

高糖调控 SIRT6 表达影响视网膜色素上皮细胞与血管内皮细胞功能的机制

张 茜,罗明秀,郭 玉,罗飞扬,马 媛,姚 青

引用:张茜,罗明秀,郭玉,等. 高糖调控 SIRT6 表达影响视网膜色素上皮细胞与血管内皮细胞功能的机制. 国际眼科杂志, 2026,26(10):1698-1709.

基金项目:国家自然科学基金项目(No.82460885);宁夏自然科学基金项目(No.2022AAC03132)

作者单位:(750004)中国宁夏回族自治区银川市,宁夏医科大学基础医学院

作者简介:张茜,女,在读硕士研究生,研究方向:眼底病的发病机制及其防治。

通讯作者:姚青,女,博士,教授,硕士研究生导师,研究方向:眼底病的发病机制及其防治. yaoqing726@163.com

收稿日期:2026-04-08 修回日期:2026-08-13

摘要

目的:探讨高浓度葡萄糖对视网膜色素上皮细胞(ARPE-19)/血管内皮细胞(HUVEC)活性及对沉默信号调节蛋白6(SIRT6)表达水平的影响。

方法:将 ARPE-19 和 HUVEC 细胞在含不同浓度葡萄糖(5.5、25、50、75、100 mmol/L)培养基中培养 48 h 后光学显微镜下观察细胞形态;CCK-8 法检测各组细胞活性;流式细胞术检测各组细胞的凋亡水平;Western Blot 检测细胞 Bcl-2 和 SIRT6 表达水平。将 ARPE-19/HUVEC 细胞经 50 mmol/L 葡萄糖处理后,培养 48 h,采用免疫荧光染色检测 SIRT6 蛋白的亚细胞定位及表达水平;另取相同处理的细胞,培养不同时间(0、6、12、24、36、48、72 h),Western Blot 检测细胞 SIRT6 蛋白随时间的变化趋势。构建 SIRT6 过表达的 ARPE-19/HUVEC 稳转细胞系,Western Blot 检测 SIRT6 过表达对高糖(50 mmol/L 葡萄糖)干预的 ARPE-19/HUVEC 中葡萄糖转运蛋白表达水平的影响。

结果:与 5.5 mmol/L 葡萄糖组相比,随着葡萄糖浓度的增加,ARPE-19/HUVEC 细胞的数量减少,活性显著降低(均 $P<0.01$),且 SIRT6 蛋白表达水平显著降低($P<0.05$),该抑制水平呈浓度依赖性和时间依赖性(均 $P<0.05$)。同时,高糖诱导细胞凋亡,降低 Bcl-2 蛋白的表达($P<0.05$)。免疫荧光染色显示,高糖处理 48 h 后 SIRT6 蛋白主要定位于细胞核,并伴有核固缩和核碎裂现象,经高糖(50 mmol/L 葡萄糖)培养不同时间后发现长时间高糖干预能降低 ARPE-19/HUVEC 细胞中 SIRT6 蛋白表达。经免疫荧光和 Western Blot 验证 SIRT6 过表达 ARPE-19/HUVEC 稳转细胞系成功构建。Western Blot 结果分析显示,与 HG+LV-con 组相比,HG+LV-SIRT6 组 ARPE-19 细胞中 GLUT1 与 GLUT4 的表达均无明显差异,GLUT3 表达升高($P<0.05$);与 HG+LV-con 组相比,HG+LV-SIRT6 组 HUVEC 细胞中 GLUT1 的表达无明显差异,GLUT3、GLUT4 表达升高($P<0.05$)。

结论:高浓度葡萄糖可以降低 ARPE-19/HUVEC 细胞的增殖活性,诱导细胞凋亡,并下调 SIRT6 蛋白的表达,SIRT6 可能通过促进葡萄糖转运蛋白的表达从而缓解高糖诱导视网膜细胞的损伤过程。

关键词:高浓度葡萄糖;视网膜色素上皮细胞;人脐静脉内皮细胞;沉默信号调节蛋白6(SIRT6)

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2026.10.04

Mechanism of high glucose - regulated SIRT6 expression affecting the functions of retinal pigment epithelial cells and vascular endothelial cells

Zhang Qian, Luo Mingxiu, Guo Yu, Luo Feiyang, Ma Yuan, Yao Qing

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 82460885); Natural Science Foundation of Ningxia Hui Autonomous Region (No.2022AAC03132)

School of Basic Medical Sciences, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Correspondence to: Yao Qing. School of Basic Medical Sciences, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China. yaoqing726@163.com

Received:2026-04-08 Accepted:2026-08-13

Abstract

• **AIM:** To investigate the effects of high - concentration glucose on the cell viability of retinal pigment epithelial cells (ARPE - 19) / human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) cells, as well as on the expression levels of sirtuin 6 (SIRT6).

• **METHODS:** ARPE-19 and HUVEC cells were cultured for 48 h in media containing various glucose concentrations (5.5, 25, 50, 75, 100 mmol/L) and cellular morphology was observed under an optical microscope. Cell viability was assessed using the CCK-8 assay. Flow cytometry was utilized to evaluate apoptosis levels, and Western blot analysis was conducted to measure the expression of Bcl-2 and SIRT6. ARPE-19/HUVEC cells were treated with 50 mmol/L glucose for 48 h, after which immunofluorescence staining was performed to determine the subcellular localization and expression level of SIRT6 protein. In parallel, cells receiving the same treatment were harvested at different time points (0, 6, 12, 24, 36, 48, and 72 h), and the temporal changes in SIRT6 protein expression were assessed by Western blot analysis. SIRT6

overexpressing stable ARPE-19/HUVEC cell lines were constructed. Western blot was performed to detect the effects of SIRT6 overexpression on the expression levels of glucose transporters in ARPE-19/HUVEC cells treated with high glucose (50 mmol/L glucose).

• **RESULTS:** Compared with the 5.5 mmol/L glucose group, cell number was decreased and cell viability was significantly reduced in ARPE19/HUVEC cells with increasing glucose concentrations (all $P < 0.01$). Meanwhile, the protein expression level of SIRT6 was markedly downregulated ($P < 0.05$). Such inhibitory effects exhibited both concentration- and time-dependent patterns (all $P < 0.05$). Furthermore, high glucose induced cell apoptosis and downregulated the protein expression of Bcl-2 ($P < 0.05$). Immunofluorescence staining revealed that SIRT6 protein was predominantly localized in the nucleus after 48 h of high-glucose treatment, accompanied by pyknosis and nuclear fragmentation. After incubation with high-glucose medium (50 mmol/L glucose) for different durations, long-term high-glucose intervention was found to reduce SIRT6 protein expression in ARPE19/HUVEC cells. Successful construction of the SIRT6-overexpressing stable ARPE-19/HUVEC cell lines was confirmed *via* immunofluorescence and Western blotting. Western blot analysis revealed that, compared with the HG+LV-con group, the HG+LV-SIRT6 group exhibited no significant differences in GLUT1 or GLUT4 expression in ARPE-19 cells, whereas GLUT3 expression was elevated ($P < 0.05$). Compared with the HG+LV-con group, the HG+LV-SIRT6 group showed no significant change in GLUT1 expression, while GLUT3 and GLUT4 levels were increased (both $P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** High-concentration glucose-reduce the proliferative activity of ARPE-19/HUVEC cells, induce apoptosis, and downregulate SIRT6 expression. SIRT6 may alleviate high glucose-induced retinal cell damage by promoting the expression of glucose transporters.

• **KEYWORDS:** high-concentration glucose; retinal pigment epithelial cells; human umbilical vein endothelial cells; sirtuin 6 (SIRT6)

Citation: Zhang Q, Luo MX, Guo Y, et al. Mechanism of high glucose-regulated SIRT6 expression affecting the functions of retinal pigment epithelial cells and vascular endothelial cells. Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci), 2026, 26(10):1698-1709.

0 引言

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 作为糖尿病病程中常见的微血管并发症,其发病机制主要为高血糖所诱发的视网膜微血管损害^[1],并由此形成一系列典型病变,包括微动脉瘤、棉絮斑或硬性渗出、视网膜内点状出血、静脉串珠样改变和视网膜内微血管异常等^[2]。该病伴有视网膜血管周细胞的丧失,扩张的微血管渗漏和小动脉瘤的形成,直到黄斑水肿并影响患者视力^[3]。随着病情的进展,DR也成为成人视力丧失的主要原因^[4]。因此,探索DR的发病机制,寻找其预防及治疗方法具有重要的临床意义。

长期高血糖作为DR发生与演进的首要驱动因素,可

通过激活视网膜细胞内多元醇代谢途径及蛋白激酶C信号通路,并促进晚期糖基化终末产物(AGEs)在组织中的堆积,继而激发氧化应激状态与炎症反应,促使TNF- α 、IL-6等细胞因子的释放,最终损害血-视网膜屏障的完整性。与此同时,组织缺氧状态与AGEs协同上调VEGF的表达水平,刺激异常新生血管的形成。上述代谢紊乱、氧化损伤、炎症过程及血管功能异常之间相互加剧,共同编织成DR复杂而交错的病理机制网络^[5]。

视网膜色素上皮细胞 (retinal pigment epithelial cells) 是位于视网膜最外层的一层规则的多边形细胞,为视网膜提供结构和营养支持^[6-7]。当氧化损伤、炎症、高糖等因素导致视网膜色素上皮细胞损伤时,会出现脂质沉积及色素紊乱,并导致功能障碍^[8]。血管内皮细胞 (endothelial cells) 是血管壁的重要组成部分,具有维持血管的通透性、维持血管张力、调节血压等作用^[9]。现有研究证实,血糖水平持续升高所导致的视网膜毛细血管基底膜厚度增加,视网膜血管通透性上升,局部组织缺血,以及多种血管活性物质释放所诱发的新生血管形成,构成了DR发生与发展的基础^[10]。

沉默信号调节蛋白6 (silent information regulator 6, SIRT6) 是哺乳动物中Sirtuins蛋白家族的成员之一,具有烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)依赖性脱乙酰化酶活性,主要定位于细胞核^[11-12]。SIRT6蛋白通过对组蛋白的去乙酰化作用调控相关信号通路基因的表达,维持基因组的稳定性,尤其在衰老相关性疾病,如神经退行性疾病、糖尿病、炎症等疾病的发生发展中具有正向的调控作用^[13-14]。

