

• 论 著 •

长期抑制泛素羧基末端水解酶 L1 在自发性高血压大鼠视网膜病变中的作用及其机制研究

杜安杰, 孙松林, 翟俊涛

运城市中心医院/山西医科大学附属运城医院第八临床医学院眼科, 山西运城 044000

摘要:目的 探讨泛素羧基末端水解酶 L1(UCHL1)在自发性高血压(SHR)大鼠高血压及视网膜病变中的作用及机制。方法 选取 1 个月龄清洁级京都维斯特(WKY)和 SHR 大鼠各 16 只,随机分为 WKY 对照组、WKY+LDN57444 组、SHR 对照组和 SHR+LDN57444 组,每组 8 只。WKY+LDN67444 组、SHR+LDN57444 组连续给予 UCHL1 抑制剂 LDN67444[20 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$]灌胃治疗 4 个月。采用苏木精和伊红染色检测视网膜病理变化,二氢乙锭(DHE)荧光法检测视网膜活性氧(ROS)水平,同工凝集素(Isolectin B4)/DAPI 染色检测视网膜内皮细胞增殖情况,实时荧光定量 PCR 检测 UCHL1、炎症因子[白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)]和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶(NOX)1、NOX2、NOX4 mRNA 水平,蛋白质印迹法检测 UCHL1、缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)、抗血管内皮生长因子(VEGF)、抗磷酸化蛋白激酶 B(p-AKT)、磷酸化人核转录因子- κ B(p-NF- κ B)和磷酸化 κ B 抑制蛋白激酶 α/β (p-IKK α/β)蛋白水平。结果 与 WKY 大鼠比较,SHR 大鼠视网膜表现出中央厚度、ROS 生成和内皮细胞增殖能力增加等病理损伤;自 2 个月龄起,SHR 大鼠视网膜 UCHL1 水平和收缩压均逐渐升高;IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、NOX1、NOX2、NOX4 水平升高;p-AKT、p-IKK α/β 、p-NF- κ B、HIF-1 α 、VEGF 蛋白水平明显升高(均 $P < 0.05$)。与 SHR 对照组比较,SHR+LDN57444 组大鼠血压降低,视网膜中央厚度、ROS 生成和内皮细胞增殖能力增加等病理损伤有所减轻;视网膜炎症和 NOX1、NOX2、NOX4 水平降低,p-AKT、p-IKK α/β 、p-NF- κ B、HIF-1 α 、VEGF 蛋白水平降低(均 $P < 0.05$)。结论 UCHL1 参与高血压视网膜病变的发生发展,UCHL1 的抑制机制可能是通过抑制 AKT、HIF-1 α 和下游相关信号介质(IKK α/β 、NF- κ B 和 VEGF)的激活实现的,抑制 UCHL1 可降低血压,改善视网膜中央厚度、抑制炎症和氧化应激水平。

关键词: 高血压; 视网膜病变; 泛素羧基末端水解酶 L1; 炎症; 氧化应激

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.11.004

中图法分类号:R363.1

文章编号:1673-4130(2023)11-1293-07

文献标志码:A

Effect and mechanism of long-term inhibition of ubiquitin-carboxy-terminal hydrolase L1 on retinopathy in spontaneously hypertensive rats

DU Anjie, SUN Songlin, ZHAI Juntao

Department of Ophthalmology, Yuncheng Central Hospital/the Eighth Clinical Medical College of Yuncheng Hospital Affiliated to Shanxi Medical University, Yuncheng, Shanxi 044000, China

Abstract: **Objective** To investigate the role and mechanism of ubiquitin-carboxy-terminal hydrolase L1 (UCHL1) in hypertension and retinopathy in spontaneously hypertensive (SHR) rats. **Methods** A total of 16 1-month-old clean Kyoto West (WKY) rats and 16 1-month-old SHR rats were randomly divided into WKY control group, WKY+LDN57444 group, SHR control group, and SHR+LDN57444 group, with 8 rats in each group. The WKY+LDN57444 and SHR+LDN57444 groups were treated with UCHL1 inhibitor LDN67444 [20 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$] by gavage for 4 months. Hematoxylin and eosin staining was used to detect the pathological changes of the retina. The level of reactive oxygen species (ROS) in retina was detected by dihydroethidium (DHE) fluorescence method. Isolectin B4/DAPI staining was used to detect the proliferation of retinal endothelial cells. The mRNA levels of UCHL1, inflammatory cytokines [interleukin (IL)-1 β , IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α)] and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase (NOX) 1, NOX2, and NOX4 were detected by real-time fluorescent quantitative PCR. The protein levels of UCHL1, hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), anti-vascular endothelial growth factor (VEGF), anti-phosphorylated protein kinase B (p-AKT), phosphorylated human nuclear transcription factor (p-NF- κ B) and phosphorylated IKK α/β (p-

作者简介:杜安杰,男,主治医师,主要从事高血压视网膜病变相关研究。

IKK α / β) were detected by Western blot. **Results** Compared with WKY rats, the retina of SHR rats showed pathological damage such as increased central thickness, ROS production and endothelial cell proliferation. The level of UCHL1 and systolic blood pressure in the retina of SHR rats increased gradually from 2 months of age, the levels of IL-1 β , IL-6, TNF- α , NOX1, NOX2 and NOX4 increased, the protein levels of p-AKT, p-IKK α / β , p-p65, HIF-1 α and VEGF were significantly increased (all $P < 0.05$). Compared with SHR control group, the blood pressure of SHR+LDN57444 group was decreased, and the pathological damage of central retinal thickness, ROS production and endothelial cell proliferation were alleviated, the levels of retinal inflammation, NOX1, NOX2, NOX4, p-AKT, p-IKK α / β , p-NF- κ B, HIF-1 α and VEGF protein were decreased (all $P < 0.05$). **Conclusion** UCHL1 is involved in the development of hypertensive retinopathy. Inhibition of UCHL1 may be achieved by inhibiting the activation of AKT, HIF-1 α and its downstream signaling mediators (IKK α / β , NF- κ B and VEGF). Inhibition of UCHL1 can reduce blood pressure, improve central retinal thickness, and inhibit inflammation and oxidative stress.

