doi:10.11659/jjssx.10E022138

·基础研究·

人重组神经调节蛋白1增强急性视神经损伤大鼠模型视网膜神经节细胞存活的保护作用

耿 岩[1],崔晓萌[2],王 爽[2] (1.北京积水潭医院眼科,北京 100035;2.北京积水潭医院回龙观院区眼科,北京 100035)

[摘 要] **目的** 探究人重组神经调节蛋白1(NRG-1)对急性视神经损伤大鼠模型视网膜神经节细胞(RGCs)存活的保护作用及可能的机制。**方法** 通过动脉夹夹持法建立视神经损伤大鼠模型,大鼠随机分为假手术组、模型组、NRG-1(0.5 μg、1.0 μg、3.0 μg)组。NRG-1组大鼠术后30 min于玻璃体内分别注射0.5 μg、1.0 μg、3.0 μg人重组NRG-1,其余大鼠以同样的方式注射等量生理盐水。通过闪光视觉诱发电位(F-VEP)检测术后2 h、1 d、2 d、7 d、14 d、28 d大鼠视神经P100波潜伏期和波幅的变化;术后28 d,通过霍乱毒素亚单位(CTB)示踪视网膜受压状态;另外采用TUNEL法检测视网膜和视神经组织中RGCs凋亡情况,酶联免疫吸附试验检测视神经组织中一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)和白细胞介素1β(IL-1β),免疫组化法检测NRG-1蛋白表达,Western blot法检测Nrf2、HO-1、Bach1蛋白表达。**结果** 术后28 d,与假手术组相比,模型组P100波潜伏期延长,波幅降低,视网膜和视神经组织中RGCs凋亡数量增加,视神经组织中TNF-α、IL-1β、NO、MDA水平升高,且总蛋白HO-1、核蛋白Nrf2和Bach1蛋白表达下调,差异均有统计学意义($P<0.05$);而与模型组相比,NRG-1 1.0 μg组和3.0 μg组P100波潜伏期缩短,波幅升高,视网膜和视神经组织中RGCs凋亡数量减少,视神经组织中TNF-α、IL-1β、NO、MDA水平降低,总蛋白HO-1、核蛋白Nrf2和Bach1蛋白表达上调,差异均有统计学意义($P<0.05$);而NRG-1 3.0 μg组大鼠P100波潜伏期和波幅,RGCs和神经胶质细胞凋亡数量,视神经组织中TNF-α、IL-1β、NO、MDA水平与假手术组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** NRG-1蛋白在大鼠急性视神经损伤后期表达明显降低,而给予外源性人重组NRG-1能够通过抑制视网膜RGCs凋亡以及激活Nrf2/HO-1/Bach1通路发挥抗炎、抗氧化作用,从而实现对视神经损伤的修复和保护作用。

[关键词] 神经调节蛋白1;视神经损伤;核因子E2相关因子2;氧化应激;炎症反应
[中图分类号] R774 [文献标识码] A [收稿日期] 2022-10-26

Protective effect of recombinant neuregulin-1 on enhancing retinal ganglion cells survival in rat models with acute optic nerve injury

GENG Yan[1], CUI Xiao-meng[2], WANG Shuang[2] (1.Department of Ophthalmology, Beijing Jishuitan Hospital, Beijing 100035, China;2.Department of Ophthalmology, Huilongguan Branch of Beijing Jishuitan Hospital, Beijing 100035, China)

Abstract: Objective To explore the protective effect of recombinant neuregulin-1 (NRG-1) on enhancing retinal ganglion cells (RGCs) survival in rat with acute optic nerve injury and its mechanism. **Methods** A rat model of optic nerve injury was established by clipping the optic nerve with artery clip, and rats were randomly divided into the sham-operation group, model group, and NRG-1(0.5 μg, 1.0 μg, 3.0 μg) groups. Rats in each NRG-1 group were injected 0.5 μg, 1.0 μg, 3.0 μg recombinant NRG-1 into vitreous 30 minutes after modeling. The rats in the rest groups were injected with the same amount of normal saline in the same way. The changes of P100 wave latency and amplitude of optic nerve in rats 2 hours, 1 day, 2 days, 7 days, 14 days, 28 days after surgery were detected by flash visual evoked potential (F-VEP). The retinal compression 28 days after surgery was detected by the cholera toxin subunit B (CTB), and the apoptosis of RGCs in retina and optic nerve tissues was detected by TUNEL assay. The contents of nitric oxide (NO), nitric oxide synthase (NOS), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), tumor necrosis factor α (TNF-α) and interleukin-1β(IL-1β) in optic nerve tissue of rats were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. The NRG-1 protein expression was determined by immunohistochemistry, the expression of Nrf2, HO-1 and Bach1 proteins were detected by Western blot. **Results** Compared with the sham-operation group, the model group had longer latencies of P100 wave 28 days after surgery, lower amplitude of P100 wave, more apoptosis numbers of RGCs cells in retinal and optic nerve tissues, higher levels of TNF-α, IL-1β, NO and MDA in optic nerve tissue and lower expression of total protein HO-1, nucleoprotein Nrf2 and Bach1, with significant differences ($P<0.05$). Compared with the model group, NRG-1 1.0 μg group and 3.0 μg group had shorter latencies of P100 wave, higher amplitude of P100 wave, less apoptosis numbers of RGCs in retinal and optic nerve tissues, lower levels of TNF-α, IL-1β, NO and MDA in optic nerve tissue and higher expression of total protein HO-1, nucleoprotein Nrf2 and Bach1, with significant differences ($P<0.05$). There was no statistically significant differences in the latency or amplitude of P100 wave, the apoptosis of RGCs or neuroglia and the levels of TNF-α, IL-1β, NO and MDA in the optic nerve tissue of rats between the NRG-1 3.0 μg group and sham-operated group ($P>0.05$). **Conclusion** NRG-1 protein expression is significantly reduced in the late stage of acute optic nerve injury

in rats, but exogenous recombinant NRG-1 can exert anti-inflammatory and anti-oxidative effects by inhibiting RGCs apoptosis and activating Nrf2/HO-1/Bach1 pathway, thereby achieving the repair and protection of optic nerve injury.

