

基于网络药理学和动物实验探讨原花青素治疗青光眼的的作用机制

李彦, 张丽阳*, 曹慧, 杨华, 王保君

新乡医学院第一附属医院 眼科, 河南 新乡 453100

摘要: **目的** 基于网络药理学和动物实验探讨原花青素治疗青光眼的的作用机制。**方法** 从 SwissTargetPrediction、SEA、TargetNET 数据库收集原花青素的作用靶点; 从 GeneCards、OMIM、TTD 数据库收集青光眼相关靶点, 通过韦恩图筛选交集靶点。利用 String 数据库构建蛋白相互作用 (PPI) 网络, CytoScape 3.9.0 软件筛选 Hub 靶点; 通过 DAVID 数据库进行基因本体论 (GO) 功能及京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 富集分析; 采用 Autodock Vina 软件进行分子对接验证。构建急性青光眼模型, 设置对照组、模型组、原花青素组 (50、100 mg/kg)。通过 RT-PCR 检测雌激素受体 1 (*ESR1*)、热休克蛋白 90 α 家族 A 类成员 1 (*HSP90AA1*)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (*PTGS2*)、B 细胞淋巴瘤 2 (*Bcl-2*)、基质金属蛋白酶 2 (*MMP2*) 基因表达, 免疫荧光技术观察视网膜神经节细胞 (RGCs) 存活情况。**结果** 筛选得到原花青素靶点 76 个、青光眼相关靶点 6 433 个, 交集关键靶点 52 个, Hub 靶点包括 *ESR1*、*HSP90AA1*、*PTGS2*、*Bcl-2*、*MMP2*。GO 功能分析显示关键靶点涉及对外源性刺激反应、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 级联反应调控等生物过程; KEGG 富集分析主要涉及激素信号传导、雌激素信号通路等。分子对接结果显示原花青素与 Hub 靶点均能稳定结合。动物实验证实, 与模型组相比, 原花青素组大鼠视网膜组织 *ESR1*、*Bcl-2* mRNA 表达升高, *HSP90AA1*、*PTGS2*、*MMP2* mRNA 表达降低 ($P < 0.05$), 且 RGCs 存活数量显著增加 ($P < 0.05$ 、 0.001)。**结论** 原花青素可能通过调控 *ESR1*、*HSP90AA1*、*PTGS2*、*Bcl-2*、*MMP2* 等关键靶点相关通路抑制 RGCs 死亡, 发挥治疗青光眼的作用。

关键词: 原花青素; 青光眼; 网络药理学; Hub 靶点; 视网膜神经节细胞; 雌激素受体 1; 热休克蛋白 90 α 家族 A 类成员 1; 前列腺素内过氧化物合酶 2; B 细胞淋巴瘤 2; 基质金属蛋白酶 2

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1674 - 5515(2026)02 - 0337 - 09

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2026.02.009

Mechanism of action of proanthocyanidins in treatment of glaucoma based on network pharmacology and animal experiments

LI Yan, ZHANG Liyang, CAO Hui, YANG Hua, WANG Baojun

Department of Ophthalmology, The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453100, China

Abstract: Objective To explore the mechanism of action of proanthocyanidins in treatment of glaucoma based on network pharmacology and animal experiments. **Methods** The target sites of proanthocyanidins were collected from the SwissTargetPrediction, SEA, and TargetNET databases, the targets related to glaucoma were collected from the GeneCards, OMIM, and TTD databases, and the intersecting target sites were screened through Venn diagrams. PPI network was constructed using the String database, and the Hub target sites were screened by CytoScape 3.9.0 software. GO functional and KEGG enrichment analyses were performed using the DAVID database. Molecular docking verification was conducted using the Autodock Vina software. An acute glaucoma model was constructed, with control group, model group, and proanthocyanidins group (50 and 100 mg/kg). The expression of *ESR1*, *HSP90AA1*, *PTGS2*, *Bcl-2*, and *MMP2* genes was detected by RT-PCR, and the survival status of RGCs was observed by immunofluorescence technique. **Results** A total of 76 proanthocyanidins targets, and 6 433 glaucoma-related targets were screened out, with 52 key intersection targets. The Hub targets included *ESR1*, *HSP90AA1*, *PTGS2*, *Bcl-2*, and *MMP2*. The GO function analysis showed that the key targets were involved in biological processes such as response to exogenous stimuli and regulation of MAPK cascade reaction. KEGG enrichment analysis mainly involved hormone signaling, estrogen signaling pathway, etc. The

收稿日期: 2025-12-28

基金项目: 河南省医学科技攻关计划项目 (LHGJ20230515); 新乡市科技攻关计划项目 (GG2021030)

作者简介: 李彦, 女, 副主任医师, 博士, 研究方向为青光眼、屈光不正的发病机制及诊治。E-mail: 582101586@qq.com

*通信作者: 张丽阳, 女, 硕士, 研究方向为青光眼、屈光不正的发病机制及诊治。E-mail: 2014305487@qq.com

molecular docking results showed that proanthocyanidins could stably bind to the Hub targets. Animal experiments confirmed that compared with the model group, the mRNA expression of *ESR1* and *Bcl-2* in the rat retinal tissue increased in the anthocyanin group, while the mRNA expressions of *HSP90AA1*, *PTGS2*, and *MMP2* decreased ($P < 0.05$), and the number of surviving RGCs significantly increased ($P < 0.05$, 0.001). **Conclusion** Proanthocyanidins may inhibit the death of RGCs by regulating key target-related pathways such as *ESR1*, *HSP90AA1*, *PTGS2*, *Bcl-2*, and *MMP2*, thereby exerting a therapeutic effect on glaucoma.

