

# 基于 BMP2/Smad 信号通路探讨电针对实验性近视豚鼠巩膜重塑的影响

王普博<sup>1\*</sup>, 刘一洁<sup>1\*</sup>, 郝琪<sup>1</sup>, 毕宏生<sup>2</sup>, 吴秋欣<sup>2</sup>, 卢秀珍<sup>2</sup>

引用:王普博,刘一洁,郝琪,等. 基于 BMP2/Smad 信号通路探讨电针对实验性近视豚鼠巩膜重塑的影响. 国际眼科杂志, 2026,26(6):940-949.

基金项目:国家自然科学基金项目(No.82104937);山东省医药卫生科技项目(No.202407021329);山东省中医药科技项目(No.M-2023010);山东省自然科学基金项目(No.ZR2024MH057)

作者单位:<sup>1</sup>(250014)中国山东省济南市,山东中医药大学;<sup>2</sup>(250002)中国山东省济南市,山东中医药大学附属眼科医院山东省眼病防治研究院山东省中西医结合眼病防治重点实验室山东省高校中西医结合眼病防治技术(强化)重点实验室

\*:王普博和刘一洁对本文贡献一致。

作者简介:王普博,女,在读硕士研究生,研究方向:斜视、弱视与屈光学;刘一洁,女,在读博士研究生,研究方向:斜视、弱视与屈光学。

通讯作者:吴秋欣,女,博士,主治医师,硕士研究生导师,研究方向:中西医结合眼科临床与基础研究. wuqiuxin@163.com;卢秀珍,女,博士,主任医师,硕士研究生导师,山东省中西医结合学会眼科学分会委员,山东省医学会眼科学分会斜视与小儿眼科学组副组长,研究方向:斜视、弱视和小儿眼病. luxzhluxzh@163.com

收稿日期:2025-11-04 修回日期:2026-04-16

## 摘要

目的:基于骨形态发生蛋白-2(BMP2)/Smad 信号通路探讨电针对实验性近视豚鼠巩膜重塑的影响。

方法:本研究采用随机分配法将 80 只 2 周龄豚鼠划分为四组:正常对照(NC)组、负透镜诱导型近视(LIM)组、电针干预(EA)组和假穴(SHAM)组,每组 20 只。LIM 组、SHAM 组和 EA 组豚鼠右眼均配戴-6.00 D 透镜诱导近视;同时 EA 组在太阳穴和合谷穴给予电针刺刺激;SHAM 组在双臂两侧远离传统经络区域给予电针刺刺激;正常组不做任何处理。检影验光检测屈光度,A 超检测眼轴长度,苏木精-伊红(HE)染色观察巩膜组织结构变化,实时荧光定量 PCR(qPCR)和蛋白免疫印迹法(WB)检测各组豚鼠巩膜中 BMP2/Smad 信号通路相关分子在 mRNA 和蛋白质水平的表达情况。

结果:造模 2、4 wk 后,与 NC 组相比,LIM 组近视屈光度与眼轴长度均增加(均  $P < 0.05$ );与 LIM 组相比,EA 组近视屈光度和眼轴长度均降低(均  $P < 0.05$ )。HE 染色显示 LIM 组巩膜后极部变薄,胶原纤维排列疏松、紊乱;与 LIM 组相比,EA 组巩膜后极部厚度增加,胶原纤维排列较紧密、有序。qPCR 和 WB 检测结果显示,在 mRNA 和蛋白质相对表达水平中,与 NC 组相比,LIM 组 I 型胶原蛋白(Collagen I)、BMP2、骨形态发生蛋白 I A 型受体(BMPR I A)、骨形态发生蛋白 I B 型受体(BMPR I B)、骨形态发生蛋白 II 型受体(BMPR II)、Smad 家族成员

1(Smad1)、Smad 家族成员 5(Smad5)、Smad 家族成员 9(Smad9)、Smad 家族成员 4(Smad4)、组织金属蛋白酶抑制剂-2(TIMP-2)表达均显著下降,基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)表达均显著升高;与 LIM 组相比,EA 组 Collagen I、BMP2、BMPR I A、BMPR I B、BMPR II、Smad1、Smad5、Smad9、Smad4、TIMP-2 表达均显著升高,MMP-2、 $\alpha$ -SMA 表达均显著下降。

结论:电针可通过调节实验性近视豚鼠巩膜 BMP2/Smad 信号通路相关分子表达水平改善巩膜重塑和组织形态改变,抑制眼轴增长,从而延缓近视发生发展。

关键词:骨形态发生蛋白-2(BMP2)/Smad 信号通路;电针;近视;巩膜重塑

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2026.6.03

## Electroacupuncture on scleral remodeling in guinea pigs with experimental myopia based on the BMP/Smad signaling pathway

Wang Pubo<sup>1\*</sup>, Liu Yijie<sup>1\*</sup>, Hao Qi<sup>1</sup>, Bi Hongsheng<sup>2</sup>, Wu Qiuxin<sup>2</sup>, Lu Xiuzhen<sup>2</sup>

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No.82104937); Shandong Provincial Medical and Health Science and Technology Development Plan (No. 202407021329); the Program of Traditional Chinese Medicine Science and Technology Project of Shandong Province (No.M-2023010); Natural Science Foundation of Shandong Province(No.ZR2024MH057)

<sup>1</sup>Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, Shandong Province, China; <sup>2</sup>Affiliated Eye Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine; Shandong Academy of Eye Disease Prevention and Therapy; Shandong Provincial Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases; Shandong Provincial University Key Laboratory for Integrated Chinese and Western Medicine Ophthalmic Prevention and Treatment Technology (Enhanced), Jinan 250002, Shandong Province, China

\* Co-first Authors: Wang Pubo and Liu Yijie

Correspondence to:Wu Qiuxin. Affiliated Eye Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine; Shandong Academy of Eye Disease Prevention and Therapy; Shandong Provincial Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases; Shandong Provincial University Key Laboratory for Integrated Chinese and Western

Medicine Ophthalmic Prevention and Treatment Technology (Enhanced), Jinan 250002, Shandong Province, China. wuqiuxin@163.com; Lu Xiuzhen. Affiliated Eye Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine; Shandong Academy of Eye Disease Prevention and Therapy; Shandong Provincial Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases; Shandong Provincial University Key Laboratory for Integrated Chinese and Western Medicine Ophthalmic Prevention and Treatment Technology (Enhanced), Jinan 250002, Shandong Province, China. luxzhluxzh@163.com

Received:2025-11-04 Accepted:2026-04-16

## Abstract

• **AIM:** To investigate the effects of electroacupuncture on scleral remodeling in guinea pigs with experimental myopia based on bone morphogenetic protein 2 (BMP2)/Smad signaling pathway.

• **METHODS:** A total of 80 two-week-old healthy guinea pigs were randomly divided into four groups: normal control (NC) group, lens-induced myopia (LIM) group, electroacupuncture (EA) group, and sham electroacupuncture (SHAM) group, with 20 guinea pigs in each group. The right eyes of guinea pigs in the LIM, SHAM, and EA groups had covered with -6.00 D lens to induce myopia. The EA group received electroacupuncture stimulation at the Taiyang and Hegu acupoints, while the SHAM group underwent stimulation at bilateral gluteal non-meridian areas. No intervention was performed on the NC group. Retinoscopy was used to measure the refractive error, and A-scan ultrasonography was used to measure the axial length. The changes in scleral structure were observed using hematoxylin-eosin (HE) staining. Real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (qPCR) and Western blot (WB) were used to detect the mRNA and protein expression levels of BMP2/Smad signaling pathway-related molecules in the sclera of guinea pigs in each group.

• **RESULTS:** After modeling for 2 and 4 wk, compared with the NC group, the degree of myopia and the axial length were increased in the LIM group (both  $P < 0.05$ ); compared with the LIM group, the degree of myopia and the axial length were decreased in the EA group (both  $P < 0.05$ ). HE staining showed thinned posterior scleral thickness in the LIM group, with a loose and disordered arrangement of collagen fibers. Compared with the LIM group, the posterior scleral thickness in EA group was increased and the collagen fibers were arranged relatively tightly and regularly. qPCR and WB results showed that, at both mRNA and protein relative expression levels, compared with the NC group, the LIM group exhibited significantly decreased expression of Collagen I, BMP2, bone morphogenetic protein type IA receptor (BMPRIA), bone morphogenetic protein type IB receptor (BMPRIB), bone morphogenetic protein type II receptor (BMPRII), Smad family member 1 (Smad1), Smad family member 5 (Smad5), Smad family member 9 (Smad9), Smad family member 4 (Smad4), and tissue inhibitor of

metalloproteinase-2 (TIMP-2), while the expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and alpha-smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) was significantly increased. Compared with the LIM group, the EA group showed significantly increased expression of Collagen I, BMP2, BMPRIA, BMPRIB, BMPRII, Smad1, Smad5, Smad9, Smad4, and TIMP-2, and significantly decreased expression of MMP-2 and  $\alpha$ -SMA.

