

基于 NLRP3 炎症小体途径探讨二氢槲皮素对形觉剥夺性近视小鼠屈光发育的影响

赵坡, 马萌, 杨腾雯, 孟令菲, 刘静, 邢晓晓, 侯慧颖

引用: 赵坡, 马萌, 杨腾雯, 等. 基于 NLRP3 炎症小体途径探讨二氢槲皮素对形觉剥夺性近视小鼠屈光发育的影响. 国际眼科杂志, 2026, 26(3): 391-397.

基金项目: 保定市科技计划项目 (No.2441ZF245)

作者单位: (071000) 中国河北省保定市妇幼保健院眼科

作者简介: 赵坡, 本科, 副主任医师, 研究方向: 儿童眼科、眼视光。

通讯作者: 赵坡. zhaopo0704@126.com

收稿日期: 2025-07-29 修回日期: 2026-01-23

摘要

目的: 基于 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体途径, 探究二氢槲皮素对形觉剥夺性近视小鼠视觉功能的影响。

方法: 将 C57BL/6 小鼠随机分为对照组和形觉剥夺性近视模型组, 形觉剥夺性近视模型组通过右眼遮盖半透明眼罩来构建形觉剥夺性近视小鼠模型。造模成功后, 将形觉剥夺性近视模型组小鼠随机分为模型组、二氢槲皮素低、中、高剂量组、二氢槲皮素高剂量+NLRP3 激动剂组。检测各组小鼠的屈光度及眼轴长度, 试剂盒检测视网膜组织中超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 的水平, RT-qPCR 检测视网膜组织中 NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白 (ASC)、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 mRNA 的表达, Western blot 检测视网膜组织中 NLRP3、ASC、cleaved Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白的表达, TUNEL 染色检测视网膜组织中细胞凋亡的情况。

结果: 相较于对照组, 形觉剥夺性近视模型组小鼠的屈光度降低, 眼轴长度增长, SOD 降低, MDA、NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 升高, 视网膜组织中细胞凋亡率升高 (均 $P < 0.05$) ; 相较于模型组, 二氢槲皮素低、中、高剂量组小鼠的屈光度升高, 眼轴长度缩短, SOD 升高, MDA、NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 降低, 视网膜组织中细胞凋亡率降低 (均 $P < 0.05$) 。相较于二氢槲皮素高剂量组, 二氢槲皮素高剂量+NLRP3 激动剂组的屈光度降低, 眼轴长度增长, SOD 降低, MDA、NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 升高, 视网膜组织中细胞凋亡率升高 (均 $P < 0.05$) 。

结论: 二氢槲皮素能够通过抑制焦亡及氧化应激反应来改善形觉剥夺性近视小鼠的视觉功能, 其机制可能与抑制 NLRP3 炎症小体有关。NLRP3 激动剂能够在一定程度上抑制高剂量二氢槲皮素对形觉剥夺性近视小鼠的影响。

关键词: 形觉剥夺性近视; 二氢槲皮素; NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体; 焦亡; 氧化应激

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2026.3.05

Effect of dihydroquercetin on refractive development in mice with form deprivation myopia based on NLRP3 inflammasome pathway

Zhao Po, Ma Meng, Yang Tengwen, Meng Lingfei, Liu Jing, Xing Xiaoxiao, Hou Huiying

Foundation item: Baoding City Science and Technology Plan Project (No.2441ZF245)

Department of Ophthalmology, Baoding Maternal and Child Health Hospital, Baoding 071000, Hebei Province, China

Correspondence to: Zhao Po. Department of Ophthalmology, Baoding Maternal and Child Health Hospital, Baoding 071000, Hebei Province, China. zhaopo0704@126.com

Received: 2025-07-29 Accepted: 2026-01-23

Abstract

• **AIM:** To explore the effect of dihydroquercetin on visual function in mice with form deprivation myopia based on the NOD-like receptor thermoprotein domain-related protein 3 (NLRP3) inflammasome pathway.

• **METHODS:** The C57BL/6 mice were randomly divided into control group and form deprivation myopia model group, and the form deprivation myopia model group was constructed by covering the right eye with a translucent eye patch. After successful modeling, the mice in the model group of form deprivation myopia were randomly divided into model group, low-, medium- and high-dose dihydroquercetin groups, and high-dose dihydroquercetin + NLRP3 agonist group. The diopter and axial length of mice in each group were detected. The kit was used to detect the levels of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in retinal tissue. RT-qPCR was used to detect the mRNA expressions of NLRP3, apoptosis-associated spot-like protein (ASC), Caspase-1, IL-1 β and IL-18 in retinal tissues. Western blot was used to detect the expression of NLRP3, ASC, cleaved Caspase-1, IL-1 β and IL-18 proteins in retinal tissues. TUNEL staining was used to detect apoptosis in retinal tissue.

• **RESULTS:** Compared with the control group, the diopter of the mice in the model group decreased, and axial length increased, and the SOD decreased whereas MDA, NLRP3, ASC, Caspase-1, IL-1 β , IL-18 increased, and the rate of apoptosis in retinal tissue increased (all $P < 0.05$). Compared with the model group, the diopter of

mice in the low -, medium - and high - dose dihydroquercetin groups increased, axial length shortened, the SOD increased, whereas MDA, NLRP3, ASC, Caspase-1, IL-1 β , IL-18 decreased, and the rate of apoptosis in retinal tissue decreased (all $P < 0.05$). Compared with the high - dose dihydroquercetin group, the high - dose dihydroquercetin + NLRP3 agonist group had reduced diopter, increased axial length, decreased SOD levels, elevated MDA, NLRP3, ASC, Caspase - 1, IL-1 β , and IL - 18 levels, as well as increased apoptosis rate in retinal tissue (all $P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** Dihydroquercetin can improve visual function in mice with form deprivation myopia by inhibiting pyroptosis and oxidative stress responses, which may be related to the suppression of NLRP3 inflammasome. NLRP3 agonists can partially mitigate the effects of high-dose dihydroquercetin on form deprivation myopia in mice.

