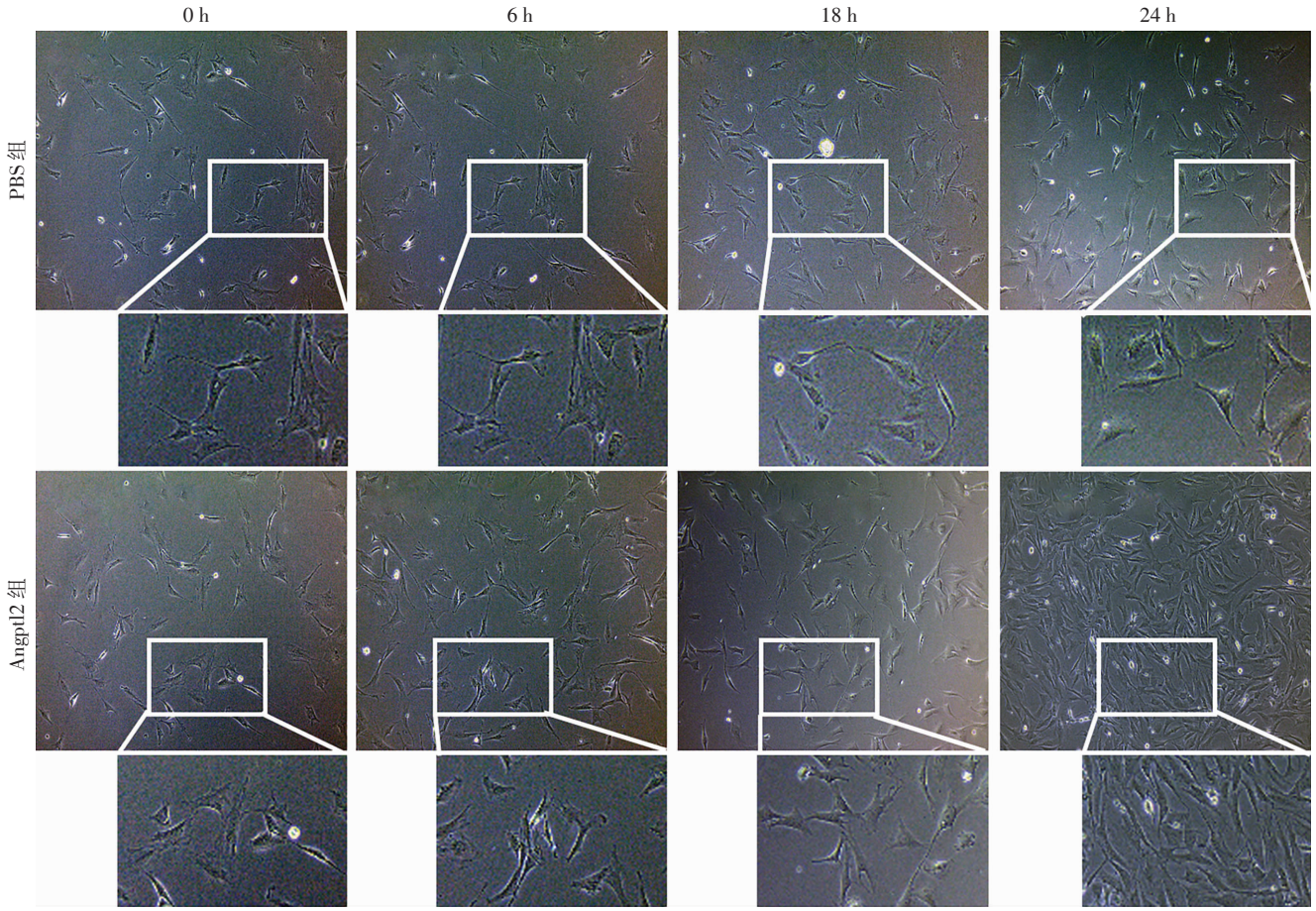


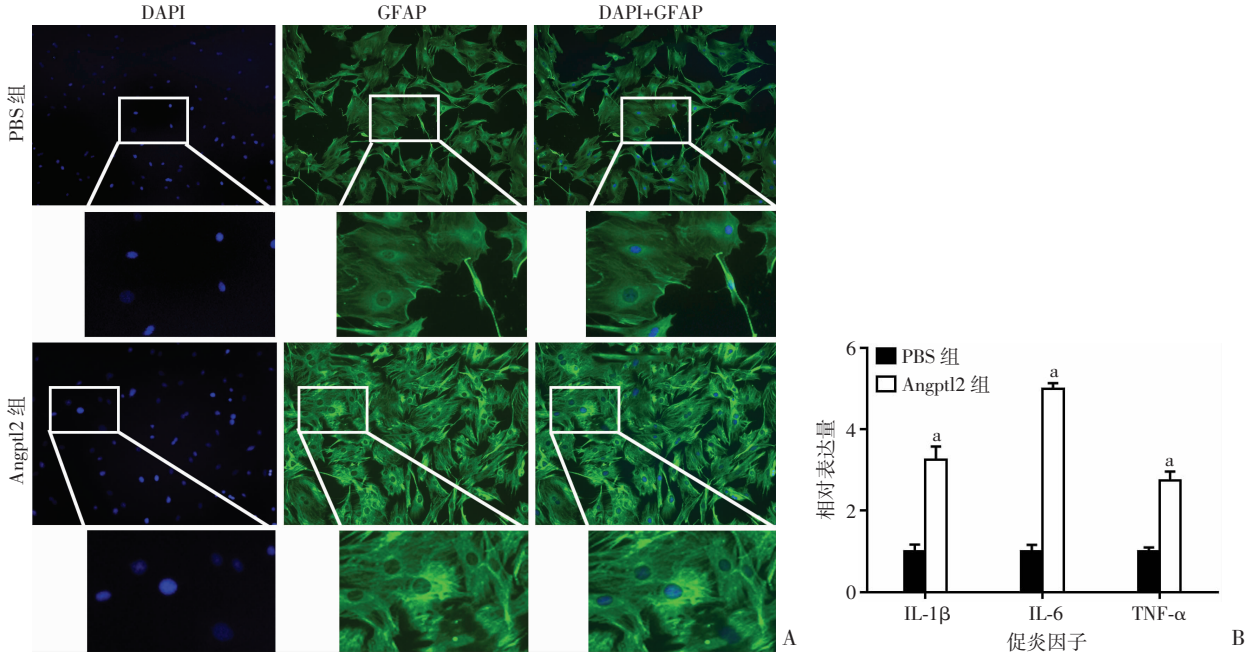
图 2　显微镜下观察加入外源性 Angptl2 后 0、6、18、24 h Müller 细胞增殖变化　(×200)

2.3　Angptl2 促进 Müller 细胞活化释放促炎因子

荧光显微镜下 Angptl2 组 GFAP 表达较 PBS 对照组明显增加(图 3A)。RT-PCR 检测加入外源性 Angptl2 6 h 后,Angptl2 组 Müller 细胞分泌的促炎因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 均高于 PBS 对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$,图 3B)。

