DOI：10.12287/j.issn.2096-8965.20210209

·论　著·

# 特异沉默周细胞的circ_0001186表达抑制糖尿病性视网膜血管病变的发生

孙亚男[1]，姚牧迪[2]，刘畅[2]，张秋阳[2]，颜标[1]*，赵晨[1]*

（1.复旦大学附属眼耳鼻喉科医院，眼科研究院，上海 200030；
2.南京医科大学第四临床医学院，江苏 南京 210009）

【摘要】周细胞是调控视网膜血管成熟和稳定的关键细胞，其病变是引起糖尿病视网膜病变的关键病因。环状RNA作为重要的RNA调控分子，在多种生理和病理进程中发挥作用。本研究发现，糖尿病相关的病理刺激可以特异地上调周细胞中的circ_0001186表达水平，而对血管内皮细胞中的circ_0001186表达水平无显著影响；细胞实验发现，circ_0001186表达沉默可以抑制高糖引起的周细胞损伤，促进周细胞的增殖和内皮细胞对周细胞的募集；动物实验发现，在糖尿病小鼠视网膜中，特异性沉默周细胞中的circ_0001186表达可以减少高糖引起的周细胞丢失，减轻视网膜血管的渗漏和炎症反应。circ_0001186表达沉默可以激活PDGF-PI3K-Akt信号通路进而保护周细胞的功能。本研究发现了视网膜血管病变的调控新机制，靶向抑制周细胞内的circ_0001186表达有望为治疗该疾病提供新思路。

【关键词】周细胞；糖尿病性视网膜病变；环状RNA；PDGF-PI3K-Akt信号通路

**中图分类号**：R774.1，R363.2+1　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：2096-8965（2021）02-0056-07

# Targeting pericyte-expressed circ_0001186 for the inhibition of diabetes-induced retinal vascular dysfunction

Sun Yanan[1], Yao Mudi[2], Liu Chang[2], Zhang Qiuyang[2], Yan Biao[1]*, Zhao Chen[1]*

（1.Eye Institute, Eye & ENT Hospital, Fudan University, Shanghai 200030, China;
2.The Fourth School of Clinical Medicine, Nanjing Medical University, Nanjing 210009, Jiangsu, China）

【**Abstract**】Pericytes play important roles in retinal vascular mature and homeostasis. Their dysfunction is a pathological manifestation in diabetes retinopathy. Circular RNAs have emerged as a class of regulatory RNA transcripts and are involved in the regulation of several physiological and pathological processes. In this study, diabetes-related stresses led to increased expression of circ_0001186 in pericytes but had no effects on the expression of circ_0001186 in endothelial cells. In vitro studies showed that circ_0001186 knockdown reduced high glucose-induced pericyte injury, contributed to the proliferation of pericytes and the recruitment of pericytes to endothelial cells. In vivo studies showed that conditional knockdown of circ_0001186 in pericytes decreased diabetes-induced pericyte loss, suppressed retinal vascular leak and inflammatory response. Mechanistically, knockdown of circ_0001186 could activate PDGF-PI3K-Akt signaling and protect pericytes against high glucose-induced injury. This study revealed a novel mechanism of retinal vascular dysfunction. Targeting of pericyte-expressed circ_0001186 provides a novel insight into the treatment of diabetes retinopathy.

【**Keywords**】Pericyte; Diabetes retinopathy; Circular RNA; PDGF-PI3K-Akt signaling pathway

**基金项目**：国家自然科学基金项目面上项目（81770945）

**通讯作者**：颜　标（1982-），男，山东曲阜人，博士生导师，主要从事眼科血管性疾病的发生机制和干预策略研究。E-mail：yanbiao@fudan.edu.cn
赵　晨（1974-），男，天津人，博士生导师，主要从事视网膜变性疾病研究。E-mail：dr_zhaochen@vip.163.com

## 前言

糖尿病是一类代谢紊乱性疾病，以血糖高为关键病因，长期高血糖会损害眼、脑、肾、血管和神经等的功能[1]。糖尿病性视网膜病变（Diabetes Retinopathy, DR）是糖尿病微血管并发症之一，是糖尿病终末期在眼部的病理表现[2]。视网膜血管壁主要由周细胞（Pericyte）和内皮细胞构成[3]。周细胞与内皮细胞共同构成了视网膜微血管和组织间隙之间的血-眼内屏障，其屏障功能主要来源于细胞膜上表达的紧密连接蛋白和外排转运体。内皮细胞、周细胞以及两者之间的正常对话（Crosstalk）对于维系视网膜的血-眼屏障的紧密性和血管稳态至关重要。周细胞包裹在内皮细胞管腔，与内皮细胞嵌于同一基底膜。周细胞通过紧密连接、缝隙连接和黏着斑等方式与内皮细胞进行通讯，并与周围细胞进行分子交换[4]。周细胞参与调节视网膜血管局部血流循环、血管通透性和神经血管偶联，调节视网膜血管发育、稳定、成熟和重塑过程。同时，周细胞对内皮细胞还具有支持作用，调节内皮细胞的紧密连接以及囊泡运输[5]。此外，周细胞还具有细胞分化潜能，是组织修复和靶向治疗的潜在细胞。DR发病早期阶段即出现周细胞的选择性凋亡和丢失，且周细胞凋亡数目显著多于内皮细胞数目，导致血管稳定性下降[6]。既往研究主要关注内皮细胞病变与DR的关系，而关于周细胞病变与DR发生的关系研究较少。靶向治疗周细胞病变有望为治疗DR提供新的思路。

