

ORM1 通过 SPTLC1 对干眼症鞘脂代谢的影响

李云云, 常 宁, 翟瑜如
(长治市人民医院眼科, 山西 长治 046000)

[摘要] 目的 研究人源血清类粘蛋白 1(orosomuroid 1, ORM1)通过丝氨酸棕榈酰转移酶长链碱基亚基 1(serine palmitoyltransferase long chain base subunit 1, SPTLC1)对干眼症鞘脂代谢的影响, 为干眼症的发病机制提供新的研究方向。方法 通过皮下注射氢溴酸东莨菪碱构建干眼症模型, 通过晶状体注射腺相关病毒过表达 ORM1。行泪液分泌量检测, 杯状细胞检测, 角膜荧光素染色, 泪膜破裂时间检测, HE 检测评估角膜结膜损伤, 泪液质量, 以及组织病理变化。通过生化试剂盒检测神经酰胺和鞘磷脂含量, 通过 qPCR 和 WB 检测 ORM1 和 SPTLC1 的表达。结果 (1) ORM1 可增加干眼症模型的泪液分泌($P < 0.0001$); (2) ORM1 可增加干眼症模型的眼表泪膜稳定性($P < 0.001$); (3) ORM1 可改善干眼症模型的角膜上皮损伤($P < 0.0001$); (4) ORM1 可增加干眼症模型的角膜组织中杯状细胞数量($P < 0.001$); (5) 过表达 ORM1 后, 角膜组织上皮层变厚, 基底层细胞排列较为紧密, 细胞层数变多, 空泡减少; (6) ORM1 可抑制干眼症模型的炎症基因表达($P < 0.01$); (7) ORM1 可促进总神经酰胺和鞘磷脂含量($P < 0.01$); (8) ORM1 可促进 SPTLC1 的 mRNA 和蛋白表达($P < 0.001$)。结论 ORM1 可通过调控 SPTLC1 参与调控干眼症鞘脂代谢, 为探讨干眼症的发生发展机制和寻找有效且安全的治疗方案提供新的视角。

[关键词] ORM1; SPTLC1; 鞘脂代谢; 干眼症

[中图分类号] R777.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X(2024)11 - 0117 - 08

ORM1 Effect on Sphingolipid Metabolism in Dry Eye via SPTLC1

LI Yunyun, CHANG Ning, ZHAI Yuru
(Dept. of Ophthalmology, Changzhi People's Hospital, Changzhi Shanxi 046000, China)

[Abstract] **Objective** To study the effect of ORM1 on sphingolipid metabolism in dry eye via SPTLC1 so as to provide a new research direction for the pathogenesis of dry eye. **Methods** By the subcutaneous injection of scopolamine hydrobromide (SCOP), a dry eye model was constructed, and adeno-associated virus overexpressing ORM1 was injected through the lens. Tear secretion assay, goblet number, corneal fluorescein staining, lacrimal gland rupture time, and HE assay were performed to assess the corneal conjunctival damage, tear quality, and histopathological changes. Ceramide and sphingomyelin content were detected by biochemical kits, and the expression of ORM1 and SPTLC1 was detected by qPCR and WB. **Results** (1) ORM1 increased tear secretion in the dry eye model ($P < 0.0001$); (2) ORM1 increased the stability of the lacrimal gland on the ocular surface in the dry eye model ($P < 0.0001$); (3) ORM1 improved the corneal epithelial damage in the dry eye model ($P < 0.0001$); (4) ORM1 increased the number of goblet in the corneal tissue in the dry eye model ($P < 0.0001$); (5) After the overexpression of ORM1, the epithelium of the corneal tissue became thicker and the cells of the basal lamina were more closely arranged. cell layers became more numerous and vacuoles were reduced; (6) ORM1 inhibited the inflammatory gene expression in a dry eye model ($P < 0.01$); (7) ORM1 promoted the total ceramide and

[收稿日期] 2024 - 05 - 22

[基金项目] 山西省卫计委科研基金资助项目(2018132)

[作者简介] 李云云(1987~), 女, 山西长治人, 医学硕士, 主治医师, 主要从事眼科屈光及眼表专业临床工作。

[通信作者] 翟瑜如, E-mail: czmczhaiyuru3@163.com

sphingomyelin content ($P < 0.01$); (8) ORM1 promoted the rise of mRNA and protein expression of SPTLC1 ($P < 0.001$). **Conclusion** ORM1 can participate in the regulation of sphingolipid metabolism in dry eye disease through the regulation of SPTLC1, which provides new perspectives for exploring the mechanism of the development of dry eye disease and searching for effective and safe therapeutic options.