Keywords: neuregulin-1; optic nerve injury; nuclear factor E2 related factor 2; oxidative stress; inflammatory response

视神经损伤多继发于外伤性视神经病变或青光眼等[1],可导致视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells,RGCs)发生逆行性凋亡;由于RGCs轴突再生能力差,最终造成不可逆的视力障碍或永久性失明[2],因此预防RGCs凋亡有望成为防止视神经损伤后退变的重要策略[3]。视神经损伤动物模型研究表明,核因子E2相关因子2/血红素氧合酶-1/BTB-CNC同源体1(nuclear factor E2 related factor 2/heme oxygenase-1/BTB-CNC homology 1,Nrf2/HO-1/Bach1)通路是一个对抗氧化应激和炎症的关键信号通路,在受损RGCs保护中起着重要作用[4-5]。神经调节蛋白1(neuregulin 1,NRG-1)是神经生长因子家族中的一员,轴突衍生的NRG-1信号与酪氨酸激酶受体ErbB2/ErbB4或ErbB2/ErbB3受体异源二聚体相互作用,导致酪氨酸激酶磷酸化,促进下游信号传导,参与成人神经系统的发育过程,为神经系统损伤及相关疾病的治疗提供了新的途径[6]。但是目前关于NRG-1是否参与急性视神经损伤的调节尚不明确。故本研究利用钳夹法建立大鼠视神经损伤模型,探索人重组NRG-1对预防大鼠视神经损伤和RGCs凋亡、促进视神经修复的效果,并基于Nrf2/HO-1/Bach1信号通路进一步探究其可能的机制,以期为预防视神经退化提供有效的策略。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物及伦理学批准 50只雄性SD大鼠(体质量200~250 g,鼠龄8~10周,SPF级)购自中国(北京)食品药品检定研究院[动物生产许可证号:SCXK(京)2019-0017]。大鼠在无特定病原体动物医学实验动物中心饲养,自由饮水和饮食。本实验经北京积水潭医院实验动物伦理委员会批准(DL2021-092),并严格按照美国国立卫生研究院出版的《实验动物护理和使用指南》进行。实验期间尽量减少动物的痛苦和伤害。

1.1.2 主要试剂及仪器 人重组NRG-1蛋白(美国Sigma-Aldrich公司);一氧化氮(nitric oxide,NO)、一氧化氮合酶(nitric oxide synthase,NOS)、丙二醛(malondialdehyde,MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)、肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor α,TNF-α)和白细胞介素1β(interleukin-1β,IL-1β)检测试剂盒(上海碧云天有限公司);NRG-1及Nrf2、Bach1、HO-1一抗和相应二抗(美国Abcam公司);手术显微镜OMS-85和透射电镜J-1230型(日本拓普康公司);眼科显微手术器械(苏州医疗器械厂)。

1.2 方法

1.2.1 视神经损伤动物模型制作及分组 将50只大鼠随机分为5组(n=10):假手术组(模拟手术过程,但不损伤视神经;术后玻璃体注射无菌生理盐水),模型组(利用动脉夹夹持法损伤视神经;术后玻璃体注射无菌生理盐水),NRG-1 0.5 μg、1.0 μg、3.0 μg组(利用动脉夹夹持法损伤视神经;术后玻璃体分别注射0.5 μg、1.0 μg、3.0 μg人重组NRG-1蛋白)。大鼠在20~25 ℃、12 h光照周期和适宜湿度条件下适应性饲养1周。根据曹霞等[7]的方法建立视神经损伤大鼠模型:用2%戊巴比妥钠腹腔麻醉,剂量为2 mL/kg,手术眼(每只动物均以右眼为手术眼)结膜下注射20 g/L利多卡因局部麻醉。将大鼠俯卧在手术台上,于双目显微镜下切开外眼眦韧带,打开Tenon囊,分离外直肌并剪断,沿颞侧巩膜表面钝性分离,暴露视神经。模型组和NRG-1组大鼠于眼眶后2~3 mm处用动脉夹夹持视神经15~20 s;而假手术组大鼠仅暴露视神经15~20 s。术后将眼球复位,缝合Tenon囊及外眼眦韧带。于直接检眼镜下观察视网膜血供良好,无其他部位损伤,则视为造模成功。术后常规使用抗生素眼膏涂抹。此外用3 g/L左氧氟沙星滴眼液滴眼,术后2周每天4次,3周后每天3次,每次1滴,至造模结束。术后肌肉注射庆大霉素(20 000 U),每天1次,连续3 d,以防止感染。

在手术完成30 min后,用微量注射器进行前房穿刺,释放10~15 μL房水。然后在角膜缘后0.5~1 mm处穿刺玻璃体。NRG-1组大鼠分别注射0.5、1.0、3.0 μg人重组NRG-1蛋白,每次10 μL。而假手术组和模型组大鼠以同样的方式注射等量生理盐水。直接检眼镜下观察大鼠视网膜血供情况。

