

本文引用: 黄云, 陈姝, 夏如梅, 李蕾, 喻干龙, 喻娟. 基于网络药理学和实验验证探讨近视复明丸治疗近视的作用机制[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(12): 2223-2230.

基于网络药理学和实验验证探讨近视复明丸治疗近视的作用机制

黄云^{1,2,3}, 陈姝^{1,2,3}, 夏如梅^{1,2,3}, 李蕾^{1,2,3}, 喻干龙³, 喻娟^{3*}

1. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208; 2. 中医药防治眼耳鼻咽喉疾病湖南省重点实验室, 湖南长沙 410208;
3. 湖南中医药大学第一中医临床学院, 湖南长沙 410007

[摘要] **目的** 探讨近视复明丸治疗近视的作用机制。**方法** 检索 TCMSp、TCMID 数据库获取近视复明丸中药有效成分, 检索 SwissTargetPrediction 数据库获取有效成分的靶点信息, 检索 GeneCards、DrugBank、OMIM、Therapeutic Target Database 获取近视的主要靶点; 运用 Cytoscape3.9.1 软件和 STRING 平台构建蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络图; 通过 DAVID 数据库进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析。选取 48 只 3 周龄雄性普通级豚鼠, 分为空白组、近视模型组、中药高剂量组、中药低剂量组。模型复制成功后给予药物干预。予近视模型组 2 mL 生理盐水灌胃; 中药高剂量组予 2 mL 近视复明丸药粉 (给药浓度为 0.8 g/mL) 灌胃; 中药低剂量组予 2 mL 近视复明丸药粉 (给药浓度为 0.2 g/mL) 灌胃。空白组予 2 mL 生理盐水灌胃。每日 1 次, 共 4 周。HE 染色观察巩膜组织病理变化, RT-qPCR 检测巩膜中基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 和基质金属蛋白酶抑制剂-2 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2, TIMP-2) 表达水平。**结果** 近视复明丸包括有效成分 587 个, 相关作用靶点 1 760 个, 药物疾病的共同靶点 122 个。网络分析的结果获得丝氨酸-苏氨酸激酶 (serine-threonine kinase 1, AKT1)、血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGFA)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、基质金属蛋白酶抑制剂-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR)、MMP-2 等关键靶点。GO 功能富集分析得到 631 个条目, KEGG 通路富集筛选出 151 条信号通路。动物实验结果显示: 近视复明丸能够明显降低豚鼠巩膜组织 MMP-2 mRNA 表达水平 ($P < 0.01$), 同时提高 TIMP-2 mRNA 表达水平 ($P < 0.05$), 促进巩膜胶原纤维合成, 减少巩膜胶原纤维降解。**结论** 近视复明丸能降低 MMP-2 mRNA 表达水平, 升高 TIMP-2 mRNA 表达水平, 进而调控巩膜重塑, 延缓近视的进展。

[关键词] 近视复明丸; 网络药理学; 近视; 巩膜; 基质金属蛋白酶-2; 豚鼠

[中图分类号] R276.7

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.12.012

Mechanism of action of Jinshi Fuming Pill in treating myopia based on network pharmacology and experimental verification

HUANG Yun^{1,2,3}, CHEN Shu^{1,2,3}, XIA Rumei^{1,2,3}, LI Lei^{1,2,3}, YU Ganlong³, YU Juan^{3*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Hunan Key Laboratory for Prevention & Treatment of Ophthalmology and Otolaryngology Diseases with Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 3. The First Clinical School of Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China

[Abstract] **Objective** To explore the mechanism of action of Jinshi Fuming Pill (JSFMP) in treating myopia. **Methods** TCMSp

[收稿日期] 2023-05-19

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (81603665); 湖南省中医药管理局课题 (2021057); 湖南省杰出创新青年项目 (kq2107014); 湖南省研究生科研创新课题 (CX20220813)。

[第一作者] 黄云, 女, 硕士研究生, 研究方向: 中医药防治近视、青光眼等疾病。

[通信作者] * 喻娟, 女, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, E-mail: 310404@hnuem.edu.cn。