人类基因组测序发现基因组中可转录为RNA的部分超过90%，仅有不到2%的序列编码蛋白质，绝大部分基因转录为非编码RNA分子（Non-coding RNA）[7]。其中，环状RNA（circRNA）是一类具有共价闭合环状结构的非编码RNA分子，具有高度特异性、保守性和稳定性的特点[8]。研究发现，环状RNA在多个层面调控基因表达，包括表观遗传、转录和转录后调控、剪切和修饰等[9]。已有研究发现，环状RNA通过参与调控X染色体沉默、染色体修饰、基因组修饰和转录激活等过程[10]，参与肿瘤、心血管疾病、神经系统疾病和感染性疾病等的病程[11-13]。因此，深入研究环状RNA的功能，有望为疾病的预测、诊断和治疗提供新的思路。

已有研究发现，环状RNA不仅可以在生理条件下，也可以在病理条件下参与调控血管功能。例如，circCHFR和circ_0029589调控血管平滑肌细胞的增殖和迁移，影响大血管重塑[14, 15]；circ_0105015和circBPTF调控血管的炎症反应[16, 17]；circZNF609和circHIPK3参与调控内皮细胞的增殖能力进而影响糖尿病性视网膜病变[18, 19]。本团队的前期研究发现circ_0001186在DR小鼠模型的视网膜组织中表达明显上调[20]。本文主要探究circ_0001186在糖尿病性视网膜病变中的调控作用及调控机制。

## 1 主要材料和方法

### 1.1 主要材料

采用美国Cell Systems公司的人视网膜内皮细胞（HREC）和人血管周细胞（HVP）；采用美国ScienCell公司的内皮细胞专用培养基（ECM）；采用美国Gibco公司的胎牛血清（FBS）；采用美国Corning公司的生物基质胶（Martrigel）；选择美国Abcam公司的Ki67和NG2抗体；选择美国Cell Signaling Technology公司的p-Akt、Akt、PI3K-p85和p-PI3K-p85抗体；选择美国Proteintech公司的GAPDH内参抗体和二抗。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 糖尿病小鼠的构建

本实验选用雄性C57BL/6小鼠（8周龄，体重26 ± 2 g）。配制柠檬酸盐缓冲液（0.1 mol/L，pH 4.5），将链脲佐菌素（Streptozotocin，STZ）溶解于其中配置为工作液，缓冲液与工作液均现配现用。造模前12 h小鼠禁食。造模组小鼠连续5 d左下腹腔注射STZ工作液（50 mg/kg）；对照组小鼠以相同频次连续腹腔注射等量柠檬酸盐缓冲液。分别于48 h和7 d后测量血糖，血糖值均>16.7 mmol/L归为糖尿病组小鼠，保证饲料和水源充足，垫料干燥清洁。

#### 1.2.2 细胞培养和分组

本实验采用细胞包括HREC和HVP。HREC培养于ECM培养基（10% FBS）中，HVP培养于DMEM培养基（10% FBS）中。将细胞置于37°C培养箱（5% $CO_2$）。细胞分组及相应处理如下：（1）对照组：常规培养基（5.55 mM葡萄糖）；（2）甘露醇培养基组：5.55 mM葡萄糖+24.45 mM甘露醇；（3）高糖培养基组：30 mM葡萄糖；（4）$H_2O_2$刺激组：常规培养基（5.55 mM葡萄糖）并用$H_2O_2$（100 μM）刺激细胞；（5）VEGF刺激组：常规培

养基（5.55 mM葡萄糖）并用VEGF（20 ng/mL）刺激细胞；（6）IL-6刺激组：常规培养基（5.55 mM葡萄糖）并用IL-6（50 ng/mL）刺激细胞；（7）TNF-α刺激组：常规培养基（5.55 mM葡萄糖）并用TNF-α（50 ng/mL）刺激细胞。

