

铁皮石斛多糖对高糖诱导的视网膜毛细血管周细胞凋亡的影响

冯春燕, 陈 胜, 林 琳, 曹俊昌, 叶照达, 柯发杰, 胡 俊

引用: 冯春燕, 陈胜, 林琳, 等. 铁皮石斛多糖对高糖诱导的视网膜毛细血管周细胞凋亡的影响. 国际眼科杂志, 2026, 26(5): 753-759.

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (No.2019J01486)

作者单位: (350003) 中国福建省福州市, 福建中医药大学附属第二人民医院眼科

作者简介: 冯春燕, 博士, 副主任医师, 研究方向: 眼病的中西医结合研究。

通讯作者: 林琳, 硕士, 主治医师, 研究方向: 眼病的中西医结合研究. 526740907@qq.com

收稿日期: 2025-09-04 修回日期: 2026-03-26

摘要

目的: 探讨铁皮石斛多糖 (DOP) 对高糖诱导的视网膜毛细血管周细胞凋亡的保护作用及其线粒体途径相关机制。

方法: 将大鼠视网膜毛细血管周细胞分为 5 组: 正常组、高糖组、DOP 低浓度 (DOP-L) 组、DOP 中浓度 (DOP-M) 组、DOP 高浓度 (DOP-H) 组。透射电镜观察周细胞的超微结构; Annexin V-FITC 检测周细胞凋亡率; JC-1 法检测线粒体跨膜电位表达; qRT-PCR 及 Western blot 检测细胞色素 C (Cyt C)、B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)、半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 (Caspase)-9 以及 Caspase-3 的表达水平。

结果: 与正常组相比, 高糖组细胞线粒体受损, 细胞凋亡率、Cyt C、Bax、Caspase-9、Caspase-3 mRNA 及蛋白表达显著增加 (均 $P < 0.01$), 线粒体跨膜电位、Bcl-2 mRNA 及蛋白表达显著降低 (均 $P < 0.01$); 与高糖组相比, DOP-M 组与 DOP-H 组细胞线粒体受损减少, 细胞凋亡率、Cyt C、Bax、Caspase-9、Caspase-3 mRNA 及蛋白表达均显著降低, 线粒体跨膜电位、Bcl-2 mRNA 及蛋白表达显著增加 (均 $P < 0.05$)。

结论: DOP 可抑制高糖诱导的视网膜毛细血管周细胞凋亡, 减少线粒体损伤, 其机制可能与线粒体跨膜电位改变有关。

关键词: 铁皮石斛多糖; 高糖; 视网膜毛细血管周细胞; 凋亡

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2026.5.05

Dendrobium officinale polysaccharide on high glucose-induced apoptosis in retinal capillary pericytes

Feng Chunyan, Chen Sheng, Lin Lin, Cao Junchang, Ye Zhaoda, Ke Fajie, Hu Jun

Foundation item: Natural Science Foundation of Fujian Province

(No.2019J01486)

Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, Fujian Province, China

Correspondence to: Lin Lin. Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, Fujian Province, China. 526740907@qq.com

Received: 2025-09-04 Accepted: 2026-03-26

Abstract

• **AIM:** To investigate the protective effects of Dendrobium officinale polysaccharide (DOP) on high glucose-induced apoptosis in retinal capillary pericytes and its potential mechanism involving mitochondrial function.

• **METHODS:** Retinal capillary pericytes were allocated into five groups: normal control (NC), high glucose (HG), and three DOP treatment groups (low, DOP-L; medium, DOP-M; high, DOP-H). Pericyte ultrastructure was analyzed using transmission electron microscopy (TEM). Apoptotic rate was quantified via Annexin V-FITC staining. Mitochondrial transmembrane potential was assessed using the JC-1 probe. Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blot were employed to measure expression levels of cytochrome C (Cyt C), B-cell lymphoma 2 (Bcl-2), Bcl-2-associated X protein (Bax), Caspase-9, and Caspase-3, respectively.

• **RESULTS:** Compared to the NC group, pericytes exposed to HG exhibited significant mitochondrial damage, elevated apoptotic rate, increased mRNA and protein expression of Cyt C, Bax, Caspase-9, and Caspase-3 (all $P < 0.01$), alongside a marked reduction in mitochondrial transmembrane potential and expression of Bcl-2 mRNA and protein (all $P < 0.01$). In contrast, DOP treatment groups (DOP-M, DOP-H) dose-dependently ameliorated mitochondrial damage, reduced apoptotic rate, downregulated Cyt C, Bax, Caspase-9, and Caspase-3 expression, enhanced mitochondrial transmembrane potential, and upregulated Bcl-2 expression relative to the HG group (all $P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** DOP attenuates high glucose-induced apoptosis and mitochondrial injury in retinal capillary pericytes. The underlying mechanism may involve the restoration of mitochondrial transmembrane potential.

• **KEYWORDS:** Dendrobium officinale polysaccharide; high glucose; retinal capillary pericytes; apoptosis

Citation: Feng CY, Chen S, Lin L, et al. Dendrobium officinale polysaccharide on high glucose-induced apoptosis in retinal capillary pericytes. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2026,26(5):753-759.

