

·实验研究·

本文引用: 谢薇, 宋厚盼, 彭俊, 徐剑, 欧晨, 彭清华. 滋阴明目方对视网膜色素变性 rd10 小鼠 PERK-ATF4 信号通路的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(9): 1568-1574.

滋阴明目方对视网膜色素变性 rd10 小鼠 PERK-ATF4 信号通路的影响

谢薇¹, 宋厚盼¹, 彭俊², 徐剑³, 欧晨^{2*}, 彭清华^{1,2*}

1.湖南中医药大学,湖南长沙 410208;2.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙 410007;3.上海市东方医院,上海 200120

[摘要] 目的 研究滋阴明目方对视网膜色素变性小鼠的影响及其可能机制。方法 将 60 只 rd10 小鼠随机分为模型组(等量生理盐水)、维生素 A(Vitamin A, VitA)组[VitA 750 IU/(kg·d)]及滋阴明目方低、中、高剂量组[滋阴明目方水煎液13.5、27、54 g/(kg·d)], 12 只 C57BL/6 小鼠作为空白组(等量生理盐水),均灌胃干预 28 d。HE 染色观察视网膜组织病理改变,TUNEL 法检测视网膜组织凋亡,微滴式数字 PCR 和免疫荧光双染检测视网膜组织蛋白激酶样内质网激酶(protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase, PERK)、活化转录因子 4(activating transcription factor 4, ATF4)mRNA 和蛋白的表达。结果 与空白组比较,模型组小鼠视网膜明显萎缩、变薄,视网膜色素上皮(retinal pigment epithelial, RPE)细胞不可见,外核层消失,视网膜厚度减小($P<0.01$),小鼠视网膜细胞数量明显减少,存在大量凋亡细胞;PERK、ATF4 mRNA 和蛋白表达量升高($P<0.01$)。与模型组比较,VitA 组和滋阴明目方各剂量组视网膜状况改善,厚度均增加($P<0.01$);细胞数量增多,凋亡细胞减少;PERK、ATF4 mRNA 表达量降低($P<0.01$)。与模型组比较,VitA 组和滋阴明目方中、高剂量组 PERK、ATF4 蛋白表达量降低($P<0.01$);滋阴明目方低剂量组 ATF4 蛋白表达量降低($P<0.01$)。与滋阴明目方低剂量组比较,滋阴明目方高剂量组视网膜厚度增加($P<0.05$),滋阴明目方中、高剂量组 ATF4 蛋白表达量及 PERK mRNA 表达量降低($P<0.01$)。与 VitA 组相比,滋阴明目方高剂量组 ATF4 蛋白表达量降低($P<0.05$),滋阴明目方中、高剂量组 PERK mRNA 表达量降低($P<0.01$)。结论 滋阴明目方可改善小鼠视网膜的形态,减少视网膜组织的凋亡,其分子机制可能与调控 PERK-ATF4 信号通路有关。

[关键词] 视网膜色素变性;滋阴明目方;rd10 小鼠;PERK-ATF4 信号通路;凋亡;内质网应激

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.09.003

Effects of Ziyin Mingmu Formula on PERK-ATF4 signaling pathway in rd10 mice with retinitis pigmentosa

XIE Wei¹, SONG Houpan¹, PENG Jun², XU Jian³, OU Chen^{2*}, PENG Qinghua^{1,2*}

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China; 3. Shanghai Oriental Hospital, Shanghai 200120, China

[Abstract] **Objective** To study the effects and the possible mechanisms of Ziyin Mingmu Formula (ZYMMF) on mice with retinitis pigmentosa (RP). **Methods** Sixty rd10 mice were randomized into model group (equal volume of saline), Vitamin A (VitA) group [VitA 750 IU/(kg·d)], and low-, medium-, and high-dose ZYMMF groups [ZYMMF decoction 13.5, 27, 54 g/(kg·d)]. Twelve C57BL/6 mice were used as the blank group (equal volume of saline). All groups were administered by gavage for 28 days. HE

[收稿日期] 2024-05-06

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82074196,82004427);湖南省自然科学基金项目(2023JJ40474);湖南省教育厅科学研究项目(23B0347);湖南省眼科疾病(中医)临床医学研究中心(2023SK4038)。