1.2.3 MTT测定

96孔板接种细胞，经实验处理后弃去孔内培养基。孔内加入MTT溶液（5 mg/mL）20 μL，37℃孵育3-4 h至产生紫色结晶。弃孔内培养液，加入DMSO150 μL，低速摇晃10 min至结晶溶解。用酶标仪在490 nm波长处测量各孔吸光值，统计分析数据。注意：MTT溶液现配现用，全程无菌避光操作。

1.2.4 Ki67增殖实验

24孔板接种细胞，经实验处理后弃去孔内培养基。PBS清洗；4%多聚甲醛溶液（pH 7.4）于室温15 min；PBS清洗；加入300 μL封闭通透液（含5% BSA+0.1% Triton X-100的PBS），置于湿盒中37℃ 30 min；滴加Ki67一抗溶液，置于湿盒中4℃过夜。第二天将孔板置于室温1 h；PBST清洗；加入二抗工作液，室温2 h。DAPI溶液（0.5 μg/mL）于室温20 min标记细胞核，荧光显微镜下观察并拍照。

1.2.5 Evans Blue染色

4℃避光保存30 g/L Evans Blue工作液，使用前预热至37°C。小鼠麻醉后仰卧位固定，沿一侧腹股沟内侧作一切口，钝性分离各层筋膜与肌肉组织，充分暴露股静脉；缓慢静注Evans Blue工作液，待小鼠末梢血管变蓝后再循环2 h。处死小鼠摘取眼球，4%多聚甲醛溶液中固定30 min。移除眼前节，分离完整视网膜后切成四叶草样，荧光显微镜下观察血管渗漏的情况。

1.2.6 视网膜血管周细胞的荧光标记实验

实验小鼠处死并摘取眼球，4%多聚甲醛溶液固定眼球；分离视网膜平铺于玻片，4%多聚甲醛固定；PBS清洗3次以彻底洗去固定液；滴加足量封闭通透液（5% BSA+1% Triton X-100的PBS）以覆盖视网膜组织于37℃处理45 min；吸去封闭通透液，滴加NG2一抗工作液覆盖视网膜组织，4℃湿盒中过夜。次日，荧光二抗（594 nm）孵育视网膜组织2-3 h标记周细胞；采用荧光标记的Isolectin B4（1∶100）处理视网膜组织30 min定位血管组织。

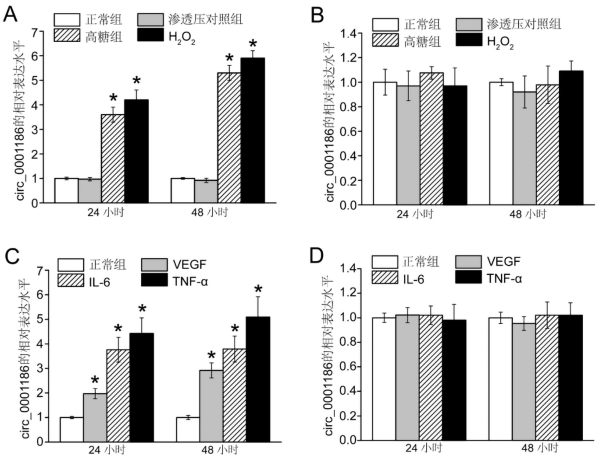
1.2.7 统计分析

采用D'Agostino-Pearson test对各组实验数据进行正态性分布检验，采用Levene's test对各组实验数据进行方差齐性检验。若数据符合正态分布规律且方差齐，则采用One-way ANOVA进行多组数据之间的差异分析，并通过Bonferroni校正多个样本间两两比较的检验水准；若数据呈非正态分布规律或方差不齐，则采用Kruskal-Wallis进行多组数据之间的差异分析，并通过Bonferroni校正多个样本间两两比较的检验水准。$P < 0.05$被认为具有显著的统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 糖尿病相关病理刺激引起周细胞的circ_0001186表达水平上调

本研究在体外构建了周细胞的高糖损伤模型、氧化应激模型和炎症损伤模型[21]，并通过定量PCR技术检测了circ_0001186的表达变化。结果发现，高糖、氧化应激和炎症刺激均可以显著上调周细胞中的circ_0001186表达水平（见图1A，1C）。然而，高糖、氧化应激和炎症刺激对于内皮细胞中的circ_0001186表达无显著影响（见图1B，1D）。




（A和B）将HVP和HREC在含有5.55 mM葡萄糖（正常组）、5.55 mM葡萄糖+24.45 mM丙酮酸盐（渗透压对照组）、30 mM葡萄糖（高糖组）和$H_2O_2$（100 μM）的培养基中培养24 h和48 h，采用定量PCR技术检测circ_0001186的相对表达。（C和D）将HVP和HREC在常规培养基（正常组）和含有VEGF（20 ng/mL）、IL-6（50 ng/mL）或者TNF-α（50 ng/mL）的培养基中培养24 h和48 h，采用定量PCR技术检测circ_0001186的相对表达。$n = 3$；$^*P < 0.05$；One-way ANOVA检验。

