

胃饥饿素对高糖下人视网膜血管内皮细胞的保护作用及机制

李建波¹, 罗永锋²

引用: 李建波, 罗永锋. 胃饥饿素对高糖下人视网膜血管内皮细胞的保护作用及机制. 国际眼科杂志 2022;22(6):911-915

作者单位:¹(467100) 中国河南省郑县光明眼科医院;²(230001) 中国安徽省合肥市慧视眼科医院

作者简介: 李建波, 男, 毕业于延安大学, 学士, 主治医师, 研究方向: 视网膜疾病、眼表疾病、近视防控。

通讯作者: 罗永锋, 男, 毕业于哈尔滨医科大学, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 白内障、青光眼、视网膜疾病. luoyongfeng0228@163.com

收稿日期: 2021-11-05 修回日期: 2022-05-10

摘要

目的: 探讨胃饥饿素 (ghrelin) 对高糖下的人视网膜血管内皮细胞的保护作用及机制。

方法: 以人视网膜血管内皮细胞为研究对象, 建立高糖损伤模型。胃饥饿素处理细胞后, 采用 CCK-8 试剂盒检测不同浓度胃饥饿素对高糖下细胞增殖的影响, 以筛选最佳浓度。将细胞分为正常对照组 (NC)、胃饥饿素组 (ghrelin)、高糖组 (HG) 和胃饥饿素 + 高糖组 (ghrelin + HG)。采用 CCK-8 试剂盒检测细胞增殖, Annexin-APC/7-AAD 试剂盒检测细胞凋亡, 蛋白质印迹法检测细胞 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 及 IL-18 的表达。

结果: 与 NC 组 (100.00% \pm 0.00%) 相比, HG 组细胞增殖率 (69.87% \pm 0.68%, $P < 0.05$) 明显下降。与 HG 组相比, ghrelin+HG 组细胞增殖率 (92.31% \pm 3.62%, $P < 0.05$) 明显升高。与 NC 组 (4.94% \pm 0.15%) 相比, HG 组细胞凋亡率 (28.33% \pm 1.37%, $P < 0.05$) 明显升高。与 HG 组相比, ghrelin+HG 组细胞凋亡率 (14.24% \pm 0.32%, $P < 0.05$) 明显降低。与 NC 组相比, HG 组细胞表达 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 及 IL-18 蛋白均明显升高 (均 $P < 0.05$)。与 HG 组相比, ghrelin+HG 组细胞表达 NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 及 IL-18 蛋白均明显下降 (均 $P < 0.05$)。

结论: 胃饥饿素能对高糖损伤的视网膜血管内皮细胞起到保护作用, 可能是通过抑制 NLRP3 炎症小体信号通路发挥其功能。

关键词: 胃饥饿素; 视网膜血管内皮细胞; 高糖; NLRP3 炎症小体

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2022.6.05

Protective effects and mechanism of ghrelin on human retinal vascular endothelial cells under high glucose

Jian-Bo Li¹, Yong-Feng Luo²

¹Guang Ming Eye Hospital, Jia County 467100, Henan Province,

China; ²HuiShi Eye Hospital, Hefei 230001, Anhui Province, China

Correspondence to: Yong-Feng Luo. HuiShi Eye Hospital, Hefei 230001, Anhui Province, China. luoyongfeng0228@163.com

Received: 2021-11-05 Accepted: 2022-05-10

Abstract

• **AIM:** To investigate the protective effect and mechanism of ghrelin on human retinal vascular endothelial cells under high glucose.

• **METHODS:** A hyperglycemic injury model as a research object was established on human retinal vascular endothelial cells. CCK-8 kit was used to detect the effects of ghrelin with different concentrations on cell proliferation under high glucose, so as to screen the optimal concentration of ghrelin. The cells were then divided into normal control group (NC), ghrelin group (ghrelin), high glucose group (HG) and ghrelin + high glucose group (ghrelin + HG). Cell proliferation was detected by CCK-8 kit, apoptosis was detected by Annexin-APC/7-AAD kit, and the expressions of NLRP3, Caspase-1, IL-1 β and IL-18 proteins were detected by western blotting.