0 引言

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病最常见且最严重的微血管并发症之一,主要表现为视网膜毛细血管的损害及一系列病理改变。作为一种慢性进行性疾病,DR 可导致视力严重受损甚至失明,是工作年龄人群致盲的首要原因^[1-2]。当前已开发出的一些干预手段如激光治疗和抗血管内皮生长因子 (anti-VEGF) 药物主要针对 DR 的晚期病变,对早期病理变化的干预效果有限,且存在副作用。因此,亟需针对 DR 早期发病机制开展深入研究,以开发更安全有效的治疗策略^[3]。周细胞是视网膜毛细血管的重要组成部分,在调节血流及新生血管形成、内皮细胞增殖、血管通透性及维持血管稳定性方面发挥关键作用。研究表明,DR 的早期病理改变以高血糖诱导的周细胞凋亡为特征,而线粒体途径是导致周细胞凋亡的主要机制之一。目前已有研究揭示线粒体功能障碍与周细胞凋亡的关联,但针对这一机制的有效干预策略仍有待探索。因此,从线粒体途径切入,开发早期干预手段已成为 DR 防治研究的重点和难点^[4-5]。

近年来,中医药因其多靶点作用及副作用小的特点,在 DR 的治疗中受到广泛关注^[6]。铁皮石斛作为我国传统名贵中药材,以益胃生津、滋阴清热等功效著称,其主要活性成分铁皮石斛多糖 (dendrobium officinale polysaccharides, DOP) 展现了广泛的生物学活性,包括抗炎、抗氧化及降血糖等。已有研究表明,DOP 可通过抑制 Müller 细胞凋亡,提高细胞活性,显著减轻高糖诱导的视网膜损伤^[7]。然而目前尚无研究系统评估 DOP 在周细胞凋亡及线粒体功能保护方面的作用,其具体作用机制也尚不明确。本研究首次将 DOP 的研究重点聚焦于高糖诱导的周细胞凋亡及线粒体途径,旨在系统探讨 DOP 对周细胞的保护作用及其涉及的线粒体途径相关机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞 大鼠视网膜毛细血管周细胞由武汉普诺赛生命科技有限公司提供,将周细胞培养在完全培养基中,并在恒温培养箱中培养。

1.1.2 主要试剂及仪器 DOP (北京索莱宝科技有限公司,SD9310);大鼠视网膜微血管周细胞完全培养基 (武汉普诺赛生命科技有限公司,CM-R121);线粒体膜电位与细胞凋亡检测试剂盒 (碧云天科技有限公司,C1071S);细胞色素 C (Cyt C)、半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 (Caspase)-3、B 淋巴瘤细胞瘤-2 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)、Caspase-9、GAPDH 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司,12245-1-AP,19677-1,26593-1,60267-1,10380-1,60004-1-Ig);合成引物序列 (上海博尚生物工程有限公司);超敏 ECL 化学发光试剂、BCA 蛋白定量试剂盒、增强型 RIPA 裂解液 (博士德,AR1171S,AR1189,AR0102S);YT-CJ-2D 超净工作台 (北京亚泰科隆仪器技术有限公司);DNP-9052 恒温培养箱 (上海精宏

实验设备有限公司);JEM1400 透射电子显微镜 (日本电子株式会社);FACSCalibur 流式细胞仪 (BD 公司);电泳仪 (美国 Bio-Rad 公司);JXFSTPRP-48 研磨机 (上海净信实业发展有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞分组及处理 将生长状态较好的大鼠视网膜毛细血管周细胞分为 5 组:正常组、高糖组、DOP 低浓度 (DOP-L) 组、DOP 中浓度 (DOP-M) 组、DOP 高浓度 (DOP-H) 组。正常组使用含 5.5 mmol/L 葡萄糖的低糖 DMEM 培养基培养细胞;高糖组使用含 25 mmol/L 葡萄糖的 DMEM 培养基培养细胞^[8];DOP-L 组、DOP-M 组、DOP-H 组分别在高糖组基础上加入浓度为 0.1、0.2、0.4 μg/L 的 DOP 处理细胞^[9]。处理 48 h 后进行各指标分析。

1.2.2 透射电镜观察周细胞的超微结构 收集各组处理后的周细胞,3%戊二醛-1.5%多聚甲醛混合液固定,4℃过夜,1%锇酸后固定,醋酸铀快染,乙醇-丙酮脱水,环氧树脂包埋,超薄切片,醋酸铀和柠檬酸铅双重染色。透射电子显微镜观察周细胞的超微结构变化,并拍照记录。

1.2.3 AnnexinV-FITC 检测周细胞凋亡率 收集各组周细胞,用胰蛋白酶消化并转移到离心管内,1 000 g 离心 5 min 后弃去上清液,将细胞悬浮在结合缓冲液中,根据 AnnexinV-FITC 试剂盒说明,用 AnnexinV-FITC 和碘化丙锭共染色 15 min,通过 FACSCalibur 流式细胞仪检测细胞凋亡。每组实验重复 3 次,下同。

1.2.4 JC-1 法检测线粒体跨膜电位表达 收集各组周细胞并制备单细胞悬液,加入 JC-1 染色液于培养箱中孵育,洗涤后经流式细胞仪检测线粒体跨膜电位表达,线粒体跨膜电位为红色荧光 (正常细胞) 与绿色荧光 (凋亡细胞) 的比值。

1.2.5 qRT-PCR 检测凋亡相关因子表达水平 使用 Trizol 法提取细胞 RNA,所得的 RNA 进行完整度和浓度测定。随后进行逆转录、PCR 扩增反应,反应体系为 2× ChamQ SYBR qPCR Master Mix (10 μL),上、下游引物 (各 0.5 μL)、cDNA (1 μL),添加 RNase-Free Water 至 20 μL,反应条件:95℃ 30 s,95℃ 10 s,60℃ 30 s,共 40 个循环,GAPDH 作为内参,2^{-ΔΔCt} 分析 Cyt C、Bcl-2、Bax、Caspase-9、Caspase-3 的 mRNA 表达水平,引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