• **KEYWORDS:** form deprivation myopia; dihydroquercetin; NOD - like receptor thermoprotein domain - related protein 3 (NLRP3) inflammasome; pyroptosis; oxidative stress

Citation: Zhao P, Ma M, Yang TW, et al. Effect of dihydroquercetin on refractive development in mice with form deprivation myopia based on NLRP3 inflammasome pathway. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2026,26(3):391-397.

0 引言

形觉剥夺视网膜的视觉反馈缺乏会导致近视的发生。若大脑经常感受到视网膜成像失真,则会启动眼轴增长机制,从而导致轴性近视的发生。在最初的形觉剥夺性近视动物模型的构建中,研究人员通过缝合恒河猴幼猴眼睑成功诱导出了形觉剥夺性近视模型。目前,在眼部长时间固定半透明弥散片等物品成为新的构建形觉剥夺性近视动物模型的方法^[1]。现在临床上可采用配戴眼镜或通过手术来矫正近视,但若近视程度不断增高,则可能会诱发视网膜脱离、黄斑变性等严重眼部疾病的发生^[2]。因此,迫切需要找到能够控制或改善近视进展的药物。二氢槲皮素为天然的黄酮类化合物,在自然界分布广泛,具有显著的抗炎、抗氧化、抗肿瘤等药理作用^[3]。目前,有研究发现二氢槲皮素能够通过抑制氧化应激来改善年龄相关的黄斑变性^[4]。然而,二氢槲皮素控制近视进展的效果尚不清楚。

焦亡是一种由炎症反应介导的新型程序性细胞死亡方式。在经典的焦亡激活途径中,炎症小体发挥重要作用,而NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermoprotein domain-related protein 3, NLRP3)为最常见的炎症小体。在外界刺激下,NLRP3能与凋亡相关斑点样蛋白(apoptosis-associated spot-like proteins, ASC)及Caspase-1共同组装成炎症小体,进而诱导细胞焦亡^[5]。目前,有研究发现视神经损伤会导致视网膜中NLRP3焦亡信号的激活,而抑制NLRP3焦亡信号能够发挥保护视神经的作用^[6]。氧化应激也与近视进展密切相关。在豚鼠近视模型中发现,通过抑制氧化应激能够有效控制其近视的疾病发展^[7]。抑制NLRP3通路也能够显著

减轻氧化应激反应^[8]。本研究通过构建形觉剥夺性近视小鼠模型,并基于NLRP3炎症小体介导的焦亡及氧化应激,初步探究二氢槲皮素对形觉剥夺性近视小鼠视觉功能的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 **实验动物** 96只3周龄雄性C57BL/6小鼠(SPF级别,体质量15-17g)购自无锡鼎智生物医药有限公司[许可证号:SYXK(苏)2024-0004]。研究符合伦理学标准,且通过伦理学委员会审查(伦理批号:2024-02-K0067)。

1.1.2 **试剂** 二氢槲皮素(纯度:HPLC \geq 98%,规格:200mg,批号:B20539)购自上海源叶生物技术有限公司,二氢槲皮素先溶解于1% DMSO,加入适量1 \times PBS溶液,最终配成2.5mg/mL的二氢槲皮素溶液(现配现用,4 $^{\circ}$ C冰箱储存)。NLRP3激活剂尼日利亚菌素钠盐(Nigericin sodium salt)购自美国ECM公司(批号:HY-100381);超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)检测试剂盒(批号:S0101S)、丙二醛(acetaldehyde, MDA)检测试剂盒(批号:S0131S)、TUNEL染色试剂盒(批号:C1089)均购自上海碧云天科技有限公司;NLRP3一抗(批号:15101)、ASC一抗(批号:67824)、cleaved Caspase-1一抗(批号:89332)、IL-1 β 一抗(批号:12242)、IL-18一抗(批号:57058)均购自美国Cell signaling公司。

1.2 方法

1.2.1 **实验分组及干预方法** 将96只小鼠随机分为对照组与形觉剥夺性近视模型组,对照组16只,形觉剥夺性近视模型组80只。形觉剥夺性近视模型组小鼠参照文献^[9]进行模型构建:利用实验室半透明试管制备直径8mm、厚度1mm的半透明眼罩,眼罩遮盖于造模小鼠右眼(左眼不做任何处理),并利用4-0号缝线将眼罩缝合于右眼周围,每天早、中、晚三次检查小鼠眼罩的固定情况,眼罩松动则加固,共诱导4wk。对照组小鼠不做任何处理。形觉剥夺性近视诱导结束后(即4wk时),移除所有小鼠右眼眼罩,避免持续遮盖对后续干预的影响,以同时满足眼轴增长($P < 0.05$)和屈光度降低($P < 0.05$)为造模成功标准,将80只造模成功小鼠随机分为模型组、二氢槲皮素低、中、高剂量组、二氢槲皮素高剂量+NLRP3激动剂尼日利亚菌素组,每组16只。二氢槲皮素低、中、高剂量组小鼠每天分别灌胃25、50、100mg/kg的二氢槲皮素溶液(溶剂为1% DMSO+PBS混合液)^[10],连续给药4wk;二氢槲皮素高剂量+NLRP3激动剂组小鼠每天灌胃100mg/kg的二氢槲皮素溶液,并在造模后的每周腹腔注射4mg/kg的尼日利亚菌素钠盐溶液,连续给药4wk^[11];对照组及模型组每天灌胃等量的1% DMSO+PBS混合液。