[通信作者] *彭清华,男,博士,教授,博士研究生导师,E-mail:pengqinghua@hnu.edu.cn;欧晨,男,博士,主治医师,E-mail:465325286@qq.com。

staining was used to observe the pathological changes in retinal tissue, TUNEL assay was used to check the apoptosis in retinal tissue, and droplet digital PCR and immunofluorescence double staining were used to examine the mRNA and protein expressions of protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase (PERK) and activating transcription factor 4 (ATF4) in retinal tissue. **Results** Compared with the blank group, the model group showed significant retinal atrophy and thinning, with the retinal pigment epithelial (RPE) cells being invisible, the outer nuclear layer disappearing, and a decrease in retinal thickness ($P<0.01$), along with a significant reduction in the number of retinal cells and the presence of a large number of apoptotic cells; the mRNA and protein expression levels of PERK and ATF4 increased ($P<0.01$). Compared with the model group, the VitA group and each dose group of ZYMMF showed improvement in retinal condition and increased thickness ($P<0.01$); the number of cells increased and the number of apoptotic cells decreased; the mRNA expression levels of PERK and ATF4 decreased ($P<0.01$). Compared with the model group, the protein expression levels of PERK and ATF4 in the VitA group and the medium- and high-dose ZYMMF groups decreased ($P<0.01$); the protein expression level of ATF4 in the low-dose ZYMMF group was reduced ($P<0.01$). Compared with the low-dose ZYMMF group, the high-dose ZYMMF group showed an increase in retinal thickness ($P<0.05$), and the medium- and high-dose ZYMMF groups showed a decrease in protein expression of ATF4 and mRNA expression of PERK ($P<0.01$). Compared with the VitA group, the high-dose ZYMMF group showed a decrease in protein expression of ATF4 ($P<0.05$), and the medium- and high-dose ZYMMF groups exhibited a decrease in mRNA expression of PERK ($P<0.01$). **Conclusion** ZYMMF can improve the morphology of mouse retina and reduce the apoptosis of retinal tissue, and its molecular mechanism may be related to the regulation of PERK-ATF4 signaling pathway.

[**Keywords**] retinitis pigmentosa; Ziyin Mingmu Formula; rd10 mice; PERK-ATF4 signaling pathway; apoptosis; endoplasmic reticulum stress

视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)是一组遗传性视网膜疾病,其特征是进行性的感光细胞和视网膜色素上皮(retinal pigment epithelial, RPE)细胞凋亡,引起视力下降^[1]。RP是世界范围内常见的致盲性眼病,其发病率大约为 1/4 000,全世界有超过 200 万患者受此疾病的困扰^[2]。蛋白激酶样内质网激酶(protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase, PERK)是 I 型内质网应激跨膜受体;活化转录因子 4(activating transcription factor 4, ATF4)是内质网应激转录因子^[3]。PERK-ATF4 信号通路是内质网应激反应的重要通路,激活此通路可以使感光细胞和 RPE 细胞凋亡^[4]。RP 归属于中医学“高风内障”范畴,主要病机为先天禀赋不足或后天目失所养,致神光衰微。肾藏精,肝藏血,精与血二者相互为用,相互滋生,故临床上治疗 RP 多以滋补肝肾,活血明目为基本法则。本研究团队从事 RP 的防治研究多年,总结出滋阴明目方治疗本病^[5-6]。前期研究表明,滋阴明目方可增加视网膜厚度,改善视网膜功能^[7]。本研究以 rd10 小鼠为研究对象,探讨滋阴明目方治疗 RP 的可能作用机制。

1 材料

1.1 实验动物

实验动物 RP 模型鼠选用纯合子基因突变小鼠

rd10(C57 种系, Pde6b, -/-), 购于美国杰克森实验室,动物合格证编号:1911A11353。对照动物选用同种系 C57BL/6 小鼠,由湖南中医药大学动物实验中心采购,动物合格证编号:430727211103058731。本动物实验方案通过湖南中医药大学动物实验中心伦理审查,批准编号:LL2021042805。小鼠饲养于 SPF 级动物房,室温控制在 23~25 ℃,湿度控制在 55% 左右,12 h 规律昼夜循环,自由饮水饮食。

1.2 实验药物

滋阴明目方:熟地黄(产地:河南,批号:2108203)、枸杞子(产地:宁夏,批号:NG21112803)、黄精(产地:河北,批号:2021102508)、丹参(产地:山东,批号:TH21102403)、川芎(产地:四川,批号:2106076)、怀牛膝(产地:河南,批号:TH21092601)。所有药材均购自湖南中医药大学第一附属医院药房。维生素 A 软胶囊(青岛双鲸药业有限公司,批号:190915,国药准字:H37023082,规格:5 000 IU)。

1.3 实验试剂

HE 染色液(批号:G1005,武汉赛维尔生物科技有限公司);TUNEL 凋亡检测试剂盒(批号:KTA2010,美国 Abbkine 公司);12~230 kDa Wes 分离试剂盒(批号:SM-W004)、Wes 抗兔检测试剂盒(批号:DM-001)均购自美国 ProteinSimple 公司;PERK 抗体(批号:5683)、ATF4 抗体(批号:11815)均购自美国 Cell

Signaling Technology 公司; QX200 ddPCR EvaGreen Supermix(批号:1864034,美国 BIO-RAD 公司)。

1.4 实验仪器

JB-P5 型包埋机(武汉俊杰电子有限公司); RM2016 型病理切片机(上海徕卡仪器有限公司); Panoramic MIDI 型全景扫描仪(匈牙利 3D HISTECH 公司); T100 型梯度 PCR 仪、QX100 型微滴式数字 PCR 系统(美国 BIO-RAD 公司)。

