DOI:10.16016/j.2097-0927.202401094

# 视神经损伤诱导小胶质细胞表型变化与视网膜神经节细胞死亡的关系

游添敬[1,2],杨元星[2],何军材[2],阿洛丹[2],马 翔[1],徐海伟[2] 116014 辽宁 大连,大连医科大学附属第一医院眼科[1];400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院眼科,视觉损伤与再生修复重庆市重点实验室[2]

[**摘要**] **目的** 探究视神经损伤后视网膜小胶质细胞表型改变与视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells,RGCs)死亡的关系。**方法** 将6~8周龄雄性C57BL/6J小鼠按照随机数字表法分为造模后1、3、7、14 d损伤组和Sham组,每组4只。对损伤组进行视神经钳夹(optic nerve crush, ONC),对Sham组行相同的手术操作但不夹持视神经;结合闪光视觉诱发电位(flash visual evoked potential,fVEP)和免疫荧光染色评估视神经损伤对小鼠视觉功能和RGCs数量的影响;RT-qPCR和免疫荧光染色检测视神经损伤对视网膜小胶质细胞表型变化的影响。**结果** fVEP结果显示,与Sham组相比,损伤组的视觉传导功能随时间进展逐渐下降($P<0.01$)。免疫荧光染色结果显示RGCs数量减少主要发生在损伤后7 d内($P<0.01$);同时视网膜小胶质细胞的数量在损伤后7 d达到峰值($P<0.01$)。RT-qPCR显示与Sham组相比,ONC后7 d视网膜疾病相关型小胶质细胞(disease-associated microglia,DAM)及干扰素反应型小胶质细胞(interferon-responsive microglia,IRM)特征基因表达均显著增加($P<0.01$)。免疫荧光染色提示DAM的数量在ONC后3 d达到峰值($P<0.01$),但随着时间的进展比例逐渐降低($P<0.05$);而IRM的数量及比例在ONC后7 d达到峰值($P<0.01$)。相关性分析提示IRM的数量与神经节细胞死亡强烈相关($P<0.01$)。**结论** 视神经损伤后视网膜小胶质细胞由早期的DAM型向IRM型转化可能是RGCs死亡的重要原因。

[**关键词**] 视神经损伤;视网膜;小胶质细胞;表型重塑

[**中图法分类号**] R329.24; R339.146; R774.6 [**文献标志码**] A

# Correlation of changes in retinal microglia phenotype with ganglion cell death in mice after optic nerve injury

YOU Tianjing[1,2], YANG Yuanxing[2], HE Juncai[2], A Luodan[2], MA Xiang[1], XU Haiwei[2] [1]Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian, Liaoning Province, 116014; [2]Department of Ophthalmology, Chongqing Key Lab of Visual Damage and Regeneration & Restoration, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To explore the relationship between phenotypic changes of retinal microglia and retinal ganglion cells (RGCs) death after optic nerve injury. **Methods** Male C57BL/6J mice (6 to 8 weeks old) were randomly divided into 1-, 3-, 7-, and 14-day injury groups and sham operation group, with 4 mice in each group. The eyes in the injured groups were inflicted with optic nerve crush (ONC), while the eyes of the sham operation group were treated with the same operation procedure but without optic nerve clamp. Flash visual evoked potential (fVEP) and immunofluorescence staining were employed to evaluate the impact of optic nerve injury on visual function and number of RGCs. RT-qPCR and immunofluorescence

[**基金项目**] 国家重点研发计划(2021YFA1101203)

[**通信作者**] 徐海伟,E-mail:haiweixu2001@163.com

马 翔,E-mail:Xma9467@vip.sina.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

staining were applied to detect the effecy of optic nerve injury on phenotypic changes in retinal microglia. **Results** fVEP results showed that the visual conduction of the injured eye was gradually decreased over time when compared with that of the sham group ($P<0.01$). Immunofluorescence staining revealed that the number of RGCs was lost mainly within 7 d after injury ($P<0.01$). At the same time, the number of retinal microglia reached its peak at 7 d after injury ($P<0.01$). RT-qPCR indicated that the expression of disease-associated microglia (DAM) and interferon-responsive microglia (IRM) specific genes were significantly increased when compared with the sham group at 7 d after ONC ($P<0.01$). Immunofluorescence staining displayed that the number of DAM peaked at 3 d after ONC ($P<0.01$), but the proportion was decreased gradually with the progress of time ($P<0.05$). The number and proportion of IRM peaked 7 d after ONC ($P<0.01$). Correlation analysis suggested that the number of IRM was strongly correlated with the loss of ganglion cells ($P<0.01$). **Conclusion** The conversion of retinal microglia from DAM type to IRM type after optic nerve injury may be an important cause of ganglion cell loss.

[**Key words**] optic nerve injury; retina; microglia; phenotypic remodeling

Supported by the National Key R&D Program of China (2021YFA1101203). Corresponding author: XU Haiwei, E-mail: haiweixu2001@163.com; MA Xiang, E-mail: Xma9467@vip.sina.com

视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells,RGCs)是视觉通路中由视网膜向大脑传递信息的关键神经元。RGCs 位于视网膜内表面,接收并整合来自视网膜回路的信号,通过轴突会聚在视网膜中心形成视神经,将视觉信息传递到大脑的多个区域[1]。在青光眼性视神经病变、外伤性视神经病变(traumatic optic neuropathy,TON)、缺血性视神经病变等视网膜退行性疾病中,致病因素导致的 RGCs 功能障碍或细胞丢失是导致失明的主要原因[2]。其中 TON 是创伤诱发的视神经急性损伤,是严重的眼外伤之一,占所有颅脑外伤的 0.5%~5.0%[3]。目前尚无有效的治疗方法,最常用大剂量类固醇药物和手术减压治疗,对改善视力效果欠佳[4]。TON 主要由机械、化学和缺血因素共同引起[5]。闪光视觉诱发电位(flash visual evoked potential,fVEP)是一种客观、有效的研究视功能的方法,通过检测视觉通路传输至枕叶视觉皮层的电活动,反映 RGCs 到视觉皮层的功能状态[6]。

