

· 综 述 ·

青光眼动物模型在青光眼研究中的应用

宋 硕^{1,2}, 孟 永³, 李 华^{2,3*}¹中国医药工业研究总院国家上海新药安全评价研究中心, 上海 201203; ²上海益诺思生物技术股份有限公司, 上海 201203; ³益诺思生物技术南通有限公司, 江苏 南通 226133

[摘 要] 青光眼是一种常见的神经退行性疾病, 发病机制复杂, 严重威胁人类眼健康。青光眼动物模型的建立为该疾病的发生、发展及干预措施提供了研究基础。文章在对青光眼进行简单介绍的基础上, 从自发产生和人为诱导青光眼动物模型两个角度, 对当前青光眼动物模型的构建方法进行了叙述。一种青光眼动物模型只能模拟某一类型青光眼或青光眼某一方面的病理改变, 因此, 应根据不同试验需求, 选择合理的动物模型。随着生物技术、基础科学研究的进展, 以及对青光眼发病机制的深入理解, 将有望进一步改进现有模型或开发新的诱导机制来克服目前的局限性, 使我们在未来能更好地理解和干预青光眼的发生发展。

[关键词] 青光眼; 动物模型; 眼压

[中图分类号] R775

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2021)12-1850-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20211224

Application of glaucoma animal model in glaucoma study

SONG Shuo^{1,2}, MENG Yong³, LI Hua^{2,3*}¹National Shanghai Center for New Drug Safety Evaluation and Research of China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 201203; ²Shanghai InnoStar Bio-tech Co., Ltd., Shanghai 201203; ³InnoStar Bio-tech Nantong Co., Ltd., Nantong 226133, China

[Abstract] Glaucoma is a common neurodegenerative disease with complex pathogenesis, which seriously threatens human eye health. The establishment of glaucoma animal model provides a research basis for the occurrence, development and intervention of glaucoma. Based on the brief introduction of glaucoma, this paper describes the current construction methods of animal models of glaucoma from the two perspectives of spontaneous and artificially induced glaucoma animal models. An animal model of glaucoma can only simulate a certain type of glaucoma or one aspect of the pathological changes of glaucoma. Therefore, we should choose a reasonable animal model according to different experimental needs. With the development of biotechnology and basic scientific research, as well as the in-depth understanding of the pathogenesis of glaucoma, it is expected to further improve the existing models or develop new induction mechanisms to overcome the current limitations, so that we can better understand and intervene the occurrence and development of glaucoma in the future.

[Key words] glaucoma; animal model; intraocular pressure

[J Nanjing Med Univ, 2021, 41(12): 1850-1855]

1 青光眼简介

“青光眼 (glaucoma)”这一术语源自希腊语

[基金项目] 十三五“重大新药创制”科技重大专项 (2018ZX09201017-008)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: hli@innostar.cn

“glaukós”, 指绿色或浅灰色的, 因此又称为绿内障, 是一种常见的视网膜神经退行性疾病^[1]。尽管该疾病的病理生理学过程仍不完全明确, 但其与眼压 (intraocular pressure, IOP) 升高、视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cell, RGC) 死亡以及视神经轴突变性的相关性已得到证实^[2]。青光眼是世界范围内导

致不可逆失明的主要原因,预计到2040年,青光眼患者将达到1.118亿^[3]。青光眼有几个已知的危险因素,如眼压升高、家族史、高度近视以及心血管疾病等,其中眼压升高是最重要的危险因素。然而,在眼压正常或治疗后恢复正常眼压的青光眼患者中,神经退行性变仍可能继续进展。神经损伤的发病机制多种多样,包括谷氨酸所致的神经毒性、一氧化氮以及神经炎症和神经保护调节的失衡等^[4]。