• **CONCLUSION:** Electroacupuncture can improve scleral remodeling and histomorphological changes, and inhibit axial elongation by regulating the expression levels of molecules related to the BMP2/Smad signaling pathway in the sclera of guinea pigs with experimental myopia, thereby delaying the onset and progression of myopia.

• **KEYWORDS:** bone morphogenetic protein 2 (BMP2)/Smad signaling pathway; electroacupuncture; myopia; scleral remodeling

**Citation:** Wang PB, Liu YJ, Hao Q, et al. Electroacupuncture on scleral remodeling in guinea pigs with experimental myopia based on the BMP/Smad signaling pathway. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2026,26(6):940-949.

## 0 引言

近视患病率高且呈不断上升趋势,已经成为全球严重公共健康问题<sup>[1]</sup>。随近视度数增加,黄斑变性、视网膜脱离、白内障、青光眼等疾病的患病风险随之增加,造成近视患者不可逆的视力损害甚至失明<sup>[2-3]</sup>,同时近视还给社会经济和公共卫生保健系统带来负担<sup>[4]</sup>。因此,进一步探索近视发生发展机制,寻找延缓其发展的潜在治疗方法具有重要意义。

许多研究表明,巩膜重塑可能是近视发展的核心机制之一<sup>[5-9]</sup>。细胞外基质(extracellular matrix, ECM)中不规则排列的胶原纤维紧密交织构成了巩膜的主体,可为细胞提供适合其活性的动态微环境<sup>[6,10]</sup>。胶原纤维由胶原蛋白分子构成,其合成和降解平衡可维持巩膜稳态。此外,成纤维细胞与肌成纤维细胞动态转分化也会影响胶原蛋白的生成及基质重塑。巩膜外基质重塑过程中,胶原蛋白降解大于合成,成纤维细胞向肌成纤维细胞转分化,这些变化可能会引起巩膜ECM重塑和巩膜后极部厚度变薄<sup>[5-6]</sup>,最终导致眼轴长度增加,从而促进近视的发生发展。

转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )超家族包含了一类重要的分泌性信号分子,即骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMP)<sup>[11]</sup>。BMP作为配体与靶细胞膜表面的受体特异性结合,继而通过激活胞内Smad信号通路,将调控信息最终传递到细胞核内,直接调控细胞核内下游靶基因的转录活性,在细胞水平上调控其分化进程、增殖行为及细胞外基质的合成功能<sup>[12]</sup>。BMP及其受体广泛存在于眼组织,对眼睛的早期形态发生发育至关重要<sup>[13]</sup>,并可能在眼球生长调节中发挥作用<sup>[14]</sup>。遗传学分析表明,BMP2是一种近视相关基因<sup>[15]</sup>,并在调节巩膜重塑中发挥着重要作用。电针疗法是针灸学的现代化发展,通过在刺入穴位的毫针上施加特定电脉冲,以替代传统手工行针。因其疗效明确,现已在临床治疗中应用广泛,临床疗效和实验效果均证明针灸可以改善近视患者视觉功能,并延缓近视进展<sup>[16-18]</sup>。本研

究拟通过建立近视豚鼠模型并给予电针干预,检测 BMP2/Smad 信号通路相关分子在巩膜中的表达变化,探讨电针通过 BMP2/Smad 信号通路影响 LIM 豚鼠巩膜重塑的可能分子机制,为近视防控提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物及分组** 健康 2 周龄雄性三色豚鼠购自济南金丰实验动物有限公司,体质量  $115 \pm 10$  g。排除先天性近视、角膜炎、结膜炎、白内障等眼部疾病,遵循随机化原则将 80 只豚鼠分为四组:正常对照(normal control, NC)组、负透镜诱导型近视(lens-induced myopia, LIM)组、电针干预(electroacupuncture, EA)组和假穴(sham electroacupuncture, SHAM)组,每组 20 只。除 NC 组外, LIM 组、EA 组与 SHAM 组的豚鼠右眼均统一配戴 -6.00 D 透镜以建立近视模型,左眼不进行处理。造模 2、4 wk,若近视模型组豚鼠眼轴长度和近视屈光度较 NC 组明显增加,表明近视诱导模型建立成功,本实验 60 只豚鼠造模均成功。

本实验设计电针治疗与近视造模同步进行,旨在观察电针对近视发生发展的影响,评估其对该过程的抑制作用。EA 组与 SHAM 组采用电子针疗仪给予电刺激,连续波,强度 2 mA,脉冲长度 0.1 s,频率 2 Hz<sup>[19]</sup>,每天 1 次,每次 30 min,时间固定于上午 9:00-12:00。EA 组选取双侧太阳穴(颞窝处,皮下后下斜刺 2-3 mm)和合谷穴(前肢第一、二掌骨间,直刺 3 mm)进行刺激<sup>[20]</sup>。SHAM 组选取“退化的尾巴”双侧臀肌处进行刺激,在解剖结构上严格避开传统经络理论中的有效穴位,并且与 EA 组选取的太阳穴与合谷穴不为同一神经节段支配<sup>[21]</sup>。

实验豚鼠饲养环境条件控制为:温度  $25 \pm 2$  °C, 12 h/12 h 光照周期,饲料与饮水均足量供应,自由获取。每天早晚巡视 2 遍,观察豚鼠精神状态和镜片是否存在镜片脱落及脏物遮挡眼镜情况,若有异常及时处理,以免影响造模效果。本研究涉及的动物饲养与实验操作,均已获得动物伦理委员会的批准(审批号:AWE-2022-055),所有流程均严格遵守视觉与眼科动物研究协会关于眼科研究动物实验的指南。

**1.1.2 仪器与试剂** 复方托吡卡胺滴眼液(卓比安,沈阳兴齐医药股份有限公司);盐酸丙美卡因滴眼液(爱尔凯因, s.a. ALCON-COUVREUR n.v.); SPARKeasy 组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒(山东思科捷,货号 AC0202-A); HiScript II Q RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper)(南京诺唯赞,货号 R223-01); ChamQ SYBR qPCR Master Mix (南京诺唯赞,货号 Q321-02); BCA 蛋白浓度测定试剂盒(南京诺唯赞,货号 E112-01); 放射免疫沉淀测定缓冲液(radio immunoprecipitation assay, RIPA, 山东思科捷,货号 EA0002); 苯基甲基磺酰氟(phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF, 山东思科捷,货号 EA0005);  $\beta$ -actin 抗体(北京博奥森,货号 bs-0061R); I 型胶原蛋白(type I collagen, Collagen I)抗体(北京博奥森,货号 bs-10423R); 骨形态发生蛋白 I A 型受体(bone morphogenetic protein receptor type I A, BMPRI A)抗体(北京博奥森,货号 bs-1509R); 骨形态发生蛋白 I B 型受体(bone morphogenetic protein receptor type I B, BMPRI B)抗体(北京博奥森,货号: 26696-1-AP); 骨形态发生蛋白 II 型受体(bone morphogenetic protein receptor type II, BMPRII)抗体(北京

博奥森,货号 bs-21477R); BMP2 抗体(沈阳万类,货号 WLH3885); 磷酸化 Smad 家族成员 1/5/9(phospho-Smad family member 1/5/9, p-Smad1/5/9)抗体(北京博奥森,货号 bsm-63164R);  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)抗体(北京博奥森,货号 bs-10196R); Smad 家族成员 4(Smad family member 4, Smad4)抗体(北京博奥森,货号 bs-23966R); 基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)抗体(Novus Biologicals, LLC, 货号 NB200-113SS); 组织金属蛋白酶抑制剂-2(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP-2)抗体(Abcam Plc, 货号 ab180630); Goat Anti-Rabbit IgG (H+L) HRP 二抗(山东思科捷,货号 EF0002); HRP-conjugated Goat Anti-Mouse IgG (H+L) 二抗(武汉三鹰,货号 SA00001-1); 增强化学发光(ECL)溶液(Millipore Corporation, 货号 WBKLS0500)。-6.00 D 非球面树脂镜片(江苏纽尚); 针灸针(0.20 mm $\times$ 25 mm, 苏州医疗用品厂有限公司); 电子针疗仪(苏州医疗用品厂有限公司, SDZ-II 型); YZ24 带状光检影镜(苏州六六视觉科技, YZ24); 眼科 A 超(重庆上邦, SK-3000A); Light Cycler® 480 II 实时荧光定量 PCR 仪(Roche 公司); Fusion-fx7 成像系统(VILBER LOUREMAT)。