小胶质细胞作为中枢神经系统的主要常驻免疫细胞,对于维持视网膜的正常结构和功能至关重要[7]。TON 后,驻留的小胶质细胞被激活,其胞体增大和分支缩短,在 RGCs 丢失中发挥关键作用[8]。过去小胶质细胞分型是按照巨噬细胞活化状态分为经典活化(M1)和替代活化(M2)[9]。但是,最近的共识指出 M1、M2 型不能准确描述小胶质细胞的状态[10]。研究报道在脑中枢神经系统疾病中通过单细胞测序,鉴定出新的小胶质细胞亚群,包括疾病相关型小胶质细胞(disease-associated microglia,DAM)和干扰素反应型小胶质细胞(interferon-responsive microglia,IRM)[11]。DAM 具有脂蛋白脂肪酶(lipoprteinlipase,LPL)、TREM2 等标志物,IRM 具有干扰素诱导跨膜蛋白 3(interferon induced transmembrane protein 3,IFITM3)、BST2 等标志物,其特征基因的表达上调是神经退行性疾病的共同特征[12]。先前的研究表明 DAM 具有限制神经变性的潜力,可吞噬患病大脑中错误折叠的蛋白来抑制阿尔茨海默病进展[13];而 IRM 促进阿尔茨海默病中 β 淀粉样蛋白斑块的形成,导致记忆损伤[14],并参与级联反应导致神经元在神经变性的后期阶段死亡[15]。小胶质细胞表型重塑是其调控神经退行性疾病病程进展的主要方式[11],视网膜小胶质细胞在形态学特征和功能特性上已被认为与脑小胶质细胞相同[16]。目前在视神经损伤中小胶质细胞表型重塑对 RGCs 死亡的影响并不清楚,本研究通过分析 TON 不同时间点小鼠电生理、RGCs、视网膜小胶质细胞数目与表型的变化,确定视神经损伤后小胶质细胞表型重塑与 RGCs 死亡间的关系,为基于小胶质细胞调控的 TON 治疗方法提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

实验用 6~8 周龄 SPF 级健康雄性 C57BL/6J 小鼠,体质量 17~24 g(购于恩斯维尔生物科技有限公司)。标准环境下饲养,保证昼夜节律,自由饮食。将小鼠按照随机数字表法分为 Sham 组,1、3、7 和 14 d 损伤组,每组 4 只。实验设计、实验过程及动物处死方法,经过陆军军医大学实验动物福利伦理审查委员会审核(AMUWEC20211860),符合动物伦理和动物福利要

求。实验动物生产许可证号为 SCXK(渝)20170002,使用许可证号为 SYXK(渝)20170002。

### 1.2 主要仪器及试剂

眼科手术显微镜购于日本 NSKLTD 公司,荧光显微镜购于日本奥林巴斯公司,激光共聚焦显微镜购于德国 Zeiss 公司;4%多聚甲醛购于美国 Hyclone 公司,蔗糖、BSA 购于美国 Sigma 公司,Triton X-100、DAPI 原液、PBS 购于中国碧云天公司,三溴乙醇购于中国南京爱贝生物公司,Trizol 裂解液购于日本 TaKaRa 公司;一抗兔抗 Brn3a、小鼠抗 LPL 购于英国 Abcam 公司,兔抗 IBA1 购于日本 Wako 公司,山羊抗 IFITM3 购于美国 R&D Systems 公司;二抗山羊抗兔抗体、驴抗兔抗体、驴抗小鼠抗体、驴抗山羊抗体购于美国 Invitrogen 公司。

### 1.3 视神经损伤模型的建立

参照叶茂等[17]方法制备 C57BL/6J 小鼠视神经钳夹伤动物模型。三溴乙醇腹腔注射(0.2 mL/10 g)麻醉小鼠并侧卧位固定于手术台上,术眼局部清洁消毒,剪开术眼上穹隆结膜约 120°,避开涡静脉,钝性分离,暴露视神经,在球后 2 mm 处,避开血管,用无齿镊夹持视神经 10 s,术眼瞳孔散大,眼底无缺血,缝合球结膜,抗生素眼膏涂布。其 Sham 组行相同的手术操作但不夹持视神经。造模后,于 1、3、7 和 14 d 进行 fVEP 检测及取材。

### 1.4 免疫荧光染色及激光共聚焦定位

每组 4 个眼球取材后在 4%多聚甲醛中固定 30 min,再在 30%的蔗糖溶液中脱水过夜。脱水完成后于冰冻切片机以 12 μm 等距切片。选取过视神经平面的切片,PBS 漂洗,用 5% BSA 和 0.1% Triton X-100 封闭 30 min,一抗 4 ℃孵育过夜,一抗稀释比例:Brn3a(1∶400),IBA1(1∶500),LPL(1∶200),IFITM3(1∶200);洗涤后二抗(1∶500) 37 ℃孵育 1 h,PBS 漂洗后与 DAPI 常温孵育 10 min;PBS 漂洗后,抗荧光淬灭封片剂封片。激光共聚焦拍照,Image J 图像分析软件分析各组小鼠视网膜中阳性细胞。

### 1.5 fVEP 检测

每组 4 只小鼠,按照国际视觉临床电生理学会(ISCEV)标准电生理学研究,小鼠暗适应 15 min 后,按体质量 0.2 mL/10 g 腹腔注射三溴乙醇麻醉。记录电极位于视觉皮层中线皮下,参考电极位于额叶皮层中线皮下,接地电极位于尾部皮下。以 1.4 Hz 的频率、500 ms 递送白色闪光刺激用于分析,并且进行 50 次叠加。用眼罩遮蔽对侧眼睛。观察的参数为 fVEP 潜伏期(ms)和 P1 振幅(μV),所有参数值由计算机输出自动测量。各时间点检测后,使用二氧化碳气体安乐死小鼠并取材。