• **RESULTS:** Compared with NC group (100.00% \pm 0.00%), the cell proliferation rate of HG group (69.87% \pm 0.68%, $P < 0.05$) was significantly decreased. Compared with HG group, the cell proliferation rate of ghrelin + HG group was significantly increased (92.31% \pm 3.62%, $P < 0.05$). Compared with NC group (4.94% \pm 0.15%), the cellular apoptosis rate of HG group (28.33% \pm 1.37%, $P < 0.05$) was significantly increased. Compared with HG group, the cellular apoptosis rate of ghrelin + HG group (14.24% \pm 0.32%, $P < 0.05$) was significantly decreased. Compared with NC group, the expressions of NLRP3, Caspase-1, IL-1 β and IL-18 proteins were all significantly increased (all $P < 0.05$). Compared with HG group, the expressions of NLRP3, Caspase-1, IL-1 β and IL-18 proteins in ghrelin + HG group were all significantly decreased (all $P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** Ghrelin can protect retinal vascular endothelial cells damaged by high glucose, it may function by inhibiting NLRP3 inflammasome signaling pathway.

• **KEYWORDS:** ghrelin; retina vascular endothelial cell; high glucose; NLRP3 inflammasome

Citation: Li JB, Luo YF. Protective effects and mechanism of ghrelin on human retinal vascular endothelial cells under high glucose. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2022;22(6):911-915

0 引言

糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病严重的微血管并发症,是世界范围内工龄成人视力丧失的主要原因^[1]。高血糖等因素引起视网膜微血管内皮细胞功能障碍,从而导致晚期视网膜新生血管形成,继发性视网膜脱离和玻璃体积血,最终导致患者视力下降^[2]。越来越多的证据认为,DR是炎症、氧化应激等多因素参与的复杂疾病,病理机制有待逐步阐明^[3]。目前,激光光凝、抗新生血管药物和玻璃体切除术是DR治疗的主要手段,但存在损害健康视网膜组织的风险,且这些治疗策略的疗效仍不充分^[4]。因此,探索DR的病理机制和新的治疗策略成为近年来眼科领域的研究热点^[5]。胃饥饿素(ghrelin)是一种在体内广泛分布的脑肠肽激素,通过与生长激素分泌素受体(GHSR)结合,发挥一系列生物学效应,主要调节与能量稳态相关的生理过程,如食欲、胰岛素信号、葡萄糖代谢和肥胖^[6]。研究发现,胃饥饿素及其受体也在眼组织中表达,在实验性青光眼和视网膜新生血管疾病中显示出治疗潜力^[7-8]。血浆胃饥饿素水平的改变是糖尿病及其并发症的潜在危险因素,据此推测靶向胃饥饿素可能是一种新的糖尿病治疗策略^[9]。然而,关于胃饥饿素在DR中的作用鲜有报道。虽然高血糖导致视网膜组织损伤的确切机制尚不清楚,但有证据表明,糖尿病眼的慢性低度炎症在一定程度上驱动一系列DR症状的出现^[10]。作为眼内的先天免疫系统,已证实视网膜细胞中的核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3(NLRP3)炎症小体参与了DR的发病机制。糖尿病患者的眼内有多种途径可以激活NLRP3炎症小体信号,随后通过上调白细胞介素(IL)-1 β 和IL-18的释放而发挥有害作用^[11]。在本研究中,我们在体外观察胃饥饿素对高浓度葡萄糖条件下视网膜血管内皮细胞增殖、凋亡及NLRP3炎症小体的影响,以期为进一步研究胃饥饿素对DR的治疗作用奠定实验基础。

1 材料和方法

1.1 材料

人视网膜血管内皮细胞购自上海中乔新舟生物科技有限公司;M199培养基购自武汉普诺赛生命科技有限公司;胎牛血清及胰蛋白酶购自美国Gibco公司;胃饥饿素购自美国Sigma公司;CCK-8试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技有限公司;Annexin-APC/7-AAD细胞凋亡试剂盒购自天津三箭生物技术股份有限公司;兔多抗NLRP3抗体购自美国Abcam公司;兔多抗Caspase-1抗体及IL-18抗体均购自美国Affinity公司;兔多抗IL-1 β 购自武汉三鹰生物技术股份有限公司;小鼠单抗 β -actin及辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗均购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及分组

将人视网膜血管内皮细胞置于含10%胎牛血清的M199培养基中,在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂及饱和湿度条件下培养。将生长状态良好的细胞用高糖和不同浓度的胃饥饿素(0、5、10、20、40nmol/L)分别处理48h。根据CCK-8检测结果,选择胃饥饿素的最佳浓度进行后续实验。然后将细胞随机分为四组:正常对照组(NC, M199培养基中培养),胃饥饿素组(M199培养基中加入10nmol/L ghrelin),高糖组(HG, M199培养基中加入30mmol/L葡萄糖)及ghrelin+HG组(M199培养基中加入10nmol/L ghrelin和30mmol/L葡萄糖),四组细胞均处理48h。