鉴于此,青光眼一直是眼科疾病临床前和临床研究中的热点和难点。青光眼临床前研究主要依赖动物模型,利用动物模型模拟人类青光眼的发生发展过程,研究其危险因素、发病机制,以促进抗青光眼药物的开发和治疗手段的改进。按不同的分类方法,当前青光眼动物模型可分为急性、慢性模型,高眼压、正常眼压模型,体内、体外模型,以及自发产生或诱导产生的模型等^[5]。本文将介绍当前青光眼动物模型建立的方法及在青光眼研究中的应用,以期改进当前青光眼动物模型,并为新模型的构建提供思路和启发。

2 青光眼动物模型

2.1 自发型青光眼动物模型

自发型青光眼动物模型是动物自发产生(遗传)或者人为对其进行基因改造(转基因)得到的,对青光眼临床前体内研究具有重要价值。遗传性青光眼的发生常见于比格犬等多个犬种,其中比格犬原发性青光眼是一种常染色体隐性遗传病,多在9~18个月大时发病^[6]。多个种属的转基因动物自发型青光眼模型已得到广泛应用,包括犬、小鼠、鸡、家兔等,其中以小鼠研究和应用最多。小鼠眼球在多个方面与人眼相似、发育周期短、价廉,可以根据造模需求进行青光眼相关致病基因的插入、敲除、修饰等转基因操作,成为研究青光眼发病的分子机制、遗传学因素及药物治疗机制等较为理想的动物模型。但是小鼠眼球小,相关眼科检查和检测难度较大,限制了小鼠青光眼模型的发展。DBA/2J小鼠是背景信息最丰富的小鼠模型之一,与人类青光眼有许多相似之处,作为一种年龄依赖性的遗传性高眼压青光眼模型被广泛用于青光眼研究。其自发出前节异常(前房加深、角膜水肿等)、虹膜萎缩、虹膜外周粘连和色素分散,导致眼压约从8月龄开始升高,具有典型的青光眼损伤特点,但不同小鼠间RGC损伤的程度有很大差别^[7-8]。有报道视

网膜中过表达Norrin的转基因小鼠(Pax6-Norrin)与DBA/2J小鼠杂交得到DBA/2J/Pax6-Norrin小鼠,1岁DBA/2J/Pax6-Norrin组小鼠的视神经轴突存活率明显高于同窝DBA/2J组,该研究为青光眼治疗提供了一个可能的新靶点^[9]。转基因青光眼动物的主要优点在于个体间眼压升高、视网膜和视神经损伤等方面的反应更加一致,个体差异小。更重要的是,转基因动物的使用有助于识别引起疾病的基因座之间的相互作用。

除了自发型高眼压青光眼模型,自发的正常眼压青光眼(normal tension glaucoma, NTG)小鼠模型也有研究报道。谷氨酸/天冬氨酸转运体(glutamate/aspartate transporter, GLAST)和兴奋性氨基酸载体1(excitatory amino acid carrier 1, EAAC1)的缺失可导致RGC自发死亡和视神经退行性变,不伴随眼压升高,病理过程与NTG类似。Harada等^[7]总结了目前已经建立的多种青光眼动物模型,包括GLAST敲除小鼠、EAAC1敲除小鼠、视神经蛋白E50K敲入小鼠、DBA/2J小鼠和实验性诱导模型,并分析了各自的优点和局限性。其中GLAST敲除小鼠、EAAC1敲除小鼠和视神经蛋白E50K敲入小鼠虽然发生了RGC变性,但眼压表现正常,这些小鼠的视网膜变性始于3~5周龄,具有比人类青光眼预期更早更快的时间进程。高眼压模型的研究结果对NTG也是有用的,综合考虑NTG模型和高眼压模型治疗的结果可能会促进针对非眼压因素的新治疗方法的开发。

2.2 诱导型青光眼动物模型

诱导型青光眼动物模型是通过一定诱因为人诱导实验动物发生青光眼而得到的,是研究青光眼发病机制及药理药效的重要手段。与自发型模型相比,其优势在于,在同一只动物中提供了一个对照眼,即一只眼睛接受诱导,另一只眼睛作为对照,大大节省了动物使用量。为开展对照实验创造了合适的条件,将解决自发型青光眼模型的发病时机和疾病过程难以控制的问题。

