

## MFG-E8抑制青光眼大鼠视网膜神经节细胞凋亡的机制研究

杨静<sup>1</sup>, 曾明兵<sup>1</sup>, 杨军<sup>1</sup>, 史贻玉<sup>1</sup>, 陈海波<sup>2</sup>

(1. 中山大学中山眼科中心海南眼科医院一病区, 海南省眼科学重点实验室, 海口 570311; 2. 海南爱尔新希望眼科医院白内障科, 海口 570226)

**摘要** **目的** 探讨乳脂肪球表皮生长因子8 (MFG-E8) 在青光眼大鼠神经保护中的作用与机制。**方法** 构建青光眼大鼠模型, 将MFG-E8或D89E注射至大鼠玻璃体内。检测大鼠的眼压变化。通过HE染色、TUNEL染色、免疫荧光染色分别检测大鼠视网膜组织病理损伤、节细胞凋亡和小胶质细胞激活水平; 通过Western blotting检测视网膜组织中cleaved caspase-3、caspase-3、cleaved caspase-9、caspase-9和BAX蛋白表达; 通过ELISA和实时定量PCR检测视网膜组织中IL-10、TGF- $\beta$ 和NGF的表达水平。**结果** 与对照组相比, 青光眼大鼠的眼压显著增加, 视网膜神经节细胞层(GCC)变薄, 凋亡节细胞增加, cleaved-caspase 3/caspase-3、cleaved caspase-9/caspase-9和BAX水平升高, IBA1阳性细胞数增加, 且IL-10、TGF- $\beta$ 、NGF水平增高; 经MFG-E8治疗后, 青光眼大鼠视网膜GCC层厚度增加, cleaved caspase-3/caspase-3、cleaved caspase-9/caspase-9、BAX水平降低, IBA1阳性细胞数和IL-10、TGF- $\beta$ 、NGF水平均增加; 而MFG-E8失活异构体D89E处理后, 大鼠青光眼进展进一步加重。**结论** MFG-E8能够介导小胶质细胞激活, 抑制神经节细胞凋亡, 减缓大鼠青光眼的进展。

**关键词** 青光眼; 乳脂肪球表皮生长因子8; 视网膜神经节细胞; 小胶质细胞

**中图分类号** R289 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646(2024)07-0591-06

**网络出版地址** <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20240625.1059.014>

**DOI**: 10.12007/j.issn.0258-4646.2024.07.003

### Mechanism of MFG-E8 inhibiting apoptosis of retinal ganglion cells in glaucoma rats

YANG Jing<sup>1</sup>, ZENG Mingbing<sup>1</sup>, YANG Jun<sup>1</sup>, SHI Yiyu<sup>1</sup>, CHEN Haibo<sup>2</sup>

(1. Ward 1 of Hainan Eye Hospital and Key Laboratory of Ophthalmology, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Haikou 570311, China; 2. Cataract Department, Hainan Aier Ehope Eye Hospital, Haikou 570226, China)

**Abstract** **Objective** To investigate the role and mechanism of milk fat globule-EGF factor 8 (MFG-E8) in neuroprotection in glaucoma rats. **Methods** A glaucoma rat model was constructed, and MFG-E8 or D89E was injected into the vitreous cavity of the rats. The intraocular pressure of the rats was measured. HE staining, TUNEL staining and immunofluorescence staining were used to detect the pathological injury, apoptosis and microglia activation of the retina. The protein expressions of cleaved caspase-3, caspase-3, cleaved caspase-9, caspase-9 and Bax were detected by Western blotting, and the expression levels of IL-10, TGF- $\beta$  and NGF were detected by ELISA and RT-qPCR. **Results** Compared with the control group, the intraocular pressure of glaucoma rats significantly increased, the retinal GCC layer became thinner, the apoptotic cells increased, the levels of cleaved caspase-3/caspase-3, cleaved caspase-9/caspase-9 and Bax increased, and the number of IBA1 positive cells increased, after treatment with MFG-E8, retinal GCC layer thickness increased, and the levels of cleaved caspase-3/caspase-3, cleaved caspase-9/caspase-9, Bax decreased, the number of IBA1 positive cells and the levels of IL-10, TGF- $\beta$ , NGF increased, but the progression of glaucoma was aggravated after the treatment of MFG-E8 inactivated isomer D89E. **Conclusion** MFG-E8 can mediate microglia activation, inhibit apoptosis of ganglion cells, and slow down the progression of glaucoma in rats.