葡萄糖转运蛋白家族 (glucose transporters, GLUTs) 是介导细胞葡萄糖摄取的关键膜蛋白^[15]。GLUT1作为视网膜中表达最广泛的葡萄糖转运体,在维持血-视网膜内屏障功能和视网膜能量稳态中至关重要^[16-17]。糖尿病状态下,视网膜组织的氧化应激可直接损伤视网膜神经节细胞膜上的GLUT3蛋白结构,降低其葡萄糖转运活性^[18]。另外,糖尿病患者普遍存在的胰岛素抵抗会导致视网膜组织中胰岛素信号通路传导受阻,进而抑制GLUT4从胞内囊泡向细胞膜的转位过程^[19]。

研究表明,SIRT6在多种细胞及病理模型中通过不同信号通路调控葡萄糖转运体 (GLUTs) 的表达,进而影响糖代谢稳态。在糖尿病肝损伤模型中,糖尿病大鼠的肝细胞在高糖条件下均表现为GLUTs (包括GLUT1) 表达升高、SIRT6表达降低^[20]。另外,妊娠糖尿病胎盘滋养层细胞中SIRT6下调可显著降低GLUT3的表达并伴随AKT-mTOR通路异常,提示SIRT6可能通过AKT-mTOR-GLUT3轴调控葡萄糖摄取^[21]。但是SIRT6与GLUTs在糖尿病性视网膜疾病中的相互关系及其作用机制尚未完全清楚。

本研究同时选取视网膜色素上皮细胞及血管内皮细胞,通过多梯度高糖干预构建细胞损伤模型,并构建SIRT6过表达稳转细胞系,探究SIRT6对视网膜葡萄糖转运蛋白的调控作用,进一步揭示SIRT6缓解高糖诱导视网膜损伤的分子机制,为糖尿病视网膜病变的临床防治提供全新靶点与实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 人源视网膜色素上皮细胞系ARPE-19、血管内皮细胞系HUVEC (北京协和细胞资源中心); 低糖DMEM培养基、胎牛血清 (BI公司); 青链霉素混合液及胰蛋白酶 (北京索莱宝科技有限公司); CCK-8细胞增殖/细胞毒性

检测试剂盒、全蛋白提取试剂盒、BCA 定量试剂盒、AnnexinV-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒(江苏凯基生物技术股份有限公司);SIRT6 多克隆抗体(CST 公司); β -actin 多克隆抗体(Bioss 公司);Bcl-2 多克隆抗体(Affinity 公司);GLUT1 单克隆抗体、GLUT3 单克隆抗体、GLUT4 单克隆抗体(武汉三鹰公司),兔二抗(Affinity 公司);鼠二抗(中山金桥);SIRT6 过表达慢病毒(上海吉凯生物公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 从液氮取出 ARPE-19 和 HUVEC 细胞,迅速进行复苏,接种于含 10% FBS 和 1%双抗的 DMEM 低糖(葡萄糖浓度为 5.5 mmol/L)完全培养基中,放置于含 5% CO₂、37 ℃ 的培养箱中培养。24 h 后观察细胞的生长状态,并更换新鲜的培养基,待细胞长至 80%用胰酶消化,按 1:3 比例传代培养。

1.2.2 细胞分组 将常规培养的 ARPE-19 和 HUVEC 细胞以 5×10^3 cells/mL 接种于 96 孔板中,培养贴壁 24 h 后 PBS 洗 3 遍,设置不同葡萄糖浓度梯度与 50 mmol/L 葡萄糖干预下的不同时间态度分组。葡萄糖浓度梯度干预:分别加入含 5.5、25、50、75、100 mmol/L 葡萄糖的 DMEM 培养基培养,5.5 mmol/L 为视网膜细胞生理基础糖浓度。每组设 4 个重复孔,干预 48 h;葡萄糖时间梯度干预:时间梯度包括 0、6、12、24、36、48、72 h 干预分组,均加入含 50 mmol/L 葡萄糖的 DMEM 培养基培养,每组设 4 个重复孔。

1.2.3 CCK-8 检测细胞活力 取用不同浓度(5.5、25、50、75、100 mmol/L)葡萄糖干预 48 h 后的 ARPE-19/HUVEC 细胞,每孔加入 10 μ L CCK-8 试剂,37 ℃ 培养箱孵育 2 h 后,使用酶标仪在 450 nm 波长测定各孔的光密度(OD)值,计算每组 4 个重复孔的平均值,实验重复 3 次。

1.2.4 流式细胞术检测不同浓度葡萄糖对 ARPE-19/HUVEC 细胞凋亡的影响 取用不同浓度(5.5、25、50、75、100 mmol/L)葡萄糖干预 48 h 后的 ARPE-19/HUVEC 细胞,使用不含 EDTA 的胰酶进行消化,制成细胞悬液。用 PBS 洗涤细胞 2 次,尽可能吸尽 PBS。用 500 μ L 的 Binding Buffer 悬浮细胞,浓度约为 1×10^6 cells/mL。在细胞悬浮液中加入 5 μ L AnnexinV-FITC,轻轻混匀后,加入 5 μ L Propidium iodide 轻轻混匀,室温、避光反应 8 min,流式细胞仪检测。

1.2.5 Western Blot 检测 SIRT6 与 Bcl-2 蛋白的表达 收集各组细胞,按试剂盒说明提取全蛋白,蛋白定量后,将各组样品进行 SDS-PAGE 电泳,300 mA 电流湿转 60 min,室温条件下,用 10%脱脂奶粉封闭 2 h。TBST 洗膜 3 次,4 ℃ 孵育一抗(SIRT6 1:1 000、Bcl-2 1:1 000、 β -actin 1:5 000)过夜,次日二抗(兔二抗 1:8 000)孵育 90 min,用 Image Lab 凝胶成像图像分析系统显色并采集图像。使用 Image J 软件对蛋白条带灰度值进行统计分析,将各组目的蛋白表达量的灰度值除以内参灰度值进行相对表达量的量化。

1.2.6 免疫荧光检测高糖对 ARPE-19/HUVEC 细胞 SIRT6 蛋白定位和表达的影响 在含有爬片的 6 孔板中接种含 8×10^4 个 ARPE-19/HUVEC 细胞的培养基,经过 24 h 培养贴壁固定后,将细胞随机分为 NC 组(5.5 mmol/L 葡萄糖的培养基处理),和 HG 组(50 mmol/L 葡萄糖培养基处理)。干预培养 48 h 后取出细胞爬片,使用多聚甲醛在室温固定 30 min,TritonX-100 破膜 20 min,山羊血清封闭 30 min,SIRT6 多克隆抗体(1:200 稀释)一抗 4 ℃ 孵育过夜,二抗孵育 1 h,DAPI 对细胞核染色封片,并避光处理

5 min。在荧光显微镜下观察并拍照记录细胞中 SIRT6 蛋白的定位和表达情况。

1.2.7 构建 SIRT6 过表达的 ARPE-19/HUVEC 稳转细胞系 将 ARPE-19/HUVEC 细胞按照 5.0×10^4 个/孔接种在 6 孔板中,分为空载组(LV-con)和 SIRT6 过表达组(LV-SIRT6)。24 h 后,取出 6 孔板,弃上清,PBS 清洗 2 次,根据病毒体积 = MOI $\times$ 感染细胞数/病毒滴度(HUVEC 的 MOI=20、ARPE-19 的 MOI=30)计算出每组细胞所加病毒体积并加入,之后每孔加入 Hi Trans GP(感染增强液)40 μ L,加入低糖 DMEM 完全培养基补充至 1 mL。72 h 后,用荧光显微镜观察感染效率达到 80%以上时,更换为含有 2 μ g/mL 嘌呤霉素的低糖完全培养基,目的是杀死未感染的细胞,筛选出成功感染病毒的细胞。将稳定转染 SIRT6 的空载及过表达病毒的 ARPE-19/HUVEC 细胞分别接种于 10 cm 培养皿中,待细胞贴壁培养 24 h 后,以 PBS 洗涤三次,随后更换为含 50 mmol/L 葡萄糖的高糖培养基处理 48 h,结束后收集细胞以备后续实验。

1.2.8 Western Blot 检测过表达 SIRT6 对高糖干预下细胞内葡萄糖转运蛋白表达的影响 收集各组稳转细胞系(LV-con、LV-SIRT6、HG+LV-con、HG+LV-SIRT6)细胞,按试剂盒说明提取全蛋白,蛋白定量后,将各组样品进行 SDS-PAGE 电泳,300 mA 电流湿转 60 min,室温条件下,用 10%脱脂奶粉封闭 2 h。TBST 洗膜 3 次,4 ℃ 孵育一抗过夜(SIRT6 1:1 000、GLUT1 1:3 000、GLUT3 1:4 000、GLUT4 1:2 000),次日二抗(兔二抗 1:8 000,鼠二抗 1:10 000)孵育 90 min,用 Image Lab 凝胶成像图像分析系统显色并采集图像。使用 Image J 软件对蛋白条带灰度值进行统计分析,将各组目的蛋白表达量的灰度值除以内参灰度值进行相对表达量的量化。

统计学分析:采用 SPSS 20.0 统计学软件对数据进行处理,计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示。多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),若整体差异有统计学意义,进一步采用 Dunnett 检验,将对照组与各实验组分别进行比较。两组独立样本比较采用独立样本 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高糖对 ARPE-19/HUVEC 细胞增殖活性的影响 将 ARPE-19 及 HUVEC 细胞暴露于不同浓度梯度的葡萄糖培养基中,干预结束后,存活细胞数目随葡萄糖浓度上升而减少。CCK-8 增殖实验结果表明,伴随葡萄糖浓度上升,ARPE-19 及 HUVEC 细胞增殖活性下降。相较于 5.5 mmol/L 葡萄糖处理组,25 mmol/L 葡萄糖处理组 ARPE-19 及 HUVEC 细胞活性未见统计学差异(均 *P*>0.05);50、75、100 mmol/L 葡萄糖处理组的细胞活性均呈下降趋势,差异有统计学意义(均 *P*<0.01),见表 1,图 1。实验结果表明,较高浓度的葡萄糖能够抑制 ARPE-19/HUVEC 细胞的增殖能力。