1.2.2 闪光视觉诱发电位(flash visual evoked potential,F-VEP)检测 电生理检查遵循国际视觉临床电生理学会的原则,在术后2 h、1 d、2 d、7 d、14 d、28 d时,用100 g/L的水合氯醛(3 mL/kg)麻醉大鼠后,滴注复方托品酰胺散瞳。为了充分扩瞳,在10 min内(直径5 mm)滴入托吡卡胺-苯肾上腺素滴眼液3次,将角膜电

极阻抗置于结膜囊内直接接触角膜表面20 min。采用银针电极,阻抗<2 kΩ,暗适应后在暗室内打开全视野闪光刺激器,刺激光强3 193 CD/m^2,刺激频率119 Hz,通频带宽1~100 Hz,记录P100波潜伏期和波幅。所有参数值均由眼电生理诊断系统自动测量,并计算3次连续测量的平均值。

1.2.3 HE染色观察视网膜组织病理学变化 术后28 d,将大鼠处死后立即摘除右眼球及视神经,眼球固定于多聚甲醛48 h后,置于梯度酒精中脱水,然后经石蜡包埋、切片,常规HE染色,光镜下观察。

1.2.4 霍乱毒素亚单位(cholera toxin subunit B,CTB)示踪视网膜受压状态 将2 μL CTB试剂注入大鼠玻璃体后,灌注4%多聚甲醛-PBS(pH 7.4)。然后用微剪和细钳对每只完整的眼进行去核,在距角膜边缘1 mm的巩膜上切开一小口,取出角膜,解剖显微镜下取出玻璃体,同时在眼杯的下边缘作一个小切口为区分视网膜方向的标记,室温下4%多聚甲醛固定眼杯4 h,根据之前的标记切口在视网膜上、下、颞和鼻侧切开4条线,使视网膜呈花瓣状展开。显微镜下对皱纹进行光滑处理。玻片密封,置于荧光显微镜下观察,并在视网膜上靠近视乳头的区域、中间部分和周围拍照。采用Image-Pro Plus 6.0图像处理软件计算RGCs数量。

1.2.5 TUNEL法检测RGCs凋亡情况 各组眼球石蜡切片常规脱蜡,置于0.3% H_2O_2-PBS和蛋白酶K混合液中。分别加入1 μL末端脱氧核糖核酸转移酶、1 μL地高辛标记的脱氧尿嘧啶核苷三磷酸、18 μL标记缓冲液,37 ℃下培养2 h。与50 μL抗地高辛抗体培养30 min后,加入50 μL链霉亲和素-生物素复合物溶液培养30 min,终止反应。苏木精复染、二甲苯透明、中性树胶封闭,光镜下观察。计数视网膜和视神经组织中凋亡细胞的数量。凋亡细胞呈棕色或强棕色染色。

1.2.6 酶联免疫吸附实验检测炎症因子和氧化应激指标 在冷冻的视神经组织中加入0.2 mL裂解缓冲液,将视神经匀浆在冰上保持30 min,然后在4 ℃下收集上清液,采用相关检测试剂盒检测TNF-α、IL-1β、NO、NOS、MDA、SOD水平。

1.2.7 免疫组化法检测NRG-1蛋白表达 各组眼球石蜡切片常规脱蜡后,用柠檬酸盐缓冲液(pH 6.0)高温抗原热修复10 min,3% H_2O_2溶液灭活处理20 min,5% BSA封闭20 min,加入兔抗鼠NRG-1在4 ℃下孵育过夜,复温后用辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗孵育,DAB显色、复染、脱水、透明、封片。显微镜下观察眼球组织中NRG-1蛋白染色情况,呈黄色颗粒状染色或质膜染色为阳性。

1.2.8 Western blot检测Nrf2、Batch1、HO-1蛋白表达 大鼠视神经用预冷的RIPA裂解液冰浴裂解后提取总蛋白,用核蛋白提取试剂盒提取核蛋白,神经裂解液经SDS-PAGE分离蛋白,并将蛋白条带半干转法转移到聚偏二氟乙烯膜上,加入脱脂牛奶封闭后,分别加入Nrf2、Bach1、HO-1一抗孵育,经二抗孵育后通过ECL显影,总蛋白样本以GAPDH为内参,核蛋白样本以Histone H3为内参进行定量。

1.3 统计学处理

采用SPSS 19.0软件进行统计学分析,数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间差异采用单因素方差分析(*ANOVA*),两两比较采用独立样本t检验,检验水准α=0.05,P<0.05为差异具有统计学意义。

