

TLR4/NF- κ B 通道在糖尿病视网膜病变中的作用

伦英俊¹, 陈晨², 高宏程², 范清琳³, 邵仁清¹

1. 潍坊医学院 临床医学院, 山东 潍坊 261000
2. 临沂市人民医院 眼科, 山东 临沂 276000
3. 山东第一医科大学(山东省医学科学院)研究生处, 山东 泰安 271000

摘要:糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是一种由糖尿病引起的微血管并发症,也是导致患者失明的首要原因。其发病机制受多种因素影响,例如免疫炎症、氧化应激、多元醇途径等。目前认为免疫炎症机制在 DR 的发生发展起重要作用。Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4)/核转录因子- κ B(nuclear factor kappa B, NF- κ B)通路是介导炎症因子释放的重要途径,在免疫炎症机制中发挥关键作用。目前不少研究证实抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路可有效减轻 DR。本文就 TLR4/NF- κ B 通道在 DR 中的作用进行综述,可为治疗 DR 提供新的靶点。

关键词:糖尿病视网膜病变;Toll 样受体 4;核转录因子 κ B;小胶质细胞;炎症

中图分类号:R774.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-3770(2024)02-0163-06

引用格式:伦英俊,陈晨,高宏程,等. TLR4/NF- κ B 通道在糖尿病视网膜病变中的作用[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报,2024, 38(2):163-168. LUN Yingjun, CHEN Chen, GAO Hongcheng, et al. Role of Toll-like receptor 4/nuclear transcription factor- κ B channels in diabetic retinopathy[J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2024, 38(2):163-168.

Role of Toll-like receptor 4/nuclear transcription factor- κ B channels in diabetic retinopathy

LUN Yingjun¹, CHEN Chen², GAO Hongcheng², FAN Qinglin³, TAI Renqing¹

1. Department of Clinical Medical College, Weifang Medical College, Weifang 261000, Shandong, China
2. Department of Ophthalmology, Linyi People's Hospital, Linyi 276000, Shandong, China
3. Department of Postgraduate, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Taian 271000, Shandong, China

Abstract: Diabetic retinopathy (DR) is a microvascular complication caused by diabetes mellitus and is the primary cause of blindness in patients. Its pathogenesis is influenced by various factors, such as immune inflammation, oxidative stress, and polyol pathways. Currently, immune-inflammatory responses are considered to play important roles in the development of DR. The Toll-like receptor 4 (TLR4)/nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B) pathway mediates the release of inflammatory factors and plays a key role in inflammatory mechanisms. Several studies have demonstrated that inhibition of the TLR4/NF- κ B signaling pathway can effectively treat DR. This review addresses the role of TLR4/NF- κ B channels in DR, which may provide novel treatment targets for this disease.

Key words: Diabetic retinopathy; Toll-like receptor 4; Nuclear factor kappa B; Microglia; Inflammation

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病最常见和最严重的微血管并发症之一,可导致失明。30%~40%糖尿病患者并发 DR,全球 DR 患者超过 1 亿人^[1]。DR 全球患病率的增加将加剧医疗负担^[2]。根据病变严重程度可将 DR 分为非增生型糖尿病视网膜病变(non-proliferative diabetic retinopathy, NPDR)与增生型糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR),NPDR 的眼底表现主要为微血管瘤、出血斑、硬性渗出及软

性渗出,而病理性新生血管生成是 PDR 的标志性特征^[3]。目前针对 DR 的治疗方案以视网膜激光光凝术、抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)药物注射术及玻璃体切割术为主。其中抗 VEGF 药物治疗已成为 PDR 和糖尿病黄斑水肿的主要治疗手段,但部分患者对 VEGF 无反应或多次注射产生耐药性^[4]。因此加强对 DR 发病机制的研究,寻取新的治疗方法非常重要。目前越来越多研究提示免疫炎症在 DR 发生发展中起到重要

收稿日期:2023-08-30

基金课题:临沂市人民医院研究生培养基金项目(YJS2023076)