1.2.2 **屈光度及眼轴长度的检测** 每日固定时间点检测(如上午9:00-11:00),通过带状光检影镜对各组小鼠的右眼进行屈光度检测,通过A超检测其右眼眼轴长度。每眼重复测量3次,取平均值为实验结果。屈光度以正值表示,降低代表近视性改变。

1.2.3 **动物取材** 屈光度及眼轴长度检测完毕后,戊巴比妥钠过量麻醉处死小鼠。各组中随机抽取6只小鼠取眼球,置于4%多聚甲醛中用于TUNEL染色。用眼科剪等工具取出剩余小鼠眼球中的视网膜组织,用于氧化应激及RT-qPCR及Western blot实验。

1.2.4 **氧化应激指标的检测** 取视网膜组织并研磨成匀

浆,按照试剂盒说明书检测视网膜组织中 SOD 及 MDA 的水平。

1.2.5 RT-qPCR 实验 将视网膜组织置于 Trizol 溶液中,按照 Trizol 法提取 RNA,紫外分光光度计测量提取 RNA 样品的纯度,OD260/280 在 1.8-2.0 范围内表明 RNA 纯度较高,可用于后续实验。将 RNA 逆转录为 cDNA,cDNA 通过 Hieff® qPCR SYBR Green Master Mix 试剂及相应引物进行 PCR 扩增,扩增可得相应基因的 CT 值,通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算视网膜组织中各基因的相对表达水平。引物序列信息见表 1。

1.2.6 Western blot 实验 RIPA 蛋白裂解液裂解视网膜组织,BCA 试剂盒检测视网膜组织样品蛋白浓度,100 °C 10 min 变性蛋白样品,制胶,上样,电泳,转膜,封闭,4 °C 下 NLRP3 一抗、ASC 一抗、cleaved Caspase-1 一抗、IL-1 β 一抗、IL-18 一抗孵育过夜,二抗室温下孵育 1 h,曝光,Image J 软件检测各条带灰度值。目标蛋白相对表达量 = 目标蛋白灰度值/GAPDH 灰度值。

表 1 引物信息表

引物名称	引物序列
NLRP3-F	5'- ATTACCCGCCCGAGAAAGG -3'
NLRP3-R	5'-TCGCAGCAAAGATCCACACAG-3'
ASC-F	5'-CTTGTCAGGGGATGAACTCAAAA-3'
ASC-R	5'-GCCATACGACTCCAGATAGTAGC-3'
IL-1 β -F	5'-GCAACTGTTCCTGAACTCAACT-3'
IL-1 β -R	5'-ATCTTTTGGGGTCCGTCAACT-3'
IL-18-F	5'-GACTCTTGCGTCAACTTCAAGG-3'
IL-18-R	5'-CAGGCTGTCTTTTGTCAACGA-3'
Caspase-1-F	5'-ACAAGGCACGGGACCTATG-3'
Caspase-1-R	5'-TCCCAGTCAGTCCTGGAAATG-3'
GAPDH-F	5'-AGGTCGGTGTGAACGGATTTG-3'
GAPDH-R	5'-TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA-3'

1.2.7 TUNEL 染色 取固定小鼠眼球,经梯度乙醇脱水及二甲苯透化处理,石蜡包埋并切片(3 μ m 厚度),按照 TUNEL 染色试剂盒说明书对其进行 TUNEL 染色,显微镜下观测视网膜组织中细胞的凋亡情况。凋亡细胞占比(%) = 凋亡细胞/视野中细胞数量数 \times 100%。

统计学分析:数据处理软件为 SPSS 20.0 软件。符合正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 造模效果检测 4 wk 的形觉剥夺性近视诱导结束后,相对于造模前,对照组小鼠的屈光度无显著变化(*P*>0.05),造模后形觉剥夺性近视模型组小鼠屈光度低于对照组,眼轴长度高于对照组(均 *P*<0.001)。形觉剥夺性近视模型组 80 只小鼠均同时满足眼轴增长(*P*<0.05)和屈光度降低(*P*<0.05),判断为造模成功,见表 2。

2.2 各组小鼠给药前后屈光度及眼轴长度对比 药物干预结束后,相对于模型组,二氢槲皮素低、中、高剂量组小鼠的屈光度升高,眼轴长度下降(均 *P*<0.05),且二氢槲皮素的效果呈剂量依赖性(*P*<0.05);相对于二氢槲皮素高剂量组,二氢槲皮素高剂量+NLRP3 激动剂组小鼠的屈光度降低,眼轴长度增长(均 *P*<0.05),见表 3。

2.3 各组小鼠视网膜组织中 SOD 及 MDA 的水平比较 相对于对照组,模型组小鼠视网膜组织中 SOD 水平降低而 MDA 升高(均 *P*<0.05);相对于模型组,二氢槲皮素低、中、高剂量组小鼠视网膜组织中 SOD 水平升高而 MDA 降低(均 *P*<0.05),且二氢槲皮素的效果呈剂量依赖性。相对于二氢槲皮素高剂量组,二氢槲皮素高剂量+NLRP3 激动剂组小鼠视网膜组织中 SOD 水平降低而 MDA 升高(均 *P*<0.05),见表 4。