### 1.2 方法

**1.2.1 眼轴和屈光度测量** 使用 A 超测量眼轴长度,带状光检影测量屈光度。A 超参数设置<sup>[22]</sup>: 前房、玻璃体腔、晶状体中的传播速度分别为 1 557 m/s、1 540 m/s、1 723 m/s。眼轴长度的测量操作在盐酸丙美卡因滴眼液眼表麻醉下进行。为保证测量结果的可靠性, A 超探头被定位在角膜顶点正前方并保持垂直,以确保声波沿视轴传播,获取理想波形,连续测量 10 次,取其平均值。带状光检影在暗室中进行,为获得稳定的屈光数据,正式测量前均按标准流程进行散瞳;使用复方托吡卡胺滴眼液,分 4 次点眼(每次 1 滴,间隔 5 min),末次点眼后等待 30 min。测量在 50 cm 标准工作距离下,分别获取水平与垂直子午线的屈光值,并计算其平均值作为单次记录。重复测量 5 次,最终取值基于 5 次记录的平均数。整套流程由固定一名眼科技师操作,以排除操作者间的变异。

**1.2.2 苏木精-伊红染色观察巩膜组织结构变化** 造模 4 wk 后,各组随机选取 4 只豚鼠经 1% 戊巴比妥钠腹腔注射过量麻醉处死,立即摘取眼球。样本经预冷的无菌生理盐水冲洗并清除眼周多余结缔组织后,迅速转移至足量眼球固定液中,在 4 °C 条件下固定 24 h。随后,经标准化组织处理程序完成脱水、石蜡包埋与切片,切片经苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色后,用于观察巩膜形态结构的改变。

**1.2.3 q-PCR 检测巩膜组织中 BMP/Smad 信号通路相关基因在 mRNA 水平的表达** 造模 2、4 wk 后,各组随机选取 8 只豚鼠使用 1% 戊巴比妥钠腹腔注射过量麻醉处死,解剖分离出右眼巩膜,选用改良组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒提取巩膜组织总 RNA,然后进行逆转录合成 cDNA,采用 qPCR 技术检测各组巩膜中 BMP2、BMPRI A、BMPRI B、BMPRII、Smad1、Smad5、Smad9、Smad4、Collagen I、MMP-2、TIMP-2、 $\alpha$ -SMA 的 mRNA 表达。应用 DNASTar 软件设计引物序列,见表 1。相对表达量采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  方法进行定量分析,每组设 3 个重复。

**1.2.4 Western Blot 检测巩膜组织中 BMP2/Smad 信号通路相关基因在蛋白质水平的表达** 于造模后第 2、4 wk, 各组分别随机选取 8 只豚鼠分离巩膜组织。将组织样本按 10 mg/100  $\mu$ L 的质量体积比加入含有 PMSF 的 RIPA 裂解液, 反复吹打混匀后, 使用电动匀浆研磨器 4  $^{\circ}$ C 匀浆 6 min。所得匀浆液首先以 5 000 r/min 离心 5 min, 收集上清液转移至新的 EP 管中, 随后在冰浴条件下进行超声破碎(工作 15 s, 暂停 10 s, 总时长 10 min)。超声处理后, 再次以 5 000 r/min 离心 5 min, 取最终上清液, 采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定各组巩膜中总蛋白浓度。完成定量计算后, 取等量目标蛋白通过 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳分离, 继而应用湿转法将蛋白转移至聚偏二氟乙烯 (polyvinylidenedifluoride, PVDF) 膜上进行印迹。用 5% 脱脂奶粉封闭后, 用 1  $\times$  TBST 缓冲液洗膜 2-3 次, 4  $^{\circ}$ C 下分别孵育  $\beta$ -actin (1:5000)、Collagen I (1:500)、BMPR I A (1:500), BMPR I B (1:500), BMPR II (1:500), BMP2 (1:500), p-Smad1/5/9

(1:500),  $\alpha$ -SMA (1:500), Smad4 (1:500), MMP-2 (1:500), TIMP-2 (1:500) 抗体过夜, 用 1 $\times$ TBST 缓冲液洗膜 2-3 次后, 4  $^{\circ}$ C 下孵育二抗 (1:5000) 1 h, 再次洗膜后, 将印迹与增强化学发光 (ECL) 溶液反应, 并暴露于 Fusion-fx7 成像系统上。使用计算机软件确定每个条带的相对强度, 每组设 3 个重复。

统计学分析: 采用 SPSS 21.0 统计学软件对数据进行分析, 所有数据经 Shapiro-Wilk 检验呈正态分布, 经 Levene 检验符合方差齐性, 数据采用均数 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x}\pm s$ ) 表示。各组在不同时间点屈光度和眼轴比较用重复测量数据的方差分析并进行正态性检验及方差齐性检验, 若存在差异则进行组间两两比较, 采用 LSD-t 检验。巩膜厚度、BMP2/Smad 信号通路相关蛋白和 mRNA 表达水平比较采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA) 进行整体比较, 若差异有统计学意义, 则进一步采用 LSD-t 检验两两比较。P<0.05 为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 各组豚鼠屈光度和眼轴长度比较** 各组豚鼠造模前后屈光度比较差异有统计学意义 ( $F_{\text{组间}} = 16.084, P_{\text{组间}} < 0.001; F_{\text{时间}} = 212.421, P_{\text{时间}} < 0.001; F_{\text{组间}\times\text{时间}} = 24.905, P_{\text{组间}\times\text{时间}} < 0.001$ ), 进一步两两比较结果见表 2。造模前四组豚鼠右眼屈光度差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。造模 2、4 wk 后, 与 NC 组相比, LIM 组屈光度显著下降 (均  $P < 0.05$ ); 与 LIM 组相比, EA 组屈光度下降减少 (均  $P < 0.05$ ), SHAM 组与 LIM 组比较差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。证明 EA 可有效延缓 LIM 豚鼠屈光度下降。

各组豚鼠造模前后眼轴长度比较差异有统计学意义 ( $F_{\text{时间}} = 986.586, P_{\text{时间}} < 0.001; F_{\text{组间}} = 3.303, P_{\text{组间}} < 0.05; F_{\text{组间}\times\text{时间}} = 15.813, P_{\text{组间}\times\text{时间}} < 0.001$ ), 进一步两两比较结果见表 2。造模前, 四组右眼眼轴长度差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ ), 造模 2、4 wk 后, 四组右眼眼轴长度较造模前增加 (均  $P < 0.05$ ), 且与 NC 组相比, LIM 组右眼眼轴长度增加, 与 LIM 组相比 EA 组眼轴长度减小 (均  $P < 0.05$ ), EA 组与 NC 组比较差异无统计学意义, SHAM 组与 LIM 组比较差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。说明 EA 可有效延缓 LIM 豚鼠眼轴长度增长。