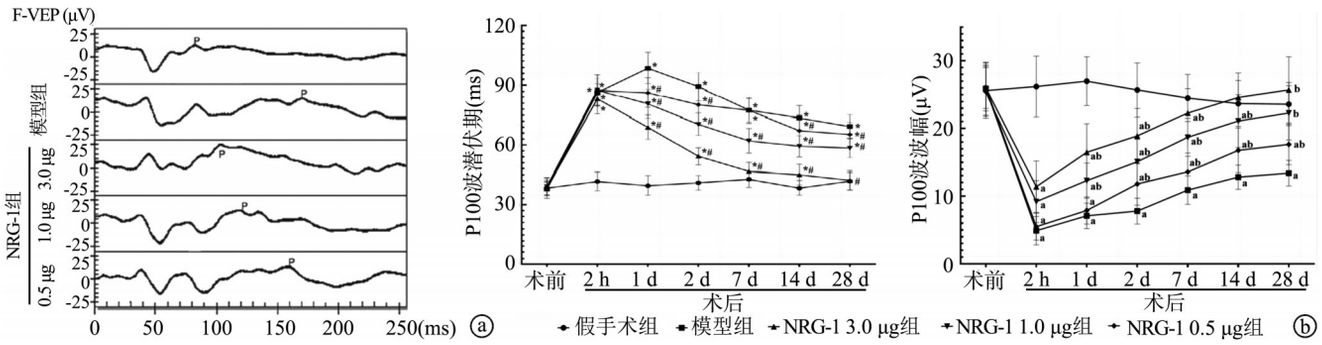
2 结果

2.1 NRG-1对P100波潜伏期和波幅的影响

假手术组P100波的潜伏期和波幅相对稳定(图1a);与假手术组相比,模型组和NRG-1(0.5 μg、1.0 μg、3.0 μg)组大鼠出现异常波形,呈扁平、宽、不规则波形,P100波潜伏期延长(P<0.05),波幅降低(P<0.05)。术后28 d,模型组和NRG-1 0.5 μg组P100波潜伏期长于假手术组(P<0.05),波幅低于假手术组(P<0.05);而NRG-1 1.0 μg组和NRG-1 3.0 μg组P100波幅均显著高于模型组(P<0.05),但是与假手术组相比,差异则无统计学意义(P>0.05);NRG-1 3.0 μg组P100波潜伏期显著短于模型组(P<0.05),与假手术组相比,差异无统计学意义(P>0.05),见图1。

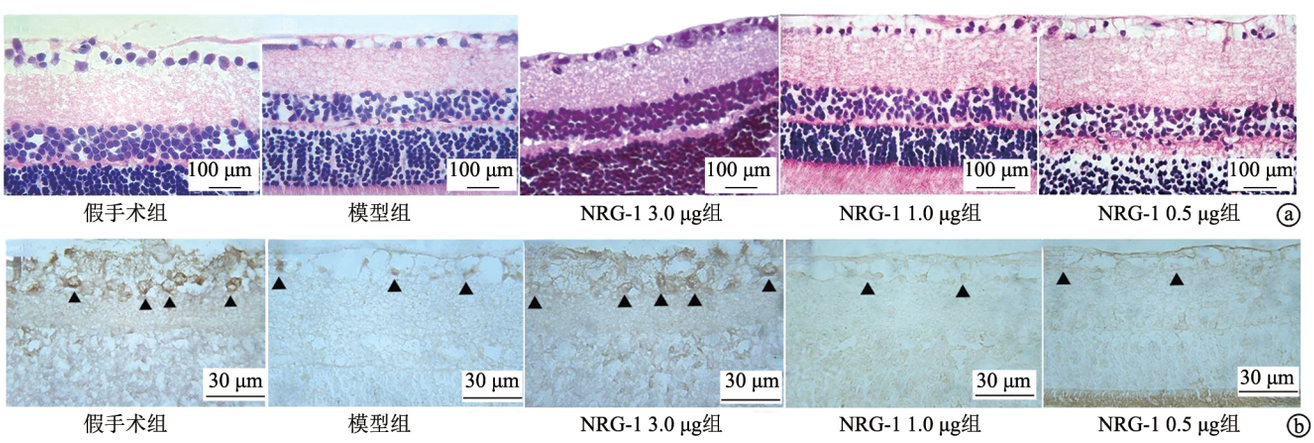
2.2 NRG-1对视网膜形态和病理损伤的影响

假手术组大鼠视网膜组织从内向外依次为视网膜神经节细胞层、内核层、外核层,排列整齐。模型组大鼠视网膜水肿增厚,以神经纤维层最为明显,且出现空泡;节细胞肿胀,大而浅染的细胞核明显减少,甚至消失;内、外核层细胞少量减少,排列紊乱;内外丛状层轻度水肿。NRG-1 1.0 μg组和NRG-1 3.0 μg组大鼠视网膜病理损伤较模型组均有所改善。模型组大鼠视网膜组织中RGCs数量及NRG-1蛋白阳性细胞数明显少于假手术组(P<0.05);NRG-1 1.0 μg组、NRG-1 3.0 μg组大鼠视网膜组织中RGCs数量及NRG-1蛋白阳性细胞数较模型组明显增加(P<0.05),见图2~4。