表 2 两组小鼠造模前后屈光度及眼轴长度的比较

组别	<i>n</i>	屈光度(D)		<i>t</i>	<i>P</i>	眼轴长度(mm)		<i>t</i>	<i>P</i>
		造模前	造模后			造模前	造模后		
对照组	16	5.48 \pm 0.27	5.41 \pm 0.48	0.508	0.614	2.308 \pm 0.007	2.406 \pm 0.005	45.569	<0.001
形觉剥夺性近视模型组	80	5.24 \pm 0.52	4.06 \pm 0.12	19.776	<0.001	2.306 \pm 0.017	2.886 \pm 0.018	209.528	<0.001
<i>F</i>		1.793	22.299			0.461	102.775		
<i>P</i>		0.076	<0.001			0.645	<0.001		

表 3 各组小鼠药物干预前后屈光度及眼轴长度的比较

($\bar{x}\pm s, n=16$)

组别	屈光度(D)		<i>t</i>	<i>P</i>	眼轴长度(mm)		<i>t</i>	<i>P</i>
	药物干预前	药物干预后			药物干预前	药物干预后		
对照组	5.41 \pm 0.48	5.50 \pm 0.25	0.665	0.511	2.406 \pm 0.005	2.506 \pm 0.004	62.469	<0.01
模型组	4.01 \pm 0.11 ^a	3.97 \pm 0.13 ^a	0.939	0.355	2.892 \pm 0.006 ^a	2.901 \pm 0.007 ^a	3.904	<0.01
二氢槲皮素低剂量组	4.04 \pm 0.16 ^a	4.11 \pm 0.21 ^{a,c}	2.060	0.048	2.873 \pm 0.014 ^a	2.349 \pm 0.005 ^{a,c}	140.992	<0.01
二氢槲皮素中剂量组	3.99 \pm 0.17 ^a	4.22 \pm 0.16 ^{a,c,e}	3.940	<0.01	2.894 \pm 0.010 ^a	2.337 \pm 0.005 ^{a,c,e}	199.278	<0.01
二氢槲皮素高剂量组	4.09 \pm 0.12 ^a	4.31 \pm 0.24 ^{a,c,e,g}	3.392	<0.01	2.891 \pm 0.008 ^a	2.324 \pm 0.004 ^{a,c,e,g}	253.570	<0.01
二氢槲皮素高剂量+NLRP3 激动剂组	4.18 \pm 0.22 ^a	4.01 \pm 0.19 ^{a,c,i}	11.145	<0.01	2.880 \pm 0.018 ^a	2.541 \pm 0.016 ^{a,c,i}	56.340	<0.01
<i>F</i>	73.976	204.763			192.684	194.861		
<i>P</i>	<0.001	<0.001			<0.001	<0.001		

注:^a*P*<0.05 vs 对照组;^c*P*<0.05 vs 模型组;^e*P*<0.05 vs 二氢槲皮素低剂量组;^g*P*<0.05 vs 二氢槲皮素中剂量组;ⁱ*P*<0.05 vs 二氢槲皮素高剂量组。

2.4 各组小鼠视网膜组织中 mRNA 表达比较 相对于对照组,模型组小鼠视网膜组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 mRNA 的表达升高(均 $P < 0.05$);相对于模型组,二氢槲皮素低、中、高剂量组小鼠视网膜组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 mRNA 的表达降低(均 $P < 0.05$),且二氢槲皮素的效果呈剂量依赖性(均 $P < 0.05$);相对于二氢槲皮素高剂量组,二氢槲皮素高剂量+NLRP3 激动剂组小鼠视网膜组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 mRNA 的表达升高(均 $P < 0.05$),见表 5。

2.5 各组小鼠的视网膜组织中蛋白表达比较 相对于对照组,模型组小鼠视网膜组织中 NLRP3、ASC、cleaved Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白的表达升高(均 $P < 0.05$);相对于模型组,二氢槲皮素低、中、高剂量组小鼠视网膜组织中 NLRP3、ASC、cleaved Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白的表达降低(均 $P < 0.05$),且二氢槲皮素的效果呈剂量依赖性;相对于二氢槲皮素高剂量组,二氢槲皮素高剂量+NLRP3 激动剂组小鼠视网膜组织中 NLRP3、ASC、cleaved

Caspase-1、IL-1 β 、IL-18 蛋白的表达升高(均 $P < 0.05$),见图 1 及表 6。

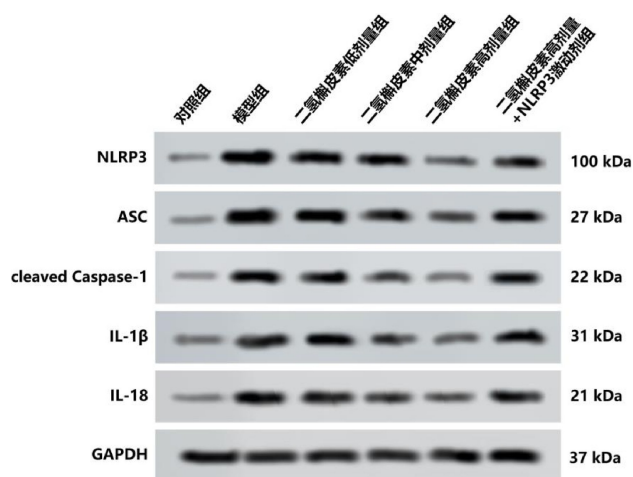


图 1 Western blot 检测各组小鼠视网膜组织中蛋白表达。

表 4 各组小鼠视网膜组织中 SOD 及 MDA 水平的比较

($\bar{x} \pm s, U/mg$)