**2.2 HE 染色结果分析各组豚鼠巩膜病理变化** HE 染色结果显示, 造模 4 wk 后, NC 组、LIM 组、EA 组和 SHAM 组豚鼠巩膜厚度分别为  $108.00 \pm 2.65$ 、 $66.67 \pm 2.52$ 、 $95.00 \pm 1.00$ 、 $69.67 \pm 4.16 \mu\text{m}$ , 差异有统计学意义 ( $F = 151.593, P < 0.05$ )。与 NC 组相比, LIM 组和 SHAM 组巩膜后极部变薄, 且胶原纤维变细, 排列松散无序; 与 LIM 组相比, EA 组巩膜后极部略有增厚, 并且胶原纤维排列相对紧密, 整齐有序; 但与 NC 组相比, EA 组巩膜后极部仍较薄, 差异均具有统计学意义 (均  $P < 0.05$ ), 提示电针干预虽能改善巩膜变薄及胶原纤维形态, 但尚未能使其恢复至正常水平, 见图 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列(5'-3')
GAPDH	TCAAGAAGGTGCTGAAGCAGG CTGTTGCTGTAGCCGAACATCAT
BMPR I A	GGAGCAGAGAACAAGACGACGAAC CAAGTGATTCCACCGCAGCAGAG
BMPR I B	CAGTACCAGCCTTGAACACCATCC ACCCAATGTCTCCCTCCTCCAAC
BMPR II	CTGATGCACTGTGGAGAGTTGTC TGTGAGAAGGTGGCAGAAGGAGAG
Smad1	GGCTGCCTCACGTCATCTACT AACAGGGCTTTCTACTCGCTTAT
Smad5	TAGTCCAGCAGTCAAGCGATTGTG GCTCAAGGCTTTCTCCAGTTCCTC
Smad9	GTGGAGAAGTGATGCCGAGTGC AGAGCTGGTTGTTGAAGACCTTGAG
Smad4	CCACAGGACAGAAGCCATTGAGAG CACTAAGGCACCTGACCCAAACATC
MMP-2	GATGCCTTTGCTCGAGCCTT GCCATCCTTCCATCGAAC
TIMP-2	TGTCGGTGGAAGAAGGAATATC TCTGGGTGTTACTCAGGGTGTCT
$\alpha$ -SMA	TTCAACGTCCCAGCCATGTATGTG GTGACACCATCGCCAGAATCCAG
Collagen I	CAAGTTGTGGACCAAGACAGAGAC CCTTACAGTTCATCTCTTCGCAC
BMP2	ATCCTGAGCGAATTCGAGTTG GGGTGGTCTCTGCTTCAAG

表 2 造模前后各组豚鼠屈光度和眼轴长度的变化

组别	屈光度(D)			眼轴长度(mm)		
	造模前	造模 2 wk	造模 4 wk	造模前	造模 2 wk	造模 4 wk
NC 组	+3.06 $\pm$ 0.97	+2.90 $\pm$ 2.30	+2.10 $\pm$ 1.40	7.82 $\pm$ 0.09	8.07 $\pm$ 0.07	8.19 $\pm$ 0.06
LIM 组	+2.95 $\pm$ 1.06	-2.75 $\pm$ 0.92 <sup>a</sup>	-6.33 $\pm$ 1.01 <sup>a</sup>	7.81 $\pm$ 0.07	8.19 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	8.37 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
EA 组	+2.85 $\pm$ 1.01	-1.03 $\pm$ 0.64 <sup>a,c</sup>	-3.00 $\pm$ 1.45 <sup>a,c</sup>	7.86 $\pm$ 0.10	8.10 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	8.25 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>
SHAM 组	+3.06 $\pm$ 1.13	-3.50 $\pm$ 2.08 <sup>a,e</sup>	-5.42 $\pm$ 1.51 <sup>a,e</sup>	7.83 $\pm$ 0.10	8.16 $\pm$ 0.08 <sup>a,e</sup>	8.37 $\pm$ 0.11 <sup>a,e</sup>

注: <sup>a</sup>P<0.05 vs NC 组; <sup>c</sup>P<0.05 vs LIM 组; <sup>e</sup>P<0.05 vs EA 组。

2.3 巩膜中 BMP/Smad 信号通路相关基因在 mRNA 水平的表达 造模 2、4 wk 后,与 NC 组相比,LIM 组 BMP2、BMPR I A、BMPR I B、BMPR II、Smad1、Smad5、Smad9、Smad4、Collagen I、TIMP-2 在 mRNA 水平表达均明显降低(均  $P < 0.05$ ),MMP-2、 $\alpha$ -SMA 在 mRNA 水平表达均明

显升高(均  $P < 0.05$ )。与 LIM 相比,EA 组 BMP2、BMPR I A、BMPR I B、BMPR II、Smad1、Smad5、Smad9、Smad4、Collagen I、TIMP-2 在 mRNA 水平表达均明显升高(均  $P < 0.05$ ),MMP-2、 $\alpha$ -SMA 在 mRNA 水平表达均明显降低(均  $P < 0.05$ ),见表 3,图 2。