1.2.2 细胞增殖

根据说明书使用CCK-8试剂盒检测人视网膜血管内皮细胞增殖。将细胞接种于96孔板中,每孔的密度为 5×10^3 cell/mL。不同组细胞处理48h后,每孔加10 μ L CCK-8试剂。37 $^{\circ}$ C孵育4h后,在450nm的酶标仪上测定每孔的吸光度值(A)。计算细胞增殖率(%)为 $(A_{\text{实验组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。A_{实验组}为处理后细胞的吸光度值, A_{空白组}为无细胞培养基的吸光度值, A_{对照组}为未处理细胞的吸光度值。

1.2.3 细胞凋亡

采用Annexin-APC/7-AAD凋亡检测试剂盒检测细胞凋亡情况。将状态良好的细胞接种于6孔板中,每孔 5×10^5 个,37 $^{\circ}$ C孵育48h。消化后收集细胞,1500r/min离心5min。然后用500 μ L结合缓冲液重悬细胞,加入5 μ L Annexin-APC和5 μ L 7-AAD染色。避光室温孵育15min,1h内流式细胞仪上机检测。

1.2.4 Western blotting 检测细胞NLRP3和Caspase-1及IL-1 β 与IL-18的表达

用RIPA裂解液提取细胞总蛋白,BCA法测定蛋白浓度后,用SDS-PAGE凝胶分离40 μ g样品,转移到PVDF膜上。含5%脱脂奶粉的TBST封闭膜,加入稀释的一抗NLRP3(1:1000)、Caspase-1(1:5000)、IL-1 β (1:500)、IL-18(1:500)和 β -actin(1:1000),在4 $^{\circ}$ C孵育过夜。然后,用辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG抗体(1:50000)在室温下孵育2h。ECL显色曝光条带,采用Bandscan 5.0软件进行量化。

统计学分析:采用SPSS19.0软件进行分析,数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间的比较采用独立样本t检验,多个组间差异的比较采用单因素方差分析,若存在组间差异,进一步采用LSD-t检验进行各组差异的两两比较。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 胃饥饿素对高糖下人视网膜血管内皮细胞增殖的影响

首先设置了不同浓度的ghrelin组,以筛选高糖环境下胃饥饿素对人视网膜血管内皮细胞的保护作用浓度。CCK-8检查结果显示,与NC组相比,HG组细胞增殖率明显降低了近1/2,给予不同浓度胃饥饿素联合高糖处理,细胞增殖均有一定程度的升高。胃饥饿素浓度在10nmol/L时细胞增殖最强,而20、40nmol/L的胃饥饿素处理,使高糖下的细胞增殖率又逐渐降低(图1)。以上结果提示,浓度10nmol/L是胃饥饿素发挥保护作用的最佳浓度,因此后续研究中采用此浓度作为ghrelin组。NC组、ghrelin组、HG组及ghrelin+HG组的细胞增殖率分别为 $100.00\% \pm 0.00\%$ 、 $104.09\% \pm 0.61\%$ 、 $69.87\% \pm 0.68\%$ 、 $92.31\% \pm 3.62\%$,差异有统计学意义($F = 200.83, P < 0.001$)。进一步组间两两比较显示,ghrelin组细胞增殖率高于NC组($t = 11.70, P < 0.001$)。HG和ghrelin+HG组细胞增殖率均低于NC组($t = -76.26, P < 0.001; t = -3.68, P < 0.05$)和ghrelin组($t = -64.88, P < 0.001; t = -5.56, P < 0.01$)。与HG组相比,ghrelin+HG组细胞增殖率明显升高($t = 10.56, P < 0.001$),见图2。

2.2 胃饥饿素对高糖下人视网膜血管内皮细胞凋亡的影响

流式检测结果显示,NC组、ghrelin组、HG组、ghrelin+HG组的细胞凋亡率分别为 $4.94\% \pm 0.15\%$ 、 $3.58\% \pm 0.17\%$ 、 $28.33\% \pm 1.37\%$ 、 $14.24\% \pm 0.32\%$,差异有统计学意义($F = 763.57, P < 0.001$)。进一步组间两两比较结果显示,ghrelin组细胞凋亡率低于对照组($t = -10.23, P < 0.01$)。

