DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2026.21.004
文章编号：1005-8982（2026）21-0024-08

实验研究·论著

胰高血糖素调控巩膜组蛋白乳酸化及Notch1通路延缓近视的初步研究*

谢梁益，杨彪，方晓琴，韦晓琳，丁芝祥，靳荷
（桂林医科大学第一附属医院 眼科，广西 桂林 541001）

摘要：目的 探讨胰高血糖素对缺氧下人眼巩膜成纤维细胞（HSFs）糖酵解代谢重编程的调控作用，并利用镜片诱导型近视（LIM）豚鼠模型验证其通过“糖酵解-乳酸化-Notch1”通路延缓近视进展的机制。**方法** 将HSFs分为以下4组：常氧对照组、缺氧模型组、缺氧+胰高血糖素组、缺氧+2-DG组。采用CCK-8法检测不同浓度（10～5 000 nmol/L）胰高血糖素对细胞增殖活力的影响。在缺氧条件下，设置不同浓度胰高血糖素梯度，检测乳酸生成量，以确定最适干预浓度。以最适浓度进行药物干预，采用实时荧光定量聚合酶链反应检测缺氧诱导因子-1α及Notch1的mRNA表达水平。体内实验选用33只3周龄豚鼠，随机分为对照组、LIM组及LIM+胰高血糖素组，每组11只。LIM组及LIM+胰高血糖素组豚鼠右眼均佩戴-6.0 D负透镜。LIM+胰高血糖素组每4 d向右眼玻璃体腔内注射胰高血糖素溶液（1 μmol/L）15 μL。诱导4周后，检测屈光度及眼轴长度。通过眼底后极部照相观察眼底形态学。采用Western blotting检测巩膜组蛋白H3第18位赖氨酸乳酸化（H3K18la）、Notch1及α-平滑肌肌动蛋白（α-SMA）的表达。**结果** CCK-8法检测结果显示，在10～5 000 nmol/L浓度范围内分别处理HSFs 24、48及72 h后，各组细胞增殖活力均>95%。浓度梯度实验结果显示，胰高血糖素对缺氧诱导的乳酸生成具有剂量依赖性抑制作用，在1 000 nmol/L时趋于平台。缺氧处理12 h后，缺氧模型组乳酸生成量升至（3.16±0.04）mmol/gprot，较常氧对照组（2.28±0.03）mmol/gprot升高（P <0.05）；1 000 nmol/L胰高血糖素干预后，缺氧细胞乳酸含量降至（2.45±0.05）mmol/gprot，HIF-1α及Notch1的基因表达亦同步下调（P <0.05）。体内实验中，与LIM组相比，LIM+胰高血糖素组豚鼠右眼的近视性屈光漂移及眼轴增长均受到抑制（P <0.05），眼底豹纹状改变减轻，巩膜组织中升高的H3K18la、Notch1及α-SMA蛋白表达同步下调（P <0.05）。**结论** 胰高血糖素通过抑制巩膜糖酵解，减少乳酸积聚，下调H3K18la修饰，并阻断Notch1介导的巩膜成纤维细胞向肌成纤维细胞转化，从而延缓近视进展。

关键词： 近视；胰高血糖素；糖酵解；组蛋白乳酸化；巩膜重塑
中图分类号： R778.1　　**文献标识码：** A

A preliminary study of glucagon in delaying myopia progression by regulating scleral histone lactylation and the Notch1 signaling pathway*

Xie Liang-yi, Yang Biao, Fang Xiao-qin, Wei Xiao-lin, Ding Zhi-xiang, Jin He
(Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541001, China)

Abstract: Objective To investigate the regulatory effect of glucagon on glycolytic metabolic reprogramming in human scleral fibroblasts (HSFs) under hypoxia and to verify, using a guinea pig model of lens-

收稿日期：2026-04-27
* 基金项目：国家自然科学基金（8216040180）；广西自然科学基金（2025GXNSFHA069063）；广西高校中青年教师科研基础能力提升项目（2025KY0501）；桂林市科学研究与技术开发计划项目（20230135-3-2）
[通信作者] 靳荷，E-mail：jh930930@qq.com