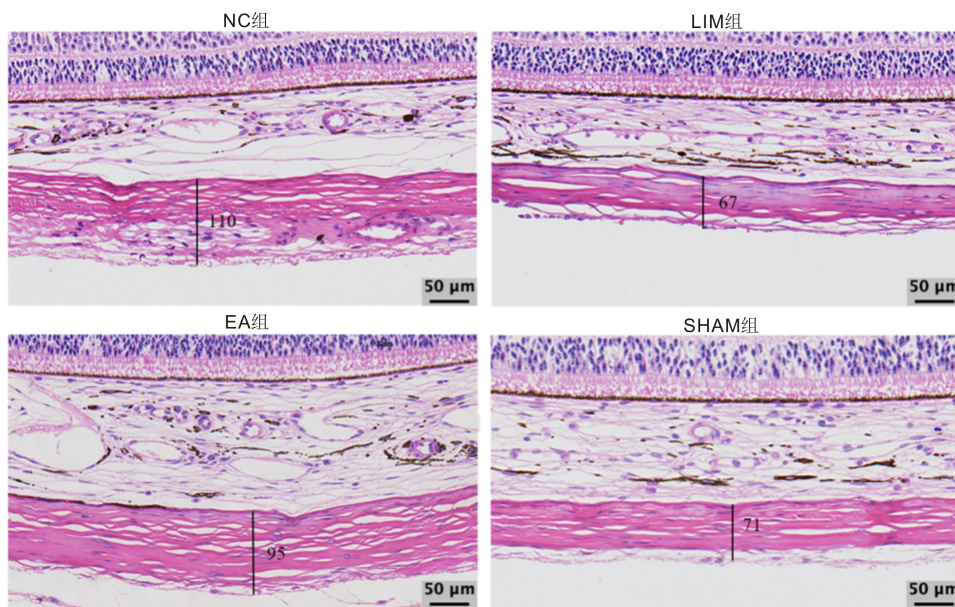


图 1 造模 4 wk 时 HE 染色结果及巩膜厚度测量。

表 3 造模 2、4 wk 后巩膜 BMP2/Smad 通路相关基因在 mRNA 水平的相对表达量

时间	NC 组	LIM 组	EA 组	SHAM 组	F	P
造模 2 wk						
BMP2	1.00±0.00	0.76±0.04 <sup>a</sup>	1.16±0.23 <sup>c</sup>	0.63±0.05 <sup>a,e</sup>	11.946	0.003
BMPR I A	1.00±0.00	0.64±0.07 <sup>a</sup>	1.17±0.12 <sup>a,c</sup>	0.83±0.02 <sup>a,e</sup>	32.370	<0.001
BMPR I B	1.00±0.00	0.75±0.12 <sup>a</sup>	1.20±0.05 <sup>a,c</sup>	0.82±0.05 <sup>a,e</sup>	27.407	<0.001
BMPR II	1.00±0.00	0.60±0.12 <sup>a</sup>	1.35±0.04 <sup>a,c</sup>	0.77±0.05 <sup>a,e</sup>	66.371	<0.001
Smad1	1.00±0.00	0.63±0.15 <sup>a</sup>	1.15±0.10 <sup>c</sup>	0.76±0.02 <sup>a,e</sup>	20.611	<0.001
Smad5	1.00±0.00	0.60±0.20 <sup>a</sup>	1.18±0.18 <sup>c</sup>	0.81±0.11 <sup>a,e</sup>	9.361	0.005
Smad9	1.00±0.00	0.58±0.15 <sup>a</sup>	1.10±0.13 <sup>c</sup>	0.72±0.13 <sup>a,e</sup>	12.178	0.002
Smad4	1.00±0.00	0.72±0.06 <sup>a</sup>	1.26±0.29 <sup>c</sup>	0.71±0.03 <sup>a,e</sup>	9.263	0.006
Collagen I	1.00±0.00	0.68±0.14 <sup>a</sup>	1.25±0.09 <sup>a,c</sup>	0.82±0.07 <sup>a,e</sup>	21.858	<0.001
MMP-2	1.00±0.00	1.15±0.05 <sup>a</sup>	0.84±0.05 <sup>a,c</sup>	1.19±0.13 <sup>a,e</sup>	15.130	<0.001
TIMP-2	1.00±0.00	0.77±0.06 <sup>a</sup>	1.26±0.11 <sup>a,c</sup>	0.67±0.06 <sup>a,e</sup>	42.068	<0.001
$\alpha$ -SMA	1.00±0.00	1.31±0.03 <sup>a</sup>	0.79±0.07 <sup>c</sup>	1.41±0.31 <sup>a,e</sup>	9.624	0.005
造模 4 wk						
BMP2	1.00±0.00	0.79±0.05 <sup>a</sup>	0.98±0.04 <sup>c</sup>	0.68±0.03 <sup>a,e</sup>	51.479	<0.001
BMPR I A	1.00±0.00	0.54±0.03 <sup>a</sup>	1.59±0.33 <sup>a,c</sup>	0.46±0.27 <sup>a,e</sup>	17.905	<0.001
BMPR I B	1.00±0.00	0.80±0.02 <sup>a</sup>	1.89±0.17 <sup>a,c</sup>	0.60±0.12 <sup>a,e</sup>	86.346	<0.001
BMPR II	1.00±0.00	0.40±0.08 <sup>a</sup>	1.11±0.10 <sup>c</sup>	0.50±0.20 <sup>a,e</sup>	25.874	<0.001
Smad1	1.00±0.00	0.44±0.12 <sup>a</sup>	1.21±0.09 <sup>c</sup>	0.53±0.17 <sup>a,e</sup>	32.116	<0.001
Smad5	1.00±0.00	0.37±0.08 <sup>a</sup>	1.02±0.06 <sup>c</sup>	0.46±0.21 <sup>a,e</sup>	27.040	<0.001
Smad9	1.00±0.00	0.37±0.08 <sup>a</sup>	1.21±0.09 <sup>a,c</sup>	0.30±0.13 <sup>a,e</sup>	76.943	<0.001
Smad4	1.00±0.00	0.61±0.17 <sup>a</sup>	1.22±0.12 <sup>a,c</sup>	0.54±0.09 <sup>a,e</sup>	24.821	<0.001
Collagen I	1.00±0.00	0.71±0.07 <sup>a</sup>	1.22±0.10 <sup>a,c</sup>	0.75±0.18 <sup>a,e</sup>	14.881	<0.001
MMP-2	1.00±0.00	1.23±0.04 <sup>a</sup>	0.64±0.10 <sup>a,c</sup>	1.23±0.02 <sup>a,e</sup>	72.411	<0.001
TIMP-2	1.00±0.00	0.49±0.17 <sup>a</sup>	1.17±0.28 <sup>c</sup>	0.48±0.16 <sup>a,e</sup>	11.850	0.003
$\alpha$ -SMA	1.00±0.00	1.24±0.08 <sup>a</sup>	0.66±0.02 <sup>a,c</sup>	1.21±0.14 <sup>a,e</sup>	33.823	<0.001

注:<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs NC 组;<sup>c</sup> $P < 0.05$  vs LIM 组;<sup>e</sup> $P < 0.05$  vs EA 组。

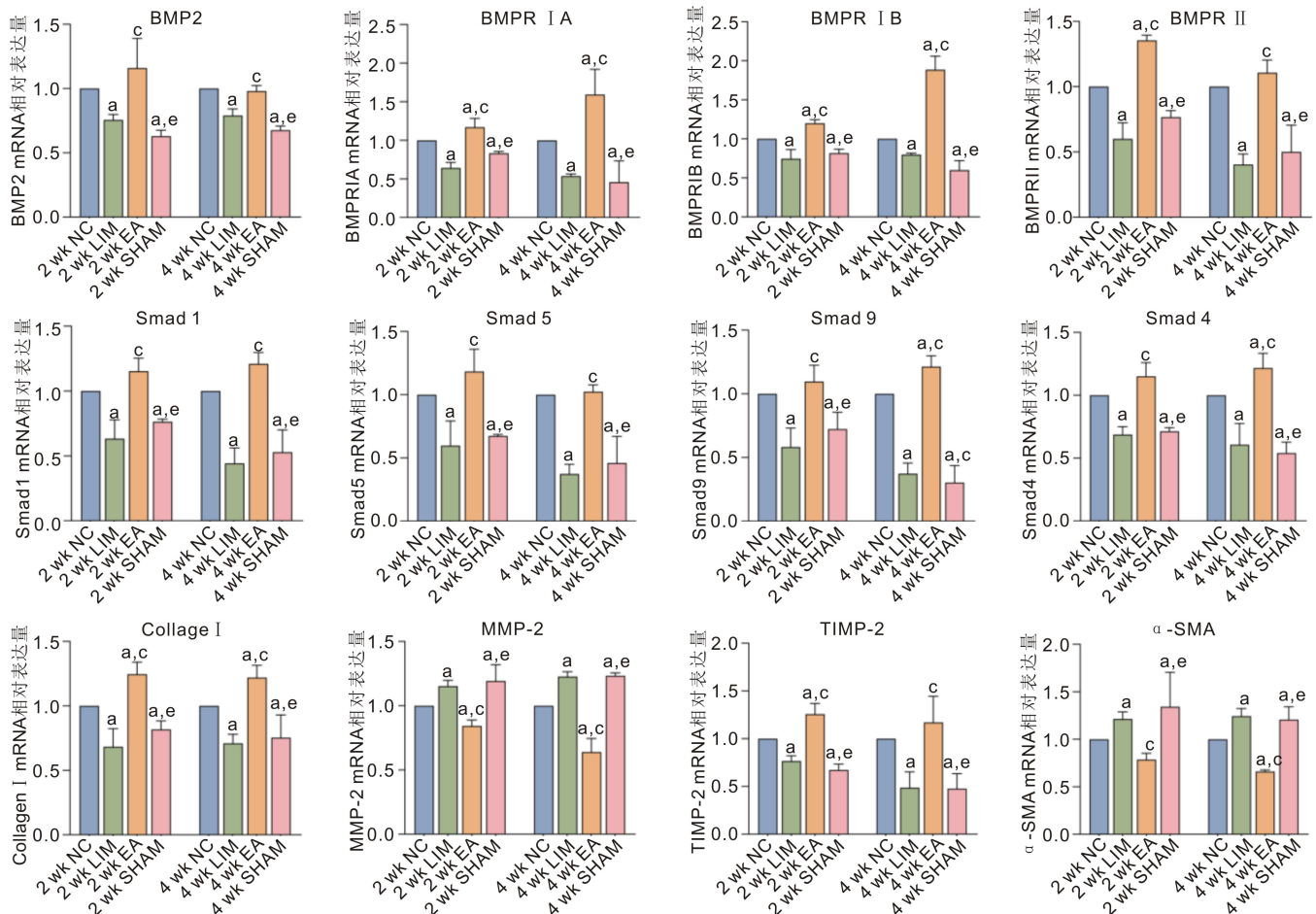


图2 造模2,4 wk后豚鼠巩膜中BMP/Smad信号通路相关基因在mRNA水平相对表达量 <sup>a</sup> $P<0.05$  vs NC组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs LIM组; <sup>e</sup> $P<0.05$  vs EA组。

**2.4 巩膜中 BMP/Smad 信号通路相关因子在蛋白质水平的表达** 造模2,4 wk后,与NC组相比,LIM组BMP2、BMPRI A、BMPRI B、BMPRII、p-Smad1/5/9、Smad4、Collagen I、TIMP-2在蛋白质水平表达均明显降低,差异有统计学意义(均 $P<0.05$ ),MMP-2、 $\alpha$ -SMA在蛋白质水平表达均明显升高(均 $P<0.05$ )。与LIM相比,EA组BMP2、BMPRI A、BMPRI B、BMPRII、p-Smad1/5/9、Smad4、Collagen I、TIMP-2的蛋白水平表达均明显升高,差异有统计学意义(均 $P<0.05$ ),MMP-2、 $\alpha$ -SMA在蛋白质水平表达均明显降低(均 $P<0.05$ ),见表4,图3。虽然本研究分别独立检测了Smad1、Smad5和Smad9的转录水平,但由于它们在生物学功能上具有高度冗余性,通常被上游受体同时磷酸化,结合Smad4入核发挥作用;且其磷酸化位点高度保守导致了抗体特异性的限制,因此在蛋白质水平上,我们采用p-Smad1/5/9泛抗体对它们的整体磷酸化激活状态进行了联合评估,这也是该领域的常规方法。