名称	引物序列 (5'-3')
Cyt C	F: AGTCTGATCCTTTGTGGTGTG
	R: TGTTCTTGTGGCATCTGTGTA
Bcl-2	F: GGATGACTTCTCTCGTCGCT
	R: GACATCTCCCTGTTFFGGACGCT
Bax	F: CAGGATCGAGCAGAGAGGATG
	R: CAATTCGCCTGAGACACTCG
Caspase-9	F: CAAGAAGAGCGGTTCTCGGT
	R: CAGAAACAGCATTGGCGACC
Caspase-3	F: GAGACAGACAGTGAAGTACTGACGATG
	R: GGCGCAAAGTACTGATGATGA
GAPDH	F: ACGGCAAGTCAACGGCACAG
	R: GAAGACGCCAGTAGACTCCACGAC

1.2.6 Western blot 检测凋亡相关蛋白表达水平 收集细胞并用 PBS 清洗 3 次,每管加 1 mL 含 PMSF 的 RIPA 裂解液,提取蛋白后进行 BCA 蛋白浓度测定并调平。将 5× SDS-PAGE loading buffer 与蛋白质进行吹打混匀,按 30 V 10 min,80 V 30 min,120 V 50 min 进行电泳,直到染料抵达分离胶底部。随后进行转膜,转膜后将膜 TBST 漂洗 3 次,以 5% 脱脂奶粉封闭,一抗孵育 4 ℃ 过夜。孵育结束后 TBST 漂洗 3 次,加入 HRP 标记的二抗,室温孵育 2 h,放入化学发光成像仪器里面曝光成像,获得目的蛋白的表达情况,目的蛋白相对表达量计算公式是目的蛋白灰度值/内参灰度值。一抗二抗稀释比例为:Cystatin C Polyclonal antibody (1:3000);Caspase-3/P17/P19 Polyclonal antibody (1:1000);Bcl-2 Polyclonal antibody (1:1000);Bax Monoclonal antibody (1:10000);Caspase-9/P35 Polyclonal antibody (1:500);HRP-conjugated Goat Anti-Mouse IgG (H+L) (1:5000)。

统计学分析:使用统计学软件 SPSS 26.0 分析数据,数据以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较行 SNK-q 检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 DOP 对各组细胞超微结构的影响 电镜下可见正常

组细胞细胞膜完整,表面有较多的微绒毛,核内常染色质呈颗粒状均匀分布,可见核仁,胞浆内线粒体丰富并可见线粒体嵴结构,内质网、核糖体丰富,溶酶体少见;高糖组细胞细胞膜相对完整,部分胞膜破损,细胞核稍固缩,染色质部分呈块状,线粒体结构模糊,固缩,嵴模糊,出现凋亡现象,内质网浓聚;经高糖+不同浓度 DOP 处理后各组细胞膜接近正常,未见明显破损,可见核仁,染色质分布相对均匀,未见明显边聚,线粒体结构相对完整,可见线粒体嵴,线粒体内质网丰富,其中 DOP-H 组改变最为明显,见图 1。

2.2 DOP 对各组细胞凋亡率的影响 与正常组相比,高糖组细胞凋亡率显著增加 ($P < 0.01$);与高糖组相比,DOP-L 组、DOP-M 组、DOP-H 组细胞凋亡率均显著降低,差异有统计学意义(均 $P < 0.01$),且 DOP-H 组细胞凋亡率低于 DOP-L 组 ($P < 0.01$) 和 DOP-M 组 ($P < 0.05$),见表 2,图 2。

2.3 DOP 对各组细胞线粒体跨膜电位变化的影响 与正常组相比,高糖组细胞线粒体跨膜电位显著降低 ($P < 0.01$);与高糖组相比,DOP-M 组、DOP-H 组周细胞线粒体跨膜电位显著增加(均 $P < 0.01$),且 DOP-H 组线粒体跨膜电位高于 DOP-L 组和 DOP-M 组(均 $P < 0.01$),见表 3,图 3。