a:各组P100波潜伏期和波幅形状;b:各组P100波潜伏期和波幅变化 *:与假手术组相比,$P<0.05$;#:与模型组相比,$P<0.05$

图1 F-VEP检测各组大鼠视神经P100波潜伏期和波幅的变化



a:视网膜组织HE染色;b:NRG-1蛋白阳性染色 ▲:NRG-1蛋白典型阳性染色细胞

图2 HE染色、免疫组化染色观察视网膜组织病理学变化以及NRG-1蛋白阳性染色情况

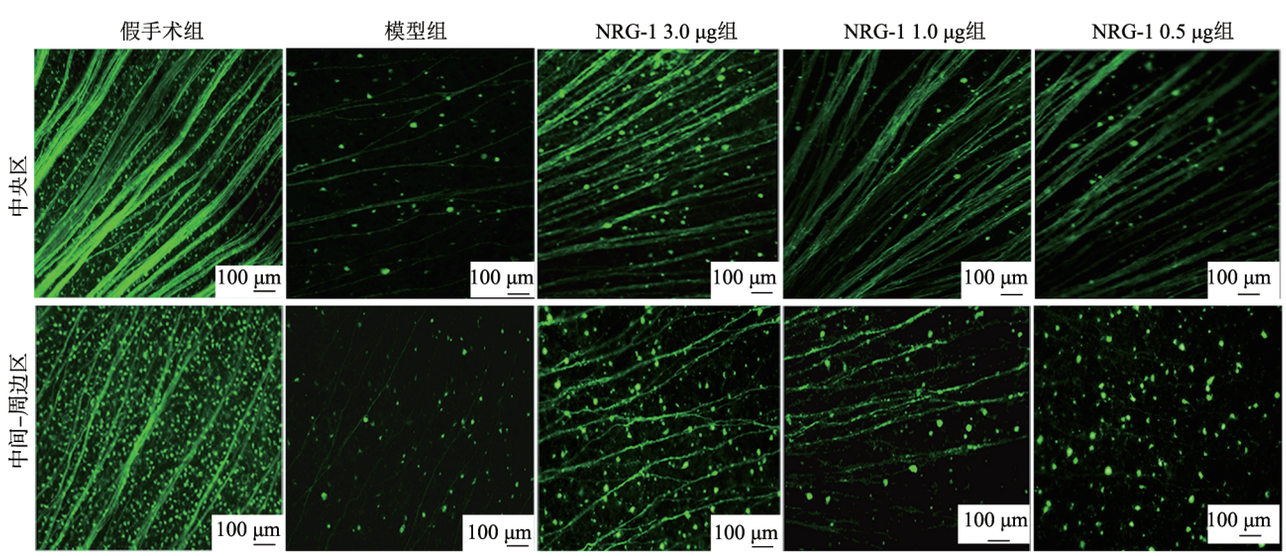
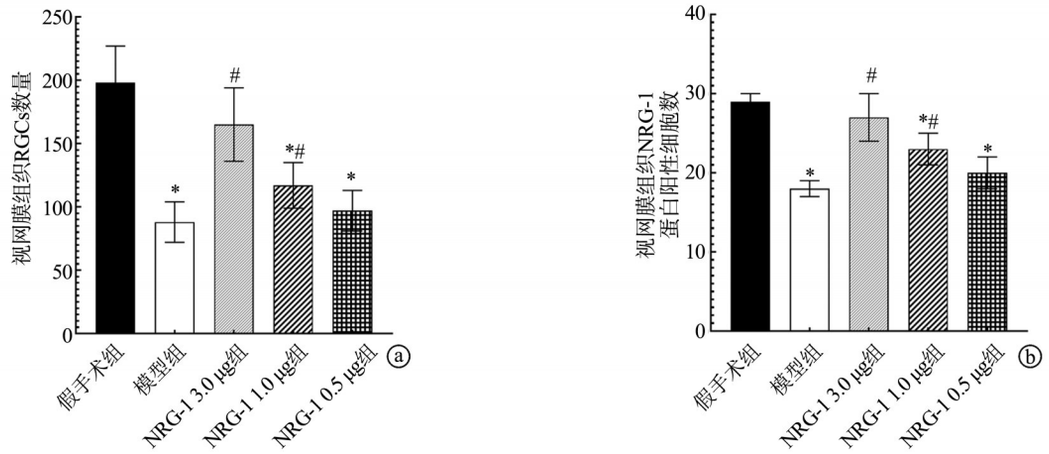