and TCMID databases were searched for the active ingredients of JSFMP, SwissTargetPrediction database for the target information of active ingredients, and GeneCards, DrugBank, OMIM, and Therapeutic Target Database for the main targets of myopia; Cytoscape 3.9.1 software and STRING platform were used to construct protein-protein interaction networks (PPI); GO function and KEGG pathway enrichment analysis were performed through DAVID database. Forty-eight three-week-old male guinea pigs were selected and divided into blank group, myopia model group, high- and low-dose JSFMP groups, and drug intervention was given after successful model replication. Myopic model group was given 2 mL normal saline by gavage, the high-dose JSFMP group was given 2 mL JSFMP powder (0.8 g/mL) by intragastric administration, the low-dose JSFMP group was given 2 mL JSFMP powder (0.2 g/mL) by gavage, and the blank group was given 2 mL normal saline by intragastric administration, respectively, once a day for 4 weeks. HE staining was used to observe the pathological changes of sclera, and RT-qPCR was used to examine the expression levels of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 (TIMP-2) in sclera. **Results** There were 587 active ingredients, 1 760 related targets and 122 common targets of drug and disease in JSFMP. Network analysis obtained some key targets such as serine-threonine kinase 1 (AKT1), vascular endothelial growth factor A (VEGFA), interleukin-1 β (IL-1 β), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), epidermal growth factor receptor (EGFR), and MMP-2. GO functional enrichment analysis yielded 631 items, and KEGG pathway enrichment screened out 151 signaling pathways. Animal experiments showed that JSFMP could significantly reduce MMP-2 mRNA expression level in sclera tissues of guinea pigs ($P<0.01$), increase TIMP-2 mRNA expression level ($P<0.05$), promote the synthesis of scleral collagen fibers, and reduce the degradation of scleral collagen fibers. **Conclusion** JSFMP can decrease MMP-2 mRNA expression level and increase TIMP-2 mRNA expression level in sclera tissues, thereby regulating scleral remodeling and delay the progression of myopia.

[**Keywords**] Jinshi Fuming Pill; network pharmacology; myopia; sclera; matrix metalloproteinase-2; guinea pig

近视是一种全球普遍存在的视觉疾病,主要表现为远距离视物不清,近距离视物良好,并逐渐出现飞蚊症、闪光感等症状,后期近视进展为高度近视或者病理性近视,则容易合并多种眼部疾病,例如白内障、青光眼、黄斑变性和视网膜脱离等,这些均可造成视力的严重丧失^[1]。近视已成为我国及全世界的严重公共卫生问题,预计 2050 年,全球近视患病人数将会达到 47 亿^[2]。研究发现,2020 年,我国儿童青少年近视率为 52.7%,其中,小学生 35.6%、初中生 71.1%、高中生达 80.5%^[3]。近视高发病率严重影响青少年的视觉健康。目前,临床上对近视的治疗以框架眼镜、角膜塑形镜或低浓度阿托品滴眼液为主,同时也有耳穴贴压及针刺等治疗^[4],但各类方法疗效并不明确,且均有一定局限性。

中医药防控近视具有独特优势^[5]。近视在中医古籍中被称为“目不能视”“能近怯远症”^[6]。《诸病源候论·目病诸候》^[7]中认为,本病为“劳伤肝腑,肝气不足,兼受风邪,使精华之气衰弱,故不能远视”。近视复明丸由芍药、柴胡、木瓜、丹参、当归、人参、巴戟天、石菖蒲、黄芪组成,近视复明丸作为院内制剂,是喻干龙教授根据青少年近视防治的长期临床经验组

方而成。肝气郁结而致血循不畅,肝郁则脾失健运,气血生化无源,气血无以上乘,目系则失其濡养。柴胡疏肝理气开郁;芍药、木瓜味酸以敛肝;人参、黄芪健脾胃以补中气;石菖蒲豁痰开窍;丹参、当归补血活血;巴戟天温肾以升举阳气,濡养目窍。近视复明丸在湖南中医药大学第一附属医院应用于近视治疗已有 20 余年,临床疗效较好,但其中药复方的作用机制及靶点仍不明确。本研究以近视复明丸治疗近视的有效成分和靶点为切入点,研究其作用机制,为近视复明丸的临床应用提供进一步的理论支持。

1 方法

1.1 近视复明丸活性成分及靶点的获取

本研究采用 TCMSP 数据库及 TCMID 数据库收集近视复明丸中芍药、柴胡、木瓜、丹参、当归、人参、巴戟天、石菖蒲、黄芪的化学成分,并设置口服生物利用度(oral bioavailability, OB) $\geq 30\%$,类药性(drug-likeness, DL) ≥ 0.18 ,对其活性成分进行鉴定,最终将数据导入药物靶点预测系统 SwissTargetPrediction,进行靶点预测。