2.2.1 眼压依赖性青光眼动物模型

眼压依赖性青光眼动物模型,即动物眼压随着诱导因素的施加而升高,表现为高眼压,伴或不伴有RGC凋亡、视神经轴突变性等视神经损害。由于当前高眼压症的动物模型研究较少,本文所述眼压依赖性青光眼动物模型仅指伴高眼压的青光眼动物模型。眼压依赖性动物模型的建立方法多种多样,但目前单个模型仅能模拟某一种类型青光眼的疾病表型,或其表型某一方面的特点。因此,建立相似性高、标准化、可重复、适用、可控、易行、经济的高眼压模型对

青光眼基础及临床研究具有重要意义。

高眼压被认为是青光眼最主要的危险因素,大多数的青光眼模型都是通过阻止房水排出而升高眼压。房水处于动态循环中,它由睫状体的睫状突上皮产生后到达后房,通过瞳孔进入前房,然后由前房经小梁网进入Schlemm管,再经集液管和房水静脉最后进入巩膜表层的睫状前静脉而回到血液循环,为压力依赖性外流途径。另有少部分房水从葡萄膜巩膜途径引流(占10%~20%)或经虹膜表面隐窝吸收(微量),为非压力依赖性排出途径。房水循环通道任一部位受阻,都将导致眼压升高^[10],因此模型建立的关键部位主要为小梁网及上巩膜静脉^[5]。

2.2.1.1 前房注射特定物质

通过向实验动物前房内注射一定量的特定物质,增加房水外流阻力或者堵塞小梁网,从而减缓或阻断房水流出,导致眼压升高。目前文献报道的用于前房注射的物质包括透明质酸钠、甲基纤维素、复方卡波姆、微球、水凝胶、自体血细胞、S-抗原等。Yu等^[11]通过向Sprague-Dawley大鼠前房单次注射7 μL 由羧甲基透明质酸和聚乙二醇二丙烯酸酯以4:1的比例预先混合而成的原位交联水凝胶,来升高其眼压。并评估了与青光眼相关的重要视觉功能变化、常见降眼压药物的降压效果以及原位交联水凝胶前房注射对角膜内皮的安全性影响。闪光视觉诱发电位(flash visual evoked potential, FVEP)的P1潜伏期和振幅变化表明该模型能有效诱导视神经功能损害。除匹罗卡品的降压效果不明显,其余所评估的药物均有效。第2、4和8周对角膜内皮的组织学分析、TUNEL和CCK-8检测结果与对照组相比无显著性差异。因此,认为前房单次注射水凝胶对高眼压青光眼的建模有效,对多数常用的降眼压药物有反应,且对角膜内皮无毒性。Hazlewood等^[12]向3月龄C57BL/6J小鼠右眼前房注射2 μL 粒径为6 μm 聚苯乙烯微球和1 μL 透明质酸钠,诱导眼压升高。从注射微球的当天,饲喂小鼠含或不含替米沙坦的固体颗粒饲料。尽管两组小鼠IOP升高的幅度和持续时间相似,但相比替米沙坦治疗小鼠,未喂食替米沙坦的小鼠视神经轴突的变性率显著增加(49.00% vs. 0.58%),表明替米沙坦具有一定的神经保护作用。

相对于聚苯乙烯或乳胶微球,可以定向吸引的磁性微球和方便观察的荧光微球,因为具有注射后可被定向吸引至房角,不会大量积聚于瞳孔区而影响通过瞳孔的眼底检查和便于观察微球的分布位