图3 CTB示踪法检测视网膜RGCs的存活情况

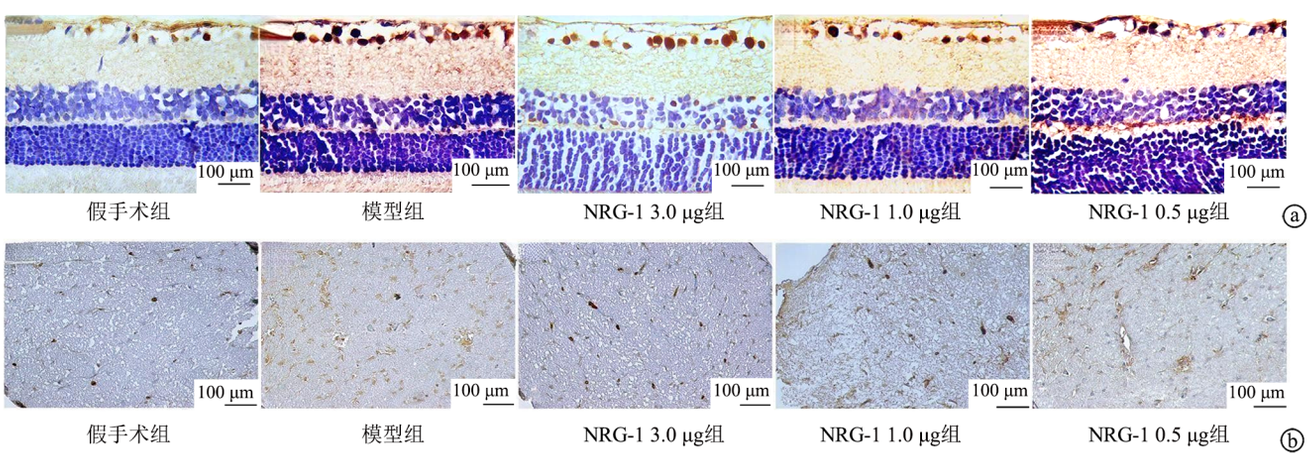
2.3 TUNEL法检测RGCs凋亡情况

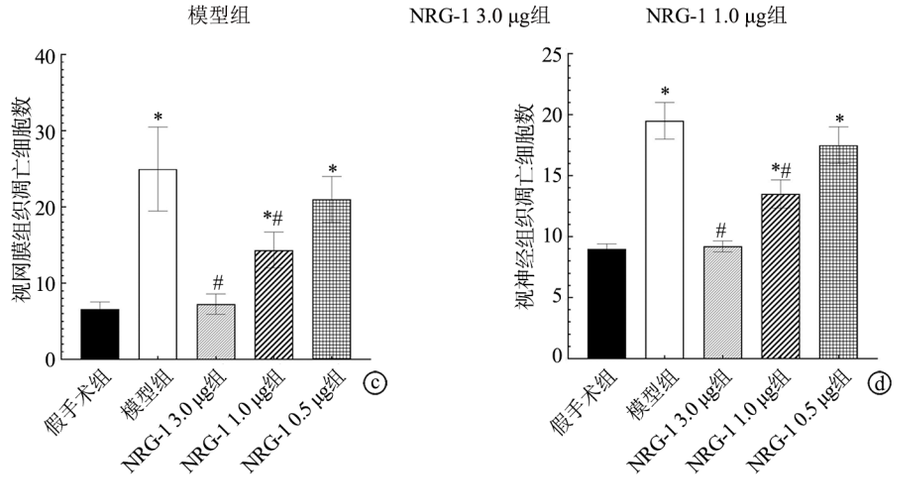
模型组视网膜和视神经组织中RGCs凋亡数多于假手术组($P<0.05$);而NRG-1 1.0 μg组和NRG-1 3.0 μg组视网膜和视神经组织中RGCs凋亡数均明显少于模型组($P<0.05$),且NRG-1 3.0 μg组凋亡细胞数与假手术组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见图5。



a:视网膜组织中RGCs数量;b:视网膜组织中NRG-1蛋白阳性细胞数 *:与假手术组相比,$P<0.05$;#:与模型组相比,$P<0.05$

图4 各组大鼠视网膜组织中RGCs细胞和NRG-1蛋白阳性数比较





a:视网膜RGCs;b:视神经组织RGCs;c:视网膜组织凋亡细胞数;d:视神经组织凋亡细胞数 *:与假手术组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$

图5 TUNEL法检测视网膜和视神经组织RGCs凋亡情况

2.4 NRG-1对视神经组织炎症因子和氧化应激指标的影响

与假手术组相比,模型组大鼠视神经组织中TNF-α、IL-1β、NO、MDA含量均显著增加($P<0.05$),同时SOD水平显著降低($P<0.05$);与模型组相比,NRG-1 1.0 μg组和NRG-1 3.0 μg组大鼠视神经组织中TNF-α、IL-1β、NO、MDA含量均降低($P<0.05$),且SOD水平均升高($P<0.05$);NRG-1 3.0 μg组上述各项指标(除SOD外)与假手术组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);NRG-1 0.5 μg组上述各项指标与模型组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表1。

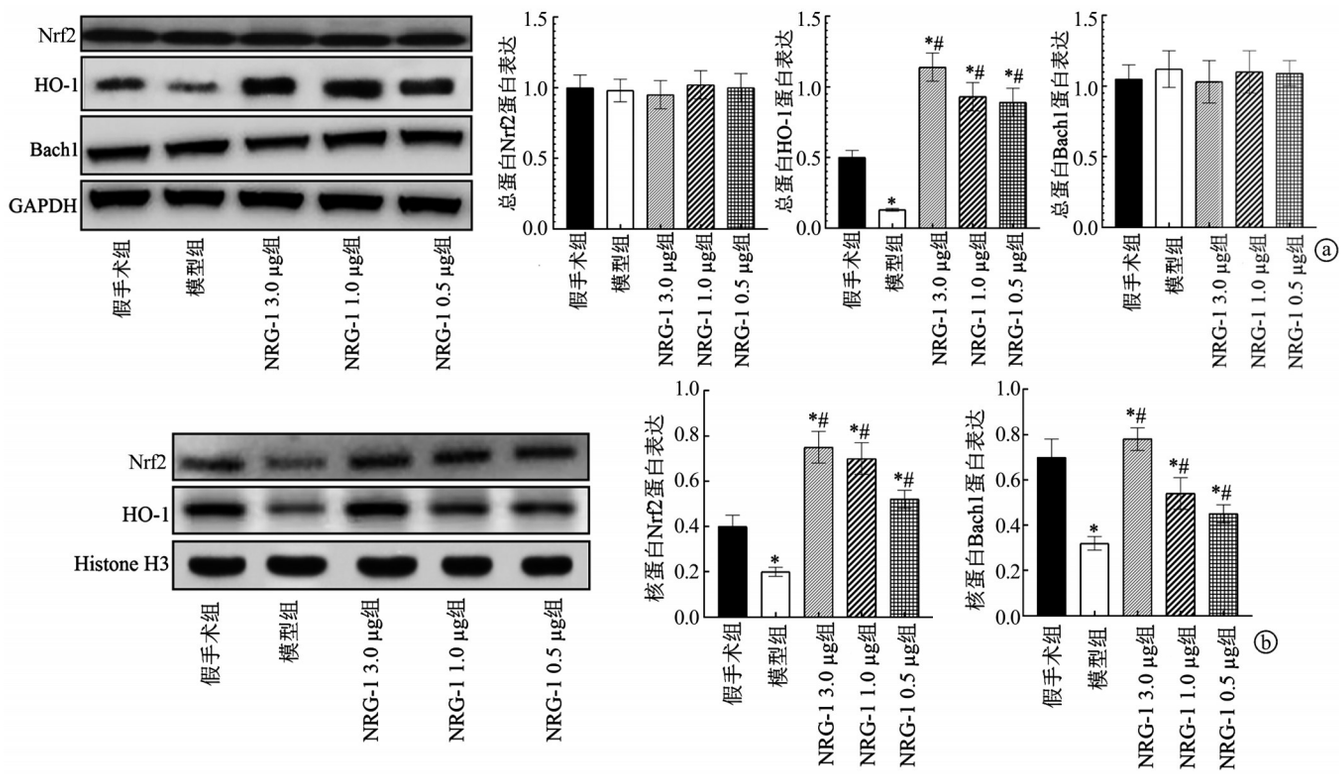
表1　各组大鼠视神经组织中TNF-α、IL-1β、NO、NOS、MDA、SOD水平的影响($\bar{x}\pm s$,n=10)