1.2 近视相关靶点的获取与筛选

以“myopia”为检索词,在 GeneCards、DrugBank、

OMIM 和 Therapeutic Target Database 数据库进行检索与筛选,最终得到近视的相关靶点。

1.3 “药物-疾病”网络模型的构建与分析

将近视复明丸药物成分靶点与近视相关靶点导入 Venny 2.1.0 数据库,所得交集靶点,即为近视复明丸治疗近视的潜在作用靶点。

1.4 “成分-靶点”网络的构建与分析

将近视复明丸药物成分靶点与近视靶点的交集靶点,共同导入 Cytoscape 3.9.1 软件,构建“成分-靶点”可视化网络图,同时分析网络拓扑属性,度值表示成分所涉及的靶点个数,度值越大,说明该成分对疾病治疗作用越大。本研究利用网络模型下活性成分的度值,对近视复明丸治疗近视的主要活性成分进行分析。

1.5 蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络构建

将近视复明丸与近视的交集靶点导入 STRING 平台,构建 PPI 网络图。将筛选的结果通过 Cytoscape 3.9.1 软件进行拓扑学分析,筛选近视复明丸治疗近视的关键节点。

1.6 近视复明丸治疗近视相关靶点的 GO 和 KEGG 富集分析

将近视复明丸与近视的共同靶点导入 DAVID 6.8 数据库,进行可视化分析。

2 动物实验验证

2.1 实验动物

选取约 3 周龄雄性普通级健康豚鼠 48 只,体重 160~200 g,购自长沙市天勤生物技术有限公司,实验动物质量许可证:SCXK(湘)2019-0015;实验动物在实验前均通过裂隙灯排除眼睑异常、眼底等病变。饲养条件:室温保持在 25℃左右,空气湿度保持在 45%~50%,昼夜交替饲养(12 h 交替光照),自由饮食,每日进食新鲜蔬菜以补充体内维生素 C,适应性饲养 1 周后开始实验。实验由湖南中医药大学第一附属医院实验动物伦理委员会审核批准(伦理编号:ZYFY20220813-09)。

2.2 主要仪器与试剂

研磨仪(型号:KZ-II,武汉塞维尔生物科技有限公司);冷冻离心机(型号:neofuge 15R,力新仪器上海有限公司);电泳仪(型号:DYY-6D,北京六一生

物科技有限公司);荧光定量 PCR 仪(型号:ABI QuantStudio 1,美国 Thermo 公司);逆转录仪(型号:SCI1000-G,美国 SCILOGE 公司);曝光仪(型号:HB-980,美国 Protein simple 公司);纯水仪(型号:AJC-0501-P,重庆艾科浦有限公司)。Trizol(批号:R1100,北京索莱宝科技有限公司)。近视复明丸(生产批号:20220817,湖南中医药大学第一附属医院)。复方托吡卡胺滴眼液[生产批号:MP2262,参天制药(中国)有限公司]。

2.3 分组、造模及给药

随机将豚鼠分为空白组、近视模型组、中药高剂量组、中药低剂量组,共 4 组,每组 12 只。近视模型组、中药高剂量组和中药低剂量组豚鼠用半球形塑料眼罩遮盖右眼 4 周,诱导形觉剥夺性近视动物模型^[8-9],左眼不做处理;空白组不做任何处理。4 周后经检影验光确认造模成功^[10]。继续保持造模状态 4 周。根据“人和动物按体表面积折算的等效剂量比值”折算等效剂量^[11]。予近视模型组 2 mL 生理盐水灌胃;中药高剂量组予 2 mL 近视复明丸药粉(给药浓度为 0.8 g/mL)灌胃;中药低剂量组予 2 mL 近视复明丸药粉(给药浓度为 0.2 g/mL)灌胃。空白组予 2 mL 生理盐水灌胃。每日 1 次,连续灌胃 4 周。

2.4 屈光度测量

在实验造模前和造模 4 周后测量所有豚鼠屈光度,将豚鼠置于暗室,使用复方托吡卡胺滴眼液滴入豚鼠右眼结膜囊中,每 5 min 滴 1 次,充分散大瞳孔,验光师在 30 min 后进行带状光检影镜检影验光检测屈光度。

2.5 巩膜组织病理学形态观察

每组取 3 只豚鼠,经处死拆除眼球后,选取巩膜组织固定在多聚甲醛溶液中,常规脱水、石蜡包埋,选取靠近视盘部切片,染色,显微镜下观察各组巩膜厚度及各层间结构。

2.6 实时荧光定量 PCR

每组各取 3 只豚鼠,取右眼眼球,分离巩膜组织,采用 Trizol 法提取巩膜组织总 RNA,参考试剂盒说明书进行操作,逆转录合成 cDNA,引物序列由北京擎科生物科技有限公司合成。MMP-2 上游引物:5'-ACACACCTGATCTGGACCCT-3';下游引物:5'-ACACAGATGTGCAGCGAAGA-3';产物大小为 93 bp。TIMP-2 上游引物:5'-ACACAGATGTGCAGC-