### 3 讨论

既往研究表明,近视的发展与巩膜重塑有关,BMP2/Smad参与巩膜细胞外基质重塑<sup>[23]</sup>。本研究发现,电针可有效抑制LIM豚鼠屈光度下降和眼轴增长,延缓近视发展,但电针是否通过BMP2/Smad信号通路发挥作用尚未有报道,本研究拟从BMP2/Smad信号通路来探讨电针延缓LIM豚鼠近视发展的可能分子机制,以期电针延缓

青少年近视发生发展提供新思路。

巩膜属于致密缔结组织,其核心成分为ECM中的胶原纤维,其中Collagen I占绝大多数,此外还有弹性纤维和少量的细胞成分如成纤维细胞、肌成纤维细胞等<sup>[24]</sup>。巩膜ECM重塑与近视的发生和发展密切相关。当巩膜ECM中胶原蛋白的合成与降解失衡,降解大于合成时,即巩膜重塑发生,这将导致巩膜后极部变薄,巩膜的生物力学性能随之下降,从而引起眼球形态改变和眼轴伸长<sup>[25-26]</sup>,促进近视的发展。此外,成纤维细胞被活化,进而转分化为肌成纤维细胞是巩膜基质重塑的关键,该变化不仅会改变主要胶原亚型的分泌,还会增加细胞收缩力,最终导致巩膜机械应力的改变<sup>[27]</sup>。ECM重塑与Collagen I表达下调有关,也是成纤维细胞转分化为肌成纤维细胞增加的结果<sup>[28]</sup>。 $\alpha$ -SMA的表达被视作肌成纤维细胞活化的关键标志,是其收缩的核心收缩元件。在本研究中,造模后,与NC组相比,LIM组豚鼠巩膜中 $\alpha$ -SMA表达上调,而Collagen I表达下调,提示近视诱导后巩膜中更多成纤维细胞转分化为肌成纤维细胞,导致胶原蛋白合成减少或降解增加,发生ECM重塑。这与先前研究结果一致<sup>[29-31]</sup>。在EA干预后,EA组豚鼠巩膜中 $\alpha$ -SMA表达显著下调,而Collagen I表达显著上调,表明EA可抑制成纤维细胞向肌成纤维细胞的转分化,改善ECM重塑,延缓近视进展。

BMPs在豚鼠和人巩膜中均有表达,参与许多细胞功

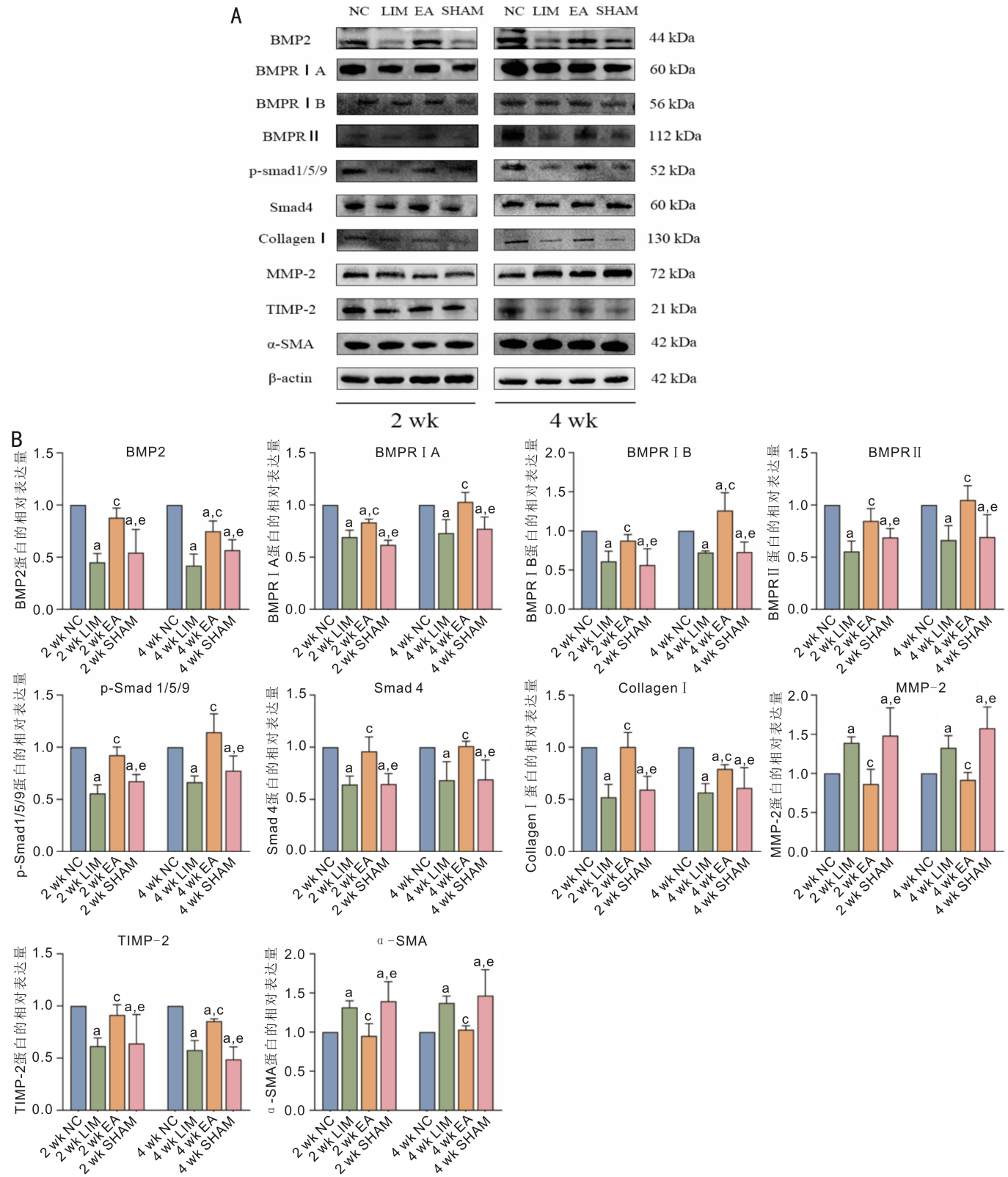


图3 造模2,4 wk后豚鼠巩膜中BMP/Smad信号通路相关因子在蛋白水平相对表达量 A: BMP/Smad信号通路相关蛋白表达灰度图, B: 相对定量图; <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs NC组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs LIM组; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs EA组。

能,包括细胞增殖、凋亡和ECM合成<sup>[32]</sup>。研究表明, BMP-2影响巩膜细胞外基质的合成,并且对人巩膜成纤维细胞有激活增殖和促进分化的效能。该细胞行为很可能是BMP-2参与调控近视巩膜变薄与重塑过程的重要机制<sup>[33]</sup>。Smads蛋白是BMP成员的关键细胞内效应因子,作为转录因子行使信号转导作用,将BMP的胞外信号转化为核内基因调控指令,从而实现下游基因表达的特异

性调节。BMP2作为配体,与细胞膜上的BMPR II结合,该受体-配体复合物招募并磷酸化BMP I型受体(BMPR I,主要为BMPR I A或BMPR I B),进而激活其丝氨酸/苏氨酸激酶结构域。活化的BMPR I A或BMPR I B特异性识别并磷酸化下游受体调节型Smad蛋白,即Smad1/5/9(8)。磷酸化修饰使Smad1/5/9(8)构象改变,并迅速从BMPR I上解离,与共同的介质型Smad蛋白即Smad4结

