

非诺贝特对糖尿病小鼠视网膜神经组织中 miR-26a-5p/PTEN 表达的影响

唐德荣^{1,2}, 杨雨雯³, 石蕊^{4,5}, 刘丹丹⁴, 林蓉⁵

引用:唐德荣,杨雨雯,石蕊,等.非诺贝特对糖尿病小鼠视网膜神经组织中 miR-26a-5p/PTEN 表达的影响. 国际眼科杂志, 2024,24(1):24-29.

基金项目:陕西省自然科学基金基础研究计划项目(No.2022JM-571),陕西省人民医院科技发展孵化基金资助项目(No.2021YJY-20)

作者单位:¹(725000)中国陕西省安康市,安康职业技术学院医学院;²(725000)中国陕西省安康市中心医院眼科;³(325035)中国浙江省温州市,温州医科大学眼科实验室;⁴(710068)中国陕西省西安市,陕西省人民医院眼科;⁵(710061)中国陕西省西安市,西安交通大学基础医学院

作者简介:唐德荣,硕士研究生,副主任医师,研究方向:玻璃体视网膜疾病。

通讯作者:石蕊,博士研究生,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:糖尿病视网膜病变. vivianlio@163.com

收稿日期:2023-05-05 修回日期:2023-12-05

摘要

目的:研究非诺贝特对糖尿病小鼠视网膜神经损伤的保护作用并观察其对 miR-26a-5p 及其靶基因 PTEN 的影响。

方法:构建糖尿病小鼠模型,并进行非诺贝特灌胃,H&E 及透射电镜观察视网膜神经损伤情况,Real-time PCR 检测视网膜组织中 miR-26a-5p 的表达,Western blotting 检测同源性磷酸酶-张力蛋白(PTEN)在视网膜组织中的表达,并观察 NF- κ B 及 IL-1 β 的水平及视网膜神经上皮的 结构变化。

结果:与糖尿病组相比,非诺贝特治疗组糖尿病小鼠视网膜神经节细胞损伤及神经纤维层萎缩明显减轻,视网膜中 miR-26a-5p 表达升高,PTEN mRNA 和蛋白表达下降,炎症介质 NF- κ B 及 IL-1 β mRNA 表达水平下降($P<0.05$)。

结论:非诺贝特通过上调 miR-26a-5p 抑制 PTEN 的表达,降低炎症因子水平,减轻视网膜细胞损伤,发挥糖尿病视网膜神经保护作用。

关键词:糖尿病视网膜神经损伤;miR-26a-5p;同源性磷酸酶-张力蛋白(PTEN);炎症;非诺贝特

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2024.1.05

Effect of fenofibrate on the expression of miR-26a-5p/PTEN in retinal neurons of diabetic mice

Tang Derong^{1,2}, Yang Yuwen³, Shi Rui^{4,5}, Liu Dandan⁴, Lin Rong⁵

Foundation items: Natural Science Basic Research Project of Shaanxi Province (No. 2022JM-571); Science and Technology

Development Incubation Fund of Shaanxi Provincial People's Hospital (No.2021YJY-20)

¹Medical College of Ankang Vocational and Technical College, Ankang 725000, Shaanxi Province, China; ²Department of Ophthalmology, Ankang Central Hospital, Ankang 725000, Shaanxi Province, China; ³State Key Laboratory of Ophthalmology, Optometry and Visual Science, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, Zhejiang Province, China; ⁴Department of Ophthalmology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, Shaanxi Province, China; ⁵School of Basic Medical Sciences, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Shi Rui. Department of Ophthalmology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, Shaanxi Province, China; School of Basic Medical Sciences, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China. vivianlio@163.com

Received:2023-05-05 Accepted:2023-12-05

Abstract

• **AIM:** To study the protective effect of fenofibrate on diabetic retinal neurodegeneration and observe its effect on miR-26a-5p and its target gene PTEN in the retina of diabetic mice.

• **METHODS:** Diabetic mice models were established and they were gavaged by fenofibrate. H&E staining and transmission electron microscopy were used to observe the impairments of retinal neurons. Real-time PCR was used to examine the expression of miR-26a-5p, and Western blotting was employed to measure the expression of phosphatase and tensin homologue (PTEN) in the retina of diabetic mice. The expression level of nuclear factor- κ B (NF- κ B), interleukin-1 β (IL-1 β) and the morphology of neural tissues were observed.

• **RESULTS:** When compared with the diabetic mice, fenofibrate significantly attenuated the damage to retinal ganglion cells and the atrophy of retinal nerve fiber layer. While the level of miR-26a-5p was increased and the levels of PTEN and inflammatory mediators were significantly decreased in the retina of fenofibrate treated diabetic mice, with significant statistical significance ($P<0.05$).

• **CONCLUSIONS:** Fenofibrate protects against diabetic retinal neurodegeneration by upregulating miR-26a-5p and inhibiting PTEN, attenuating the inflammatory response and alleviating retinal cell injury.