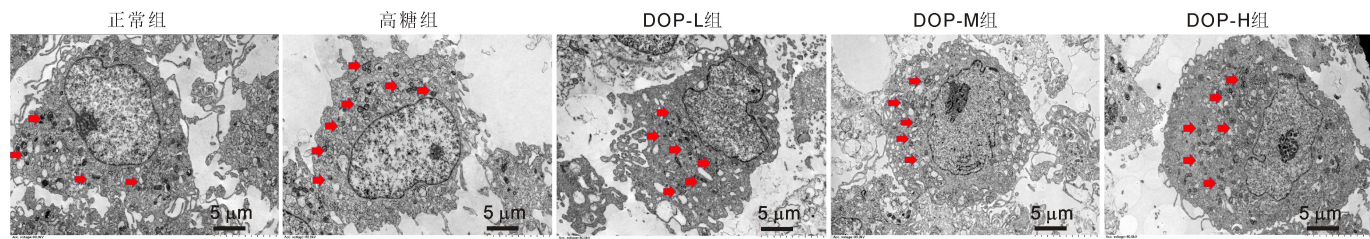


图 1 电镜观察细胞超微结构变化 图中红色箭头表示出现线粒体固缩。

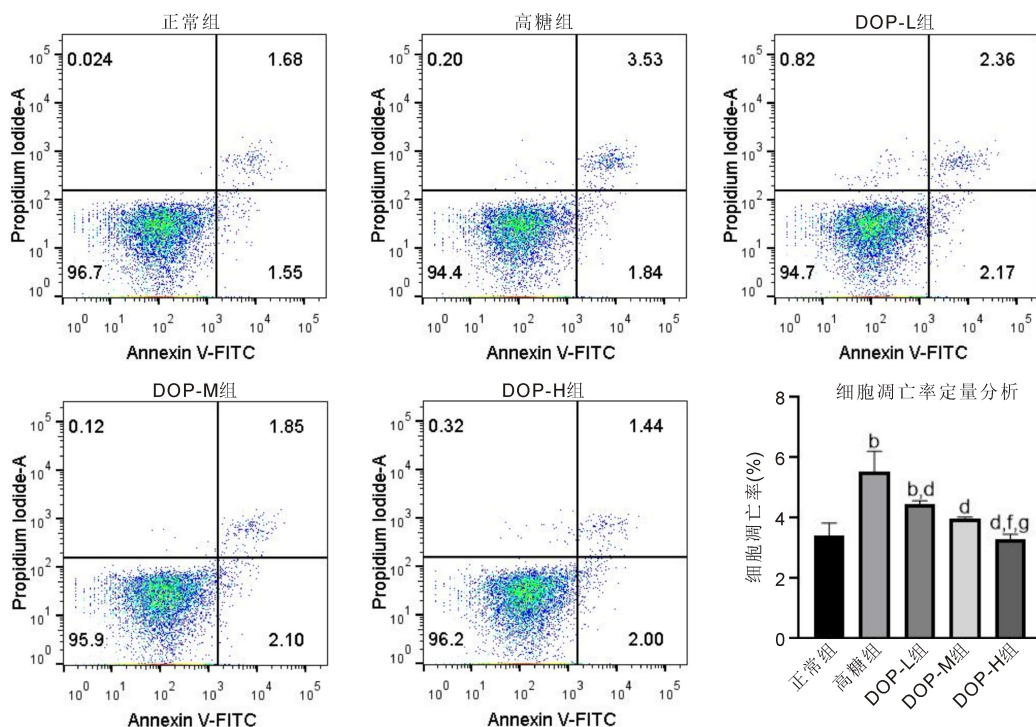


图 2 各组细胞凋亡率对比 ^b $P < 0.01$ vs 正常组;^d $P < 0.01$ vs 高糖组;^f $P < 0.01$ vs DOP-L 组;^g $P < 0.05$ vs DOP-M 组。

表2 各组细胞凋亡率比较 ($n=3, \bar{x} \pm s, \%$)

组别	凋亡率
正常组	3.42±0.41
高糖组	5.54±0.68 ^b
DOP-L组	4.46±0.12 ^{b,d}
DOP-M组	3.94±0.06 ^d
DOP-H组	3.30±0.09 ^{d,f,g}
<i>F</i>	18.521
<i>P</i>	<0.001

注:^b $P<0.01$ vs 正常组;^d $P<0.01$ vs 高糖组;^f $P<0.01$ vs DOP-L组;
^g $P<0.05$ vs DOP-M组。

表3 各组线粒体跨膜电位表达 ($n=3, \bar{x} \pm s, mV$)

组别	线粒体跨膜电位
正常组	4.48±0.59
高糖组	2.71±0.34 ^b
DOP-L组	3.22±0.05 ^b
DOP-M组	3.76±0.09 ^{b,d}
DOP-H组	4.62±0.07 ^{d,f,h}
<i>F</i>	20.628
<i>P</i>	<0.001

注:^b $P<0.01$ vs 正常组;^d $P<0.01$ vs 高糖组;^f $P<0.01$ vs DOP-L组;
^h $P<0.01$ vs DOP-M组。

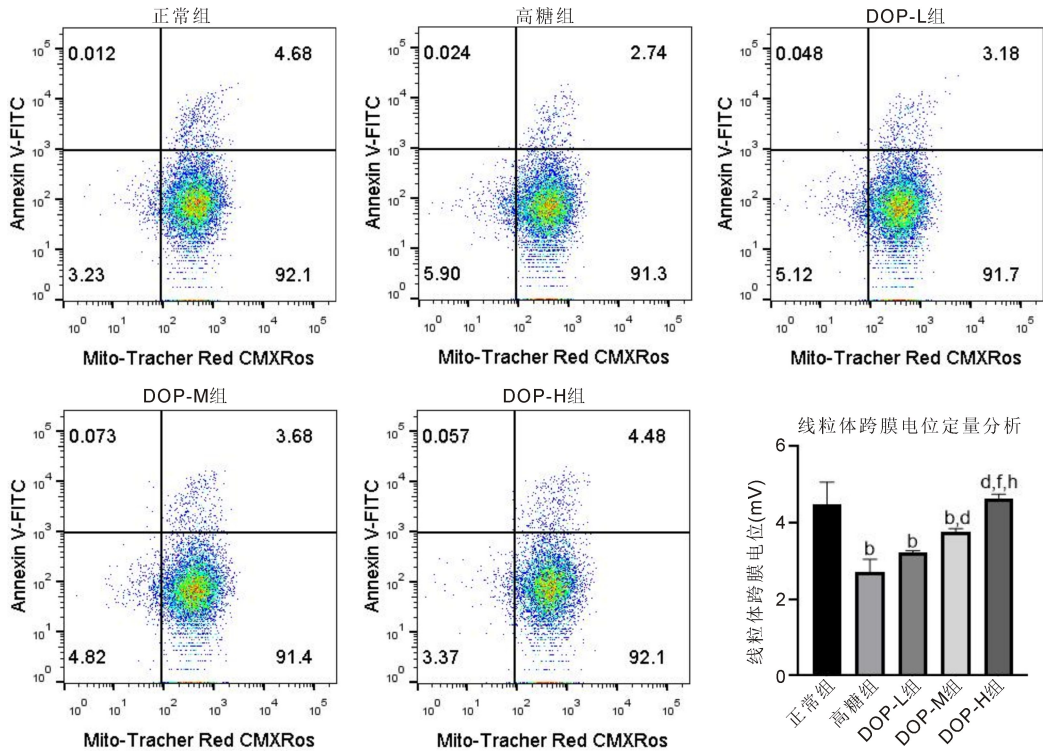


图3 各组线粒体跨膜电位表达 ^b $P<0.01$ vs 正常组;^d $P<0.01$ vs 高糖组;^f $P<0.01$ vs DOP-L组;^h $P<0.01$ vs DOP-M组。