### 1.6 RT-qPCR 检测

如前所述[18]进行 RT-qPCR 分析。使用 Trizol 裂解液从 Sham 组和 7 d 损伤组各提取 3 份视网膜 RNA 样本,使用 PrimeScript® RT 试剂盒(TaKaRa Bio USA,RR037Q)逆转录总 RNA。根据制造商的说明书,使用 TB Green® Premix Ex Taq™ Ⅱ(TaKaRa Bio USA,RR820Q)在 CFX 96 实时 PCR 系统(Bio-Rad,Hercules,CA,USA)上进行定量 PCR。将 mRNA 的相对表达标准化为 GAPDH 的相对表达。引物序列见表 1。

**表 1 RT-qPCR 引物序列**

| 基因 | 引物序列(5′→3′) | 产物大小/bp |
|---|---|---|
| STAT1 | 上游:GGCGAAGAGCGACCAGAAAC<br>下游:AGCTGATCCAGGCAGGCATT | 216 |
| IFITM3 | 上游:CCCCCAAACTACGAAAGAATCA<br>下游:ACCATCTTCCGATCCCTAGAC | 221 |
| BST2 | 上游:GTGGCTGGTGGCCGCAATCT<br>下游:TGCAACCGCAACCCGTTCTT | 114 |
| LPL | 上游:AGGAATGTATGAGAGTTGGG<br>下游:ATTGTCTAGGGGGTAGTTAA | 202 |
| TREM2 | 上游:AAGATGCTGGAGACCTCTGG<br>下游:GGATGCTGGCTGTAAGAAG | 162 |
| TYROBP | 上游:AGCCCTCCTGGTGCTTTCT<br>下游:GGCCTGTACGGGACTTAATC | 117 |
| GAPDH | 上游:AAGGTCGGTGTGAACGGATT<br>下游:TGAACTTGCCGTGGGTAGAG | 157 |

### 1.7 统计学方法

采用 GraphPad Prism 9 统计学软件进行分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 Shapiro-Wilk 检验正态分布,2 组间数据比较采用非配对 $t$ 检验,多组间数据比较采用单因素方差分析或双因素方差分析;正态分布数据采用 Pearson 相关性分析,非正态分布数据采用 Spearman 相关性分析。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

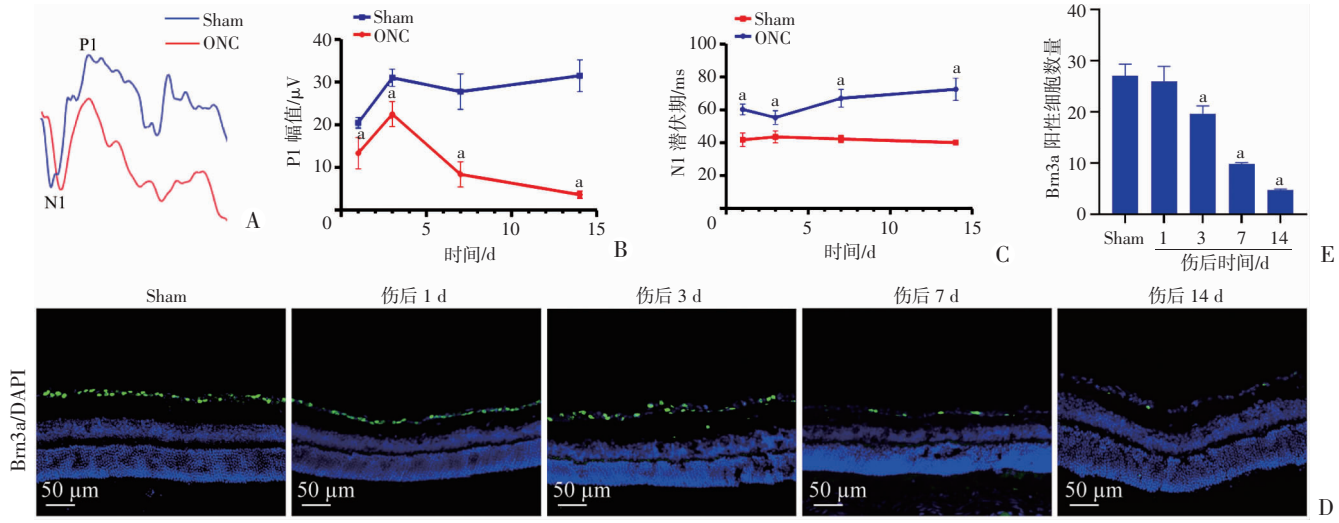
### 2.1 视神经损伤模型的建立以及验证

参照之前所述实验方法建立小鼠损伤模型,选取手术后第 1、3、7、14 天进行 fVEP 的检测。结果显示视神经钳夹(optic nerve crush, ONC)术后的 fVEP 整体波形低于 Sham 组(图 1A)。fVEP 波形中的 P1 点和 N1 点分别代表脑部神经元在响应光刺激时发出的最大电信号值和光刺激开始到神经产生反应所需要的时

间。ONC 术后小鼠响应刺激的能力相较于 Sham 组整体明显下降($P<0.01$),响应时间明显延长($P<0.01$,图 1B、C),提示 ONC 术后视觉通路发生障碍,视觉信号传递异常。采用 Brn3a 免疫荧光染色标记 RGCs(图 1D),并对其数量进行统计,结果显示 RGCs 数量的减少主要发生在 ONC 术后前 7 d($P<0.01$,图 1E)。