2 方法

2.1 药物配制

制备滋阴明目方水煎液,组方剂量为:熟地黄、枸杞子、黄精、丹参、川芎、怀牛膝各 15 g。药物用蒸馏水浸泡 2 h 后加水煎煮 2 次,每次 1 h,合并煎液。浓缩药液,4 ℃冰箱保存备用。

2.2 动物分组及给药

将 60 只 rd10 小鼠进行雌雄合笼繁育,所有实验鼠从出生后第 29 天开始用药观察。采用随机数字表法将 rd10 小鼠随机分为 5 组,每组 12 只,分别为:模型组、维生素 A(Vitamin A, VitA)组、滋阴明目方低剂量组、滋阴明目方中剂量组、滋阴明目方高剂量组。C57BL/6 小鼠 12 只,为空白组。动物给药剂量按动物与人体质量等效剂量折算,折算系数 $W=9.01^{0.75}$ 。滋阴明目方低剂量组给予 $13.5 \text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{d})^{-1}$,相当于成人的临床剂量。按照 1:2:4 比例设定低、中、高剂量,则滋阴明目方中剂量组剂量为 $27 \text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$,滋阴明目方高剂量组剂量为 $54 \text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 。VitA 组给予 $750 \text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 维生素 A 软胶囊。空白组和模型组给予等体积的生理盐水。各组均灌胃 28 d,每日 1 次。

2.3 HE 染色观察视网膜组织病理改变

麻醉小鼠,将标本摘除,眼球固定液固定标本,常规石蜡包埋、切片。将石蜡切片依次放入二甲苯 I (20 min)、二甲苯 II (20 min)、二甲苯 III (20 min)、无水乙醇 I (5 min)、无水乙醇 II (5 min)、75%乙醇(5 min),然后水浸洗。将切片放入苏木素染液染色 5 min,水浸洗,分化液分化,水浸洗,返蓝液返蓝,水浸洗。再将切片依次放入 85%、95%梯度乙醇脱水各 5 min,伊红染液染色 5 min。按顺序依次放入无水乙醇 I (5 min)、无水乙醇 II (5 min)、无水乙醇 III (5 min)、二甲苯 I (5 min)、二甲苯 II (5 min)。风干后中性树胶封片,最后在全景扫描仪下观察视网膜组织病理改变,使用 CaseViewer 2.4 软件测量视网膜外核层厚度。

2.4 TUNEL 法检测视网膜组织凋亡

将石蜡切片依次放入二甲苯 I (15 min)、二甲苯

II (15 min)、无水乙醇 I (5 min)、无水乙醇 II (5 min)、85%乙醇(5 min)、75%乙醇(5 min),然后水浸洗。用组化笔在组织周围画圈,在圈内滴加蛋白酶 K 工作液覆盖组织,37 ℃孵育 25 min, PBS 洗涤 3 次。加入破膜工作液孵育 30 min, PBS 洗涤 3 次。然后滴加 50 μL 反应混合液,37 ℃孵育 2 h 后, PBS 洗涤,行 DAPI 核染色 10 min,抗荧光淬灭封片剂封片。使用全景切片扫描仪采集图像。

2.5 微滴式数字 PCR 检测视网膜组织 mRNA 的表达

使用 RNA 提取试剂盒从视网膜组织中提取总 RNA,逆转录试剂盒将 mRNA 逆转录为 cDNA。配制微滴式数字 PCR 反应液:1 μL cDNA、1 μL 引物、8 μL 无酶无菌水和 10 μL 预混液。采用微流控微滴发生仪制备微滴后,将微滴转移到 96 孔 PCR 板上,封膜仪封膜,于梯度 PCR 仪上进行扩增。扩增条件为 95 ℃、5 min;95 ℃、30 s,58 ℃、1 min,40 个循环;4 ℃、5 min,90 ℃、5 min;4 ℃保温,升降温速度 $\leq 2 \text{ }^\circ\text{C}/\text{s}$ 。然后用微滴式单分子核酸检测仪检测微滴,结果用 QuantaSoft 1.7 软件进行分析。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因名称	序列	长度/bp
PERK	正向:GGACGAATCGCTGCACTGGATG	98
	反向:GGCTTGCTGAGGCTAGATGAAACC	
ATF4	反向:TCTGCCTTCTCCAGGTGGTTCC	138
	反向:GCTGCTGTCTTGTTTTGCTCCATC	
β -actin	反向:TATGCTCTCCCTCACGCCATCC	129
	反向:GTCACGCACGATTTCCCTCTCAG	