[**Key words**] ORM1; SPTLC1; Sphingolipid metabolism; Dry eye disease

干眼症 (dry eye disease, DED) 是最常见的眼科疾病之一, 临床表现包括泪液分泌不足或泪液动力学异常, 并导致泪膜不稳定和眼表损伤, 眼部干燥、刺激和炎症^[1]。干眼症的发病机制较为复杂, 高渗透压、角膜炎症和损伤以及神经感觉异常, 跨膜和分泌蛋白表达缺陷, 以及环境因素的影响等都可能引起 DED 的发生发展^[2]。目前, 针对 DED 的治疗主要是以增加泪液和抗炎为主, 但现有治疗具有明显缺陷性, 例如人工泪液只能暂时产生缓解作用, 长期通过激素类滴眼剂会增加青光眼和白内障的风险, 因此, 探究干眼症的发病机制或许可以为其治疗方案的研究带来新的视角^[3-4]。鞘脂 (Sphingolipid) 是含有鞘氨醇骨架的 1 类物质, 是维持细胞膜屏障功能和流动性的成分, 主要分为鞘磷脂, 脑苷脂和神经节苷脂 3 类^[5-6]。鞘脂代谢是指生物体对鞘脂分子在体内的合成、降解、转运和利用等一系列过程^[7-8]。鞘脂代谢异常可能会引起角膜以及角膜神经纤维的功能异常^[9]。本文主要研究 ORM1 通过丝氨酸棕榈酰转移酶长链对于干眼症鞘脂代谢的影响, 为干眼症的发病机制提供新的研究方向。

1 材料与方法

1.1 干眼症模型建立

24 只 SPF 级 C57BL/6J 小鼠 (18 ~ 22 g, 6 ~ 8 周) 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。动物保持在无病原体, 恒温 (22 °C ~ 24 °C), 12 h 昼夜节律的条件下适应性喂养 1 周后, 将小鼠随机分为 4 组: (1) 正常对照组 (Control): 不做处理; (2) 干眼症模型组 (DED): 皮下注射氢溴酸东莨菪碱 (scopolamine hydrobromide, SCOP, 美国 Sigma-Aldrich 公司) 7 d 进行干眼症模型造模; (3) AAV1-NC 组: 玻璃体内一次性注射 1 μ L AAV1-NC 空载腺相关病毒 (4×10^{13} vg/mL) 后, 行干眼模型诱导; (4) AAV1-ORM1 组: 玻璃体内 1 次性注射 1 μ L AAV1-ORM1 腺相关病毒 (4×10^{13} vg/mL) 后, 行干眼模型诱导。干眼症模型造模如下: 每日定时皮下注射 4 次, 每次间隔 4 h, 共 7 d, 每天最后 1

次给药后进行泪液分泌量。7 d 后进行泪液分泌量检测以及泪膜破裂时间, 检测结束后取材。

1.2 泪液分泌量检测

将酚红棉线放置在结膜下穹窿处, 距离下眼睑外眦约 1/3 位置, 放置 15 s, 用卡尺测量湿红线的长度。每次采集进行 3 重复, 取平均值进行记录。

1.3 杯状细胞检测

取石蜡包埋后的眼球组织, 使用糖原染色试剂盒染色 (北京索莱宝科技有限公司) 后, 在光学显微镜下观察并每个样本随机选 3 个视野采集图片后, 计算结膜中糖原染色阳性的杯状细胞的平均数量。1 分=无染色; 2 分=散在稀疏的点状染色; 3 分=较为密集的点状染色; 4 分=染色呈片状, 若点数不均以比例较大者为准, 评分越高角膜损伤越严重。

1.4 角膜荧光素染色

将 2 μ L 的 1% 荧光素钠滴于结膜内, 再通过 0.25% 氯霉素滴眼液冲洗, 通过裂隙灯钴蓝光下使用显微镜对染色情况进行观察, 并根据着色程度以及面积大小对组织进行评分。评分标准^[10]为: 无染色为 0 分; 散在稀疏的点状染色为 1 分; 较为密集的点状染色为 2 分; 染色呈片状为 3 分, 若点数不均以比例较大者为准, 评分越高角膜损伤越严重。

1.5 泪膜破裂时间检测

将 1 滴 1% 荧光素钠溶液滴入结膜囊中, 对实验鼠辅助眨眼 3 次使荧光素分布均匀, 于裂隙灯钴蓝光下观察角膜出现第 1 个黑色干燥斑点的时间, 每只实验鼠重复检测 3 次, 计算平均值。

1.6 HE 检测

组织切片用 1% 盐酸酒精 (1 mL 浓盐酸加入 99 mL 75% 无水乙醇中) 分化 2 s, 然后进行伊红染色 (G1001, 北京索莱宝科技有限公司) 1 min。组织切片用梯度酒精脱水, 然后在二甲苯中透明 30 min。最后, 用中性树胶密封切片并在显微镜下观察。

1.7 分子及蛋白表达检测

通过 string 预测与 ORM1 互作的蛋白 (<https://cn.string-db.org/>)。通过 Human protein atlas (<https://>

www.proteinatlas.org/) 对 SPTLC1, SPTLC3 在眼单细胞的表达进行预测, 液氮下将新鲜角膜和结膜组织研磨后通过 TRIZOL 试剂盒(美国 Invitrogen 公司)提取总 RNA, 用 ND-1000 分光光度计(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)测量 1 μ L 总 RNA 样品

的浓度。使用 FastKing RT Kit(含 gDNase, KR116, 北京天根生化科技有限公司)对 RNA 进行反转录。以 β -actin 为内参基因检测 mRNA 水平。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达水平。荧光定量 PCR 扩增引物序列见表 1。