### 2.2　视神经损伤后小胶质细胞数量和表型的变化

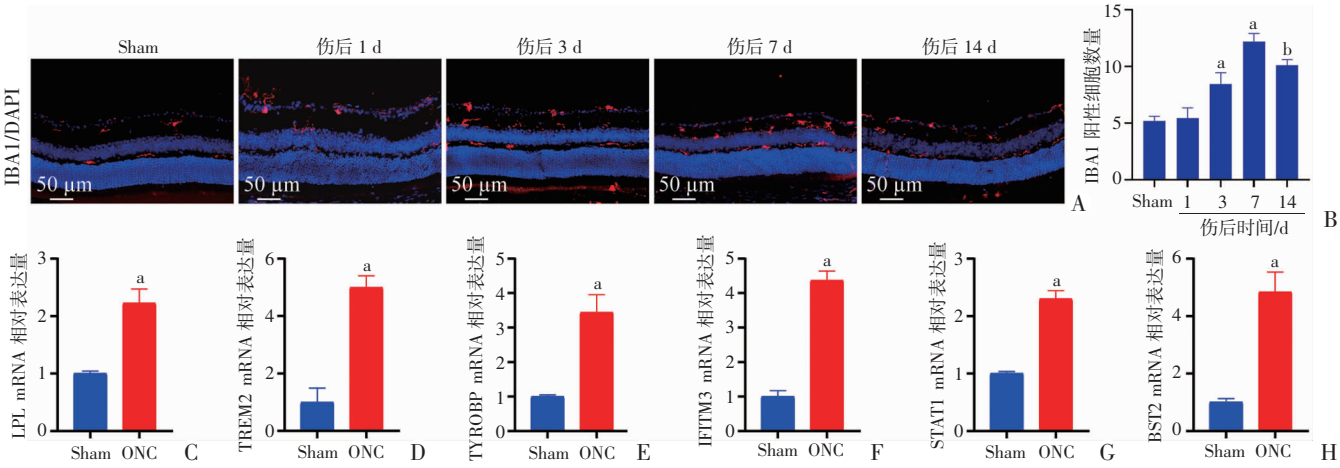
视神经损伤后视网膜小胶质细胞迅速激活。对小鼠术后视网膜小胶质细胞(IBA1 阳性细胞)进行分析,结果显示,损伤组内核层及外丛状层的小胶质细胞向节细胞层迁移,同时形态转变为阿米巴样(图 2A),提示小胶质细胞在 ONC 术后发生激活。IBA1 阳性细胞的统计结果显示在术后第 3 天,小胶质细胞出现明显增多,在第 7 天达到高峰($P<0.01$),随后数量有所减少($P<0.05$,图 2B)。使用 RT-qPCR 检测视网膜中 DAM 与 IRM 特征基因的表达,结果显示与 Sham 组相比,DAM(LPL、TREM2 和 TYROBP)和 IRM(IFITM3、STAT1 和 BST2)特征基因的表达在损伤第 7 天明显上调($P<0.01$,图 2C~H)。结果提示视神经损伤会诱导小胶质细胞激活为 DAM 和 IRM。




a: $P<0.01$,与 Sham 组比较

A:ONC 后 3 d fVEP 的代表性波形;B、C:fVEP 的 P1 波幅和 N1 潜伏期($n=4,\bar{x}\pm s$);D:Brn3a 免疫荧光染色;E:Brnc3a 阳性细胞数量($n=3,\bar{x}\pm s$)