**Keywords** glaucoma; milk fat globule-EGF factor 8; retinal ganglion cell; microglia

青光眼是一种与视网膜神经节细胞(retinal ganglion cell, RGC)凋亡相关的疾病, 是全球第二大

失明原因<sup>[1]</sup>。RGC凋亡被认为是青光眼的早期迹象, 而病理性高血压则被认为是导致RGC凋亡的主要原因<sup>[2]</sup>。青光眼的治疗在临床上以药物、激光和手术为主<sup>[3]</sup>。值得注意的是, 部分眼压已得到控制的及眼压正常的青光眼患者的RGC仍然持续凋亡<sup>[4]</sup>。因此, 迫切需要开发抑制RGC凋亡和保护视神经的新疗法。乳脂肪球表皮生长因子8(milk fat globule-epidermal growth factor 8, MFG-E8)是一种多功能的

**基金项目**: 海南省自然科学基金青年基金(820QN414); 海南省卫生健康行业科研项目(20A200322)

**作者简介**: 杨静(1985-), 女, 副主任医师, 硕士。

**通信作者**: 陈海波, E-mail: 2560062101@qq.com

**收稿日期**: 2024-04-07

**网络出版时间**: 2024-06-26 10:07:17

分泌型糖蛋白,最初发现于小鼠乳汁和乳腺上皮中<sup>[5]</sup>。研究<sup>[6]</sup>发现,MFG-E8具有增强凋亡细胞清除、抑制炎症反应和促进伤口愈合等多种治疗作用。但关于MFG-E8在青光眼中的作用还未见报道。本研究基于MFG-E8的生理功能探讨其介导小胶质细胞激活、减少RGC凋亡的作用机制。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 实验动物:8周龄雄性Sprague Dawley大鼠24只,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。所有大鼠饲养在12 h光/暗循环的室温环境下。在开始研究前,所有大鼠均对眼压测量操作适应1周。

1.1.2 试剂:氯胺酮、甲苯噻嗪购自美国Akoma公司;D89E购自北京义翘神州生物技术有限公司;EDTA抗原修复液、3% BSA、TUNEL试剂盒、苏木精和伊红购自武汉赛维尔生物科技有限公司;IBA1抗体(ab178847)、Alexa Fluor<sup>®</sup> 647偶联的山羊抗兔IgG(ab150079)购自英国Abcam公司;TRIzol购自美国Thermo Fisher Scientific公司;逆转录试剂盒购自广州复能基因有限公司;RIPA裂解液、BCA蛋白浓度测定试剂盒购自上海碧云天生物技术股份有限公司;抗cleaved caspase-3(AF7022)、抗caspase-3(19677-1-AP)、抗cleaved caspase-9(AF5240)、抗caspase-9(10380-1-AP)、抗BAX(50599-2-Ig)、抗GAPDH(AF7021)抗体购自武汉擎科生物技术有限公司;辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔IgG抗体(GAR007)购自浙江联科生物技术有限公司;超敏ECL化学发光试剂盒购自苏州新赛美生物科技有限公司;MFG-E8购自美国MedChemExpress公司;ELISA试剂盒购自睿信生物;其他常规试剂均购自上海源叶生物科技有限公司。

1.1.3 主要仪器及设备:手持眼压计(Tonolab,芬兰iCare公司);荧光显微镜(日本尼康公司);荧光定量PCR仪(德国耶拿分析仪器股份公司);DM2000型数码显微镜、EM UC7型超薄切片机(德国徕卡公司);EPS200型电泳仪、Tanon-4200SF凝胶成像分析系统(上海天能科技有限公司)。