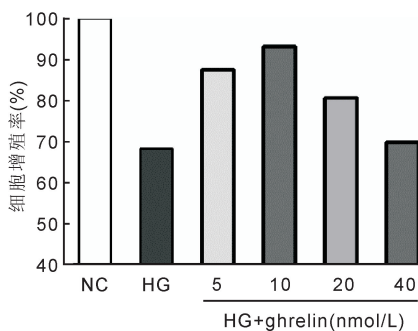


图1 CCK-8法筛选 ghrelin 作用浓度。

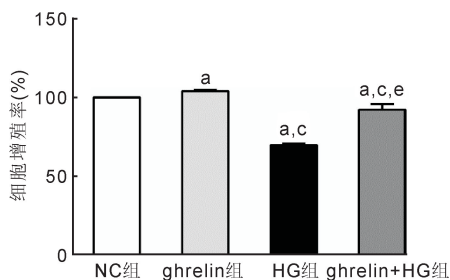


图2 CCK-8法检测各组人视网膜血管内皮细胞增殖情况与NC组相比,ghrelin组细胞增殖增强,HG组和ghrelin+HG组细胞增殖减弱;与ghrelin组相比,HG组和ghrelin+HG组细胞增殖减弱;与HG组相比,ghrelin+HG组细胞增殖增强。^a $P < 0.05$ vs NC组;^c $P < 0.05$ vs ghrelin组;^e $P < 0.05$ vs HG组。

HG和ghrelin+HG组细胞凋亡率均高于NC组($t = 29.30$ 、 45.51 ,均 $P < 0.001$)和ghrelin组($t = 30.95$, $P < 0.001$; $t = 51.00$, $P < 0.01$)。与HG组相比,ghrelin+HG组细胞凋亡率明显降低($t = -17.30$, $P < 0.001$),见图3。

2.3 胃饥饿素对高糖下人视网膜血管内皮细胞 NLRP3 炎症小体蛋白表达的影响 Western blotting 结果显示,NC组、ghrelin组、HG组、ghrelin+HG组的NLRP3炎症小体相关蛋白相对表达量分别为:NLRP3(0.53 ± 0.02 、 0.31 ± 0.00 、 1.08 ± 0.03 、 0.75 ± 0.03);Caspase-1(0.22 ± 0.03 、 0.12 ± 0.01 、 0.60 ± 0.07 、 0.34 ± 0.05)。各组间差异均有统计学意义(NLRP3: $F = 495.92$, $P < 0.001$;Caspase-1: $F = 64.52$, $P < 0.001$)。进一步组间两两比较结果显示,ghrelin组细胞这两种蛋白的表达均低于NC组(NLRP3: $t = -16.58$, $P < 0.001$;Caspase-1: $t = -5.65$, $P < 0.01$)。HG和ghrelin+HG组NLRP3的蛋白表达均高于NC组($t = 23.42$, $P < 0.001$; $t = 10.21$, $P < 0.01$)和ghrelin组($t = 38.92$, $P < 0.001$; $t = 24.84$, $P < 0.01$)。HG和ghrelin+HG组Caspase-1的蛋白表达均高于NC组($t = 9.12$, $P < 0.01$; $t = 3.41$, $P < 0.05$)和ghrelin组($t = 12.29$, $P < 0.001$; $t = 7.07$, $P < 0.01$)。与HG组相比,ghrelin+HG组两种蛋白的相对表达明显降低(NLRP3: $t = -12.42$, $P < 0.001$;Caspase-1: $t = -5.48$, $P < 0.01$),见图4。

2.4 胃饥饿素对高糖下人视网膜血管内皮细胞 IL-1 β 及 IL-18 蛋白表达的影响 Western blotting 结果显示,NC组、ghrelin组、HG组、ghrelin+HG组炎症蛋白的相对表达量分别为:IL-1 β (0.34 ± 0.06 、 0.20 ± 0.04 、 0.76 ± 0.06 、 0.46 ± 0.07);IL-18(0.39 ± 0.03 、 0.18 ± 0.01 、 0.79 ± 0.07 、 0.55 ± 0.04)。各组间差异均有统计学意义(IL-1 β : $F = 47.44$, $P < 0.001$;IL-18: $F = 114.57$, $P < 0.001$)。进一步组

