

维生素C对糖尿病小鼠视网膜的保护作用

胡 彬¹, 田艳明^{2*}

¹石河子大学医学院, 新疆 石河子

²新疆军区总医院眼科, 新疆 乌鲁木齐

收稿日期: 2025年2月18日; 录用日期: 2025年3月11日; 发布日期: 2025年3月24日

摘 要

糖尿病视网膜病变(Diabetic Retinopathy, DR)是糖尿病的主要微血管并发症,慢性炎症和细胞凋亡在其发生发展中起关键作用。研究表明,维生素C具有抗氧化和抗炎特性,可能有助于缓解DR相关的视网膜损伤。然而,其在DR体内模型中的保护作用仍不明确。本研究采用链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ)诱导糖尿病小鼠模型,检测维生素C干预对视网膜组织结构及炎症因子表达的影响。结果表明,维生素C通过减少TNF- α 、IL-1 β 、IL-6和MCP-1的表达水平,减轻炎症反应,同时抑制视网膜神经细胞凋亡并改善视网膜厚度。研究揭示了维生素C可能通过抗炎和抗凋亡机制对DR产生保护作用,为其作为辅助治疗提供了实验依据。

关键词

糖尿病视网膜病变, 炎症, 凋亡, 维生素C

The Protective Effect of Vitamin C on the Retina of Diabetic Mice

Bin Hu¹, Yanming Tian^{2*}

¹School of Medicine, Shihezi University, Shihezi Xinjiang

²Department of Ophthalmology, Xinjiang Military Region General Hospital, Urumqi Xinjiang

Received: Feb. 18th, 2025; accepted: Mar. 11th, 2025; published: Mar. 24th, 2025

Abstract

Diabetic retinopathy (DR) is a major microvascular complication of diabetes, with chronic inflammation and cell apoptosis playing key roles in its pathogenesis. Vitamin C has antioxidant and anti-inflammatory properties, and may help alleviate retinal damage associated with DR. However, its protective effects in DR animal models are still unclear. In this study, a STZ-induced diabetic mouse

*通讯作者。

文章引用: 胡彬, 田艳明. 维生素 C 对糖尿病小鼠视网膜的保护作用[J]. 眼科学, 2025, 14(1): 57-62.
DOI: 10.12677/hjo.2025.141008

model was used to examine the impact of vitamin C intervention on retinal tissue structure and inflammatory cytokine expression. The results showed that vitamin C significantly reduced the expression levels of $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 , and MCP-1 , alleviating inflammation, while inhibiting retinal neuronal cell apoptosis and improving retinal thickness. The study suggests that vitamin C may exert protective effects on DR through anti-inflammatory and anti-apoptotic mechanisms, providing experimental support for its use as an adjunctive therapy.

Keywords

Diabetic Retinopathy, Inflammation, Apoptosis, Vitamin C

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

糖尿病视网膜病变(Diabetic Retinopathy, DR)是糖尿病(Diabetes Mellitus, DM)的主要眼部并发症, 预计至 2050 年, DM 患者将超过 13.1 亿, 其中约三分之一糖尿病患者面临 DR 的威胁[1] [2]。慢性炎症是导致糖尿病视网膜病变进展的关键因素, 细胞因子在 DM 患者及动物模型中表达增强, 造成视网膜血管功能障碍和神经元损伤[3]。抑制视网膜炎症是 DR 预防的关键。目前, DR 的主要治疗方法包括视网膜激光光凝、抗 VEGF 药物和皮质类固醇治疗, 但这些方法并非对所有患者有效, 且存在副作用。除了药物治疗, 体力活动、饮食和膳食补充剂也在 DR 的预防和治疗中发挥重要作用[4]-[6]。维生素 C 是一种天然抗氧化剂, 可从水果和蔬菜中获取, 也可以作为膳食补充剂服用。有证据表明维生素 C 通过减少氧化应激和抗炎作用有助于控制和预防 DR [7]。然而其应用在 DR 体内的研究仍较少。本研究通过检测体内血清肿瘤坏死因子- α (Tumor necrosis factor- α , $\text{TNF-}\alpha$), 白介素- 1β (Interleukin- 1β 1, $\text{IL-1}\beta$), 白介素-6(Interleukin-6, IL-6), 单核细胞趋化蛋白-1 (Monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)的表达, 并评估视网膜组织的损伤和凋亡, 探讨维生素 C 补充对糖尿病小鼠视网膜凋亡和炎症的影响。研究结果可能为 DR 的分子机制提供新的见解, 并为未来利用维生素 C 进行 DR 治疗提供潜在的策略。