通信作者:陈晨。E-mail:sdchenchen@126.com

作用^[5-7]。作为一种免疫炎症反应介导因子,TLR4 在视网膜表达,可通过激活 NF- κ B 信号通路介导炎症反应,与 DR 中视网膜微血管异常以及神经损伤等一系列变化密切相关^[8]。本文以 TLR4/NF- κ B 信号通路为基础探讨其在 DR 中的作用。

1 TLR4 及 TLR4 信号传导通路

1.1 TLR4

Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 是一类由病原体相关分子模式 (pathogen associated molecular pattern, PAMP) 和损伤相关分子模式 (damage associated molecular pattern, DAMP) 触发的模式识别受体,在免疫反应中起重要作用^[9]。目前,在哺乳动物体内已发现 13 种 TLRs,其中人体内发现 10 种^[10]。TLR4 是最早被发现也是研究最深入的 TLR,其分布较为广泛,存在于多种细胞的质膜上^[11]。TLR4 也表达在视网膜色素上皮、光感受器、星形胶质细胞、小胶质细胞和视网膜血管内皮细胞中^[12]。TLR4 属于 I 型跨膜蛋白的一种,能够识别细胞外抗原信息并传递到细胞内,是经典的免疫炎症反应介导因子之一。TLR4 分为胞外段、跨膜区及胞内段,胞外段介导 PAMPs 和 DAMPs 的识别,跨膜区负责衔接蛋白相互作用,胞内段的 TIR 区域 (Toll/IL-1 受体同源区),负责募集衔接蛋白。

TLR4 主要识别外源性配体脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS),还可识别在组织损伤中产生的内源性配体,如游离脂肪酸、热休克蛋白、高速泳动族 B1 蛋白等^[13]。外源性配体 LPS 被脂多糖结合蛋白识别提取,以复合物的形式把 LPS 传递给白细胞分化抗原 CD14,CD14 可将 LPS 聚集物分解成单体分子,并将 LPS 呈给 TLR4-MD2 复合物,与 TLR4/MD2 复合物中的髓样分化蛋白 2 (myeloid differentiation-2, MD2) 结合,在内质网/高尔基体中 TLR4 与 MD2 相结合,于细胞表面以 TLR4/MD2 复合物的形式被定位,从而辅助 TLR4 对 LPS 识别,最后形成 LPS-TLR4-MD2 复合物^[14],该复合物诱导 TLR4 在细胞膜上的二聚和胞内段构象变化,通过髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 衔接蛋白介导的信号通路和非 MyD88 依赖性信号通路,分别引起早期及晚期 NF- κ B 的活化,最终导致炎症因子、趋化因子及炎性介质的上调。

1.2 TLR4 参与的信号传导通路

1.2.1 MyD88 依赖的信号通路

MyD88 作为一种胞质可溶性蛋白,由 N 端的死亡结构域 (death domain, DD)、中间结构域及 C 端

Toll/白细胞介素-1 受体结构域 (Toll/interleukin-1 receptor domain, TIR) 结构域组成,只有 DD 区和中间区一起表达时下流的 NF- κ B 才能被激活。MyD88 的 C 端在接头蛋白 MyD88 样适配蛋白 (也称为 TIRAP) 的作用下与 TLR4 胞内区 TIR 结合,引起 MyD88 的 N 端区域 DD 区域发生变构,与白细胞介素-1 受体相关激酶 (interleukin-1 receptor-associated kinase, IRAK) 4 的 N 末端死亡域残基相互作用导致其自身磷酸化,进而活化 IRAK1,活化的 IRAKs 从 MyD88 分离出来并与肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (tumor necrosis factor receptor associated factors, TRAF6) 相结合,TRAF6 是一种 E3 泛素化连接酶^[15]。TRAF6 与 E2 泛素偶联蛋白 13、泛素结合酶变体 1A 形成复合物,从而诱导转化生长因子- β -活化激酶 1 (transforming growth factor- β activated kinase-1, TAK1) 和 TAK1 结合蛋白在膜部分的活化。TAK1 激活下游的抑制 I κ B 激酶 (inhibitory kappa B kinase, IKK) 和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 信号通道。IKK 是一种多蛋白复合物,通常含有 2 种催化成分 (IKK α 和 IKK β) 和 1 种调节成分 (NEMO/IKK γ),IKK 引导 I κ B 蛋白磷酸化后,I κ B 蛋白被降解,释放 NF- κ B 转位进核,进一步表达一系列特定基因,从而产生致炎因子,完成炎症的信号转导过程^[16]。下游 MAPKs (p38 和 JNK) 的激活使 AP-1 活化,同样引起炎症因子的释放。