表4 造模2、4 wk后巩膜BMP2/Smad通路相关基因在蛋白水平的相对表达量

$\bar{x} \pm s$

时间	NC组	LIM组	EA组	SHAM组	F	P
造模2 wk						
BMP2	1.00±0.00	0.61±0.05 <sup>a</sup>	0.89±0.05 <sup>c</sup>	0.31±0.02 <sup>a,c</sup>	12.630	0.002
BMPR I A	1.00±0.00	0.69±0.07 <sup>a</sup>	0.83±0.03 <sup>a,c</sup>	0.62±0.05 <sup>a,c</sup>	44.225	<0.001
BMPR I B	1.00±0.00	0.61±0.13 <sup>a</sup>	0.87±0.08 <sup>c</sup>	0.56±0.21 <sup>a,c</sup>	7.825	0.009
BMPR II	1.00±0.00	0.55±0.10 <sup>a</sup>	0.85±0.12 <sup>c</sup>	0.69±0.09 <sup>a,c</sup>	14.009	0.002
p-Smad1/5/9	1.00±0.00	0.56±0.08 <sup>a</sup>	0.92±0.08 <sup>c</sup>	0.67±0.07 <sup>a,c</sup>	29.404	<0.001
Smad4	1.00±0.00	0.64±0.08 <sup>a</sup>	0.96±0.14 <sup>c</sup>	0.65±0.10 <sup>a,c</sup>	12.464	0.002
Collagen I	1.00±0.00	0.52±0.12 <sup>a</sup>	1.00±0.14 <sup>c</sup>	0.59±0.13 <sup>a,c</sup>	15.732	<0.001
MMP-2	1.00±0.00	1.39±0.08 <sup>a</sup>	0.86±0.19 <sup>c</sup>	1.48±0.35 <sup>a,c</sup>	6.432	0.016
TIMP-2	1.00±0.00	0.61±0.08 <sup>a</sup>	0.91±0.10 <sup>c</sup>	0.64±0.28 <sup>a,c</sup>	4.786	0.034
α-SMA	1.00±0.00	1.31±0.08 <sup>a</sup>	0.95±0.16 <sup>c</sup>	1.39±0.25 <sup>a,c</sup>	6.193	0.018
造模4 wk						
BMP2	1.00±0.00	0.62±0.04 <sup>a</sup>	0.87±0.01 <sup>a,c</sup>	0.63±0.03 <sup>a,c</sup>	23.162	<0.001
BMPR I A	1.00±0.00	0.73±0.13 <sup>a</sup>	1.03±0.09 <sup>c</sup>	0.77±0.11 <sup>a,c</sup>	7.415	0.011
BMPR I B	1.00±0.00	0.72±0.02 <sup>a</sup>	1.26±0.23 <sup>a,c</sup>	0.73±0.13 <sup>a,c</sup>	11.405	0.003
BMPR II	1.00±0.00	0.66±0.14 <sup>a</sup>	1.05±0.14 <sup>c</sup>	0.69±0.22 <sup>a,c</sup>	5.697	0.022
p-Smad1/5/9	1.00±0.00	0.66±0.06 <sup>a</sup>	1.14±0.18 <sup>c</sup>	0.77±0.14 <sup>a,c</sup>	10.194	0.004
Smad4	1.00±0.00	0.68±0.18 <sup>a</sup>	1.01±0.05 <sup>c</sup>	0.69±0.19 <sup>a,c</sup>	5.836	0.021
Collagen I	1.00±0.00	0.57±0.09 <sup>a</sup>	0.79±0.04 <sup>a,c</sup>	0.61±0.20 <sup>a,c</sup>	9.959	0.004
MMP-2	1.00±0.00	1.33±0.16 <sup>a</sup>	0.92±0.09 <sup>c</sup>	1.58±0.27 <sup>a,c</sup>	10.264	0.004
TIMP-2	1.00±0.00	0.58±0.09 <sup>a</sup>	0.85±0.02 <sup>a,c</sup>	0.49±0.12 <sup>a,c</sup>	29.141	<0.001
α-SMA	1.00±0.00	1.37±0.09 <sup>a</sup>	1.03±0.05 <sup>c</sup>	1.46±0.33 <sup>a,c</sup>	5.556	0.023

注：<sup>a</sup>P<0.05 vs NC组；<sup>b</sup>P<0.05 vs LIM组；<sup>c</sup>P<0.05 vs EA组。

合,形成稳定的异源寡聚体转录复合物,随后该复合物易位进入细胞核<sup>[34-35]</sup>。在细胞核内,该复合物通常与特异的转录因子(如Runx2、Osterix或AP-1家族蛋白)协同,共同结合于靶基因调控区BMP响应元件,激活或抑制下游靶基因转录,从而参与细胞的生长、分化和ECM合成等生物学过程<sup>[36-38]</sup>。在巩膜成纤维细胞中,BMP2/Smad信号通路通过上述机制,调控基质合成与降解相关基因的转录,从而影响ECM的合成与降解平衡,最终影响巩膜基质重塑与稳态<sup>[39-40]</sup>。Zhan等<sup>[36]</sup>研究发现,形觉剥夺性近视(form-deprivation myopia, FDM)豚鼠巩膜AP-1和Collagen I表达下降引起巩膜重塑,本实验中对BMP/Smad通路的研究为其变化提供可能的上游基因调控。Cai等<sup>[41]</sup>研究发现,BMP2在FDM豚鼠后巩膜中表达降低。此外,BMP2能够在体外促进人巩膜成纤维细胞增殖和分化,进而促进巩膜ECM的合成<sup>[13]</sup>。本研究发现,造模后,LIM组豚鼠巩膜中BMP2、BMPR I A、BMPR I B、BMPR II、Smad1、Smad5、Smad9、Smad4在mRNA和蛋白质水平表达较NC组降低,而EA组较LIM组表达升高。此外,与LIM组相比,EA组p-smad1/5/9在蛋白质水平表达上升,提示EA干预后Smad信号通路激活。我们推测,EA干预促进BMP2与其受体结合,提高Smad1/5/9磷酸化水平,激活Smad信号通路,影响ECM合成。

MMP是降解ECM胶原纤维和弹性纤维的主要酶,其活性受内源性组织抑制剂TIMP的调控,二者比值可反映ECM降解的程度<sup>[42]</sup>。研究表明MMP-2和TIMP-2可能影响近视中ECM重塑<sup>[43-44]</sup>。Conte等<sup>[45]</sup>发现在缺氧或炎症环境中MMP-2活性增强与ECM重塑有关。Yu等<sup>[17]</sup>

发现LIM组豚鼠巩膜中MMP-2水平较NC组上升,TIMP-2水平较NC组下降。与上述研究结果一致,本研究发现近视诱导后MMP-2和α-SMA水平上升,TIMP-2和Collagen I水平下降。我们认为近视诱导后胶原蛋白降解大于合成过程,成纤维细胞向肌成纤维转化增加,巩膜ECM稳态失调,发生ECM重塑,导致胶原蛋白减少。另外,HE染色结果显示巩膜厚度减小和结构异常,进一步提示ECM重塑后巩膜生物力学性能下降,其维持眼球正常形态和稳定眼轴适当长度的功能可能受到影响,可能会导致眼轴的拉长。EA干预后,巩膜ECM微环境改善,有效抑制眼轴的过度延长。

综上所述,我们证实BMP2/Smad信号通路参与近视发展,激活其通路有助于改善巩膜ECM重塑。电针可通过促进LIM豚鼠巩膜中BMP2与其受体结合,激活Smad信号通路,促进胶原蛋白合成,维持MMP和TIMP比例平衡,调控巩膜重塑,延缓近视进展。我们的研究为电针防控近视提供理论依据。同时,本研究也存在一定的局限性,目前实验仅对豚鼠巩膜BMP2/Smad细胞核外相关分子变化做了相应的验证,对p-Smad1/5/9(8)与Smad4结合形成稳定的异源寡聚体转录复合物,随后该复合物易位进入细胞核后如何调控下游潜在靶基因分子改变将是我们今后研究的重点。此外,未来的研究可通过体外培养巩膜成纤维细胞进行细胞功能实验研究,以进一步验证该通路激活的直接效应。不断探索电针治疗近视与巩膜基质重塑之间的内在相关性,为近视的治疗提供有效的分子生物学基础。

**利益冲突声明:** 本文不存在利益冲突。

**作者贡献声明:** 王普博实验方案设计, 实验执行, 统计分析数据, 图表可视化, 论文初稿撰写; 刘一洁实验方案设计, 实验执行, 收集并整理数据, 图表可视化, 参与论文修改; 郝琪提供技术指导, 参与论文修改; 毕宏生终稿审定; 吴秋欣提出研究概念, 设计实验方案, 实验指导与监督, 参与论文审阅与修改; 卢秀珍实验指导与监督, 参与论文审阅与修改。所有作者阅读并同意最终的文本。

#### 参考文献

[1] Wu PC, Huang HM, Yu HJ, et al. Epidemiology of myopia. *Asia Pac J Ophthalmol*, 2016,5(6):386-393.

[2] Tang YT, Wang XF, Wang JC, et al. Prevalence and causes of visual impairment in a Chinese adult population. *Ophthalmology*, 2015, 122(7):1480-1488.

[3] Wong TY, Ferreira A, Hughes R, et al. Epidemiology and disease burden of pathologic myopia and myopic choroidal neovascularization: an evidence-based systematic review. *Am J Ophthalmol*, 2014,157(1):9-25.e12.