Key words: hypertension; retinopathy; ubiquitin-carboxy-terminal hydrolase L1; inflammation; oxidative stress

高血压视网膜病变(HR)是指继发于原发性高血压的视网膜损伤,在高血压患者中的发生率高达 70%以上,目前临床尚缺乏特效疗法^[1]。泛素-蛋白酶体系统是真核细胞中关键的蛋白降解途径,参与调节细胞增殖、信号转导、炎症等多种生理过程^[2]。泛素羧基末端水解酶 L1(UCHL1)作为其中主要的去泛素酶,可特异性引起靶蛋白去泛素化以减少其降解,调节蛋白稳态。据报道,UCHL1 与高血压和心血管疾病的发生发展密切相关,抑制 UCHL1 可降低血管紧张素 II 诱导的血压升高和炎症细胞浸润^[3],并改善自发性高血压(SHR)大鼠的心脏肥大和功能障碍^[4]。提示 UCHL1 可介导高血压个体靶器官损伤,然而其在 HR 中的作用仍不清楚。最近研究发现,SHR 大鼠成年后即可表现出视网膜毛细血管闭塞及黄斑水肿等高血压视网膜病理损伤^[5]。因此,本研究给予 SHR 大鼠 UCHL1 抑制剂 LDN57444 处理,以确定 UCHL1 在 HR 中的作用和潜在机制。

1 材料与方法

1.1 材料 清洁级 1 个月龄京都维斯特(WKY)和 SHR 雄性大鼠各 16 只,体重 230~280 g,均购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物许可证号:SYXK(京)2021-0010。饲养条件:(23 $\pm$ 2) $^{\circ}$ C 恒温环境,12 h 光照/黑暗周期,自由饮食。

1.2 仪器与试剂 LDN57444(Selleck,美国);苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(索莱宝,中国);抗 UCHL1 抗体(Santa Cruz,美国);二氢乙锭(DHE)染色试剂盒(Sigma,美国);抗磷酸化蛋白激酶 B(p-AKT)、磷酸化人核转录因子- κ B(p-NF- κ B)、磷酸化 κ B 抑制蛋白激酶 α / β (p-IKK α / β)、缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)抗体(CST,美国);抗血管内皮生长因子(VEGF)抗体(Invitrogen,美国)。

1.3 方法

1.3.1 实验分组及给药 所有大鼠随机分为 WKY 对

照组、WKY+LDN57444 组、SHR 对照组和 SHR+LDN57444 组,每组 8 只。待 2 个月龄时给予 WKY+LDN57444 组、SHR+LDN57444 组大鼠灌胃给药 LDN57444[20 μ g/(kg $\cdot$ d)],WKY、SHR 对照组给予等量玉米油,持续 4 个月。

1.3.2 血压测量 各组大鼠自 1 个月龄起,每周使用无创尾套法(Softron,日本)测量血压和心率,直至 6 个月龄实验结束。每只大鼠至少测量 5 次,以平均值作为其最终血压和心率值。

1.3.3 视网膜组织结构分析 大鼠眼球标本在 4%多聚甲醛固定 48 h 后,经脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋,5 μ m 厚度切片备用。按照 HE 染色试剂盒说明书步骤进行常规染色。每只大鼠随机选取 4 个相距至少 60 μ m 的切片,400 倍光镜下拍照记录。

1.3.4 DHE 荧光法检测视网膜氧化应激水平 参考文献[6]方法,取大鼠视网膜组织制备冷冻切片,采用 DHE 在 37 $^{\circ}$ C 下孵育(5 μ m)30 min。BX53 荧光显微镜观察并随机选取 5 张图像拍照记录,用 Image J 6.0 软件量化荧光强度。

1.3.5 同工凝集素(Isolectin B4)/DAPI 染色检测视网膜内皮细胞增殖情况 冷冻切片制备方法同上,用 Dylight 594 标记的 Griffonia Simplicifolia Lectin I Isolectin B4 在 4 $^{\circ}$ C 下透化 12 h,并用 DAPI 室温下孵育 5 min。BX53 荧光显微镜获取图像,Image J 6.0 软件量化荧光强度。

1.3.6 实时荧光定量 PCR(qPCR)检测 采用 qPCR 检测视网膜组织 UCHL1、炎症因子[白细胞介素(IL)-1 β 、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)]和活性氧(ROS)生成相关基因[还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶(NOX)1、NOX2、NOX4]mRNA 水平 麻醉处死大鼠,摘除眼球并分离左眼视网膜,TRIzol 一步法提取总 RNA。采用 ULtraRT one step qPCR Kit 试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA,并以