表 1 荧光定量 PCR 扩增引物列表

Tab. 1 Nucleotide sequences of the primers used for real-time quantitative PCR

引物名称	引物序列	长度(bp)
IL-1 β forward	5'-GGGGCGTCCCTTCATATGTGT-3'	347
IL-1 β reverse	5'-GGCAGCTCCTGTCTTGTAGG-3'	
IL-6 forward	5'-GAGGTGAGTGCTTCCCCATC-3'	477
IL-6 reverse	5'-TTGCATCTGGCTTTGTTCGC-3'	
TNF- α forward	5'-ACTGATGAGAGGGAGGCCAT-3'	179
TNF- α reverse	5'-CCGTGGGTTGGACAGATGAA-3'	
IFN- γ forward	5'-ATCAAGCTGCCTCCCGTATG-3'	942
IFN- γ reverse	5'-CTGTCTGCAGTGGGAAACA-3'	
ORM1 forward	5'-GGACACCTGTGGGCTATGTC-3'	281
ORM1 reverse	5'-TGACCGCACCTATCCTGGAA-3'	
SPTLC1 forward	5'-CAGTGCTGCACAGAAACCTC-3'	603
SPTLC1 reverse	5'-TTGTCTTGCTCTTCTCCCTCAC-3'	
β -actin forward	5'-CCTAAGGCCAACCGTGAAAAG-3'	100
β -actin reverse	5'-AGGCATACAGGGACAGCACAG-3'	

取下角膜和结膜组织彻底研磨后, 加入含 1% 蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液(碧云天生物科技有限公司)提取蛋白。裂解混合物离心后使用比辛酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白质测定法(购于碧云天生物科技有限公司)对蛋白浓度进行测定。样品经 SDS-PAGE 分离后转移至 PVDF 膜(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。将膜在室温下用 5% 脱脂奶粉封闭后, 与按比例稀释后的一抗(表 2) 4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜, 清洗后用 second antibody Goat Anti-Rabbit IgG H&L(美国 Cell Signaling Technology 生物科技有限公司)室温下孵育 2 h, 通过增强化学发光法(美国 BD 生物科技有限公司)并孵育 5 min, 最后将膜放入化学发光成像仪(上海天能)中曝光。使用 Image J (1.8.0 版, 美国马里兰州国立卫生研究院)进行蛋白条带分析。

表 2 Western blot 中所用一抗

Tab. 2 Primary antibodies used in Western blot

一抗	公司	货号	稀释比	分子量	种属
ORM1	abcam	ab200732	1 : 1 000	24	Rabbit
SPTLC1	abcam	Ab176706	1 : 2 000	53	Rabbit
β -actin	abcam	Ab8226	1 : 1 000	42	Mouse

1.8 角膜组织总神经酰胺和鞘磷脂检测

将角膜组织研磨后, 通过神经酰胺含量检测试剂盒(上海通蔚事业有限公司)以及鞘磷脂含量检测试剂盒(美国 R&D 公司)处理样本后通过酶标仪进行总神经酰胺和鞘磷脂含量检测。

1.9 统计学处理

使用 SPSS 20.0 版(SPSS, 芝加哥, 伊利诺伊州)进行统计分析。采用 Kolmogorov-Smirnov 检验来检查数据的正态性。正态分布的连续变量以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示。多组间的比较采用单因素方差, 当有 2 个或者 2 个以上的因素对因变量产生影响时, 使用多因素方差进行分析, 如果存在差异, 则进一步采用 Tukey's 检验进行两两比较; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ORM1 过表达促进干眼症模型的泪液分泌量

为了过表达 ORM1, 将 AAV1-ORM1 及其对应的阴性对照物注射进玻璃体内。通过 QPCR 和 WB 检测转染效率, 可得 ORM1 在干眼症中高表达 ($P < 0.0001$), 而 AAV1 使 ORM1 进一步高表达

($P < 0.0001$), 见图 1A、1B。相比于正常小鼠, 干眼症模型组小鼠的泪液分泌量下降($P < 0.0001$), 而通过 AAV 过表达 ORM1 后, 干眼症模型鼠的泪液分泌量上升($P < 0.0001$), 见图 1C、1D, 证明 ORM1 可增加干眼症模型的泪液分泌。

2.2 ORM1 过表达延长干眼症模型的泪膜破裂时间

相比于正常小鼠, 干眼症模型组小鼠的泪膜破裂时间下降($P < 0.0001$), 而通过 AAV 过表达 ORM1 后, 干眼症模型鼠的泪膜破裂时间上升($P < 0.001$), 证明 ORM1 可增加干眼症模型的眼表泪膜稳定性, 见图 2。

2.3 ORM1 过表达能够降低小鼠角膜荧光素染色评分

通过角膜荧光素染色评估角膜上皮损伤情况。相比于正常小鼠, 干眼症模型组小鼠的可见大片荧光着色, 荧光素评分上升($P < 0.0001$), 而通

过 AAV 过表达 ORM1 后, 干眼症模型鼠的荧光着色面积下降($P < 0.0001$), 荧光素评分下降, 证明 ORM1 可改善干眼症模型的角膜上皮损伤, 见图 3A、3B。

2.4 ORM1 过表达能够增多小鼠角膜组织中杯状细胞数量

通过 PAS 染色评估角膜杯状细胞数量。相比于正常小鼠, 干眼症模型组小鼠的杯状细胞数量下降($P < 0.0001$), 而通过 AAV 过表达 ORM1 后, 干眼症模型鼠的杯状细胞数量上升($P < 0.001$), 证明 ORM1 可增加干眼症模型的角膜组织中杯状细胞数量, 见图 4A、4B。