1.2.2 非 MyD88 依赖性信号通路

β 干扰素 TIR 结构域衔接蛋白 (TIR domain-containing adaptor inducing interferon- β , TRIF) 是含有 TIR 结构域的适配器蛋白,主要介导 MyD88 非依赖性通路,即 TRIF 依赖性通路。该途径表现为 NF- κ B 和干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF3) 的晚发活化,TRIF 相关接头蛋白分子介导 TLR 4 与 TRIF 进行连接,一方面与 TRAF6 结合激活 IKK,引起 I κ B 的磷酸化,使 NF- κ B 活化释放至细胞核内,转录调控炎症因子。另一方面 TRIF 的 N 端招募 TRAF3,使 IRF3 磷酸化而释放细胞因子^[17]。

1.3 NF- κ B

NF- κ B 家族由 5 个结构相关的蛋白质亚基组成,可分为 Rel 蛋白 (c-Rel, RelA/p65、RelB) 和 NF- κ B 蛋白 (p50/NF- κ B1、p52/NF- κ B2) 两类,其中 p50 和 p52 分别由 p105 和 p100 通过蛋白酶体介导的蛋白水解加工成较短的 DNA 结合亚基。所有 NF- κ B/Rel 亚基都含有 N 端 Rel 同源结构域,这对

于 DNA 结合、二聚化、 κB 抑制剂 (inhibitor of kappa B, $\text{I}\kappa\text{B}$) 相互作用和核定位至关重要。典型的 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 转录因子是由 p50 和 RelA/p65 亚基组成的二聚体,其主要存在于细胞质中。静息状态下, $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 的 p65 亚基与 $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ 相结合,核定位信号被覆盖,成为无活性的复合体结构,不能发挥转录调节功能。当细胞受到例如肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor- α , $\text{TNF-}\alpha$)、白细胞介素-1 (interleukin-1, IL-1)、LPS、病毒双链 RNA 和电离辐射等细胞内或细胞外信号的刺激时, $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ 在丝氨酸 32 和丝氨酸 36 处被 IKK 复合体磷酸化、多泛素化并被蛋白酶体降解, $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 二聚体被释放,其核定位序列被暴露出来,从细胞质易位到细胞核中并与相应的 DNA 序列结合,激活基因转录^[18]。 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 诱导多种细胞因子、趋化因子、黏附分子等基因的编码表达,例如 $\text{TNF-}\alpha$ 、 IL-1 、细胞间黏附分子-1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 等,形成一系列炎症反应。

2 TLR4/ $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 信号通道在 DR 的作用

2.1 TLR4/ $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 信号通道与血-视网膜屏障破坏

血-视网膜屏障 (blood-retinal barrier, BRB) 存在于视网膜神经组织及血液之间,具有选择通透性,在维持视网膜微环境的稳态中起关键作用。BRB 由内层 (inner BRB, iBRB) 和外层 (outer BRB, oBRB) 构成, iBRB 主要由内皮细胞及其间的紧密连接组成, oBRB 由视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞之间紧密连接组成。在高糖环境下,TLR4/ $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 信号通路被激活,引起下游细胞因子的异常表达及介导小胶质细胞活化,破坏 BRB,导致血管渗透性增加和视网膜毛细血管变性^[19]。研究发现^[20-21],高糖可诱导 TLR4 活化激活 $\text{NF-}\kappa\text{B}$,上调炎症因子水平,引起视网膜血管通透性增加。 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 作为核转录因子,可诱导多种炎症相关因子基因的编码表达对 DR 造成影响。例如 IL-6 可以增大细胞间隙,使血管内皮细胞的通透性增强^[22]。单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) 通过募集、激活单核细胞及巨噬细胞,加重炎症及细胞损伤,进而增加血管通透性和新生血管的形成^[23]。 $\text{TNF-}\alpha$ 作为重要的促炎因子可以通过上调 ICAM-1 以及减少 occludin 破坏 BRB,并且 $\text{TNF-}\alpha$ 和 ICAM-1 表达上调可促进血管内皮细胞和周细胞的凋亡^[24]。 ICAM-1 上调可增加白细胞的滚动及其对血管壁的黏附来促进白细胞瘀滞,加重炎症反应。 VEGF 通过增加紧密连接蛋白的磷酸化或直接损伤血管内皮细胞、周细胞和 RPE