• **KEYWORDS:** diabetic retinal neurodegeneration; miR-26a-5p; phosphatase and tensin homologue (PTEN); inflammation; fenofibrate

Citation: Tang DR, Yang YW, Shi R, et al. Effect of fenofibrate on the expression of miR-26a-5p/PTEN in retinal neurons of diabetic mice. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2024, 24(1): 24-29.

0 引言

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病患者最常见的眼部微血管并发症,目前缺乏有效的早期控制方法。最新研究发现,高血糖诱发的视网膜神经损伤可能是DR最早期的病理表现^[1],其发生早于临床可见的微血管病变,主要病理特点是胶质细胞损伤、神经元凋亡坏死及内层视网膜的萎缩^[2],视网膜慢性炎症是其发生和进展的关键环节^[3]。非诺贝特是临床常用的调脂药,是调节代谢、炎症和氧化应激的重要转录因子,全球大型临床研究发现,非诺贝特可有效延缓糖尿病视网膜微血管病变的进展^[4],但其对视网膜神经损伤的作用不清楚。我们前期采用荟萃分析的方法确认调脂药对糖尿病视网膜病变的保护作用^[5],并通过临床研究发现口服非诺贝特可明显减轻糖尿病患者视网膜神经损伤^[6],但其潜在的作用机制仍不明确。

微小核糖核酸(microRNA, miRNA)是近年发现的重要调控因子,可通过靶向调控基因表达参与糖尿病视网膜病变的发生发展过程^[7]。我们前期通过对糖尿病视网膜病变患者外周血进行miRNAs测序,筛选并确认miR-26a-5p及其靶基因同源磷酸酶-张力蛋白(phosphatase and tensin homologue, PTEN)与糖尿病视网膜神经损伤的进展密切相关^[8],并进一步通过动物实验观察发现miR-26a-5p通过靶向抑制PTEN的表达影响糖尿病小鼠视网膜炎症反应进而减轻糖尿病视网膜神经损伤^[9],但非诺贝特是否通过调控miR-26a-5p和PTEN的表达发挥糖尿病视网膜神经保护作用并不明确。在本研究中,我们通过进一步构建糖尿病小鼠模型,研究非诺贝特对糖尿病视网膜神经损伤的保护作用是否与调控miR-26a-5p和PTEN及抑制炎症反应有关。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 本研究所用实验小鼠饲养于西安交通大学实验动物中心SPF级屏障环境中,室内温度维持在22-26℃,湿度40%-60%,饲养环境为12h光照与12h黑暗自动转换,所有小鼠可自由进食和饮水。模型动物选用6周龄雄性C57BL/6J小鼠,体质量18-22g,实验室在建立动物模型之前,小鼠适应性喂养7d。实验过程中所有小鼠的饲养及视网膜样本的取材均严格遵守西安交通大学医学实验动物中心的实验动物管理规定。

1.1.2 主要试剂 链脲佐菌素(streptozocin, STZ)购自迈新生物技术开发公司,BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)购自碧云天生物技术有限公司,SABC试剂盒购自北京索莱宝生物技术有限公司,一抗:PTEN抗体、胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)抗体、 β -actin抗体、核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)p65抗体(美国Abcam公司),白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)抗体(美国Abcam公司),FITC标记的羊抗小鼠IgG(北京中山金桥生物有限公司),RNAiso Plus总RNA提取试剂盒(日本Takara公司),PCR引物(西安博天生物科技有限

公司),miRcute plus miRNA qPCR kit(SYBR green)(北京天根生化科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 糖尿病小鼠模型构建和实验分组 雄性C57BL/6J小鼠30只,采用腹腔注射STZ构建糖尿病模型。造模方法:模型小鼠禁食12h,每天腹腔注射STZ 65 mg/kg,连续5d,72h后通过尾静脉采血测量小鼠血糖(One Touch II型血糖仪),若随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L则认为糖尿病模型构建成功^[10]。对照组小鼠15只予以腹腔注射等量0.1 mmol/L柠檬酸钠缓冲液。糖尿病模型建模成功后4wk时,存活28只糖尿病小鼠随机分为两组:非诺贝特组(14只):采用每天1次非诺贝特100 mg/kg灌胃,连续4wk;糖尿病组(14只):常规饲料喂养。对照组15只小鼠随机剔除1只,剩余14只常规饲料喂养。