2.6 免疫荧光双染检测视网膜组织蛋白的表达

将石蜡切片依次置于二甲苯(10 min)及 100%、95%、85%、75%梯度乙醇(各 10 min),然后水浸洗。用 EDTA 抗原修复缓冲液于微波炉中对切片进行抗原修复后,加入 3% H_2O_2 ,置于室温 10 min 以灭活内源性酶。用组化笔圈出视网膜组织,加入自发荧光淬灭剂,滴加血清,室温封闭 20 min。加入 PERK 和 ATF4 一抗(1:200),4 ℃孵育过夜。PBS 浸洗后滴加稀释好的荧光二抗,37 ℃避光孵育 1 h。滴加 DAPI 避光孵育 5 min,抗荧光淬灭封片剂封片。使用全景切片扫描仪采集图像,Image-Pro Plus 6.0 软件分析荧光强度。

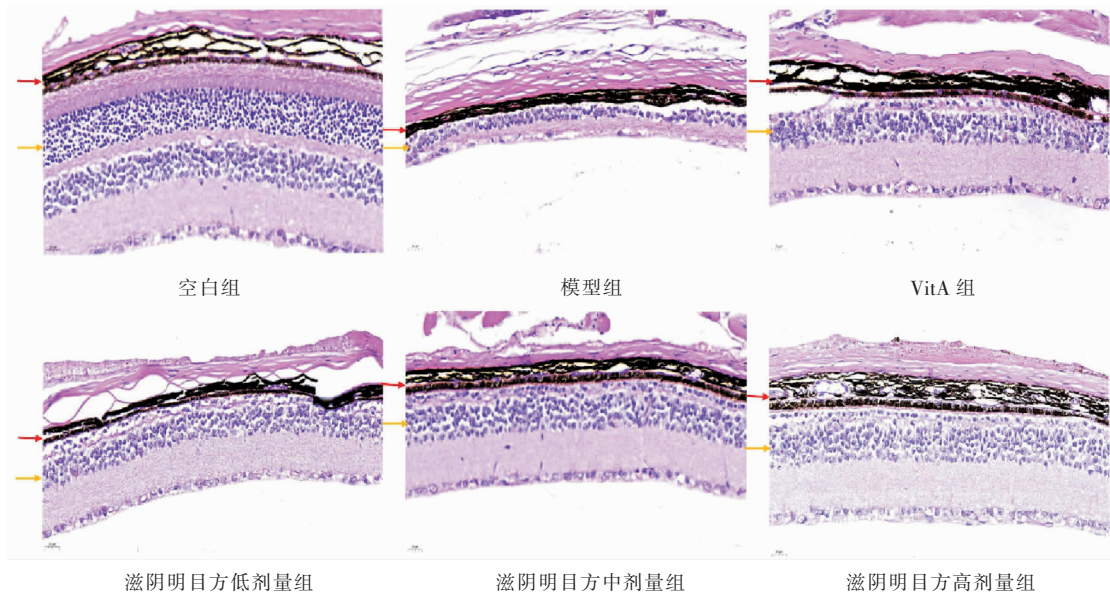


图1 各组小鼠视网膜组织 HE 染色图($\times 400$)

Fig.1 HE staining images of retinal tissues among different groups of mice ($\times 400$)

注:红色箭头表示 RPE 层,黄色箭头表示外核层。

3 结果

3.1 各组小鼠视网膜组织病理改变

空白组小鼠视网膜各层结构完整,排列紧密。模型组小鼠视网膜明显萎缩 RPE 细胞不可见,外核层消失。VitA 组和滋阴明目方低剂量组小鼠视网膜萎缩,RPE 细胞可见,外核层模糊可见。滋阴明目方中剂量组小鼠视网膜稍变薄,可见 RPE 细胞,外核层模糊可见。滋阴明目方高剂量组小鼠视网膜各分层较清楚,可见 RPE 细胞,外核层清晰可见,细胞核排列整齐。详见图 1。

与空白组比较,各组视网膜厚度均减小($P < 0.01$)。与模型组比较,VitA 组和滋阴明目方低、中、高剂量组视网膜厚度均增加($P < 0.01$)。与滋阴明目方低剂量组比较,滋阴明目方高剂量组视网膜厚度增加($P < 0.05$)。详见表 2。

3.2 各组小鼠视网膜组织凋亡情况比较

空白组小鼠视网膜细胞核排列紧密,细胞数量正常,凋亡细胞少。模型组小鼠视网膜细胞数量明显减少,存在大量凋亡细胞。VitA 组小鼠视网膜细胞核排列紊乱,细胞数量减少,可见凋亡细胞。滋阴明目方低、中、高剂量组小鼠视网膜细胞数量正常,可见少量凋亡细胞。详见图 2。

3.3 各组小鼠视网膜组织 PERK、ATF4 mRNA 表达量比较

与空白组相比,模型组 PERK、ATF4 mRNA 表

表 2 各组小鼠视网膜厚度比较($\bar{x} \pm s, \mu\text{m}, n=6$)

Table 2 Comparison of retinal thickness among different groups of mice ($\bar{x} \pm s, \mu\text{m}, n=6$)

组别	视网膜厚度
空白组	185.50 \pm 11.07
模型组	35.20 \pm 5.72 ^{##}
VitA 组	102.46 \pm 11.33 ^{###**}
滋阴明目方低剂量组	84.90 \pm 12.28 ^{###**}
滋阴明目方中剂量组	109.50 \pm 9.19 ^{##**}
滋阴明目方高剂量组	120.10 \pm 7.94 ^{###**Δ}