induced myopia (LIM), its mechanism of delaying myopia progression through the "glycolysis-lactylation-Notch1" pathway. **Methods** HSFs were divided into four groups: normoxic control, hypoxia model, hypoxia + glucagon, and hypoxia + 2-DG. The effects of different concentrations of glucagon (10 – 5 000 nmol/L) on cell viability were assessed using the CCK-8 assay. Under hypoxia, a glucagon concentration gradient was established, and lactate production was measured to determine the optimal intervention concentration. At the optimal concentration, quantitative real-time polymerase chain reaction was used to determine the mRNA expression levels of hypoxia-inducible factor-1α (HIF-1α) and Notch1. For the in vivo experiment, 33 three-week-old guinea pigs were randomly divided into a control group, an LIM group, and an LIM + glucagon group. The right eyes of guinea pigs in the LIM and LIM + glucagon groups were fitted with -6.0 D lenses. The LIM + glucagon group received an intravitreal injection of 15 μL of glucagon solution (1 μmol/L) into the right eye every 4 days. After 4 weeks of induction, refraction and axial length were measured, fundus morphology was observed by posterior pole photography, and Western blotting was used to determine the expression of histone H3 lysine 18 lactylation (H3K18la), Notch1, and α-smooth muscle actin (α-SMA) in the sclera. **Results** After treatment with 10 – 5 000 nmol/L glucagon for 24, 48, and 72 h, cell viability remained > 95% in all groups. The concentration-gradient experiment showed that glucagon dose-dependently inhibited hypoxia-induced lactate production, with the effect reaching a plateau at 1 000 nmol/L. After 12 h of hypoxia, lactate production in the hypoxia model group increased to (3.16 ± 0.04) mmol/gprot, which was significantly higher than that in the normoxic control group [(2.28 ± 0.03) mmol/gprot] ($P < 0.05$). Treatment with 1 000 nmol/L glucagon reduced the lactate content of hypoxic cells to (2.45 ± 0.05) mmol/gprot and simultaneously downregulated HIF-1α and Notch1 mRNA expression ($P < 0.05$). In vivo, compared with the LIM group, the myopic refractive shift and axial elongation of the right eye were inhibited in the LIM + glucagon group ($P < 0.05$), tessellated fundus changes were alleviated, and the elevated levels of H3K18la modification and Notch1 and α-SMA protein expression in the sclera were simultaneously downregulated ($P < 0.05$). **Conclusion** Glucagon inhibits scleral glycolysis, reduces lactate accumulation, downregulates H3K18la modification, and blocks Notch1-mediated transdifferentiation of scleral fibroblasts into myofibroblasts, thereby delaying myopia progression.

Keywords: myopia; glucagon; glycolysis; histone lactylation; scleral remodeling

近视是全球性公共卫生问题，亚洲地区儿童及青少年患病率已超过50%[1-2]，其发病机制与防控策略已成为国内眼科研究的热点[3]。高度近视可引发视网膜脱离、近视性黄斑变性等并发症，造成不可逆的视功能损害[4]。近视的核心病理改变为眼轴延长及后极部巩膜变薄[5-6]。巩膜作为眼球壁的主要结构，其细胞外基质（extracellular matrix, ECM）占90%以上[7]。其中，Ⅰ型胶原蛋白的合成与降解决定眼球壁的生物力学特性。研究显示，近视眼脉络膜血流灌注不足导致巩膜处于相对缺氧状态，缺氧诱导因子-1α（hypoxia-inducible factor-1α, HIF-1α）的激活驱动细胞代谢向糖酵解偏移，导致乳酸在巩膜局部积聚[8-10]。Zhang等[11]研究发现，乳酸可通过酶促转化以乳酰基团修饰组蛋白赖氨酸残基。其中，组蛋白H3第18位赖氨酸乳酸化（histone H3 lysine 18 lactylation, H3K18la）修饰能改变染色质构象并促进下游基因转录。Lin等[12]研究进一步证明，近视巩膜中H3K18la修饰特异性富集于Notch1基因启动子区域，驱动巩膜成纤维细胞向肌成纤维细胞转化（fibroblast-to-myofibroblast transition, FMT），加速巩膜胶原纤维降解。胰高血糖素可通过抑制糖酵解限速酶降低乳酸生成，从而阻断这一级联反应，延缓近视进展[13-14]。既往基于禽类近视模型的研究显示，玻璃体腔注射胰高血糖素可抑制眼轴过度增长[15]，但其作用多被归因于对视网膜信号通路的调节。据此，本研究设计为两部分：首先，通过体外细胞实验验证胰高血糖素作用于缺氧人巩膜成纤维细胞（human scleral fibroblasts, HSFs）、干预其糖酵解及Notch1通路的假设，并筛选有效干预浓度。在此基础上，进一步复制镜片诱导型近视（lens-induced myopia, LIM）豚鼠模型，在眼球壁真实的力学与生理环境中，验证该药物通过“糖酵解-乳酸化-Notch1”通路延缓近视眼轴增长的效应。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

1.1.1　*实验动物*　选用健康3周龄断乳三色花豚

鼠41只，体重160～200 g，雌雄不拘，购自江苏万维生物科技有限公司[实验动物生产许可证号：SCXK（苏）2024-0012；实验动物使用许可证号：SYXK（桂）2020-0005]。所有动物饲养于标准实验动物环境中，动物房采用白光照明，光照周期为12 h光照/12 h黑暗交替。室温控制在22～27 ℃，相对湿度保持在50%左右。豚鼠自由进食及饮水，实验前进行为期1周的适应性饲养。实验方案严格遵循视觉与眼科研究学会关于动物使用的声明，并经桂林医科大学动物伦理委员会批准（GLMU-IACUC-202610010）。