组别	TNF-α (ng/mg)	IL-1β (ng/mg)	NO (nmol/mg)	NOS(nmol/mg)	MDA (nmol/mg)	SOD (U/mg)
假手术组	105.35±17.31	19.30±5.88	5.54±0.79	2.98±0.44	1.57±0.16	165.34±23.87
模型组	189.56±34.22*	54.19±11.30*	17.83±1.22*	3.51±0.60	3.55±0.42*	67.52±14.51*
NRG-1 3.0 μg组	117.38±20.05#	24.31±5.43#	7.75±0.66#	3.14±0.51	1.66±0.23#	125.39±21.32*#
NRG-1 1.0 μg组	150.43±27.81*#	38.20±6.75*#	11.83±0.75*#	2.95±0.50	2.49±0.31*#	106.37±25.46*#
NRG-1 0.5 μg组	181.30±29.55*	49.73±9.70*	16.50±0.93*	3.28±0.47	3.24±0.46*	67.98±23.62*

*:与假手术组相比,P<0.05;#:与模型组相比,P<0.05

2.5　NRG-1对视神经Nrf2/HO-1/Bach1通路的影响

各组大鼠视神经组织总蛋白中Nrf2、Bach1蛋白表达水平基本一致(P>0.05);但是模型组总蛋白中HO-1以及核蛋白中Nrf2、Bach1蛋白相对表达量较假手术组降低(P<0.05);而各NRG-1(0.5 μg、1.0 μg、3.0 μg)组总蛋白中HO-1以及核蛋白中Nrf2、Bach1蛋白相对表达量较模型组显著上调(P<0.05),见图6。



a:总蛋白相关蛋白表达;b:核蛋白相关蛋白表达　*:与假手术组相比,P<0.05;#:与模型组相比,P<0.05

图6　各组大鼠视神经组织Nrf2、HO-1、Bach1蛋白表达(n=10)

3　讨论

视神经损伤后可诱导RGCs凋亡、轴突变性和再生能力减退,从而导致视力丧失,目前治疗效果和预后往往难以达到预期[8-9]。NRG-1是重要的神经营养因子[10],本研究采用急性视神经损伤大鼠模型,探讨外源性补充不同浓度的人重组NRG-1对视神经损伤程度及功能恢复的保护作用。

F-VEP是监测视神经损伤进展的有效工具之一,能准确评估脱髓鞘化和轴突变性。本研究中模型组大鼠在损伤1 d即出现P100波波幅急剧下降;在损伤28 d后,仍然存在视神经损伤。而人重组NRG-1具有保护视神经,促进其功能恢复的作用,具体表现为P100波潜伏期缩短,波幅增高。说明NRG-1参与了视神经损伤后细胞凋亡的保护和组织修复过程,本研究中HE染色形态学结果也证实了这一结果。此前有研究发现神经损伤后内源性NRG-1表达在急性损伤早期迅速升高,随后逐渐下降,说明NRG-1表达对损伤敏感[11-12]。这可能是因为在视神经损伤的早期,神经元和胶质细胞的激活加速了NRG-1的分泌和释放,从而负反馈性保护RGCs的存活。而NRG-1在神经损伤晚期表达下降,可能与其他因素在组织修复中替代或

阻止NRG-1合成有关。而在本研究中,我们通过进一步补充外源性人重组NRG-1,结果显示,在视神经组织过表达NRG-1可有效降低视网膜和视神经组织中RGCs凋亡率,从而维持轴突损伤后再生,增强视神经损伤的修复和保护作用。

视神经病变可导致视功能损伤,引起视力下降或者视力丧失,多与炎症、脱髓鞘、氧化应激或周围组织的压迫而导致的继发性损伤有关[13-14]。因此,视神经损伤后周围炎症和氧化应激引起的继发性损伤是视神经损伤治疗中不可忽视的因素。本研究发现,模型组中炎症相关的指标均显著升高的同时伴随氧化应激指标也发生显著变化;然而,给予外源性NRG-1则可以降低大鼠视神经中炎症因子水平,恢复正常的氧化应激状态。Nrf2是氧化反应的中枢调节因子,当受到氧化应激信号刺激后,会迅速发生磷酸化和核移位,进而调控多种抗氧化基因的表达,通过刺激生成抗氧化物来抑制氧化应激损伤[15]。Bach1是Nrf2的竞争抑制剂,能与Nrf2竞争性结合抗氧化元件,负调控HO-1等下游抗氧化基因表达,在氧化应激中也起着重要作用[16]。HO-1是一种应激诱导蛋白,可被多种氧化和炎症信号诱导。因此,HO-1的表达被认为是一种针对炎症反应和氧化损伤的适应性细胞反应[17]。本研究中,大鼠视神经损伤大鼠模型中总蛋白中HO-1以及核蛋白中Nrf2、Bach1蛋白相对表达量较假手术组降低,这说明大鼠视神经损伤导致氧化/抗氧化失衡和炎症反应;经外源性NRG-1处理后,HO-1以及核蛋白中Nrf2、Bach1蛋白相对表达量较模型组显著上调,这证实NRG-1具有一定的抗氧化和抗炎作用,其作用机制可能与激活Nrf2/HO-1/Bach1通路有关。