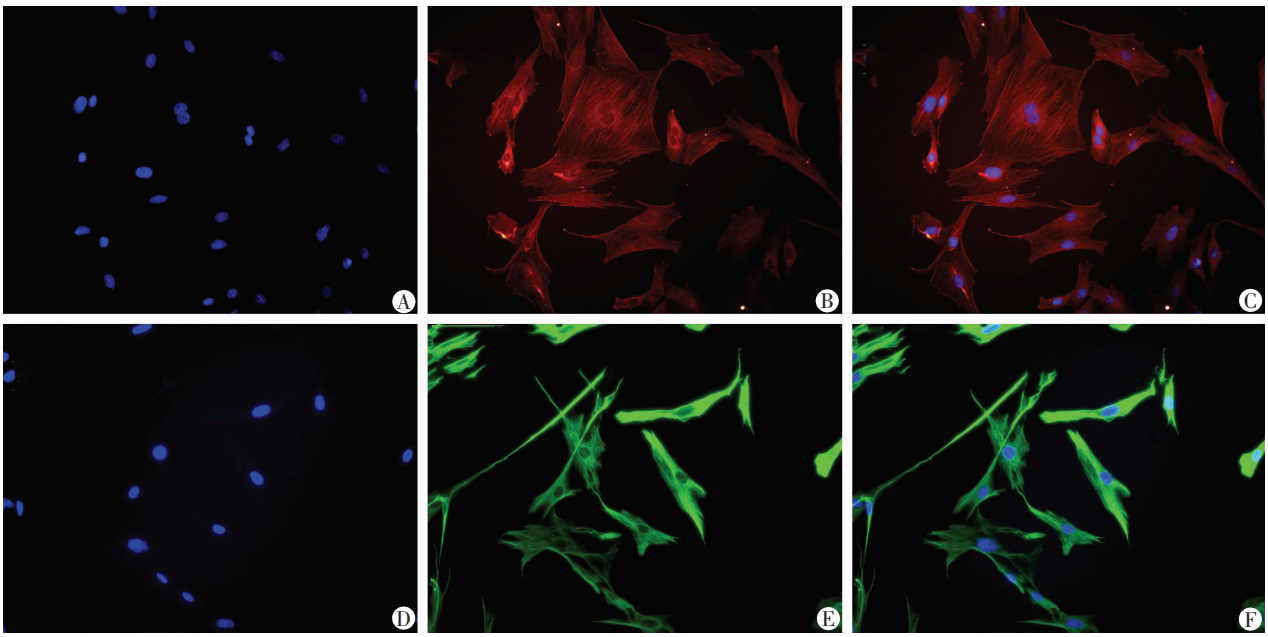
2.4　干扰 PirB 表达可抑制 Müller 细胞分泌促炎因子

Müller 细胞的鉴定及其 PirB 的表达见图 4,纯度约为 95%;Müller 细胞转染 Ad-PirB 后,PirB 蛋白的表达明显降低(图 5);Müller 细胞加入外源性 Angptl2 6 h 后,RT-PCR 可见 Ad-PirB-siRNA + Angptl2 组较 Angptl2 组和 Ad-C + Angptl2 组炎症因子 IL-6、TNF-α 降低,差异具有统计学意义($P<0.05$,图 6)。



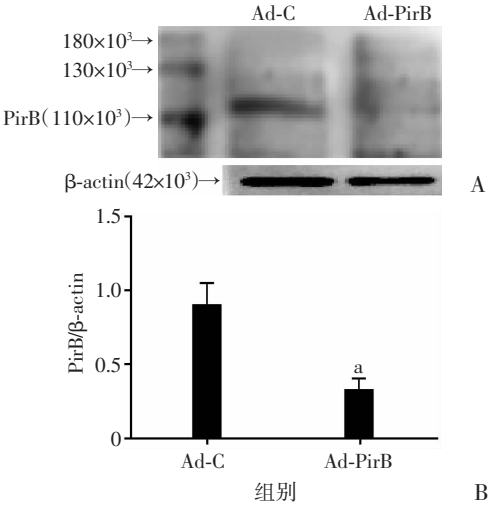
A:加入外源性 Angptl2 24 h Müller 细胞 GFAP 的表达(荧光显微镜 ×200);B:加入外源性 Angptl2 6 h Müller 细胞促炎因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 的表达　a:$P<0.05$,与 PBS 组比较