2. 材料与方法

2.1. 动物

36 只 C57BL/6J 小鼠, 8 周龄, 随机分为对照组, DM 组, 维生素 C 干预组, 每组 12 只。对于 DM 小鼠模型, 我们按照之前的报道用 STZ 进行诱导, DM 组和维生素 C 干预组小鼠禁食 8 h 后, 腹腔注射 60 mg/kg 链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ)柠檬酸缓冲液, 连续 5 天, STZ 注射 1 w 及 2 w 后, 测定小鼠空腹血糖, 将血糖高于 16.7 mmol/L 的小鼠判定为 DM 小鼠。对照组为注射相同剂量柠檬酸缓冲液的正常小鼠。在最后一次注射 STZ 后的第 12 w 时, 维生素 C 干预组小鼠在饮用水中额外补充 1.5 g/L 的维生素 C。继续饲养 4 w 后, 摘取眼球并采集血液样本用于以下实验。所有动物购于新疆医科大学动物实验中心, 饲养于新疆军区总医院动物实验中心, 温度(23 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度($47\% \pm 4\%$), 每日光照 12 h, 昼夜交替, 水食不限。涉及的所有实验均已获得新疆军区总医院实验伦理审查会的审核和批准。

2.2. 主要试剂与仪器

维生素 C (Aladdin, S475240), STZ (Sigma, S0130), Tunel 细胞凋亡检测试剂盒(servicebio, G1502),

Elisa 试剂盒(上海优选), 共聚焦显微镜(Leica)。

2.3. 组织病理学检测

小鼠眼球固定后进行石蜡包埋, 将眼球切成 5 μm 的切片。然后按照标准流程用苏木精和伊红(H&E)对切片进行染色, 最后, 以显微镜用 400 $\times$ 的放大倍率对切片进行成像。

2.4. TUNEL 试剂盒检测细胞凋亡

切片步骤同上, 严格依据 TUNEL 检测试剂盒说明对小鼠视网膜组织染色, 使用抗荧光淬灭封片剂封片。以 400 $\times$ 的放大倍率对切片进行成像。

2.5. Elisa 试剂盒检测糖尿病小鼠体内 TNF- α , IL-1 β , IL-6, MCP-1 表达

根据生产商的说明, 使用小鼠酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(上海优选)测定小鼠血清 IL-6(YX-091206M), IL-1 β (YX-E20533), MCP-1(YX-E21034), TNF- α (YX-201407M)。

2.6. 统计学方法

数据以均数 $\pm$ 标准差表示, 采用 SPSS 27.0 分析。三组间比较使用单因素方差分析(ANOVA), 组间两两比较采用 Tukey HSD 法; 两组间比较采用独立样本 t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. 维生素 C 减轻 DM 小鼠视网膜的病理改变和细胞凋亡

为了评估维生素 C 对视网膜神经元的影响, 用 H&E 和 TUNEL 试剂盒分别对视网膜进行染色。见图 1A 所示, 正常对照组小鼠的视网膜结构完好, 从内向外依次为神经节细胞层(Ganglion Cell Layer, GCL)、外丛状层(Outer Plexiform Layer, OPL)、外核层(Outer Nuclear Layer, ONL)、内丛状层(Inner Plexiform Layer, IPL)和内核层(Inner Nuclear Layer, INL)。DM 小鼠的视网膜细胞数量减少, 细胞间排列变得松散, 视网膜厚度变薄。见图 1B 和图 1C 所示, 糖尿病小鼠视网膜 INL 厚度显著减少, 并且神经细胞凋亡显著增多。然而在接受维生素 C 治疗的糖尿病小鼠中, 视网膜 INL 厚度减少与视神经细胞凋亡都得到了改善。

3.2. 维生素 C 减轻 DM 小鼠体内的炎症反应

为了评估维生素 C 对 DM 小鼠体内炎症反应的影响, 用 Elisa 试剂盒测量血清 TNF- α , IL-1 β , IL-6, MCP-1 表达。见表 1, DM 组小鼠体内 TNF- α , IL-1 β , IL-6, MCP-1 表达显著增强, 而接受维生素 C 治疗的 DM 小鼠体内循环炎症因子表达显著降低。