注:与空白组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{**} $P < 0.01$;与滋阴明目方低剂量组比较, ^{Δ} $P < 0.05$ 。

达量升高($P < 0.01$)。与模型组相比,VitA 组和滋阴明目方低、中、高剂量组 PERK、ATF4 mRNA 表达量降低($P < 0.01$)。与 VitA 组和滋阴明目方低剂量组相比,滋阴明目方中、高剂量组 PERK mRNA 表达量降低($P < 0.01$)。详见表 3。

3.4 各组小鼠视网膜组织 PERK、ATF4 蛋白表达量比较

与空白组相比,模型组 PERK、ATF4 蛋白表达量增加($P < 0.01$)。与模型组相比,VitA 组和滋阴明目方中、高剂量组 PERK、ATF4 蛋白表达量降低($P < 0.01$),滋阴明目方低剂量组 ATF4 蛋白表达量降低($P < 0.01$)。与 VitA 组相比,滋阴明目方高剂量组 ATF4 蛋白表达量降低($P < 0.05$)。与滋阴明目方低剂量组比较,滋阴明目方中、高剂量组 ATF4 蛋白表达量均降低($P < 0.01$)。详见表 4、图 3。

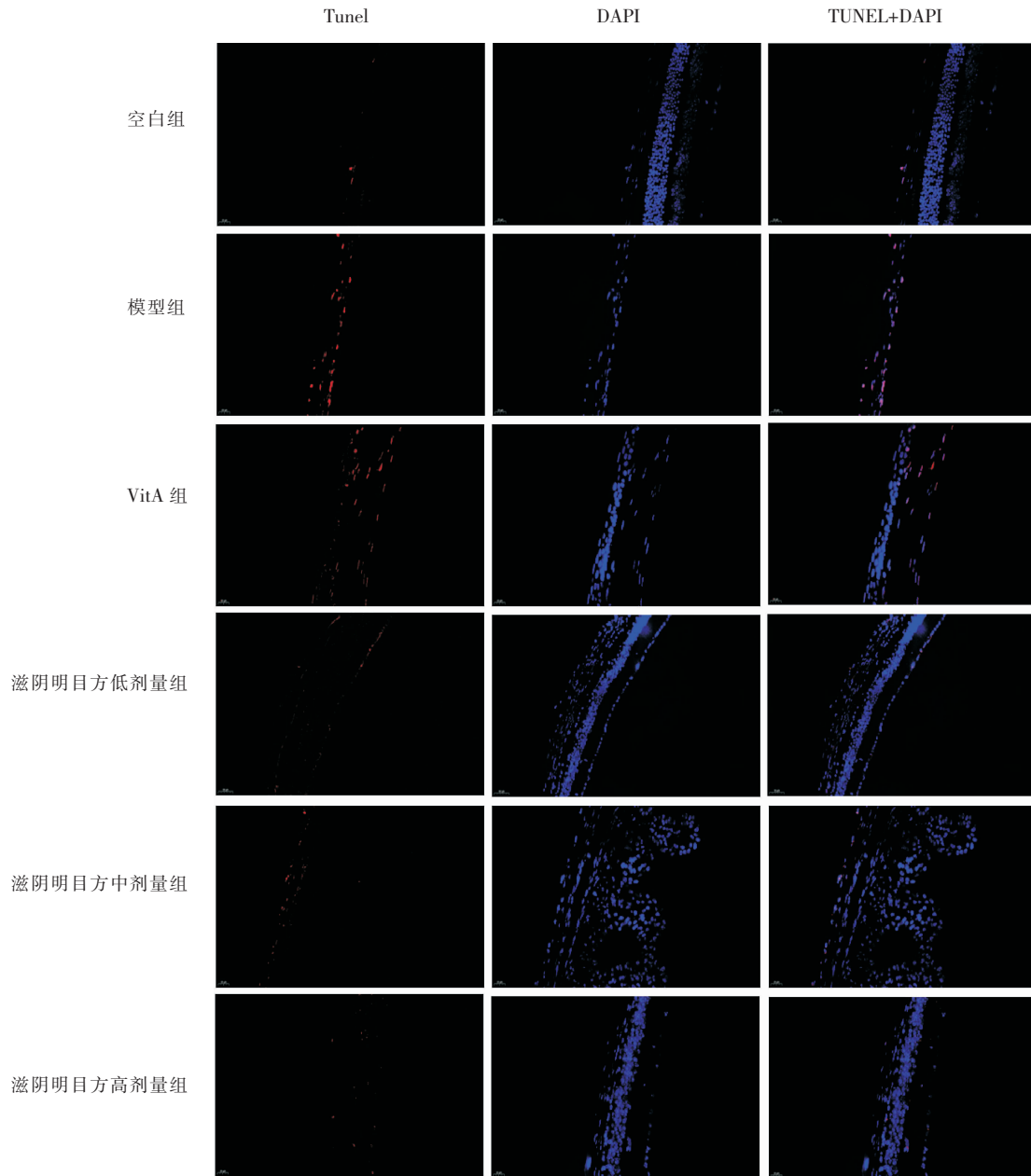


图 2 各组小鼠视网膜 TUNEL 染色图(x400)