其为模板进行 PCR 扩增,反应体系及条件为:2×ULtraRT one step Buffer 12.5 μL、RNA 1 μg、上下游引物各 1 μL、ULtraRT one step EnzymeMix 0.5 μL 和无 RNA 酶的双蒸水补足 25 μL。反应程序:45 ℃ 反转录 30 min;预变性 95 ℃ 2 min;变性 94 ℃ 30 s,退火 65 ℃ 30 s,延伸 72 ℃ 30 s,共 40 个循环;延伸 72 ℃ 5 min。引物序列见表 1。

1.3.7 蛋白质印迹法(Western blott)检测视网膜组织 UCHL1、p-AKT、p-NF-κB、p-IKKα/β、HIF-1α、VEGF 蛋白表达 利用组织匀浆器对视网膜组织标

本进行匀浆,离心分离后取上清液提取蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。蛋白煮沸变性后,应用十二烷基酸钠-聚丙烯酰胺凝胶对 40 μg 总蛋白进行电泳,以电湿转的方式将蛋白转移到硝酸纤维素膜上。置于 5%脱脂牛奶中室温封闭 1 h,分别用抗 p-AKT(1 : 1 000)、p-NF-κB(1 : 1 000)、p-IKKα/β(1 : 1 000)、HIF-1α(1 : 500)、VEGF(1 : 300)抗体 4 ℃ 孵育过夜,TBST 清洗 3 次后,荧光二抗(1 : 10 000)室温孵育 1 h。采用 ECL 化学发光法显示蛋白条带,Image-Pro Plus6.0 进行灰度分析。

表 1 qPCR 引物序列

基因	正向引物(5′-3′)	反向引物(5′-3′)
UCHL1	CGGCCAGCATGAAAACCTTC	TTATTGGCCACTGCGTGGAT
IL-1β	CTCTGTGACTCGTGGGATGATG	CCACTTGTGTGGCTTATGTTCTGTC
IL-6	TCTGCTCTGGTCTTCTGGAG	TTGCTCTGAATGACTCTGGC
TNF-α	TGATCGGTCCCAACAAGGA	TGCTTGGTGGTTTGCTACGA
NOX1	GCTCCTAAGAGGCTCCAGAC	TGGGTGCATGACAACCTTGG
NOX2	CTGCCAGTGTGTCGGAATCT	AATGGCCGTGTGAAGTGCTA
NOX4	TGGCCAACGAAGGGGTAAAA	CACTGAGAAGTTCAGGGCGT
GAPDH	AGTGCCAGCCTCGTCTCATA	GATGGTGATGGGTTTCCCGT

1.4 统计学处理 采用 SPSS26.0 软件进行数据处理和分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

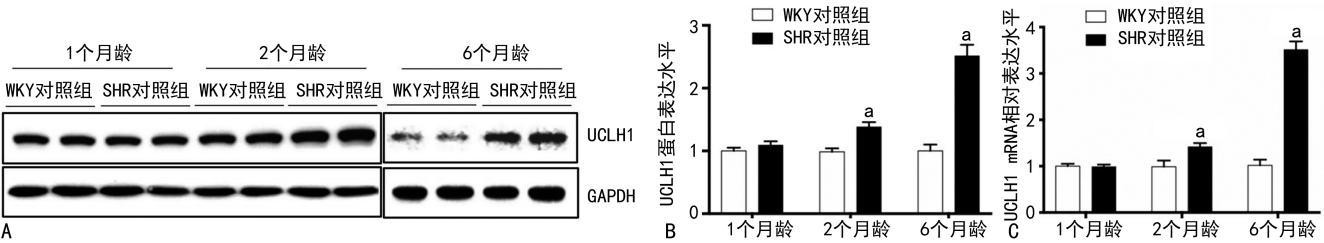
2 结 果

2.1 各组大鼠视网膜 UCHL1 水平比较 1 个月龄时,SHR 对照组和 WKY 对照组大鼠视网膜 UCHL1 mRNA 和蛋白水平差异无统计学意义(*P* > 0.05)。2、6 个月龄时,与 WKY 对照组比较,SHR 对照组大鼠视网膜 UCHL1 水平明显升高(*P* < 0.05)。见图 1。

2.2 各组大鼠血压比较 与 WKY 对照组比较,SHR 对照组大鼠收缩压从 2 个月龄开始逐渐升高

(*P* < 0.05);与 SHR 对照组比较,SHR + LDN57444 组大鼠收缩压明显降低(*P* < 0.05),但未恢复至 WKY 对照组大鼠的血压水平。而 WKY 对照组和 WKY + LDN57444 组大鼠的收缩压差异无统计学意义(*P* > 0.05)。见图 2。

2.3 各组大鼠视网膜形态学比较 HE 染色结果显示,两组 WKY 大鼠视网膜组织完整,结构清晰;SHR 对照组大鼠视网膜神经节细胞层排布疏松并出现肿胀,中央视网膜的厚度明显增加,特别是内网状层(IPL)、内核层(INL)和外网状层(OPL);而 SHR + LDN57444 组大鼠视网膜厚度较 SHR 对照明显减少,结构相对规整(*P* < 0.05)。见图 3。



注:A为 Western blot 检测 WKY 对照组和 SHR 对照组大鼠在 1、2、6 个月龄时视网膜的 UCHL1 蛋白水平;B为 UCHL1 蛋白水平定量统计结果;C为 qPCR 检测 UCHL1 的 mRNA 水平;与 WKY 对照组大鼠比较,^a*P* < 0.05。