1.2.2 苏木精-伊红染色观察糖尿病小鼠视网膜神经组织形态 每组随机选取小鼠3只,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉并施行安乐死,迅速摘除左眼眼球,保留至少2mm视神经残端,使用手术显微剪去除角膜和晶状体,以1mL注射器于角膜中央穿刺小口,将整个眼球浸泡于4%多聚甲醛固定液中固定48h以上,梯度脱水,二甲苯包埋,平行视神经矢状轴进行视网膜连续切片,厚度5 μ m;脱蜡,苏木素、伊红染色后脱水透明,中性树胶封片后拍照观察。将染色后H&E切片置于显微镜下观察并拍照,使用Case viewer 2.3软件打开切片,选择带有视神经的视网膜切片,200倍镜下筛选测量位点,400倍镜下距离视乳头旁200 μ m处起,选择结构清晰、细胞排列整齐的位置,使用自带工具测量神经节细胞复合体(ganglion cell complex, GCC)、内核层(inner nuclear layer, INL)及外核层(outer nuclear layer, ONL)及视网膜神经上皮层总厚度,每张切片测量6个点(视乳头两侧各3个点),每组6张切片,取平均值。视网膜神经节细胞计数方法:在光学显微镜下($\times 400$)对进行厚度测量的视网膜H&E染色的切片进行神经节细胞计数,每张切片选取6个视野(视乳头两侧各选取3个视野)进行细胞计数,视野选择要求切片组织结构整齐,每组6张切片,取平均值。

1.2.3 透射电镜观察糖尿病小鼠视网膜神经细胞超微结构

每组随机选取小鼠3只,腹腔注射戊巴比妥钠麻醉并施行安乐死,迅速摘除左眼眼球,放置于含0.1 mol/L磷酸缓冲液和4%多聚甲醛的2.5%戊二醛固定液中,4℃固定2h以上;浸洗30min后,1%四氧化锇固定液在4℃环境下固定2h,0.1 mol/L磷酸缓冲液浸洗后,1%四氧化锇4℃进行后固定2h(pH 7.3-7.4),缓冲液漂洗20min,梯度乙醇脱水(30%乙醇10min、50%乙醇10min、70%乙醇10min);印染2h;再次脱水;环氧树脂Epon 812浸透、烘干包埋,修整包埋快并制作半超薄切片(1-2 μ m),美兰染色定位,制作超薄切片50-70nm,染色后以日立H-7650透射式电子显微镜进行观察和拍照。

1.2.4 免疫荧光染色观察视网膜中GFAP的表达 石蜡切片制作方法同1.2.2,60℃烘烤,二甲苯浸泡5min $\times 2$,EDTA抗原修复液进行修复,PBS洗涤,10%山羊血清封闭,室温放置30min,4℃过夜;甩掉血清滴加GFAP一抗(1:400),4℃过夜,PBS洗涤3次 $\times 5$ min;吸出一抗,PBS洗涤3次 $\times 5$ min。分别进行免疫荧光及免疫组化染色:免疫荧光染色滴加FITC标记的山羊抗小鼠IgG二抗(1:1000),37℃孵育30min;DAPI室温孵育10min;PBS

洗涤3次×5 min;封片,DAB显色,水洗;免疫组化染色滴加山羊抗小鼠IgG二抗(1:1000),室温放置30 min后,以PBS洗涤3次×5 min,苏木素复染,水洗10 min并在荧光显微镜下观察照相。

1.2.5 Real-time PCR 检测 miR-26a-5p 和 PTEN 及炎症介质 mRNA 表达 非诺贝特给药4 wk后,取每组8只小鼠左眼眼球,在手术显微镜下去除眼前节及玻璃体,剥离视网膜并漂洗后每2个视网膜放入一个EP管中,液氮研磨,匀浆裂解,离心,去沉淀。加入三氯甲烷,混匀静置2 min,12000 g 4 °C离心15 min,吸上清液转新管,加0.5 mL异丙醇,-80 °C过夜沉淀RNA;继续离心30 min;弃上清,加入75%乙醇,震荡离心悬浮沉淀,离心、弃上清;室温干燥10 min,沉淀透明,加20 μL ddH₂O(DEPC处理)溶解RNA;定量测定RNA浓度和纯度(NanoDrop® ND-1000),RNA样品纯度A₂₆₀/A₂₈₀=1.80-2.10。实验用所有引物由西安博天生物科技有限公司,引物序列见表1,逆转录反应及Real-time PCR检测按照试剂盒提示操作。按照2^{-ΔΔCt}解析法进行计算,miRNA检测以U6作为参照基因,mRNA检测以β-actin作为参照基因。目标mRNA相对表达量除以其对应内参的表达量为实验组与对照组相比的倍数,此后进行数据统计分析。

1.2.6 Western blotting 检测 PTEN 的蛋白表达 液氮取出视网膜样品(样本留存方式见1.2.5),三组每个视网膜样品加入200 μL RIPA裂解液,静置并12000 g 4 °C离心20 min,吸上清转至新管,为视网膜总蛋白。根据BCA蛋白定量试剂盒操作说明对视网膜样本进行蛋白定量,并采用聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)法进行目的蛋白的分离,5%的脱脂牛奶封闭2 h;PTEN(1:1000)、β-actin(1:2000)一抗4 °C冰箱孵育过夜。滴加二抗稀释液,室温孵育2 h;弃二抗,TBST液洗膜5次×5 min;PVDF膜滴加混好的ECL试剂500 μL,在化学发光成像系统中进行成像显影并拍照。采用凝胶成像系统软件Line 1进行条带灰度值的分析,以目的条带的灰度值除以对应内参的灰度值为基本方法计算灰度值。