图1 高糖、氧化应激和炎症刺激导致周细胞circ_0001186的表达水平升高

### 2.2 circ_0001186在体外参与调控周细胞功能

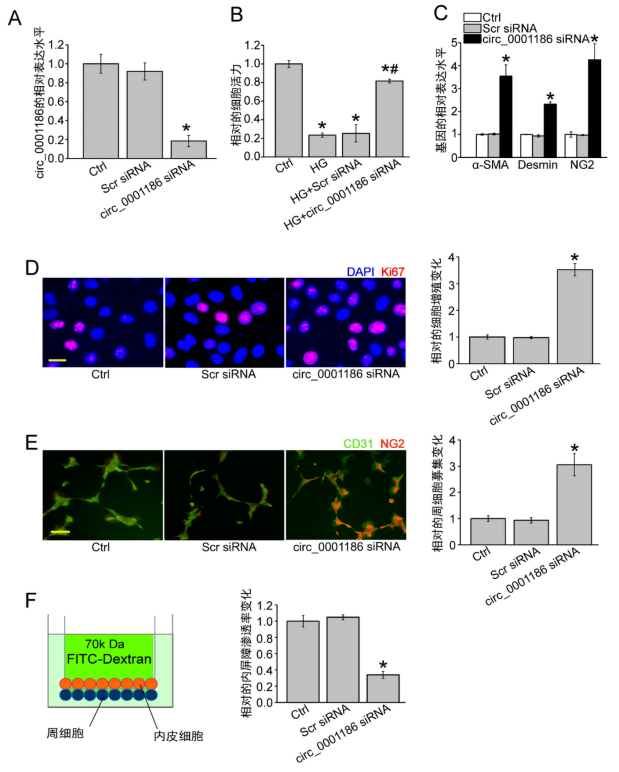
细胞转染实验发现，在周细胞中转染circ_0001186 siRNA可以显著下调circ_0001186的表达

水平（见图2A）。MTT实验发现，高糖处理可以损伤周细胞的功能，导致周细胞活力下降，而circ_0001186的表达沉默可以显著抑制高糖引起的细胞活力下降（见图2B）。定量PCR检测发现，circ_0001186的表达沉默改变周细胞分化相关基因的表达（见图2C）。Ki67免疫荧光染色发现，circ_0001186的表达沉默增加周细胞的核内增殖信号，提示circ_0001186的表达沉默可以促进周细胞的增殖（见图2D）。在周细胞和血管内皮细胞的共培养模型中，circ_0001186表达沉默促进内皮细胞对于周细胞的募集（见图2E）。内皮屏障功能实验发现，下调周细胞中的circ_0001186表达后，培养体系下室内的培养液中FITC-Dextran荧光量明显减少，提示下调周细胞内circ_0001186表达可以改善内皮细胞的屏障功能（见图2F）。

### 2.3 特异沉默周细胞的circ_0001186表达可以抑制周细胞丢失和视网膜血管病变

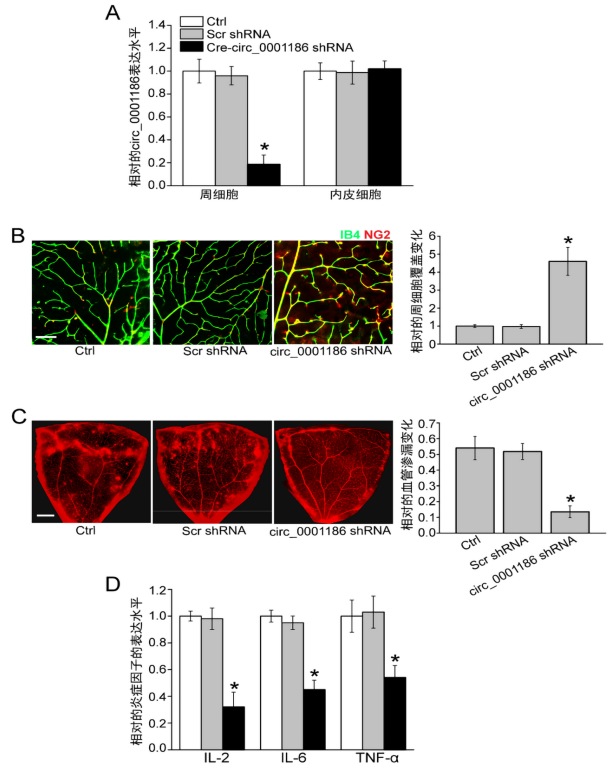
本实验设计了Cre-依赖的circ_0001186 shRNA，在PDGFR-β-Cre小鼠中进行玻璃体腔注射circ_0001186 shRNA进而实现视网膜周细胞的circ_0001186的特异性沉默。然后通过原代分离的方法获得视网膜血管周细胞和内皮细胞。定量PCR检测发现，Cre依赖的circ_0001186 shRNA注射可以下调周细胞中的circ_0001186的表达水平，对内皮细胞的circ_0001186的表达水平无显著影响（见图3A）。