图 3　Angptl2 促进 Müller 细胞活化释放促炎因子



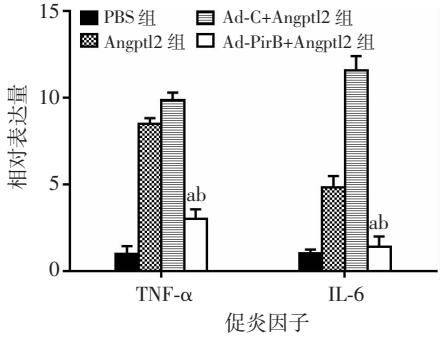
A:DAPI;B:PirB;C:DAPI+PirB;D:DAPI;E:Vimentin;F:DAPI+Vimentin　PirB 呈红色,Vimentin 呈绿色

图 4　Müller 细胞的鉴定及 PirB 的表达　(荧光显微镜 ×200)



a: $P<0.05$,与 Ad-C 组比较

图 5 Western blot 检测 PirB 的干扰效率及半定量分析



a: $P<0.05$,与 Angptl2 组比较;b: $P<0.05$,与 Ad-C+Angptl2 组比较

图 6 干扰 PirB 后促炎因子 IL-6、TNF-α 的表达

3 讨论

近年来,Angptl2 被认为是重要的炎症诱导因子,研究表明 Angptl2 在角膜炎、炎症性脉络膜新生血管、急性眼内炎中参与了重要作用[6-7,9]。LPS 眼内注射是经典的急性眼内炎症模型,LPS 注入眼内后不仅可引起葡萄膜炎症,也可引起视网膜的炎症(如 Behcet's 病)[11]。本研究也证实在大鼠玻璃体腔注射 LPS 诱导眼内急性炎症后,可明显促进视网膜 Angptl2 的表达。Angptl2 可由脂肪细胞、巨噬细胞和内皮细胞分泌[12]。我们推测玻璃体腔注入 LPS 后视网膜 Angptl2 的增高可能来自于视网膜小胶质细胞或吸附至视网膜血管的白细胞。在视网膜,小胶质细胞活化后充当"巨噬细胞"发挥免疫和吞噬功能,白细胞浸润增多,它们成了 Angptl2 新的来源,形成炎症的级联扩大反应,进一步促进视网膜炎症的发展[7]。

但 Angptl2 诱导视网膜炎症的作用和机制目前尚不明确。既往研究主要以单核/巨噬细胞为研究对象,发现 Angptl2 主要通过 integrin α5β1,进一步激活 NF-κB 通路,来促进促炎症因子的释放[8-9,13]。但视网膜中缺乏单核/巨噬细胞,既往研究认为视网膜小胶质细胞是视网膜的主要免疫细胞,当小胶质细胞活化后,可发挥类似巨噬细胞的功能,通过 TLR4/NF-κB 通路,分泌 IL-6、TNF-α 等促炎因子,增加视网膜促炎细胞和促炎因子的释放和聚集,形成视网膜慢性炎症环境,介导如缺血性视网膜病变、糖尿病性视网膜病变等慢性低度炎症[14-15]。但在这些视网膜的炎症中,不光有小胶质细胞的活化,还有大量 Müller 细胞的激活,两者可通过促炎因子、趋化因子和黏附分子等相互作用,共同介导视网膜的炎症[16-17]。但小胶质细胞仅占视网膜胶质细胞的 10%~20%[18],Müller 细胞才是视网膜主要的且特有的胶质细胞,它贯穿视网膜全层,对视网膜起着支架作用,是视网膜炎症因子最主要的来源[10]。在炎症情况下,Müller 细胞反应性胶质激活,GFAP 表达增多,分泌细胞因子如 IL-1β、TNF-α、IL-6、IL-8、趋化因子等参与炎症的发展[19]。因此,我们在 Müller 细胞加入外源性 Angptl2 刺激后,Müller 细胞增殖率明显高于 PBS 对照组,Angptl2 组 GFAP 表达较 PBS 对照组也明显增加。Angptl2 激活 Müller 细胞还进一步促进炎症因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 的分泌。说明 Angptl2 能促进视网膜 Müller 细胞参与炎症因子的分泌。