统计学分析:采用GraphPad Prism 8进行分析,计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD-*t*检验。以*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 非诺贝特对糖尿病小鼠视网膜组织结构的影响

H&E染色结果显示,对照组小鼠视网膜神经上皮各层细胞

排列整齐有序,结构清晰,神经节细胞呈单层排列,而糖尿病组小鼠视网膜神经节细胞层、内核层和外核层细胞排列紊乱、疏松。与糖尿病组相比,非诺贝特治疗组小鼠视网膜组织结构紊乱明显减轻(图1)。进一步定量测量视网膜神经上皮各层厚度,结果显示三组间小鼠视网膜神经组织厚度及节细胞数量差异均有统计学意义(*P*<0.05),与对照组相比,糖尿病小鼠视网膜神经节细胞复合体(GCC)及视网膜神经上皮全层厚度明显变薄,差异均有统计学意义(*P*<0.05),视网膜神经节细胞数量显著减少,差异均有统计学意义(*P*<0.05),而非诺贝特组小鼠视网膜神经组织萎缩较糖尿病组明显减轻,视网膜神经节细胞丢失减少,差异均有统计学意义(*P*<0.05),见图2。

2.2 非诺贝特对糖尿病小鼠视网膜神经细胞超微结构的影响 透射电镜观察显示,与对照组相比,糖尿病组小鼠视网膜神经元(神经节细胞和双极细胞)及胶质细胞(Müller细胞)超微结构破坏,细胞质内可见肿胀的线粒体,线粒体体积增大,电子密度降低,细胞结构空旷,空泡化,而非诺贝特组小鼠视网膜神经细胞线粒体肿胀及空泡化明显减轻(图3)。

2.3 非诺贝特对糖尿病小鼠视网膜中 GFAP 表达的影响

免疫荧光染色显示:对照组小鼠视网膜全层可见微弱GFAP免疫荧光分布,糖尿病组小鼠视网膜各层GFAP荧光强度较对照组明显增强,而非诺贝特组小鼠视网膜中GFAP的荧光强度较糖尿病组明显减轻,差异均有统计学意义(*P*<0.05,图4)。

表1 Real-time PCR 引物序列

基因	引物	序列(5'-3')
hsa-miR-26a-5p	F	ACACTCCAGCTGGGTTCAAGTAA TCCAGGA
	R	TGGTGTCTGGAGTCC
mice PTEN	F	AGACCATAACCCACCACAGC
	R	TGACAGGCACAACGACAACA
mice IL-1β	F	ATGATGGCTTATTA CAGTGGCAA
	R	GTCGGAGATTCGTAGCTGGA
mice NF-κB	F	ATGTGGAGATCATTGAGCAGC
	R	CCTGGTCTGTGTAGCCATT
mice β-actin	F	CCTGGCACCAGCACAAAT
	R	GCTGATCCACATCTGCTGGAA
U6	F	CTCGCTTCGGCAGCACAA
	R	AACGCTTCACGAATTTCCGT

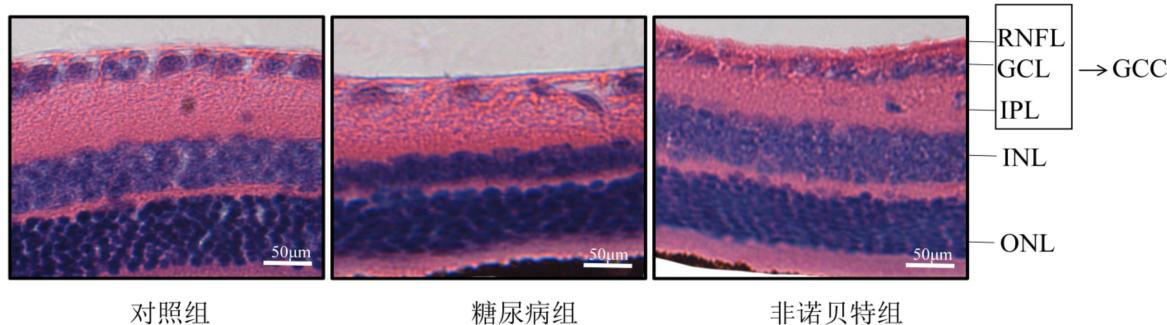


图1 各组小鼠视网膜神经组织HE染色图 GCC:视网膜神经节细胞复合体;RNFL:视网膜神经纤维层;GCL:神经节细胞层;INL:内核层;IPL:内丛状层;ONL:外核层。