Key words: Procyanidin; Glaucoma; Network pharmacology; Hub genes; retinal ganglion cells; *ESR1*; *HSP90AA1*; *PTGS2*; *Bcl-2*; *MMP2*

青光眼是全球范围内首要的不可逆致盲性疾病,其核心病理特征为视网膜神经节细胞(RGCs)进行性丢失及视神经变性,临床表现为视盘病变、视力下降及视野缺损^[1-2]。预计到2040年,全球青光眼患者人数将增至1.118亿人,给公共卫生领域带来沉重负担^[3]。目前临床治疗主要以降低眼压为主,但部分患者仍面临视神经损伤进展风险^[4],因此寻找安全有效的神经保护策略成为研究热点。

原花青素是一类广泛存在于植物中的多酚类化合物,具有抗炎、抗氧化及抗凋亡等多种生物活性^[5-9]。在青光眼研究中,原花青素显示出对RGCs的保护潜力。已有证据表明,它能够通过清除活性氧(ROS)减轻 H_2O_2 诱导的氧化应激损伤,并通过下调促凋亡蛋白Bcl-2相关X蛋白(Bax)与半胱天冬酶-3(Caspase-3)、上调抗凋亡蛋白Bcl-2来抑制RGC凋亡^[10]。在DBA/2J青光眼小鼠模型中,葡萄籽原花青素被证实可通过调节凋亡相关蛋白表达显著提高RGCs存活率,并抑制胶质纤维酸性蛋白(GFAP)的过度表达从而减轻视网膜胶质细胞反应性增生^[11]。此外,葡萄籽原花青素ig能有效抑制DBA/2J小鼠的眼压升高,其机制可能与保护小梁网细胞功能、减少氧化应激诱导的细胞凋亡,从而增强房水流出有关^[12]。上述动物实验发现已初步获得临床验证,标准化原花青素复合制剂Mirtogenol®(含70%原花青素的海松皮提取物与36%花青素的越橘提取物)在原发性开角型青光眼中显示出辅助治疗价值:对药物控制不佳的患者,口服4周可进一步降低眼压8.7%;与拉坦前列素联合使用6周可产生协同降眼压效应(降至24 mmHg, 1 mmHg = 133.3 Pa),并显著改善视神经与视网膜血流灌注^[13-14]。

网络药理学作为系统生物学的重要工具,能够通过整合多维度数据,系统性预测药物与疾病相互作用的关键靶点及通路,为机制探索提供重要线索^[15-16]。因此,本研究综合运用网络药理学方

法预测原花青素治疗青光眼的潜在靶点与信号通路,并进一步通过动物实验对关键枢纽(Hub)基因表达及RGCs存活情况进行验证,旨在系统阐明其发挥治疗作用的内在机制,为青光眼的临床治疗提供新的实验依据。

1 网络药理学方法

1.1 药物及疾病靶点筛选

PubChem数据库检索原花青素的SMILES字符,分别在SwissTargetPrediction(<http://swisstargetprediction.ch/>)、SEA(<https://sea.bkslab.org/>)、TargetNet(<http://targetnet.scbdd.com/>)数据库中收集其作用靶点,去重后得到原花青素潜在靶点。以“glaucoma”为关键词,在GeneCards(<http://tcm.cmu.edu.tw/index.php>)、OMIM(<https://www.omim.org/>)、TTD(<https://db.idrblab.net/ttd/>)数据库中收集青光眼相关靶点,去重后得到疾病靶点。

1.2 关键靶点筛选及蛋白相互作用(PPI)网络的构建

使用微生信在线平台绘制韦恩图,获取药物靶点与疾病靶点的交集靶点。将关键靶点导入String(<https://cn.string-db.org/>)数据库,物种选择“homo sapiens”,阈值设置为“highest confidence”,构建PPI网络,下载结果文件后通过CytoScape 3.9.0软件进行可视化,根据节点度(degree)值筛选前5位Hub靶点。

1.3 基因本体(GO)功能及京都基因和基因组百科全书(KEGG)富集分析

将关键靶点上传至DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/>)数据库,选择“homo sapiens”靶点信息,进行GO功能[生物过程(BP)、细胞成分(CC)、分子功能(MF)]及KEGG通路富集分析,以 $P < 0.05$ 为筛选条件,通过微生信在线平台绘制可视化图表。

1.4 分子对接

从PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

数据库获取原花青素的 sdf 文件, 通过 Autodock Vina 软件进行能量最小化、加氢和电荷校正; 从 PDB (<https://www.rcsb.org/>) 数据库下载靶点的 pdb 格式文件, 去除水分子、抑制剂及盐离子, 修补氢原子并优化构象。以原花青素为配体、Hub 靶点为受体, 采用全原子对接方式进行分子对接, 输出前 9 位构象, 通过 Pymol 2.5.2 软件可视化结果, 以结合自由能评价结合稳定性。

2 动物实验方法

2.1 动物

清洁级 SD 大鼠 32 只, 体质量 200~250 g, 8~10 周龄, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司[动物合格证批号 SYXK(京)2016-0011]。采用大鼠专用饲料, 专用笼喂养, 适应性喂养 3 d。实验方案经河南医药大学第一附属医院伦理委员会批准(EC-026-53)。