置等优点,越来越多被应用。更为重要的是,使用磁性微球时仅需要更少的注射次数即可实现眼压持续升高,大大提高了实验结果的可靠性。Tribble等^[13]向Brown Norway大鼠前房单次注射6~8 μL (1.6×10^6 个/ μL)直径4.5 μm 的环氧树脂磁性微球,并使用手持磁铁吸引使其堵塞房角,结果发现Brown Norway大鼠磁性微球模型再现了人类青光眼的许多临床相关特征,表现出与人类青光眼相似的RGC退行性变、相一致的血管损害以及伴有高眼压的眼球整体尺寸扩大。

2.2.1.2 类固醇诱导

高眼压是临床上眼科应用慢性类固醇药物治疗时最常见的并发症,约90%的青光眼患者和30%的疑似青光眼患者在使用类固醇制剂治疗4周后出现了中度眼压升高。类固醇诱导的青光眼模型类似于原发性开角型青光眼(primary open angle glaucoma, POAG),患者小梁网的形态变化,房水流出受阻。在一些动物模型中使用类固醇诱导小梁网变性已被广泛报道,局部、全身和眼周等途径给予类固醇制剂均可导致动物模型眼压升高^[14]。Rybkin等^[15]总结了从啮齿类动物到灵长类动物的体外细胞和器官培养以及体内动物模型,用于研究类固醇诱导眼压升高在特定方面的优点和局限性,并提供了这些模型系统用于理解类固醇诱导高眼压的例子。尽管体外模型无法完全模拟体内的复杂性,但它们对于了解类固醇诱导高眼压的分子机制,以及筛选针对性的治疗药物都不可或缺。了解每种模型的优点和局限性,对于选择最佳系统来解决问题至关重要,将推动对类固醇诱导眼压升高的病理生理学机制的理解。

2.2.1.3 激光光凝房水流出通道

通过激光单独或联合光凝小梁网、角膜缘静脉丛和巩膜外血管等房水引流相关组织,减少房水流出,可导致眼压升高。12~16周龄、体重40~45 g的雄性Swiss白化小鼠麻醉后,左眼接受二极管激光光凝。激光束直接瞄准并发射到角巩膜缘和上巩膜静脉,不透过任何透镜。激光光斑大小为50~100 μm ,照射时间0.5 s,输出功率为0.3 W,每只眼睛光凝55~76处。光凝后第1~3天,激光眼的眼压显著高于对照眼,差异有统计学意义($P < 0.01$);第5天,眼压开始下降,第7天接近对照眼眼压值^[16]。为了探讨激光诱发的高眼压对食蟹猴视锥细胞和视网膜厚度的长期影响,Liu等^[17]用氩激光光凝5只雄性食蟹猴右眼,左眼作为对照眼。激光光斑大小50 μm ,功率

11.5 W,暴露时间 0.5 s,在小梁网中段光凝烧伤 60~150 处。首次光凝 2 周后,对眼压低于 30 mmHg 的食蟹猴,再对剩余的小梁网进行激光光凝。激光眼反复给予激光光凝后,高眼压可维持数年。6 年后行光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)和蓝色背景下红色闪光的视网膜电图(electroretinogram, ERG)检查。结果显示,和对照眼相比,激光眼视盘杯盘比增大;神经纤维层和神经节细胞复合体明显变薄;明视负波 ERG 的平均振幅、平均最大圆锥框幅均显著降低。表明激光诱发的长期高眼压影响了食蟹猴视锥细胞作为光感受器的功能。

激光诱导的青光眼模型相对可靠、简单,是研究青光眼视神经保护的一种很好的方法,但该方法需要昂贵的设备和对操作人员专门的训练,需要多次重复激光操作才能维持较长时间高眼压。不同物种对激光能量的吸收也不同,使用时需要摸索激光参数。此外,眼压升高的幅度和持续时间差别也很大,也可能会引起前房积血和角膜水肿等眼部炎症^[14]。