1.1.2 实验细胞 人眼巩膜成纤维细胞（human scleral fibroblasts, HSFs）购自广州星海生物科技有限公司。

1.1.3 主要试剂 胰高血糖素（Glucagon，纯度>99%，货号：HY-P0082）购自美国MedChemExpress公司，2-脱氧-D-葡萄糖（2-DG，纯度>98%，货号：D109194）购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司，CCK-8细胞增殖与毒性检测试剂盒（货号：GK10001）购自美国GlpBio Technology公司，L-乳酸检测试剂盒（货号：A019-2-1）购自南京建成生物工程研究所有限公司，SYBR Green qPCR Mix试剂（货号：EG20117）及逆转录试剂盒（货号：EG15133）均购自江苏愚公生物科技有限公司，一抗Notch1兔单克隆抗体（批号：4000000285）及Lactic acid-Histone H3-K18兔单克隆抗体（批号：3600004415）均购自爱博泰克生物科技有限公司，α-平滑肌肌动蛋白（α-SMA）兔重组单克隆抗体（批号：23008474）、β-Actin兔重组单克隆抗体（批号：23020607）及HRP-山羊抗兔重组二抗（批号：20001529）均购自武汉三鹰生物技术有限公司。

1.1.4 仪器与设备 多功能酶标仪（瑞士帝肯集团有限公司，型号：Infinite 200 pro），实时荧光定量PCR仪[鲲鹏基因（北京）科学仪器有限公司，型号：ARCHIMED X6]，眼科A/B超诊断仪（法国光太医疗公司，型号：AVISO），带状光检影镜（苏州六六视觉科技股份有限公司，型号：YZ24），眼底照相机（德国卡尔蔡司股份公司，型号：CLARUS 500），化学发光凝胶成像系统（上海天能科技有限公司，型号：Tanon 4600）。

1.2 细胞实验方法

1.2.1 细胞培养与增殖活力检测 HSFs置于含10%胎牛血清的培养基中，于37 ℃、5%二氧化碳培养箱中培养。取对数期细胞接种于96孔板，分别加入含胰高血糖素的培养基，终浓度分别为10、100、1 000、5 000 nmol/L。处理24、48及72 h后，加入CCK-8工作液孵育2 h，使用酶标仪测定450 nm波长处吸光度值，评估药物对细胞增殖的影响。

1.2.2 筛选最适干预浓度 采用缺氧产气袋构建体外缺氧模型（O_2浓度<1%）。为确定胰高血糖素的最适干预浓度，在缺氧条件下，以不同浓度胰高血糖素处理HSFs 12 h。收集细胞测定乳酸含量，分析剂量-效应关系，将抑制乳酸生成的平台浓度确定为后续实验的最适干预浓度。

1.2.3 细胞正式干预分组 根据浓度筛选结果，确定1 000 nmol/L为最适干预浓度。将HSFs分为以下4组：常氧对照组（21% O_2，培养12 h）、缺氧模型组（O_2浓度<1%，处理12 h）、缺氧+胰高血糖素组（加入1 000 nmol/L胰高血糖素，缺氧处理12 h）、缺氧+2-DG组（加入1 mmol/L 2-DG作为阳性对照，缺氧处理12 h）。

1.2.4 乳酸含量测定 干预结束后，收集各组细胞悬液，进行超声破碎裂解，以4 000 r/min离心10 min，取上清液。按照检测试剂盒说明书进行乳酸脱氢酶催化比色反应，依次加入酶工作液及显色剂，于37 ℃水浴反应10 min后，滴入终止液。使用可见分光光度计测定530 nm波长处吸光度值，并采用BCA法测定蛋白浓度，对乳酸含量进行归一化处理，以mmol/gprot表示。

1.2.5 实时荧光定量聚合酶链反应 使用裂解液提取各组细胞总RNA并测定浓度。取合格样本进行逆转录，合成cDNA。以cDNA为模板，采用SYBR Green法进行实时荧光定量聚合酶链反应。反应体系为：Taq SYBR Green qPCR预混液10 μL，正、反向引物（10 μmol/L）各0.4 μL，cDNA模板（根据预实验结果确定），无酶水补足至20 μL。反应条件为：95 ℃预变性5 min，95 ℃变性15 s，60 ℃退火30 s，72 ℃延伸30 s，共40个循环。选用β-actin作为内参基因，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算HIF-1α及Notch1 mRNA相对表达量。引物序列由生工生物工程（上海）股份有限公司合成。引物序列见表1。

表 1　引物序列

基因	引物序列(5'→3')	长度/bp
HIF-1α	正向:TCAAGCAGTAGGAATTGGAACAT	23
	反向:GCTCCATTCCATTCTGTTCACT	22
Notch1	正向:GGTGAACTGCTCTGAGGAGATC	22
	反向:GGATTGCAGTCGTCCACGTTGA	22
β-actin	正向:CACCATTGGCAATGAGCGGTTC	22
	反向:AGGTCTTTGCGGATGTCCACGT	22