Fig.2 TUNEL staining images of retina among different groups of mice (x400)

表 3 各组小鼠视网膜 PERK、ATF4 mRNA 表达量比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 3 Comparison of PERK and ATF4 mRNA expression levels in the retina among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	PERK	ATF4
空白组	19.30±3.60	4.60±0.66
模型组	208.2±12.24 ^{##}	15.00±1.95 ^{##}
VitA 组	128.20±11.55 ^{###**}	8.67±0.25 ^{###**}
滋阴明目方低剂量组	114.80±8.68 ^{###**}	9.57±0.60 ^{###**}
滋阴明目方中剂量组	35.20±8.80 ^{##□△△}	9.13±0.45 ^{###**}
滋阴明目方高剂量组	56.83±7.15 ^{###**□□△△}	7.83±0.60 ^{###**}

注:与空白组比较, [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$;与模型组比较, ^{**} $P<0.01$;与 VitA 组比较, [□] $P<0.01$;与滋阴明目方低剂量组比较, ^{△△} $P<0.01$ 。

4 讨论

RP 归属于中医学“高风内障”范畴,该病名始见于《证治准绳·杂病》。在病因病机方面,《杂病源流犀烛·目病源流》记载:“亦有生成如此,并有父母遗体。”提示该病由父母遗传而来,治疗较困难。中医学认为内障疾病多属虚,先天不足为虚,病久亦至虚,此与 RP 的致病特点及病程一致^[9]。RP 早期临床表现为夜盲,暗环境下周边视野缺损;中期夜盲明显,眼底出现骨细胞样色素沉着、视网膜血管变细、视乳头萎缩;晚期出现管状视野,视力严重下降甚至完全失明^[10]。本实验运用滋阴明目方治疗 RP,滋阴明目

表4 各组小鼠视网膜 PERK、ATF4 蛋白
表达量比较 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4 Comparison of PERK and ATF4 protein expression levels in the retina among different groups of mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	PERK	ATF4
空白组	14.75±2.97	23.22±5.85
模型组	53.74±6.57 ^{##}	89.18±12.74 ^{##}
VitA 组	30.04±5.40 ^{**}	50.95±3.25 ^{###}
滋阴明目方低剂量组	38.22±11.16 ^{##}	61.99±5.91 ^{###}
滋阴明目方中剂量组	21.88±3.19 ^{**}	33.18±6.68 ^{**△△}
滋阴明目方高剂量组	23.41±4.06 ^{**}	28.81±4.84 ^{**□△△}

注:与空白组比较,^{##} $P<0.01$;与模型组比较,^{**} $P<0.01$;与 VitA 组比较,[□] $P<0.05$;与滋阴明目方低剂量组比较,^{△△} $P<0.01$ 。

方由川芎、丹参、枸杞子、黄精、怀牛膝、熟地黄组方而成。现代研究表明,川芎嗪对视网膜缺血再灌注损伤具有保护作用,抗炎和抗凋亡可能是其发挥作用的机制^[11]。枸杞子中的胡萝卜素能促进视网膜内视紫红质的再生或合成,有效保护视神经^[12]。黄精多糖能逆转视网膜电图振幅的降低,缓解视网膜血管的异常和渗漏,减少视网膜 TUNEL 阳性细胞,抑制视网膜神经节细胞凋亡^[13]。

rd10 小鼠携带一种自发突变的 *PDE6* 基因,视杆细胞变性始于 18 d,视锥细胞随后死亡,至 35 d 时视网膜光感受器基本死亡^[14]。本实验使用的 RP 动物模型为 rd10 小鼠,通过 HE 染色检测 rd10 小鼠