4. 讨论

维生素 C 是一种人体必需的营养素, 在免疫系统的各种途径中发挥着辅助因子和调节剂的重要作用。有研究证据表明, DR 患者体内的维生素 C 含量明显较低, 且血清维生素 C 与 DR 的风险及严重程度显著关联[8]。然而, 关于维生素 C 补充剂对 DR 患者相关影响的信息仍较少, 对改善 DR 的潜在机制仍有待阐明。我们的研究表明, 维生素 C 对糖尿病小鼠的视网膜具有保护作用, 这可能是由于抗凋亡与抗炎的联合作用, 这为其在 DR 患者中的使用提供初步支持。

DR 是一种以视网膜微血管病变为特征的神经退行性疾病, 其发生发展过程是由多种机制相互作用引起, 包括高级糖化终产物形成、山梨醇积累、多元醇通路、己胺通路激活、蛋白激酶 C 激活和血管内皮生长因子(VEGF)的过度表达[9]。此外, 高血糖导致活性氧(ROS)水平升高, 加重氧化应激程度及

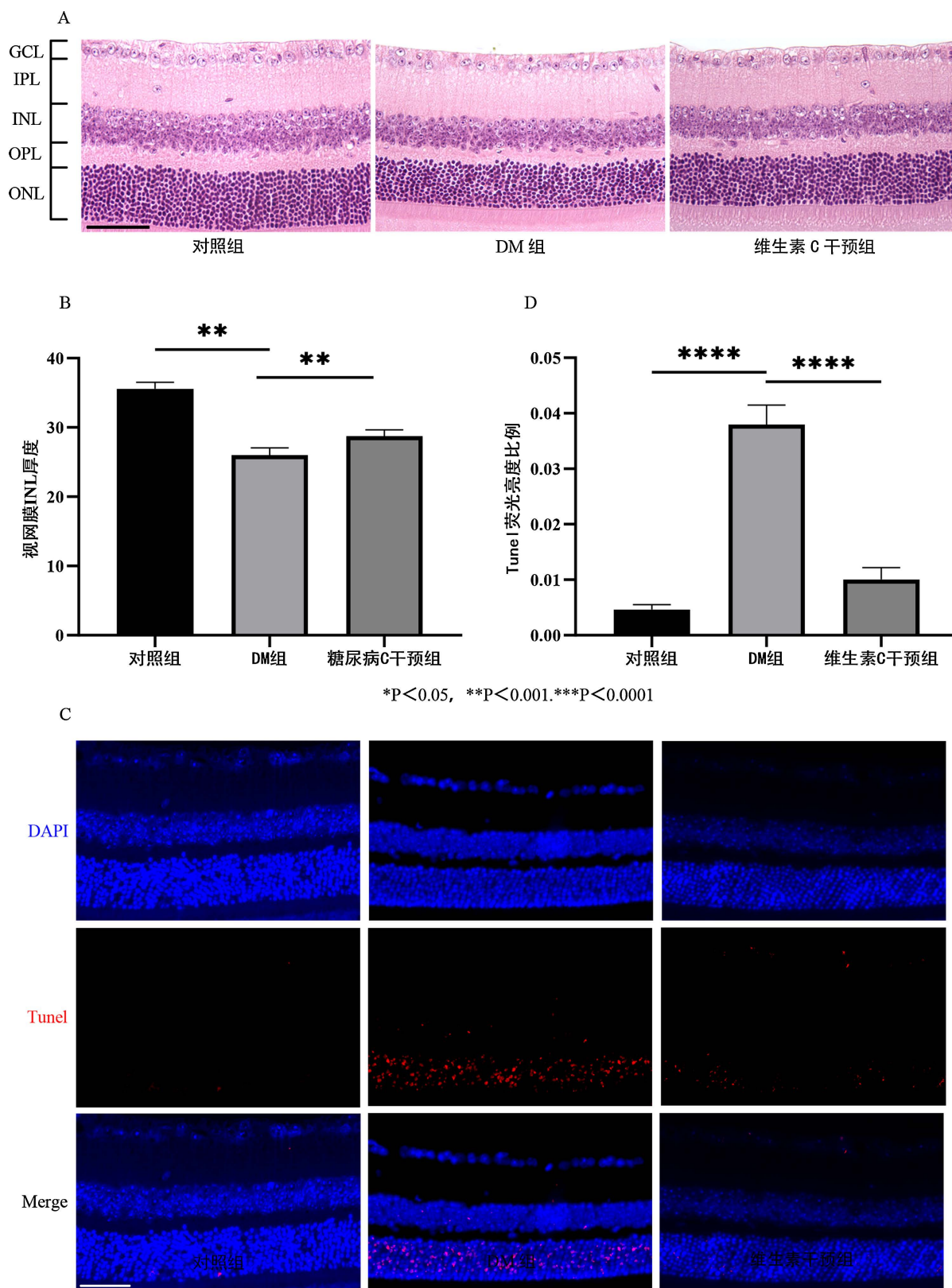


Figure 1. The effect of vitamin C on retinal damage in diabetic mice

图 1. 维生素 C 对 DM 小鼠视网膜损伤的影响

Table 1. The effect of vitamin C on inflammatory cytokines in diabetic mice (n = 12, $\bar{x} \pm s$)
表 1. 维生素 C 对 DM 小鼠血清炎症因子的影响(n = 12, $\bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	MCP-1 (pg/ml)
对照组	110.4 $\pm$ 4.9	11.0 $\pm$ 2.6	14.4 $\pm$ 3.3	51.3 $\pm$ 3.1
DM 组	123.3 $\pm$ 5.1**	16.8 $\pm$ 3.4*	20.1 $\pm$ 2.0**	58.9 $\pm$ 4.2*
维生素 C 干预组	113.4 $\pm$ 4.4 [#]	12.3 $\pm$ 2.3 [#]	16.9 $\pm$ 2.7 ^{##}	53.9 $\pm$ 4.4 ^{##}

注：对照组相比。*表示与 P < 0.05；**表示 P < 0.01，与 DM 组相比[#]表示 P < 0.05；^{##}表示 P < 0.01。

视网膜炎症，造成视网膜神经变性与细胞凋亡[10]。越来越多的证据表明，DR 在视网膜微血管病变之前，视网膜神经变性的出现，并导致视网膜层变薄和神经元加速丧失[11][12]。在本研究中，维生素 C 抑制了糖尿病导致的视网膜细胞凋亡，减少了视网膜 INL 厚度的变薄，表明维生素 C 可保护糖尿病小鼠视网膜神经细胞免受损伤。