2.4 qRT-PCR 检测各组周细胞凋亡相关因子 mRNA 表达 与正常组相比,高糖组周细胞 Cyt C、Bax、Caspase-9、Caspase-3 mRNA 表达显著增加,Bcl-2 mRNA 表达显著降低(均 $P<0.01$);与高糖组相比,DOP-L组 Cyt C、Caspase-9、Caspase-3 的 mRNA 表达显著下降(均 $P<0.01$),DOP-M组、DOP-H组 Cyt C、Bax、Caspase-9、Caspase-3 mRNA 表达显著降低,Bcl-2 mRNA 表达显著升高(均 $P<0.01$)。同时,DOP-H组对 Cyt C、Bcl-2、Bax、Caspase-9 与 Caspase-3 表达的恢复效果优于 DOP-L组,对 Bcl-2、Caspase-9 表达的恢复效果优于 DOP-M组,差异均有统计学意义(均 $P<0.01$),见表4,图4。

2.5 Western blot 检测各组细胞凋亡相关蛋白相对表达量 与正常组相比,高糖组细胞 Cyt C、Bax、Caspase-9、Caspase-3蛋白表达显著增加,Bcl-2蛋白表达显著降低(均 $P<0.01$);与高糖组相比,DOP-L组 Cyt C、Caspase-3蛋白表达显著降低(均 $P<0.05$),DOP-M组、DOP-H组细胞 Cyt C、Bax、Caspase-9、Caspase-3蛋白表达显著降低,Bcl-2蛋白表达显著增加(均 $P<0.05$),同时 DOP-H组

Cyt C、Caspase-9蛋白均低于 DOP-L组(均 $P<0.05$),见表5,图5。

3 讨论

DR 是糖尿病最常见的微血管并发症之一,对患者的视力和生活质量造成严重影响^[10]。在高糖环境下,视网膜组织会经历一系列病理改变,包括血-视网膜屏障的破坏、周细胞凋亡以及新生血管形成。这些改变会导致视网膜缺血缺氧,进一步刺激新生血管生成和纤维增殖,最终可能引起视网膜脱离和失明^[11]。目前,针对 DR 的有效治疗方法仍然有限,而中医药在延缓 DR 的进展和改善患者症状方面展现了良好的潜力。前期临床研究发现复方石斛消渴颗粒在改善气阴两虚型 DR 患者黄斑区血流密度和提高中医症候疗效方面具有显著作用,延缓了 DR 的发展。

中医理论中,DR 常以气阴两虚证型为主,治疗以益气养阴为基本原则,辅以清热化痰和软坚散结。近年研究表明,中药通过多靶点、多路径的干预能够有效改善 DR 患者的眼底病变,减轻疾病带来的痛苦,从而提高患者的

表 4 各组周细胞凋亡相关因子 mRNA 表达

($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	Cyt C	Bcl-2	Bax	Caspase-9	Caspase-3
正常组	1.08±0.13	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
高糖组	4.38±0.48 ^b	0.35±0.12 ^b	3.52±0.77 ^b	4.35±0.33 ^b	4.37±0.57 ^b
DOP-L 组	1.91±0.06 ^{b,d}	0.46±0.12 ^b	2.59±0.77 ^b	3.44±0.34 ^{b,d}	3.12±0.47 ^{b,d}
DOP-M 组	1.58±0.14 ^{a,d}	0.62±0.03 ^{b,d,e}	1.81±0.47 ^d	2.52±0.43 ^{b,d,f}	1.99±0.32 ^{b,d,f}
DOP-H 组	1.24±0.10 ^{d,f}	0.83±0.07 ^{a,d,f,h}	1.32±0.08 ^{d,e}	1.57±0.38 ^{d,f,h}	1.38±0.08 ^{d,f}
<i>F</i>	99.248	31.484	10.870	50.462	43.907
<i>P</i>	<0.001	<0.001	0.0012	<0.001	<0.001

注：^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 正常组；^d*P*<0.01 vs 高糖组；^e*P*<0.05, ^f*P*<0.01 vs DOP-L 组；^h*P*<0.01 vs DOP-M 组。