2.5 ORM1 过表达能够改善小鼠病理变化

通过 HE 观察小鼠角膜病理变化, 空白组角膜组织细胞正常, 上皮层宽厚, 基质层细胞排列紧密, 无明显病理特征。而干眼症模型角膜组织上皮层变薄, 基底层细胞部分缺失且排列疏松,

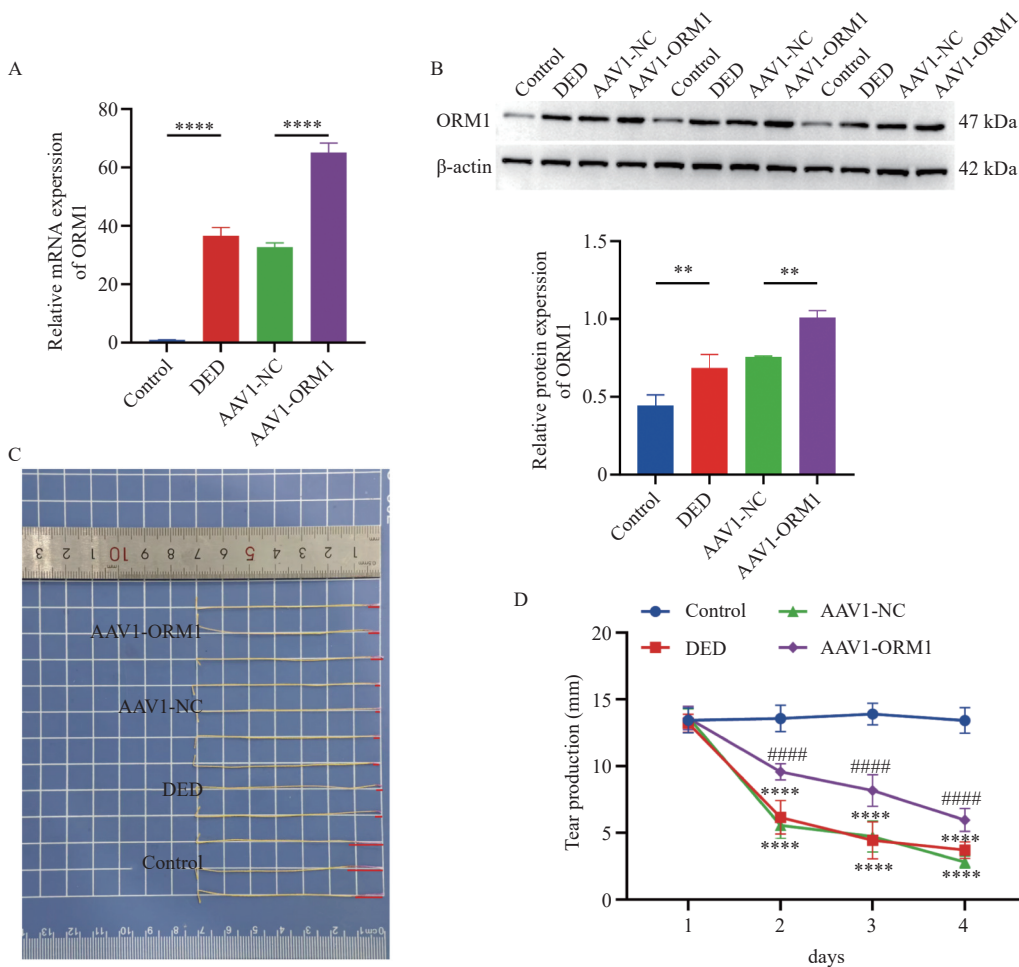


图 1 ORM1 过表达促进干眼症模型的泪液分泌量

Fig. 1 ORM1 overexpression promotes tear production in a dry eye model

A: qPCR 检测 ORM1 的 mRNA 表达; B: Western blot 检测 ORM1 的蛋白表达; C: 各组酚红棉线长度; D: 泪液分泌量; ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$, #### $P < 0.0001$ 。

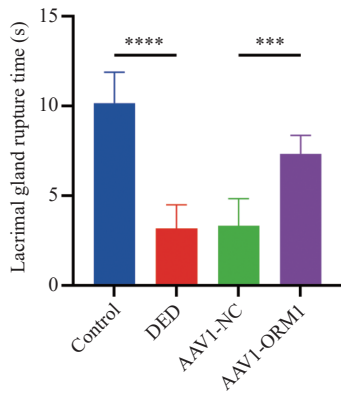


图 2 泪膜破裂时间

Fig. 2 Lacrimal gland rupture time

*** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

上皮细胞分层紊乱, 细胞层数减少, 出现空泡而通过 AAV 过表达 ORM1 后, 角膜组织上皮层变

厚, 基底层细胞排列较为紧密, 细胞层数变多, 空泡减少, 证明 ORM1 可改善干眼症模型的角膜组织病理变化, 见图 5。

2.6 ORM1 过表达能够下调炎症基因的表达

通过 qPCR 检测炎症基因的表达, 结果显示, 相比于正常小鼠, 干眼症模型组小鼠的角膜组织中的 IL-1 β , IL-6, TNF- α 和 IFN- γ 的 mRNA 表达上升 ($P < 0.001$), 而通过 AAV 过表达 ORM1 后, 干眼症模型鼠角膜组织中的 IL-1 β , IL-6, TNF- α 和 IFN- γ 的 mRNA 表达下降 ($P < 0.01$), 证明 ORM1 可抑制干眼症模型的炎症基因表达, 见图 6A ~ 6D。