间两两比较结果显示,ghrelin组细胞这两种蛋白的表达均低于NC组(IL-1 β : $t = -3.40$, $P < 0.05$;IL-18: $t = -12.33$, $P < 0.01$)。HG和ghrelin+HG组IL-1 β 的蛋白表达均高于NC组(HG: $t = 8.58$, $P < 0.01$;ghrelin+HG: $t = 2.27$, $P < 0.05$)和ghrelin组(HG: $t = 12.94$, $P < 0.001$;ghrelin+HG: $t = 5.35$, $P < 0.01$)。HG和ghrelin+HG组IL-18的蛋白表达均高于对照组(HG: $t = 9.33$, $P < 0.01$;ghrelin+HG: $t = 6.19$, $P < 0.01$)和ghrelin组(HG: $t = 14.99$, $P < 0.001$;ghrelin+HG: $t = 16.60$, $P < 0.01$)。与HG组相比,ghrelin+HG组两种蛋白的相对表达明显降低(IL-1 β : $t = -5.33$, $P < 0.01$;IL-18: $t = -5.31$, $P < 0.01$),见图5。

3 讨论

胃饥饿素是Kojima等^[12]在1999年发现的一种大脑肽,由28个氨基酸残基组成,相对分子质量为3314kDa。胃饥饿素广泛分布于人体细胞和组织,通过与其受体GHSR结合,可促进生长激素分泌,参与能量代谢,改善胃肠功能,保护心血管系统^[13]。GHSR广泛分布于人的中枢神经系统和周围组织^[14],在人眼睫状体色素上皮、视网膜色素上皮和虹膜中均有表达^[15]。以往对胃饥饿素作用的研究主要集中在GH的分泌和调节生长与能量的平衡,近年来发现胃饥饿素可能具有更广泛的生物学效应,在许多眼病中的作用已引起关注。例如,胃饥饿素可减少大鼠慢性高血压模型的神经节细胞凋亡^[16],而青光眼患者血清和房水中的胃饥饿素水平显著降低^[17]。对于视网膜血管性疾病,胃饥饿素在早产儿视网膜病变动物模型的两个阶段都发挥有益的作用^[18]。针对糖尿病血管并发症的研究发现,糖尿病肾病患者血浆胃饥饿素水平明显低于无糖尿病并发症的患者,提示胃饥饿素在动脉粥样硬化、微血管疾病等糖尿病性内皮细胞功能障碍中发挥保护作用^[18]。另有研究证明在糖尿病患者中内源性胃饥饿素表达下调,而外源性胃饥饿素可增强糖尿病患者下肢动脉灌注,表明胃饥饿素可能是一种潜在的外周动脉疾病的新疗法^[19]。然而,胃饥饿素是否在DR这一微血管并发症中也同样发挥有益作用还有待研究。

为了初步探究胃饥饿素对DR的保护作用,本研究在体外观察了胃饥饿素对高糖条件下人视网膜血管内皮细胞增殖及凋亡的影响。我们观察了不同浓度胃饥饿素对高糖下细胞增殖率的影响,并选择了最佳的作用浓度10nmol/L用于后续研究。与正常对照组相比,高糖组的细胞增殖率明显降低,细胞凋亡率明显升高,这一结果与文献报道一致^[20],提示高糖环境对视网膜血管内皮细胞可造成显著损伤。联合外源性胃饥饿素处理的细胞增殖率明显高于高糖组,细胞凋亡率明显低于高糖组,表明胃饥饿素对高糖损伤的人视网膜血管内皮细胞具有明显的保护作用。针对其他血管内皮细胞的一系列研究表明,胃饥饿素可刺激真皮微血管内皮细胞、心脏微血管内皮细胞和人脐静脉内皮细胞的增殖,当抑制GHSR时,细胞增殖能力明显减弱^[21-24]。然而也有研究发现,胃饥饿素在体外和体内均能抑制人脐静脉内皮细胞的增殖和大鼠脑微血管内皮细胞的增殖^[25-26]。以上实验结果的差异可能与不同细胞所处的病理生理环境不同有关,因此,胃饥饿素对血管内皮细胞的作用有待进一步研究。