2.2 药品及试剂

原花青素(批号 C15J8Y37946, 质量分数 ≥ 98%) 购自上海源叶生物科技有限公司; RNA 提取试剂盒(批号 240003001) 购自 Solarbio 公司; 反转录试剂盒(批号 2831467) 购自赛默飞公司; 雌激素受体 1 (ESR1)、热休克蛋白 90α 家族 A 类成员 1 (HSP90AA1)、前列腺素内过氧化物合酶 2 (PTGS2)、Bcl-2、基质金属蛋白酶 2 (MMP2)、β-肌动蛋白(β-actin) 引物由上海生工生物工程股份有限公司合成。免疫荧光兔源一抗 Brn3a 抗体(批号 AB245230) 购自 Abcam 公司, 驴抗兔二抗 Alexa Fluor 488(批号 2467345) 购自 Invitrogen 公司, DAPI(批号 20240602) 购自 Solarbio 公司。

2.3 分组、造模及给药

将 32 只 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、原花青素组(50、100 mg/kg), 每组 8 只。除对照组外, 其余各组采用 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸(NMDA)眼

内注射法构建视网膜兴奋毒性损伤模型, 模拟急性青光眼病变^[17-18], 具体方法为大鼠 ip 1%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉后, 眼部常规消毒, 用 33 号针头连接微量进样器于大鼠右眼角膜缘后 1 mm 处穿刺进针, 缓慢注入 5 μL 100 mmol/L NMDA 溶液(溶于无菌生理盐水), 注射速度控制在 1 μL/min, 注射完毕后留针 30 s 再缓慢拔针, 避免药液反流。对照组大鼠右眼眼内注射等体积生理盐水, 操作同前。造模后 24 h, 通过眼底镜观察到大鼠视网膜出现急性期反应性改变(视网膜神经节细胞层轻度水肿、反光异常), 提示诱发早期视网膜应激成功^[19-20]。但该时间点的水肿可能为可逆性改变, 不作为造模成功的独立判定标准, 最终造模成功的确认依据为实验终点(给药第 4 周)的视网膜荧光检测^[21]。原花青素组大鼠每日 ig 原花青素 50、100 mg/kg^[22-23]。对照组和模型组每日 ig 等体积生理盐水, 连续给药 4 周, 期间常规饲养, 每日观察大鼠一般状态及眼部情况。

2.4 RT-PCR 检测

给药 4 周后, 大鼠腹腔麻醉, 快速取右眼视网膜组织, 按照 RNA 提取试剂盒说明书提取总 RNA, 反转录合成 cDNA。以 β-actin 为内参基因, 采用 RT-PCR 法检测视网膜组织中 ESR1、HSP90AA1、PTGS2、Bcl-2、MMP2 mRNA 的表达水平。PCR 反应条件: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 变性 15 s, 60 °C 退火 32 s, 72 °C 延伸 10 s, 共 40 个循环; 72 °C 终延伸 5 min, 引物序列见表 1。

2.5 免疫荧光检测

给药 4 周后, 大鼠经心脏灌注 4%多聚甲醛固定, 取右眼球, 置于 4%多聚甲醛中继续固定 24 h, 梯度蔗糖脱水, OCT 包埋, 制作视网膜冰冻切片(厚度 10 μm)。按照免疫荧光染色试剂盒说明书进行操作, 加入抗 Brn3a 一抗(1:200 稀释), 4 °C 孵育

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

基因	正向引物 (5'-3')	反向引物 (5'-3')
<i>ESR1</i>	TCGGAGTACCTGAAGCTGTTG	GCTGCTTTGCTGTTGTTGCT
<i>HSP90AA1</i>	AGAGGCAAGAGTTGGTGATG	GCTTGTAAGCTTGC GG TAG
<i>PTGS2</i>	CCTTCCTGTTTCCAGAGTGG	GCTGGTGGTGATGATGGTAT
<i>Bcl-2</i>	GGTGGTGGAGGA ACTCTTC	AGAGACAGCCAGGAGAAAT
<i>MMP2</i>	GGTCCCTGGCATTGACG	CAGGGCGTCATCGTACTT
<i>β-actin</i>	GTGACGTTGACATCCGTAAAGA	GCCGGACTCATCGTACTCC

过夜,加入荧光二抗 Alexa Fluor 488(1 : 500 稀释), 室温孵育 1 h, DAPI 染核 5 min, 荧光显微镜下观察并拍照, Image J 软件计数视网膜神经节细胞层中 Brn3a 阳性细胞数。

2.6 统计学分析

实验数据采用 SPSS 26.0 软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用最小显著性差异检验, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 网络药理学研究结果

3.1 靶点筛选结果

通过数据库检索及去重, 共获得原花青素靶点 76 个、青光眼相关靶点 6 433 个。韦恩图分析显示, 两者交集靶点共 52 个, 见图 1。

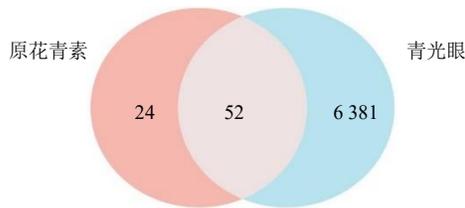


图 1 原花青素与青光眼的交集靶点韦恩图
Fig. 1 Venn diagram of the intersection targets of proanthocyanidins and glaucoma

3.2 PPI 网络构建及 Hub 靶点筛选

将 52 个关键靶点导入 String 数据库构建 PPI 网络, 共获得 48 个节点和 172 条边, 见图 2。通过 CytoScape 3.9.0 软件分析节点 degree 值, 筛选出前 5 位的靶点, 分别为 ESR1 (degree=23)、HSP90AA1 (degree=22)、PTGS2 (degree=21)、Bcl-2 (degree=20)、MMP2 (degree=15)。进一步使用 Cytoscape 3.9.0 软件构建“药物-靶点-疾病”网络, 共有 54 个节点和 104 条边, 见图 3。