**图 1　视神经钳夹伤诱导视网膜神经节细胞丢失**



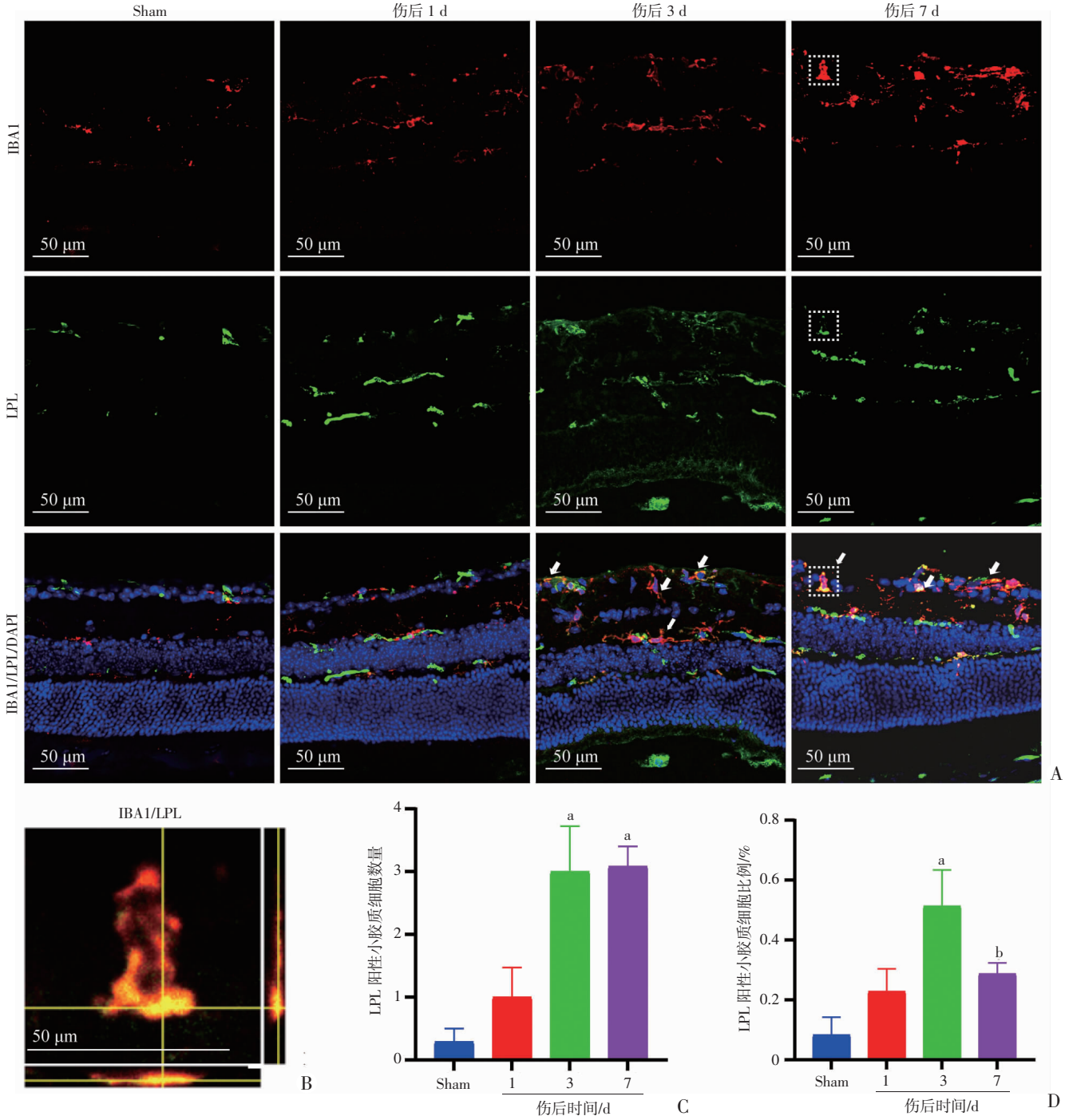

a: $P<0.01$,与 Sham 组比较;b: $P<0.05$,与伤后 7 d 组比较

A:小胶质细胞 IBA1 免疫荧光染色观察;B:IBA1 阳性细胞数量统计;C~H:ONC 后 7 d 小胶质细胞表型标志物 RT-qPCR 结果

**图 2　视神经损伤后不同时间小胶质细胞的活化($n=3,\bar{x}\pm s$)**

### 2.3　视神经损伤后 LPL 高表达的疾病相关型小胶质细胞的变化

为了进一步研究小胶质细胞表型的变化,选取 LPL 作为 DAM 的标志物评估 DAM 的激活(图 3A、B)。免疫荧光结果显示 ONC 后 LPL 高表达的小胶质细胞数量和比例在第 3 天达到高峰($P<0.01$),其数量维持至第 7 天,但其占比于第 7 天显著下降($P<0.05$,图 3C、D)。提示 ONC 后视网膜小胶质细胞激活为 DAM 表型,但随着疾病进展以及视网膜微环境变化,小胶质细胞数量大量增加,使得 DAM 型小胶质细胞占比降低。