综上,NRG-1蛋白在大鼠急性视神经损伤后期表达降低明显,而给予外源性重组人NRG-1能够通过抑制视网膜RGCs凋亡以及激活Nrf2/HO-1/Bach1通路发挥抗炎、抗氧化作用,从而减缓急性视神经损伤的进展,进而发挥对视神经损伤的修复和保护作用。然而,NRG-1/Nrf2/HO-1/Bach1通路在急性视神经损伤中的分子机制需要在动物模型和人体组织中进一步探讨。

[参考文献]

[1] Sung JY, Lee HM, Lee SB, et al. Progression of optic atrophy in traumatic optic neuropathy: retrograde neuronal degeneration in humans [J]. Neurol Sci, 2022, 43(2): 1351-1358. doi: 10.1007/s10072-021-05448-z.

[2] Yin Y, DE Lima S, Gilbert HY, et al. Optic nerve regeneration: a long view [J]. Restor Neurol Neurosci, 2019, 37(6): 525-544. doi: 10.3233/RNN-190960.

[3] Donahue RJ, Maes ME, Grosser JA, et al. BAX-depleted retinal ganglion cells survive and become quiescent following optic nerve damage [J]. Mol Neurobiol, 2020, 57(2): 1070-1084. doi: 10.1007/s12035-019-01783-7.

[4] 裴 涌,郝旭红,孙晓楠. 低氧对视网膜神经节细胞中Nrf2及其调控的抗氧化酶表达的影响[J]. 解剖科学进展,2016,22(1):26-28. doi:10.16695/j.cnki.1006-2947.2016.01.008.

[5] Abo El-Magd NF, Eraky SM. The molecular mechanism underlining the preventive effect of vitamin D against hepatic and renal acute toxicity through the NrF2/BACH1/HO-1 pathway [J]. Life Sci, 2020, 244: 117331. doi:10.1016/j.lfs.2020.117331.

[6] Brown D, Samsa La, Ito C, et al. Neuregulin-1 is essential for nerve plexus formation during cardiac maturation[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(3):2007-2017. doi:10.1111/jcmm.13408.

[7] 曹 霞,姜晓璇,马林昆,等. 大鼠视神经钳夹伤模型的建立及磁共振成像运用初探[J]. 眼科新进展,2014,4(3):205-208. doi:10.13389/j.cnki.Rao.2014.0054.

[8] Li X, Zhao S, Wang L. Therapeutic effect of adipose derived stem cell transplantation on optic nerve injury in rats[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(2):2529-2534. doi:10.3892/mmr.2017.8103.

[9] Wang LJ, Liu LP, Gu XL, et al. Implantation of adipose-derived stem cells cures the optic nerve injury on rats through inhibiting the expression of inflammation factors in the TLR4 signaling pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(5): 1196-1202. doi: 10.26355/eurrev_201803_14458.

[10] Chen M, Jiang Y, Zhang JS, et al. Repairing effect of Schwann cells combined with mesenchymal stem cells on optic nerve injury in rats [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(1): 277-288. doi: 10.26355/eurrev_201901_16774.

[11] Hao Q, Zhang Y, Li X, et al. Upregulated neuregulin-1 protects against optic nerve injury by regulating the RhoA/cofilin/F-actin axis [J]. Life Sci, 2021, 264: 118283. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118283.

[12] Yang W, Liu TT, Song XB, et al. Neuregulin-1 protects against acute optic nerve injury in rat model [J]. J Neurol Sci, 2015, 357(1/2): 157-166. doi: 10.1016/j.jns.2015.07.023.

[13] Bastakis GG, Ktena N, Karagogeos D, et al. Models and treatments for traumatic optic neuropathy and demyelinating optic neuritis [J]. Dev Neurobiol, 2019, 79(8): 819-836. doi: 10.1002/dneu.22710.

[14] Özkaya D, Naziroglu M. Curcumin diminishes cisplatin-induced apoptosis and mitochondrial oxidative stress through inhibition of TRPM2 channel signaling pathway in mouse optic nerve [J]. J Recept Signal Transduct Res, 2020, 40(2): 97-108. doi: 10.1080/10799893.2020.1720240.

[15] Liu Y, Lu F, Kang L, et al. Pirfenidone attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice by regulating Nrf2/Bach1 equilibrium [J]. BMC Pulm Med, 2017, 17(1): 63. doi: 10.1186/s12890-017-0405-7.

[16] Rhee MK, Mah FS. Inflammation in dry eye disease: how do we break the cycle? [J]. Ophthalmology, 2017, 124(11S): S14-S19. doi: 10.1016/j.ophtha.2017.08.029.

[17] Naito Y, Takagi T, Higashimura Y. Heme oxygenase-1 and anti-inflammatory M2 macrophages [J]. Arch Biochem Biophys, 2014, 564: 83-88. doi: 10.1016/j.abb.2014.09.005.

(编辑:刘 艺)