组别	SOD	MDA
对照组	184.69 \pm 14.35	6.41 \pm 0.53
模型组	81.36 \pm 7.31 ^a	25.86 \pm 2.41 ^a
二氢槲皮素低剂量组	115.61 \pm 9.58 ^{a,c}	20.74 \pm 1.37 ^{a,c}
二氢槲皮素中剂量组	140.45 \pm 12.37 ^{a,c,e}	15.58 \pm 1.06 ^{a,c,e}
二氢槲皮素高剂量组	172.33 \pm 18.63 ^{a,c,e,g}	9.42 \pm 0.68 ^{a,c,e,g}
二氢槲皮素高剂量+NLRP3 激动剂组	129.58 \pm 14.61 ^{a,c,i}	17.39 \pm 1.09 ^{a,c,i}
F	80.499	287.151
P	<0.001	<0.001

注:^a $P < 0.05$ vs 对照组;^c $P < 0.05$ vs 模型组;^e $P < 0.05$ vs 二氢槲皮素低剂量组;^g $P < 0.05$ vs 二氢槲皮素中剂量组;ⁱ $P < 0.05$ vs 二氢槲皮素高剂量组。

表 5 各组小鼠视网膜组织中 mRNA 表达的比较

($\bar{x} \pm s$)

组别	NLRP3	ASC	Caspase-1	IL-1 β	IL-18
对照组	1.07 \pm 0.08	1.53 \pm 0.13	1.22 \pm 0.17	1.09 \pm 0.14	1.37 \pm 0.18
模型组	4.39 \pm 0.34 ^a	5.91 \pm 0.48 ^a	5.73 \pm 0.65 ^a	4.83 \pm 0.32 ^a	4.91 \pm 0.45 ^a
二氢槲皮素低剂量组	3.56 \pm 0.31 ^{a,c}	4.67 \pm 0.41 ^{a,c}	4.28 \pm 0.37 ^{a,c}	4.05 \pm 0.39 ^{a,c}	3.60 \pm 0.33 ^{a,c}
二氢槲皮素中剂量组	2.84 \pm 0.27 ^{a,c,e}	3.29 \pm 0.37 ^{a,c,e}	3.24 \pm 0.31 ^{a,c,e}	3.27 \pm 0.28 ^{a,c,e}	2.57 \pm 0.24 ^{a,c,e}
二氢槲皮素高剂量组	1.58 \pm 0.19 ^{a,c,e,g}	2.40 \pm 0.26 ^{a,c,e,g}	1.73 \pm 0.19 ^{a,c,e,g}	1.89 \pm 0.16 ^{a,c,e,g}	1.84 \pm 0.17 ^{a,c,e,g}
二氢槲皮素高剂量+NLRP3 激动剂组	3.21 \pm 0.24 ^{a,c,i}	4.83 \pm 0.39 ^{a,c,i}	3.95 \pm 0.33 ^{a,c,i}	3.74 \pm 0.32 ^{a,c,i}	3.85 \pm 0.36 ^{a,c,i}
F	241.839	211.991	203.457	245.393	191.064
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:^a $P < 0.05$ vs 对照组;^c $P < 0.05$ vs 模型组;^e $P < 0.05$ vs 二氢槲皮素低剂量组;^g $P < 0.05$ vs 二氢槲皮素中剂量组;ⁱ $P < 0.05$ vs 二氢槲皮素高剂量组。

表 6 各组小鼠视网膜组织中蛋白相对表达量比较

($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	NLRP3	ASC	cleaved Caspase-1	IL-1 β	IL-18
对照组	0.15 \pm 0.01	0.17 \pm 0.02	0.13 \pm 0.01	0.21 \pm 0.02	0.16 \pm 0.01
模型组	0.92 \pm 0.08 ^a	0.96 \pm 0.08 ^a	0.76 \pm 0.06 ^a	0.95 \pm 0.08 ^a	0.91 \pm 0.08 ^a
二氢槲皮素低剂量组	0.73 \pm 0.08 ^{a,c}	0.65 \pm 0.05 ^{a,c}	0.57 \pm 0.05 ^{a,c}	0.74 \pm 0.06 ^{a,c}	0.63 \pm 0.06 ^{a,c}
二氢槲皮素中剂量组	0.58 \pm 0.05 ^{a,c,e}	0.36 \pm 0.04 ^{a,c,e}	0.31 \pm 0.03 ^{a,c,e}	0.41 \pm 0.04 ^{a,c,e}	0.38 \pm 0.03 ^{a,c,e}
二氢槲皮素高剂量组	0.23 \pm 0.02 ^{a,c,e,g}	0.24 \pm 0.03 ^{a,c,e,g}	0.17 \pm 0.02 ^{a,c,e,g}	0.23 \pm 0.02 ^{a,c,e,g}	0.24 \pm 0.02 ^{a,c,e,g}
二氢槲皮素高剂量+NLRP3 激动剂组	0.49 \pm 0.04 ^{a,c,i}	0.53 \pm 0.04 ^{a,c,i}	0.44 \pm 0.04 ^{a,c,i}	0.69 \pm 0.05 ^{a,c,i}	0.55 \pm 0.04 ^{a,c,i}
F	296.230	384.851	387.604	364.416	352.877
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:^a $P < 0.05$ vs 对照组;^c $P < 0.05$ vs 模型组;^e $P < 0.05$ vs 二氢槲皮素低剂量组;^g $P < 0.05$ vs 二氢槲皮素中剂量组;ⁱ $P < 0.05$ vs 二氢槲皮素高剂量组。