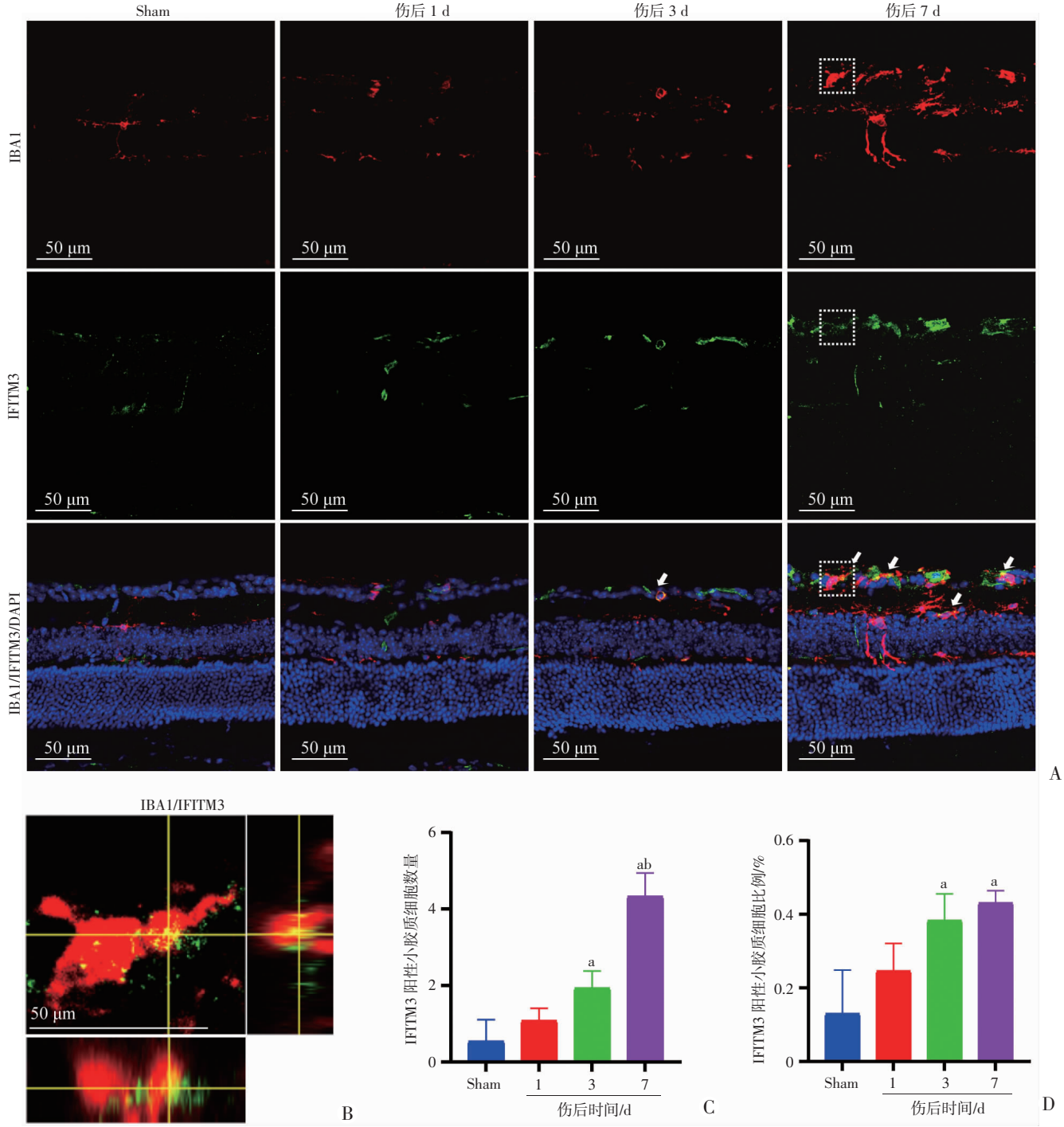



A:视网膜 IBA1(红色)和 LPL(绿色)的免疫荧光染色结果　白色箭头:示 IBA1 与 LPL 共定位;B:图 3A 白框放大 IBA1 与 LPL 共定位的正交图像;C、D:视网膜神经节细胞层和内丛状层中 LPL 阳性小胶质细胞数量和比例($n=4$,$\bar{x}\pm s$)　a:$P<0.01$,与 Sham 组比较;b:$P<0.01$,与伤后 3 d 组比较

**图 3　视神经损伤后视网膜中疾病相关型小胶质细胞的变化**

### 2.4　视神经损伤后出现 IFITM3 高表达的干扰素反应型小胶质细胞

选取 IFITM3 作为 IRM 的特异性标志物(图 4A、B),IFITM3 与 IBA1 免疫荧光染色显示 IFITM3 高表达的小胶质细胞数量在 ONC 后第 3 天开始逐步增加,在第 7 天达到高峰($P$<0.01,图 4C);其占比的峰值从第 3 天维持至第 7 天($P$<0.01,图 4D)。结果提示 ONC 后视网膜小胶质细胞随着疾病的进展向 IRM 转化。




A:视网膜 IBA1(红色)和 IFITM3(绿色)的免疫荧光染色结果　白色箭头:示 IBA1 与 IFITM3 共定位;B:图 4A 白框放大 IBA1 与 IFITM3 共定位的正交图像;C、D:视网膜神经节细胞层和内丛状层中 IFITM3 阳性小胶质细胞数量和比例($n$=4,$\bar{x}\pm s$)　a:$P$<0.01,与 Sham 组比较;b:$P$ <0.01,与伤后 3 d 组比较

**图 4　视神经损伤后视网膜中干扰素反应性型小胶质细胞的变化**

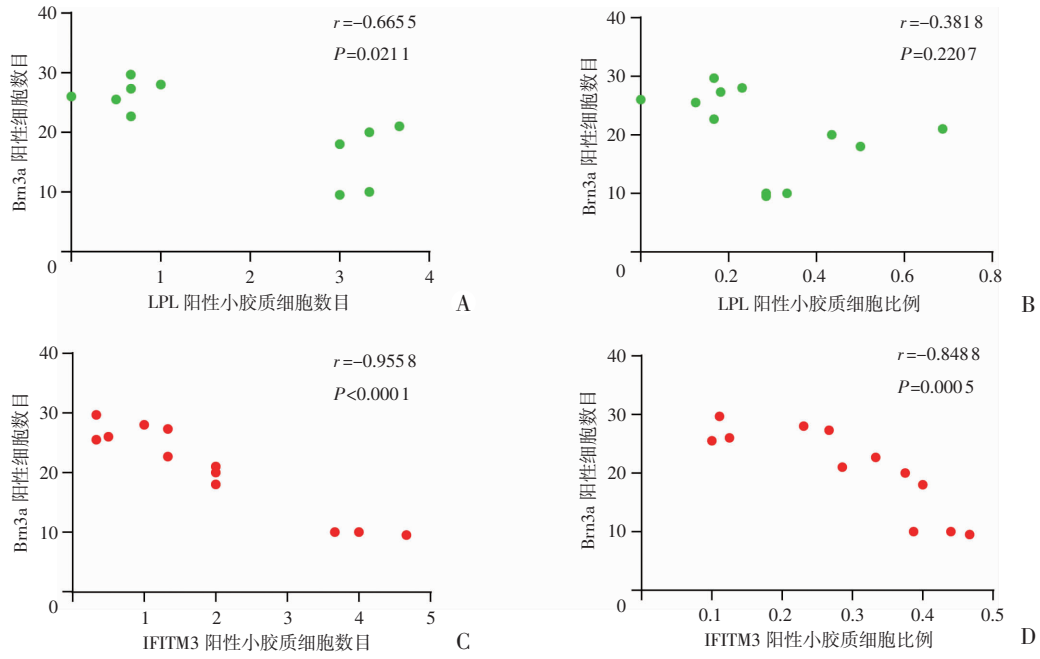
### 2.5 干扰素反应型小胶质细胞与节细胞的凋亡具有强相关性

为了进一步说明视网膜小胶质细胞表型与 RGCs 死亡的关联,进行相关性分析。结果显示,视网膜神经节细胞的数量与 DAM 数量中度相关($P<0.05$,图 5A),与 DAM 比例不相关(图 5B)。而神经节细胞的数量与 IRM 型小胶质细胞数量和比例呈显著负相关($P<0.01$,图 5C、D)。以上结果提示 IRM 的激活很可能是导致 RGCs 死亡的重要原因。