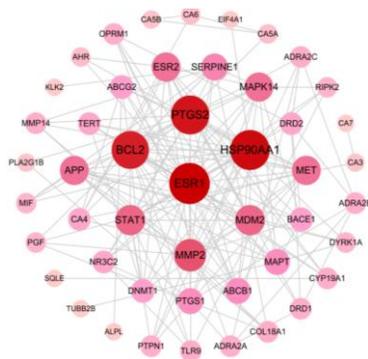


图 2 PPI 网络
Fig. 2 PPI network

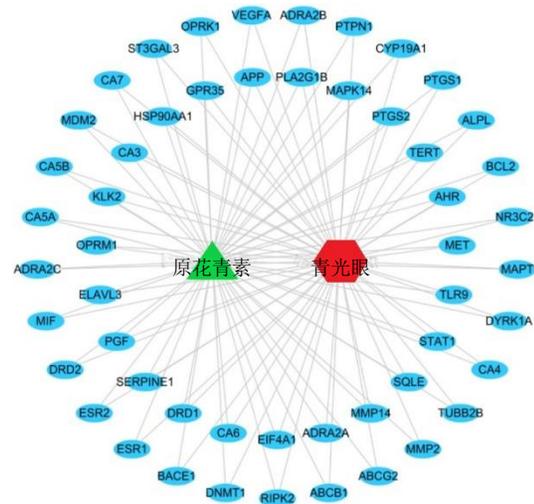


图 3 “药物-靶点-疾病”网络
Fig. 3 “Drug - target - disease” network

3.3 GO 和 KEGG 富集功能分析

GO 功能分析结果显示, 关键靶点涉及 10 个主要 BP, 包括对外源性刺激的反应、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 级联反应的正调控、一氧化氮生物合成过程的正调控等; 10 个主要 CC, 包括细胞表面、蛋白质复合体、质膜、细胞质等; 10 个主要 MF, 包括碳酸酐酶活性、酶结合、蛋白质同源二聚化活性等, 见图 4。

KEGG 富集分析结果显示, 关键靶点主要富集于 20 条通路, 其中排名靠前的包括激素信号传导、癌症通路、内分泌抵抗、糖尿病并发症中的晚期糖基化终产物 (AGEs) 与其特异性受体 (RAGE) 信号通路、雌激素信号通路等, 见图 5。

3.4 分子对接结果

分子对接结果显示, 原花青素与 5 个 Hub 靶点均能稳定结合, 结合自由能介于 -9.4 ~ -11.3 kcal/mol (1 cal=4.2 J), 见表 2。其中原花青素与 HSP90AA1 的结合自由能最低 (-11.3 kcal/mol), 结合最稳定; 与 MMP2 形成 5 个分子间相互作用键, 结合力最强, 见图 6。

4 动物实验结果

4.1 RT-PCR 检测结果

与模型组相比, 原花青素各剂量组大鼠视网膜组织中 *ESR1*、*Bcl-2* mRNA 表达水平显著升高, *HSP90AA1*、*PTGS2*、*MMP2* mRNA 表达水平显著降低 ($P<0.05$), 且呈剂量相关性, 见表 3。