1.3　动物实验方法

1.3.1　LIM豚鼠模型复制与验证　参照 Zhang 等[16]的研究方案，在本实验室条件下复制并验证LIM豚鼠模型。选取 8 只 3 周龄健康三色花豚鼠，随机分为正常对照组与模型验证组，每组取 4 只。模型验证组豚鼠右眼佩戴-6.0 D 树脂负透镜，每日定时检查并确保镜片清洁、在位，诱导周期为 4 周；左眼采用镂空设计以维持正常视觉输入（特制面罩效果见图 1）。正常对照组不施加任何干预。分别于实验开始后第 0 周和第 4 周末，由同一名检测者在暗室中、睫状肌麻痹状态下，以盲法测量屈光度（带状光检影镜）及眼轴长度。



图 1　LIM豚鼠模型图

1.3.2　动物分组与干预　正式干预实验纳入 33 只豚鼠，随机分为对照组、LIM 组及 LIM+胰高血糖素组，每组 11 只。LIM 组和 LIM+胰高血糖素组豚鼠右眼均固定佩戴-6.0 D 负透镜，诱导周期为 4 周。自干预开始日起，LIM+胰高血糖素组每 4 d 向右眼玻璃体腔内注射胰高血糖素溶液（1 μmol/L）15 μL；LIM 组则以相同频率注射等量无菌生理盐水。

1.3.3　视光学参数测量　分别于实验第 0、2 及 4 周进行视光学参数测量。豚鼠右眼连续滴入复方托吡卡胺滴眼液 3 次，待充分睫状肌麻痹后，在暗室环境中使用带状光检影镜测定屈光度。随后以 0.4% 盐酸丙美卡因行角膜表面麻醉，将 A 超探头垂直轻触角膜中央测量眼轴长度，重复测量 8 次，取平均值。

1.3.4　眼底形态学观察　实验第 4 周末，对各组豚鼠右眼散瞳后，使用超广角眼底照相机（扫描视场角 133°）行眼底后极部照相，观察视网膜色素上皮层厚度变化及色素分布均匀度，并记录脉络膜大血管透见情况、巩膜壁机械性牵拉所致的病变特征。

1.3.5　Western blotting检测　豚鼠安乐死后摘除眼球，于冰上分离并提取巩膜组织。加入含苯甲基磺酰氟的 RIPA 裂解液进行低温研磨，离心后留取上清蛋白液。经 BCA 试剂盒测定蛋白浓度后，调整各样本至等量上样体积。样本经 SDS-PAGE 电泳分离后转移至 PVDF 膜。以 5% 脱脂奶粉于室温封闭 1 h，依次加入抗 H3K18la（1∶1 000）、Notch1（1∶1 000）、α-SMA（1∶5 000）及 β-actin（1∶1 000）的一抗，4 ℃ 孵育过夜。次日经 TBST 洗膜后，加入 HRP 标记的二抗孵育 1 h，以 ECL 化学发光显色液显影成像。采用 Image J 软件分析条带灰度值，以目的蛋白与内参蛋白灰度值比值表示相对表达量。

1.4　统计学方法

数据分析采用 SPSS 26.0 和 GraphPad Prism 10 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，比较用方差分析，两两比较用 LSD-t 检验或 Tamhane's T2 检验。P <0.05 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　胰高血糖素对HSFs增殖活力的影响

CCK-8 法检测结果显示，在 10 ~ 5 000 nmol/L 浓度范围内分别处理 HSFs 24、48 及 72 h 后，各组细胞增殖活力均>95%。经方差分析，不同浓度组各时间点存活率比较，差异均无统计学意义（P >0.05）（见表 2）。在所设浓度范围内，胰高血糖素对 HSFs 增殖无抑制作用。

表 2 胰高血糖素对HSFs存活率的影响 （%，$\bar{x} \pm s$）

组别	24 h	48 h	72 h
0 nmol/L组	99.99 ± 6.40	100.00 ± 4.68	100.00 ± 2.27
10 nmol/L组	100.00 ± 5.98	100.00 ± 8.22	100.00 ± 3.78
100 nmol/L组	100.00 ± 5.53	100.00 ± 4.45	100.00 ± 4.70
1 000 nmol/L组	100.00 ± 9.51	100.00 ± 5.04	100.00 ± 4.19
5 000nmol/L组	100.00 ± 9.40	100.00 ± 1.01	100.00 ± 5.16
*F*值	0.000	0.000	0.000
*P*值	1.000	1.000	1.000

2.2 胰高血糖素抑制缺氧HSFs乳酸生成的效应及最适浓度

胰高血糖素处理HSFs12 h后，各组细胞乳酸生成量比较，经方差分析，差异有统计学意义（$P<0.05$）。0 nmol/L组（缺氧模型组）较常氧对照组乳酸生成量上升，提示缺氧诱导糖酵解增强；与0 nmol/L组相比，1 000、2 500及5 000 nmol/L胰高血糖素组的乳酸生成量均下降；25 ~ 500 nmol/L各浓度组乳酸生成量比较，差异均无统计学意义；5 000 nmol/L组与1 000、2 500 nmol/L组的乳酸生成量比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$）。据此，以1 000 nmol/L为后续干预浓度。见表3。