### 1.2 方 法

1.2.1 动物模型构建及分组:所有大鼠的处理方式遵循视力与眼科研究协会(ARVO)的声明,所有实

验程序均经海南省眼科医院动物护理和使用委员会批准(2020-008)。将大鼠随机分为对照组、Glaucoma组、Glaucoma+MFG-E8组和Glaucoma+D89E组,每组6只。所有动物均以右眼作为实验眼。腹腔注射氯胺酮(40 mg/kg)和甲苯噻嗪(10 mg/kg)混合物麻醉大鼠,术前结膜囊滴丙美卡因眼液表面麻醉。右眼上方角巩膜缘做L形结膜切口,钝性分离筋膜,充分暴露巩膜上静脉,烧灼器烙闭大鼠上直肌旁2条巩膜上静脉及颞侧1条巩膜上静脉,10-0线缝合结膜,妥布霉素地塞米松眼膏涂术眼。用Tonolab眼压计测量造模前后大鼠眼压,平均眼压在手术7 d后维持22 mmHg以上则认为造模成功。Glaucoma+MFG-E8组和Glaucoma+D89E组分别在手术后立即向玻璃体内缓慢注射5  $\mu$ L MFG-E8(1  $\mu$ g/ $\mu$ L)或5  $\mu$ L D89E(1  $\mu$ g/ $\mu$ L)。每周注射1次,连续注射3次,对照组大鼠注射等量的PBS,最后一次给药后1周处死大鼠,摘除眼球待后续实验使用。

1.2.2 HE染色:4%多聚甲醛固定眼球,梯度乙醇脱水,二甲苯清洗,石蜡包埋切片(厚4  $\mu$ m)。切片脱蜡,梯度乙醇水化,苏木精和伊红染色10 min,脱水并二甲苯透化,中性树脂封片。光学显微镜下观察。

1.2.3 TUNEL染色:按照TUNEL试剂盒说明书操作,检测大鼠视网膜组织凋亡细胞。切片脱蜡,水化,加入蛋白酶K,37  $^{\circ}$ C 孵育20 min透化。PBS清洗2次,3%过氧化氢避光孵育20 min。加入50  $\mu$ L TdT反应混合物,37  $^{\circ}$ C下避光孵育1 h。将链霉亲和素HRP与TBST按1 : 200混合后与切片在37  $^{\circ}$ C下孵育30 min。PBS清洗切片5 min,DAB孵育10 min,细胞核用苏木精染色,光学显微镜下观察。

1.2.4 免疫荧光染色:切片脱蜡,水化,用EDTA抗原修复液进行修复,加入3% BSA封闭30 min。加入抗IBA1抗体(1 : 100稀释,ab178847),4  $^{\circ}$ C孵育过夜,PBS清洗,加入Alexa Fluor<sup>®</sup> 647偶联的山羊抗兔IgG(1 : 200,ab150079),室温下避光孵育50 min,PBS清洗,加入DAPI染色液避光孵育10 min,进行细胞核染色。抗荧光淬灭封片,荧光显微镜下观察。

1.2.5 实时定量PCR(real-time quantitative PCR, RT-qPCR):用TRIzol试剂提取大鼠视网膜组织总RNA,用逆转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA。用BeyoFast<sup>™</sup> SYBR Green qPCR Mix及qTower 3.2G荧光定量PCR仪行RT-qPCR。GAPDH作内参。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$

法计算相对表达量。引物序列见表1。

表1 RT-qPCR引物序列  
Tab.1 RT-qPCR primer sequence

Gene	Sequence (5'-3')
<i>IL-10</i>	
Forward	TGGACAACATACTGCTGACAGATTC
Reverse	TCCACTGCCTTGCTTTTATTCTC
<i>TGF-β</i>	
Forward	TGAACCAAGGAGACGGAATACA
Reverse	AGGTGTTGAGCCCTTTCCAG
<i>NGF</i>	
Forward	TTTTTTGAGACCAAGTGCCG
Reverse	AGCCTGTTTGTCTGTGTGTC
<i>GAPDH</i>	
Forward	GCCTTCCCTGTTCTACCCC
Reverse	CGCCTGCTTACCACCTTCT

1.2.6 Western blotting: 用RIPA裂解液提取大鼠视网膜总蛋白,用BCA试剂盒测定蛋白浓度。通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白并转移至PVDF膜。用含5%脱脂奶粉的TBST溶液在室温下封闭1 h。加入抗cleaved caspase-3 (1 : 1 000稀释, AF7022)、抗caspase-3 (1 : 1 000稀释)、抗cleaved caspase-9 (1 : 1 000稀释)、抗caspase-9 (1 : 500稀释)、抗BAX (1 : 2 000稀释)和抗GAPDH (1 : 5 000稀释)抗体,4 ℃孵育过夜,PBS洗涤,加入辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔IgG抗体 (1 : 5 000稀释, GAR007),室温下孵育2 h。GAPDH作为内参。ECL化学发光,对蛋白条带可视化。用Image J软件对蛋白进行定量。