GAAGA-3';下游引物:5'-AACTACGAGGGCAACT-GAGC-3';产物大小 162 bp。调整反应程序,执行扩增,先在 94 °C 预变性 2 min,94 °C 5 s,60 °C 30 s,72 °C 60 s,共循环 45 次。最后以 β -actin 作为内参,用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法进行分析。

2.7 统计学分析

统计学分析采用 GraphPad Prism 8 软件,计量资料采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,组间比较用 Tukey 的多重比较检验分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 近视复明丸活性成分与靶点

经 TCMSp 和 TCMID 数据库检索,共收集到 587 个 $OB\geq 30\%$ 且 $DL\geq 0.18$ 的有效活性成分,其中芍药 123 种、柴胡 74 种、木瓜 123 种、丹参 52 种、当归 35 种、人参 51 种、巴戟天 26 种、石菖蒲 42 种、黄芪 61 种。采用 SwissTargetPrediction,将上述数据进行靶点预测,经合并,筛除重复值后共得到近视复明丸作用靶点 176 个。

3.2 近视相关作用靶点

利用 GeneCards 数据库、Therapeutic Target Data-

base 数据库、DrugBank 数据库和 OMIM 数据库,以“myopia”为检索词,分别检索到 4 888、2、270、26 个与近视相关的靶点,移除重复值后得到 4 217 个近视相关作用靶点。

3.3 “成分-靶点”网络的构建与分析

通过 Venny 2.1.0 得到近视复明丸与近视的交集靶点 122 个。详见图 1。利用 Cytoscape 3.9.1 构建“成分-靶点”的可视化网络图。详见图 2。一共获得 179 个节点(包含 9 种中药、48 种活性成分和 122 个靶点)和 1 996 条边。通过拓扑学分析结果显示,槲皮素、豆甾醇、 β -谷甾醇、谷甾醇、山柰酚等活性成分排名靠前。推测这些成分为近视复明丸治疗近视