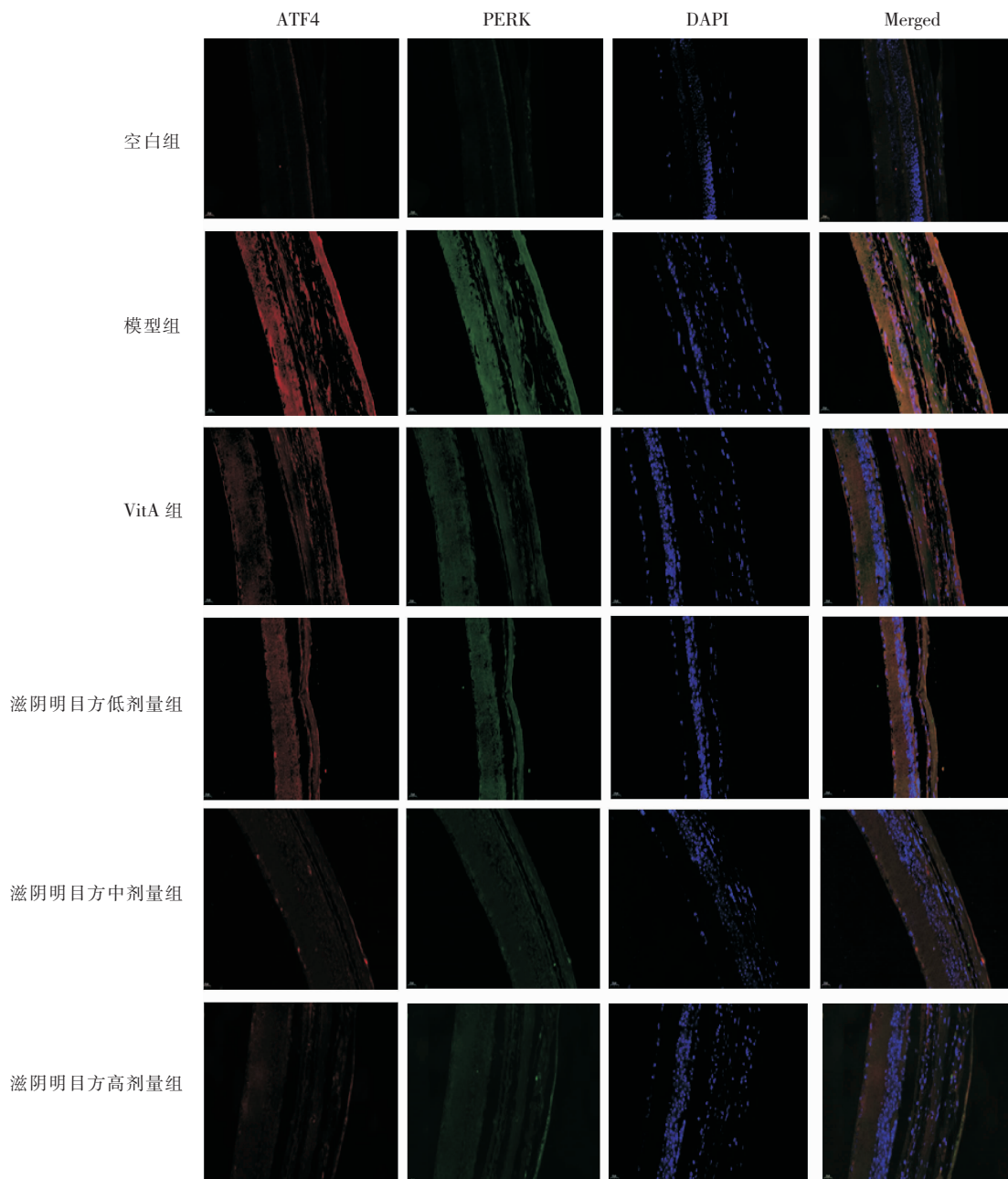


图3 各组小鼠视网膜组织中 ATF4、PERK 蛋白免疫荧光图($\times 400$)

Fig.3 Immunofluorescence images of ATF4 and PERK proteins in retinal tissues among different groups of mice ($\times 400$)

视网膜组织,结果验证符合 RP 模型。

细胞凋亡是程序性细胞死亡形式,长期以来被认为是 RP 的主要发病机制^[15-16]。有研究证实,P23H 小鼠视网膜感光细胞的退化是由于内质网应激诱导自噬激活,导致细胞凋亡^[17]。本实验通过 TUNEL 染色检测小鼠视网膜组织凋亡情况,发现滋阴明目方可减少视网膜组织的凋亡。PERK-ATF4 信号通路是内质网应激介导细胞凋亡的关键通路^[18]。当内质网应激发生后,葡萄糖调节蛋白 78(glucose regulated protein 78 kDa, GRP78)与跨膜蛋白 PERK 发生解离,同时与未折叠蛋白结合,激活下游相关信号通路^[19]。PERK 通过激活真核翻译起始因子 2 α 磷酸化,促使 ATF4 表达量增加,并且由细胞质进入细胞核,进而激活下游一系列信号转导通路,最终诱导细胞凋亡^[20]。既往研究表明,将小鼠感光细胞孵育于蓝光下,可观察到 S 视蛋白聚集,引起内质网应激,激活 PERK、ATF4^[21]。本研究通过微滴式数字 PCR 和免疫荧光双染检测 PERK-ATF4 mRNA 和蛋白在小鼠视网膜组织中的表达,发现 rd10 小鼠视网膜组织内质网应激反应相关因子表达升高,提示滋阴明目方可降低其表达。

综上所述,本研究选用 RP 模型 rd10 小鼠,研究滋阴明目方对 RP 的疗效。研究发现,滋阴明目方可改善小鼠视网膜的形态,减少视网膜组织的凋亡,其分子机制可能与调控 PERK-ATF4 信号通路有关。本研究为滋阴明目方在 RP 临床治疗的应用提供了依据。