1.2.7 ELISA: 按照ELISA试剂盒说明书操作,检测大鼠视网膜组织中IL-10、TGF-β、NGF的表达。根据标准曲线计算不同样品中白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10)、转化生长因子-β (transforming growth factor-β, TGF-β)、神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 的浓度。

### 1.3 统计学分析

采用GraphPad Prism 8.0软件和SPSS 20.0软件进行统计学分析。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,造模前和造模后眼内压比较采用双因素方差分析,其他数据采用单因素方差分析,事后比较采用Tukey's s多重比较检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MFG-E8减轻青光眼大鼠视网膜组织损伤

青光眼大鼠模型造模术后7 d (图1A), Glaucoma组大鼠的眼内压显著增加,直至实验终点 (35 d) 大鼠眼内压均维持 $\geq 22$  mmHg (图1B),表明青光眼大鼠模型构建成功。HE染色结果显示,对照组大鼠视网膜各层组织结构清晰,厚度正常,而Glaucoma组大鼠RGC空泡变性,染色质凝聚 (图1C),神经节细胞复合体 (ganglion cell complex, GCC) 层厚度显著减少 (图1D)。Western blotting结果显示, Glaucoma+MFG-E8组大鼠视网膜结构损伤减轻 (图1C), GCC层厚度增加 (图1D); 而Glaucoma+D89E组大鼠视网膜组织病理损伤加重 (图1C), GCC层厚度减少 (图1D)。提示MFG-E8可减轻青光眼大鼠的视网膜组织损伤。

### 2.2 MFG-E8抑制青光眼大鼠RGC凋亡

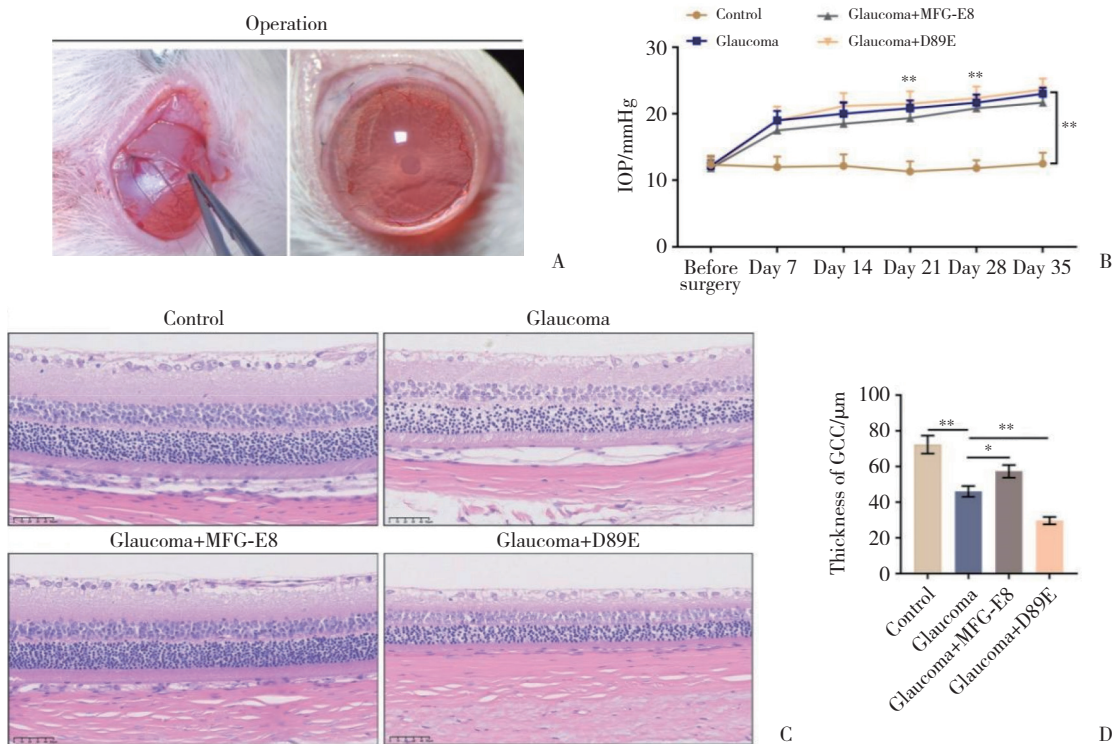
TUNEL染色结果显示,与对照组相比, Glaucoma组大鼠RGC凋亡显著增加,而与Glaucoma组相比, Glaucoma+MFG-E8组细胞凋亡显著减少,而Glaucoma+D89E组细胞凋亡增加 (图2A)。Western blotting结果显示,与对照组相比, Glaucoma组大鼠视网膜组织中凋亡相关蛋白cleaved caspase-3/caspase-3、cleaved caspase-9/caspase-9和BAX表达水平均显著增加。与Glaucoma组相比, Glaucoma+MFG-E8组上述凋亡相关蛋白表达水平均显著下调,而Glaucoma+D89E组则显著增加 (图2B)。