ANGPTLs 一直被认为是"孤儿"配体,虽然结构上与血管生成素相似,但并不与血管生成素的受体结合。研究发现人类白细胞免疫球蛋白(Ig)B2 受体[leukocyte immunoglobulin (Ig)-like receptor B2, LILRB2]及在鼠的直接同源物配对免疫球蛋白样受体 B(paired Ig-like receptor B, PirB)是多种 ANGPTLs 的受体,ANGPTLs 通过与 PirB 相结合发挥下游信号[20],另有研究发现 Angptl2 可与 PirB 结合抑制胶原受体糖蛋白Ⅵ和整合素 aiibb3 介导的信号通路,抑制血小板的激活[21]。因此,我们推测 Angptl2 可能与其受体 PirB 结合激发下游信号。本研究发现视网膜 Müller 细胞上也存在 PirB 的表达。进一步采用腺病毒载体对 Müller 细胞的 PirB 干扰后,Ad-PirB-siRNA+Angptl2 组较单独 Angptl2 组和对照组的炎症因子 IL-6、TNF-α 显著降低,说明在视网膜 Müller 细胞上,Angptl2 可能是通过 PirB 来调控炎症因子的释放。

综上,本研究发现 Angptl2 诱导眼内炎症的新作用机制,Angptl2 能够促进视网膜 Müller 细胞增殖,胶质激活,并且通过 PirB 来促进 Müller 细胞促炎因子 IL-1β、IL-6、TNF-α 的释放参与眼内炎症的发展。此外,既往研究表明 PirB 配体主要有 MHC Ⅰ类分子和髓鞘相关抑制因子,主要表达在神经元细胞和各种免疫细胞(如 T 细胞、B 细胞、肥大细胞、巨噬细胞等),主

要参与抑制神经生长和免疫反应。我们发现 PirB 除了上述作用外,还可表达在视网膜 Müller 细胞参与眼内炎症。但本研究也有不足,许多疾病均与炎症相关,本研究并没有对特定某种炎症疾病进行研究,也未研究 Angptl2 对其他视网膜胶质细胞(如小胶质细胞)的作用,缺乏炎症因子的蛋白水平检测。另外,本研究有待进一步体内验证眼内炎症状态下 Müller 的增殖及激活,以及在体抑制 PirB 表达后促炎因子的变化,这能更有力的证明 Angptl2 通过 PirB 介导眼内炎症。

参考文献:

[1] TABATA M, KADOMATSU T, FUKUHARA S, *et al*. Angiopoietin-like protein 2 promotes chronic adipose tissue inflammation and obesity-related systemic insulin resistance[J]. Cell Metab, 2009, 10(3):178-188. DOI:10.1016/j.cmet.2009.08.003.

[2] KADOMATSU T, TABATA M, OIKE Y. Angiopoietin-like proteins: emerging targets for treatment of obesity and related metabolic diseases[J]. FEBS J, 2011, 278(4):559-564. DOI:10.1111/j.1742-4658.2010.07979.x.

[3] WANG J Y, XIAO H B, SUN Z L, *et al*. Angiopoietin-like protein 2 may mediate the inflammation in murine mastitis through the activation of interleukin-6 and tumour necrosis factor-A[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2015, 31(8): 1235-1240. DOI:10.1007/s11274-015-1873-7.

[4] UMIKAWA M, UMIKAWA A, ASATO T, *et al*. Angiopoietin-like protein 2 induces proinflammatory responses in peritoneal cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 467(2): 235-241. DOI:10.1016/j.bbrc.2015.09.183.

[5] NAKAMURA T, OKADA T, ENDO M, *et al*. Angiopoietin-like protein 2 promotes inflammatory conditions in the ligamentum flavum in the pathogenesis of lumbar spinal canal stenosis by activating interleukin-6 expression[J]. Eur Spine J, 2015, 24(9): 2001-2009. DOI: 10.1007/s00586-015-3835-z.

