

驻景丸加减方对形觉剥夺性近视小鼠线粒体动力学相关蛋白的影响

莫亚^{1,2}, 张海燕², 马捷²

引用: 莫亚, 张海燕, 马捷. 驻景丸加减方对形觉剥夺性近视小鼠线粒体动力学相关蛋白的影响. 国际眼科杂志 2023; 23(9): 1449-1453

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 82274586); 四川省科技计划项目 (No. 2021YJ0252); 成都中医药大学“杏林学者”项目 (No. KPZX2022008)

作者单位: ¹(610072) 中国四川省成都市, 成都中医药大学附属医院眼科; ²(610071) 中国四川省成都市, 成都中医药大学

作者简介: 莫亚, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 近视相关基础及临床研究。

通讯作者: 莫亚. moyaya5286@cdutcm.edu.cn

收稿日期: 2023-02-13 修回日期: 2023-08-07

摘要

目的: 探讨驻景丸加减方对形觉剥夺性近视小鼠视网膜色素上皮细胞线粒体结构及动力学相关蛋白的影响。

方法: 3 周龄 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、模型组、中药组, 各组均 10 只。模型组和中药组小鼠右眼采用形觉剥夺方法构建小鼠近视模型, 形觉剥夺 4wk 后, 中药组给予驻景丸加减方混悬液 0.546g/(kg·d) (0.2mL/d) 灌胃, 共 4wk, 对照组、模型组给予等体积生理盐水灌胃。分别于实验开始时和实验结束时, 应用 A 超检测小鼠右眼眼轴长度, 带状光检影镜检测小鼠右眼屈光度。实验结束时, 透射电镜观察视网膜色素上皮细胞线粒体超微结构, Western blot 检测各组小鼠视网膜的线粒体融合蛋白 1 (MFN1)、视神经萎缩蛋白 1 (OPA1)、动力相关蛋白 1 (DRP1) 表达, q-PCR 检测 MFN1、OPA1、DRP1 基因表达。

结果: 实验前, 对照组、模型组和中药组小鼠右眼屈光度和眼轴长度均无差异 ($P>0.05$)。实验结束时, 与对照组相比, 模型组和中药组小鼠屈光度降低、伴眼轴持续延长 (均 $P<0.05$), 而中药组小鼠眼轴长度明显低于模型组, 而屈光度高于模型组 (均 $P<0.05$)。Western blot 和 q-PCR 结果显示, 与对照组相比, 模型组和中药组 MFN1、OPA1 相对表达量均减少、DRP1 相对表达量增加 (均 $P<0.05$); 与模型组相比, 中药组 MFN1、OPA1 相对表达量增加 (均 $P<0.05$)。电镜结果示, 中药组可见小鼠右眼视网膜线粒体仅轻度肿胀, 而模型组可见线粒体明显肿胀、嵴紊乱变空。

结论: 驻景丸加减方可能通过调控线粒体动力学关键蛋白 MFN1、OPA1、DRP1 发挥保护视网膜线粒体的作用, 对轴性近视小鼠视网膜起保护作用。

关键词: 形觉剥夺性近视; C57BL/6J 小鼠; 线粒体动力学; 驻景丸加减方

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2023.9.05

Effects of modified Zhujing Pill on mitochondrial dynamics related protein in mice with form deprivation myopia

Ya Mo^{1,2}, Hai-Yan Zhang², Jie Ma²

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 82274586); Sichuan Science and Technology Plan Project (No. 2021YJ0252); “Xinglin Scholars” Program of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (No. KPZX2022008)

¹Department of Ophthalmology, Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China; ²Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610071, Sichuan Province, China

Correspondence to: Ya Mo. Department of Ophthalmology, Hospital of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, Sichuan Province, China; Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610071, Sichuan Province, China. moyaya5286@cdutcm.edu.cn

Received: 2023-02-13 Accepted: 2023-08-07

Abstract

• **AIM:** To investigate the effects of modified Zhujing Pill on the mitochondrion structure and dynamin-related protein of retinal pigment epithelial cells (RPEs) in mice with form deprivation myopia.