2.2.1.4 上巩膜静脉注射高渗生理盐水

将高渗生理盐水注入巩膜表面静脉使小梁网硬化,房水流出阻力增加,可引起实验动物眼压升高,其中最常使用的动物是大鼠。Morrison 等^[18]详述了 Brown Norway 大鼠巩膜静脉注射操作的过程和技巧,在眼睛的赤道部放置一个塑料环,塑料环留有一个缺口便于注射目标静脉,同时阻塞所有引流的血管,避免高渗生理盐水大量流失。尽量选择较大、分支少的上巩膜静脉,将其仔细与巩膜分离后,插入一个连接注射器的玻璃微针,缓慢注射 50 μ L 浓度为 1.5~2.5 mol/L 的高渗盐水。盐水逆行进入 Schlemm 管并穿过小梁网进入眼睛,角膜周围血管丛变白、前房加深,由此产生炎症和前房角、小梁网瘢痕。刚开始眼压可能低于正常值,但随着房水生成恢复和前房角瘢痕的形成,术后 7~10 d 眼压将开始高于正常水平。

除了包括操作所必需的设备和具体方法等注射技术之外,大鼠品系的选择、高渗盐水的浓度范围、眼压测量的时间和频率、眼压升高的峰值和持续时间、视神经损伤模式等也有文献报道^[19]。高渗盐水模型依赖于房水流出的解剖结构,小梁网和前房角产生瘢痕,房水流出梗阻导致眼压升高,这可能会重现人类青光眼角膜、巩膜和视盘的应力和张力的特征。此外,眼压升高的过程是渐进性的,仔细规划和记录眼压,捕捉峰值和中度眼压,可减少获得准确眼压病史的难度,而且可以获得良好的眼

压变化与神经损伤的相关性。因此,该模型可以用来研究压力诱发的视神经损伤机制,并评估潜在的神经保护疗法。

2.2.1.5 激光、烧灼或结扎上巩膜静脉

房水从 Schlemm 管和集合管引流汇入上巩膜静脉,然后进入静脉循环,因此,可以通过激光、烧灼或结扎来封闭两条或多条上巩膜静脉,减少房水流出,从而增加眼压。眼压升高的幅度取决于所封闭的上巩膜静脉的数目。两种或两种以上的上巩膜静脉封闭术会导致长期的眼压升高和 ERG 改变。一次烧灼上巩膜静脉的成功率为 36%~100%,可使眼压持续升高 10 d 至 24 周,而联合上巩膜静脉结扎术可使眼压持续升高 6 个月以上^[20]。

激光光凝上巩膜静脉产生高眼压的原理与上巩膜静脉烧灼法类似,烧灼法需烧灼 2~3 mm 的上巩膜静脉,烧灼范围较大;而激光可光凝 1 mm 以内的上巩膜静脉,光凝范围较小,由于小鼠眼球小、巩膜薄,使得激光光凝巩膜上静脉建立高眼压模型的方法特别适用于小鼠^[21]。Zhang 等^[22]比较了单纯巩膜外静脉闭塞和合并 2700 角膜缘血管闭塞的 5~8 周龄 CD1 小鼠激光光凝诱导眼压升高的差异。单纯或联合激光光凝后, IOP 在术后 1~6 d 内显著升高,在 7 d 恢复到基线水平;前段 OCT 检查显示单纯或联合激光前,房角粘连较少,角膜缘血管正常;单纯或联合激光后角膜厚度均明显增加,前房未检出炎性细胞,视网膜神经纤维层(retinal nerve fiber layer, RNFL)厚度和 RGC 密度均显著降低。结果显示,单纯激光巩膜外静脉和合并激光 2700 角膜缘血管的两种激光方法的检测结果无显著性差异。