4.2 免疫荧光检测结果

免疫荧光染色显示, Brn3a 阳性细胞主要位于

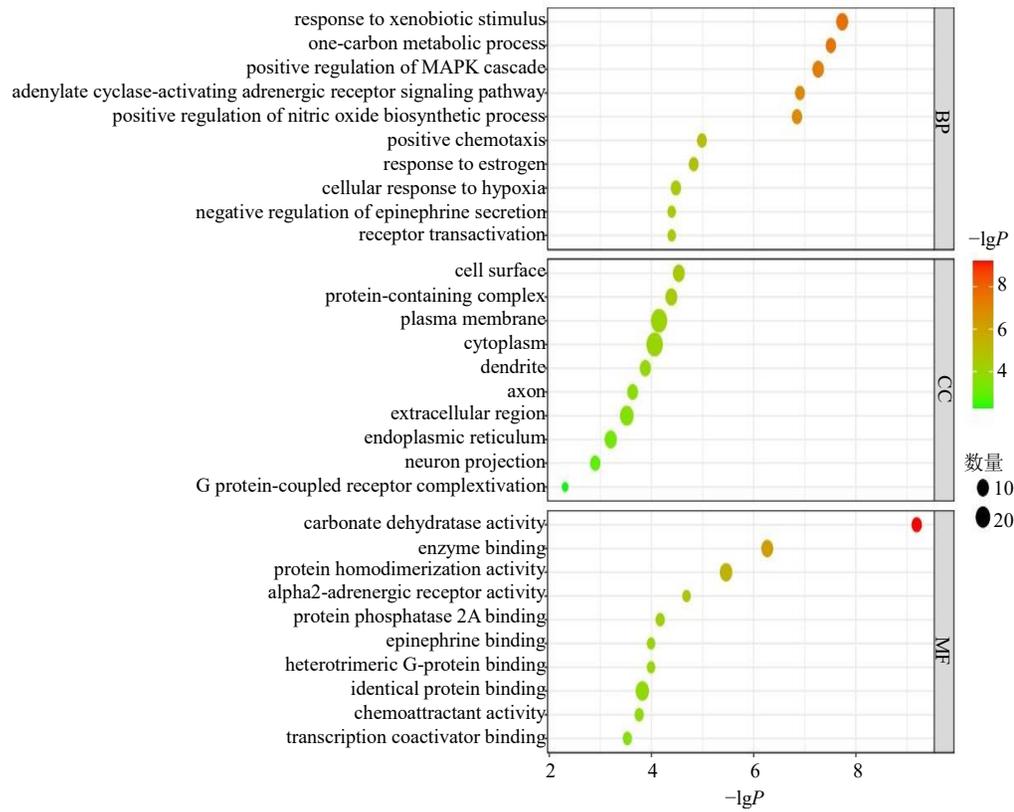


图 4 GO 功能富集分析图

Fig. 4 GO function enrichment analysis diagram

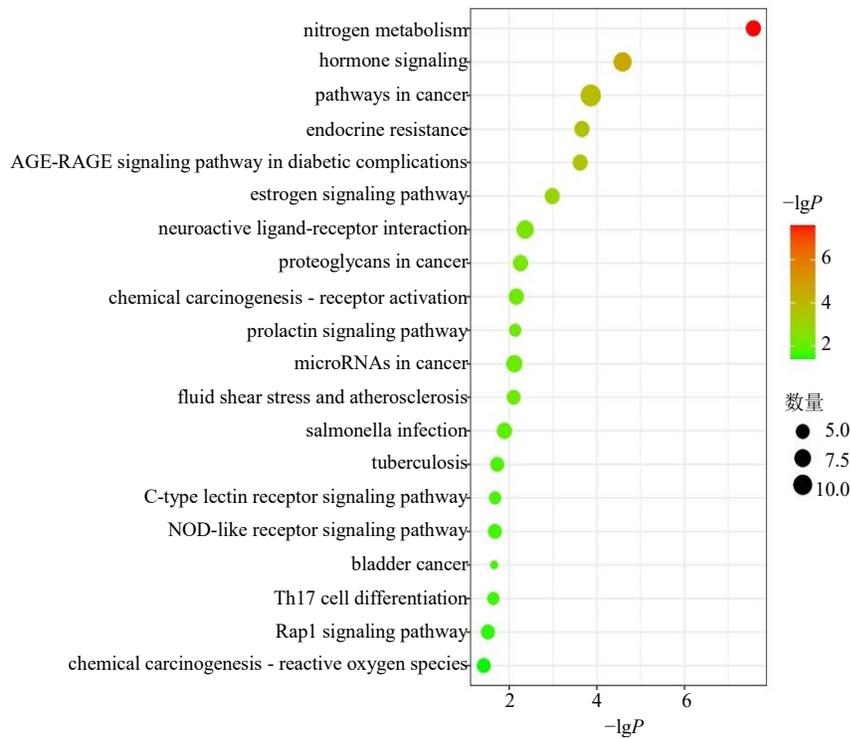


图 5 KEGG 通路富集分析图

Fig. 5 KEGG pathway enrichment analysis diagram

表 2 原花青素与 Hub 靶点的分子对接结果
Table 2 Molecular docking results of proanthocyanidins and Hub targets

Hub 靶点	PDB ID	结合能/(kcal·mol ⁻¹)
Bcl-2	6VO4	-9.4
ESR1	4XI3	-9.5
HSP90AA1	1BYQ	-11.3
MMP2	1QIB	-10.2
PTGS2	5F19	-9.6

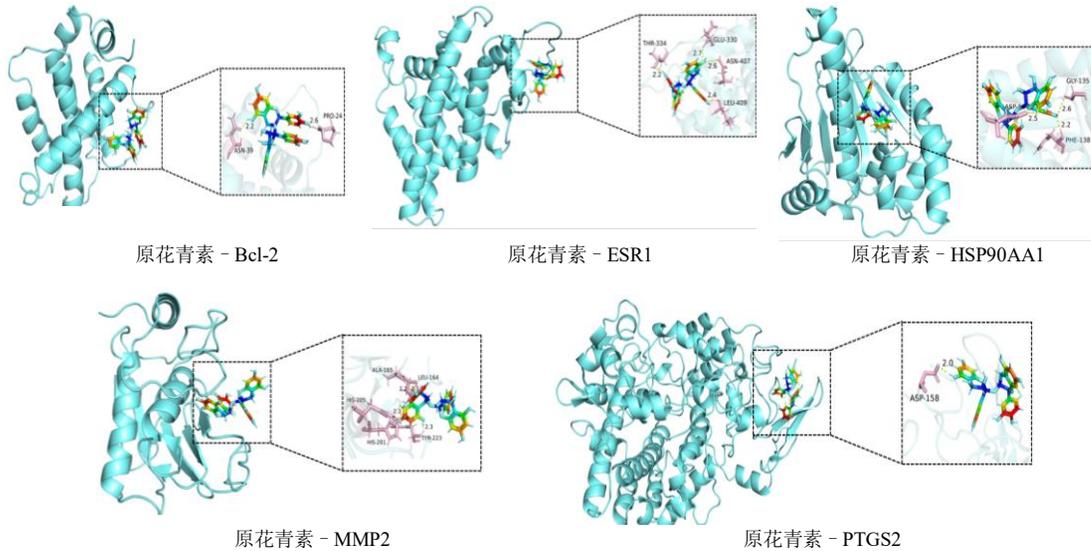


图 6 分子对接模式图

Fig. 6 Molecular docking mode diagram

表 3 各组大鼠视网膜组织中 *ESR1*、*HSP90AA1*、*PTGS2*、*Bcl-2*、*MMP2* mRNA 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 3 Comparison of mRNA expression levels of *ESR1*, *HSP90AA1*, *PTGS2*, *Bcl-2*, and *MMP2* in the retinal tissues of each group of rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	mRNA 相对表达量				
		<i>ESR1</i>	<i>HSP90AA1</i>	<i>PTGS2</i>	<i>Bcl-2</i>	<i>MMP2</i>
对照	—	1.00 ± 0.08	1.02 ± 0.09	1.01 ± 0.07	1.03 ± 0.08	1.00 ± 0.06
模型	—	0.42 ± 0.05*	2.35 ± 0.16*	2.18 ± 0.13*	0.38 ± 0.04*	2.41 ± 0.15*
原花青素	50	0.75 ± 0.06#	1.56 ± 0.11#	1.49 ± 0.10#	0.72 ± 0.05#	1.63 ± 0.12#
	100	0.91 ± 0.07# ^Δ	1.18 ± 0.08# ^Δ	1.22 ± 0.09# ^Δ	0.94 ± 0.07# ^Δ	1.25 ± 0.09# ^Δ