在DR模型构建4个月后，采用视网膜平铺片和免疫荧光染色法检测发现，特异沉默周细胞的circ_0001186表达可以减少糖尿病引起的视网膜周细胞的丢失（见图3B）。Evans Blue实验发现，特




（A）周细胞分别转染scramble siRNA（Scr siRNA, 随机打乱的序列, 阴性对照）和circ_0001186 siRNA，其中未处理组作为对照组,细胞转染24 h后，采用定量PCR技术检测各个实验组的circ_0001186的表达水平；（B）采用MTT检测各个实验组处理24 h后的细胞活力；（C）采用定量PCR技术检测α-SMA、Desmin和NG-2的表达变化评估周细胞分化情况；（D）采用Ki67免疫荧光染色评估周细胞增殖情况；（E）将内皮细胞与周细胞进行共培养24 h后，采用NG2和CD31染色，评估内皮细胞对于周细胞的募集情况（比例尺：20 μm）；（F）将内皮细胞与周细胞进行共培养24 h后，通过检测FITC-Dextran的渗漏情况，评估二者构成屏障渗变化（比例尺：100 μm）。$n=3$；$^{*}P<0.05$；$^{\#}P<0.05$；One-way ANOVA检验。

图2 circ_0001186在体外参与调控周细胞功能



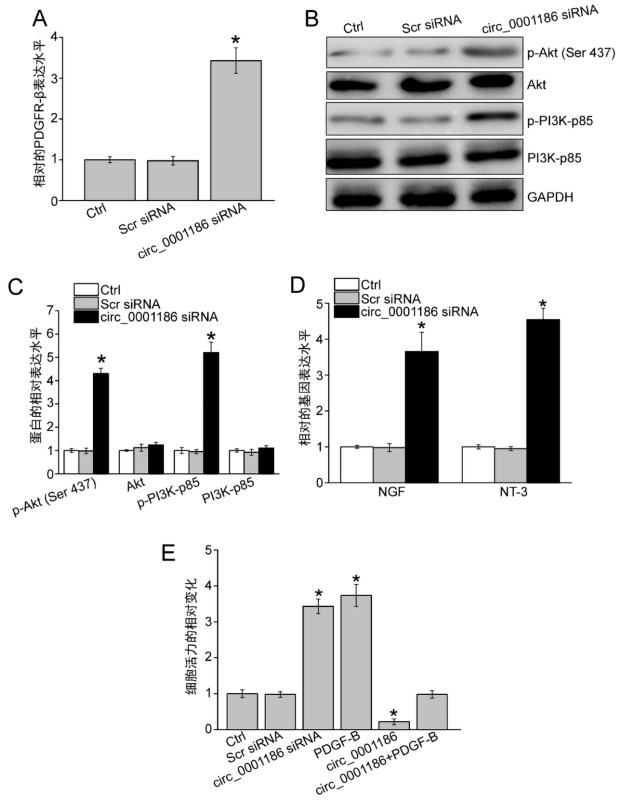

（A）PDGFR-β-Cre小鼠玻璃体腔注射Cre-依赖表达的circ_0001186 shRNA（Cre-circ_0001186 shRNA），原代分离视网膜周细胞和内皮细胞，采用定量PCR技术检测circ_0001186在周细胞和内皮细胞中的表达变化；（B）采用IB4和NG2共染的方法检测各个实验组的周细胞覆盖的变化（比例尺：100 μm）；（C）采用Evans blue染色检测各个实验组的血管渗漏情况（比例尺：250 μm）；（D）采用ELISA染色技术检测各个实验组中IL-2、IL-6和TNF-α的表达水平。$n=6$动物/实验组；$^{*}P<0.05$；Kruskal-Wallis非参数检验。

图3 特异沉默周细胞的circ_0001186表达可以抑制周细胞丢失和视网膜血管病变

异沉默周细胞的circ_0001186表达可以显著减少糖尿病引起的视网膜血管渗漏（见图3C）。ELISA法检测发现，特异沉默周细胞的circ_0001186表达可以抑制糖尿病引起的IL-2、IL-6和TNF-α的表达水平升高，提示circ_0001186表达沉默可以减轻视网膜的炎症反应（见图3D）。