参考文献

- [1] 欧 晨,王 英,徐 剑,等. 视网膜色素变性治疗研究进展[J]. 国际眼科杂志, 2018, 18(9): 1608-1611.
- [2] ZHU T, LI H, WEI X, et al. Novel homozygous variant in ARL2BP associated with retinitis pigmentosa, situs inversus, and male infertility in a Chinese patient[J]. *Clinical Genetics*, 2023, 103(4): 472-477.
- [3] 段书众,于文会,张 华,等. 小檗碱通过 PERK-ATF4 通路对高糖诱导的血管平滑肌细胞钙化的改善作用[J]. *中成药*, 2022, 44(10): 3325-3328.
- [4] XU W Q, TAO M Z, HU Z C, et al. Minocycline induces apoptosis of photoreceptor cells by regulating ER stress[J]. *Experimental Eye Research*, 2020, 190: 107887.
- [5] 欧 晨,宋厚盼,谢 薇,等. 滋阴明目方调控 GRP78/IRE1/ATF6 通路改善视网膜色素变性的体外研究[J]. *北京中医药大学学报*, 2024, 47(6): 773-781.
- [6] 谢 薇,彭 俊,宋厚盼,等. 基于 PERK/ATF4/CHOP 信号通路研究滋阴明目方含药血清对衣霉素诱导的 ARPE-19 细胞的作用机制[J]. *湖南中医药大学学报*, 2024, 44(5): 785-790.
- [7] 曾梅艳,熊 萌,仇婧玥,等. 滋阴明目丸干预视网膜色素变性的效应与机制研究[J]. *中国中医药信息杂志*, 2023, 30(7):88-93.
- [8] OU C, JIANG P F, TIAN Y, et al. Fructus Lycii and Salvia miltiorrhiza Bunge extract alleviate retinitis pigmentosa through Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 273: 113993.
- [9] 胡 鑫,孙浩楠,白世森. 基于“五轮学说”探讨脏腑辨证在 RP 的应用[J]. *中国中医眼科杂志*, 2024, 34(6): 558-562.
- [10] 世界中医药学会联合会眼科分会. 原发性视网膜色素变性国际中医临床实践指南[J]. *中国中医眼科杂志*, 2023, 33(4): 301-304.
- [11] 张雅丽,王国海,孟祥波. 川芎嗪减轻大鼠视网膜缺血-再灌注损伤的作用及机制探究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2021, 20(12): 1245-1248.
- [12] 苏保洲. 枸杞子活性成分药理作用研究进展[J]. *江苏中医药*, 2022, 54(3): 78-81.
- [13] WANG Y, QIN S C, PEN G Q, et al. Original Research: Potential ocular protection and dynamic observation of Polygonatum sibiricum polysaccharide against streptozocin-induced diabetic rats' model[J]. *Experimental Biology and Medicine*, 2017, 242(1): 92-101.
- [14] GARGINI C, TERZIBASI E, MAZZONI F, et al. Retinal organization in the retinal degeneration 10 (rd10) mutant mouse: A morphological and ERG study[J]. *The Journal of Comparative Neurology*, 2007, 500(2): 222-238.
- [15] LEE S J, EMERY D, VUKMANIC E, et al. Metabolic transcriptomics dictate responses of cone photoreceptors to retinitis pigmentosa[J]. *Cell Reports*, 2023, 42(9): 113054.
- [16] 欧 晨,彭 俊,蒋鹏飞,等. 枸杞丹参对 rd10 小鼠感光细胞凋亡及氧化应激的影响[J]. *时珍国医国药*, 2020, 31(11): 2580-2582.
- [17] QIU Y Y, YAO J Y, JIA L, et al. Shifting the balance of autophagy and proteasome activation reduces proteotoxic cell death: A novel therapeutic approach for restoring photoreceptor homeostasis[J]. *Cell Death & Disease*, 2019, 10(8): 547.
- [18] LIU C Y, ZHANG A H. ROS-mediated PERK-eIF2 α -ATF4 pathway plays an important role in arsenite-induced L-02 cells apoptosis via regulating CHOP-DR5 signaling[J]. *Environmental Toxicology*, 2020, 35(10): 1100-1113.
- [19] OU C, XIE W, JIANG P F, et al. Lycium barbarum L. and Salvia miltiorrhiza Bunge protect retinal pigment epithelial cells through endoplasmic reticulum stress[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2022, 296: 115519.
- [20] 张欣欣,辛 鑫,吴振华,等. 大黄泄浊方对 5/6 肾切除大鼠肾脏保护作用及对 PERK/ATF4/CHOP 通路的影响[J]. *时珍国医国药*, 2022, 33(12): 2908-2913.
- [21] OOE E, TSURUMA K, KUSE Y, et al. The involvement of ATF4 and S-opsin in retinal photoreceptor cell damage induced by blue LED light[J]. *Molecular Vision*, 2017, 23: 52-59.