### 2.3 MFG-E8促进青光眼大鼠视网膜组织中小胶质细胞激活

免疫荧光结果显示,与对照组相比, Glaucoma组大鼠视网膜组织中IBA1阳性细胞数增加;与Glaucoma组相比, Glaucoma+MFG-E8组IBA1阳性细胞数进一步增加,而Glaucoma+D89E组IBA1阳性细胞数减少 (图3A、3B)。以上结果表明MFG-E8能够促进青光眼大鼠视网膜组织中小胶质细胞激活。

### 2.4 MFG-E8上调抗炎性细胞因子及神经营养因子表达水平

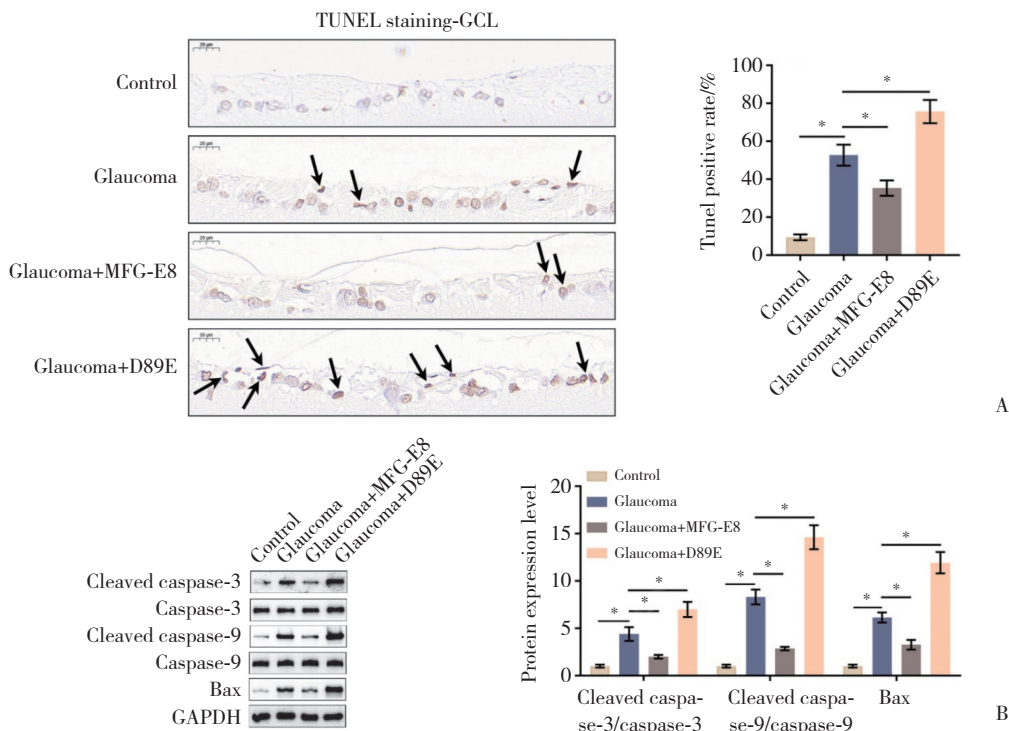
RT-qPCR和ELISA结果显示,与对照组相比, Glaucoma组大鼠视网膜组织中IL-10、TGF-β和NGF mRNA和蛋白表达增加;与Glaucoma组相比, Glaucoma+MFG-E8组IL-10、TGF-β和NGF mRNA和蛋白表



A, experimental operation diagram of rat glaucoma model establishment; B, intraocular pressure (IOP) before modeling and 3, 7, 14, 21, 28, and 35 days after modeling ( $n = 6$ ); C, the pathological damage of rat retina detected using HE staining (scale bar=50  $\mu\text{m}$ ); D, quantification of GCC layer in rat retina ( $n = 3$ ), \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