2.6 各组小鼠的视网膜组织中细胞的凋亡情况 相对于对照组,模型组小鼠视网膜组织中凋亡细胞数量增多($P < 0.05$);相对于模型组,二氢槲皮素低、中、高剂量组小鼠视网膜组织中凋亡细胞数量减少(均 $P < 0.05$),且二氢槲皮素的效果呈剂量依赖性(均 $P < 0.05$);相对于二氢槲皮素高剂量组,二氢槲皮素高剂量+NLRP3 激动剂组小鼠视网膜组织中凋亡细胞数量增多($P < 0.05$),见图 2 及表 7。

3 讨论

近视是受到全球重视的眼部慢性疾病。据流行病学调查显示,目前中国近视人口约 7 亿,其中儿童及青少年的近视率高达 51.9%^[12-13]。目前,有较多研究探究近视患者视力的改善方法,既往的研究侧重于光学矫正手段,如框架眼镜、角膜接触镜等,以及药物治疗方面,如阿托品滴眼液等,但这些方法多侧重于近视进展的控制,对于近视发生发展的根本机制干预有限。近年来随着对近视发病机制研究的深入,发现炎症反应在近视的发生发展过程中扮演着重要角色。NLRP3 炎症小体作为炎症反应的关键调控因子,其激活与多种眼部疾病的发生发展密切相关。二氢槲皮素作为一种具有多种生物活性的天然化合物,其在抗炎、抗氧化等方面的作用逐渐受到关注。本研究基于 NLRP3 炎症小体途径探讨二氢槲皮素对形觉剥夺性近视小鼠屈光发育的影响,旨在为近视的防治提供新的思路和潜在的治疗靶点。

李宝花等^[14]研究发现明视方能够通过抑制视网膜及巩膜的内质网应激反应来延缓大鼠的近视进展。张鑫鑫等^[15]研究发现益气聪明汤能够通过抑制巩膜中基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、磷酸化氨基末端蛋白激酶(p-JNK)的表达来抑制近视的发生发展。然而,目前改善近视患者视力的方法仍效果不佳或具有明显的副作用。二氢槲皮素是自然界中分布广泛的黄酮类物质,目前也能够通过生物合成方法批量合成,具有较强的抗炎及抗氧化应激作用^[16]。研究发现二氢槲皮素能够减轻年龄相关的黄斑变性^[4]。本研究发现二氢槲皮素能够提升形觉剥夺性近视

小鼠的屈光度、缩短其眼轴长度,表明二氢槲皮素能够改善形觉剥夺性近视小鼠的视觉功能。本研究选择高剂量二氢槲皮素(100 mg/kg)作为添加 NLRP3 激动剂的基准组,是基于前期剂量效应实验结果,显示该剂量在改善屈光度、眼轴长度及抑制氧化应激/焦亡方面作用最显著,适用于验证 NLRP3 通路的中心角色。本研究结果与李宝花等^[14]发现明视方抑制内质网应激延缓近视一致,均表明抗炎抗氧化可改善视觉功能,通过在高剂量组添加 NLRP3 激动剂,成功逆转了二氢槲皮素的保护效应,这强化了 NLRP3 炎症小体作为关键靶点的结论。然而,差异在于该研究聚焦视网膜-巩膜轴,而本研究首次通过 NLRP3 炎症小体途径探讨二氢槲皮素的作用,且二氢槲皮素为天然黄酮类物质,副作用可能低于化学药物,这种差异可能源于实验模型(小鼠形觉剥夺 vs 大鼠光学离焦)和干预靶点(NLRP3 vs 多巴胺轴)的不同。

视网膜组织中含有大量的多不饱和脂肪酸,且其参与视网膜结构及功能的维持。氧化应激可攻击视网膜中的多不饱和脂肪酸,引起脂质过氧化,进而造成视网膜的氧

表 7 各组小鼠视网膜组织中凋亡细胞占比比较

组别	凋亡细胞占比 (%)
对照组	3.27±0.41
模型组	31.52±2.17 ^a
二氢槲皮素低剂量组	20.19±1.38 ^{a,c}
二氢槲皮素中剂量组	10.82±1.02 ^{a,c,e}
二氢槲皮素高剂量组	9.16±0.69 ^{a,c,e,g}
二氢槲皮素高剂量+NLRP3 激动剂组	15.93±1.32 ^{a,c,i}
<i>F</i>	351.205
<i>P</i>	<0.001

注:^a $P < 0.05$ vs 对照组;^c $P < 0.05$ vs 模型组;^e $P < 0.05$ vs 二氢槲皮素低剂量组;^g $P < 0.05$ vs 二氢槲皮素中剂量组;ⁱ $P < 0.05$ vs 二氢槲皮素高剂量组。