### 2.4 circ_0001186靶向调控PDGFRβ信号影响周细胞功能

PDGFRβ信号是影响周细胞功能的重要分子[22]。研究发现，circ_0001186表达沉默可以导致PDGFRβ的表达水平发生显著上调（见图4A）。PDGF-B信号的激活可以激活PI3K-Akt信号通路，进而调控周细胞的功能。研究发现，circ_0001186表达沉默可以导致磷酸化的Akt和磷酸化的PI3K的表达水平的升高，对总的Akt和PI3K无显著性影响。结果表明，circ_0001186表达沉默导致了PI3K-Akt信号通路的激活（见图4B，4C）。而且，通过定量PCR技术检测发现，circ_0001186表达沉默可以引起Akt的下游分子，即NGF和NT-3表达发生显著地上调，进一步揭示circ_0001186表达沉默激活PI3K-Akt信号通路（见图4D）。体外实验发现，circ_0001186的过表达引起周细胞的活力下降，而circ_0001186的沉默可以提高周细胞的活力，外源性PDGF-B（25 ng/mL）的加入可以模拟circ_0001186表达沉默效应，而外源性PDGF-B的加入可以挽救circ_0001186的过表达对周细胞功能的抑制作用（见图4E），进一步提示circ_0001186靶向调控PDGF-B信号影响周细胞功能。




周细胞分别转染scramble siRNA和circ_0001186 siRNA，其中未处理组作为对照组,细胞转染24 h后，采用定量PCR技术检测各个实验组的circ_0001186的相对表达水平（A）；采用Western blot技术和统计分析，比较各个实验组的p-Akt（Ser-437）、Akt、PI3K-p85和p-PI3K-p85的表达变化（B和C）；采用定量PCR技术检测NGF和NT-3的表达变化（D）。周细胞分别转染scramble siRNA、circ_0001186 siRNA和circ_0001186，然后加入外源性的PDGF-B（25 ng/mL），细胞处理24 h后，采用MTT法检测各个实验组的细胞活力（E）。$n=3$; $^*P<0.05$；One-way ANOVA检验。

图4 circ_0001186靶向调控PDGFRβ信号影响周细胞功能

## 3 讨论

糖尿病性视网膜病变以血管病变为重要病理特征，涉及周细胞选择性的丢失、基底膜增厚、微血管瘤和新生血管等病理过程[23, 24]。视网膜毛细血管是周细胞含量最丰富的血管组织[25]。周细胞和内皮细胞参与维系视网膜血管稳定和血管重塑[26]。目前研究发现，circRNA在视网膜的不同发育阶段和眼科疾病发病过程中异常表达。cPWWP2A作为miR-579的海绵吸附体参与调控下游基因Angiopoietin 1、occludin和SIRT1的表达，进而影响视网膜血管病变[27]。高血糖导致circDNMT3B的表达下调，该靶点通过miR-20b-5p/BAMBI通路参与调控糖尿病诱导的视网膜血管功能紊乱[28]。本课题组的前期研究发现，circHIPK3作为miR-30a-3p海绵吸附体调节血管内皮功能的相关基因（VEGF-C、WNT2和FZD4）的表达[18]。低氧胁迫可以上调circZNF609的表达水平，靶向沉默circZNF609可以抑制病理性的新生血管发生[19]。circ_0005015在糖尿病小鼠视网膜组织中的表达上调，作为miR-519d-3p的海绵吸附体参与调节下游靶基因MMP-2、XIAP和STAT3的表达，进而影响视网膜内皮细胞的增殖、迁移和成管能力[20]。本研究发现，糖尿病相关病理刺激显著上调周细胞内circ_0001186的表达水平。circ_0001186表达沉默可以保护周细胞免受高糖刺激引起的损伤；在视网膜组织中，circ_0001186表达沉默可以改善高糖引起的视网膜血管周细胞丢失，缓解视网膜血管病变的发生。综上可知，circ_0001186表达上调是机体应答高血糖压力的一种胁迫反应。抑制circ_0001186的过度表达是治疗糖尿

病引起的视网膜血管病变的一种潜在手段。

在血管新生过程中，PDGF-B/PDGFR 信号对于维系周细胞功能至关重要。PDGF-B/PDGFR 信号参与周细胞的募集，而该信号异常会导致周细胞的丢失和微动脉瘤的形成[29, 30]。本研究发现，circ_0001186 的表达沉默可以上调 PDGFR 的表达水平，进而激活 PI3K/Akt 信号通路，促进下游调控基因 NGF 和 NT-3 的表达上调。而且，外源性加入 PDGF-B 可以消除 circ_0001186 表达升高引起的周细胞功能损伤。因此，circ_0001186或者circ_0001186介导的下游信号有可能成为治疗 DR 的一个潜在治疗靶点。

综上可知，本研究揭示了糖尿病性视网膜血管病变发生的调控新机制。该机制涉及 circRNA、PDGF-B/PDGFR 信号通路和相关靶基因的协同调控。另外，周细胞作为视网膜血管的重要构成部分，靶向抑制 circ_0001186 的表达可以显著地抑制视网膜血管病变的发生，该研究也为治疗视网膜血管病变提供了新的分子和细胞靶标。

## 参 考 文 献


[1] CORLISS B A, RAY H C, DOTY R W, et al. Pericyte bridges in homeostasis and hyperglycemia[J]. Diabetes, 2020, 69(7): 1503-1517.