2.2 流式细胞术评估不同浓度葡萄糖对 ARPE-19/HUVEC 细胞凋亡率的影响 结果显示,相较于 5.5 mmol/L 葡萄糖处理组,25 mmol/L 葡萄糖处理组的凋亡率有所上升,但两组差异无统计学意义(均 *P*>0.05);而 50、75、100 mmol/L 葡萄糖处理组中,两种细胞的凋亡率均较 5.5 mmol/L 葡萄糖处理组明显增高,差异有统计学意义(均 *P*<0.05),见表 2,图 2。提示高浓度葡萄糖会诱导 ARPE-19/HUVEC 细胞的凋亡。

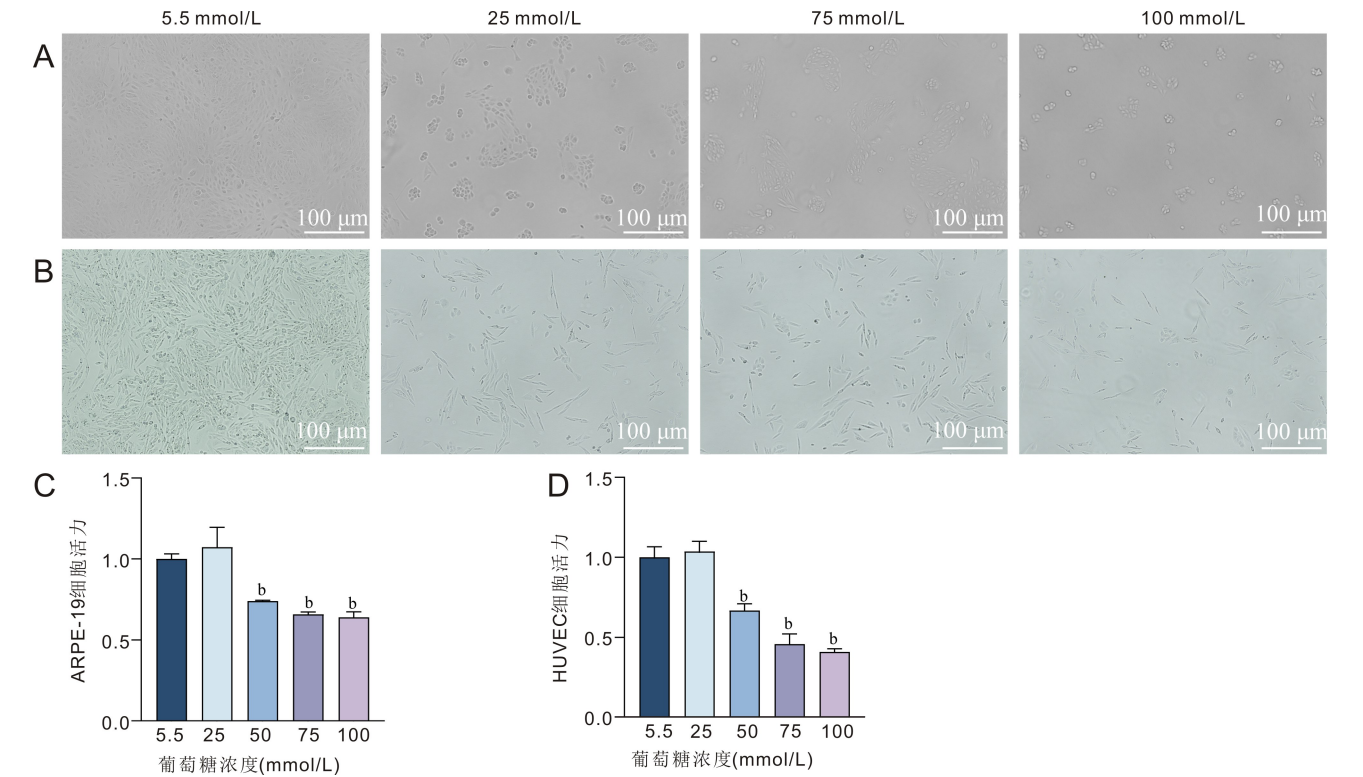


图1 经不同浓度葡萄糖处理 48 h 后 ARPE-19/HUVEC 的增殖活性 A:ARPE-19 细胞光学显微镜形态图;B: HUVEC 细胞光学显微镜形态图;C: ARPE-19 细胞在不同浓度葡萄糖中的增殖活性;D: HUVEC 细胞在不同浓度葡萄糖中的增殖活性;^b*P*<0.01 vs 5.5 mmol/L 组。

表 1 不同浓度葡萄糖干预后各组细胞增殖活性比较 $\bar{x} \pm s$		
葡萄糖浓度 (mmol/L)	ARPE-19 细胞增殖活性	HUVEC 细胞增殖活性
5.5	1.00±0.03	1.00±0.07
25	1.07±0.12	1.04±0.07
50	0.74±0.01 ^b	0.67±0.04 ^b
75	0.66±0.01 ^b	0.46±0.06 ^b
100	0.64±0.03 ^b	0.41±0.02 ^b
<i>F</i>	46.080	128.100
<i>P</i>	<0.001	<0.001

注:^b*P*<0.01 vs 5.5 mmol/L 组。

表 2 不同浓度葡萄糖干预后各组细胞凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)		
葡萄糖浓度 (mmol/L)	ARPE-19 细胞凋亡率	HUVEC 细胞凋亡率
5.5	17.62±1.30	25.50±1.21
25	24.46±5.15	34.90±7.68
50	29.87±0.81 ^a	42.13±8.86 ^b
75	34.47±5.56 ^b	46.55±4.48 ^b
100	36.87±6.22 ^b	69.10±2.25 ^b
<i>F</i>	9.219	32.470
<i>P</i>	0.002	<0.001

注:^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 5.5 mmol/L 组。

2.3 不同浓度葡萄糖对 ARPE-19/HUVEC 细胞 Bcl-2 蛋白表达的影响 Western Blot 分析显示,随着葡萄糖干预浓度的递增,ARPE-19 及 HUVEC 细胞中 Bcl-2 蛋白表达水平均呈下降趋势;与 5.5 mmol/L 葡萄糖处理组相较,在

25 mmol/L 葡萄糖处理条件下,ARPE-19 与 HUVEC 细胞内 Bcl-2 蛋白的表达水平虽有下降,但差异无统计学意义(均 *P*>0.05);当葡萄糖浓度升至 50、75、100 mmol/L 时,两种细胞中该蛋白的表达均出现明显降低,且差异有统计学意义(均 *P*<0.05),见表 3,图 3。

2.4 葡萄糖浓度梯度对 ARPE-19/HUVEC 细胞 SIRT6 蛋白表达的影响 Western Blot 实验结果显示,伴随葡萄糖处理浓度的逐步升高,ARPE-19 及 HUVEC 细胞内 SIRT6 蛋白的表达水平均呈下降趋势;与 5.5 mmol/L 葡萄糖处理组相较,25 mmol/L 葡萄糖处理组中两种细胞的 SIRT6 蛋白表达虽有所降低,但差异无统计学意义(均 *P*>0.05);而当葡萄糖浓度分别升至 50、75、100 mmol/L 时,上述两种细胞内该蛋白的表达相较 5.5 mmol/L 葡萄糖处理组均出现显著下调,差异具有统计学意义(均 *P*<0.05),见表 4,图 4。

2.5 高糖对 ARPE-19/HUVEC 细胞 SIRT6 定位和表达的影响 基于前述结果,50 mmol/L 葡萄糖浓度组可显著下调 ARPE-19 与 HUVEC 细胞中 SIRT6 蛋白的表达水平,据此确认该浓度作为后续高糖干预的适宜有效浓度。经免疫荧光染色检测证实,SIRT6 蛋白主要定位于细胞核区域。与 NC 组相较,HG 组中两类细胞的 SIRT6 表达水平均明显下调(均 *P*<0.05),同时可见显著的细胞核固缩、碎裂等形态学改变,见表 5,图 5。

2.6 高糖处理不同时长对 ARPE-19/HUVEC 细胞中 SIRT6 蛋白表达的影响 将 ARPE-19 与 HUVEC 细胞分别随机划分成 6 组,分别用含 50 mmol/L 葡萄糖的培养基处理 0、6、12、24、36、48、72 h。Western Blot 结果显示,在相同浓度高糖刺激条件下,随处理时间的延长,两种细胞内 SIRT6 蛋白的表达水平均降低。以 0 h 处理组为对照,