图 1 各组大鼠视网膜 UCHL1 水平比较

2.4 各组大鼠视网膜氧化应激水平比较 与 WKY 对照组比较,SHR 对照组大鼠视网膜 ROS 水平升高(*P* < 0.05);与 SHR 对照组比较,SHR + LDN54777 组大鼠视网膜组织 ROS 水平降低(*P* < 0.05),这些差

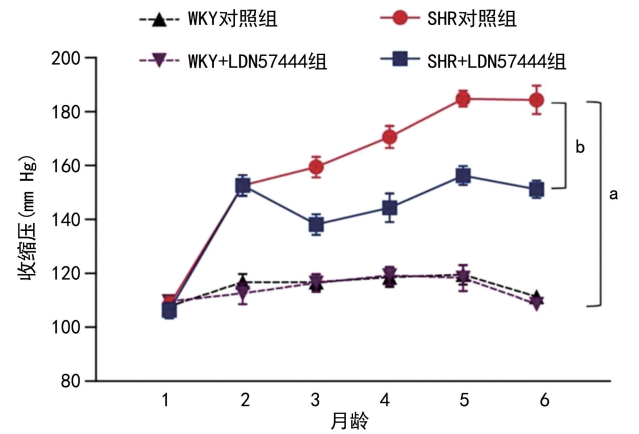
异主要在 INL 以上观察到。WKY 对照组和 WKY + LDN57444 组大鼠视网膜 ROS 水平差异无统计学意义(*P* > 0.05)。见图 4。

2.5 各组大鼠视网膜内皮细胞增殖情况比较

Isolectin B4/DAPI 染色结果显示,与 WKY 对照组比较,SHR 对照组大鼠视网膜内皮细胞 Isolectin B4 荧光强度明显升高($P<0.05$);与 SHR 对照组比较,SHR+LDN57444 组大鼠视网膜内皮细胞荧光强度明显降低($P<0.05$)。WKY 对照组和 WKY+LDN57444 组大鼠视网膜内皮细胞 Isolectin B4 荧光强度差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 5。

2.6 各组大鼠视网膜 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、NOX1、NOX2、NOX4 mRNA 水平比较 qPCR 结果表明,与 WKY 对照组比较,SHR 对照组大鼠视网膜 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、NOX1、NOX2、NOX4 mRNA 水平均明显升高($P<0.05$)。与 SHR 对照组比较,SHR+LDN5747 组大鼠视网膜中上述各指标水平均明显降低($P<0.05$)。WKY 对照组和 WKY+LDN57444 组大鼠视网膜上述各指标水平差异无统计学意义