炎症小体是2002年由Tschopp研究小组首次提出的

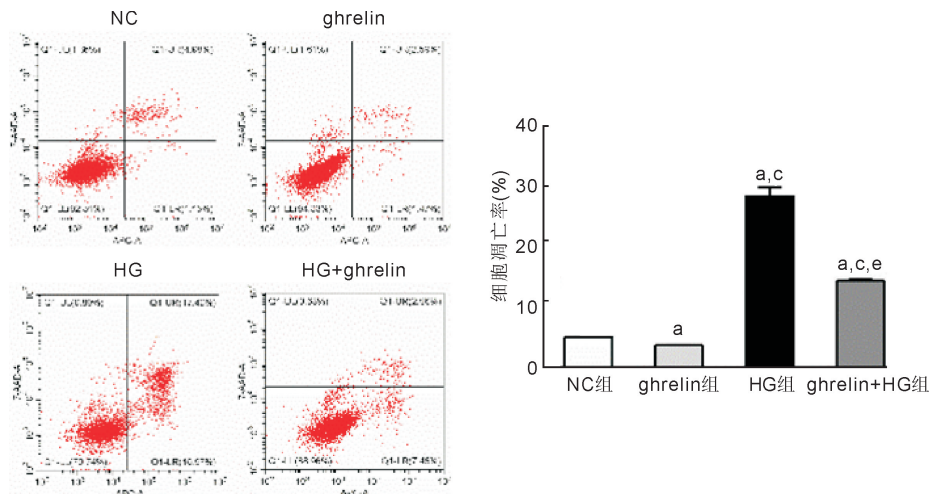


图3 流式细胞仪检测各组人视网膜血管内皮细胞凋亡情况 与NC组相比,ghrelin组细胞凋亡减少,HG组和 ghrelin+HG组细胞凋亡增多;与 ghrelin组相比,HG组和 ghrelin+HG组细胞凋亡增多;与 HG组相比,ghrelin+HG细胞凋亡减少。^a $P < 0.05$ vs NC组; ^c $P < 0.05$ vs ghrelin组; ^e $P < 0.05$ vs HG组。

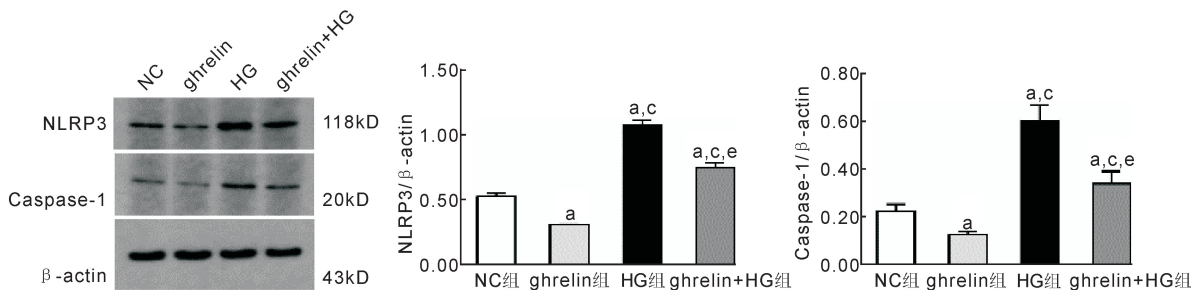


图4 Western blotting 检测各组人视网膜血管内皮细胞 NLRP3 炎症小体蛋白的表达 与NC组相比,ghrelin组细胞表达 NLRP3 及 Caspase-1 减少,HG组和 ghrelin+HG组细胞表达 NLRP3 及 Caspase-1 增多;与 ghrelin组相比,HG组和 ghrelin+HG组 NLRP3、Caspase-1表达增多;与 HG组相比,ghrelin+HG细胞 NLRP3、Caspase-1表达减少。^a $P < 0.05$ vs NC组; ^c $P < 0.05$ vs ghrelin组; ^e $P < 0.05$ vs HG组。

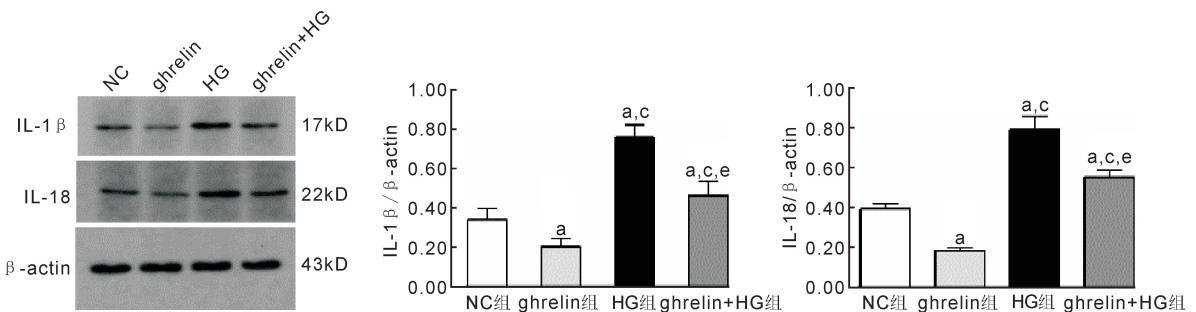


图5 Western blotting 检测各组人视网膜血管内皮细胞炎症因子 IL-1 β 及 IL-18 蛋白的表达 与NC组相比,ghrelin组细胞表达 IL-1 β 、IL-18 减少,HG组和 ghrelin+HG组细胞表达 IL-1 β 、IL-18增多;与 ghrelin组相比,HG组和 ghrelin+HG组 IL-1 β 、IL-18表达增多;与 HG组相比,ghrelin+HG细胞 IL-1 β 、IL-18 表达减少。^a $P < 0.05$ vs NC组; ^c $P < 0.05$ vs ghrelin组; ^e $P < 0.05$ vs HG组。