2.7 ORM1 过表达促进总神经酰胺和鞘磷脂含量

相比于正常小鼠, 干眼症模型组小鼠的总神经酰胺和鞘磷脂含量下降 ($P < 0.001$), 而通过

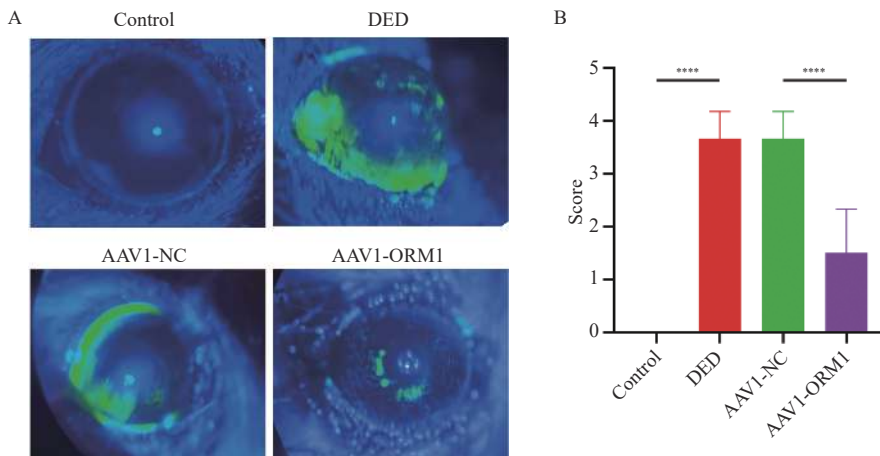


图 3 ORM1 过表达能够降低小鼠角膜荧光素染色评分

Fig. 3 ORM1 overexpression reduces mouse corneal fluorescein staining score

A: 角膜荧光素染色; B: 角膜荧光素染色得分; **** $P < 0.0001$.

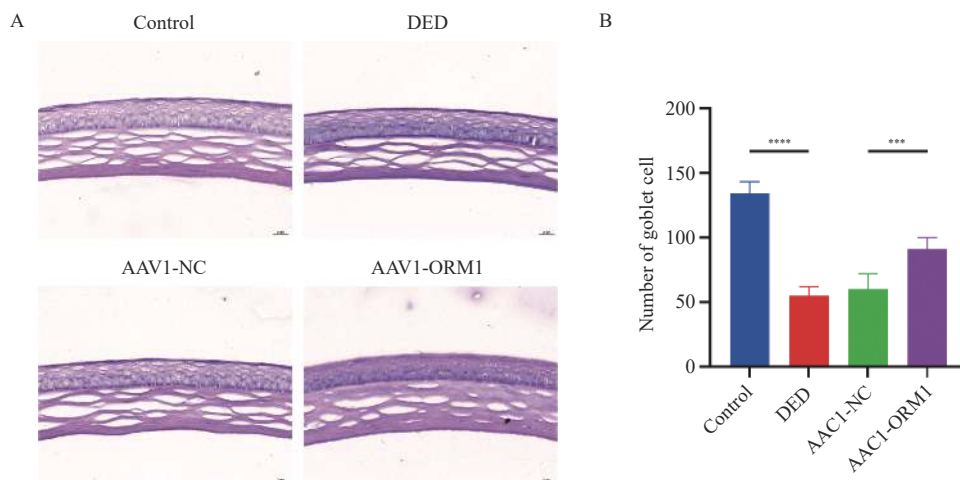


图 4 ORM1 过表达能够增多小鼠角膜组织中杯状细胞数量

Fig. 4 ORM1 overexpression increases the number of goblet cells in mouse corneal tissue

A: 通过 PAS 染色评估结膜杯状细胞数量 ($\times 40$); B: 角膜杯状细胞数量; *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

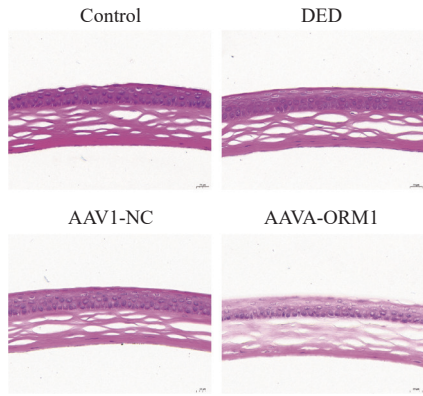


图 5 ORM1 过表达能够改善小鼠病理变化

Fig. 5 ORM1 overexpression improves pathological changes in mice

AAV 过表达 ORM1 后，干眼症模型总神经酰胺和鞘磷脂含量上升($P < 0.01$)，证明 ORM1 可促进总神经酰胺和鞘磷脂含量，见图 7。

2.8 ORM1 过表达调控 SPTLC1 表达

为了探究 ORM1 调控干眼症的机制，通过 string 预测与 ORM1 互作的蛋白(图 8A)。其中 SPTLC1, SPTLC3 与 ORM1 有互作关系，且与鞘磷脂代谢有关。通过 Human protein atlas 对 SPTLC1,