2.2.1.6 环角巩膜缘缝合

环角巩膜缘缝合是一种简单、微创、经济有效的方法,可诱导大鼠和小鼠高眼压,导致神经节细胞损伤。升高眼压的机制可能是改变了虹膜根部、睫状肌、脉络膜和巩膜间隙的生理功能,破坏了葡萄膜巩膜流出途径。缝线压迫导致睫状肌内的间距减小,巩膜突对房水的泵送减少,从而减少房水流出。其他机制包括对巩膜内静脉和巩膜浅层静脉丛的压迫,从而升高上巩膜静脉压,进而导致眼压升高^[23]。Long Evans 大鼠和 C57BL/6 小鼠在全身麻醉的情况下,分别用 7/0 和 10/0 尼龙缝合线在眼球赤道部周围的结膜上进行环形缝合,不穿透巩膜,打一个活结将缝合线系紧。通过调节活结的松紧度,以达到目标眼压。大鼠的 IOP 可维持稳定升高至少 8 周,小鼠的 IOP 可维持升高 12 周,同时暗视

阈值反应(positive Scotopic Threshold Response, pSTR)、RNFL厚度和RGC密度降低。更为重要的是,该模型可以在需要时拆除缝线,使眼压恢复到基线值。眼压正常化可能有助于研究可逆及不可逆RGC损伤的细胞和分子相关性机制^[24]。有研究比较了CD1小鼠激光光凝上巩膜静脉和角膜缘血管、环角膜缘缝合所引起的IOP和视网膜病变。根据即刻眼压峰值的水平,环角膜缘缝合模型又分为急性(>55 mmHg)和慢性(<55 mmHg)。激光组IOP在5 h达到峰值,7 d内恢复正常。所有缝合组IOP最初即出现峰值并逐渐下降,但在第7天时仍显著升高。与慢性缝合模型相比,急性缝合模型在7 d内产生RNFL和RGC的快速丢失,这可能是由于缝合后数小时内视网膜缺血再灌注所致。激光模型介于急性和慢性缝合模型之间,RNFL和RGC损失比急性缝合模型少,但明显多于慢性缝合模型。这些结果提示,在应用环角膜缘缝合模型时,首先要考虑初始眼压峰值,并根据不同的研究目的,合理选择急性和慢性模型^[25]。

2.2.2 眼压非依赖性青光眼动物模型

同样地,眼压非依赖性青光眼动物模型,即动物眼压不随着诱导因素的施加而升高,表现为正常眼压,但多伴有视神经损害。临床上单纯控制眼压的治疗方法并不能完全阻止青光眼恶化,因此,直接损伤视神经或视网膜的非眼压依赖性青光眼动物模型也被广泛研究和应用,旨在解决和研究这些特定的与压力无关的病理生理机制。在眼压未升高的情况下,基于视网膜和视神经损伤的动物模型在很大程度上是通过直接诱导眼结构损伤来实现的。这些直接损伤模型与青光眼发生发展的进程并不接近,然而却是研究青光眼发病所涉及的细胞和分子机制以及研究神经保护策略的有用工具。Pang等^[26]全面总结了已经开发的啮齿类动物眼压非依赖性动物模型,包括视神经横断或挤压模型、视网膜缺血再灌注损伤模型、玻璃体注射兴奋性毒性物质(如谷氨酸、N-甲基天冬氨酸、内皮素-1等)诱导的RGC损伤模型等,并对视网膜缺血再灌注模型建立的不同方法进行了详细介绍。

研究报道,眼压升高可诱导自体反应性T细胞渗入视网膜,通过与表达热休克蛋白(heat shock protein, HSP)的RGC发生交叉反应而导致神经变性,HSP被鉴定为与青光眼小鼠和人青光眼患者T细胞反应的靶抗原。此外,正常眼压青光眼患者的HSP27和HSP60特异性T细胞也增加,表明上述发

现可能与青光眼患者有关^[27]。为了能够更准确地分析人类青光眼患者的免疫反应改变,建立了一种实验性自身免疫性青光眼模型。用HSP27、S100B等抗原免疫该模型诱导青光眼样损伤,在眼压未改变的情况下,大鼠表现出RGC损伤和丢失、视神经退行性变^[28-29]。