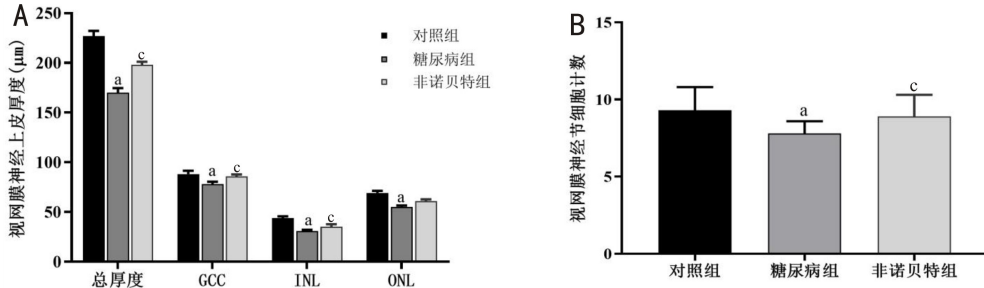


图2 三组小鼠视网膜神经组织厚度图 A:视网膜神经上皮各层厚度;B:视网膜神经节细胞计数;^a $P<0.05$ vs 对照组,^c $P<0.05$ vs 糖尿病组。

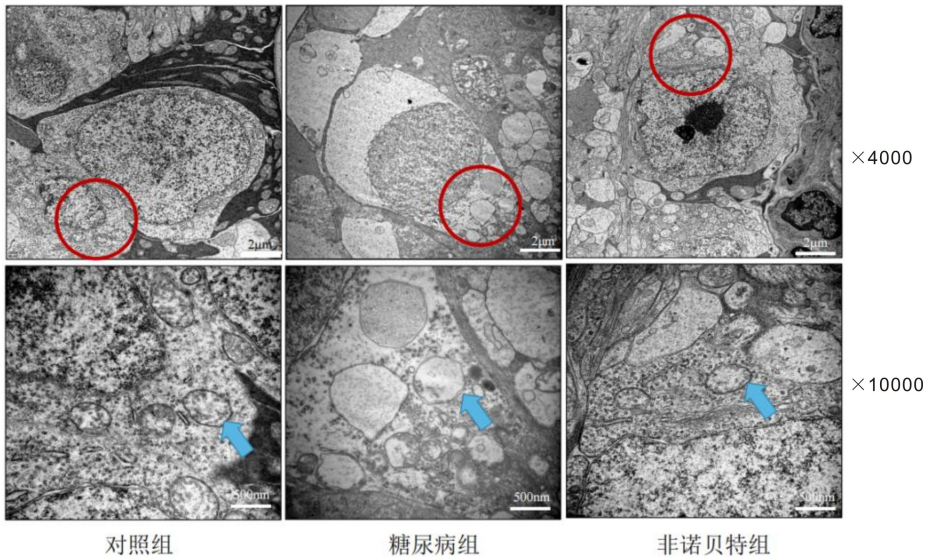


图3 各组小鼠视网膜神经细胞超微结构图 红色圆圈表示线粒体观察视野,蓝色箭头表示线粒体形态。

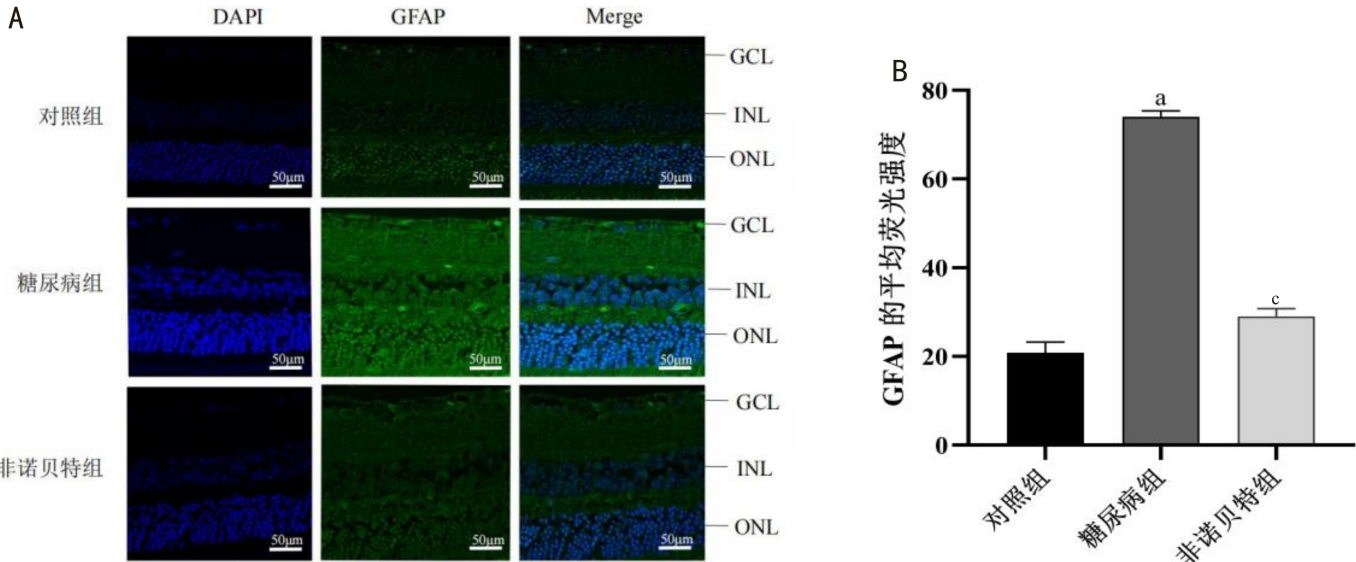


图4 各组小鼠视网膜中GFAP的免疫荧光染色 A:免疫荧光染色法检测视网膜中GFAP的表达情况,GFAP呈绿色,DAPI蓝色显示细胞核,蓝色和绿色重合,提示GFAP在视网膜神经组织中有表达;B:视网膜组织中GFAP的平均荧光强度;^a $P<0.05$ vs 对照组,^c $P<0.05$ vs 糖尿病组。