细胞质多蛋白复合物^[27]。炎症小体负责 Caspase-1 的激活,随后产生细胞因子 IL-1 β 和 IL-18,并启动炎性细胞死亡程序^[28]。已经发现了几种主要的炎症小体,包括 NLRP1、NLRP3、NLRC4^[29],到目前为止对 NLRP3 炎症小体的研究最为广泛。NLRP3 炎症小体通常由 NLRP3、ASC 和 Caspase-1 组成^[30]。越来越多的证据表明 NLRP3 炎症小体激活参与促进内皮细胞功能障碍^[31],因此成为 DR 的重要致病因素^[10-11]。鉴于此,本研究观察了 NLRP3 在胃饥饿素保护高糖损伤的视网膜内皮细胞中的可能角色。结果提示,NLRP3 炎症小体在高糖条件下的人视网膜血管内皮中表达增加,其下游细胞因子 IL-1 β 和 IL-18 的表

达也有升高,而胃饥饿素处理可显著降低高糖下的 NLRP3 炎症小体信号通路的激活。最近的研究表明胃饥饿素在多种疾病中的保护作用与抑制 NLRP3 炎症小体有关^[32-33],与本研究结果相一致,这些研究均提示 NLRP3 炎症小体是胃饥饿素发挥保护效应的一种可能机制。

本研究为胃饥饿素在 DR 发病机制中的作用和潜在机制提供了初步证据。我们发现高糖抑制人视网膜内皮细胞增殖,诱导细胞凋亡及 NLRP3 炎症小体活化,用胃饥饿素处理对细胞增殖有保护作用,对细胞凋亡和 NLRP3 炎症小体激活有抑制作用。据此认为,胃饥饿素可能是一种潜在的治疗靶点,以减少高糖诱导的视网膜血管内皮细

胞损伤。然而,本研究仅在细胞实验层面对胃饥饿素的作用进行了初步观察,目前获得的结果尚不能证明胃饥饿素是直接通过抑制 NLRP3 炎症小体的激活而发挥高糖下的细胞保护作用的。此外,胃饥饿素是否在 DR 的动物模型和患者中也同样发挥保护作用尚不清楚,其作用和分子机制还需要深入研究。