[2] CHUNG Y R, CHOIJ A, KOH J Y, et al. Ursodeoxycholic acid attenuates endoplasmic reticulum stress-related retinal pericyte loss in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. J Diabetes Res, 2017, 2017: 1763292.

[3] DEBUC D C, SOMFAI G M, KOLLER A, et al. Retinal microvascular network alterations: potential biomarkers of cerebrovascular and neural diseases[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2017, 312(2): H201-H212.

[4] 丁舟, 王杨宁致, 张喆, 等. 糖尿病视网膜病变血-视网膜屏障的损伤机制[J]. 国际眼科纵览, 2016, 40(2): 98-103.

[5] BELTRAMO E, ARROBA A I, MAZZEO A, et al. Imbalance between pro-apoptotic and pro-survival factors in human retinal pericytes in diabetic-like conditions[J]. Acta Ophthalmol, 2018, 96(1): e19-e26.

[6] WANG W, LO A C, et al. Diabetic retinopathy: pathophysiology and treatments[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(6): 1816.

[7] AUFIERO S, RECKMAN Y J, PINTO Y M, et al. Circular RNAs open a new chapter in cardiovascular biology[J]. Nat Rev Cardiol, 2019, 16(8): 503-514.

[8] PATOP I L, WÜST S, KADENER S. Past, present, and future of circRNAs[J]. EMBO J, 2019, 38(16): e100836.

[9] KRISTENSEN L S, ANDERSENM S, STAGSTED L V W, et al. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs[J]. Nat Rev Genet, 2019, 20(11): 675-691.

[10] LI X, YANG L, CHEN L L. The biogenesis, functions, and challenges of circular RNAs[J]. Mol Cell, 2018, 71 (3): 428-442.

[11] QU S B, YANG X S, LI X L, et al. Circular RNA: a new star of noncoding RNAs[J]. Cancer Lett, 2015, 365(2): 141-148.

[12] BEERMANN J, PICCOLI M T, VIERECK J, et al. Non-coding RNAs in development and disease: background, mechanisms, and therapeutic approaches[J]. Physiol Rev, 2016, 96(4): 1297-1325.

[13] MENG S J, ZHOU H C, FENG Z Y, et al. CircRNA: functions and properties of a novel potential biomarker for cancer[J]. Mol Cancer, 2017, 16(1): 94.

[14] HUANG Z, LI P L, WU L M, et al. Hsa_circ_0029589 knockdown inhibits the proliferation, migration and invasion of vascular smooth muscle cells via regulating miR-214-3p and STIM1[J]. Life Sci, 2020, 259: 118251.

[15] YANG L, YANG F, ZHAO H K, et al. Circular RNA circCHFR facilitates the proliferation and migration of vascular smooth muscle via miR-370/FOXO1/Cyclin D1 pathway[J]. Mol Ther Nucl Acids, 2019, 16: 434-441.

[16] HE X, BAO X J, TAO Z B, et al. The microarray identification circular RNA hsa_circ_0105015 up-regulated involving inflammation pathway in essential hypertension[J]. J Clin Lab Anal, 2021, 35(2): e23603.

[17] ZHANG W, SUI Y N. CircBPTF knockdown ameliorates high glucose-induced inflammatory injuries and oxidative stress by targeting the miR-384/LIN28B axis in human umbilical vein endothelial cells[J]. Mol Cell Biochem, 2020, 471(1-2): 101-111.

[18] SHAN K, LIU C, LIU B H, et al. Circular noncoding RNA HIPK3 mediates retinal vascular dysfunction in diabetes mellitus[J].Circulation, 2017, 136(17): 1629-1642.

[19] LIU C, YAO M D, LI C P, et al. Silencing of circular RNA-ZNF609 ameliorates vascular endothelial dysfunction[J]. Theranostics, 2017, 7(11): 2863-2877.

[20] ZHANG S J, CHEN X, LI C P, et al. Identification and characterization of circular RNAs as a new class of putative biomarkers in diabetes retinopathy[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2017, 58(14): 6500-6509.

[21] GARNER A. Developments in the pathology of diabetic retinopathy: a review[J]. J R Soc Med, 1981, 74(6): 427-431.

[22] CUERVOH, PEREIRAB, NADEEM T, et al. PDGFRβ-

P2A-CreER$^{T2}$ mice: a genetic tool to target pericytes in angiogenesis[J]. Angiogenesis, 2017, 20(4): 655-662.