• **METHODS:** 3-week-old C57BL/6J mice were randomly divided into control group, model group and Chinese medicine group, with 10 mice in each group. Myopia model of the right eye of mice was established by means of form deprivation in model and Chinese medicine groups. After 4wk, the Chinese medicine group were given intragastric administration of modified Zhujing Pill suspension 0.546g/(kg·d) (0.2mL/d) for 4wk, and same amount of saline was given to mice in other groups at the same time of modeling. The axial length and diopter of the right eye of the mouse were measured before and after the experiment by A-ultrasound and a strip retinoscope respectively. At the end of the experiment, the mitochondrial ultrastructure of RPEs was observed by transmission electron microscope. Western blot, and real-time fluorescent quantitative PCR (q-PCR) were used to detect quantitative and gene expression of mitofusin 1 (MFN1), optic atrophy 1 (OPA1), and dynamin-related protein 1 (DRP1) in retinal tissues respectively.

• **RESULTS:** At the beginning of the experiment, there was no statistically significant difference in axial length

and diopter of the right eye of the mouse in control, model and Chinese medicine groups ($P>0.05$). At the end of the experiment, compared with the control group, the mice in the model group and the Chinese medicine group had lower diopter and continuously prolonged axial length (all $P<0.05$), while the mice in the Chinese medicine group had significantly shorter axial length and higher diopter than the model group (all $P<0.05$). Western blot and q-PCR results showed that the relative expression of MFN1 and OPA1 decreased and DRP1 increased in both the model group and the Chinese medicine group compared with the control group (all $P<0.05$), and the relative expression of MFN1 and OPA1 increased in the Chinese medicine group compared with the model group (all $P<0.05$). The electron microscopic results showed that the mitochondria in the right retina of the mice were only mildly swollen in the Chinese medicine group, while the mitochondria in the model group were obviously swollen and disordered and empty.

• **CONCLUSION:** Modified Zhujing Pill could protect the retinal mitochondria by regulating the key proteins of mitochondrial dynamics (MFN1, OPA1, and DRP1), and it has a protective effect on the retina of axial myopic mice.

• **KEYWORDS:** form deprivation myopia; C57BL/6J mice; mitochondrial dynamics; modified Zhujing Pill

Citation: Mo Y, Zhang HY, Ma J. Effects of modified Zhujing Pill on mitochondrial dynamics related protein in mice with form deprivation myopia. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023; 23(9): 1449-1453

0 引言

近视在全球范围内呈爆发性增长,据报道 2050 年全球近视人数预计超过 47 亿,其中高度近视约占 10 亿^[1],高度近视伴随眼轴延长会引起一系列视网膜病变,包括视网膜变性、变薄甚至脱离等,且有研究报道高度近视的并发症已成为青年患者首要致盲原因^[2-3];此外,研究已证实,视网膜变薄、视功能下降在轴性近视的早期就出现了^[4],故积极寻求早期轴性近视视功能保护的方法至关重要。目前研究已经证实线粒体动力学失衡是各种疾病发生的关键,维持其动态平衡是疾病治疗的潜在靶点^[5-6],而且对视网膜疾病的发生发展也起重要作用^[7],可以通过调控线粒体动力学对视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGCs) 起到保护作用^[8]。在近视豚鼠中也可以观察到调控线粒体动力学关键蛋白的阳性表达^[9],这提示线粒体动力学参与近视发生发展过程。线粒体动力学是线粒体为适应细胞内外环境的变化并维持自身功能,不断保持分裂和融合的过程,其外膜融合主要受线粒体融合蛋白 1 (mitofusin 1, MFN1) 调控,视神经萎缩蛋白 1 (optic atrophy 1, OPA1) 是促进内膜融合的关键蛋白,而动力相关蛋白 1 (dynamin-related protein1, DRP1) 是调控线粒体分裂的重要蛋白^[10]。驻景丸加减方目前已经广泛应用于近视、视神经萎缩等眼科疾病的治疗^[11-12]。前期动物实验已经证实该方具有延缓形觉剥夺性近视 (form deprivation myopia, FDM) 小鼠的作用^[13];临床实践也表明,驻景丸加减方可以提高近视和干眼患者视力^[11,14],并