[6] TOYONO T, USUI T, YOKOO S, *et al*. Angiopoietin-like protein 2 is a potent hemangiogenic and lymphangiogenic factor in corneal inflammation[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(6): 4278-4285. DOI:10.1167/iovs.12-11497.

[7] KANDA A, NODA K, OIKE Y, *et al*. Angiopoietin-like protein 2 mediates endotoxin-induced acute inflammation in the eye[J]. Lab Invest, 2012, 92(11): 1553-1563. DOI:10.1038/labinvest.2012.111.

[8] YANG W, LIU W, YU W, *et al*. Angptl2 deficiency attenuates paraquat (PQ)-induced lung injury in mice by altering inflammation, oxidative stress and fibrosis through NF-κB pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 503(1): 94-101. DOI:10.1016/j.bbrc.2018.05.186.

[9] BHATTACHERJEE P, WILLIAMS R N, EAKINS K E. An evaluation of ocular inflammation following the injection of bacterial endotoxin into the rat foot pad[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1983, 24(2): 196-202.

[10] BRINGMANN A, IANDIEV I, PANNICKE T, *et al*. Cellular signaling and factors involved in Müller cell gliosis: neuroprotective and detrimental effects[J]. Prog Retin Eye Res, 2009, 28(6): 423-451. DOI:10.1016/j.preteyeres.2009.07.001.

[11] HOEKZEMA R, VERHAGEN C, VAN HAREN M, *et al*. Endotoxin-induced uveitis in the rat. The significance of intraocular interleukin-6[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1992, 33(3): 532-539.

[12] FARHAT N, MAMARBACHI A M, THORIN E, *et al*. Cloning, expression and purification of functionally active human angiopoietin-like protein 2[J]. Springerplus, 2014, 3: 337. DOI:10.1186/2193-1801-3-337.

[13] KUMAR A, PANDEY R K, MILLER L J, *et al*. Muller Glia in retinal innate immunity: a perspective on their roles in endophthalmitis[J]. Crit Rev Immunol, 2013, 33(2): 119-135.

[14] FEIT-LEICHMAN R A, 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.

[15] LEE J J, WANG P W, YANG I H, *et al*. High-fat diet induces toll-like receptor 4-dependent macrophage/microglial cell activation and retinal impairment[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2015, 56(5): 3041-3050. DOI:10.1167/iovs.15-16504.

[16] WANG M, WANG X, ZHAO L, *et al*. Macroglia-microglia interactions via TSPO signaling regulates microglial activation in the mouse retina[J]. J Neurosci, 2014, 34(10): 3793-3806. DOI:10.1523/jneurosci.3153-13.2014.

[17] ABCOUWER S F. Müller cell-microglia cross talk drives neuroinflammation in diabetic retinopathy[J]. Diabetes, 2017, 66(2): 261-263. DOI:10.2337/dbi16-0047.

[18] HANISCH U K. Microglia as a source and target of cytokines[J]. Glia, 2002, 40(2): 140-155. DOI:10.1002/glia.10161.

[19] KIM I, MOON S O, KOH K N, *et al*. Molecular cloning, expression, and characterization of angiopoietin-related protein. angiopoietin-related protein induces endothelial cell sprouting[J]. J Biol Chem, 1999, 274(37): 26523-26528. DOI:10.1074/jbc.274.37.26523.

[20] ZHENG J K, UMIKAWA M, CUI C H, *et al*. Inhibitory receptors bind ANGPTLs and support blood stem cells and leukaemia development[J]. Nature, 2012, 485(7400):656-660. DOI:10.1038/nature11095.

[21] FAN X M, SHI P L, DAI J, *et al*. Paired immunoglobulin-like receptor B regulates platelet activation[J]. Blood, 2014, 124(15): 2421-2430. DOI:10.1182/blood-2014-03-557645.

(**收稿**:2019-07-15;**修回**:2019-08-28)

(编辑 张 维)