在糖尿病视网膜病变的早期阶段，视网膜的炎症反应被认为是关键因素。研究表明，靶向炎症介质是控制糖尿病视网膜病变的一个有前景的策略。TNF- α 和 IL-1 β 可通过激活 NF- κ B，造成视网膜内皮功能障碍和细胞凋亡[13][14]，IL-6 通过间接诱导增强血管通透性和血管生成[15]。MCP-1 通过招募免疫细胞，加剧炎症和新生血管形成[16]。本研究中，维生素 C 可以抑制 DM 血清中的促炎细胞因子的水平，从而抑制视网膜炎症减轻 DR 发展过程中的视网膜损伤。

总之，在本篇论文中，我们实验结果证实了维生素 C 可减轻糖尿病小鼠视网膜厚度变薄，改善视网膜神经细胞凋亡，减轻体内 TNF- α ，IL-1 β ，IL-6，MCP-1 炎症因子的表达，对糖尿病小鼠视网膜可能有保护作用。

基金项目

新疆维吾尔自治区自然科学基金面上项目(2022D01C647)。

参考文献

[1] Ong, K.L., Stafford, L.K., McLaughlin, S.A., Boyko, E.J., Vollset, S.E., Smith, A.E., *et al.* (2023) Global, Regional, and National Burden of Diabetes from 1990 to 2021, with Projections of Prevalence to 2050: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. *The Lancet*, **402**, 203-234. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(23\)01301-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(23)01301-6)

[2] Teo, Z.L., Tham, Y., Yu, M., Chee, M.L., Rim, T.H., Cheung, N., *et al.* (2021) Global Prevalence of Diabetic Retinopathy and Projection of Burden through 2045: Systematic Review and Meta-Analysis. *Ophthalmology*, **128**, 1580-1591. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2021.04.027>

[3] Xu, G., Zhang, J. and Tang, L. (2023) Inflammation in Diabetic Retinopathy: Possible Roles in Pathogenesis and Potential Implications for Therapy. *Neural Regeneration Research*, **18**, 976-982. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.355743>