参考文献

- 1 Shan Y, Xu YF, Lin XL, *et al.* Burden of vision loss due to diabetic retinopathy in China from 1990 to 2017: findings from the global burden of disease study. *Acta Ophthalmol* 2021;99(2):e267-e273
- 2 Gui F, You ZP, Fu SH, *et al.* Endothelial dysfunction in diabetic retinopathy. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2020;11:591
- 3 Wang W, Lo ACY. Diabetic retinopathy: pathophysiology and treatments. *Int J Mol Sci* 2018;19(6):E1816
- 4 Kutlutürk Karagöz I, Allahverdiyev A, Bağirova M, *et al.* Current approaches in treatment of diabetic retinopathy and future perspectives. *J Ocul Pharmacol Ther* 2020;36(7):487-496
- 5 Striglia E, Caccioppo A, Castellino N, *et al.* Emerging drugs for the treatment of diabetic retinopathy. *Expert Opin Emerg Drugs* 2020;25(3):261-271
- 6 Akalu Y, Molla MD, Dessie G, *et al.* Physiological effect of ghrelin on body systems. *Int J Endocrinol* 2020;2020:1385138
- 7 Can N, Catak O, Turgut B, *et al.* Neuroprotective and antioxidant effects of ghrelin in an experimental glaucoma model. *Drug Des Devel Ther* 2015;9:2819-2829
- 8 Zaniolo K, Sapieha P, Shao Z, *et al.* Ghrelin modulates physiologic and pathologic retinal angiogenesis through GHSR-1a. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(8):5376-5386
- 9 Gupta D, Ogden SB, Shankar K, *et al.* A LEAP 2 conclusions? Targeting the ghrelin system to treat obesity and diabetes. *Mol Metab* 2021;46:101128
- 10 Forrester JV, Kuffova L, Delibegovic M. The role of inflammation in diabetic retinopathy. *Front Immunol* 2020;11:583687
- 11 Raman KS, Matsubara JA. Dysregulation of the NLRP3 inflammasome in diabetic retinopathy and potential therapeutic targets. *Ocul Immunol Inflamm* 2022;30(2):470-478
- 12 Kojima M, Hosoda H, Date Y, *et al.* Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999;402(6762):656-660
- 13 Delporte C. Structure and physiological actions of ghrelin. *Scientifica (Cairo)* 2013;2013:518909
- 14 Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, *et al.* The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(6):2988
- 15 di Fonso A, Ghinassi B, Izzicupo P, *et al.* Novel evidence of ghrelin and growth hormone secretagogue receptor expression by human ocular tissues. *Regul Pept* 2014;190-191:18-24
- 16 Zhu K, Zhang ML, Liu ST, *et al.* Ghrelin attenuates retinal neuronal autophagy and apoptosis in an experimental rat glaucoma model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58(14):6113-6122
- 17 Katsanos A, Dastiridou A, Georgoulis P, *et al.* Plasma and aqueous humour levels of ghrelin in open-angle glaucoma patients. *Clin Exp Ophthalmol* 2011;39(4):324-329
- 18 Ueno H, Shiiya T, Mizuta M, *et al.* Plasma ghrelin concentrations in different clinical stages of diabetic complications and glycemic control in Japanese diabetics. *Endocr J* 2007;54(6):895-902
- 19 Neale JPH, Pearson JT, Thomas KN, *et al.* Dysregulation of ghrelin in diabetes impairs the vascular reparative response to hindlimb ischemia in a mouse model; clinical relevance to peripheral artery disease. *Sci Rep* 2020;10(1):13651
- 20 Li R, Chen L, Yao GM, *et al.* Effects of quercetin on diabetic retinopathy and its association with NLRP3 inflammasome and autophagy. *Int J Ophthalmol* 2021;14(1):42-49
- 21 Ahluwalia A, Li A, Cheng G, *et al.* Reduced ghrelin in endothelial cells plays important mechanistic role in aging-related impairment of angiogenesis. *J Physiol Pharmacol* 2009;60(2):29-34
- 22 Li AH, Cheng GL, Zhu GH, *et al.* Ghrelin stimulates angiogenesis in human microvascular endothelial cells: implications beyond GH release. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;353(2):238-243
- 23 Wang L, Chen QW, Li GQ, *et al.* Ghrelin stimulates angiogenesis via GHSR1a-dependent MEK/ERK and PI3K/Akt signal pathways in rat cardiac microvascular endothelial cells. *Peptides* 2012;33(1):92-100
- 24 Wang XQ, Yang LN, Chen YP, *et al.* Ghrelin promotes angiogenesis by activating the Jagged1/Notch2/VEGF pathway in preeclampsia. *J Obstet Gynaecol Res* 2021;47(2):486-494
- 25 Conconi MT, Nico B, Guidolin D, *et al.* Ghrelin inhibits FGF-2-mediated angiogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Peptides* 2004;25(12):2179-2185
- 26 Baiguera S, Conconi MT, Guidolin D, *et al.* Ghrelin inhibits *in vitro* angiogenic activity of rat brain microvascular endothelial cells. *Int J Mol Med* 2004;14(5):849-854
- 27 Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL- β . *Mol Cell* 2002;10(2):417-426
- 28 Cookson BT, Brennan MA. Pro-inflammatory programmed cell death. *Trends Microbiol* 2001;9(3):113-114
- 29 Ozaki E, Campbell M, Doyle SL. Targeting the NLRP3 inflammasome in chronic inflammatory diseases: current perspectives. *J Inflamm Res* 2015;8:15-27
- 30 Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell* 2010;140(6):821-832
- 31 Bai BC, Yang YY, Wang Q, *et al.* NLRP3 inflammasome in endothelial dysfunction. *Cell Death Dis* 2020;11(9):776
- 32 Ling LL, Yang M, Ding W, *et al.* Ghrelin attenuates UUO-induced renal fibrosis via attenuation of Nlrp3 inflammasome and endoplasmic Reticulum stress. *Am J Transl Res* 2019;11(1):131-141
- 33 Cheng YJ, Chen B, Xie WQ, *et al.* Ghrelin attenuates secondary brain injury following intracerebral hemorrhage by inhibiting NLRP3 inflammasome activation and promoting Nrf2/ARE signaling pathway in mice. *Int Immunopharmacol* 2020;79:106180