2.4 非诺贝特对糖尿病小鼠视网膜 miR-26a-5p/PTEN 表达的影响 与对照组相比,糖尿病组小鼠视网膜组织中 miR-26a-5p 表达明显降低,PTEN mRNA 和蛋白表达升高;而非诺贝特组小鼠视网膜组织中 miR-26a-5p 表达水平升高,PTEN mRNA 和蛋白表达显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$,图5,表2)。

2.5 非诺贝特对糖尿病小鼠视网膜炎性介质水平的影响

与对照组相比,糖尿病小鼠视网膜组织中 NF- κ B 及 IL-1 β mRNA 表达水平显著升高,而非诺贝特组小鼠 NF- κ B 及 IL-1 β mRNA 的表达量较糖尿病组明显下降,差异均有统计学意义($P<0.05$)(图6,表3)。

3 讨论

糖尿病视网膜微血管病变是糖尿病患者致盲的主要原因,其进展缓慢,发生机制复杂,早期缺乏有效的控制方

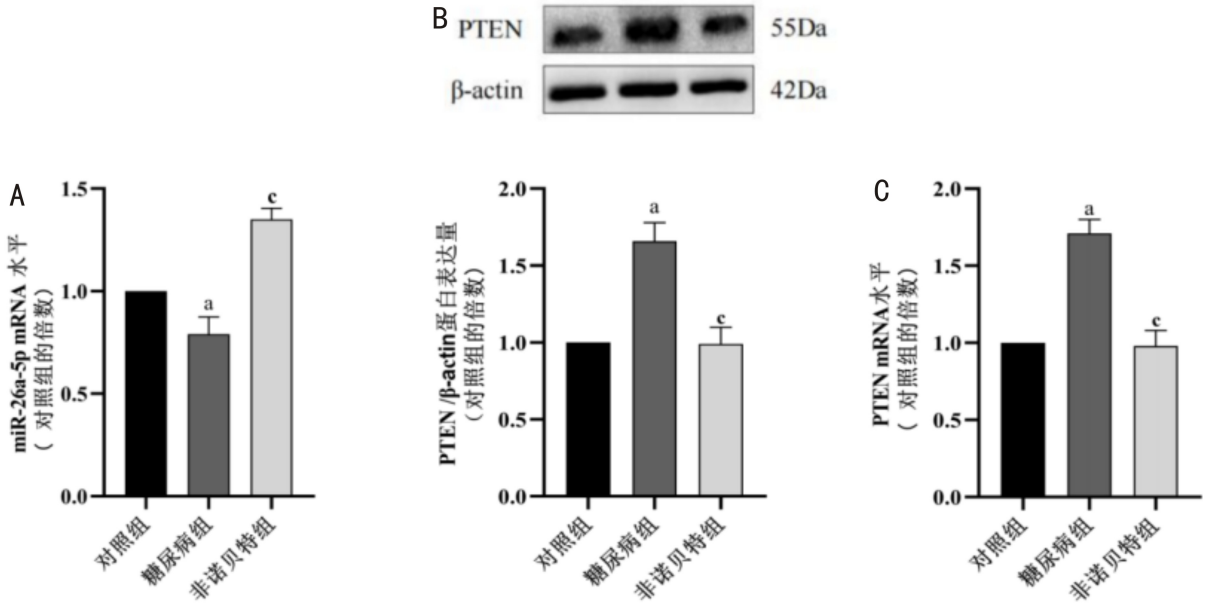


图5 非诺贝特对糖尿病小鼠视网膜组织中PTEN表达的影响 A:Real-time PCR检测miR-26a-5p表达水平;B:Western blotting检测PTEN的蛋白表达;C:Real-time PCR检测PTEN mRNA表达水平;^a*P*<0.05 vs 对照组,^c*P*<0.05 vs 糖尿病组。