图1 MFG-E8缓解青光眼大鼠视网膜组织损伤

Fig.1 MFG-E8 could alleviate the damage of retinal tissue in glaucoma rats



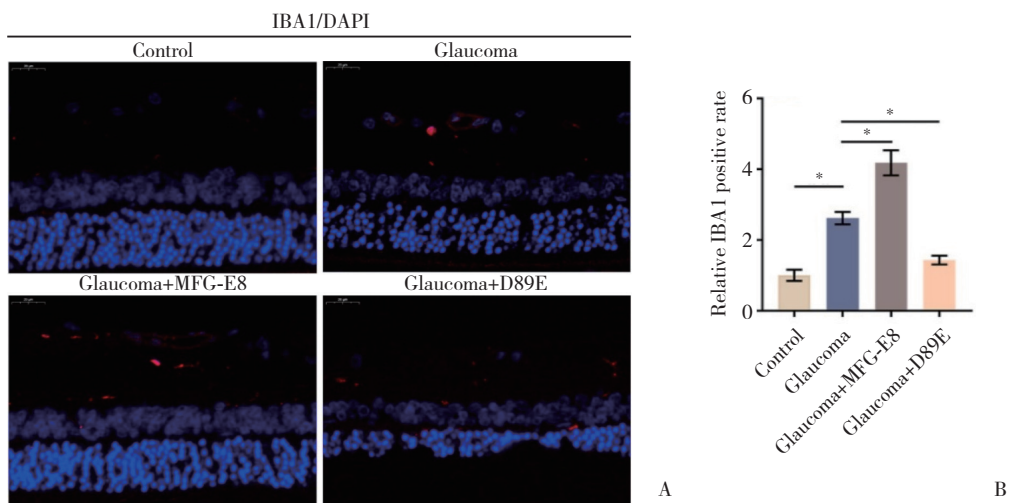
A, TUNEL staining was used to detect apoptosis of ganglion cells in the GCC layer of rat retinal tissue, and arrows in the figure indicate apoptotic cells; B, Western blotting was used to detect the protein expression levels of cleaved caspase-3, caspase-3, cleaved caspase-9, caspase-9 and BAX in rat retinal tissues ( $n = 3$ ). \*  $P < 0.01$ .

图2 MFG-E8抑制青光眼大鼠视网膜组织中神经节细胞凋亡

Fig.2 MFG-E8 could inhibit the apoptosis of retinal ganglion cells in glaucoma rats

达进一步增加,而Glaucoma+D89E组IL-10、TGF-β和NGF mRNA和蛋白表达均显著降低(图4)。以上结

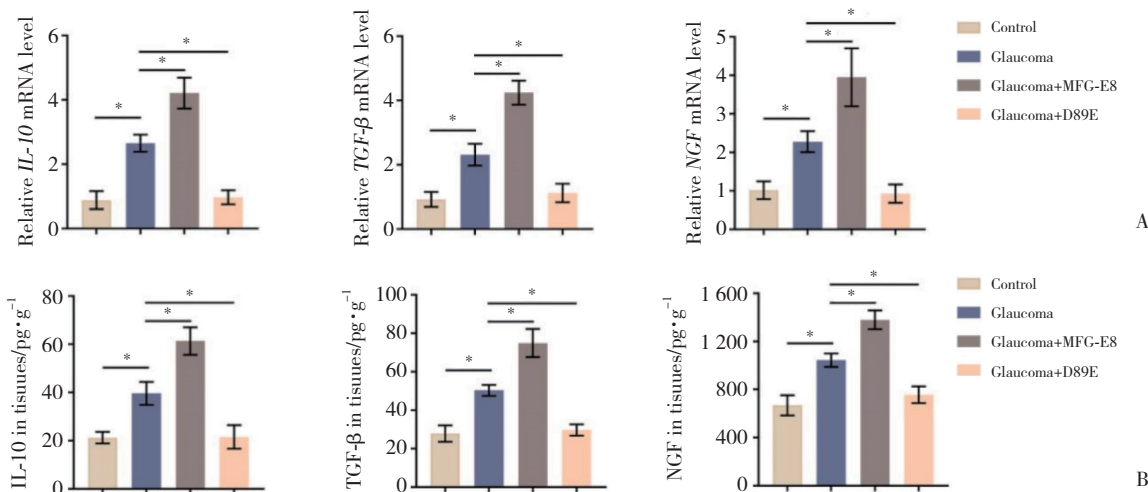
果表明MFG-E8可增强青光眼大鼠视网膜组织中抗炎性细胞因子和神经生长因子的表达。



A, the number of IBA1 positive cells in the rat retina was detected using immunofluorescence (red, IBA1; blue, DAPI); B, quantitative analysis of the number of IBA1-positive cells in rat retinal tissue. \*P < 0.01 vs. the control group.