($P>0.05$)。见图 6。



注:与 WKY 对照组比较,^a $P<0.05$;与 SHR 对照组比较,^b $P<0.05$ 。

图 2 各组大鼠血压比较

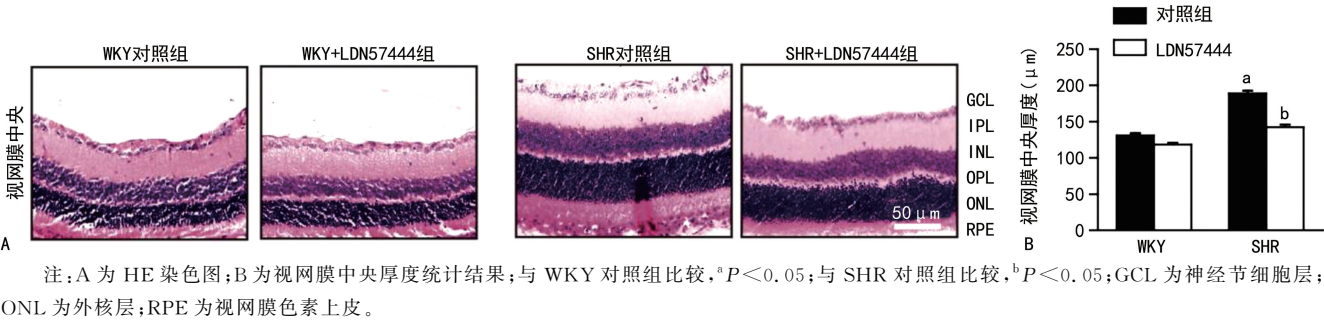


图 3 各组大鼠视网膜形态学比较

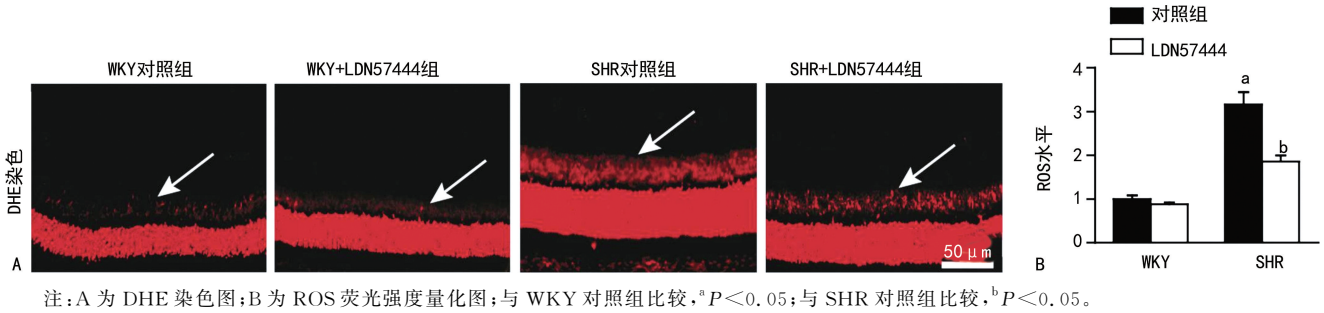


图 4 各组大鼠视网膜氧化应激水平比较

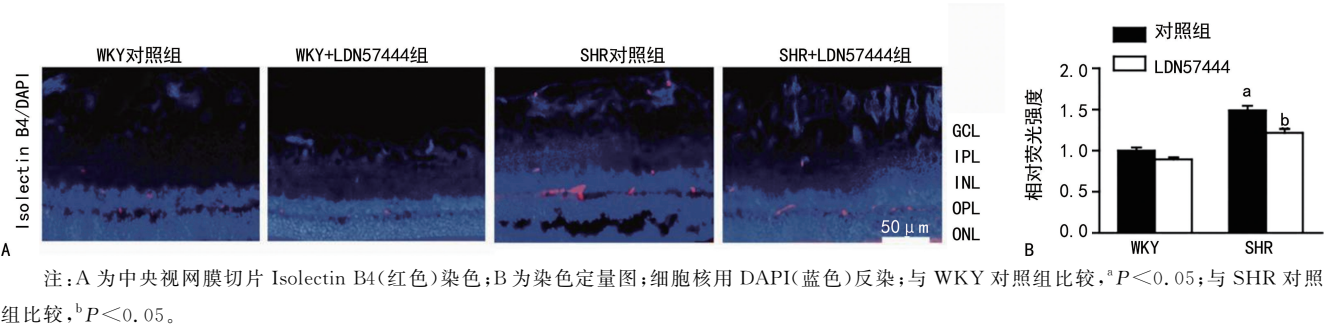
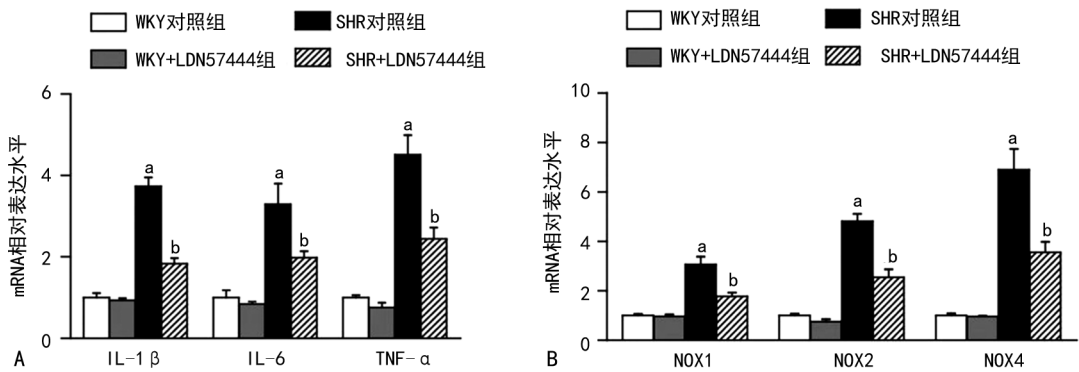


图 5 各组大鼠视网膜内皮细胞增殖情况比较

2.7 各组大鼠视网膜 p-AKT、p-IKK α / β 、p-NF- κ B、HIF-1 α 、VEGF 水平比较 Western blot 结果显示,与 WKY 对照组比较,SHR 对照组大鼠视网膜 p-AKT、p-IKK α / β 、p-NF- κ B、HIF-1 α 、VEGF 蛋白水平

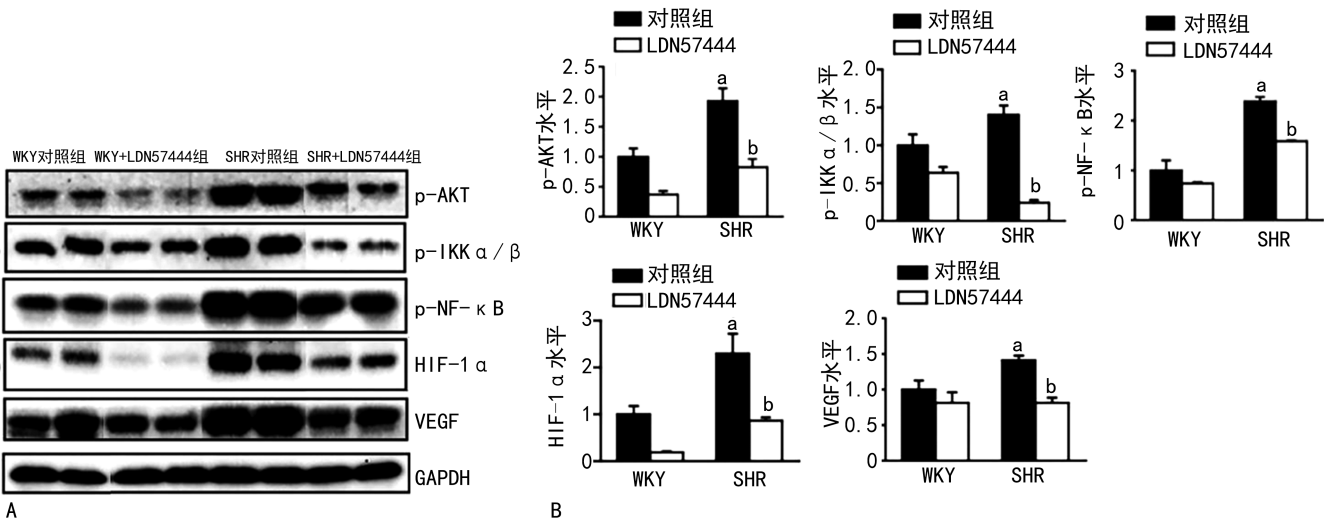
明显升高($P<0.05$);与 SHR 对照组比较,SHR+LDN57477 组大鼠视网膜 p-AKT、p-IKK α / β 、p-NF- κ B、HIF-1 α 、VEGF 蛋白水平降低($P<0.05$);WKY 对照组和 WKY+LDN57444 组大鼠视网膜上述指标