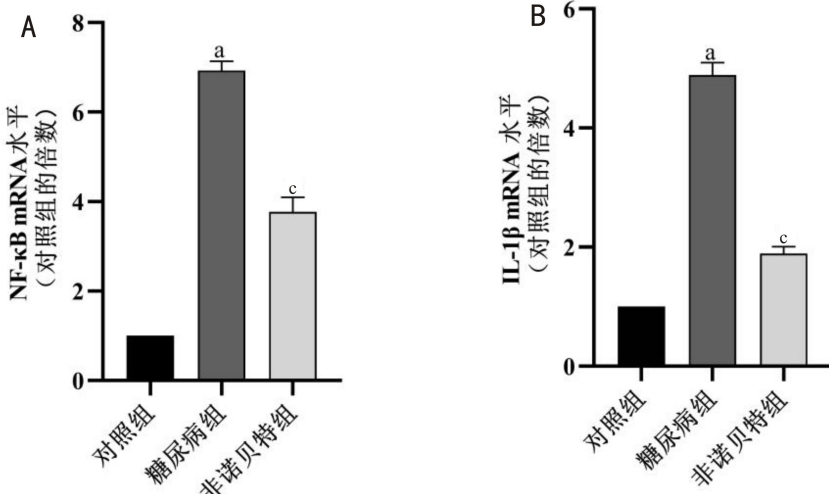


图6 各组小鼠视网膜组织中NF-κB及IL-1β mRNA表达水平 A:NF-κB;B:IL-1β;^a*P*<0.05 vs 对照组,^c*P*<0.05 vs 糖尿病组。

表2 各组小鼠视网膜中miR-26a-5p和PTEN mRNA及PTEN蛋白的表达量比较 $\bar{x} \pm s$

组别	miR-26a-5p mRNA	PTEN 蛋白	PTEN mRNA
对照组	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
糖尿病组	0.79±0.08 ^a	1.66±0.12 ^a	1.71±0.09 ^a
非诺贝特组	1.35±0.05 ^c	0.99±0.11 ^c	0.98±0.10 ^c
<i>F</i>	364.7	50.69	86.62
<i>P</i>	<0.05	<0.05	<0.05

注:对照组;予以腹腔注射等量0.1 mmol/L柠檬酸钠缓冲液;
^a*P*<0.05 vs 对照组,^c*P*<0.05 vs 糖尿病组。

表3 各组小鼠视网膜组织中NF-κB及IL-1β mRNA表达水平比较 $\bar{x} \pm s$

组别	NF-κB	IL-1β
对照组	1.00±0.00	1.00±0.00
糖尿病组	6.93±0.21 ^a	4.69±0.19 ^a
非诺贝特组	3.77±0.18 ^c	1.74±0.17 ^c
<i>F</i>	517.9	527.7
<i>P</i>	<0.05	<0.05

注:对照组;予以腹腔注射等量0.1 mmol/L柠檬酸钠缓冲液;
^a*P*<0.05 vs 对照组,^c*P*<0.05 vs 糖尿病组。

法,晚期临床治疗棘手。最新研究发现,糖尿病视网膜神经损伤是DR最早期的病理表现,长期慢性高血糖导致视网膜微环境改变,视网膜神经胶质细胞活化并释放炎症介质破坏视网膜神经血管单位,可促进微血管病变的进展。因此,探索针对糖尿病视网膜神经损伤的保护性治疗已成为早期控制DR进展的新方向。非诺贝特是过氧化物酶体增生生物激活受体α的激动剂,也是临床经典调脂药,可

通过发挥抗炎作用显著延缓DR的进展^[11],但其对视网膜神经损伤的影响并不清楚。

神经视网膜由三级神经元(光感受器细胞、双极细胞和神经节细胞)及胶质细胞组成,神经元之间通过突触相互连接,高血糖诱导视网膜微环境改变,氧的供给和需求失衡,从而提高视网膜缺血性损伤的发生风险。内层视网膜对组织缺氧刺激的敏感性最高,胶质细胞活化(GFAP

表达升高)、神经节细胞丢失及内层视网膜萎缩是视网膜神经组织损伤的基础和主要特征。本研究构建糖尿病小鼠模型,并通过非诺贝特灌胃观察其对视网膜神经组织结构的影响。结果显示,非诺贝特可显著抑制糖尿病小鼠视网膜神经胶质细胞活化(GFAP表达降低),减轻神经节细胞线粒体损伤^[12],减少神经节细胞丢失,并抑制内层视网膜萎缩,改善糖尿病视网膜神经损伤。

miR-26a-5p 是重要的转录调控因子,可通过调控其靶基因的表达参与多种糖尿病并发症的发生^[13]。前期研究发现,miR-26a-5p 可通过靶向抑制 PTEN 的表达减轻糖尿病视网膜神经损伤,为进一步明确非诺贝特的视网膜神经保护作用是否与调控 miR-26a-5p/PTEN 的表达有关,本研究观察了各组小鼠视网膜中 miR-26a-5p 及 PTEN 的表达情况。结果显示,与糖尿病小鼠相比,非诺贝特治疗组小鼠视网膜中 miR-26a-5p mRNA 水平升高,而 PTEN 蛋白及 PTEN mRNA 的表达显著下降,由此推测,非诺贝特可通过上调视网膜中 miR-26a-5p 的水平,影响 PTEN 蛋白及 PTEN mRNA 的表达,进而抑制视网膜神经组织的萎缩,发挥糖尿病视网膜神经损伤的保护作用。