且对中心性浆液性视网膜病变患者的视力及眼底情况具有改善作用^[15]。但是其具体作用机制尚未阐明。因此,本研究旨在探讨驻景丸加减方是否通过线粒体动力学达到干预近视及近视视网膜退变的目的,为驻景丸加减方的临床应用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 **实验动物** SPF 级 3 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠 30 只,许可证号:YXK(川)2019-049。动物均饲养室温 (24 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度 (50 ± 10)%,通风良好环境,12h 光照明/暗交替;小鼠自由摄取食物和水。本实验由成都中医药大学动物伦理委员会批准(备案编号:2002-22)。

1.1.2 **实验试剂及仪器** MFN1 一抗(批号 ab126575)、OPA1 一抗(批号 ab184247)、DRP1 一抗(批号 ab157457), β -actin 抗体(批号 AC026),二抗(批号 ab6789)均购买于英国 abcam——艾博抗(上海)贸易有限公司;Western 细胞裂解液(批号 P0013, Beyotim);四氧化钼(GP18456, 徠卡);戊二醛(批号 GS2607)、醋酸双氧铀(批号 GS02624)、柠檬酸铅染液(批号 GZ02616)均购买于北京中镜科仪技术有限公司、RNA Trizol Reagent(批号 BBM1144)合肥博美生物科技有限公司。A 型超声(CineScan, 法国)、带状检影镜(YZ24, 苏州六六视觉科技股份有限公司)、透射电镜(型号 JEM-1400FLASH, 日本电子 JEOL)。垂直电泳槽(JY-SCZ4+, 北京君意东方电泳设备有限公司)。

1.1.3 **药物** 驻景丸加减方采用根据该方制成的我院院内制剂补精益视片 0.3 克/片(成都中医药大学附属医院药剂科生产, No.20200703),主要成分为:楮实子、菟丝子、茺蔚子、五味子、枸杞子、丹参、三七等。

1.2 方法

1.2.1 **分组和造模及给药**^[16] 将 30 只 3 周龄 C57BL/6J 小鼠随机编号 1~30,按随机数字表法分为对照组、模型组、中药组,每组各 10 只。模型组和中药组小鼠右眼应用半透明眼罩进行遮盖制备 FDM 动物模型,每天检查眼罩有无脱落,以及眼部有无异常分泌物和感染,对照组正常饲养。形觉剥夺 4wk 后对小鼠进行干预,中药组给予驻景丸加减方混悬液 $0.546\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ ($0.2\text{mL}/\text{d}$) 灌胃,共 4wk。对照组、模型组予等体积生理盐水灌胃。实验结束时,戊巴比妥钠麻醉,处死小鼠,摘取小鼠右眼眼球放入装有冻存液的冻存管,并置于液氮中保存,备用。

1.2.2 **角膜屈光度及眼轴测量** 实验开始和实验结束时,分别应用 A 超、带状光检影镜检测小鼠右眼眼轴长度和屈光度。由同一位经验丰富的验光师对全部小鼠进行测量,每只眼睛重复测量 3 次,取平均值。测量小鼠右眼屈光度前使用 0.5% 复方托吡卡胺滴眼液点眼充分散瞳后检测,5 分钟/次,共 4 次,每只眼睛重复测量 3 次,计算平均值。

1.2.3 **q-PCR 检测** 应用 q-PCR 检测小鼠右眼视网膜线粒体动力学相关蛋白 MFN1 mRNA、DRP1 mRNA、OPA1 mRNA 表达。实验结束时,在液氮中磨碎小鼠右眼视网膜组织,每 50~100mg 组织加入 1mL Trizol,使用 Trizol 试剂从中提取总 RNA。1mL Trizol 加入 0.2mL 氯仿,剧烈振荡,室温放置; $2^{\circ}\text{C} \sim 8^{\circ}\text{C}$ 12000r/min 离心 15min,弃其上清。用 75% 乙醇洗涤 RNA 沉淀。使用 Primer Premier 引物设计软件设计筛选各基因特异性引物(表 1)。所有引