细胞进而使视网膜通透性增加^[3]。炎症因子并不会单独出现,它们相互影响、相互作用,炎症因子的表达增多使白细胞和血管内皮细胞黏附,造成血流动力学改变,使循环障碍、无灌注区形成,加重组织缺氧缺血,同时激活的白细胞释放大量炎症因子,加重内皮细胞损伤,形成炎症连锁反应,最终导致视网膜血管渗漏及 BRB 障碍等 DR 的视网膜病理改变。

BRB 与 DR 的相关性还表现在小胶质细胞中。静息状态下的小胶质细胞主要分布在视网膜内层,包括视网膜神经纤维层、视网膜神经节细胞层、内丛状层、外丛状层^[25-26],负责监测微环境并维持着组织和神经元的稳态,通过细胞与细胞的相互作用以及生长因子、细胞因子和抗炎介质的分泌,成为正常视网膜生长发育、免疫系统、突触修剪、血管形成等过程所必需^[27]。根据被激活的小胶质细胞功能不同,可将小胶质细胞分为促炎 M1 型和抗炎 M2 型, M1 型小胶质细胞多由细菌衍生产物或与感染相关的信号诱导,表现为增殖及迁移能力增强,同时分泌大量促炎因子并产生细胞毒性^[28]。抗炎 M2 型为小胶质细胞的替代活化,主要执行吞噬功能并且高度表达 IL-10 等抗炎因子,在抑制炎症、保护神经元方面有积极作用^[29]。研究表明^[30-31],TLR4/ $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 信号通路可介导小胶质细胞极化,进而影响 DR 的进展。此外,活化的小胶质细胞可以损伤内皮细胞和周细胞,同时小胶质细胞分泌的 $\text{TNF-}\alpha$ 激活 $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 进而破坏 BRB 结构和功能^[32-33]。Yun 等^[34] 发现小胶质细胞通过 IL-6/STATS 信号刺激 VEGF 的生成、下调紧密连接蛋白 ZO-1 和 occludin 的表达,引起血管通透性改变。BRB 功能障碍积聚的炎症因子也会促进小胶质细胞的活化,释放炎症因子,进一步破坏视网膜 BRB 的完整性,加重视网膜的慢性炎症。

2.2 TLR4/ $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 信号通道与新生血管生成

新生血管形成是提示 DR 早期病变向晚期进展的重要标志,与炎症反应密切相关。 VEGF 被作为视网膜血管生成的主要因子,在 DR 发生、发展过程中起重要作用。研究显示, VEGF 可通过激活 VEGFR-1 、 VEGFR-2 刺激内皮细胞增殖、迁移和存活,促进新生血管形成^[35]。TLR4/ $\text{NF-}\kappa\text{B}$ 信号通路可通过产生的细胞因子直接作用于血管内皮,产生促血管生长介质,也可直接调控 VEGF 的表达介导血管生成。有研究^[36] 在小鼠角膜化学烧伤模型中发现 TLR4 表达的缺乏虽不能完全抑制血管生成,但可以减轻炎症反应并且减少新生血管的形成。Chen 等^[37] 发现玻璃体内注射 TLR4 拮抗剂 TAK-242 可

减少氧诱导视网膜血管病变 (oxygen-induced retinopathy, OIR) 小鼠视网膜的无灌注区, 抑制异常血管生成, 与 TLR4 信号通路密切相关。其他研究发现氢化可的松作用在培养的人角膜成纤维细胞上能够通过抑制 TLR4 降低 VEGF 的表达, 提示抗炎治疗可以减少新生血管形成^[38]。在高糖环境下, 视网膜内皮细胞 TLR4、MyD88、NF- κ B 表达增强, 炎症因子水平增高, VEGF 水平增加, 抑制 TLR4 信号通路后新生血管的生成减少^[39]。此外, TLR4 信号通路可介导小胶质细胞通过释放促血管生成介质 (包括细胞因子、生长因子和蛋白酶) 来诱导新生血管生成^[40]。在 OIR 小鼠模型中发现 M1 型的小胶质细胞在视网膜的缺血和新生血管区域聚集, 可能与 TLR4 信号通路有关^[41]。上述研究都表明 TLR4 信号通路参与病理性新生血管生成。