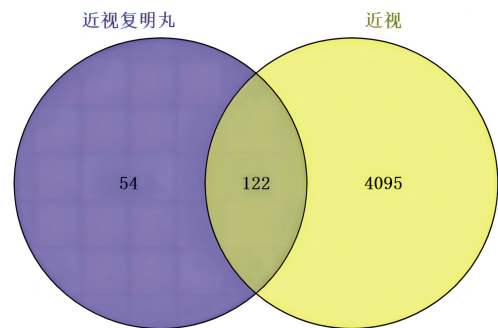


图 1 近视复明丸与近视共同靶点

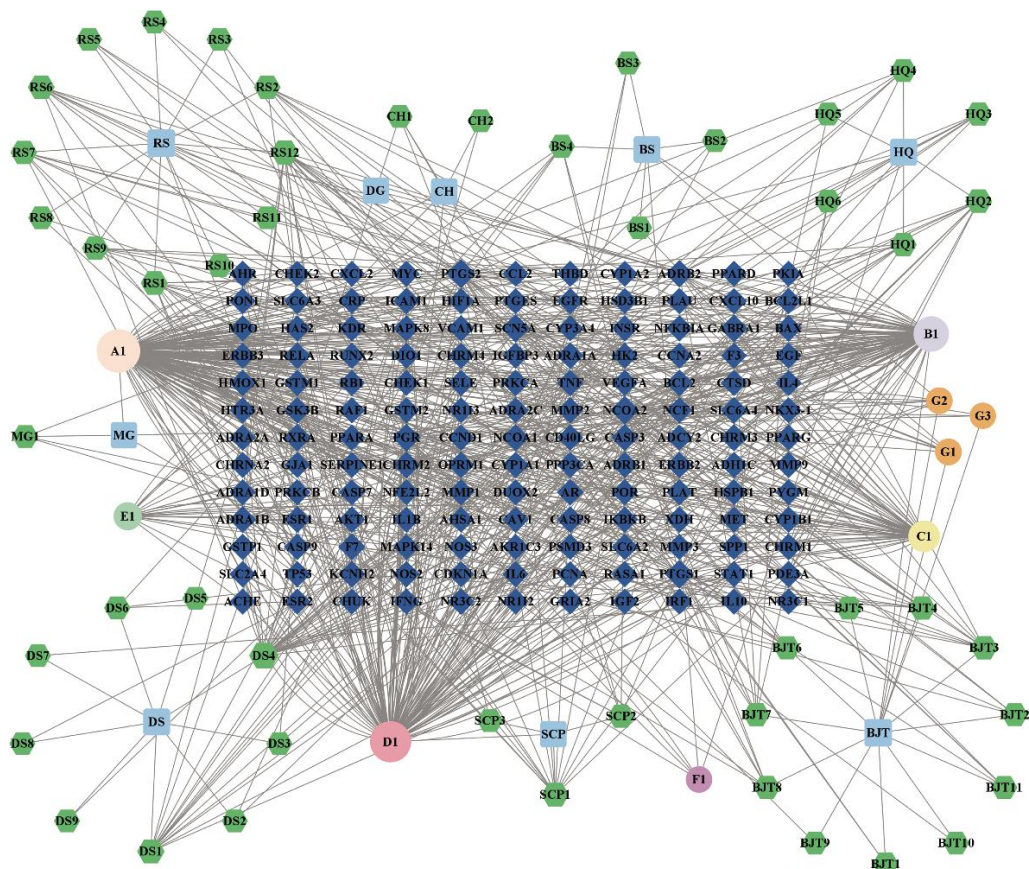


图 2 中药-有效成分-靶点网络

注:浅蓝色为复方中所含中药,绿色为中药成分,深蓝色为作用靶点,其余颜色为药物相同成分。

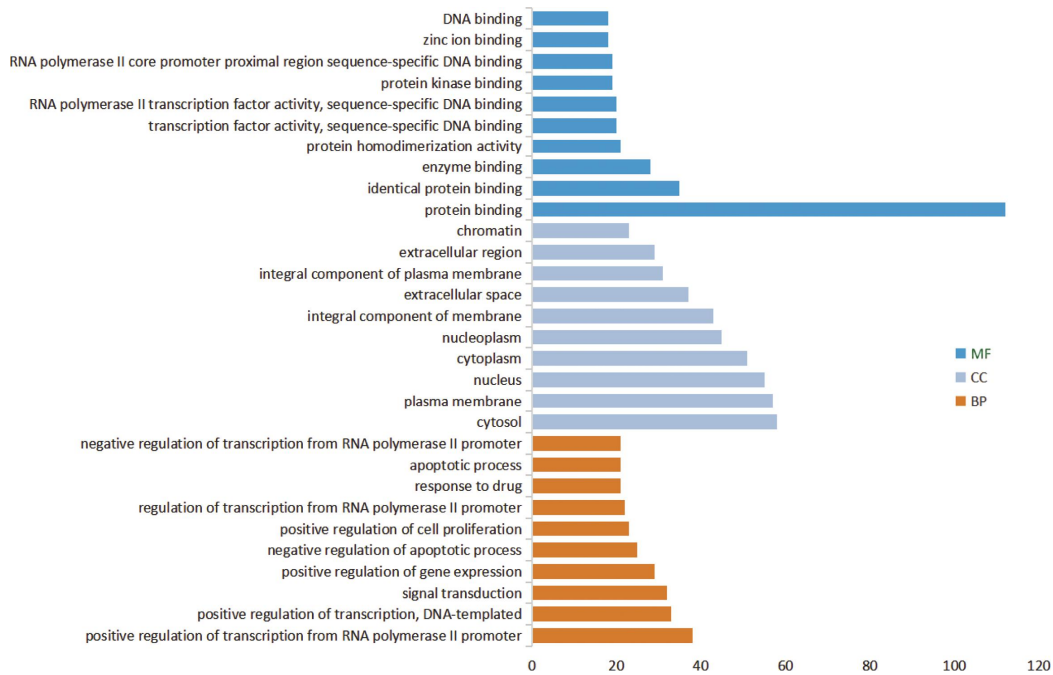


图 4 关键靶点的 GO 分析

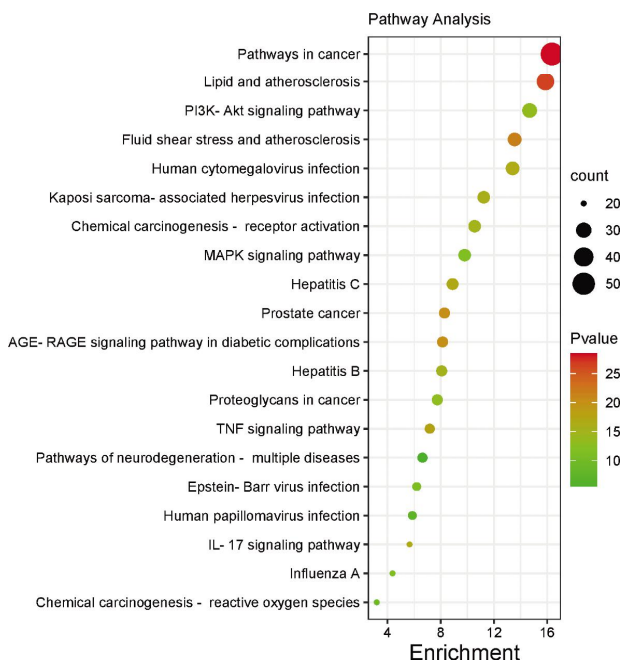


图 5 核心靶点的 KEGG 富集分析

表 1 造模前后各组豚鼠屈光度比较($\bar{x}\pm s, n=12, D$)

组别	造模前	造模后
空白组	2.90±0.31	1.21±0.23
近视模型组	2.83±0.40	-1.27±0.31 ^{##}
中药高剂量组	2.98±0.27	-1.15±0.29 ^{##}
中药低剂量组	3.13±0.25	-1.10±0.27 ^{##}

注:与空白组比较,^{##} $P<0.01$ 。

3.7 近视复明丸对各组巩膜厚度的影响

空白组豚鼠的巩膜组织形态完整,胶原纤维结构紧密,细胞排列整齐,分布规则;近视模型组巩膜

厚度较空白组变薄,且胶原纤维结构疏松,排列紊乱;中药高剂量组与中药低剂量组巩膜厚度较模型组均增加;中药高剂量组胶原纤维排列较模型组稍紧密,各层结构较中药低剂量组清晰。与空白组比较,近视模型组显著变薄($P<0.01$);与近视模型组比较,中药低剂量组、中药高剂量组厚度显著增加($P<0.05, P<0.01$)。详见表 2,图 6。

表 2 各组豚鼠巩膜厚度比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	巩膜厚度/ μm
空白组	346.23±5.38