表 3 各组细胞乳酸生成量比较 （mmol/gprot，$\bar{x} \pm s$）

组别	乳酸生成量
常氧对照组	2.28 ± 0.03
0 nmol/L组	3.16 ± 0.04
25 nmol/L组	3.62 ± 0.12
50 nmol/L组	3.22 ± 0.05
100 nmol/L组	3.38 ± 0.21
250 nmol/L组	3.26 ± 0.10
500 nmol/L组	3.04 ± 0.12
1 000 nmol/L组	2.45 ± 0.05
2 500 nmol/L组	2.67 ± 0.11
5 000 nmol/L组	2.65 ± 0.02
*F*值	55.62
*P*值	0.000

2.3 胰高血糖素对HIF-1α和Notch1基因转录的抑制作用

各组HIF-1α、Notch1 mRNA相对表达量比较，经方差分析，差异均有统计学意义（$P<0.05$）。缺氧模型组HIF-1α、Notch1 mRNA相对表达量较常氧对照组均上调（$P<0.05$）；经1 000 nmol/L胰高血糖素干预后，缺氧+胰高血糖素组HIF-1α、Notch1 mRNA表达量较缺氧模型组下降（$P<0.05$），下降趋势与缺氧+2-DG组一致。见表4。

表 4 胰高血糖素对缺氧HSFs转录表达的影响

组别	HIF-1α mRNA	Notch1 mRNA
常氧对照组	1.00 ± 0.07	1.08 ± 0.56
缺氧模型组	1.38 ± 0.12	5.23 ± 1.08
缺氧+胰高血糖素组	0.85 ± 0.13	2.54 ± 0.22
缺氧+2-DG组	0.77 ± 0.11	3.01 ± 0.58
*F*值	17.919	18.934
*P*值	0.001	0.001

2.4 LIM豚鼠模型复制与验证结果

经4周-6.0 D透镜诱导，LIM组豚鼠右眼出现近视性改变。对照组与LIM组第4周屈光度、屈光度负向变化量、眼轴长度及眼轴净增长量比较，经方差分析，差异均有统计学意义（$P<0.05$）。LIM组右眼屈光度较对照组下降，眼轴长度较对照组增长（$P<0.05$），提示LIM模型复制成功。见表5。

表 5 对照组与LIM组第4周豚鼠屈光度及眼轴长度比较（$\bar{x} \pm s$）

组别	屈光度/D	屈光度负向变化量/D	眼轴长度/mm	眼轴净增长量/mm
对照组	-0.44 ± 0.38	2.31 ± 0.24	7.26 ± 0.03	0.42 ± 0.06
LIM组	-1.94 ± 0.31	4.56 ± 0.31	7.52 ± 0.03	0.75 ± 0.07
*F*值	37.57	129.60	114.08	51.05
*P*值	0.000	0.000	0.000	0.000

2.5 胰高血糖素对LIM豚鼠屈光度及眼轴增长的干预作用

持续4周诱导与干预实验结束后，各组第4周屈光度、屈光度负向变化量、眼轴长度及眼轴净增长量比较，经方差分析，差异均有统计学意义（$P<0.05$）。LIM组右眼屈光度为（-1.98 ± 0.51）D，眼轴长度为（7.50 ± 0.07）mm，较对照组呈近视性改变（$P<0.05$）；LIM+胰高血糖素组右眼屈光度为（0.32 ± 0.78）D，眼轴长度为（7.23 ± 0.11）mm，较LIM组改善（$P<0.05$）。见表6。

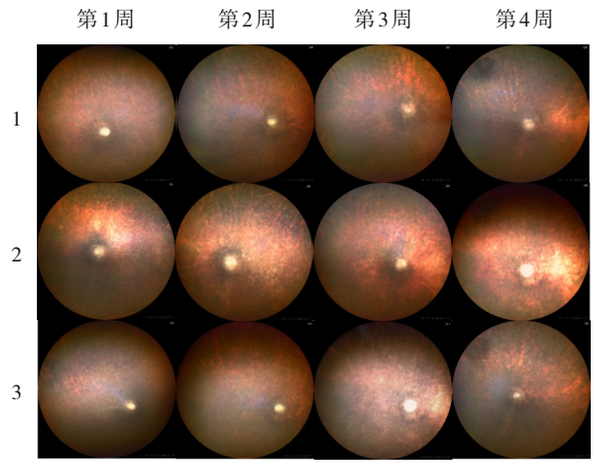
2.6 胰高血糖素对眼底形态学病变的改善效应

眼底后极部照相显示，对照组视网膜平伏，色

表 6　第 4 周末各组豚鼠屈光度及眼轴长度比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	屈光度/D	屈光度负向变化量/D	眼轴长度/mm	眼轴净增长量/mm
对照组	0.16 ± 0.85	2.11 ± 0.32	7.28 ± 0.04	0.42 ± 0.01
LIM 组	−1.98 ± 0.51	4.61 ± 0.56	7.50 ± 0.07	0.73 ± 0.03
LIM+胰高血糖素组	0.32 ± 0.78	2.25 ± 0.49	7.23 ± 0.11	0.41 ± 0.04
F 值	34.48	98.93	39.05	419.21
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