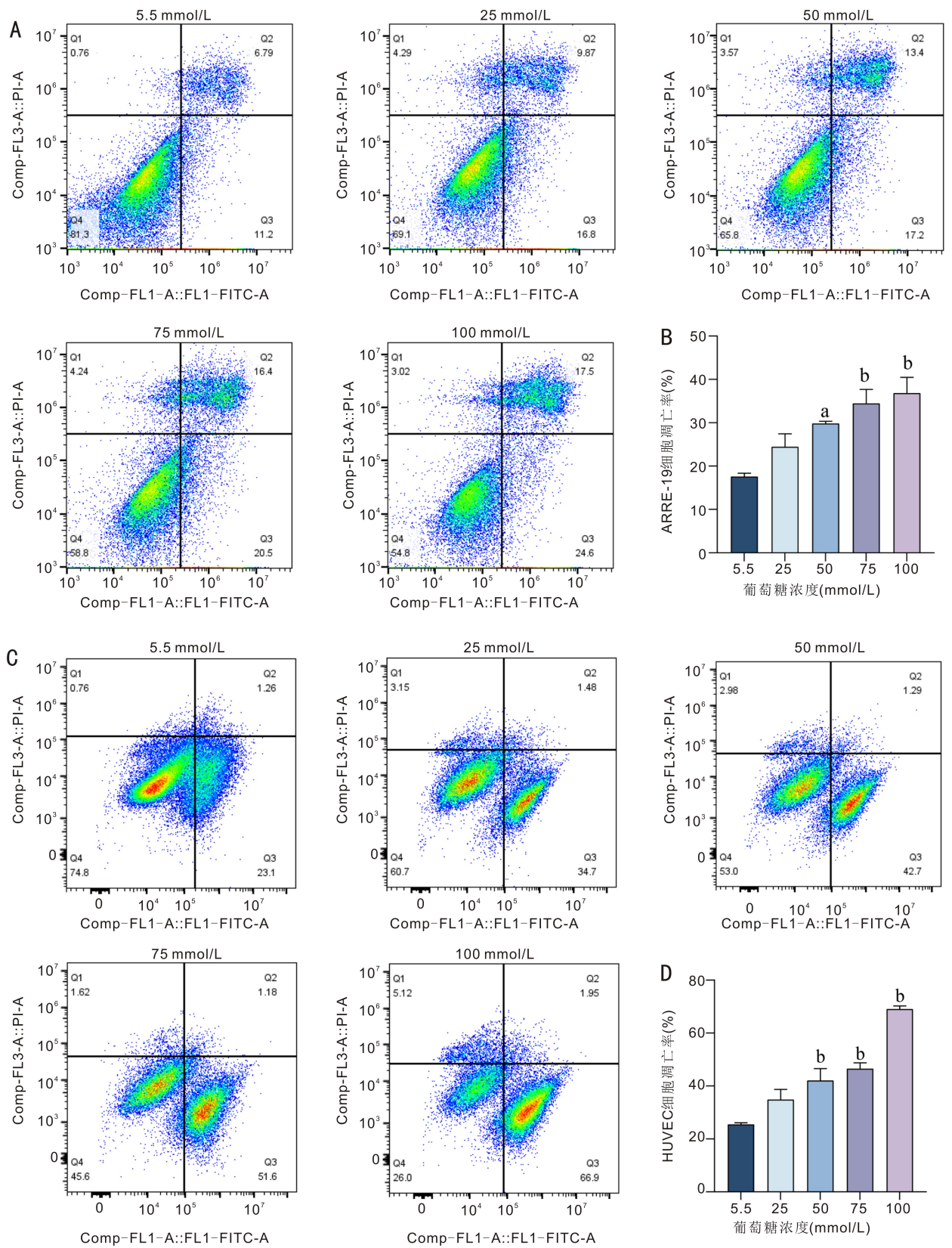


图2 流式细胞术测定不同葡萄糖浓度下 ARPE-19/HUVEC 细胞凋亡率 A: 不同浓度葡萄糖对 ARPE-19 细胞凋亡的影响;B: ARPE-19 细胞凋亡率统计图;C: 不同浓度葡萄糖对 HUVEC 细胞凋亡的影响;D: HUVEC 细胞凋亡率统计图。^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 5.5 mmol/L 组。

ARPE-19 及 HUVEC 细胞经 6、12、24 h 高糖干预后, SIRT6 蛋白表达水平发生变化但差异无统计学意义(均 *P*>0.05);36、48、72 h 处理组的蛋白表达下调,差异有统计学意义(均 *P*<0.05),见表 6,图 6。上述结果提示,长时间高糖干预能降低 ARPE-19 与 HUVEC 细胞内 SIRT6 蛋白的表达水平。

2.7 构建 SIRT6 过表达的 ARPE-19 细胞系 荧光显微镜检测结果表明, LV-SIRT6 慢病毒的转导效率超过

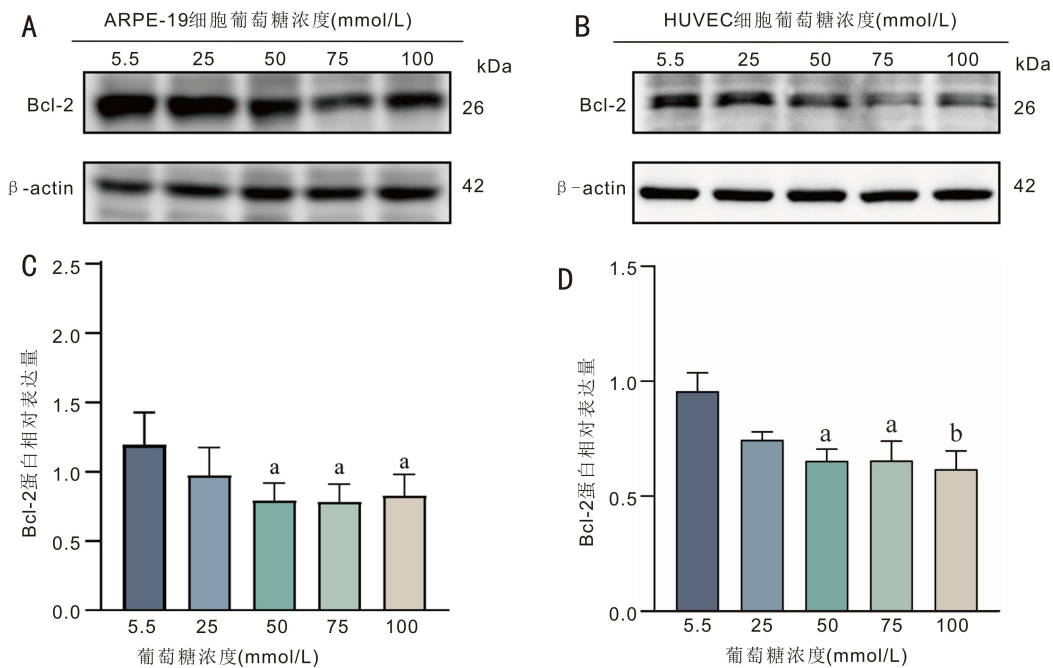


图3 ARPE-19/HUVEC 细胞内 Bcl-2 蛋白在浓度梯度葡萄糖作用下的表达变化 A: 不同浓度葡萄糖干预后 ARPE-19 细胞中 Bcl-2 蛋白的表达条带;B: 不同浓度葡萄糖干预后 HUVEC 细胞中 Bcl-2 蛋白的表达条带;C: ARPE-19 细胞 Bcl-2 蛋白相对表达量统计柱状图;D: HUVEC 细胞 Bcl-2 蛋白相对表达量统计柱状图。^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 5.5 mmol/L 组。

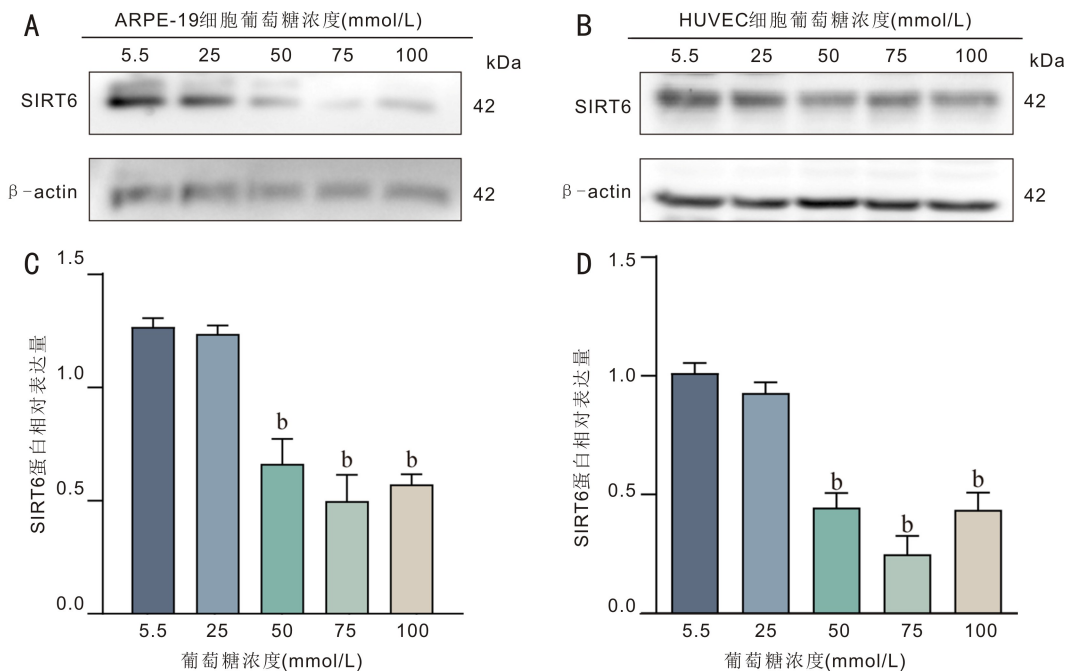


图4 葡萄糖浓度梯度对 ARPE-19/HUVEC 细胞 SIRT6 蛋白表达水平的影响 A: ARPE-19 不同葡萄糖浓度的 SIRT6 蛋白表达; B: HUVEC 不同葡萄糖浓度的 SIRT6 蛋白表达;C: ARPE-19 细胞 SIRT6 蛋白相对表达量统计图;D: HUVEC 细胞 SIRT6 蛋白相对表达量统计图。^b $P<0.01$ vs 5.5 mmol/L 组。

80%,符合稳定转染细胞系的构建要求,见图 7A,B。通过蛋白质印迹检测进一步证实,与 LV-con 对照组相较,稳定转染 LV-SIRT6 的细胞中 SIRT6 的表达量明显上调($P<0.01$),见图 7C,D。由此表明,稳定过表达 SIRT6 的 ARPE-19 细胞系已成功建立。

2.8 过表达 SIRT6 对高糖环境下 ARPE-19 细胞葡萄糖转运蛋白表达的影响 Western Blot 结果显示,与 HG + LV-con 组相比, HG + LV-SIRT6 组细胞中 GLUT1 与 GLUT4 的表达差异无统计学意义(均 $P>0.05$), GLUT3 表

达升高,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 7,图 8。提示过表达 SIRT6 可促进高糖培养的 ARPE-19 细胞中部分葡萄糖转运蛋白的表达,进而改善糖代谢紊乱。

2.9 构建 SIRT6 过表达的 HUVEC 细胞系 荧光显微镜观察显示, LV-SIRT6 慢病毒对 HUVEC 细胞的感染效率高于 80%,达到稳定转染细胞株的构建标准。进一步通过 Western Blot 实验分析发现,与 LV-con 组相比, LV-SIRT6 组细胞中 SIRT6 蛋白的表达水平显著上调($P<0.01$),见图 9,证实稳定过表达 SIRT6 的 HUVEC 细胞系已成功构建。