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$; 与原花青素 mg·kg⁻¹ 组比较: ^Δ $P < 0.05$ 。

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group; ^Δ $P < 0.05$ vs proanthocyanidins group.

越单纯降眼压的神经保护策略, 已成为青光眼治疗领域的重要前沿。原花青素作为一类广泛存在的天然多酚化合物, 凭借其卓越的抗氧化、抗炎及抗凋亡特性, 展现出潜在的神经保护价值^[5, 7-8, 24-25]。然而, 其对青光眼视神经的保护机制还尚不清楚。本研究通过网络药理学挖掘原花青素干预青光眼的潜在核心靶标, 进而通过体内动物实验, 在 NMDA 诱导的青光眼样兴奋性毒性损伤模型中, 验证了其

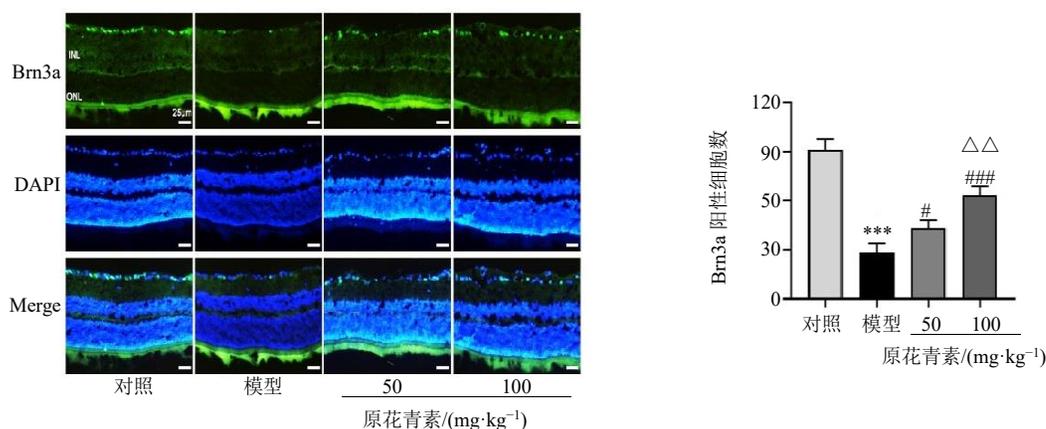
视网膜神经节细胞层。与模型组相比, 原花青素各剂量组大鼠视网膜神经节细胞层中 Brn3a 阳性细胞数显著增多 ($P < 0.05, 0.001$), 且呈剂量相关性, 见图 7。

5 讨论

青光眼作为一种进行性、多因素介导的视神经退行性疾病, 其不可逆性视力丧失的核心病理环节是视网膜神经节细胞的进行性凋亡与丢失。因此, 超

对视网膜神经节细胞的保护效能及对关键靶点的调控作用, 从而为阐明其多靶点、多通路的神经保护机制提供了扎实的实验证据。

网络药理学分析揭示, 原花青素与青光眼之间存在 52 个交集靶点, 其中 *ESR1*、*HSP90AA1*、*PTGS2*、*Bcl-2*、*MMP2* 构成网络中的枢纽。GO 功能及 KEGG 富集分析显示, 关键靶点主要涉及对外源性刺激反应、MAPK 级联反应调控等 BP, 以及



与对照组比较: *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ### $P < 0.001$; 与原花青素 50 mg·kg⁻¹ 组比较: △△ $P < 0.01$ 。
 *** $P < 0.001$ vs control group; # $P < 0.05$ ### $P < 0.001$ vs model group; △△ $P < 0.01$ vs proanthocyanidins 50 mg·kg⁻¹ group.

图 7 各组大鼠视网膜免疫荧光染色图

Fig. 7 Immunofluorescence staining maps of the retinas of each group of rats

激素信号传导、雌激素信号通路等相关通路。这些 BP 和通路均与细胞凋亡、炎症反应、神经损伤修复等密切相关,提示原花青素可能具备系统干预疾病多环节的独特优势。动物实验验证中观察到视网膜组织呈现典型的分子损伤谱:促存活与神经保护相关基因 *ESR1*、*Bcl-2* mRNA 表达显著下调,而应激、炎症及组织破坏相关基因 *HSP90AA1*、*PTGS2*、*MMP2* 的表达则异常上调。这一表达模式生动地模拟了青光眼病理中多种损伤机制并存的分子微环境。同时本研究发现,原花青素的干预以剂量相关的方式,显著逆转了上述所有异常变化。