3 总结和展望

青光眼发病机制复杂,涉及多种因素。选择能紧密代表人类青光眼特点的动物模型是将临床前研究成功转化为临床实践的关键,本文从自发产生和人为诱导以及眼压是否升高的角度,对常见的青光眼动物模型进行了介绍。啮齿类动物应用最多,家兔、非人灵长类、犬、小型猪、猫、斑马鱼也都有应用。可以看出,目前可用的模型仅能确保视神经的低至中度损伤,结果差异大,重复性差,甚至在同一只动物的两只眼睛之间也是如此。模型建立大多使用幼年动物,忽略了疾病的危险因素与患者年龄的增加直接相关这一因素,可能会改变研究结果,阻碍对疾病的认识和临床转化^[30]。

理想的青光眼动物模型应能概括人类青光眼的形态学、生化和病理生理改变,具有类似的生物学机制以及对治疗药物有类似的反应。而当前的青光眼动物模型远远达不到此要求,如何改进或开发新的模型将是今后青光眼临床前研究的重点。首先,需要精确、可重复、非麻醉和无创的眼压测量方法,并进行实时监测。其次,CRISPR-Cas9技术、干细胞技术、体外芯片模型等技术的应用将极大地推动青光眼临床前研究。例如,利用CRISPR-Cas9技术编辑某些疾病患者多能干细胞中突变的基因,以中和突变,该项技术正被用于小鼠青光眼模型研究^[31]。最后,随着对青光眼发病机制的进一步了解,临床技术的提高也将有助于青光眼的诊断和临床分类,并应用到动物模型中去。

[参考文献]

- [1] LEFFLER C T, SCHWARTZ S G, GILIBERTI F M, et al. What was Glaucoma Called Before the 20th Century? [J]. *Ophthalmol Eye Dis*, 2015, 7: 21-33
- [2] CHITRANSHI N, DHEER Y, ABBASI M, et al. Glaucoma pathogenesis and neurotrophins: focus on the molecular and genetic basis for therapeutic prospects [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2018, 16(7): 1018-1035
- [3] ALLISON K, PATEL D, ALABI O. Epidemiology of glaucoma: the past, present, and predictions for the future [J]. *Cureus*, 2020, 12(11): e11686