表3不同浓度葡萄糖干预后ARPE-19/HUVEC细胞Bcl-2蛋白表达比较

蛋白表达比较			$\bar{x} \pm s$
葡萄糖浓度 (mmol/L)	ARPE-19 细胞 Bcl-2 蛋白相对表达量	HUVEC 细胞 Bcl-2 蛋白相对表达量	
5.5	1.20±0.23	0.96±0.18	
25	0.98±0.20	0.75±0.08	
50	0.80±0.12 ^a	0.65±0.11 ^a	
75	0.79±0.13 ^a	0.66±0.19 ^a	
100	0.83±0.15 ^a	0.62±0.18 ^b	
<i>F</i>	4.166	4.038	
<i>P</i>	0.018	0.015	

注:^a*P*<0.05,^b*P*<0.01 vs 5.5 mmol/L 组。

表4不同浓度葡萄糖干预后ARPE-19/HUVEC细胞SIRT6蛋白表达比较

蛋白表达比较			$\bar{x} \pm s$
葡萄糖浓度 (mmol/L)	ARPE-19 细胞 SIRT6 蛋白相对表达量	HUVEC 细胞 SIRT6 蛋白相对表达量	
5.5	1.26±0.10	1.01±0.11	
25	1.22±0.08	0.93±0.12	
50	0.66±0.24 ^b	0.45±0.16 ^b	
75	0.51±0.35 ^b	0.25±0.21 ^b	
100	0.57±0.10 ^b	0.44±0.19 ^b	
<i>F</i>	15.530	29.960	
<i>P</i>	<0.001	<0.001	

注:^b*P*<0.01 vs 5.5 mmol/L 组。

表5高糖对ARPE-19/HUVEC细胞SIRT6表达的比较

			$\bar{x} \pm s$
组别	ARPE-19 细胞 SIRT6 相对荧光强度	HUVEC 细胞 SIRT6 相对荧光强度	
NC 组	47.60±2.68	46.45±1.49	
HG 组	32.84±6.15	32.73±1.45	
<i>t</i>	4.400	11.430	
<i>P</i>	0.005	<0.001	

2.10 过表达 SIRT6 对高糖环境下 HUVEC 细胞葡萄糖转运蛋白表达的影响 Western Blot 分析结果显示,与 HG+LV-con 组相比,HG+LV-SIRT6 组细胞中 GLUT1 蛋白的表达差异无统计学意义(*P*>0.05),GLUT3、GLUT4 表达升高,差异有统计学意义(均 *P*<0.05),见表 8,图 10。提示过表达 SIRT6 可促进高糖培养的 HUVEC 细胞中部分葡萄糖转运蛋白的表达,进而改善糖代谢紊乱。

3 讨论

DR 是一类严重损害视功能的微血管病变,以视网膜血管渗漏、局部微循环缺血、异常新生血管生成和局部炎症反应为核心病理特征。其典型临床表现可见棉絮斑、渗出物、小静脉迂曲、微动脉瘤和视网膜出血,进而引发视力敏锐度降低、色觉减退,并伴随夜间视物障碍^[22-23]。2020 年全球约有 1.03 亿成年人患有 DR,发病率约占糖尿病患者总数的 40%,是 20-65 岁人群主要的致盲原因,预计到 2045 年这一数字将上升到 1.6 亿^[24-25]。由 DR 引发的视力减退甚至失明,不仅严重影响患者生活质量,也给社会医疗体系带来沉重的负担^[26]。

表6高糖处理不同时长对ARPE-19/HUVEC细胞中SIRT6蛋白表达比较

蛋白表达比较			$\bar{x} \pm s$
时间(h)	ARPE-19 细胞 SIRT6 蛋白相对表达量	HUVEC 细胞 SIRT6 蛋白相对表达量	
0	1.03±0.03	1.18±0.40	
6	0.93±0.30	1.37±0.29	
12	0.74±0.07	1.40±0.45	
24	0.96±0.19	0.98±0.33	
36	0.65±0.20 ^b	0.64±0.10 ^a	
48	0.63±0.24 ^b	0.12±0.05 ^b	
72	0.47±0.11 ^b	0.19±0.04 ^b	
<i>F</i>	7.369	17.660	
<i>P</i>	<0.001	<0.001	

注:^a*P*<0.05,^b*P*<0.01 vs 0 h 组。

表7过表达SIRT6对高糖干预的ARPE-19细胞糖代谢相关因子表达比较

因子表达比较				$\bar{x} \pm s$
组别	GLUT1	GLUT3	GLUT4	
HG+LV-con 组	0.88±0.25	1.23±0.10	0.85±0.11	
HG+LV-SIRT6 组	0.34±0.33	1.45±0.05	1.28±0.35	
<i>t</i>	2.294	3.262	1.994	
<i>P</i>	0.084	0.031	0.117	

表8过表达SIRT6对高糖干预的HUVEC细胞糖代谢相关因子表达比较

子表达比较				$\bar{x} \pm s$
组别	GLUT1	GLUT3	GLUT4	
HG+LV-con 组	1.59±0.22	0.95±0.11	1.06±0.16	
HG+LV-SIRT6 组	1.35±0.12	1.57±0.34	2.01±0.51	
<i>t</i>	1.648	2.997	3.058	
<i>P</i>	0.175	0.040	0.038	

视网膜色素上皮细胞是位于视网膜和高度血管化的脉络膜之间的单层极化上皮细胞,以多种方式支持视网膜光感受器的生存和功能,包括血-视网膜屏障、类视黄醇发色团的回收、感光器外端的吞噬作用、营养和氧气的转移以及共生能量代谢^[27-28]。研究发现,随着时间的推移,高糖会降低视网膜色素上皮细胞的愈合能力和增殖能力,增加细胞凋亡^[29]。内皮细胞是血管壁与血液之间的分界细胞,能参与血管收缩、凝血、血管生成以及运输功能^[10]。内皮细胞对血糖的变化十分敏感,当内皮细胞出现慢性炎症或高糖状态时,细胞间的联系减弱,内皮细胞会发生损伤及形态改变^[30],持续的高血糖状态将损害血管内皮结构,破坏血管壁的完整性,增加血管的通透性^[31]。本研究通过体外高糖干预人源视网膜色素上皮细胞和血管内皮细胞,进一步验证并扩展了上述损伤效应。实验结果显示,高糖处理导致 ARPE-19 细胞与 HUVEC 细胞增殖能力均受到明显抑制;而且细胞核出现明显的核固缩、核碎裂现象。流式细胞术检测结果同样确定了高浓度葡萄糖会诱导 ARPE-19/HUVEC 细胞的凋亡。与此同时,经梯度浓度葡萄糖处理后,Bcl-2 蛋白表达水平随葡萄糖浓度升高逐步降低;本研究证实高浓度葡萄糖可诱导 ARPE-19 及 HUVEC 细胞凋亡,最终筛选确定 50 mmol/L 作为高糖干预的适宜浓度。

SIRT6 是哺乳动物 NAD+依赖性蛋白脱乙酰酶家族的

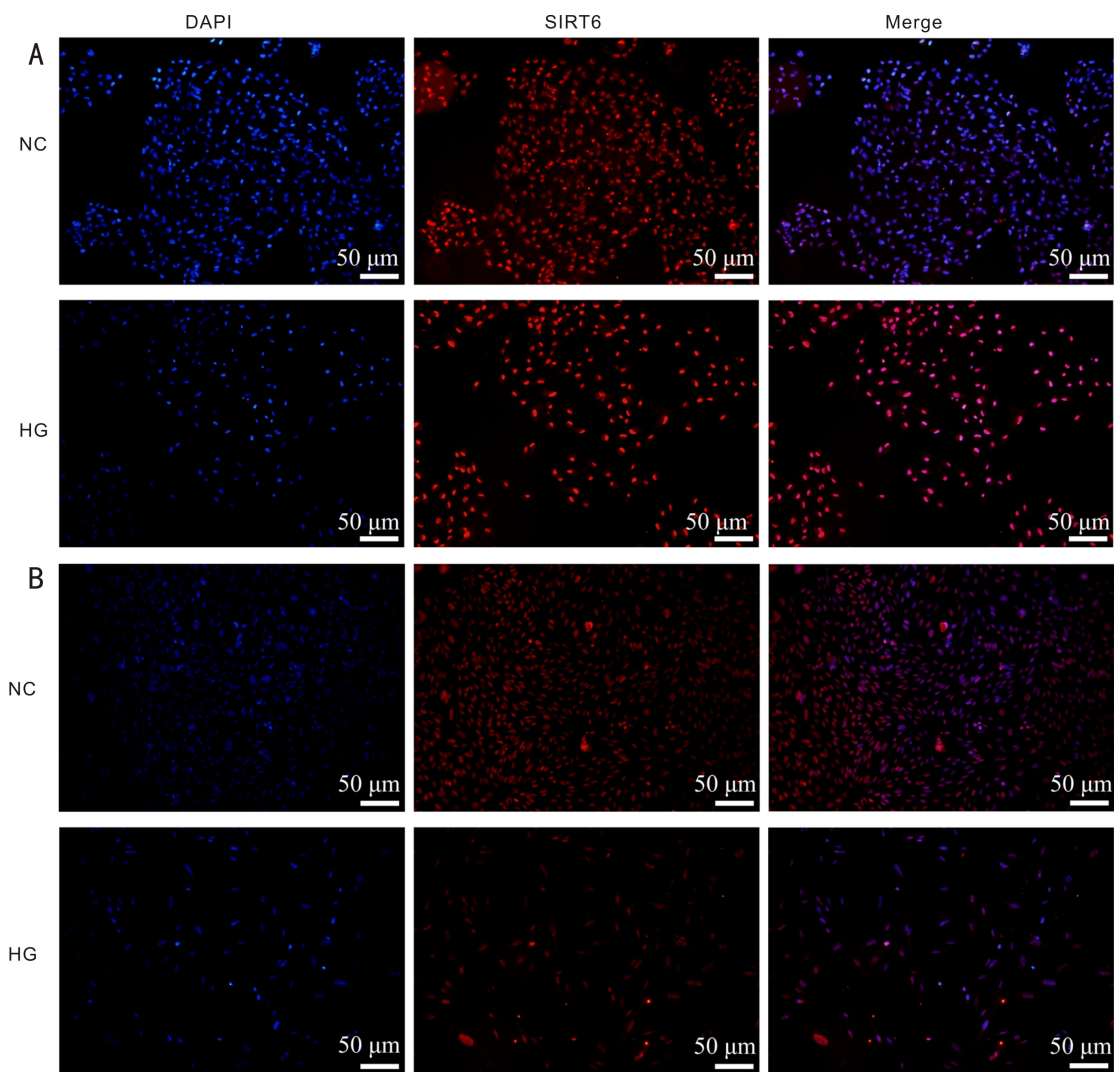


图5 正常及高糖条件下 ARPE-19/HUVEC 细胞中 SIRT6 蛋白的表达定位分析 A:ARPE-19 细胞经免疫荧光染色后 SIRT6 荧光信号的检测结果;B:HUVEC 细胞经免疫荧光染色后 SIRT6 荧光信号的检测结果。