ESR1 是雌激素受体家族中的一员,属于核受体超家族,是一种配体激活的转录因子,其参与的通路在维持 RGCs 存活、促进轴突再生及调节脑源性神经营养因子等方面具有明确保护作用,其信号衰减与青光眼进展相关^[26-27]。本研究中原花青素上调 *ESR1*,提示其可能通过模拟或增强内源性雌激素样神经保护通路,发挥对 RGCs 的保护作用。*Bcl-2* 是细胞程序性死亡调控网络中最核心的抗凋亡蛋白之一,其表达增加能直接稳定线粒体外膜完整性,抑制细胞色素 C 释放及后续的 Caspase 级联反应,是阻断 RGCs 凋亡的执行环节^[28-29]。原花青素对 *Bcl-2* 的上调作用,为其抗凋亡效应提供了直接的分子解释。

另一方面,原花青素对损伤因子的抑制同样构成了保护的重要支柱。*HSP90AA1* 是热休克蛋白 90 家族的关键亚型,作为一种 ATP 依赖的分子伴侣,在维持细胞内蛋白稳态、调控信号转导及应激适应

中发挥核心作用,其过度表达常伴随并加剧内质网应激与未折叠蛋白反应,最终导向细胞死亡^[30-31]。

下调 *HSP90AA1* 可能意味着原花青素有助于缓解病理状态下蛋白质稳态网络的失衡,减轻由此引发的进一步损伤。*PTGS2* 是花生四烯酸代谢途径中的关键限速酶,作为一种病理诱导型酶,在正常生理状态下多数组织表达极低,但在炎症、缺氧、生长因子及细胞应激信号刺激下被迅速、强烈地诱导表达,在急性和慢性炎症反应中发挥核心调控作用^[32-33]。原花青素显著抑制 *PTGS2*,强有力地证实了其抗炎特性在青光眼保护中的关键作用。*MMP2* 是基质金属蛋白酶家族中的重要成员,是一种锌离子依赖性的内肽酶,主要功能是特异性降解细胞外基质中的多种蛋白质成分,在组织发育、重塑、修复及病理破坏过程中扮演核心角色。其活性异常升高会破坏视神经筛板的结构完整性,损害轴浆运输,并激活星形胶质细胞^[34-35]。原花青素对 *MMP2* 表达的下调作用,提示其可能通过稳定视网膜及视神经头(尤其是筛板区)的细胞外基质,为视网膜神经节细胞及其轴突的存活提供了必要的结构与微环境支持。前期分子对接所揭示的原花青素与各靶点蛋白的高结合亲和力,从计算化学层面为这种多靶点协同调控的可行性提供了结构学依据。本研究通过建立 NMDA 诱导的青光眼样损伤大鼠模型,有力证实了上述多靶点分子调控的最终生物学效应——即视网膜神经节细胞的存活。原花青素干预 4 周后,观察到原花青素治疗能剂量相关性地有效减缓 RGCs 细胞丢失,且呈剂量相关性。

本研究通过整合网络药理学与动物实验,系统阐明了原花青素在青光眼中的多靶点神经保护机制。结果表明,原花青素通过协同调控 ESR1、Bcl-2、HSP90AA1、PTGS2、MMP25 个核心靶点,从增强内源性保护、抗凋亡、缓解应激、抗炎及稳定细胞外基质等多维度发挥协同保护作用,并在体内实验中有效减轻了 NMDA 诱导的视网膜神经节细胞丢失。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Jayaram H, Kolko M, Friedman D S, et al. Glaucoma: Now and beyond [J]. *Lancet*, 2023, 402(10414): 1788-1801.
- [2] Safa B N, Wong C A, Ha J, et al. Glaucoma and biomechanics [J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2022, 33(2): 80-90.
- [3] Tham Y C, Li X, Wong T Y, et al. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040 [J]. *Ophthalmology*, 2014, 121(11): 2081-2090.
- [4] Mohan N, Chakrabarti A, Nazm N, et al. Newer advances in medical management of glaucoma [J]. *Indian J Ophthalmol*, 2022, 70(6): 1920-1930.
- [5] Martinez-Micaelo N, González-Abuín N, Ardèvol A, et al. Procyanidins and inflammation: Molecular targets and health implications [J]. *BioFactors*, 2012, 38(4): 257-265.
- [6] Bladé C, Aragonès G, Arola-Arnal A, et al. Proanthocyanidins in health and disease [J]. *BioFactors*, 2016, 42(1): 5-12.
- [7] Han S, Gao H W, Chen S R, et al. Procyanidin A1 alleviates inflammatory response induced by LPS through NF-κB, MAPK, and Nrf2/HO-1 pathways in RAW264.7 cells [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 15087.
- [8] Wang Q Q, Gao H W, Yuan R, et al. Procyanidin A2, a polyphenolic compound, exerts anti-inflammatory and anti-oxidative activity in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells [J]. *PLoS ONE*, 2020, 15(8): e0237017.
- [9] Chen J R, Zhong K X, Jing Y Q, et al. Procyanidin B2: A promising multi-functional food-derived pigment for human diseases [J]. *Food Chem*, 2023, 420: 136101.
- [10] Wang H, Zhang C J, Lu D, et al. Oligomeric proanthocyanidin protects retinal ganglion cells against oxidative stress-induced apoptosis [J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(25): 2317-2326.
- [11] Li L L, Geng X, Tian L L, et al. Grape seed proanthocyanidins protect retinal ganglion cells by inhibiting oxidative stress and mitochondrial alteration [J]. *Arch Pharm Res*, 2020, 43(10): 1056-1066.
- [12] Wang M X, Zheng Y J. Oxidative stress and antioxidants in the trabecular meshwork [J]. *Peer J*, 2019, 7: e8121.
- [13] Steigerwalt R D, Belcaro G, Morazzoni P, et al. Mirtogenol® potentiates latanoprost in lowering intraocular pressure and improves ocular blood flow in asymptomatic subjects [J]. *Clin Ophthalmol*, 2010, 4: 471-476.
- [14] Manabe K, Kaidzu S, Tsutsui A, et al. Effects of French maritime pine bark/bilberry fruit extracts on intraocular pressure for primary open-angle glaucoma [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2021, 68(1): 67-72.
- [15] Zhao W B, Wang B Y, Li S, et al. Network pharmacology for traditional Chinese medicine in era of artificial intelligence artificial intelligence [J]. *Chin Herb Med*, 2024, 16(4): 558-560.
- [16] 梁爽, 唐源, 兰天, 等. 基于网络药理学、分子对接及实验验证探讨雷公藤红素调控铁死亡抑制胃癌的作用机制 [J]. *中草药*, 2025, 56(7): 2385-2395.
- [17] Di Pierdomenico J, Gallego-Ortega A, Norte-Muñoz M, et al. Evaluation of the neuroprotective efficacy of the gramine derivative ITH12657 against NMDA-induced excitotoxicity in the rat retina [J]. *Front Neuroanat*, 2024, 18: 1335176.
- [18] Huang W J, Hu F Y, Wang M, et al. Comparative analysis of retinal ganglion cell damage in three glaucomatous rat models [J]. *Exp Eye Res*, 2018, 172: 112-122.
- [19] Gao L, Zheng Q J, Ai L Q Y, et al. Exploration of the glutamate-mediated retinal excitotoxic damage: A rat model of retinal neurodegeneration [J]. *Int J Ophthalmol*, 2018, 11(11): 1746-1754.
- [20] Lambuk L, Jafri A J A, Iezhitsa I, et al. Dose-dependent effects of NMDA on retinal and optic nerve morphology in rats [J]. *Int J Ophthalmol*, 2019, 12(5): 746-753.
- [21] Heisler-Taylor T, Wan R, Urbanski E G, et al. Multimodal imaging and functional analysis of the chick NMDA retinal damage model [J]. *PLoS One*, 2021, 16(9): e0257148.
- [22] Wang J M, Yu T, Sheng L Q, et al. Lotus seedpod proanthocyanidins protect against light-induced retinal damage via antioxidative stress, anti-apoptosis, and neuroprotective effects [J]. *Med Sci Monit*, 2021, 27: e935000.
- [23] Zhen J L, Qu Z Z, Fang H B, et al. Effects of grape seed proanthocyanidin extract on pentylentetrazole-induced kindling and associated cognitive impairment in rats [J]. *Int J Mol Med*, 2014, 34(2): 391-398.
- [24] Li Y, Cheng Z Q, Wang K, et al. Procyanidin B2 and rutin in ginkgo biloba extracts protect human retinal pigment epithelial (RPE) cells from oxidative stress by modulating