物均由上海生工生物公司设计合成。结果以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因相对表达水平。

1.2.4 Western blot 检测 应用 Western blot 检测小鼠右眼视网膜 MFN1、DRP1、OPA1 蛋白表达。灭菌剪碎小鼠眼球视网膜组织,加入 RIPA 裂解液,冰上裂解 10min,收集裂解液,12000r/min、4℃、离心 10min,取上清液。取 16μg 上样、200V 电泳、PVDF 膜 100V 湿转,5%脱脂牛奶封闭 2h,将 PVDF 膜放入 MFN1(浓度 1:500)、DRP1(浓度 1:1000)、OPA1(浓度 1:1000)、β-actin(1:100000)一抗中,4℃孵育 16h,二抗(1:5000)室温封闭 2h,显影。结果以目的蛋白相对表达量表示:目的蛋白相对表达量=目的蛋白积分光密度值(IOD)/内参积分光密度值(IOD)。

1.2.5 透射电镜检测 透射电镜检测小鼠右眼视网膜色素上皮细胞线粒体形态学变化。将小鼠右眼视网膜制成超薄切片(50nm),样本先后用 3%戊二醛和 1%四氧化锇固定,脱水,醋酸铀室温下染色 15~20min,透射电镜观察。

统计学分析:采用 SPSS21.0 统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,对各组数据首先进行正态检验和方差齐性检验,符合正态分布、方差齐,则多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),组间两两比较采用 Tukey 检验,方差不齐采用 Dunnett T3 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠右眼眼轴和屈光度测量结果 实验前,对照组、模型组以及中药组小鼠右眼眼轴和屈光度差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。实验结束时,与对照组相比,模型组和中药组小鼠右眼屈光度均降低、伴眼轴增长($P<0.05$),提示模型组、中药组小鼠右眼形成轴性近视;与模型组相比,中药组小鼠右眼眼轴增长趋势缓慢,且屈光度“近视化漂移”趋势缓慢,差异具有统计学意义($P<0.05$),这提示中药对轴性近视小鼠视网膜有一定保护作用,见表 2、3。

2.2 q-PCR 结果 与对照组相比,模型组和中药组 MFN1 mRNA、OPA1 mRNA 相对表达量减少、DRP1 mRNA 相对表达量增加(均 $P<0.05$);与模型组相比,中药组 MFN1 mRNA、OPA1 mRNA 相对表达量增加(均 $P<0.05$),而

DRP1 mRNA 相对表达量减少,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

2.3 Western blot 结果 与对照组相比,模型组和中药组 MFN1、OPA1 蛋白相对表达量减少、DRP1 蛋白相对表达量增加(均 $P<0.05$);与模型组相比,中药组 MFN1、OPA1 蛋白相对表达量增加(均 $P<0.05$),而 DRP1 蛋白相对表达量减少,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图 1,表 5。

2.4 透射电镜观察各组小鼠右眼视网膜色素上皮细胞形态学表征 对照组小鼠右眼视网膜色素上皮细胞超微结构未见明显病变;模型组视网膜色素上皮细胞线粒体肿胀,嵴紊乱变空;中药组小鼠视网膜色素上皮细胞超微结构较正常,偶见线粒体轻微肿胀,且细胞器结构完整,见图 2。

3 讨论

近视作为是全球范围内最常见的视力障碍疾病,研究发现在它的早期就有视功能下降、视网膜肌样体带及椭圆体变薄等表现^[16]。随着近视的进展,眼轴进一步延长,当形成高度近视时常伴视网膜退变甚至出现后极部视网膜萎缩等表现,常常造成不可逆性视力受损^[17]。因此,在近视早期阶段对它进行干预具有重要意义。

陈达夫老先生的驻景丸加减方是在《太平圣惠方》驻景方基础上化裁而成,为眼科临床常用方,全方具有肝肾同补、活血明目之功^[13,18]。补精益视片则是根据驻景丸加减方制成的中成药,目前临床广泛应用于青少年近视防治,其疗效确切^[19];既往研究发现驻景丸加减方可以抑制感光细胞凋亡,对感光细胞具有保护作用^[20]。本课题组前期研究也表明驻景丸加减方具有干预 FDM 小鼠视网膜厚度变薄的作用^[13],为研究驻景丸加减方干预早期轴性近视的作用机制,本研究通过构建 FDM 动物模型,并从线粒体动力学角度开展了更进一步的研究。FDM 动物模型已被广泛应用于近视研究^[21-22]。据报道,正常生理状态下,小鼠视力发育呈生理性远视发展,FDM 小鼠的视力会出现向“近视化漂移”的现象^[23],因此,本次实验结果用“相对近视化”即屈光度降低作为评判小鼠近视表现。此外,眼轴增长是轴性近视的主要特征之一,因此上述两个指标是判断近视的重要指征^[24]。本课题组前期实验通过该方法构建小鼠近视模型,发现 FDM 小鼠视力会明显出