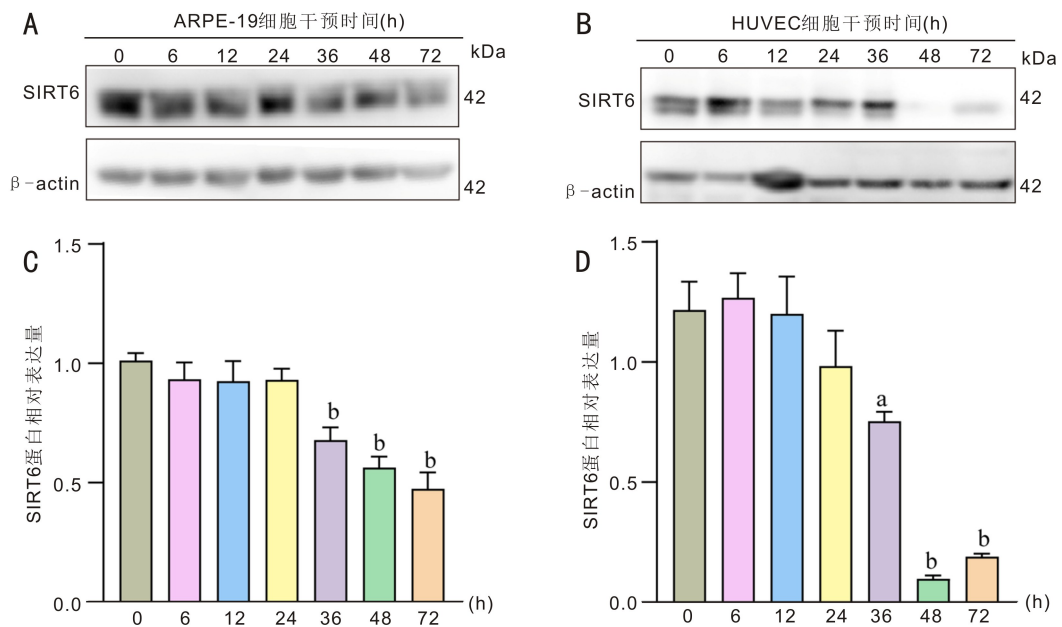


图6 高糖处理不同时长对 ARPE-19/HUVEC 细胞 SIRT6 蛋白表达的影响 A: ARPE-19 细胞不同时间梯度的 SIRT6 蛋白表达; B: HUVEC 细胞不同时间梯度的 SIRT6 蛋白表达;C: ARPE-19 细胞 SIRT6 蛋白相对表达量统计图;D: HUVEC 细胞 SIRT6 蛋白相对表达量统计图。^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 0 h 组。

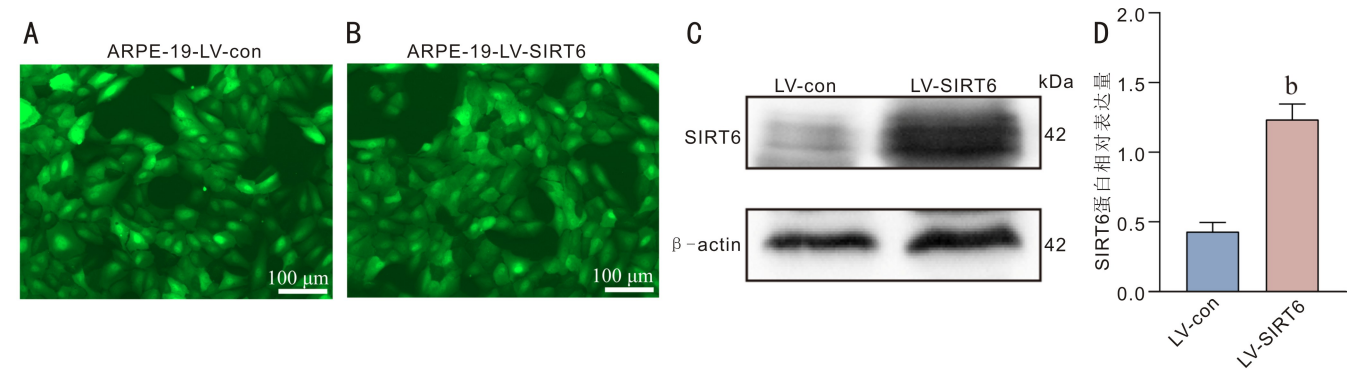


图7 过表达SIRT6的ARPE-19细胞株构建效果验证 A:LV-con对照慢病毒转染后ARPE-19细胞感染效率的免疫荧光图像;B:LV-SIRT6慢病毒转染后ARPE-19细胞感染效率的免疫荧光图像;C:两组细胞SIRT6蛋白的Western Blot检测条带;D:SIRT6蛋白表达水平的相对定量统计图;^b*P*<0.01 vs LV-con组。

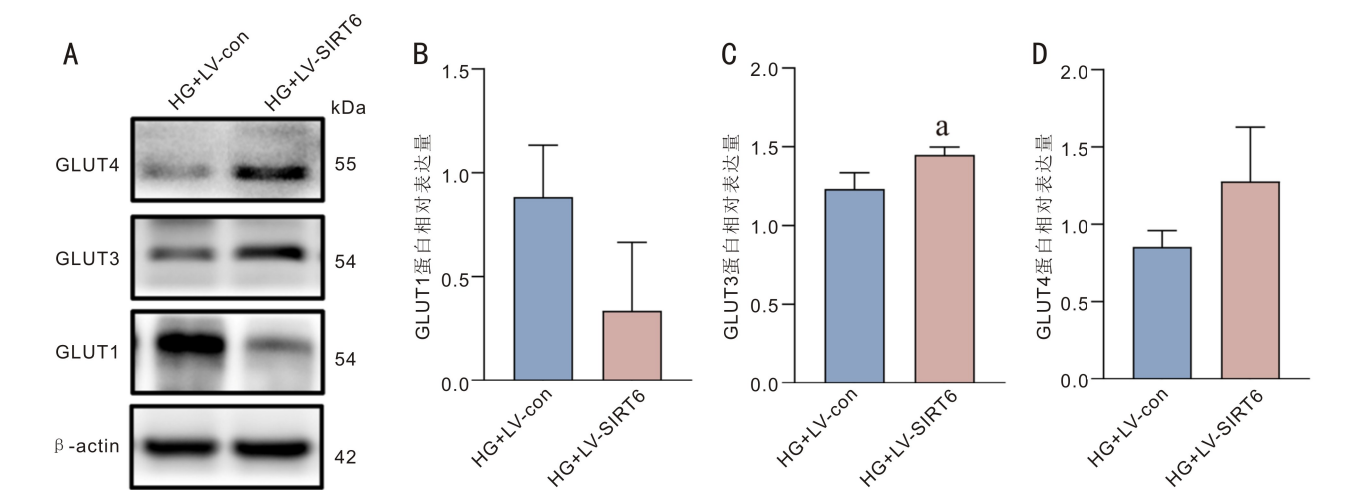


图8 SIRT6过表达对高糖干预的ARPE-19细胞中糖代谢相关因子表达的结果 A:两组ARPE-19细胞的SIRT6蛋白Western Blot结果图;B:GLUT1蛋白相对表达量统计图;C:GLUT3蛋白相对表达量统计图;D:GLUT4蛋白相对表达量统计图;^a*P*<0.05 vs HG+LV-con组。

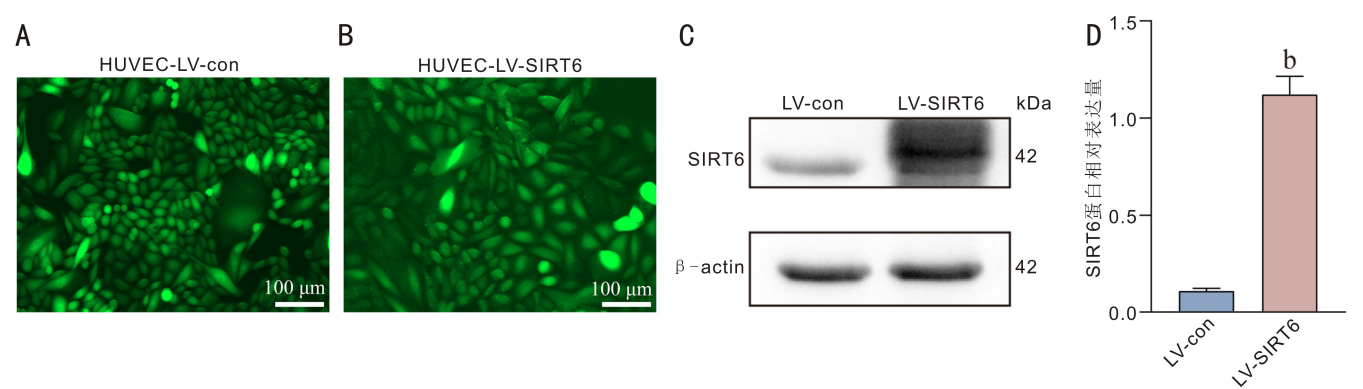


图9 SIRT6过表达稳转HUVEC细胞系的鉴定 A:LV-con对照慢病毒转染后HUVEC细胞感染效率的免疫荧光图像;B:LV-SIRT6慢病毒转染后HUVEC细胞感染效率的免疫荧光图像;C:两组细胞SIRT6蛋白的Western Blot检测条带;D:SIRT6蛋白表达水平的相对定量统计图;^b*P*<0.01 vs LV-con组。