## 3 讨论

视神经损伤是一种复杂的神经病理过程,对视觉系统功能的恢复提出了重大挑战。创伤性视神经病变是颅面部创伤的严重并发症,可导致严重视力丧失,且目前治疗手段无法明显改善预后[19]。ONC 后,炎症反应迅速启动,小胶质细胞与神经炎症反应的发生进展密切相关[20]。有趣的是,使用 PLX5622 清除小胶质细胞后,在 ONC 第 5 天对 RGCs 死亡和轴突变性表现出短暂的神经保护作用[21];然而,使用 PLX5622 清除视网膜小胶质细胞未能增加 ONC 后期(第 7~21 天)RGCs 的存活率[22]。这表明小胶质细胞激活和随后的炎症反应介导的神经毒性在加剧 RGCs 死亡中发挥着关键作用,主要发生在损伤早期,7 d 或更短时间,即 RGCs 死亡的高峰期。因此,本研究主要探讨了 ONC 小鼠前 7 d 小胶质细胞的变化,发现 ONC 小鼠 RGCs 死亡速率的峰值与视网膜小胶质细胞的数量达到的峰值时间一致,均在损伤后前 7 d,与之前的报道一致[23]。但小胶质细胞通常被认为是疾病进程中的“双刃剑”,促进神经修复或加剧继发性组织损伤,其数量变化不能有效解释 RGCs 的继发性损失[9]。

最近的研究表明,小胶质细胞可以对多种损伤做出反应并被激活成多种表型,从而加剧或改善神经退行性疾病的病理进程[11]。因此,明确小胶质细胞的表型变化,有望为延缓视神经损伤后 RGCs 的变性提供理论基础。BENHAR 等[24]采用了单细胞测序技术鉴定 ONC 小鼠视网膜小胶质细胞的亚群,结果显示 ONC 后 DAM 和 IRM 的特征基因上调,在 4~7 d 达到高峰,至 14 d 表达减少。本研究对 DAM 和 IRM 表型的小胶质细胞在视神经损伤后前 7 d 的变化进行了研究,发现视网膜小胶质细胞的表型从 DAM 占主导过渡到 IRM 占主导;而这种表型转换的时间与 RGCs 的损失峰值相一致。进一步通过相关性分析证实了 IRM 的激活与 RGCs 死亡具有显著相关性。研究报道,DAM 激活增强小胶质细胞的吞噬作用和脂质代谢,其通过消除死亡细胞和细胞碎片来提高 RGCs 存活率[8],是一种保护性表型。而IRM已被确定为驱动IFN程序




A:视网膜 LPL 阳性小胶质细胞数目与 RGCs 数目的 Spearman 相关性分析;B:视网膜 LPL 阳性小胶质细胞比例与 RGCs 数目的 Pearson 相关性分析;C:视网膜 IFITM3 阳性小胶质细胞数目与 RGCs 数目的 Pearson 相关性分析;D:视网膜 IFITM3 阳性小胶质细胞比例与 RGCs 数目的 Pearson 相关性分析

**图 5 视网膜小胶质细胞表型变化与神经节细胞丢失的相关性分析**

的关键参与者,其响应 DNA 损伤,最终导致神经退行性疾病晚期突触丧失和神经元死亡[25]。IRM 主要与Ⅰ型干扰素反应有关,Ⅰ型干扰素正在成为级联毒性后果的中心介质,并构成神经炎症网络中的关键元素[26]。尽管Ⅰ型干扰素在中枢神经系统中具有多种毒性作用,但它也与保护性免疫抑制和抗炎作用相关[27]。越来越多的证据表明,干扰素在适当表达时具有保护性,然而其在过量产生时会造成严重损害。未来的研究需要阐明这种反应,并确定小胶质细胞表型重塑对 RGCs 影响的分子机制,以及其他小胶质细胞表型的变化情况。

综上,本研究主要研究了视网膜小胶质细胞在视神经损伤后前 7 d 的病理改变及其表型重塑与 RCGs 死亡的关系,验证了视神经钳夹伤后视功能与 RGCs 数量随时间推移逐步下降,发现视网膜小胶质细胞明显响应损伤,DAM 和 IRM 表型均被激活,并且小胶质细胞从 DAM 表型占比较高过渡到 IRM 占比较高,这可能是 RGCs 死亡的重要原因。本研究提示操纵小胶质细胞亚型转变是治疗神经退行性疾病的一种有前景的策略,为开发靶向小胶质细胞的治疗视神经损伤的新疗法奠定了基础。

**参考文献:**


[1] MILTNER A M, MERCADO-AYON Y, CHEEMA S K, *et al*. A novel reporter mouse uncovers endogenous Brn3b expression[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(12): E2903. DOI: 10.3390/ijms20122903.

[2] YAO F, ZHANG E D, GAO Z L, *et al*. Did you choose appropriate tracer for retrograde tracing of retinal ganglion cells? The differences between cholera toxin subunit B and Fluorogold[J]. PLoS One, 2018, 13(10): e0205133. DOI: 10.1371/journal.pone.0205133.

[3] PIROUZMAND F. Epidemiological trends of traumatic optic nerve injuries in the largest Canadian adult trauma center[J]. J Craniofac Surg, 2012, 23(2): 516-520. DOI: 10.1097/SCS.0b013e31824cd4a7.

[4] LI X Y, GUO Z L. Affection of surgical decompressive scale of optic canal to traumatic optic neuropathy[J]. Brain Sci, 2022, 12(11): 1442. DOI: 10.3390/brainsci12111442.

[5] WANG T, LI Y M, GUO M, *et al*. Exosome-mediated delivery of the neuroprotective peptide PACAP38 promotes retinal ganglion cell survival and axon regeneration in rats with traumatic optic neuropathy[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 659783. DOI: 10.3389/fcell.2021.659783.

[6] DING S Z, YANG C X, ZHU H F, *et al*. Assessing the impact of monocular deprivation on visual evoked potentials, behavior, and visual plasticity in juvenile mice[J]. Ann Transl Med, 2022, 10(3): 141. DOI: 10.21037/atm-21-6723.