SPTLC3 在眼单细胞的表达进行预测，结果显示 SPTLC1 在眼各种细胞中表达丰度更高，因此选 SPTLC1 进行检测(图 8B、图 8C)。通过 qPCR 检测 SPTLC1 基因的表达，结果显示：相比于正常小鼠，干眼症模型组小鼠的角膜组织中的 SPTLC1 的 mRNA 和蛋白表达上升($P < 0.05$)，而通过 AAV 过表达 ORM1 后，干眼症模型鼠角膜组织中的 SPTLC1 的 mRNA 和蛋白表达进一步上升($P < 0.001$)(图 8D ~ 8F)，证明 ORM1 可通过调控 SPTLC1 参与调控干眼症鞘脂代谢。

3 讨论

3.1 干眼症简介

干眼症是由外部因素导致泪膜的成分，完整性和稳定性产生变化导致的，临床症状有砂砾/异物感、干燥、畏光、灼烧、刺痛、视力模糊等，通常以补充泪液以及抗炎的治疗策略为主，但只能进行控制，没有办法根治。因此，探寻其发生发展机制可为寻找有效且安全的治疗方案提供新的视角。角膜是人体神经支配最多的组织，角膜

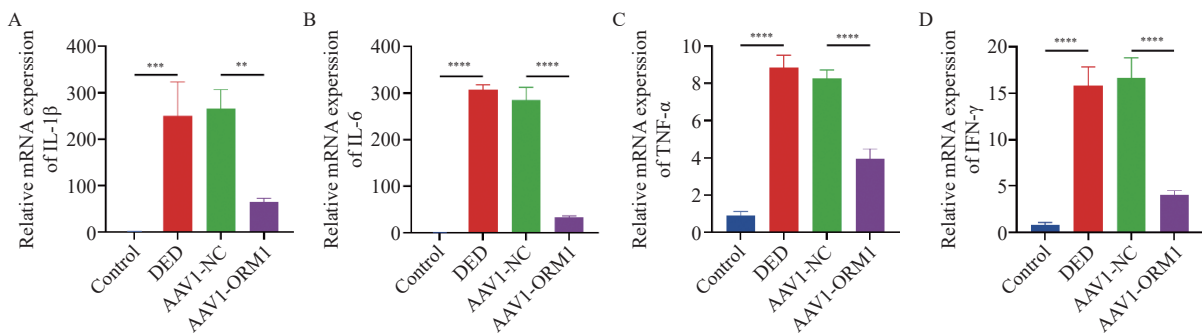


图 6 通过 qPCR 检测角膜组织中炎症基因 IL-1β, IL-6, TNF-α 和 IFN-γ 的表达

Fig. 6 Expression of inflammatory genes IL-1β, IL-6, TNF-α and IFN-γ in corneal tissues detected by qPCR

A: IL-1β 的表达; B: IL-6 的表达; C: TNF-α 的表达; D: IFN-γ 的表达; ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$ 。