蛋白水平差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 7。



注:A为qPCR分析IL-1β、IL-6、TNF-α mRNA水平;B为qPCR分析NOX1、NOX2、NOX4 mRNA水平;与WKY对照组比较,^a $P<0.05$;与SHR对照组比较,^b $P<0.05$ 。

图6 各组大鼠视网膜IL-1β、IL-6、TNF-α、NOX1、NOX2、NOX4 mRNA水平比较



注:A为Western blot检测6个月龄各组大鼠视网膜p-AKT、p-IKKα/β、p-NF-κB、HIF-1α、VEGF蛋白水平;B为各蛋白定量图;GAPDH用作内参对照;与WKY对照组比较,^a $P<0.05$;与SHR对照组比较,^b $P<0.05$ 。

图7 各组大鼠视网膜p-AKT、p-IKKα/β、p-NF-κB、HIF-1α、VEGF水平比较

3 讨论

HR是由高血压引起的常见微血管病变并发症,因血压持续升高而造成视网膜病理重塑,导致视网膜水肿、出血、缺血或渗出等病变^[7]。HR不仅能反映心脏、大脑、肾脏等全身血管和器官的病理程度,也是导致视力下降甚至失明的主要原因^[8]。因此,迫切需要深入了解HR的发病机制,探索抑制HR进展的新型分子靶点,以改善高血压患者预后。

泛素-蛋白酶体系统在高血压相关疾病中发挥关键作用^[9]。作为主要的去泛素化酶之一,UCHL1具有多种生物学功能,并与神经退行性疾病、癌症、心血管疾病和视网膜病变有关^[10]。研究发现,UCHL1在压力负荷过载和血管紧张素Ⅱ诱导的小鼠心肌细胞中水平升高,并与心肌损伤程度呈正相关^[11],但在糖尿病大鼠的视网膜中表达减少^[12]。然而,UCHL1在HR中的研究报道较少。LDN54777是一种可逆的竞争性UCHL1水解酶活性抑制剂,其选择性阻断UCHL1活性已被证实可延缓阿尔茨海默病的进展,

抑制癌症侵袭,并改善心脏肥大和功能障碍^[13]。最新研究发现,SHR大鼠在2个月龄时开始表现出轻度高血压,但对靶器官没有明显损伤;随着血压持续升高,在6个月龄即可显示出高血压视网膜的病理损伤^[5]。因此,本研究选用SHR大鼠作为HR的动物模型,以探究UCHL1对HR的作用及潜在的分子机制。本研究结果显示,SHR大鼠从2个月龄开始,视网膜中UCHL1的mRNA和蛋白水平升高。此外,SHR大鼠的收缩压、中央视网膜厚度、炎症和超氧化物产生均较WKY大鼠升高,其机制与UCHL1水平有关。相比之下,每日给予2、6个月龄SHR大鼠LDN54777治疗明显减弱了这些影响。以上结果表明,UCHL1可作为HR严重程度的标志物,其水平升高是HR发病机制中的一个重要因素,抑制UCHL1的表达可以防止HR的发展,UCHL1是治疗HR的潜在治疗靶点。

虽然血压升高是HR的主要原因,但它不能完全解释其发病机制。HR的其他重要机制包括氧化应

激、慢性炎症、内皮功能障碍和高血压/血管紧张素 II 诱导的血管重塑等^[14]。研究发现,IL-1 β 水平升高可引发脉络膜退化,导致外层视网膜严重缺氧^[15]。此外,IL-1 β 、IL-6、TNF- α 在免疫激活和炎症反应中共同发挥调节作用,参与血管紧张素 II 诱导的视网膜中 NOX 和 VEGF 的激活,间接刺激视网膜血管新生,增加视网膜内皮细胞的通透性^[16]。ROS 是生物系统中普遍存在的信号分子,在促进炎症、内皮细胞增殖和迁移及新生血管的形成方面发挥关键作用^[17]。NOX 酶家族(NOX1、NOX2 和 NOX4)作为视网膜血管内皮细胞中 ROS 的主要来源,可引起内皮细胞功能紊乱,从而导致视网膜形态学变化和功能障碍。本研究结果显示,6 个月龄 SHR 大鼠视网膜中促炎症细胞因子(IL-1 β 、IL-6、TNF- α)和 NOX1、NOX2、NOX4 水平较 WKY 大鼠均升高,并提高了视网膜内皮细胞增殖能力,这与以往的研究结果一致^[18]。此外,本研究发现,与 SHR 对照组比较,接受 LDN54777 处理的 SHR 大鼠视网膜中上述指标水平明显降低。这些结果表明,高血压引起的炎症激活和超氧化物的产生在 HR 的发展过程中发挥重要作用,抑制 UCHL1 的表达不仅能明显降低血压,还能改善炎症和超氧化物的增加。