糖尿病视网膜病变是视网膜的血管病变及神经损伤共同作用的结果,其中炎症反应是发病的关键环节。研究发现,非诺贝特具有显著的抗炎作用,且可能通过调控 miR-21 等小编码 RNA 的水平,参与机体的代谢过程^[14],为进一步确认非诺贝特上调 miR-26a-5p mRNA 的表达与其抗炎作用的关系,本研究通过检测视网膜组织中 NF- κ B 及 IL-1 β mRNA 表达水平评估视网膜炎症反应的状态。结果显示,与糖尿病组相比,非诺贝特治疗组小鼠视网膜中 NF- κ B 及 IL-1 β mRNA 的水平显著下降,这与 Chen 等^[15] 研究结果一致,其发现非诺贝特可通过影响 NF- κ B 的转录影响糖尿病视网膜病变的过程。由此认为,非诺贝特可上调糖尿病小鼠视网膜组织中 miR-26a-5p mRNA 并抑制 PTEN 蛋白及 mRNA 的表达,同时减低视网膜组织中炎性介质的释放,从而发挥糖尿病视网膜神经保护作用,但 miR-26a-5p、PTEN 蛋白及 mRNA 与下游炎症因子的调控机制还需后续进一步研究探索。

综上,非诺贝特可通过上调视网膜组织中 miR-26a-5p 的水平,抑制 PTEN 蛋白及 mRNA 的表达和减轻视网膜炎症反应,有效减少神经节细胞的丢失,改善糖尿病诱发的视网膜神经上皮层萎缩,进而延缓糖尿病小鼠糖尿病视网膜神经损伤的进展。

参考文献

- [1] 解颖,李洋,董志军. 糖尿病视网膜病变神经损伤的研究进展. 国际眼科杂志, 2023,23(8):1323-1327.
- [2] Miller WP, Toro AL, Sunilkumar S, et al. Müller glial expression of REDD1 is required for retinal neurodegeneration and visual dysfunction in diabetic mice. *Diabetes*, 2022,71(5):1051-1062.
- [3] Antonetti DA, Silva PS, Stitt AW. Current understanding of the molecular and cellular pathology of diabetic retinopathy. *Nat Rev Endocrinol*, 2021,17(4):195-206.
- [4] Bonora BM, Albiero M, Morieri ML, et al. Fenofibrate increases circulating haematopoietic stem cells in people with diabetic retinopathy: a randomised, placebo-controlled trial. *Diabetologia*, 2021,64(10):2334-2344.
- [5] Shi R, Zhao L, Wang F, et al. Effects of lipid-lowering agents on diabetic retinopathy: a Meta-analysis and systematic review. *Int J Ophthalmol*, 2018,11(2):287-295.
- [6] Shi R, Zhao L, Qi Y. The effect of fenofibrate on early retinal nerve fiber layer loss in type 2 diabetic patients: a case-control study. *BMC Ophthalmol*, 2018,18(1):1-7.
- [7] 田涛,刘茹,彭婧利,等. 糖尿病视网膜病变患者血清 circFTO 和 miR-141-3p 表达情况及其与病变分期的关系. 国际眼科杂志, 2023,23(7):1163-1167.
- [8] Shi R, Chen L, Wang WR, et al. Plasma miR-26a-5p is a biomarker for retinal neurodegeneration of early diabetic retinopathy. *Eye (Lond)*, 2021,35(6):1587-1599.
- [9] Shi R, Liu DD, Cao Y, et al. MicroRNA-26a-5p prevents retinal neuronal cell death in diabetic mice by targeting PTEN. *Curr Eye Res*, 2022,47(3):409-417.
- [10] Luo YM, Lu ZY, Waaga-Gasser AM, et al. Modulation of calcium homeostasis may be associated with susceptibility to renal cell carcinoma in diabetic nephropathy rats. *Cancer Manag Res*, 2020,12:9679-9689.
- [11] Liu QP, Zhang FJ, Zhang X, et al. Fenofibrate ameliorates diabetic retinopathy by modulating Nrf2 signaling and NLRP3 inflammasome activation. *Mol Cell Biochem*, 2018,445(1-2):105-115.
- [12] Bogdanov P, Hernández C, Corraliza L, et al. Effect of fenofibrate on retinal neurodegeneration in an experimental model of type 2 diabetes. *Acta Diabetol*, 2015,52(1):113-122.
- [13] Ss C, Xw T, Long Y, et al. Effect of miR-26a on diabetic rats with myocardial injury by targeting PTEN. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020,24(20):10307.
- [14] McClelland AD, Herman-Edelstein M, Komers R, et al. MiR-21 promotes renal fibrosis in diabetic nephropathy by targeting PTEN and SMAD7. *Clin Sci (Lond)*, 2015,129(12):1237-1249.
- [15] Chen N, Jiang K, Yan G. Effect of fenofibrate on diabetic retinopathy in rats via SIRT1/NF- κ B signaling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019,23(19):8630-8636.