近视模型组	319.33±7.32 ^{##}
中药高剂量组	341.10±3.04 ^{**}
中药低剂量组	336.00±1.55 [*]

注:与空白组比较,^{##} $P<0.01$;与近视模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

3.8 近视复明丸对巩膜组织中 MMP-2 及基质金属蛋白酶抑制剂-2(tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2, TIMP-2)mRNA 表达的影响

与空白组比较,近视模型组豚鼠巩膜组织中 MMP-2 mRNA 表达水平显著增加($P<0.01$)、TIMP-2 mRNA 表达水平显著降低($P<0.01$);与近视模型组相比较,中药高剂量组中豚鼠巩膜组织 MMP-2 mRNA 表达水平明显降低($P<0.01$)、TIMP-2 mRNA 表达水平明显增加($P<0.05$);与中药高剂量组相比较,中药低剂量组巩膜组织中 MMP-2 mRNA 表达水平明显降低($P<0.01$)。详见表 3。

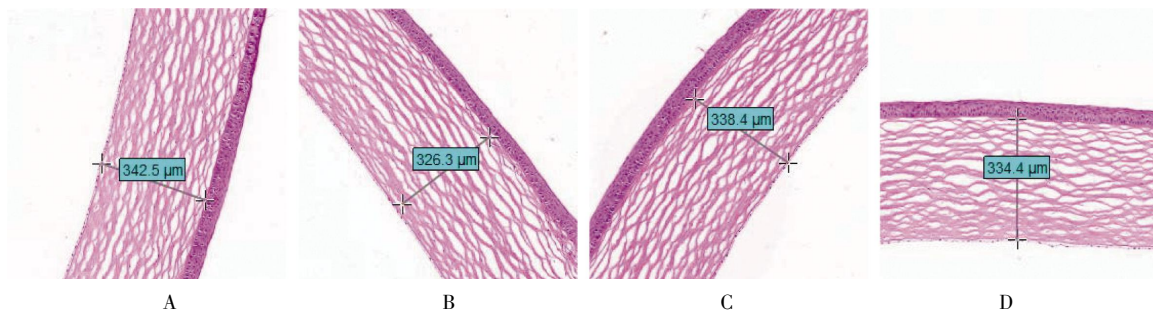


图6 各组豚鼠巩膜组织 HE 染色图(×200)

注:A.空白组;B.近视模型组;C.中药高剂量组;D.中药低剂量组。

表3 近视复明丸对巩膜组织中 MMP-2 及 TIMP-2 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	MMP-2	TIMP-2
空白组	1.000±0.089	1.000±0.09
近视模型组	1.337±0.061 ^{##}	0.272±0.018 ^{##}
中药高剂量组	0.763±0.026 ^{**}	0.709±0.037 [*]
中药低剂量组	0.057±0.005 ^{**##}	0.142±0.003