2.3 TLR4/NF- κ B 信号通道与神经损伤

在明显的视网膜微血管病变之前, 视网膜神经损伤就已经出现^[42]。视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cell, RGC) 是视网膜神经组织的主要组成部分, 在视觉信号的处理、传导和加工中起重要作用。RGC 的死亡是早期 DR 患者不可逆视功能损害的重要因素。以往多认为炎症主要介导 DR 中视网膜微血管损伤, 近几年有研究证实^[43], 炎症也是导致 DR 神经损伤的重要因素。Seidel 等^[44]发现糖尿病可引起小鼠视网膜通透性增加、神经节细胞层厚度变薄及 RGC 数量减少, 内皮细胞特异性 TLR4 敲除糖尿病小鼠的 TNF- α 、IL-1 β 、ICAM-1 和 VEGF 水平较普通糖尿病小鼠低, 表明 TLR4 敲除对糖尿病所诱导的视网膜变化起到了保护作用。VEGF 不仅可以影响视网膜通透性及新生血管形成, 还在 DR 的早期阶段起神经保护作用^[45], 抑制 VEGF 可显著增加 RGC 及神经元细胞的凋亡。而其他研究发现^[46-47] VEGF 在 DR 患者的神经节细胞层和内核层显著表达, 其过度表达伴随着神经保护因子的下调。

在高糖环境下, 糖皮质激素可通过 TLR4 信号通道发挥抗炎作用减少 RGC 的凋亡^[48]。研究发现^[49] TLR4 基因沉默可使 NF- κ B 表达下调, 炎症分子分泌减少, 促进 RGC 存活。在视神经挤压模型中的研究表明^[50], 抑制 TLR4/NF- κ B 可减少 RGCs 的损伤。此外, 给予 TLR4 抑制剂 TAK-242 可以减少糖尿病引起的视网膜神经节细胞层细胞数量的损失, 但视网膜厚度没有明显变化^[51]。TLR4 信号通路还可介导小胶质细胞, 通过吞噬 RGC、产生多种炎症因子、分泌神经毒性介质 (如谷氨酸) 加剧神经元细胞功能障碍^[27]。综上, TLR4 信号通路可以影

响 DR 视网膜神经损伤。

3 小 结

TLR4/NF- κ B 信号通道在 DR 的发生发展中起关键作用, 并且抑制 TLR4 信号通路可以控制视网膜炎症反应、减轻微血管病变及神经损伤。近些年来, 通过靶向调控 TLR4/NF- κ B 信号通道防治 DR 的大量临床研究取得重要成效, 但目前对 TLR4 信号通路在 DR 作用的了解只是冰山一角。深入研究阐述 TLR4/NF- κ B 信号通路在 DR 中的作用及其具体调控机制具有重要意义, 不仅可以为防治 DR 提供理论及数据支持, 甚至有望从炎症机制着手发现更多治疗 DR 的新思路。

参考文献:

- [1] Tan TE, Wong TY. Diabetic retinopathy: Looking forward to 2030 [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 13: 1077669. doi:10.3389/fendo.2022.1077669
- [2] Teo ZL, Tham YC, Yu M, et al. Global prevalence of diabetic retinopathy and projection of burden through 2045: systematic review and meta-analysis [J]. *Ophthalmology*, 2021, 128 (11): 1580-1591. doi:10.1016/j.ophtha.2021.04.027
- [3] Yue T, Shi Y, Luo S, et al. The role of inflammation in immune system of diabetic retinopathy: molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1055087. doi:10.3389/fimmu.2022.1055087
- [4] Wallsh JO, Gallemore RP. Anti-VEGF-resistant retinal diseases: a review of the latest treatment options [J]. *Cells*, 2021, 10(5): 1049. doi:10.3390/cells10051049
- [5] Taurone S, Ralli M, Nebbioso M, et al. The role of inflammation in diabetic retinopathy: a review [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(20): 10319-10329. doi:10.26355/eurrev_202010_23379
- [6] Cvitkovic K, Sesar A, Sesar I, et al. Concentrations of selected cytokines and vascular endothelial growth factor in aqueous humor and serum of diabetic patients [J]. *Semin Ophthalmol*, 2020, 35(2): 126-133. doi:10.1080/08820538.2020.1755320
- [7] 王娇娇, 李苗, 宋宗明. 糖尿病视网膜病变的机制和细胞模型研究进展 [J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2022, 36(5): 93-99. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2021.203
WANG Jiaojiao, LI Miao, SONG Zongming. Progress in diabetic retinopathy mechanisms and cellular models [J]. *Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University*, 2022, 36(5): 93-99. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2021.203

- [8] Shu X, Hu Y, Huang C, et al. Nimbolide ameliorates the streptozotocin-induced diabetic retinopathy in rats through the inhibition of TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. *Saudi J Biol Sci*, 2021, 28(8): 4255-4262. doi:10.1016/j.sjbs.2021.06.039
- [9] Dabi YT, Ajagbe AO, Degechisa ST. Toll-like receptors in pathogenesis of neurodegenerative diseases and their therapeutic potential[J]. *Immun Inflamm Dis*, 2023, 11(4): e839. doi:10.1002/iid3.839
- [10] Balka KR, De Nardo D. Understanding early TLR signaling through the myddosome[J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 105(2): 339-351. doi:10.1002/JLB.MR0318-096R
- [11] Romerio A, Peri F. Increasing the chemical variety of small-molecule-based TLR4 modulators: an overview [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1210. doi:10.3389/fimmu.2020.01210
- [12] Wang L, Wang J, Fang JZ, et al. High glucose induces and activates Toll-like receptor 4 in endothelial cells of diabetic retinopathy [J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2015, 7: 89. doi:10.1186/s13098-015-0086-4
- [13] 李晓洁, 许泽鹏, 黄玉婷, 等. Toll 样受体 4 信号通路在糖尿病视网膜病变中的研究进展[J]. *中国中医眼科杂志*, 2023, 33(1): 73-79. doi:10.13444/j.cnki.zgzyyzz.2023.01.019
LI Xiaojie, XU Zepeng, HUANG Yuting, et al. Research progress of Toll-like receptor 4 signaling pathway in diabetic retinopathy [J]. *China Journal of Chinese Ophthalmology*, 2023, 33(1): 73-79. doi:10.13444/j.cnki.zgzyyzz.2023.01.019
- [14] Jagtap P, Prasad P, Pateria A, et al. A single step in vitro bioassay mimicking TLR4-LPS pathway and the role of MD2 and CD14 coreceptors[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 5. doi:10.3389/fimmu.2020.00005