图3 MFG-E8促进青光眼大鼠视网膜组织中小胶质细胞激活

Fig.3 MFG-E8 promotes microglia activation in the retina of glaucoma rats



A, the results of RT-qPCR; B, the results of ELISA. \*P < 0.01. n = 6.

图4 MFG-E8激活青光眼视网膜组织炎症反应

Fig.4 MFG-E8 could activate the inflammatory reaction in the retinal tissue of glaucoma

### 3 讨论

尽管高眼压是导致青光眼视网膜损伤和RGC凋亡的主要原因,但即使成功地将眼压控制在正常范围,仍有部分患者发生RGC凋亡和视野丧失<sup>[7]</sup>。有文献<sup>[8]</sup>报道,小胶质细胞广泛存在于中枢神经系统和视网膜中,具有神经保护功能。活化的小胶质

细胞产生的营养性生物大分子、谷氨酸转运体和抗氧化剂能够促进神经元发挥正常功能。活化的小胶质细胞参与细胞碎片的吞噬,从而避免坏死细胞引发的炎症反应和对邻近正常细胞的毒性损害,同时,活化的小胶质细胞可产生神经营养因子<sup>[9]</sup>。MFG-E8能够促进小胶质细胞的吞噬作用,抑制炎症反应<sup>[10]</sup>,在某些神经疾病中具有治疗作用<sup>[11]</sup>。因此,

深入探讨MFG-E8激活小胶质细胞在青光眼中的作用和机制可能为青光眼的治疗提供新的方向。

本研究中,首先构建了青光眼大鼠模型,并观察到青光眼大鼠视网膜组织结构异常,包括细胞核密度降低,GCC层厚度减少等,且RGC凋亡增加。为了进一步研究MFG-E8的功能,对青光眼大鼠给予MFG-E8和D89E注射。结果发现,MFG-E8可显著减轻视网膜损伤,增加GCC层厚度,减少TUNEL阳性细胞和相关凋亡标志物的表达,而D89E效果相反。结合之前的研究<sup>[12-13]</sup>,推测MFG-E8可有效改善青光眼大鼠的视网膜组织损伤和RGC凋亡,进而达到治疗青光眼的目的。

在明确了MFG-E8在青光眼中的治疗作用后,进一步探究MFG-E8对青光眼大鼠小胶质细胞激活和炎症反应的影响。结果显示,在青光眼大鼠视网膜组织中,IBA1阳性(小胶质细胞标志物)细胞数量增加,表明小胶质细胞被激活<sup>[14]</sup>;此外,青光眼大鼠视网膜组织中IL-10和TGF- $\beta$ 表达水平升高,而MFG-E8处理后二者表达水平进一步升高,而D89E则抑制了IL-10和TGF- $\beta$ 的表达。青光眼模型大鼠视网膜中IL-10和TGF- $\beta$ 水平呈保护性升高,而MFG-E8则通过进一步激活小胶质细胞的吞噬作用,促进抗炎性细胞因子的释放,缓解炎症反应,抑制RGC凋亡,减缓大鼠青光眼进展。GAO等<sup>[10]</sup>发现,MFG-E8可驱使小胶质细胞M2极化,从而减轻神经元的炎症和凋亡。研究<sup>[15]</sup>发现,青光眼早期阶段视网膜中NGF表达水平升高。局部应用重组NGF可显著提高青光眼大鼠模型和患者的RGC存活率<sup>[16]</sup>,表明NGF是治疗青光眼的一种有前途的药物,MFG-E8对青光眼的治疗作用可能也与视网膜组织中NGF水平升高有关。

综上所述,本研究首次揭示了MFG-E8可能通过促进小胶质细胞分泌抗炎性细胞因子和神经营养因子,缓解青光眼视网膜组织损伤和RGC凋亡,为MFG-E8作为青光眼治疗的潜在靶点提供了有力的实验依据。

#### 参考文献:

[1] ZHANG YM, HUANG SY, XIE B, et al. Aging, cellular senescence, and glaucoma [J]. *Aging Dis*, 2024, 15 (2): 546. DOI: 10.14336/ad.2023.0630-1.