成员,该家族由SIRT6的七个同源物(SIRT1-7)组成,具有葡萄糖稳态的调节、DNA修复、抗氧化防御、NF-κB靶基因的抑制等功能^[32-33]。研究表明SIRT6在保护血管和心脏内皮功能^[34],缓解动脉粥样硬化^[35]、病理性心脏肥大、心肌纤维化^[36]等方面极其重要。SIRT6可以通过控制Müller细胞的表观遗传状态改变细胞的生理功能^[37],SIRT6能够通过抑制糖酵解来调节能量代谢,保护视网膜神经节细胞免受氧化应激。并且其也能够通过保持心脏微血管功能和完整性,在心脏缺血再灌注损伤中发挥积极作用^[38]。我们前期研究发现,与正常组相比,糖尿病大鼠视网膜组织中的SIRT6 mRNA和蛋白的表达水平降

低^[39]。该结果与本研究体外高糖干预下ARPE-19及HUVEC细胞中SIRT6表达呈浓度和时间依赖性下调的趋势完全一致,进一步验证了SIRT6在DR状态下普遍受抑制的客观规律,并量化了其下调与高糖暴露强度及持续时间的定量关系。

葡萄糖转运蛋白家族作为介导葡萄糖跨膜转运的核心载体,其表达模式与功能活性的异常是驱动DR发展的关键分子机制。GLUT1、GLUT3和GLUT4作为视网膜中主要的葡萄糖转运蛋白,其表达模式与功能调控的异质性决定了不同视网膜细胞类型对高血糖的特异性应答,进而影响DR的进展轨迹。GLUT1是维持血-视网膜屏障功能

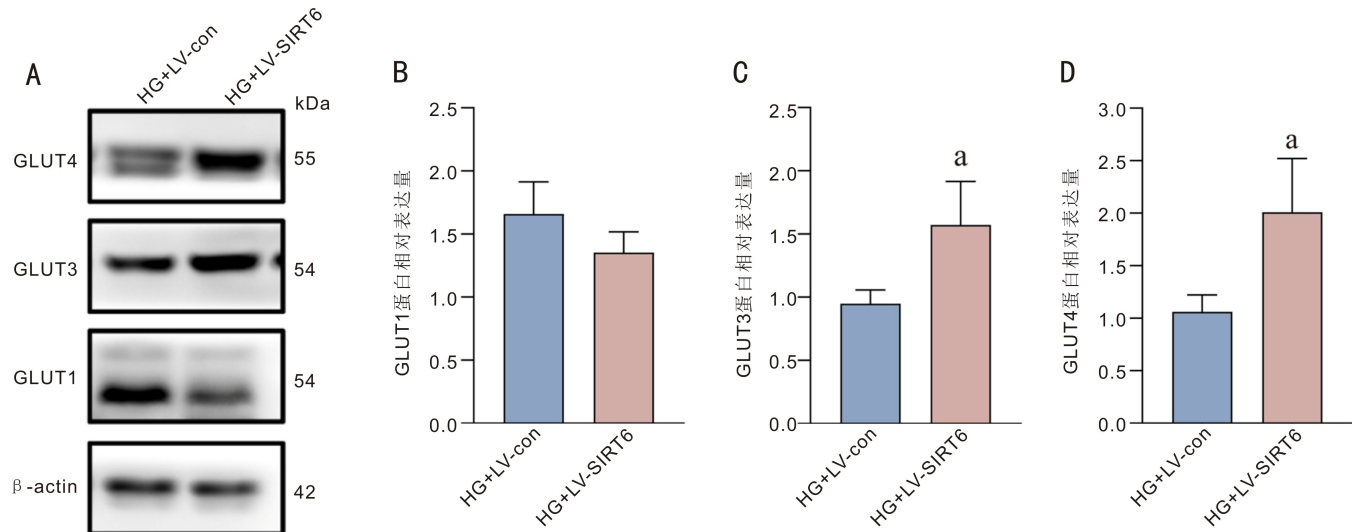


图 10 SIRT6 过表达对高糖干预的 HUVEC 细胞中糖代谢相关因子表达的结果 A: 两组 HUVEC 细胞的 SIRT6 蛋白 Western Blot 条带图;B: GLUT1 蛋白相对表达量统计图;C: GLUT3 蛋白相对表达量统计图;D: GLUT4 蛋白相对表达量统计图;^a*P*<0.05 *vs* HG+LV-con 组。

的核心转运蛋白,在糖尿病状态下, GLUT1 的表达调控发生显著改变。长期高血糖刺激可诱导视网膜内皮细胞 GLUT1 表达上调,导致葡萄糖过度流入视网膜组织,加剧局部代谢应激^[40]。 GLUT3 是神经元特异性葡萄糖转运蛋白,其对葡萄糖具有高亲和力特征,这一特性使其能够在葡萄糖浓度波动环境中为神经元提供可靠的代谢保障^[41]。在 DR 病理进程中, GLUT3 表达呈现下降趋势,这与视网膜神经退行性变的早期发生密切相关。 GLUT4 是胰岛素敏感的葡萄糖转运蛋白^[42],在糖尿病状态下, GLUT4 的表达受到抑制, STZ 诱导的糖尿病大鼠模型显示视网膜 GLUT4 表达降低。这些均可能导致视网膜细胞对葡萄糖的摄取减少,细胞外葡萄糖积累增加,进而引发神经元凋亡和神经胶质细胞活化,最终导致神经退行性改变^[43]。在本研究中我们建立了 SIRT6 过表达的 ARPE-19/HUVEC 稳转细胞系。研究发现, SIRT6 过表达对高糖诱导的葡萄糖转运蛋白表达异常呈现差异性调控作用。具体而言,在 ARPE-19 细胞中,与高糖对照相比,过表达 SIRT6 未引起 GLUT1 和 GLUT4 蛋白水平的显著变化(均 *P*>0.05),但显著上调了 GLUT3 的表达(*P*<0.05);在 HUVEC 细胞中,过表达 SIRT6 同样未显著改变 GLUT1 的表达(*P*>0.05),但可同时升高 GLUT3 和 GLUT4 的表达(均 *P*<0.05)。这一结果表明 SIRT6 过表达可促进高糖培养的视网膜相关细胞中部分葡萄糖转运蛋白的表达,从而改善糖代谢紊乱,但其效应存在细胞类型及转运蛋白亚型特异性。 ARPE-19 与 HUVEC 细胞中 GLUT1 及 ARPE-19 中 GLUT4 对 SIRT6 过表达的无响应性,可能源于高糖微环境下 GLUT1 的代偿稳态饱和、 GLUT4 组织分布的局限性以及视网膜色素上皮细胞与血管内皮细胞在胰岛素信号通路完整性上的差异;而 GLUT3 在这两种细胞中的同步上调则提示其作为 SIRT6 调控糖代谢的共同靶点,在糖尿病视网膜早期病变的神经血管单元能量代谢重编程中可能发挥更为核心的作用。

综合上述结果,高浓度葡萄糖可引发人源视网膜色素上皮细胞与血管内皮细胞发生损伤,使其增殖能力减弱,并诱导这两类细胞走向凋亡,同时伴随 SIRT6 蛋白表达水平的下降。鉴于 SIRT6 蛋白在维持机体葡萄糖稳态方面

具有重要功能,推测在 DR 过程中, SIRT6 可能是介导视网膜色素上皮细胞及内皮细胞损伤的关键靶基因之一。然而,其具体分子机制及所涉及的相关信号通路仍需后续深入探讨。

相较于既往同类研究,本研究同时选取视网膜色素上皮细胞与血管内皮细胞作为研究对象,从神经血管单元损伤的视角出发,更贴近 DR 复杂的病理微环境,也为理解 SIRT6 在不同视网膜细胞类型中的功能异质性提供了直接比较依据;本研究设置多浓度梯度与时间梯度高糖干预条件,明确高糖诱导视网膜细胞损伤及抑制 SIRT6 表达的浓度和时间依赖性,弥补了过往研究时效关系不明确的缺陷;本研究成功构建 SIRT6 表达稳转细胞系,针对性分析 SIRT6 对 GLUT1、 GLUT3、 GLUT4 三种视网膜关键葡萄糖转运蛋白的差异化调控作用,明确了 SIRT6 可特异性上调视网膜细胞内 GLUT3、 GLUT4 蛋白表达,分析了 SIRT6 对不同葡萄糖转运蛋白亚型调控作用的细胞差异性,完善了现有 DR 糖代谢紊乱相关分子调控网络。从临床角度,本研究结果提示 SIRT6 可作为 DR 早期干预的潜在分子靶点。 SIRT6 过表达能够改善高糖诱导的视网膜细胞凋亡和葡萄糖转运蛋白表达异常,为以 SIRT6 为靶点的基因治疗或药物激活策略提供了理论依据。

本研究仍存在一定不足之处:(1) 本研究采用 50 mmol/L 葡萄糖浓度模拟高糖环境,该浓度高于临床生理性血糖水平,虽然在体外条件下加速高糖损伤效应的显现,在较短时间内观察到细胞功能改变,但是整体观察时间相对较短,未能模拟长期慢性高糖暴露对视网膜细胞的累积性损伤效应;(2) 本次研究仅以体外细胞模型开展相关实验,未构建 DR 动物的体内模型,无法还原体内复杂炎症微环境、血流动力学变化及多细胞交互作用,实验结果难以完全复刻体内真实病理变化,有待进一步验证;(3) 本研究仅明确了 SIRT6 对葡萄糖转运蛋白的调控作用,未进一步挖掘该调控过程上下游关联信号通路,未能完整阐明 SIRT6 缓解高糖诱导视网膜细胞损伤的完整分子调控网络;(4) 研究仅设置 SIRT6 过表达实验组,未增设 SIRT6 基因沉默干扰组进行反向验证,分子调控机制的论证完整性有所欠缺。后续研究可进一步构建体内动物

模型,联合基因沉默与信号通路抑制剂干预实验,从体内外双重层面完整阐明 SIRT6 调控葡萄糖转运蛋白表达、拮抗高糖视网膜损伤的具体分子通路,同时在时间梯度实验中增设各时间点对应的正常培养对照组,以更严谨地验证高糖对 SIRT6 时间依赖性抑制效应的特异性,进而为糖尿病视网膜病变临床防治药物的研发提供更加全面、可靠的实验依据。

利益冲突声明:本文不存在利益冲突。

作者贡献声明:张茜论文选题与修改,实验实施,实验数据的系统整理与深度分析,论文主要撰写;罗明秀技术指导,资源支持;郭玉参与部分实验操作,数据收集;罗飞扬、马媛文献检索,数据分析;姚青选题指导,论文修改及审阅,资金支持。所有作者阅读并同意最终的文本。

参考文献

[1] Gomulka K, Ruta michał. The role of inflammation and therapeutic concepts in diabetic retinopathy—a short review. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2):1024.