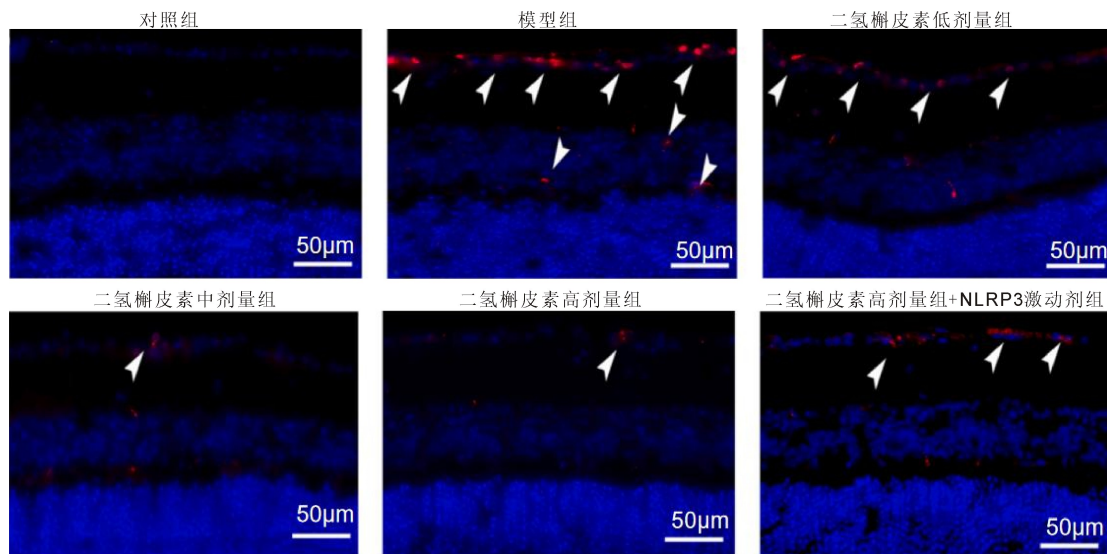


图 2 TUNEL 染色检测各组小鼠视网膜组织中细胞的凋亡情况 图中白色箭头所指为 TUNEL 染色阳性细胞。

化应激损伤,促进近视进展^[17]。目前,有较多研究表明抑制氧化应激能够延缓近视进展。阿托品滴眼能够通过减轻巩膜组织的氧化应激损伤而改善近视豚鼠的视觉功能^[18]。针刺能够通过抑制氧化应激反应来延缓近视的发生发展^[7]。这些研究结果表明抑制氧化应激能够有效控制近视进展。研究发现二氢槲皮素也有较好的抗氧化应激作用。张美凤^[19]研究发现二氢槲皮素能够通过抑制氧化应激来显著减轻放射诱导的小鼠肺损伤。焦雪菲等^[20]研究发现二氢槲皮素能够通过抑制氧化应激反应而改善大鼠的肾缺血-再灌注损伤。SOD为机体中重要的抗氧化金属酶,可以将超氧化物转化为氧气及过氧化氢,随后过氧化氢在过氧化氢酶的作用下转化为水和氧气,从而防止超氧化物对机体造成损伤。MDA为脂质过氧化终产物,其水平越高则代表机体的氧化应激损伤越重。本研究发现二氢槲皮素能够促进视网膜组织中SOD水平,并抑制MDA水平,表明二氢槲皮素能够通过减轻视网膜的氧化应激损伤来改善形觉剥夺性近视小鼠的视觉功能。与过往研究相比,本研究聚焦于二氢槲皮素在近视模型中的具体作用机制,进一步验证了其抗氧化应激效应在眼部组织的适用性。尽管不同研究采用的损伤模型存在差异,但二氢槲皮素均通过调节SOD/MDA氧化还原平衡发挥保护作用,提示其抗氧化机制具有组织普适性。值得注意的是,本研究首次将二氢槲皮素应用于近视干预领域,不仅拓展了该化合物的临床应用范围,更为近视防控提供了新的潜在药物靶点。

焦亡是近年来新发现的程序性细胞死亡方式之一,其中NLRP3炎症小体在焦亡的激活过程中发挥重要作用。在细胞受到受到外界的各类刺激信号后,NLRP3与接头蛋白ASC及Caspase-1形成NLRP3炎症小体,使Caspase-1自身水解为活化形式,随后活化的Caspase-1进一步激活其下游的IL-1 β 及IL-18,从而导致细胞发生焦亡^[21]。目前的研究发现细胞焦亡是眼部疾病的重要因素之一。例如,李晓晶^[22]研究发现冬凌草甲素能够通过抑制焦亡干眼小鼠眼表的炎症反应。陈晓凤^[23]研究发现焦亡可能参与介导眼表碱烧伤后角膜及结膜的损伤。此外,研究还发现近视小鼠的巩膜中NLRP3的表达显著增加,而抑制NLRP3炎症小体能够有利于延缓小鼠近视进展^[24]。上述研究结果提示抑制NLRP3炎症小体介导的细胞焦亡可能对延缓近视进展具有重要意义。NLRP3信号分子与氧化应激反应也密切相关。研究发现抑制NLRP3能够通过抑制氧化应激而减轻干眼小鼠的角膜损伤^[25]。本研究发现形觉剥夺性近视小鼠视网膜组织中NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18的表达升高,且视网膜组织中细胞的凋亡率升高,表明NLRP3炎症小体可能参与介导小鼠的形觉剥夺性近视,这与前人研究结果一致。二氢槲皮素对NLRP3炎症小体也有调控作用。郑金花^[26]研究发现二氢槲皮素能够通过抑制NLRP3炎症小体改善小鼠的急性酒精性脂肪肝。丁涛等^[27]研究发现二

氢槲皮素能够通过抑制NLRP3炎症小体来减轻肾小管上皮细胞的炎症反应。本研究发现二氢槲皮素能够抑制剥夺性近视小鼠视网膜组织中NLRP3、ASC、Caspase-1、IL-1 β 、IL-18的表达,并抑制视网膜组织细胞的凋亡,且NLRP3激动剂尼日利亚菌素能在一定程度上逆转二氢槲皮素对形觉剥夺性近视小鼠的作用,表明二氢槲皮素可能通过抑制NLRP3炎症小体途径来抑制视网膜组织的焦亡及氧化应激反应,进而改善形觉剥夺性近视小鼠的视觉功能。

综上所述,本研究发现二氢槲皮素能够通过抑制焦亡及氧化应激反应来改善形觉剥夺性近视小鼠的视觉功能,其机制可能与抑制NLRP3炎症小体有关。本研究的不足之处包括:(1)仅使用小鼠模型,未来需在灵长类动物或临床样本中验证;(2)二氢槲皮素的具体剂量效应需进一步优化;(3)NLRP3通路与其他近视相关信号(如TGF- β)的分子作用机制未探讨,这些局限为后续研究提供方向。