表 1 本次检测所用引物及碱基序列

引物名称	正向	反向
β-actin	5'-GAAGATCAAGATCATTGCTCC-3'	5'-TACTCTGCTTGCTGATCCA-3'
DRP1	5'-ACTGATTCAATCCGTGATGAGT-3'	5'-GTAACCTATTCAGGGTGCTAGC-3'
MFN1	5'-CCATCTTTCAGGTCCCTAGATC-3'	5'-GCTCCGTACATACTTAAGGTGA-3'
OPA1	5'-CTTACATGCAGAATCCTAACGC-3'	5'-CCAAGTCTGTAACAATACTGCG-3'

表 2 不同时间点各组小鼠右眼眼轴长度变化 ($\bar{x}\pm s$, mm)

分组	n	实验前	实验结束时
对照组	10	2.3100±0.0095	2.3142±0.0086
模型组	10	2.3076±0.0058	2.3544±0.0048 ^a
中药组	10	2.3079±0.0053	2.3374±0.0056 ^{a,c}
F		0.09007	28.62
P		0.9151	0.0009

注:^a $P<0.05$ vs 对照组;^c $P<0.05$ vs 模型组。

表 3 不同时间点各组小鼠右眼屈光度变化 ($\bar{x}\pm s$, D)

分组	n	实验前	实验结束时
对照组	10	5.5065±0.0456	5.5537±0.0456
模型组	10	5.4695±0.0361	3.0197±0.0748 ^a
中药组	10	5.5098±0.0430	3.4663±0.0378 ^{a,c}
F		0.8628	1810
P		0.4684	<0.0001

注:^a $P<0.05$ vs 对照组;^c $P<0.05$ vs 模型组。

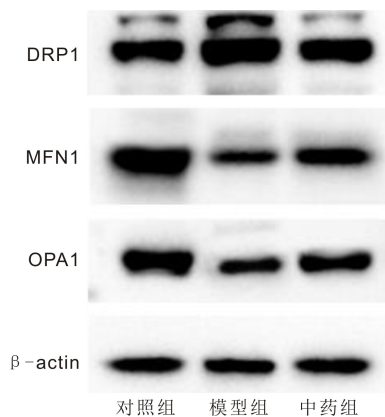


图1 各组小鼠右眼 MFN1、OPA1、DRP1 蛋白相对表达量。

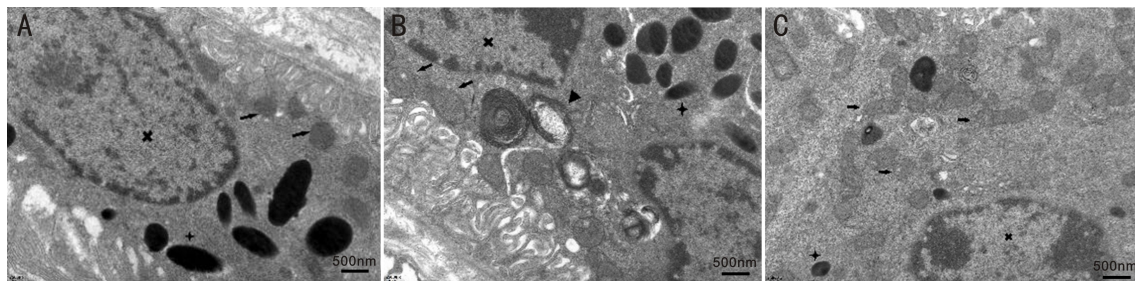


图2 透射电镜观察各组小鼠视网膜色素上皮细胞线粒体超微结构 A:对照组;B:模型组;C:中药组。线粒体(↑),细胞核(x),自噬小体(▲),色素颗粒(★)。

表4 各组小鼠右眼视网膜 MFN1 mRNA、OPA1 mRNA、DRP1 mRNA 相对表达量比较 $\bar{x} \pm s$

分组	MFN1 mRNA	OPA1 mRNA	DRP1 mRNA
对照组	1.191±0.097	1.230±0.059	0.758±0.043
模型组	0.333±0.100 ^a	0.765±0.067 ^a	2.462±0.323 ^a
中药组	0.587±0.100 ^{a,c}	0.973±0.061 ^{a,c}	2.196±0.199 ^a
F	59.35	41.64	51.86
P	0.0001	0.0003	0.0002