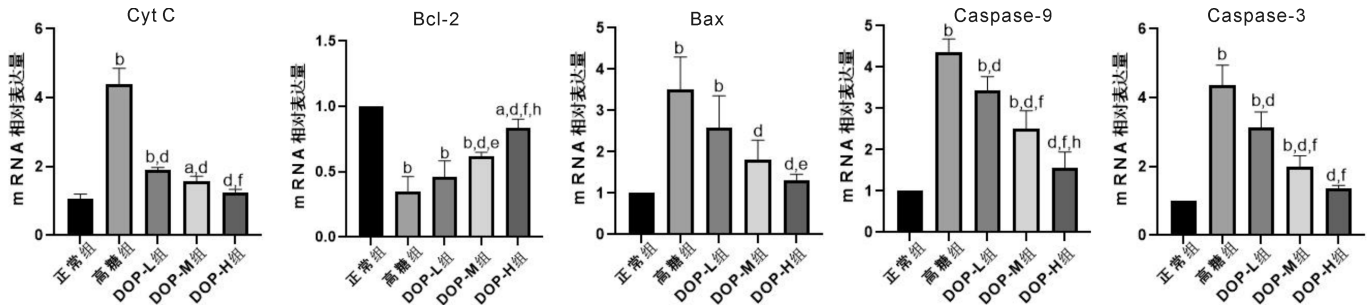


图 4 qRT-PCR 检测各组细胞凋亡相关因子 mRNA 表达 ^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 正常组；^d*P*<0.01 vs 高糖组；^e*P*<0.05, ^f*P*<0.01 vs DOP-L 组；^h*P*<0.01 vs DOP-M 组。

表 5 各组细胞凋亡相关蛋白相对表达量

($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	Cyt C	Bcl-2	Bax	Caspase-9	Caspase-3
正常组	0.10±0.02	0.62±0.14	0.26±0.10	0.17±0.03	0.15±0.05
高糖组	0.34±0.07 ^b	0.23±0.09 ^b	0.67±0.17 ^b	0.51±0.12 ^b	0.59±0.22 ^b
DOP-L 组	0.22±0.03 ^{b,d}	0.35±0.06 ^b	0.52±0.13 ^a	0.41±0.08 ^b	0.37±0.10 ^{a,c}
DOP-M 组	0.17±0.03 ^{a,d}	0.41±0.06 ^{a,c}	0.43±0.14 ^c	0.29±0.05 ^d	0.26±0.05 ^d
DOP-H 组	0.12±0.02 ^{d,e}	0.50±0.06 ^d	0.33±0.09 ^d	0.21±0.06 ^{d,f}	0.22±0.06 ^d
<i>F</i>	19.898	8.479	5.018	10.739	6.591
<i>P</i>	<0.001	0.003	0.018	0.0012	0.0073

注：^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 正常组；^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01 vs 高糖组；^e*P*<0.05, ^f*P*<0.01 vs DOP-L 组。

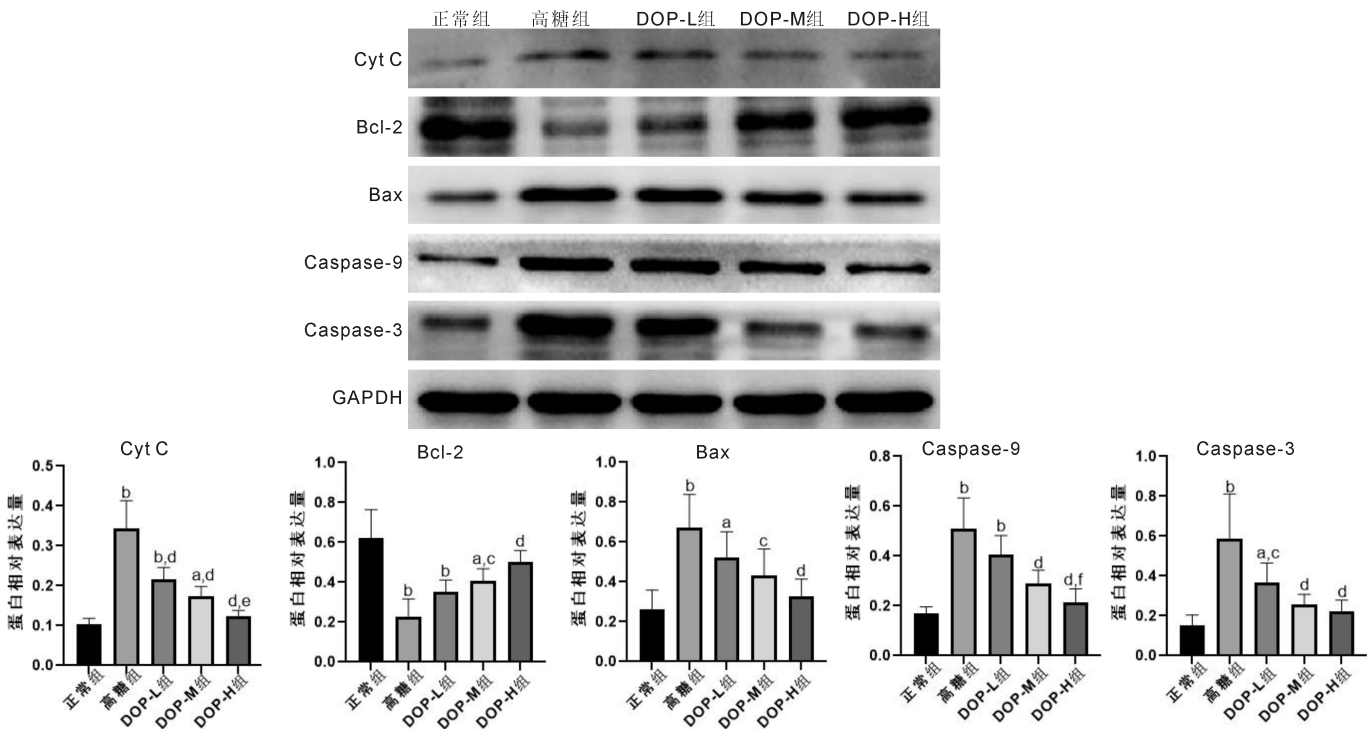


图 5 Western blot 检测各组细胞凋亡相关蛋白相对表达量 ^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 正常组；^c*P*<0.05, ^d*P*<0.01 vs 高糖组；^e*P*<0.05, ^f*P*<0.01 vs DOP-L 组。