[4] Ruamviboonsuk, V. and Grzybowski, A. (2022) The Roles of Vitamins in Diabetic Retinopathy: A Narrative Review. *Journal of Clinical Medicine*, **11**, Article No. 6490. <https://doi.org/10.3390/jcm11216490>

[5] Ren, C., Liu, W., Li, J., Cao, Y., Xu, J. and Lu, P. (2019) Physical Activity and Risk of Diabetic Retinopathy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Acta Diabetologica*, **56**, 823-837. <https://doi.org/10.1007/s00592-019-01319-4>

[6] Shah, J., Cheong, Z., Tan, B., Wong, D., Liu, X. and Chua, J. (2022) Dietary Intake and Diabetic Retinopathy: A Systematic Review of the Literature. *Nutrients*, **14**, Article No. 5021. <https://doi.org/10.3390/nu14235021>

[7] Eshak, E.S., Iso, H., Muraki, I. and Tamakoshi, A. (2019) Among the Water-Soluble Vitamins, Dietary Intakes of Vitamins C, B₂ and Folate Are Associated with the Reduced Risk of Diabetes in Japanese Women but Not Men. *British Journal of Nutrition*, **121**, 1357-1364. <https://doi.org/10.1017/s000711451900062x>

[8] Xiong, R., Yuan, Y., Zhu, Z., Wu, Y., Ha, J., Han, X., *et al.* (2022) Micronutrients and Diabetic Retinopathy: Evidence from the National Health and Nutrition Examination Survey and a Meta-Analysis. *American Journal of Ophthalmology*,

- 238, 141-156. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2022.01.005>
- [9] Kowluru, R.A. (2023) Cross Talks between Oxidative Stress, Inflammation and Epigenetics in Diabetic Retinopathy. *Cells*, **12**, Article No. 300. <https://doi.org/10.3390/cells12020300>
- [10] Chang, K. and Petrash, J.M. (2018) Aldo-Keto Reductases: Multifunctional Proteins as Therapeutic Targets in Diabetes and Inflammatory Disease. In: Vasiliou, V., *et al.*, Eds., *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Springer International Publishing, 173-202. https://doi.org/10.1007/978-3-319-98788-0_13
- [11] Ng, D.S., Chiang, P.P., Tan, G., Cheung, C.G., Cheng, C., Cheung, C.Y., *et al.* (2016) Retinal Ganglion Cell Neuronal Damage in Diabetes and Diabetic Retinopathy. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, **44**, 243-250. <https://doi.org/10.1111/ceo.12724>
- [12] Vujosevic, S. and Midena, E. (2013) Retinal Layers Changes in Human Preclinical and Early Clinical Diabetic Retinopathy Support Early Retinal Neuronal and Müller Cells Alterations. *Journal of Diabetes Research*, **2013**, Article ID: 905058. <https://doi.org/10.1155/2013/905058>
- [13] Huang, H., Gandhi, J.K., Zhong, X., Wei, Y., Gong, J., Duh, E.J., *et al.* (2011) TNF α Is Required for Late BRB Breakdown in Diabetic Retinopathy, and Its Inhibition Prevents Leukostasis and Protects Vessels and Neurons from Apoptosis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **52**, 1336-1344. <https://doi.org/10.1167/iovs.10-5768>
- [14] Kowluru, R.A., Mohammad, G., Santos, J.M., Tewari, S. and Zhong, Q. (2011) Interleukin-1 β and Mitochondria Damage, and the Development of Diabetic Retinopathy. *Journal of Ocular Biology, Diseases, and Informatics*, **4**, 3-9. <https://doi.org/10.1007/s12177-011-9074-6>
- [15] Sharma, S. (2021) Interleukin-6 Trans-Signaling: A Pathway with Therapeutic Potential for Diabetic Retinopathy. *Frontiers in Physiology*, **12**, Article ID: 689429. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.689429>
- [16] Taghavi, Y., Hassanshahi, G., Kounis, N.G., Koniari, I. and Khorramdelazad, H. (2019) Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1/CCL2) in Diabetic Retinopathy: Latest Evidence and Clinical Considerations. *Journal of Cell Communication and Signaling*, **13**, 451-462. <https://doi.org/10.1007/s12079-018-00500-8>