注:^a $P < 0.05$ vs 对照组;^c $P < 0.05$ vs 模型组。

表5 各组小鼠右眼视网膜 MFN1、OPA1、DRP1 蛋白相对表达量比较 $\bar{x} \pm s$

分组	MFN1	OPA1	DRP1
对照组	1.000±0.000	1.000±0.000	1.000±0.000
模型组	0.414±0.076 ^a	0.550±0.121 ^a	1.837±0.179 ^a
中药组	0.758±0.114 ^{a,c}	0.739±0.013 ^{a,c}	1.414±0.221 ^{a,c}
F	41.29	31.26	19.51
P	0.0003	0.0007	0.0024

注:^a $P < 0.05$ vs 对照组;^c $P < 0.05$ vs 模型组。

现屈光度降低、眼轴变长等近视的表现^[18]。这与本研究结果一致,本次实验结果表明,小鼠形觉剥夺 4wk 后,与对照组相比,模型组和中药组小鼠右眼屈光度和眼轴长度发生明显变化,表现出屈光度向“近视化漂移”,眼轴变长,这提示模型组和中药组小鼠发生“相对近视发展”。在本研究中,对近视小鼠进行了药物干预,结果发现模型组小鼠屈光度明显低于中药组小鼠,但是模型组小鼠眼轴增长明显快于中药组,这提示驻景丸加减方对近视小鼠视力具有一定的保护作用。

眼是高耗能器官,拥有丰富的线粒体,以维持它高耗能的生理活动需求^[25]。线粒体的形态和质量控制是它功能的基础,而线粒体动力学平衡可以维持线粒体的正常形态和质量^[26]。线粒体功能与线粒体的结构和形态密不可分,线粒体形态改变可能是线粒体功能受损的早期表现^[27]。Jin 等^[28]发现当线粒体功能障碍时,线粒体常呈碎片化表现,即调控线粒体形态的动力学发生了异常。在本实验中,我们发现正常组小鼠视网膜线粒体结构完整,近视组小鼠视网膜线粒体出现明显肿胀,嵴紊乱变空等现象;而与模型组小鼠相比,中药组小鼠视网膜线粒体仅表现出轻微结构紊乱和肿胀,这提示驻景丸加减方对线粒体起保护作用。在正常生理条件下,线粒体通过不断地融合和分裂维持其稳态和功能,同时也影响其本身在细胞内的运动和合理分布;其中具有 GTP 酶活性的 DRP1 是调控线粒体分裂的重要因子之一, MFN1 和 OPA1 对调控线粒体融合过程至关重要^[10]。因此基于上述研究,我们研究了驻景丸加减方对线粒体动力学的关键蛋白的影响。

线粒体的融合是由膜间蛋白 OPA1 和定位于线粒体外膜的 MFN1 共同介导完成。MFN1 定位于线粒体外膜,是介导线粒体外膜的融合的关键细胞因子。目前研究已证实 MFN1 对于近视的发生发展具有重要意义。据报道 MFN1 基因的遗传变异与中国人群中低至中度近视密切相关,其中 MFN1 基因内的 rs13098637 位点与近视显著相关^[29]。曾官鹏等^[30]在豚鼠视网膜上可见 MFN1 阳性表达,早期阶段近视豚鼠视网膜上 MFN1 阳性表达主要见于 RGCs,随着近视度数加深, MFN1 在视锥视杆细胞中也出现表达。与此相一致, Cai 等^[9]发现可以在近视豚鼠视网膜中观察到 MFN1 阳性细胞表达。而本实验对 MFN1 在近视中的作用进行了定量研究,结果表明与对照组相比,近视小鼠视网膜上 MFN1 表达降低,而经过中药干预后近视小鼠视网膜上 MFN1 表达增加。OPA1 是协同 MFN1 促