生活质量^[12]。铁皮石斛具有益胃生津、滋阴清热的功效,其主要活性成分 DOP 在抗炎、抗氧化和降血糖方面具有重要作用^[13]。既往研究显示,DOP 在糖尿病并发症如糖尿病肾病中的保护作用得到了验证,DOP 通过降血糖减缓大鼠纤维化进程进而发挥保护作用^[14],并且促进线粒体自噬减轻高糖诱导的足细胞损伤^[15]。值得关注的是,DOP 在视网膜缺血再灌注模型中表现出有效抑制缺氧/复氧诱导的 RCG-5 细胞凋亡,减轻其细胞损伤的潜力^[16]。基于这些研究背景,推测 DOP 可能在同属于糖尿病并发症的 DR 中发挥作用。

周细胞是毛细血管壁的重要组成部分,在血管形态发生、成熟和稳定性中起关键作用。尤其在视网膜中,周细胞密度显著高于其他组织,且其功能障碍与 DR 的发生密切相关^[17]。本研究中,通过高糖诱导周细胞模型发现,高糖环境下周细胞线粒体明显受损,细胞凋亡率显著增加,这提示周细胞的凋亡是 DR 发病的重要机制之一。DOP 干预后,周细胞的结构和功能得到了显著改善,其凋亡率明显降低,表明 DOP 具有治疗 DR 的潜力。

进一步分析发现,细胞凋亡过程中线粒体途径起到了重要作用。本研究结果显示,高糖环境下周细胞中 Cyt C、Bax、Caspase-9 和 Caspase-3 的 mRNA 及蛋白的表达显著升高,而抗凋亡基因 Bcl-2 的 mRNA 及蛋白的表达显著降低,伴随线粒体跨膜电位显著下降,提示高糖诱导的周细胞凋亡与线粒体途径密切相关^[18]。作为线粒体释放的关键促凋亡因子,Cyt C 可引发 Caspase 级联反应,从而导致细胞凋亡^[19-20]。而 DOP 干预能有效逆转上述异常,通过稳定线粒体跨膜电位、上调 Bcl-2 表达、抑制 Bax 及相关凋亡蛋白表达,显著减轻高糖诱导的周细胞凋亡,这一发现为阐明 DOP 在 DR 中的保护作用提供了新的实验依据。

此外,本研究还证实了 Bax 和 Bcl-2 在高糖诱导的 DR 模型中的重要作用。Bax 通过促进线粒体膜通透性增加细胞凋亡,而 Bcl-2 则通过阻止 Bax 寡聚体的形成发挥抗凋亡作用^[21]。有研究表明,Bcl-2 表达降低和 Bax 表达升高与 DR 的发展密切相关^[22]。DOP 干预后,上述基因及其蛋白水平均趋于正常,进一步验证了 DOP 通过调节线粒体途径 Bax/Bcl-2 平衡抑制周细胞凋亡的作用。这一结果与段天梦等^[23]关于补阳还五汤在 DR 中的研究结果相一致,均涉及对线粒体通路和凋亡相关蛋白的调节,这共同提示,调控线粒体介导的细胞凋亡可能是中药活性成分防治微血管病变的共性机制之一。

本研究聚焦于视网膜中密度最高、对 DR 发生至关重要的周细胞,明确了线粒体途径在其凋亡过程中的核心地位,即通过 Bax/Bcl-2 平衡打破→线粒体膜电位下降→Cyt C 释放→Caspase-9/Caspase-3 激活这一经典通路。DOP 的干预作用针对该通路的多个环节,体现了中药活性成分多靶点调控的特点。

本研究的鲜明特色与创新性在于:(1)研究对象新颖。目前国内外关于 DOP 的研究多集中于免疫调节、抗肿瘤或降血糖等方面,而聚焦于 DOP 对视网膜毛细血管周细胞的直接保护作用及其具体分子机制的研究尚未见

报道。本研究首次系统揭示了 DOP 在视网膜微血管单元关键细胞——周细胞中的抗凋亡效应;(2)机制研究深入。本研究不仅证实了 DOP 对凋亡通路的调控,更将其作用精确锚定于线粒体跨膜电位稳定这一上游事件,为理解其作用起点提供了更清晰的线索;(3)与采用多组学技术揭示石斛多糖通过“肠道-血液-视网膜”轴改善 2 型糖尿病全身及视网膜炎症微环境的研究^[24]相互呼应、互为补充。该研究侧重于宏观机制和网络调控,本研究则侧重于关键靶细胞的微观分子事件,共同构建了石斛多糖防治 DR 较为完整的证据链,系统改善环境+靶向保护细胞,体现了鲜明的中西医结合研究特色和创新性。本研究也存在一定局限性,机制深度有待拓展,如 DOP 如何具体影响 Bax/Bcl-2 的转录或翻译后修饰,其作用是否与调控特定的线粒体质量控制(如融合/分裂、线粒体自噬)通路有关,这些更上游的调控机制有待进一步探究。

综上所述,DOP 通过调节线粒体跨膜电位和抑制细胞凋亡显著改善了高糖诱导的周细胞损伤,表明其在 DR 治疗中具有潜在应用价值。该研究为 DOP 防治 DR 提供了科学依据,也为中药在 DR 中的临床应用推广奠定了基础。