- [15] Bayer AL, Alcaide P. MyD88: At the heart of inflammatory signaling and cardiovascular disease[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2021, 161: 75-85. doi:10.1016/j.yjmcc.2021.08.001
- [16] Fitzgerald KA, Kagan JC. Toll-like receptors and the control of Immunity [J]. *Cell*, 2020, 180(6): 1044-1066. doi:10.1016/j.cell.2020.02.041
- [17] Bayan N, Yazdanpanah N, Rezaei N. Role of toll-like receptor 4 in diabetic retinopathy [J]. *Pharmacol Res*, 2022, 175: 105960. doi:10.1016/j.phrs.2021.105960
- [18] Durand JK, Baldwin AS. Targeting IKK and NF- κ B for therapy[J]. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2017, 107: 77-115. doi:10.1016/bs.apcsb.2016.11.006
- [19] Zhang Y, Li H, Wang C, et al. Toll like receptor 4 gene Asp299Gly polymorphism increases the risk of diabetic microvascular complications; a meta analysis[J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2022, 14(1): 79. doi:10.1186/s13098-022-00849-2
- [20] Fu H, Liu H. Deletion of toll-like receptor 4 ameliorates diabetic retinopathy in mice[J]. *Arch Physiol Biochem*, 2023, 129(2): 519-525. doi:10.1080/13813455.2020.1841795
- [21] Chen H, Yan T, Song Z, et al. MD2 blockade prevents modified LDL-induced retinal injury in diabetes by suppressing NADPH oxidase-4 interaction with Toll-like receptor-4[J]. *Exp Mol Med*, 2021, 53(4): 681-694. doi:10.1038/s12276-021-00607-w
- [22] Mesquida M, Drawnel F, Lait PJ, et al. Modelling macular edema: the effect of IL-6 and IL-6R blockade on human blood-retinal barrier integrity in vitro[J]. *Transl Vis Sci Technol*, 2019, 8(5): 32. doi:10.1167/tvst.8.5.32
- [23] Taghavi Y, Hassanshahi G, Kounis NG, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1/CCL2) in diabetic retinopathy: latest evidence and clinical considerations[J]. *J Cell Commun Signal*, 2019, 13(4): 451-462. doi:10.1007/s12079-018-00500-8
- [24] O'leary F, Campbell M. The blood-retina barrier in health and disease[J]. *FEBS J*, 2023, 290(4): 878-891. doi:10.1111/febs.16330
- [25] Madore C, Yin ZR, Leibowitz J, et al. Microglia, lifestyle stress, and neurodegeneration[J]. *Immunity*, 2020, 52(2): 222-240. doi:10.1016/j.immuni.2019.12.003
- [26] Mcmenamin PG, Saban DR, Dando S J. Immune cells in the retina and choroid: two different tissue environments that require different defenses and surveillance [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2019, 70: 85-98. doi:10.1016/j.preteyeres.2018.12.002
- [27] Altmann C, Schmidt MHH. The role of microglia in diabetic retinopathy: inflammation, microvasculature defects and neurodegeneration[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): 110. doi:10.3390/ijms19010110
- [28] Orihuela R, McPherson CA, Harry GJ. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states[J]. *Br J Pharmacol*, 2016, 173(4): 649-665. doi:10.1111/bph.13139
- [29] Wang XL, Chen F, Shi H, et al. Oxymatrine inhibits neuroinflammation by regulating M1/M2 polarization in N9 microglia through the TLR4/NF- κ B pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 100: 108139. doi:10.1016/j.intimp.2021.108139
- [30] Fang MY, Wan WC, Li QM, et al. Asiatic acid attenuates diabetic retinopathy through TLR4/MyD88/NF- κ B p65 mediated modulation of microglia polarization[J]. *Life Sci*, 2021, 277: 119567. doi:10.1016/j.lfs.2021.119567
- [31] Gu C, Zhang HJ, Zhao SF, et al. Mesenchymal stem cell exosomal miR-146a mediates the regulation of the TLR4/MyD88/NF- κ B signaling pathway in inflamma-