进线粒体融合的重要蛋白,对于视网膜神经节细胞突触结构和连接至关重要。Hu 等^[31]研究发现,OPA1 过表达可能通过增强线粒体融合、防止 RGCs 丢失,这提示 OPA1 过表达促进线粒体融合,从而对线粒体起到保护作用。这与本研究一致,本实验结果显示,正常组小鼠 OPA1 呈高表达,而模型组小鼠 OPA1 表达水平下降,电镜下可见线粒体肿胀空泡形成;而与模型组相比,中药组小鼠 OPA1 表达水平增高,且电镜观察到线粒体仅见轻微肿胀。

DRP1 是促线粒体分裂的重要蛋白,是具有 GTP 酶活性的动力酶蛋白家族成员之一,线粒体分裂是一个多步骤的过程,而在这个过程中 DRP1 募集是关键的一步^[32-33]。在正常生理情况下,线粒体分裂对细胞增长必不可少,但当细胞的生存微环境发生异常,可以促进线粒体分裂增加,线粒体呈现碎片化表现^[27]。在本实验中,与对照组小鼠相比,模型组小鼠视网膜 DRP1 表达水平增加,经过药物干预后,与模型组相比,中药组小鼠 DRP1 表达水平降低,而且与模型组小鼠相比,中药组小鼠视网膜线粒体仅表现出轻微结构紊乱和肿胀,这提示驻景丸加减方可能通过抑制近视小鼠视网膜 DRP1 表达,实现维持视网膜线粒体完整的作用。

总之,线粒体目前已成为眼科疾病研究的热点^[34],而在近视相关研究中,早期对线粒体动力学主要是进行定性研究,缺少定量研究的同时,对其他调控线粒体动力学的关键细胞因子也缺少探讨,而本研究通过构建近视小鼠模型,进一步探讨了驻景丸加减方对线粒体动力学关键蛋白 MFN1、OPA1、DRP1 的作用。结果发现驻景丸加减方可能是通过调控线粒体动力学关键蛋白,发挥保护视网膜线粒体的作用,从而对轴性近视小鼠视力起到保护作用。

参考文献

- 1 Holden BA, Fricke TR, Wilson DA, et al. Global prevalence of myopia and high myopia and temporal trends from 2000 through 2050. *Ophthalmology* 2016;123(5):1036-1042
- 2 Ueta T, Makino S, Yamamoto Y, et al. Pathologic myopia: an overview of the current understanding and interventions. *Glob Health Med* 2020;2(3):151-155
- 3 Du R, Xie SQ, Igarashi-Yokoi T, et al. Continued increase of axial length and its risk factors in adults with high myopia. *JAMA Ophthalmol* 2021;139(10):1096-1103
- 4 Zeng L, Li XN, Liu JA, et al. RNA-seq analysis reveals an essential role of the tyrosine metabolic pathway and inflammation in myopia-induced retinal degeneration in Guinea pigs. *Int J Mol Sci* 2021;22(22):12598
- 5 Whitley BN, Engelhart EA, Hoppins S. Mitochondrial dynamics and their potential as a therapeutic target. *Mitochondrion* 2019;49:269-283
- 6 Chan DC. Mitochondrial dynamics and its involvement in disease. *Annu Rev Pathol* 2020;15:235-259
- 7 Barot M, Gokulgandhi MR, Mitra AK. Mitochondrial dysfunction in retinal diseases. *Curr Eye Res* 2011;36(12):1069-1077
- 8 胡欣欣. 线粒体动力学与视网膜神经节细胞. *中华实验眼科杂志* 2017;35(1):74-78
- 9 Cai YL, Zou YC, Lei JH, et al. The investigation on the role of mitochondrial fusion protein 1 in the development of myopia. *Indian J Ophthalmol* 2016;64(7):500-503
- 10 Yapa NMB, Lisnyak V, Reljic B, et al. Mitochondrial dynamics in health and disease. *FEBS Lett* 2021;595(8):1184-1204
- 11 李锦. 驻景丸加减治疗青少年近视 220 例分析. *中国误诊学杂志* 2008;8(24):5932
- 12 王超, 任益, 姜世怀, 等. 驻景丸加减方治疗视神经萎缩的临床