注:与空白组比较,^{##} $P<0.01$;与近视模型组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$;与中药高剂量组比较,^{##} $P<0.01$ 。

4 讨论

从药物-疾病交集靶点可知,近视复明丸可作用于 AKT1、VEGFA、IL-1 β 、MMP-9、EGFR、MMP-2 等多个靶点,从而起到治疗近视作用。在近视复明丸治疗近视过程中,发挥关键作用的途径主要包括 PI3K/Akt 信号通路、MAPK 信号通路、TNF 信号通路等。

Akt 可调节多种生物过程,它在调节细胞生存、增殖和凋亡中发挥重要作用^[2]。其中的亚型 AKT1,在调节胚胎发育,生长及存活上有着独特的优势作用^[13]。HUANG 等^[14]研究发现,AKT1 通过在小胶质细胞和巨噬细胞发生的极化作用,影响视神经病变的病程变化。表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)是作用在机体内外各种组织细胞上的生长因子,可通过促进巩膜成纤维细胞的增殖,进而影响巩膜的重塑^[15]。而 EGFR 可参与调节巩膜成纤维细胞的增殖和分化^[16]。EGR 与 EGFR 结合,对体内外的组织生长与增殖起着明显的调节作用^[17]。

基因金属蛋白酶是一类能够降解细胞外基质(extracellular matrix, ECM)并参与巩膜重塑的内肽酶^[18-19],其家族成员 MMP-2 与巩膜 ECM 重塑关系最为密切^[20]。在近视的发展过程中,巩膜重塑在其中起到关键调控作用,而巩膜重塑的关键在于 MMP-2 及其抑制物 TIMP-2 之间的动态平衡^[21]。LIU 等^[22]研

究发现,在形觉剥夺诱导近视树鼯中发现 MMP-2 表达水平增高,而 TIMP-2 表达水平降低。QIAN 等^[23]研究发现,在近视豚鼠巩膜中,吡仑西平降低了 MMP-2 的表达,增加了组织抑制物 TIMP-2 的表达,这提示 MMP-2 与 TIMP-2 的动态平衡在近视中发挥着重要作用。

PI3K/Akt 信号通路对多种眼病有着重要的调节作用^[24],该通路有多种下游信号通路,包括糖原合成酶激酶 3 和凋亡信号调控激酶 1 等^[25],PI3K 通过催化方式生成产物,进而激活丝裂原活化蛋白激酶等蛋白,进而参与多种近视相关的生物过程,其中包括巩膜重塑^[26]。研究显示,玻璃体内 miR-200a 紊乱,原因是 PI3K/Akt 信号通路影响眼轴长度的发展^[27]。这也进一步说明,PI3K/Akt 信号通路可以抑制近视的进展。

本研究在网络药理学的基础上进行实验验证。结果显示,与近视模型组比较,近视复明丸使 MMP-2 mRNA 表达水平下降,TIMP-2 mRNA 表达水平增加,促进巩膜胶原纤维的合成,减少巩膜胶原纤维的降解,进而调控巩膜重塑,延缓近视进展。本研究为近视复明丸的临床应用提供了科学依据,同时为后续近视复明丸的相关研究提供了新线索与新思路。此外,对于其他相关靶点和信号通路,未来还需进一步深入研究及实验验证。

参考文献

- [1] RUSSO A, BOLDINI A, ROMANO D, et al. Myopia: Mechanisms and strategies to slow down its progression[J]. Journal of Ophthalmology, 2022, 2022: 1004977.
- [2] 周丽琼, 周运波. 耳穴贴压联合眼部穴位按摩治疗儿童/青少年假性近视的临床观察[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(3):