[23] HAMMES H P, LIN J H, Renner O, et al. Pericytes and the pathogenesis of diabetic retinopathy[J]. Diabetes, 2002, 51(10): 3107-3112.

[24] 胡岚君 . 糖尿病视网膜病变的发病机制[J]. 医学综述, 2008, 3: 316-481.

[25] 胡毅, 唐罗生 . 糖尿病视网膜病变时血管周细胞的凋亡[J]. 国际眼科杂志, 2009, 9(2): 330-331.

[26] ARMULIK A, ABRAMSSON A, BETSHOLTZ C. Endothelial/pericyte interactions[J]. Circ Res, 2005, 97(6): 512-523.

[27] LIU C, GE H M, LIU B H, et al. Targeting pericyte-endothelial cell crosstalk by circular RNA-cPWWP2A inhibition aggravates diabetes-induced microvascular dysfunction[J].Proc Natl Acad Sci U S A, 2019, 116(15): 7455-7464.

[28] ZHU K, HU X, CHEN H, et al. Downregulation of circRNA DMNT3B contributes to diabetic retinal vascular dysfunction through targeting miR-20b-5p and BAMBI[J]. EBioMedicine, 2019, 49: 341-353.

[29] SANTOS G S P, PRAZERES P H D M, MINTZ A. Role of pericytes in the retina[J]. Eye (Lond), 2018, 32(3): 483-486.

[30] SWEENEY M D, AYYADURAI S, ZLOKOVIC B V. Pericytes of the neurovascular unit: key functions and signaling pathways[J]. Nat Neurosci, 2016, 19(6): 771-783.

[收稿日期] 2012−12−12

（上接第 49 页）

[16] GROZOVSKY R, BEGONjA A J, LIU K, et al. The Ashwell-Morell receptor regulates hepatic thrombopoietin production via JAK2-STAT3 signaling[J]. Nat Med, 2015, 21(12): 47-54.

[17] BOSE P, VERSTOVSEK S. JAK2 inhibitors for myeloproliferative neoplasms: what is next?[J]. Blood, 2017, 130 (12): 115-125.

[18] GRINFELD J, GODFREY A L. After 10years of JAK2V-617F: disease biology and current management strategies in polycythaemia vera[J]. Blood Rev, 2017, 31(12): 101-118.

[19] BLAIR H A. Fedratinib: First Approval[J]. Drugs, 2019, 79(12): 1719-1725.

[20] PALMER J, MESA R. The role of fedratinib for the treatment of patients with primary or secondary myelofibrosis[J]. Ther Adv Hematol, 2020, 11(12): 1-7.

[21] BIRGEGARD G. The use of anagrelide in myeloproliferative neoplasms, with focus on essential thrombocythemia[J]. Curr Hematol Malig Rep, 2016, 11(12): 348-355.

[22] SAMUELSON B, CHAI-ADISAKSOPHA C, GARCIA D. Anagrelide compared with hydroxyurea in essential thrombocythemia: a meta-analysis[J]. J Thromb Thrombolysis, 2015, 40(12): 474-479.

[23] KAPUR R, ASLAM R, SPECK E R, et al. Thrombopoietin receptor agonist (TPO-RA) treatment raises platelet counts and reduces anti-platelet antibody levels in mice with immune thrombocytopenia (ITP) [J]. Platelets, 2020, 31(12): 399-402.

[24] KUTER D J. The biology of thrombopoietin and thrombopoietin receptor agonists[J]. Int J Hematol, 2013, 98 (12): 10-23.

[25] WINER E S, SAFRAN H, KARASZEWSKA B, et al. Eltrombopag for thrombocytopenia in patients with advanced solid tumors receiving gemcitabine-based chemotherapy: a randomized, placebo-controlled phase 2 study[J]. Int J Hematol, 2017, 106(12): 765-776.

[26] CWIRLA S E, BALASUBRAMANIAN P, DUFFIN D J, et al. Peptide agonist of the thrombopoietin receptor as potent as the natural cytokine[J]. Science, 1997, 276 (5319): 1696-1699.

[27] KUTER D J. New thrombopoietic growth factors[J]. Blood, 2007,109(12): 4607-4616.

[28] LIU D, MAMORSKA-DYGA A. Syk inhibitors in clinical development for hematological malignancies[J]. J Hematol Oncol, 2017, 10(12): 145.

[29] NEWLAND A C, SANCHEZ-GONZALEZ B, REJTO L, et al. Phase 2 study of efgartigimod, a novel FcRn antagonist, in adult patients with primary immune thrombocytopenia[J]. Am J Hematol, 2020, 95(12): 178-187.

[30] JIANG H, YU Z, DING N, et al. The role of AGK in thrombocytopoiesis and possible therapeutic strategies[J]. Blood, 2020, 136(12): 119-129.

［收稿日期］2020−12−01