- Nrf2 and Erk1/2 signalling [J]. *Exp Eye Res*, 2021, 207: 108586.
- [25] Lee T H, Hong S M, Yoon D H, *et al.* Procyanidins and phlobatannins from the twigs of *Rosa multiflora* and their neuroprotective activity [J]. *J Nat Prod*, 2022, 85(4): 917-926.
- [26] Grinshpun A, Chen V, Sandusky Z M, *et al.* ESR1 activating mutations: From structure to clinical application [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2023, 1878(1): 188830.
- [27] Yang X R, Zhao H, Shan M, *et al.* Efficacy of bioactive compounds of Chaihu on glaucomatous optic atrophy through interleukin-6/hypoxia inducible factor-1 α signal pathway [J]. *J Tradit Chin Med*, 2023, 43(6): 1219-1226.
- [28] Maes M E, Schlamp C L, Nickells R W. BAX to basics: How the BCL2 gene family controls the death of retinal ganglion cells [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2017, 57: 1-25.
- [29] Hu H H, Wu L M, Hu X D, *et al.* Neuroprotective and intraocular pressure lowering effects of dual-functional memantine nitrate MN-08 on the experimental models of glaucoma [J]. *Sci Rep*, 2025, 15(1): 23822.
- [30] Hu S T, Tang Y Z, Li X B, *et al.* Hsp90aa1/JUN/Ccl2 regulatory axis mediates migration and differentiation of NSPCs, promoting the onset and progression of early post-ischemic stroke epilepsy [J]. *Neurobiol Dis*, 2024, 200: 106635.
- [31] Yang S S, Nie T J, She H, *et al.* Regulation of TFEB nuclear localization by HSP90AA1 promotes autophagy and longevity [J]. *Autophagy*, 2023, 19(3): 822-838.
- [32] Shanmugham V, Subban R. Capsanthin from *Capsicum annum* fruits exerts anti-glaucoma, antioxidant, anti-inflammatory activity, and corneal pro-inflammatory cytokine gene expression in a benzalkonium chloride-induced rat dry eye model [J]. *J Food Biochem*, 2022, 46(10): e14352.
- [33] Nakamura N, Honjo M, Yamagishi-Kimura R, *et al.* Neuroprotective effect of omidenepag on excitotoxic retinal ganglion cell death regulating COX-2-EP2-Camp-PKA/epac pathway via neuron-glia interaction [J]. *Neuroscience*, 2024, 553: 145-159.
- [34] Booth H D E, Wessely F, Connor-Robson N, *et al.* RNA sequencing reveals MMP2 and TGFB1 downregulation in LRRK2 G2019S parkinson's iPSC-derived astrocytes [J]. *Neurobiol Dis*, 2019, 129: 56-66.
- [35] Wei P, Wang K, Luo C, *et al.* Cordycepin confers long-term neuroprotection via inhibiting neutrophil infiltration and neuroinflammation after traumatic brain injury [J]. *J Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 137.

[责任编辑 高源]