素层分布均匀，未见异常血管透见影；LIM 组眼底呈现弥漫性豹纹状改变，视网膜色素上皮层因眼球壁扩张牵拉而变薄，伴随脉络膜大血管明显透见影；接受胰高血糖素治疗后，LIM+胰高血糖素组的上述体征（血管透见及豹纹状改变）程度均轻于 LIM 组。见图 2。



1：对照组；2：LIM 组；3：LIM+胰高血糖素组。

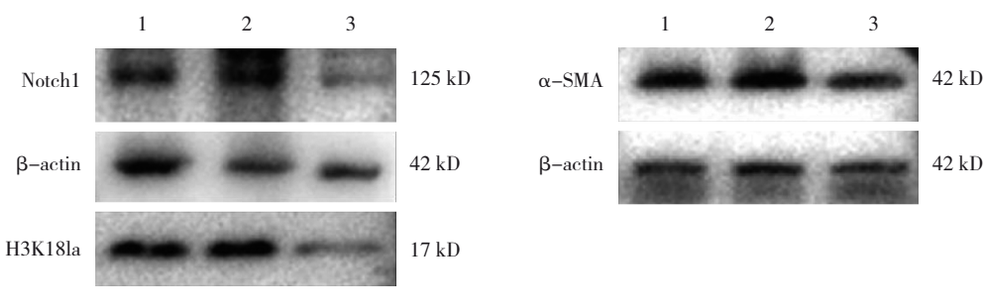
图 2　各组豚鼠眼底形态学观察

2.7　各组巩膜组织中 H3K18la 修饰水平、Notch1 及 α–SMA 蛋白相对表达量比较

各组巩膜组织中 H3K18la 修饰水平、Notch1 及 α–SMA 蛋白相对表达量比较，经方差分析，差异均有统计学意义（P <0.05）。LIM 组 H3K18la 修饰水平、Notch1 及 α–SMA 蛋白相对表达量均较对照组升高；LIM+胰高血糖素组 H3K18la 修饰水平、Notch1 及 α–SMA 蛋白相对表达量均较 LIM 组下降。提示药物干预下调了 H3K18la 修饰，并抑制了 Notch1 通路介导的成纤维细胞转分化。见表 7 和图 3。

表 7　巩膜组织中各蛋白相对表达量比较　（$\bar{x} \pm s$）

组别	H3K18la	Notch1	α–SMA
对照组	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.148	1.040 ± 0.112
LIM 组	1.268 ± 0.036	1.648 ± 0.158	1.370 ± 0.081
LIM+胰高血糖素组	0.913 ± 0.180	1.169 ± 0.176	1.069 ± 0.128
F 值	9.110	13.010	8.440
P 值	0.015	0.007	0.018



1：对照组；2：LIM 组；3：LIM+胰高血糖素组。

图 3　各组豚鼠巩膜组织中 H3K18la、Notch1、α–SMA 的蛋白表达

3　讨论

本研究从体外细胞代谢干预与体内动物模型 2 个层面，探讨胰高血糖素通过“糖酵解–乳酸化–Notch1”通路延缓近视进展的分子机制。体外实验结果提示，胰高血糖素能抑制缺氧 HSFs 的乳酸生成，并下调 HIF–1α 及 Notch1 的转录水平；体内实验结果表明，玻璃体腔注射胰高血糖素可抑制 LIM 豚鼠眼轴延长，同时巩膜组织中 H3K18la 修饰水平及 Notch1、α–SMA 蛋白相对表达量出现同步下降。主流观点认为，巩膜重塑是近视发病过程中的关键环节[5–6]。近视后极部巩膜成纤维细胞经 FMT 后，α–SMA 表达上调，MMPs 活性增强，胶原降解加速，巩膜力学性能随之下降[7、17]。Wu 等[8]研究指出，脉络膜灌注不足使巩膜长期处于缺氧微环境，这一应激条件被认为是代谢重编程的始动因素。在本研究的体外缺氧模型中，低氧处理后 HSFs 乳酸生成量较常氧组上

升，该结果与 Zhao 等[9]报道的近视巩膜缺氧后 HIF-1α 激活并驱动糖酵解增强的结论一致。类似的代谢-表观遗传调控机制在其他器官纤维化中也有发现。Xie 等[10]在特发性肺纤维化模型中发现，糖酵解增强导致乳酸堆积，进而驱动肺成纤维细胞的促纤维化表型。