[4] Sankaridurg P, Tahhan N, Kandel H, et al. IMI impact of myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2021,62(5):2.

[5] Ouyang XL, Han YY, Xie YF, et al. The collagen metabolism affects the scleral mechanical properties in the different processes of scleral remodeling. *Biomed Pharmacother*, 2019,118:109294.

[6] Sun Y, Sha YR, Yang J, et al. Collagen is crucial target protein for scleral remodeling and biomechanical change in myopia progression and control. *Heliyon*, 2024,10(15):e35313.

[7] Yang J, Ouyang XL, Fu H, et al. Advances in biomedical study of the myopia-related signaling pathways and mechanisms. *Biomedicine Pharmacother*, 2022,145:112472.

[8] She M, Li T, Shi WQ, et al. AREG is involved in scleral remodeling in form-deprivation myopia *via* the ERK1/2-MMP-2 pathway. *FASEB J*, 2022,36(5):e22289.

[9] Shi WQ, Li T, Liang RB, et al. Targeting scleral remodeling and myopia development in form deprivation myopia through inhibition of EFEMP1 expression. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2024, 1870(3):166981.

[10] Al-Ubaidi MR, Naash MI, Conley SM. A perspective on the role of the extracellular matrix in progressive retinal degenerative disorders. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013,54(13):8119-8124.

[11] Zhu LW, Liu YZ, Wang A, et al. Application of BMP in bone tissue engineering. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022,10:810880.

[12] Nakatsu MN, Vartanyan L, Vu DM, et al. Preferential biological processes in the human limbus by differential gene profiling. *PLoS One*, 2013,8(4):e61833.

[13] Li HH, Cui DM, Zhao F, et al. BMP-2 is involved in scleral remodeling in myopia development. *PLoS One*, 2015,10(5):e0125219.

[14] Zhang Y, Liu Y, Wildsoet CF. Bidirectional, optical sign-dependent regulation of BMP2 gene expression in chick retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012,53(10):6072-6080.

[15] Yoshikawa M, Yamashiro K, Miyake M, et al. Comprehensive replication of the relationship between myopia-related genes and refractive errors in a large Japanese cohort. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014,55(11):7343-7354.

[16] Cheng HC, Hsieh YT. The effect of low-concentration atropine combined with auricular acupoint stimulation in myopia control. *Complement Ther Med*, 2014,22(3):449-455.

[17] Yu T, Xie XF, Wei HX, et al. Electroacupuncture improves choroidal blood flow to inhibit the development of lens-induced myopia in guinea pigs. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2022, 2022:3286583.

[18] 杨朝晖, 郝佳文, 刘金鹏, 等. 基于线粒体动力学探讨电针改善实验性近视豚鼠视网膜细胞凋亡的作用机制. *眼科新进展*, 2023, 43(12):940-945.

[19] Liu YJ, Hao Q, Lu XZ, et al. Electroacupuncture improves retinal function in myopia guinea pigs probably *via* inhibition of the RhoA/ROCK2 signaling pathway. *Heliyon*, 2024,10(15):e35750.

[20] 李辞蓉, 华兴邦, 周浩良, 等. 豚鼠针灸穴位图谱的研制. *上海针灸杂志*, 1992,11(2):28-30.

[21] Zhang T, Jiang Q, Xu FR, et al. Alternation of resting-state functional connectivity between visual cortex and hypothalamus in guinea pigs with experimental glucocorticoid enhanced myopia after the treatment of electroacupuncture. *Front Neuroinform*, 2020,14:579769.

[22] 吴姗姗, 魏慧霞, 郭滨, 等. 电针对负透镜诱导型近视豚鼠睫状肌中表皮生长因子及其受体表达的作用. *眼科新进展*, 2020, 40(4):318-322.

[23] Liu YJ, Hao Q, Pan XM, et al. Harnessing the potential of recombinant human BMP2: regulating scleral changes in myopic guinea pigs. *Front Med*, 2025,12:1526656.

[24] Atta G, Tempfer H, Kaser-Eichberger A, et al. Is the human sclera a tendon-like tissue? A structural and functional comparison. *Ann Anat Anat Anz*, 2022,240:151858.

[25] Harper AR, Summers JA. The dynamic sclera: extracellular matrix remodeling in normal ocular growth and myopia development. *Exp Eye Res*, 2015,133:100-111.

[26] Brown DM, Kowalski MA, Paulus QM, et al. Altered structure and function of murine sclera in form-deprivation myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2022,63(13):13.

[27] Hui JW, Nie XF, Wei PH, et al. 3D printed fibroblast-loaded hydrogel for scleral remodeling to prevent the progression of myopia. *J Mater Chem B*, 2024,12(10):2559-2570.

[28] McBrien NA. Regulation of scleral metabolism in myopia and the role of transforming growth factor-beta. *Exp Eye Res*, 2013, 114:128-140.

[29] Wu H, Chen W, Zhao F, et al. Scleral hypoxia is a target for myopia control. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(30):E7091-E7100.

[30] Hu D, Jiang JH, Ding BY, et al. Mechanical strain regulates myofibroblast differentiation of human scleral fibroblasts by YAP. *Front Physiol*, 2021,12:712509.

[31] Xue M, Li BA, Lu Y, et al. FOXM1 participates in scleral remodeling in myopia by upregulating APOA1 expression through METTL3/YTHDF2. *Invest Ophthalmol Vis Sci*,2024,65(1):19.

[32] Shi Y, Zhang J, Duan W, et al. Bone morphogenetic proteins (BMPs) at the forefront of ocular diseases and therapeutics. *Eye Vis (Lond)*, 2025,12(1):29.

[33] Li HH, Huo LJ, Gao ZY, et al. Regulation of scleral fibroblast differentiation by bone morphogenetic protein-2. *Int J Ophthalmol*, 2014,7(1):152-156.

[34] Liao JG, Wu TF, Zhang Q, et al. TGF-beta/BMP signaling in skeletal biology: molecular mechanisms, regulatory networks, and therapeutic implications in development, regeneration, and disease. *Bone Res*, 2026,14:6.

[35] Elmasty K, Habib S, Moustafa M, et al. Bone morphogenetic proteins and diabetic retinopathy. *Biomolecules*, 2021,11(4):593.

- [36] Zhan X. Dynamic changes of activator protein 1 and collagen I expression in the sclera of myopia guinea pigs. *Int J Ophthalmol*, 2019, 12(8):1272–1276.
- [37] Qiu WX, Ma XL, Lin X, et al. Deficiency of Macf1 in osterix expressing cells decreases bone formation by Bmp2/Smad/Runx2 pathway. *J Cell Mol Med*, 2020,24(1):317–327.
- [38] Eraković M, Bekić M, Đokić J, et al. Biodentine stimulates calcium – dependent osteogenic differentiation of mesenchymal stromal cells from periapical lesions. *Int J Mol Sci*, 2025,26(9):4220.
- [39] Wang Q, Zhao G, Xing S, et al. Role of bone morphogenetic proteins in form – deprivation myopia sclera. *Mol Vis*, 2011, 17: 647–657.
- [40] 叶天宇, 郝琪, 毕宏生, 等. 骨形成蛋白及其信号通路在近视发病机制中作用的研究进展. *眼科新进展*, 2023,43(7):575–579.
- [41] Cai Z, Wang Z, Zhu Y, et al. BMP2 inhibits myopia progression by upregulating PPAR $\gamma$  in guinea pigs. *Exp Eye Res*, 2026,265:110881.
- [42] Cui N, Hu M, Khalil RA. Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases. *Matrix Metalloproteinases and Tissue Remodeling in Health and Disease: Cardiovascular Remodeling*. Amsterdam: Elsevier, 2017:1–73.
- [43] Ding MH, Guo DD, Wu JF, et al. Effects of glucocorticoid on the eye development in guinea pigs. *Steroids*, 2018,139:1–9.
- [44] Liu KQ, Li T, Gu LW, et al. Timp2 – modified gelatinhydroxyphenylpropionic acid hydrogels reverse enhanced scleral recovery and suppress myopia development in mice. *Mater Today Bio*, 2025,33:101942.
- [45] Conte R, Finicelli M, Borrone A, et al. MMP–2 silencing through siRNA loaded positively – charged nanoparticles ( AcPEI – NPs ) counteracts chondrocyte de – differentiation. *Polymers*, 2023, 15 ( 5 ) : 1172.