[7] HUANG Z J, ZHOU T, SUN X W, *et al*. Necroptosis in microglia contributes to neuroinflammation and retinal degeneration through TLR4 activation[J]. Cell Death Differ, 2018, 25(1): 180-189. DOI: 10.1038/cdd.2017.141.

[8] AU N P B, MA C H E. Neuroinflammation, microglia and implications for retinal ganglion cell survival and axon regeneration in traumatic optic neuropathy[J]. Front Immunol, 2022, 13: 860070. DOI: 10.3389/fimmu.2022.860070.

[9] MILLS C D, KINCAID K, ALT J M, *et al*. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm[J]. J Immunol, 2000, 164(12): 6166-6173. DOI: 10.4049/jimmunol.164.12.6166.

[10] PAOLICELLI R C, SIERRA A, STEVENS B, *et al*. Microglia states and nomenclature: a field at its crossroads[J]. Neuron, 2022, 110(21): 3458-3483. DOI: 10.1016/j.neuron.2022.10.020.

[11] LI C Y, REN J, ZHANG M F, *et al*. The heterogeneity of microglial activation and its epigenetic and non-coding RNA regulations in the immunopathogenesis of neurodegenerative diseases[J]. Cell Mol Life Sci, 2022, 79(10): 511. DOI: 10.1007/s00018-022-04536-3.

[12] YIN Z R, HERRON S, SILVEIRA S, *et al*. Identification of a protective microglial state mediated by miR-155 and interferon-γ signaling in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. Nat Neurosci, 2023, 26(7): 1196-1207. DOI: 10.1038/s41593-023-01355-y.

[13] KEREN-SHAUL H, SPINRAD A, WEINER A, *et al*. A unique microglia type associated with restricting development of Alzheimer's disease[J]. Cell, 2017, 169(7): 1276-1290.e17. DOI: 10.1016/j.cell.2017.05.018.

[14] ROY E R, CHIU G, LI S M, *et al*. Concerted type I interferon signaling in microglia and neural cells promotes memory impairment associated with amyloid β plaques[J]. Immunity, 2022, 55(5): 879-894.e6. DOI: 10.1016/j.immuni.2022.03.018.

[15] MATHYS H, ADAIKKAN C, GAO F, *et al*. Temporal tracking of microglia activation in neurodegeneration at single-cell resolution[J]. Cell Rep, 2017, 21(2): 366-380. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.09.039.

[16] MCCARTHY C A, WIDDOP R E, DELIYANTI D, *et al*. Brain and retinal microglia in health and disease: an unrecognized target of the renin-angiotensin system[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2013, 40(8): 571-579. DOI: 10.1111/1440-1681.12099.

[17] 叶茂, 李依孺, 徐海伟, 等. 视神经损伤后 SDF-1 及其受体 CXCR4 在大鼠视网膜中的分布和表达规律[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(7): 645-649. DOI: 10.16016/j.1000-5404.2014.07.030.
YE M, LI Y R, XU H W, *et al*. Distribution and expression profile of SDF-1 and its receptor CXCR4 in rat retinas after optic nerve injury[J]. J Third Mil Med Univ, 2014, 36(7): 645-649. DOI: 10.16016/j.1000-5404.2014.07.030.

[18] HE J C, FU Y, GE L L, *et al*. Disease-associated microglial activation prevents photoreceptor degeneration by suppressing the accumulation of cell debris and neutrophils in degenerating rat retinas[J]. Theranostics, 2022, 12(6): 2687-2706. DOI: 10.7150/thno.67954.

[19] KARIMI S, ARABI A, ANSARI I, *et al*. A systematic literature review on traumatic optic neuropathy[J]. J Ophthalmol, 2021, 2021: 5553885. DOI: 10.1155/2021/5553885.

[20] YU C, ROUBEIX C, SENNLAUB F, *et al*. Microglia versus monocytes: distinct roles in degenerative diseases of the retina[J]. Trends Neurosci, 2020, 43(6): 433-449. DOI: 10.1016/j.tins.2020.03.012.

[21] MOU Q X, YAO K, YE M, *et al*. Modulation of Sirt1-mTORC1 pathway in microglia attenuates retinal ganglion cell loss after optic nerve injury[J]. J Inflamm Res, 2021, 14: 6857-6869. DOI: 10.2147/JIR.S338815.

[22] HILLA A M, DIEKMANN H, FISCHER D. Microglia are irrelevant for neuronal degeneration and axon regeneration after acute injury[J]. J Neurosci, 2017, 37(25): 6113-6124. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0584-17.2017.

[23] LIU S, LI Z W, WEINREB R N, *et al*. Tracking retinal microgliosis in models of retinal ganglion cell damage[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(10): 6254-6262. DOI: 10.1167/iovs.12-9450.

[24] BENHAR I, DING J R, YAN W J, *et al*. Temporal single-cell atlas of non-neuronal retinal cells reveals dynamic, coordinated multicellular responses to central nervous system injury[J]. Nat Immunol, 2023, 24(4): 700-713. DOI: 10.1038/s41590-023-01437-w.

[25] ESCOUBAS C C, DORMAN L C, NGUYEN P T, *et al*. Type-I-interferon-responsive microglia shape cortical development and behavior[J]. Cell, 2024, 187(8): 1936-1954.e24. DOI: 10.1016/j.cell.2024.02.020.

[26] SANFORD S A I, MCEWAN W A. Type-I interferons in Alzheimer's disease and other tauopathies[J]. Front Cell Neurosci, 2022, 16: 949340. DOI: 10.3389/fncel.2022.949340.

[27] LÜCKOFF A, CARAMOY A, SCHOLZ R, *et al*. Interferon-beta signaling in retinal mononuclear phagocytes attenuates pathological neovascularization[J]. EMBO Mol Med, 2016, 8(6): 670-678. DOI: 10.15252/emmm.201505994.

(**收稿**:2024-01-22;**修回**:2024-04-25)

(编辑 张 维)