多种信号通路在 HR 中被激活,包括 AKT、同源性磷酸酶、NOX、转化生长因子 β 1/Smad 和 NF- κ B^[1]。研究发现,UCHL1 调节与炎症、氧化应激和动脉血管重塑有关的多种蛋白质的降解,包括 p53、人 NF- κ B 抑制蛋白 α 和 HIF-1 α ^[19-20]。通过进一步探索 UCHL1 的作用机制发现,与 WKY 大鼠比较,SHR 大鼠视网膜中 p-AKT 和 HIF-1 α 水平升高。这种变化在 LDN54777 治疗的 SHR 大鼠中被逆转,并降低了高血压视网膜的病理损伤。为了确定 LDN54777 如何抑制 SHR 大鼠的 HR,本研究进一步分析了多种信号传导途径。结果表明,LDN54777 明显阻断了 AKT、HIF-1 α 和相关信号介质(IKK α / β 、NF- κ B 和 VEGF)的激活。作为高血压中炎症反应的一个重要上游信号成分,NF- κ B 的激活引发了参与早期免疫反应每个阶段的各种炎症细胞因子的表达和分泌^[21]。相关研究表明,NF- κ B 信号传导是 VEGF、IL-6 和 NOX 的主要调节因子,进而调节氧化应激和血管功能,导致炎症因子渗入靶器官,激活炎症^[22]。提示 LDN54777 对 HR 的保护作用可能与抑制 AKT、IKK α / β 、NF- κ B、HIF-1 α 和 VEGF 信号通路有关。

综上所述,UCHL1 水平升高是 HR 发病机制的重要决定因素,抑制 UCHL1 的机制可能是通过抑制 AKT、HIF-1 α 和下游相关信号介质(IKK α / β 、NF- κ B 和 VEGF)的激活实现的,抑制 UCHL1 可降低血压,改善视网膜中央厚度、抑制炎症和氧化应激水平,防止 HR 进展,UCHL1 可能是 HR 的一个有前途的治疗靶点。

参考文献

- [1] DZIEDZIAK J, ZALESKA-ŻMIJEWSKA A, SZAFLIK J P, et al. Impact of arterial hypertension on the eye: a review of the pathogenesis, diagnostic methods, and treatment of hypertensive retinopathy [J]. *Med Sci Monit*, 2022, 28: e935135.
- [2] WANG S, LI J, BAI J, et al. The immunoproteasome subunit LMP10 mediates angiotensin II-induced retinopathy in mice [J]. *Redox Biol*, 2018, 16: 129-138.
- [3] WANG S, LI J, WANG T, et al. Ablation of immunoproteasome β 5i subunit suppresses hypertensive retinopathy by blocking ATRAP degradation in mice [J]. *Mol Ther*, 2020, 28(1): 279-292.
- [4] YUE J Z, ZHAO X. GPR174 suppression attenuates retinopathy in angiotensin II (Ang II)-treated mice by reducing inflammation via PI3K/AKT signaling [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 122: 109701.
- [5] POHL C, DIKIC I. Cellular quality control by the ubiquitin-proteasome system and autophagy [J]. *Science*, 2019, 366(6467): 818-822.
- [6] BI H L, ZHANG Y L, YANG J, et al. Inhibition of UCHL1 by LDN-57444 attenuates Ang II-induced atrial fibrillation in mice [J]. *Hypertens Res*, 2020, 43(3): 168-177.
- [7] HAN X, ZHANG Y L, FU T T, et al. Blockage of UCHL1 activity attenuates cardiac remodeling in spontaneously hypertensive rats [J]. *Hypertens Res*, 2020, 43(10): 1089-1098.
- [8] 田甜, 吴凌, 徐丽. 曲安奈德对自发性高血压大鼠视网膜 P2X7R/NLRP3 通路及眼底血管病变的影响 [J]. *眼科新进展*, 2020, 40(12): 1125-1129.
- [9] JIBRAN M S, HABIB S A, KHAN S B. Hypertensive retinopathy: a prognostic factor for morbidity and mortality after acute ST elevation myocardial infarction [J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2019, 29(3): 205-209.
- [10] SAMANTA D, PRABHAKAR N R, SEMENZA G L. Systems biology of oxygen homeostasis [J]. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, 2017, 9(4): 10.
- [11] YING X Y, ZHAO Y C, YAO T B, et al. Novel protective role for ubiquitin-specific protease 18 in pathological cardiac remodeling [J]. *Hypertension*, 2016, 68(5): 1160-1170.
- [12] BEDEKOVICS T, HUSSAIN S, GALARDY P J. Walking the tightrope: UCH-L1 as an mTOR inhibitor and B-cell oncogene [J]. *Oncotarget*, 2019, 10(50): 5124-5125.
- [13] GRAHAM S H, LIU H. Life and death in the trash heap: The ubiquitin proteasome pathway and UCHL1 in brain aging, neurodegenerative disease and cerebral ischemia [J]. *Ageing Res Rev*, 2017, 34: 30-38.
- [14] BI H L, ZHANG X L, ZHANG Y L, et al. The deubiquitinase UCHL1 regulates cardiac hypertrophy by stabilizing epidermal growth factor receptor [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(16): eaax4826.

9357.