利益冲突声明:本文不存在利益冲突。

作者贡献声明:赵坡论文选题,修改与审阅,初稿撰写;马萌、杨腾雯文献检索,数据分析;孟令菲、刘静、邢晓晓、侯慧颖采集数据,数据分析。所有作者阅读并同意最终的文本。

参考文献

- [1] 冯娇娇,宋继科,毕宏生.形觉剥夺性近视的视网膜调控机制研究进展.眼科新进展,2023,43(9):736-741.
- [2] 杨心怡,黄洪鹏,郭晓莹,等.新托品对豚鼠形觉剥夺性近视的抑制作用及机制.中国药理学与毒理学杂志,2024,38(5):360-368.
- [3] 刘欣宇,王艳,陈大忠.二氢槲皮素的药理作用研究进展.药物评价研究,2024,47(5):1153-1159.
- [4] Xie XB, Feng J, Kang ZF, et al. Taxifolin protects RPE cells against oxidative stress-induced apoptosis. Mol Vis, 2017,23:520-528.
- [5] 宫荣荣,蔡宏文.细胞焦亡与血管新生在动脉粥样硬化中的研究进展.中国医学前沿杂志(电子版),2025,17(6):84-90.
- [6] 罗现科.基于NLRP3焦亡信号通路探讨青盲一号方对外伤性视神经病变的保护作用.北京中医药大学,2024.
- [7] 邓柔.针刺对形觉剥夺性近视豚鼠巩膜缺氧及氧化应激的干预研究.成都中医药大学,2023.
- [8] 徐敏,张明哲.骨髓间充质干细胞通过调控TXNIP/NLRP3通路减轻大鼠卵巢缺血再灌注损伤的机制研究.医学研究与战创伤救治,2025,38(5):484-490.
- [9] 刘及福,杨笑天,郑波汶,等.原花青素通过AMPK/Wnt/ β -catenin通路调节形觉剥夺性近视豚鼠视网膜自噬作用.国际眼科杂志,2025,25(12):1906-1913.
- [10] 费永彪.启明丸对形觉剥夺性近视豚鼠巩膜细胞外基质的作用研究.中国中医科学院,2019.
- [11] 吴梅,乔春莹,叶欢,等.二氢槲皮素对高脂饲料联合酒精饮用小鼠肝脏脂肪蓄积的干预机制.中国药理学通报,2020,36(1):147-148.
- [12] 曹青,何霞飞,韩行,等.肠三叶因子对严重烧伤小鼠模型肠黏膜NLRP3炎症小体活化及肠屏障功能影响的机制.中国老年学杂志,2025,45(12):3025-3029.

[13] 王美琳, 时瑞霞, 陈志强, 等. 2021年河北省儿童青少年近视现状及年龄增长速度分析. 中国预防医学杂志, 2024, 25(01): 119-122.

[14] 李宝花, 亢泽峰, 王露露, 等. 明视方调控视黑素-多巴胺轴抑制内质网应激延缓近视进展的机制. 中国实验方剂学杂志, 2025, 31(18): 58-67.

[15] 张鑫鑫, 姜艳华, 赵磊. 益气聪明汤在光学离焦性近视大鼠巩膜组织 MMP-2、p-JNK 表达中的作用. 眼科新进展, 2024, 44(11): 846-851.

[16] 廖凯, 张智萍, 丁笠, 等. 二氢槲皮素生物合成研究进展. 中国生物工程杂志, 2024, 44(9): 126-140.

[17] 孙忠宇, 何伟. 中医药调控氧化应激防治近视的研究进展. 实用中医内科杂志, 2025, 39(9): 110-113.

[18] 杨婉晨, 符俊达, 朱海萍, 等. 低浓度阿托品对 LIM 豚鼠屈光度、眼轴及巩膜氧化应激的影响. 中南医学科学杂志, 2025, 53(2): 232-235.

[19] 张美凤. 二氢槲皮素对小鼠放射性肺损伤的防治作用及其机制研究. 成都医学院, 2024.

[20] 焦雪菲, 李传峰, 倪庆瑜, 等. 二氢槲皮素对大鼠肾缺血-再灌注损伤的保护作用. 济宁医学院学报, 2023, 46(1): 5-9.

[21] 骆申英, 任捷艺, 咎涛. 细胞焦亡在皮肤疾病中的研究进展. 组织工程与重建外科杂志, 2025, 21(3): 291-296, 304.

[22] 李晓晶. Oridonin 通过抑制 NLRP3/caspase-1/GSDMD 焦亡通路改善干眼眼表炎症反应. 青岛大学, 2024.

[23] 陈晓凤. 滴入式眼表碱烧伤角/结膜损伤评估及细胞焦亡的检测. 南方医科大学, 2022.

[24] 陈政宇. 小鼠巩膜中 NLRP3 炎症小体在近视形成中的作用及机制研究. 中国医学科学院, 2023.

[25] 赵丹丹. BMS3 对干眼小鼠 ROS-NLRP3-IL-1 β 信号通路的影响及其机制研究. 四川大学, 2022.

[26] 郑今花. 二氢槲皮素基于 NLRP3 炎症小体通路调控酒精性脂肪肝与炎症的机制研究. 延边大学, 2017.

[27] 丁涛, 边琪, 郭志勇, 等. 二氢槲皮素抑制高糖诱导的人近端肾小管上皮细胞的炎性小体激活及上皮间质转化的上调. 中国中西医结合学会肾脏疾病专业委员会 2018 年学术年会论文摘要汇编, 2018: 305.