- [4] GEYER O,LEVO Y. Glaucoma is an autoimmune disease [J]. *Autoimmun Rev*,2020,19(6):102535
- [5] 徐 晶,胡 城,吴海霞,等.青光眼动物模型研究进展[J]. *国际眼科纵览*,2018(1):53-59
- [6] KATO K,SASAKI N,SHASTRY B S. Retinal ganglion cell(RGC)death in glaucomatous beagles is not associated with mutations in p53 and NTF4 genes [J]. *Vet Ophthalmol*,2012,15(Suppl 2):8-12
- [7] HARADA C,KIMURA A,GUO X,et al. Recent advances in genetically modified animal models of glaucoma and their roles in drug repositioning [J]. *Br J Ophthalmol*,2019,103(2):161-166
- [8] FIEDOROWICZ M,SKA M W,TKIEWICZ M W,et al. Changes of ocular dimensions as a marker of disease progression in a murine model of pigmentary glaucoma [J]. *Front Pharmacol*,2020,11:573238
- [9] LEOPOLD S A,ZEILBECK L F,WEBER G,et al. Norrin protects optic nerve axons from degeneration in a mouse model of glaucoma[J]. *Sci Rep*,2017,7(1):14274
- [10] 葛 坚,王宁利. *眼科学*[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2015:77-78
- [11] YU H,ZHONG H,CHEN J,et al. Efficacy, drug sensitivity, and safety of a chronic ocular hypertension rat model established using a single intracameral injection of hydrogel into the anterior chamber [J]. *Med Sci Monit*,2020,26:e925852
- [12] HAZLEWOOD R J,KUCHTEY J,WU H J,et al. Telmisartan reduces axon degeneration in mice with experimental glaucoma[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*,2020,61(5):51
- [13] TRIBBLE J R,OTMANI A,KOKKALI E,et al. Retinal ganglion cell degeneration in a rat magnetic bead model of ocular hypertensive glaucoma[J]. *Transl Vis Sci Technol*,2021,10(1):21
- [14] AGARWAL R,AGARWAL P. Rodent models of glaucoma and their applicability for drug discovery [J]. *Expert Opin Drug Discov*,2017,12(3):261-270
- [15] RYBKIN I,GEROMETTA R,FRIDMAN G,et al. Model systems for the study of steroid-induced IOP elevation [J]. *Exp Eye Res*,2017,158:51-58
- [16] FERNÁNDEZ-ALBARRAL J A,RAMÍREZ A I,HOZ R D,et al. Neuroprotective and anti-inflammatory effects of a hydrophilic saffron extract in a model of glaucoma [J]. *Int J Mol Sci*,2019,20(17):4110
- [17] LIU K,WANG N,PENG X,et al. Long-term effect of laser-induced ocular hypertension on the cone electroretinogram and central macular thickness in monkeys.[J]. *Photomed Laser Surg*,2014,32(7):371-378
- [18] MORRISON J C,JOHNSON E C,CEPURNA W O. Hypertonic saline injection model of experimental glaucoma in rats[J]. *Methods Mol Biol*,2018,1695:11-21
- [19] MORRISON J C,CEPURNA W O,JOHNSON E C. Modeling glaucoma in rats by sclerosing aqueous outflow pathways to elevate intraocular pressure [J]. *Exp Eye Res*,2015,141:23-32
- [20] BISWAS S,WAN K. Review of rodent hypertensive glaucoma models.[J]. *Acta Ophthalmol*,2019,97(3):e331-e340
- [21] 刘 红,詹桂林,徐 亮.青光眼的动物模型[J]. *国际眼科纵览*,2007,31(2):103-107
- [22] ZHANG L,LI G,SHI M,et al. Establishment and characterization of an acute model of ocular hypertension by laser-induced occlusion of episcleral veins[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*,2017,58(10):3879-3886
- [23] LIU H H,FLANAGAN J G. A mouse model of chronic ocular hypertension induced by circumlimbal suture[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*,2017,58(1):353-361
- [24] HE Z,ZHAO D,VAN KOEVERDEN A K,et al. A model of glaucoma induced by circumlimbal suture in rats and mice[J]. *J Vis Exp*,2018(140):58287
- [25] LIU H H,ZHANG L,SHI M,et al. Comparison of laser and circumlimbal suture induced elevation of intraocular pressure in albino CD-1 mice [J]. *PloS One*,2017,12(11):e189094
- [26] PANG IH,CLARK AF. Inducible rodent models of glaucoma[J]. *Prog Retin Eye Res*,2020,75:100799
- [27] CHEN H,CHO KS,VU THK,et al. Commensal microflora-induced T cell responses mediate progressive neurodegeneration in glaucoma[J]. *Nat Commun*,2018,9(1):3209
- [28] GROTEGUT P,HOERDEMANN PJ,REINEHR S,et al. Heat shock protein 27 injection leads to caspase activation in the visual pathway and retinal T-cell response [J]. *Int J Mol Sci*,2021,22(2):513
- [29] GROTEGUT P,KUEHN S,MEIBNER W,et al. Intravitreal S100B injection triggers a time-dependent microglia response in a pro-inflammatory manner in retina and optic nerve[J]. *Mol Neurobiol*,2020,57(2):1186-1202
- [30] LIU B,MCNALLY S,KILPATRICK J I,et al. Ageing and ocular tissue stiffness in glaucoma[J]. *Surv Ophthalmol*,2018,63(1):56-74
- [31] HADOUX J,DESTERKE C,FÉRAUD O,et al. Transcriptional landscape of a RETC634Y-mutated iPSC and its CRISPR-corrected isogenic control reveals the putative role of EGR1 transcriptional program in the development of multiple endocrine neoplasia type 2A-associated cancers[J]. *Stem Cell Res*,2018,26:8-16

[收稿日期] 2021-02-29