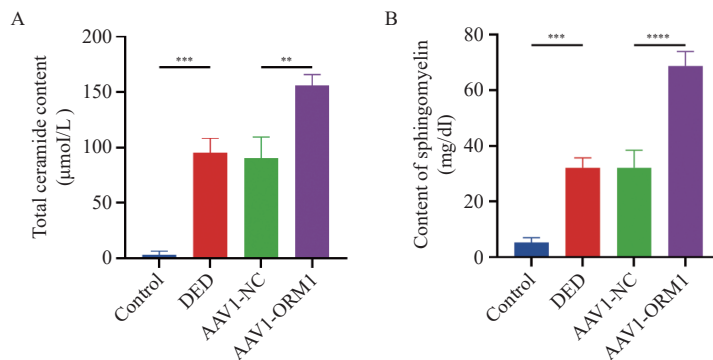


图 7 ORM1 过表达促进总神经酰胺和鞘磷脂含量

Fig. 7 ORM1 overexpression promotes total ceramide and sphingomyelin content

A: 总神经酰胺含量; B: 鞘磷脂含量; ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

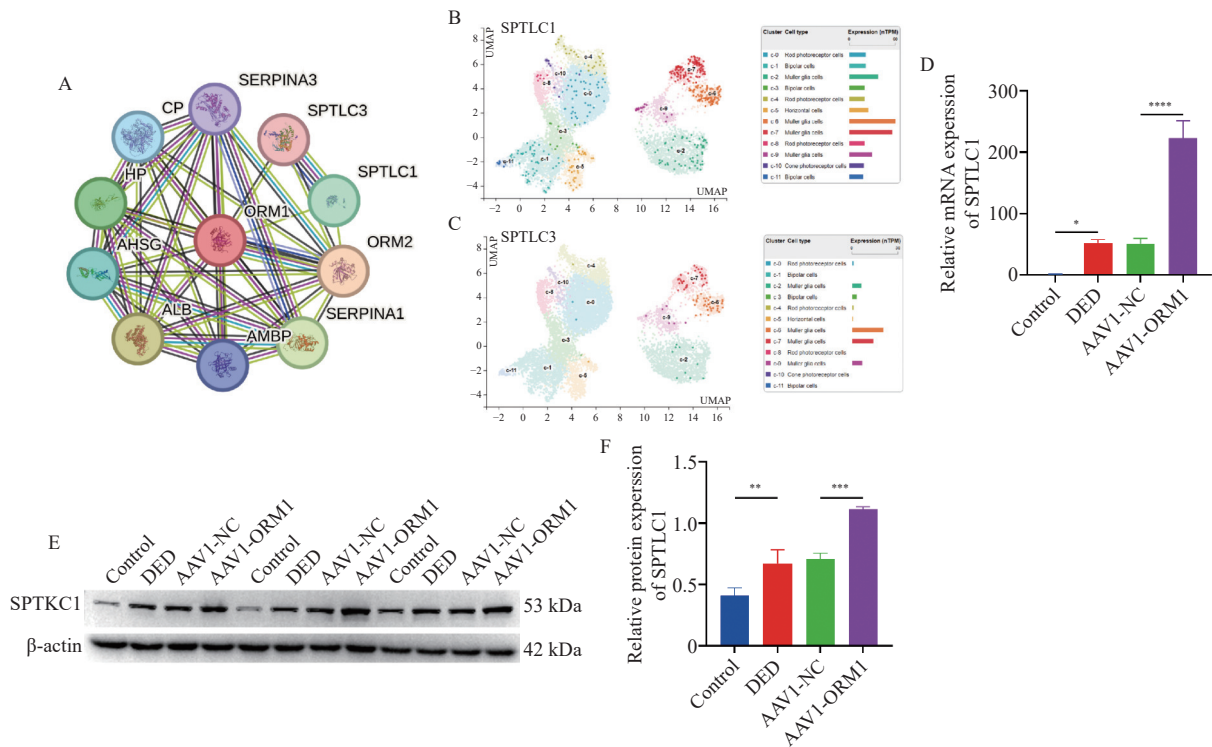


图 8 ORM1 过表达调控 SPTLC1 表达

Fig. 8 ORM1 overexpression regulates SPTLC1 expression

A: 通过 string 预测与 ORM1 互作的蛋白; B: 通过 Human protein atlas 对 SPTLC1 在眼单细胞的表达进行预测; C: 通过 Human protein atlas 对 SPTLC3 在眼单细胞的表达进行预测; D: qPCR 检测小鼠的角膜组织中的 SPTLC1 的 mRNA 表达; E: 小鼠的角膜组织中的 SPTLC1 的蛋白表达; F: 各组小鼠角膜组织中 SPTLC1 蛋白的相对表达量; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

神经可感知触感, 疼痛和温度, 并参与眨眼反射, 伤口愈合和眼泪分泌等^[11]。干眼症的病因之一是角膜神经病变, 主要表现为角膜神经长度或密度显著减少以及神经迂曲等形态异常, 会严重影响主观视觉障碍以及泪液分泌^[12-13]。磷脂一段连着长链脂肪酸, 一段连着极性的醇^[14]。鞘磷脂在神经酰胺的 C-1 羟基上与磷酸胆碱相连接, 是髓鞘的主要构成成分。鞘脂代谢在丝氨酸(Serine)和棕榈酰辅酶A (Palmitoyl-CoA) 的作用下通过丝氨酸棕榈酰辅酶 A 转移酶 (serine palmitoyl transferase, SPT) 经由从头合成途径 (De novo pathway) 对后续代谢产物的生成进行干预^[15-17]。细胞内鞘脂的主要成分为鞘磷酸, 可被酸性鞘磷脂酶水解成神经酰胺, 神经酰胺是鞘脂系统的中心脂质, 包括多种酶和分子, 在鞘脂生物合成和分解代谢起到重要的作用^[5, 17]。

3.2 人源血清类粘蛋白 1 简介

人源血清类粘蛋白 1 (orosomucoid 1, ORM1) 又名 Alpha-1-acid glycoprotein 1, 同 C 反应蛋白被认为是反应炎症活动敏感指标。ORM1 是 1 种急性时相蛋白, 具有炎症和免疫调节功能^[18-19]。

ORM1 主要由肝脏合成, 但其他组织在外界刺激下产生的生理病理条件下均会产生 ORM1, 并分泌至全身。ORM1 是人体对抗过度炎症的非特异性防御系统的一个组成部分, 可通过减少组织损伤和防止氧化应激限制炎症反应对机体的损伤^[20-21]。Adma 等^[22]用兔子慢性干眼症模型探索了干眼症的病理生理学, 发现 ORM1 在干眼症模型中 ORM1 水平应激式上升, 从而激活免疫反应。而笔者的实验结果同样验证了 ORM1 在干眼症模型中过表达。而进一步过表达 ORM1 后, 干眼症模型的眼表泪膜稳定性, 角膜上皮损伤, 杯状细胞数量均有一定程度的改善, 而炎症因子的表达也有明显下降。Jan-Hannes 等^[23]发现, ORM1 参与丝氨酸棕榈酰基转移酶 (Serine palmitoyl transferase, SPT) 对鞘磷脂生成过程的限速步骤, 且神经酰胺与 ORM1 有紧密的相互作用。因此, 笔者同样检测了磷脂酸和神经酰胺的含量, 结果显示 ORM1 可促进总神经酰胺和鞘磷脂含量。为了探究 ORM1 对鞘脂代谢的调控机制过 String 预测了 ORM1 的下游基因。在与 ORM1 互作的蛋白中, SPTLC1 与 SPTLC3 与鞘脂代谢具有密不可分的关系。而