Zhang 等[11]研究发现，乳酸可经酶促转化后以乳酰基团共价修饰组蛋白赖氨酸残基，H3K18la 修饰能改变染色质构象，并促进转录因子与启动子区域结合[。这表明乳酸不仅是糖酵解的终产物，同时也是表观遗传信号分子。Lin 等[12]在近视巩膜中观察到，H3K18la 修饰特异性富集于 Notch1 基因启动子区域，乳酸化修饰水平的升高驱动了 Notch1 激活及后续进程。本研究结果与该报道一致：LIM 组巩膜中 H3K18la 修饰水平与 Notch1 及 α-SMA 蛋白相对表达量同步升高。三者的协同上调提示巩膜中存在“乳酸积聚→H3K18la 修饰增加→Notch1 转录激活→FMT 发生”的通路。胰高血糖素是胰岛 α 细胞分泌的肽类激素，能通过 cAMP/PKA 信号通路抑制糖酵解限速酶活性[13-14]。Zhu 等[15]研究证实，玻璃体腔注射胰高血糖素可在禽类近视模型中抑制眼轴增长，注射胰岛素则加速近视进展，两类代谢激素在屈光调节中呈现拮抗效应；该团队在禽类模型中还观察到胰高血糖素抑制眼轴延长后眼底结构改善的趋势。本研究将上述发现拓展至豚鼠镜片诱导模型中。分子机制层面，缺氧可经 HIF-2α 上调 MMP-2 表达、加速巩膜胶原降解[17]；H3K18la 作为活跃基因启动子及组织特异性增强子的标记，与基因转录激活正相关[18]；Rho 等[19]在肝脏纤维化基因，驱动肝星状细胞向肌成纤维细胞转化。以上研究提示，“糖酵解→乳酸→表观修饰→纤维化”可能是多种组织纤维化退变的共性机制，近视巩膜重塑可能遵循类似的路径。Tapia 等[20]研究提示，胰高血糖素的抗近视机制可能涉及视网膜离焦信号处理与巩膜代谢调控两个层面：前者由多巴胺-D1 受体通路介导，后者通过抑制糖酵解、削减乳酸化底物供给进而阻断 FMT 实现。上述研究多将胰高血糖素的抗近视作用归因于视网膜层面的信号通路，未涉及其对巩膜代谢的直接调控[21]。本研究选用哺乳动物模型进行验证，发现胰高血糖素干预后，LIM 豚鼠的近视性屈光漂移与眼轴异常增长均受到抑制，治疗后屈光度及眼轴长度均趋近对照组水平。分子水平上，药物干预后巩膜组织中 H3K18la 修饰水平与 Notch1、α-SMA 蛋白表达均同步下降，提示胰高血糖素的抗近视作用或许不限于视网膜信号层面，还涉及对巩膜局部代谢底物及表观遗传状态的调控。本实验数据也支持该推断：1 000 nmol/L 胰高血糖素使缺氧 HSFs 中升高的 HIF-1α 及 Notch1 mRNA 相对表达量同步下调，其抑制效应与糖酵解抑制剂 2-DG 的趋势一致，说明胰高血糖素可能通过阻断上游糖酵解途径抑制转录。眼底照相观察显示，LIM 组眼底出现豹纹状改变，反映眼球壁过度扩张引起的视网膜色素上皮及脉络膜组织牵拉萎缩。治疗后该病变程度减轻，提示胰高血糖素在抑制眼轴增长的同时对后极部组织结构也有一定保护作用。

本研究存在以下局限性：①表观遗传调控层面，目前仅检测 H3K18la 单一修饰位点，乳酸是否通过调控组蛋白其他赖氨酸残基协同参与巩膜重塑，尚需深入验证；②物种差异方面，LIM 模型与人类近视进展的病理机制可能存在不同，所得结论需临床影像学数据进一步支撑；③给药途径上，玻璃体腔注射作为有创操作，难以在儿童和青少年群体中常规推广，后续需探索无创或微创替代方案[22-24]；④信号通路解析中，cAMP/PKA 通路调控糖酵解限速酶的具体分子节点，尚需通过受体拮抗剂干预或基因沉默实验进行精确定位；⑤长期安全性方面，药物对视网膜电生理活动、眼压波动及脉络膜微循环灌注的潜在影响，有待延长观察周期系统评估。此外，巩膜胶原交联研究提示[25]，直接靶向巩膜基质力学性能亦是近视防控的重要策略，值得后续深入探索。

综上所述，近视巩膜组织中存在 H3K18la 表观遗传调控，提示胰高血糖素可通过抑制缺氧诱导的糖酵解，减少乳酸底物供给，下调 H3K18la 修饰水平并阻断 Notch1 介导的 FMT，减缓眼轴过度延长。该结果为近视防控提供了基于“代谢-表观遗传”调控的新思路，胰高血糖素作为代谢调控类候选药物的应用价值有待后续研究验证。

参 考 文 献 ：

[1] Liang J H, Pu Y Q, Chen J Q, et al. Global prevalence, trend and projection of myopia in children and adolescents from 1990 to 2050: a comprehensive systematic review and meta-analysis[J]. Br J Ophthalmol, 2025, 109(3): 362-371.