- 397-400.
- [3] 魏瑞华, 张红梅, 刘盛鑫, 等. 加强我国儿童青少年近视的科学预防与控制[J]. 眼科新进展, 2023, 43(1): 1-6.
- [4] 罗亚玲, 周美启, 吴生兵. 针刺治疗近视眼的选穴规律探讨[J]. 湖南中医药大学学报, 2016, 36(10): 82-86.
- [5] 李佳贤, 张 红. 中医药干预近视的研究进展[J]. 山东中医杂志, 2021, 40(2): 215-219.
- [6] 余曾芳, 钟阿龙, 赵晓霜, 等. 从肝肾论治儿童近视的理论探讨[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2022, 24(2): 795-801.
- [7] 相鲁闽. 巢元方与《诸病源候论》[J]. 河南中医, 2015, 35(3): 654.
- [8] LU F, ZHOU X T, ZHAO H L, et al. Axial myopia induced by a monocularly-deprived facemask in guinea pigs: A non-invasive and effective model[J]. *Experimental Eye Research*, 2006, 82(4): 628-636.
- [9] 姜 波, 吴章友, 朱子诚, 等. 豚鼠进展性近视眼巩膜中 Smad3 和 I 型胶原的动态表达变化[J]. 中华实验眼科杂志, 2017, 35(6): 491-497.
- [10] ZHOU G M, LAN C J, YANG Q, et al. Expression of SCO1 and SCO2 after form-deprivation myopia in guinea pigs[J]. *European Journal of Ophthalmology*, 2022, 32(5): 3050-3057.
- [11] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [12] ZHANG X B, TANG N M, HADDEN T J, et al. Akt, FoxO and regulation of apoptosis[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, 1813(11): 1978-1986.
- [13] TONG X J, XU S M, ZHAI D. Multiple mechanisms of Shenqi pill in treating nonalcoholic fatty liver disease based on network pharmacology and molecular docking[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022, 2022: 2384140.
- [14] HUANG T T, LI H, ZHANG S M, et al. Nrn1 overexpression attenuates retinal ganglion cell apoptosis, promotes axonal regeneration, and improves visual function following optic nerve crush in rats[J]. *Journal of Molecular Neuroscience*, 2021, 71(1): 66-79.
- [15] 张 新, 巨朝娟, 金 鑫, 等. 外源性神经生长因子对形觉剥夺性近视豚鼠巩膜组织的保护作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版), 2021, 47(6): 1455-1461.
- [16] 宋惠欣, 吴建峰, 毕宏生. 表皮生长因子在眼科疾病中的作用[J]. 眼科新进展, 2017, 37(5): 484-487.
- [17] 史德龙, 吴建峰, 李国平, 等. 生长因子在近视发病及发展中作用的研究进展[J]. 国际眼科杂志, 2016, 16(7): 1273-1275.
- [18] TOSSETTA G, FANTONE S, BUSILACCHI E M, et al. Modulation of matrix metalloproteases by ciliary neurotrophic factor in human placental development[J]. *Cell and Tissue Research*, 2022, 390(1): 113-129.
- [19] LIU L, ZHOU W J, FAN Y J, et al. Effect of interleukin 6 on scleral fibroblast proliferation, differentiation, and apoptosis involved in myopic scleral remodeling [J]. *Ophthalmic Research*, 2022, 65(5): 529-539.
- [20] ZHAO F, ZHOU Q Y, REINACH P S, et al. Cause and effect relationship between changes in scleral matrix metalloproteinase-2 expression and myopia development in mice[J]. *The American Journal of Pathology*, 2018, 188(8): 1754-1767.
- [21] XI L Y, YIP S P, SHAN S W, et al. Region-specific differential corneal and scleral mRNA expressions of MMP2, TIMP2, and TGFB2 in highly myopic-astigmatic chicks[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 11423.
- [22] LIU H H, KENNING M S, JOBLING A I, et al. Reduced scleral TIMP-2 expression is associated with myopia development: TIMP-2 supplementation stabilizes scleral biomarkers of myopia and limits myopia development[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2017, 58(4): 1971-1981.
- [23] QIAN L F, ZHAO H, LI X X, et al. Pirenzepine inhibits myopia in guinea pig model by regulating the balance of MMP-2 and TIMP-2 expression and increased tyrosine hydroxylase levels[J]. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 2015, 71(3): 1373-1378.
- [24] 李晓萌, 于颖欣, 胡贵丽, 等. PI3K/Akt 信号通路在眼科疾病发生发展过程中的调控作用研究进展[J]. 眼科新进展, 2021, 41(6): 588-592.
- [25] CARMONA MATA V, GOLDBERG J. Morin and isoquercitrin protect against ischemic neuronal injury by modulating signaling pathways and stimulating mitochondrial biogenesis[J]. *Nutritional Neuroscience*, 2023, 26(9): 796-806.
- [26] LI H B, YOU Q S, XU L X, et al. Long non-coding RNA-MALAT1 mediates retinal ganglion cell apoptosis through the PI3K/Akt signaling pathway in rats with glaucoma[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2017, 43(5): 2117-2132.
- [27] ANDO Y, KEINO H, INOUE M, et al. Circulating vitreous microRNA as possible biomarker in high myopic eyes with macular hole[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(7): 3647.

(本文编辑 贺慧娥)