利益冲突声明:本文不存在利益冲突。

作者贡献声明:冯春燕论文选题与修改,初稿撰写;陈胜、曹俊昌、叶照达、柯发杰、胡俊文献检索,数据分析;林琳选题指导,论文修改及审阅。所有作者阅读并同意最终的文本。

参考文献

- [1] Kong MG, Song SJ. Artificial intelligence applications in diabetic retinopathy: what we have now and what to expect in the future. *Endocrinol Metab*, 2024,39(3):416-424.
- [2] Li B, Hussain W, Jiang ZL, et al. Nuclear proteins and diabetic retinopathy: a review. *Biomed Eng Online*, 2024,23(1):62.
- [3] Liang D, Qi YL, Liu L, et al. Jin-Gui-Shen-Qi Wan ameliorates diabetic retinopathy by inhibiting apoptosis of retinal ganglion cells through the Akt/HIF-1 α pathway. *Chin Med*, 2023,18(1):130.
- [4] Li CS, Chen X, Zhang SQ, et al. Pericyte loss *via* glutaredoxin2 downregulation aggravates diabetes-induced microvascular dysfunction. *Exp Eye Res*, 2024,247:110025.
- [5] 李欣,王雨,涂世伟,等.糖尿病周围神经病变中线粒体途径及相关通路凋亡机制研究进展. *中国中医药现代远程教育*, 2021,19(4):200-204.
- [6] Zhou YM, Cao YH, Guo J, et al. Potential prospects of Chinese medicine application in diabetic retinopathy. *World J Diabetes*, 2024,15(10):2010-2014.
- [7] 李雅嘉,王华,李强翔.铁皮石斛多糖对高糖状态下视网膜 Müller 细胞活力及凋亡的调控. *中国老年学杂志*, 2014,34(23):6683-6685.
- [8] 赖思艺,邱心悅,何建忠,等.益景汤调控 MMPs/TIMPs 相关分子拮抗高糖诱导的 iBRB 模型基底膜损害. *国际眼科杂志*, 2024,24(9):1387-1391.
- [9] 张晔,胡艳红,柯发杰,等.铁皮石斛多糖对糖尿病性白内障大鼠氧化应激及 ERK 信号通路的影响. *中国中医眼科杂志*, 2021,31(4):233-237,244.

- [10] Chong DD, Das N, Singh RP. Diabetic retinopathy: Screening, prevention, and treatment. *Cleve Clin J Med*, 2024,91(8):503–510.
- [11] Hu YX, Xu Q, Li HX, et al. Dapagliflozin reduces apoptosis of diabetic retina and human retinal microvascular endothelial cells through ERK1/2/cPLA2/AA/ROS pathway independent of hypoglycemic. *Front Pharmacol*, 2022,13:827896.
- [12] Li HD, Li MX, Zhang WH, et al. Effectiveness and safety of traditional Chinese medicine for diabetic retinopathy: a systematic review and network meta-analysis of randomized clinical trials. *World J Diabetes*, 2023,14(9):1422–1449.
- [13] Zhang M, Xu LB, Chen L, et al. Dendrobium officinale polysaccharides as a natural functional component for acetic acid-induced gastric ulcers in rats. *Molecules*, 2024,29(4):880.
- [14] Huang CC, Yu JL, Da JJ, et al. Dendrobium officinale Kimura & Migo polysaccharide inhibits hyperglycaemia-induced kidney fibrosis via the miRNA-34a-5p/SIRT1 signalling pathway. *J Ethnopharmacol*, 2023,313:116601.
- [15] Li H, Zheng J, Wu Y, et al. Dendrobium officinale polysaccharide decreases podocyte injury in diabetic nephropathy by regulating IRS-1/AKT signal and promoting mitophagy. *Aging (Albany NY)*, 2023, 15(19):10291–10306.
- [16] 肖杨晶, 陈婷. 铁皮石斛多糖对缺氧/复氧视网膜神经节细胞损伤的影响. *中国中医眼科杂志*, 2020, 30(9):613–617.
- [17] Shi LJ, Ge H, Ye F, et al. The role of pericyte in ocular vascular diseases. *J Biomed Res*, 2024, 38(6):1–10.
- [18] Alka K, Kumar J, Kowluru RA. Impaired mitochondrial dynamics and removal of the damaged mitochondria in diabetic retinopathy. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023, 14(1):1160155.
- [19] Li JY, Sun XA, Wang X, et al. PGAM5 exacerbates acute renal injury by initiating mitochondria-dependent apoptosis by facilitating mitochondrial cytochrome c release. *Acta Pharmacol Sin*, 2024,45(1):125–136.
- [20] Zhang ZW, Huang QX, Zhao DQ, et al. The impact of oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction on diabetic microvascular complications. *Front Endocrinol*, 2023,14:1112363.
- [21] Fang J, Bai WX, Yang LN. Astaxanthin inhibits oxidative stress and apoptosis in diabetic retinopathy. *Acta Histochem*, 2023,125(6):152069.
- [22] 朱丹华. 醛糖还原酶和晚期糖化终产物受体对大鼠糖尿病视网膜病变神经细胞凋亡的影响. *中华实用诊断与治疗杂志*, 2020, 34(10):982–985.
- [23] 段天梦, 贲莹, 张天雅, 等. 补阳还五汤对糖尿病大鼠视网膜病变线粒体途径细胞凋亡的影响. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(17):2527–2531.
- [24] Wang R, Bi YG, Xie YQ, et al. Dendrobium nobile Lindl. Polysaccharides ameliorate the inflammatory microenvironment in the retina of diabetic rats: a multi-omics study of the gut-blood-retina axis. *Int J Biol Macromol*, 2025,316:144732.