SPTLC1 在眼部组织中表达丰度更高。SPTLC1 是 SPT 酶的亚基之一, 是参与鞘脂合成途径的代谢酶, 丝氨酸棕榈酰转移酶、神经酰胺合酶、鞘氨醇激酶之一^[24]。实验验证, SPTLC1 的表达在 ORM1 过表达后明显上升, 结果预示着 ORM1 可通过调控 SPTLC1 参与调控干眼症鞘脂代谢。

[参考文献]

- [1] Sheppard J, Shen Lee B, Periman L M. Dry eye disease: Identification and therapeutic strategies for primary care clinicians and clinical specialists[J]. *Ann Med*, 2023, 55(1): 241–252.
- [2] Huang R, Su C, Fang L, et al. Dry eye syndrome: Comprehensive etiologies and recent clinical trials[J]. *Int Ophthalmol*, 2022, 42(10): 3253–3272.
- [3] 金明, 王晓娟, 宋海姣, 等. 中药及熏灸治疗干眼症的临床观察 [J]. 中国中医眼科杂志, 2006, 16(2): 71–73.
- [4] Rolando M, Barabino S. Dry eye disease: What is the role of vitamin D? [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(2): 1458.
- [5] 王少媛, 张金兰, 张丹, 等. 鞘脂在肝脏疾病中的研究进展 [J]. 药科学报, 2015, 50(12): 8.
- [6] Mei M, Liu M, Mei Y, et al. Sphingolipid metabolism in brain insulin resistance and neurological diseases[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14(1): 1243132.
- [7] 王静, 胡小松, 石阶平. 鞘脂与细胞凋亡 [J]. 生理科学进展, 2003, 34(3): 5.
- [8] Haslam T M, Feussner I. Diversity in sphingolipid metabolism across land plants[J]. *J Exp Bot*, 2022, 73(9): 2785–2798.
- [9] 钱益勇, 李振宇, 张振平, 等. 鞘脂酶激活蛋白在年龄相关性白内障晶状体上皮细胞的表达 [J]. 眼视光学杂志, 2007, 9(3): 4.
- [10] 黄江丽, 张抒燕, 辛瑞. 加味沙参麦冬汤+中药熏蒸治疗干眼症的效果及角膜荧光素染色评分分析 [J]. 中外医疗, 2024, 43(9): 186–188.
- [11] 赵凤琼, 李立. 依达拉奉对糖尿病角膜神经病变大鼠角膜神经的保护作用 [J]. 中华实验眼科杂志, 2012, 30(2): 5.
- [12] 范围. 糖尿病角膜神经病变与视网膜病变的相关性研究 [D]. 重庆: 中国人民解放军陆军军医大学/第三军医大学, 2016.
- [13] 金梅, 罗晓燕, 曲利利. 19 例合并 2 型糖尿病的干眼症患者干眼症症状, 角膜神经病变观察及相关性分析 [J]. 山东医药, 2022, 62(12): 64–67.
- [14] 孙九丽, 林慧珍, 苟萍. 鞘脂代谢及其相关疾病研究进展 [J]. 生物技术, 2011, 21(5): 5.
- [15] 王睿齐, 张庆柱. 肿瘤鞘脂代谢异常与肿瘤细胞对维甲酸类药物耐药性 [J]. 生命的化学, 2014, 34(6): 6.
- [16] Sasset L, Di Lorenzo A. Sphingolipid metabolism and signaling in endothelial cell functions [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2022, 1372(1): 87–117.
- [17] Kalinichenko L S, Gulbins E, Kornhuber J, Müller C P. Sphingolipid control of cognitive functions in health and disease [J]. *Prog Lipid Res*, 2022, 86(4): 101162.
- [18] Gemelli C, Martello A, Montanari M, et al. The Orosomucoid 1 protein is involved in the vitamin D – mediated macrophage de-activation process [J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319(20): 3201–3213.
- [19] Kim Y E, Lee E J, Kim K, et al. Urine SERPINC1/ORM1 as biomarkers for early detection of lupus nephritis in MRL-*lpr* mice [J]. *Front Immunol*, 2023, 14(9): 1148574.
- [20] Yu G, Gao J, Hu W, et al. ORM1 promotes tumor progression of kidney renal clear cell carcinoma (KIRC) through CALR-mediated apoptosis [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 15687.
- [21] Yang B F, Zhai F, Yu S, et al. Evaluation of IFIT3 and ORM1 as biomarkers for discriminating active tuberculosis from latent infection [J]. *Curr Med Sci*, 2022, 42(6): 1201–1212.
- [22] Master A, Kontzias A, Huang L, et al. The transcriptome of rabbit conjunctiva in dry eye disease: Large-scale changes and similarity to the human dry eye [J]. *PLoS One*, 2021, 16(7): e0254036.
- [23] Schäfer J H, Körner C, Esch B M, et al. Structure of the ceramide-bound SPOTS complex [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 6196.
- [24] 郑雪莹. 鞘脂代谢酶 SPTLC1 促进胃癌细胞增殖及其抑制有丝分裂灾难的机制研究 [D]. 北京: 中国医科大学, 2022.