- 研究. *云南中医中药杂志* 2022;43(10):62-64
- 13 莫亚, 任郭廷, 邓晞远, 等. 驻景丸加减方对形觉剥夺性近视小鼠视网膜厚度及细胞凋亡的影响. *国际眼科杂志* 2021;21(12):2053-2059
- 14 陈耀华, 朱彦青. 驻景丸加减方治疗肝肾亏虚型干眼症疗效及对患者主观症状、视觉相关生活质量的影响. *现代中西医结合杂志* 2021;30(24):2697-2700
- 15 孟文明. 驻景丸加减方治疗中心性浆液性视网膜病变的临床疗效观察. *黑龙江医药* 2019;32(2):366-368
- 16 Ye J, Wang MY, Shen MX, et al. Deep retinal capillary plexus decreasing correlated with the outer retinal layer alteration and visual acuity impairment in pathological myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2020;61(4):45
- 17 Jonas JB, Bikbov MM, Wang YX, et al. Anatomic peculiarities associated with axial elongation of the myopic eye. *J Clin Med* 2023;12(4):1317
- 18 马捷, 莫亚, 叶映含, 等. 驻景丸加减方对形觉剥夺性近视小鼠视网膜自噬的影响. *国际眼科杂志* 2022;22(7):1079-1084
- 19 李华宏. 撤针联合补精益视片对小学生轻度近视的临床疗效观察. *成都中医药大学* 2019
- 20 罗维, 祁玉麟, 李杰, 等. 补精益视片调控 MNU 大鼠感光细胞钙蛋白酶活性对凋亡和自噬之间的影响研究. *时珍国医国药* 2018;29(9):2069-2072
- 21 Wu H, Chen W, Zhao F, et al. Scleral hypoxia is a target for myopia control. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018;115(30):E7091-E7100
- 22 Pan MZ, Zhao F, Xie BT, et al. Dietary ω -3 polyunsaturated fatty acids are protective for myopia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2021;118(43):e2104689118
- 23 Troilo D, Smith EL 3rd, Nickla DL, et al. IMI - report on experimental models of emmetropization and myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2019;60(3):M31-M88
- 24 Khanal S, Norton TT, Gawne TJ. Limited bandwidth short-wavelength light produces slowly-developing myopia in tree shrews similar to human juvenile-onset myopia. *Vis Res* 2023;204:108161
- 25 Ozaki T, Utsumi S, Iwamoto T, et al. Data on mitochondrial ultrastructure of photoreceptors in pig, rabbit, and mouse retinas. *Data Brief* 2020;30:105544
- 26 Cheng MY, Lin N, Dong DL, et al. PGAM5: a crucial role in mitochondrial dynamics and programmed cell death. *Eur J Cell Biol* 2021;100(1):151144
- 27 Giacomello M, Pyakurel A, Glytsou C, et al. The cell biology of mitochondrial membrane dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2020;21(4):204-224
- 28 Jin JY, Wei XX, Zhi XL, et al. Drp1-dependent mitochondrial fission in cardiovascular disease. *Acta Pharmacol Sin* 2021;42(5):655-664
- 29 Zou YC, Lei JH, Wang Y, et al. Correlation between polymorphisms in the MFN₁ gene and myopia in Chinese population. *Int J Ophthalmol* 2015;8(6):1126-1130
- 30 曾官鹏, 严丽英, 徐双, 等. MFN1 在透镜诱导豚鼠近视模型视网膜上的表达及其意义. *眼科新进展* 2016;36(1):1-3, 11
- 31 Hu XX, Dai Y, Zhang R, et al. Overexpression of optic atrophy type 1 protects retinal ganglion cells and upregulates parkin expression in experimental glaucoma. *Front Mol Neurosci* 2018;11:350
- 32 Zhang K, Guo MY, Li QG, et al. Drp1-dependent mitochondrial fission mediates corneal injury induced by alkali burn. *Free Radic Biol Med* 2021;176:149-161
- 33 Schmitt K, Grimm A, Dallmann R, et al. Circadian control of DRP1 activity regulates mitochondrial dynamics and bioenergetics. *Cell Metab* 2018;27(3):657-666. e5
- 34 许致玉, 董晶, 张璐. 线粒体铁蛋白和年龄相关性黄斑变性的研究进展. *国际眼科杂志* 2020;20(12):2083-2086