- tion due to diabetic retinopathy[J]. *Comput Math Methods Med*, 2022; 3864863. doi:10.1155/2022/3864863
- [32] Tang L, Zhang C, Lu L, et al. Melatonin maintains inner blood-retinal barrier by regulating microglia via inhibition of PI3K/Akt/Stat3/NF- κ B signaling pathways in experimental diabetic retinopathy [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 831660. doi:10.3389/fimmu.2022.831660
- [33] Jo DH, Yun JH, Cho CS, et al. Interaction between microglia and retinal pigment epithelial cells determines the integrity of outer blood-retinal barrier in diabetic retinopathy[J]. *Glia*, 2019, 67(2): 321-331. doi:10.1002/glia.23542
- [34] Yun JH, Park SW, Kim KJ, et al. Endothelial STAT3 activation increases vascular leakage through downregulating tight junction proteins; implications for diabetic retinopathy[J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(5): 1123-1134. doi:10.1002/jcp.25575
- [35] Arrigo A, Aragona E, Bandello F. VEGF-targeting drugs for the treatment of retinal neovascularization in diabetic retinopathy[J]. *Ann Med*, 2022, 54(1): 1089-1111. doi:10.1080/07853890.2022.2064541
- [36] Friedman M, Azrad-lebovitz T, Morzaev D, et al. Protective effect of TLR4 ablation against corneal neovascularization following chemical burn in a mouse model[J]. *Curr Eye Res*, 2019, 44(5): 505-513. doi:10.1080/02713683.2018.1564833
- [37] Chen W, Zhang J, Zhang P, et al. Role of TLR4-MAP4K4 signaling pathway in models of oxygen-induced retinopathy[J]. *FASEB J*, 2019, 33(3): 3451-3464. doi:10.1096/fj.201801086RR
- [38] Gao T, Lin Z, Jin X. Hydrocortisone suppression of the expression of VEGF may relate to toll-like receptor (TLR) 2 and 4[J]. *Curr Eye Res*, 2009, 34(9): 777-784. doi:10.1080/02713680903067919
- [39] Xue L, Hu M, Zhu Q, et al. GRg1 inhibits the TLR4/NF- κ B signaling pathway by upregulating miR-216a-5p to reduce growth factors and inflammatory cytokines in DR[J]. *Mol Biol Rep*, 2023, 50(11): 9379-9394. doi:10.1007/s11033-023-08895-3
- [40] Kinuthia UM, Wolf A, Langmann T. Microglia and inflammatory responses in diabetic retinopathy[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 564077. doi:10.3389/fimmu.2020.564077
- [41] Boeck M, Thien A, Wolf J, et al. Temporospacial distribution and transcriptional profile of retinal microglia in the oxygen-induced retinopathy mouse model[J]. *Glia*, 2020, 68(9): 1859-1873. doi:10.1002/glia.23810
- [42] Soni D, Sagar P, Takkar B. Diabetic retinal neurodegeneration as a form of diabetic retinopathy[J]. *Int Ophthalmol*, 2021, 41(9): 3223-3248. doi:10.1007/s10792-021-01864-4
- [43] Bikbova G, Oshitari T, Bikbov M. Diabetic neuropathy of the retina and inflammation; perspectives[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(11): 9166. doi:10.3390/ijms24119166
- [44] Seidel A, Liu L, Jiang YD, et al. Loss of TLR4 in endothelial cells but not Müller cells protects the diabetic retina[J]. *Exp Eye Res*, 2021, 206: 108557. doi:10.1016/j.exer.2021.108557
- [45] Park HY, Kim JH, Park CK. Neuronal cell death in the inner retina and the influence of vascular endothelial growth factor inhibition in a diabetic rat model[J]. *Am J Pathol*, 2014, 184(6): 1752-1762. doi:10.1016/j.ajpath.2014.02.016
- [46] Ferreira de Melo IM, Martins Ferreira CG, Lima da Silva Souza EH, et al. Melatonin regulates the expression of inflammatory cytokines, VEGF and apoptosis in diabetic retinopathy in rats[J]. *Chem Biol Interact*, 2020, 327: 109183. doi:10.1016/j.cbi.2020.109183
- [47] Araszkiewicz A, Zozulinska-Ziolkiewicz D. Retinal neurodegeneration in the course of diabetes-pathogenesis and clinical perspective[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2016, 14(8): 805-809. doi:10.2174/1570159x14666160225154536
- [48] Pereiro X, Ruzafa N, Acera A, et al. Dexamethasone protects retinal ganglion cells but not Müller glia against hyperglycemia in vitro[J]. *PLoS One*, 2018, 13(11): e0207913. doi:10.1371/journal.pone.0207913
- [49] Zhao M, Li CH, Liu YL. Toll-like receptor (TLR)-2/4 expression in retinal ganglion cells in a high-glucose environment and its implications [J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(2): 10. doi:10.4238/gmr.15026998
- [50] Nakano Y, Shimazawa M, Ojino K, et al. Toll-like receptor 4 inhibitor protects against retinal ganglion cell damage induced by optic nerve crush in mice [J]. *J Pharmacol Sci*. 2017, 133(3): 176-183. doi:10.1016/j.jphs.2017.02.012
- [51] Liu L, Jiang YD, Steinle J. Epac1 regulates TLR4 signaling in the diabetic retinal vasculature [J]. *Cytokine*, 2021, 144: 155576. doi:10.1016/j.cyto.2021.155576