- [2] STEIN JD, KHAWAJA AP, WEIZER JS. Glaucoma in adults--screening, diagnosis, and management [J]. *JAMA*, 2021, 325 (2): 164. DOI: 10.1001/jama.2020.21899.
- [3] SHEAN R, YU N, GUNTIPALLY S, et al. Advances and challenges in wearable glaucoma diagnostics and therapeutics [J]. *Bioengineering*, 2024, 11 (2): 138. DOI: 10.3390/bioengineering11020138.
- [4] JAYARAM H, KOLKO M, FRIEDMAN DS, et al. Glaucoma: now and beyond [J]. *Lancet*, 2023, 402 (10414): 1788-1801. DOI: 10.1016/S0140-6736(23)01289-8.
- [5] NOFI CP, PRINCE JM, AZIZ M, et al. The novel MFG-E8-derived oligopeptide, MOP3, improves outcomes in a preclinical murine model of neonatal sepsis [J]. *J Pediatr Surg*, 2024, S0022-3468 (24) 00177-5. DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2024.03.025.
- [6] NOFI CP, TAN CY, MA GF, et al. A novel opsonic eCIRP inhibitor for lethal sepsis [J]. *J Leukoc Biol*, 2024, 115 (2): 385-400. DOI: 10.1093/jleuko/qiad119.
- [7] ZENG Z, YOU ML, RONG R, et al. Translocator protein 18kDa regulates retinal neuron apoptosis and pyroptosis in glaucoma [J]. *Redox Biol*, 2023, 63: 102713. DOI: 10.1016/j.redox.2023.102713.
- [8] ZHOU HJ, YAN LL, HUANG HZ, et al. Tat-NTS peptide protects neurons against cerebral ischemia-reperfusion injury via ANXA1 SUMOylation in microglia [J]. *Theranostics*, 2023, 13 (15): 5561-5583. DOI: 10.7150/thno.85390.
- [9] KWON HS, KOH SH. Neuroinflammation in neurodegenerative disorders: the roles of microglia and astrocytes [J]. *Transl Neurodegener*, 2020, 9 (1): 42. DOI: 10.1186/s40035-020-00221-2.
- [10] GAO YY, TAO T, WU D, et al. MFG-E8 attenuates inflammation in subarachnoid hemorrhage by driving microglial M2 polarization [J]. *Exp Neurol*, 2021, 336: 113532. DOI: 10.1016/j.expneurol.2020.113532.
- [11] ZOU L, XU SC, WANG CL, et al. Methylated MFG-E8 promotes early brain injury after subarachnoid hemorrhage and inhibiting autophagy of nerve cell [J]. *Transl Stroke Res*, 2023. DOI: 10.1007/s12975-023-01217-6.
- [12] OUYANG XL, YANG J, HONG ZX, et al. Mechanisms of blue light-induced eye hazard and protective measures: a review [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 130: 110577. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110577.
- [13] FERNÁNDEZ-ALBARRAL JA, RAMÍREZ AI, DE HOZ R, et al. Glaucoma: from pathogenic mechanisms to retinal glial cell response to damage [J]. *Front Cell Neurosci*, 2024, 18: 1354569. DOI: 10.3389/fncel.2024.1354569.
- [14] HUSN M, AMIN Z, ALI Y, et al. Neuroprotective effects of vitamin B1 on memory impairment and suppression of pro-inflammatory cytokines in traumatic brain injury [J]. *Metab Brain Dis*, 2023, 38 (6): 2175-2184. DOI: 10.1007/s11011-023-01245-z.
- [15] WRÓBEL-DUDZIŃSKA D, PRZEKORA A, KAZIMIERCZAK P, et al. The comparison between the composition of 100% autologous serum and 100% platelet-rich plasma eye drops and their impact on the treatment effectiveness of dry eye disease in primary sjogren syndrome [J]. *J Clin Med*, 2023, 12 (9): 3126. DOI: 10.3390/jcm12093126.
- [16] GUO L, DAVIS BM, RAVINDRAN N, et al. Topical recombinant human nerve growth factor (rh-NGF) is neuroprotective to retinal ganglion cells by targeting secondary degeneration [J]. *Sci Rep*, 2020, 10: 3375. DOI: 10.1038/s41598-020-60427-2.

(编辑 王又冬)