[2] Morgan I G, Ohno-Matsui K, Saw S M. Myopia[J]. Lancet, 2012, 379(9827): 1739-1748.
[3] 相璐, 姜思宇, 沈玺. 近视的发病机制及防控研究进展[J]. 眼科新进展, 2021, 41(5): 488-494.
[4] Ohno-Matsui K, Wu P C, Yamashiro K, et al. IMI pathologic myopia[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2021, 62(5): 5.
[5] Du Y, Meng J Q, He W W, et al. Complications of high myopia: an update from clinical manifestations to underlying mechanisms[J]. Adv Ophthalmol Pract Res, 2024, 4(3): 156-163.
[6] Jonas J B, Jonas R A, Bikbov M M, et al. Myopia: histology, clinical features, and potential implications for the etiology of axial elongation[J]. Prog Retin Eye Res, 2023, 96: 101156.
[7] Boote C, Sigal I A, Grytz R, et al. Scleral structure and biomechanics[J]. Prog Retin Eye Res, 2020, 74: 100773.
[8] Wu H, Chen W, Zhao F, et al. Scleral hypoxia is a target for myopia control[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(30): E7091-E7100.
[9] Zhao F, Zhang D K, Zhou Q Y, et al. Scleral HIF-1α is a prominent regulatory candidate for genetic and environmental interactions in human myopia pathogenesis[J]. EBioMedicine, 2020, 57: 102878.
[10] Xie N, Tan Z, Banerjee S, et al. Glycolytic reprogramming in myofibroblast differentiation and lung fibrosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2015, 192(12): 1462-1474.
[11] Zhang D, Tang Z Y, Huang H, et al. Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation[J]. Nature, 2019, 574(7779): 575-580.
[12] Lin X L, Lei Y, Pan M Z, et al. Augmentation of scleral glycolysis promotes myopia through histone lactylation[J]. Cell Metab, 2024, 36(3): 511-525.e7.
[13] Scheen A J, Lefèbvre P J. Glucagon from past to present: a century of intensive research and controversies[J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2023, 11(2): 129-138.
[14] Müller T D, Finan B, Clemmensen C, et al. The new biology and pharmacology of glucagon[J]. Physiol Rev, 2017, 97(2): 721-766.
[15] Zhu X Y, Wallman J. Opposite effects of glucagon and insulin on compensation for spectacle lenses in chicks[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50(1): 24-36.
[16] Zhang R H, Yu C Y, Dong L, et al. In-vivo sclera thickness measurements in experimental myopia of guinea pigs[J]. BMC Ophthalmol, 2025, 25(1): 105.
[17] Wu W J, Su Y C, Hu C X, et al. Hypoxia-induced scleral HIF-2α upregulation contributes to rises in MMP-2 expression and myopia development in mice[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2022, 63(8): 2.
[18] Galle E, Wong C W, Ghosh A, et al. H3K18 lactylation marks tissue-specific active enhancers[J]. Genome Biol, 2022, 23(1): 207.
[19] Rho H, Terry A R, Chronis C, et al. Hexokinase 2-mediated gene expression via histone lactylation is required for hepatic stellate cell activation and liver fibrosis[J]. Cell Metab, 2023, 35(8): 1406-1423.e8.
[20] Tapia F, Peñaloza V, Silva-Olivares F, et al. Glucagon increases retinal rod bipolar cell inhibition through a D1 dopamine receptor-dependent pathway that is altered after Lens-Defocus treatment in mice[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2024, 65(1): 46.
[21] 佘曼, 胡倩倩, 周晓东. 近视发生发展中信号通路的研究进展[J]. 中国眼耳鼻喉科杂志, 2021, 21(2): 139-143.
[22] Zhang X J, Zhang Y Z, Yip B H K, et al. Five-year clinical trial of the low-concentration atropine for myopia progression (LAMP) study: phase 4 report[J]. Ophthalmology, 2024, 131(9): 1011-1020.
[23] Kido A, Miyake M, Watanabe N. Interventions to increase time spent outdoors for preventing incidence and progression of myopia in children[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2024, 6(6): CD013549.
[24] Wang W Y, Chen C, Chang J, et al. Pharmacotherapeutic candidates for myopia: a review[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 133: 111092.
[25] Lü X T, Lai L B, Xu Y S, et al. Effects of riboflavin/ultraviolet-a scleral collagen cross-linking on regional scleral thickness and expression of MMP-2 and MT1-MMP in myopic guinea pigs[J]. PLoS One, 2023, 18(1): e0279111.

（张西倩　编辑）

本文引用格式：谢梁益, 杨彪, 方晓琴, 等. 胰高血糖素调控巩膜组蛋白乳酸化及Notch1通路延缓近视的初步研究[J]. 中国现代医学杂志, 2026, 36(21): 24-31.

Cite this article as: Xie L Y, Yang B, Fang X Q, et al. A preliminary study of glucagon in delaying myopia progression by regulating scleral histone lactylation and the Notch1 signaling pathway[J]. China Journal of Modern Medicine, 2026, 36(21): 24-31.