[5] KUMARAVEL S, SINGH S, ROY S, et al. CXCL11-CXCR3 axis mediates tumor lymphatic cross talk and inflammation-induced tumor, promoting pathways in head and neck cancers[J]. *Am J Pathol*, 2020, 190(4):900-915.

[6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 宫颈癌及癌前病变规范化诊疗指南(试行)[J]. *慢性病学杂志*, 2013, 5(6):37-46.

[7] 张全文, 杨齐, 葛沙沙. XPNPEP2 蛋白高表达对乳腺癌远期预后的影响[J]. *中国临床研究*, 2021, 34(11):1478-1481.

[8] CAO M, WANG Y, WANG D, et al. Increased high-risk human papillomavirus viral load is associated with immunosuppressed microenvironment and predicts a worse long-term survival in cervical cancer patients[J]. *Am J Clin Pathol*, 2020, 153(4):502-512.

[9] TOTTEEN S P S, ROMERO J M. High-risk human papillomavirus testing for cervical cancer screening[J]. *JAMA Oncol*, 2021, 7(7):1066-1067.

[10] ZHENG R, HELLER D S. High-risk human papillomavirus identification in precancerous cervical intraepithelial lesions[J]. *J Low Genit Tract Dis*, 2020, 24(2):197-201.

[11] GAO Q, ZHANG Y. CXCL11 signaling in the tumor microenvironment[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 302(1):41-50.

[12] CAO Y, JIAO N, SUN T, et al. CXCL11 correlates with antitumor immunity and an improved prognosis in colon cancer[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9(3):252-258.

[13] LIU M J, GUO H, JIANG L L, et al. Elevated RBP-Jκ

and CXCL11 expression in colon cancer is associated with an unfavorable clinical outcome[J]. *Cancer Manag Res*, 2021, 13(5):3651-3661.

[14] WANG X, ZHANG J, ZHOU G. The CXCL11-CXCR3A axis influences the infiltration of CD274 and IDO1 in oral squamous cell carcinoma[J]. *J Oral Pathol Med*, 2021, 50(4):362-370.

[15] 蔡蕊. 高危型人乳头瘤病毒感染与宫颈炎、宫颈癌及癌前病变的关系研究[J]. *中国计划生育和妇产科*, 2019, 11(4):86-90.

[16] 张燕, 刘艺璇, 尹德财, 等. 胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 3 在 CIN 及宫颈癌患者中的表达及其在宫颈病变筛查中的意义[J]. *临床和实验医学杂志*, 2020, 19(9):96-99.

[17] 霍会蚕, 王如意, 李艳云, 等. 高危型 HPV 感染及 CALCA 基因启动子甲基化在宫颈病变检测中的临床价值[J]. *中华医院感染学杂志*, 2021, 31(17):2628-2632.

[18] RUSSO E, SANTONI A, BERNARDINI G. Tumor inhibition or tumor promotion? The duplicity of CXCR3 in cancer[J]. *J Leukoc Biol*, 2020, 108(2):673-685.

[19] GUDOWSKA-SAWCZUK M, KUDELSKI J, MROCZKO B. The role of chemokine receptor CXCR3 and its ligands in renal cell carcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(22):8582-8589.

[20] ZHU M X, WAN W L, HONG Y, et al. Expression and role of MIG/CXCR3 axis in mantle cell lymphoma[J]. *Exp Cell Res*, 2020, 397(2):112365-112372.

(收稿日期:2022-09-20 修回日期:2023-01-25)

(上接第 1298 页)

[15] ZHANG X M, GUO L L, NIU T, et al. Ubiquitin carboxyl terminal hydrolyase L1-suppressed autophagic degradation of p21WAF1/Cip1 as a novel feedback mechanism in the control of cardiac fibroblast proliferation[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4):e94658.

[16] SHRUTHI K, REDDY S S, REDDY G B. Ubiquitin-proteasome system and ER stress in the retina of diabetic rats[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2017, 627:10-20.

[17] KOBAYASHI E, AGA M, KONDO S, et al. C-terminal farnesylation of UCH-L1 plays a role in transport of epstein-barr virus primary oncoprotein LMP1 to exosomes[J]. *mSphere*, 2018, 3(1):e00030-18.

[18] POON W W, CARLOS A J, AGUILAR B L, et al. β -Amyloid (A β) oligomers impair brain-derived neurotrophic factor retrograde trafficking by down-regulating ubiquitin C-terminal hydrolase, UCH-L1[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(23):16937-16948.

[19] COBAN E, NIZAM I, TOPAL C, et al. The association of

low-grade systemic inflammation with hypertensive retinopathy[J]. *Clin Exp Hypertens*, 2010, 32(8):528-531.

[20] KARACA M, COBAN E, OZDEM S, et al. The association between endothelial dysfunction and hypertensive retinopathy in essential hypertension[J]. *Med Sci Monit*, 2014, 20:78-82.

[21] MATTEUCCI A, RICCERI L, FABBRI A, et al. Eye drop instillation of the Rac1 modulator CNF1 attenuates retinal gliosis and ameliorates visual performance in a rat model of hypertensive retinopathy[J]. *Neuroscience*, 2019, 411:119-129.

[22] ZHOU T E, RIVERA J C, BHOSLE V K, et al. Choroidal involution is associated with a progressive degeneration of the outer retinal function in a model of retinopathy of prematurity: early role for IL-1 β [J]. *Am J Pathol*, 2016, 186(12):3100-3116.

(收稿日期:2022-09-20 修回日期:2023-01-28)