[2] Fung TH, Patel B, Wilmot EG, et al. Diabetic retinopathy for the non-ophthalmologist. *Clin Med*, 2022, 22(2):112–116.

[3] Murakami T, Ishihara K, Terada N, et al. Pathological neurovascular unit mapping onto multimodal imaging in diabetic macular edema. *Medicina (Kaunas)*, 2023, 59(5):896.

[4] 国家老年医学中心,中华医学会老年医学分会,中国老年保健协会糖尿病专业委员会,等.中国老年糖尿病诊疗指南(2024版).*协和医学杂志*, 2024, 15(4):771–800.

[5] Zhu H, Li BQ, Huang T, et al. Update in the molecular mechanism and biomarkers of diabetic retinopathy. *Biochim Biophys Acta BBA Mol Basis Dis*, 2025, 1871(5):167758.

[6] Hansman DS, Du JH, Casson RJ, et al. Eye on the horizon: The metabolic landscape of the RPE in aging and disease. *Prog Retin Eye Res*, 2025, 104:101306.

[7] Puddu A, Balbi M, Ravera S, et al. Insulin production in the retina drives autocrine signalling and metabolism reprogramming of the ARPE-19, a retinal pigment epithelium cellular model. *Cell Mol Life Sci*, 2026, 83(1):259.

[8] Maurya M, Bora K, Blomfield AK, et al. Oxidative stress in retinal pigment epithelium degeneration: from pathogenesis to therapeutic targets in dry age-related macular degeneration. *Neural Regen Res*, 2023, 18(10):2173–2181.

[9] Chilton R, Iranpour EI, Bloomgarden Z. Deciphering the connection: Diabetes, pericyte dysfunction, and their impact on cardiovascular health. *J Diabetes*, 2024, 16(2):e13539.

[10] Kang QZ, Yang CX. Oxidative stress and diabetic retinopathy: Molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications. *Redox Biol*, 2020, 37:101799.

[11] Navas-Enamorado I, Bernier M, Brea-Calvo G, et al. Influence of anaerobic and aerobic exercise on age-related pathways in skeletal muscle. *Ageing Res Rev*, 2017, 37:39–52.

[12] 李悦,李盛国. Sirt6 在眼科疾病中的病理生理学机制研究进展. *国际眼科杂志*, 2025, 25(6):946–950.

[13] Chang AR, Ferrer CM, Mostoslavsky R. SIRT6, a mammalian deacetylase with multitasking abilities. *Physiol Rev*, 2020, 100(1):145–169.

[14] Guo ZY, Li P, Ge JB, et al. SIRT6 in aging, metabolism, inflammation and cardiovascular diseases. *Aging Dis*, 2022, 13(6):1787–1822.

[15] Zhang CY, Gu LM, Xie H, et al. Glucose transport, transporters and metabolism in diabetic retinopathy. *Biochim Biophys Acta BBA Mol Basis Dis*, 2024, 1870(3):166995.

[16] Yokomizo H, Maeda Y, Park K, et al. Retinol binding protein 3 is increased in the retina of patients with diabetes resistant to diabetic retinopathy. *Sci Transl Med*, 2019, 11(499):eaa06627.

[17] Iwata N, Okazaki M, Xuan MY, et al. Orally administrated ascorbic acid suppresses neuronal damage and modifies expression of SVCT2 and GLUT1 in the brain of diabetic rats with cerebral ischemia-reperfusion. *Nutrients*, 2014, 6(4):1554–1577.

[18] Mishra K, Nath M, Halder N, et al. Evaluation of the possibility of selective modulation of retinal glucose transporters in diabetic complications: an experimental study. *Indian J Pharmacol*, 2020, 52(6):495–504.

[19] Zolfaghari N, Soheili ZS, Samiei S, et al. microRNA-96 targets the INS/AKT/GLUT4 signaling axis: Association with and effect on diabetic retinopathy. *Heliyon*, 2023, 9(5):e15539.

[20] 郭玉,白文帆,田亚平,等.糖尿病肝脏病变中 GLUTs 和 SIRT6 表达水平的研究. *中国病理生理杂志*, 2024, 40(2):326–334.

[21] 徐磊. 胎盘 SIRT6 异常表达参与妊娠糖尿病发病的分子机制研究. 绍兴文理学院, 2024.

[22] Tang L, Xu GT, Zhang JF. Inflammation in diabetic retinopathy: possible roles in pathogenesis and potential implications for therapy. *Neural Regen Res*, 2023, 18(5):976–982.

[23] 徐嘉欣,彭茜,刘超群,等.表观遗传学调控在糖尿病视网膜病变发生发展中的研究进展. *国际眼科杂志*, 2026, 26(3):435–440.

[24] Steinmetz JD, Bourne RRA, Briant PS, et al. Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: the Right to Sight: an analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Glob Heal*, 2021, 9(2):e144–e160.

[25] Hou XH, Wang LM, Zhu DL, et al. Prevalence of diabetic retinopathy and vision-threatening diabetic retinopathy in adults with diabetes in China. *Nat Commun*, 2023, 14(1):4296.

[26] Liao LZ, Wang HY, Liang J, et al. Diabetes mellitus-induced blindness and vision loss, 1990–2021: a global, regional, and national analysis. *J Diabetes Metab Disord*, 2026, 25(1):94.

[27] Hurley JB. Retina metabolism and metabolism in the pigmented epithelium: a busy intersection. *Annu Rev Vis Sci*, 2021, 7:665–692.

[28] Lakkaraju A, Umapathy A, Tan LX, et al. The cell biology of the retinal pigment epithelium. *Prog Retin Eye Res*, 2020:100846.

[29] Oh JR, Han JW, Kim YK, et al. The effects of anti-vascular endothelial growth factor agents on human retinal pigment epithelial cells under high glucose conditions. *Int J Ophthalmol*, 2017, 10(2):203–210.

[30] Triggler CR, Ding H, Marei I, et al. Why the endothelium? The endothelium as a target to reduce diabetes-associated vascular disease. *Can J Physiol Pharmacol*, 2020, 98(7):415–430.

[31] Kang HY, Ma XJ, Liu JJ, et al. High glucose-induced endothelial progenitor cell dysfunction. *Diabetes Vasc Dis Res*, 2017, 14(5):381–394.

[32] Harlan BA, Pehar M, Killoy KM, et al. Enhanced SIRT6 activity abrogates the neurotoxic phenotype of astrocytes expressing ALS-linked mutant SOD1. *FASEB J*, 2019, 33(6):7084–7091.

[33] Ji ZJ, Liu GH, Qu J. Mitochondrial sirtuins, metabolism, and aging. *J Genet Genom*, 2022, 49(4):287–298.

[34] Guo J, Wang ZY, Wu JC, et al. Endothelial SIRT6 is vital to prevent hypertension and associated cardiorenal injury through targeting Nkx3.2-GATA5 signaling. *Circ Res*, 2019, 124(10):1448–1461.

[35] Xu SW, Yin MM, Koroleva M, et al. SIRT6 protects against endothelial dysfunction and atherosclerosis in mice. *Aging*, 2016,8(5):1064–1082.

[36] Tian KM, Liu ZP, Wang JJ, et al. Sirtuin–6 inhibits cardiac fibroblasts differentiation into myofibroblasts *via* inactivation of nuclear factor κ B signaling. *Transl Res*, 2015,165(3):374–386.

[37] Cheng J, Keuthan CJ, Esumi N. The many faces of SIRT6 in the retina and retinal pigment epithelium. *Front Cell Dev Biol*, 2023,11:1244765.

[38] Guo ZY, Yu XT, Zhao S, et al. SIRT6 deficiency in endothelial cells exacerbates oxidative stress by enhancing HIF1 α accumulation and H3K9 acetylation at the *Ero1 α* promoter. *Clin Transl Med*, 2023,13(8):e1377.

[39] 白文帆, 郭玉, 伏等弟, 等. 葡萄糖转运蛋白 GLUT1/4 和 Sirtuins 在糖尿病大鼠视网膜中的表达. *眼科新进展*, 2024,44(4):

270–274.

[40] Xu H, Zhang LB, Luo YY, et al. Synaptotagmins family affect glucose transport in retinal pigment epithelial cells through their ubiquitination – mediated degradation and glucose transporter – 1 regulation. *World J Diabetes*, 2024,15(5):958–976.

[41] Li XT, Yang M, Wang TT, et al. GLUT1 and GLUT3 in brain glucose metabolism: mechanisms, regulation, and implications for metabolic disorders. *Metab Brain Dis*, 2025,41(1):3.

[42] Ramos–Jiménez A, Rubio–Valles M, Guereca–Arvizuo J, et al. Canonical and alternative pathways (insulin and exercise) of GLUT4 synthesis, signaling, intracellular clustering, and recruitment to the plasma membrane. *Int J Mol Sci*, 2026,27(8):3475.

[43] Reagan LP, Magariños AM, Lucas LR, et al. Regulation of GLUT–3 glucose transporter in the hippocampus of diabetic rats subjected to stress. *Am J Physiol*, 1999,276(5):E879–E886.