

网络出版时间: 2025-03-17 18:55:54 网络出版地址: <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20250314.1612.002>

# 基于转录组学分析昆布多糖对 C57BL/6 小鼠 非增生性糖尿病视网膜病变的影响

张 蕾<sup>1,2</sup> 张素梅<sup>3</sup> 杨 振<sup>3</sup> 胡韦康<sup>3</sup> 白红枚<sup>3</sup> 周文静<sup>3</sup> 王子涵<sup>3</sup> 李名聪<sup>4</sup> 张胜权<sup>3</sup> 廖荣丰<sup>1</sup>  
[<sup>1</sup> 安徽医科大学第一附属医院眼科, 合肥 230022; <sup>2</sup> 安徽医科大学附属阜阳市人民医院眼科, 阜阳 236012; <sup>3</sup> 安徽医科大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 合肥 230032; <sup>4</sup> 安徽医科大学附属合肥医院(合肥市第二人民医院) 病理科, 合肥 230022]

**摘要** 目的 采用高通量测序技术(RNA-seq)探讨昆布多糖(LAM)对非增生性糖尿病视网膜病变(NPDR)的影响。方法 采用链脲佐菌素(STZ)腹腔注射建立糖尿病模型,观察LAM对糖尿病小鼠的影响。将C57BL/6小鼠随机分为对照(Control)、模型(Model)、昆布多糖治疗(LAM)组,每组8只小鼠。在建模8周后,LAM组接受为期4周的LAM腹腔注射治疗。记录3组小鼠血糖体质量变化,HE染色检查视网膜病变情况,采用RNA-seq挖掘STZ及LAM作用下糖尿病视网膜病变(DR)的关键差异基因(DEGs)。结果 使用STZ可以成功建立DR模型,而LAM可以在一定程度上降低糖尿病小鼠血糖并改善糖尿病小鼠视网膜结构疏松的病理形态。经过RNA-seq对DEG挖掘发现与Control组相比,Model组小鼠视网膜共有214个DEGs,通过富集分析发现DR可通过PI3K-Akt信号通路加重病变程度。Model组与LAM组小鼠视网膜共有DEGs 42个,富集后显示LAM通过中性粒细胞胞外陷阱通路改善其病变程度。早期生长反应因子1(Egr1)、FBJ骨肉瘤致癌基因(Fos)、核受体亚家族4A成员1(Nr4a1)、盐诱导激酶1(Sik1)受STZ调节,而LAM能显著下调其表达,可能与LAM对糖尿病视网膜病变的治疗密切相关。结论 DEG可通过PI3K-Akt信号通路加重糖尿病视网膜病变程度。LAM可以通过中性粒细胞胞外陷阱通路减轻糖尿病视网膜病变,Egr1、Fos、Nr4a1、Sik1是LAM治疗STZ诱导DR的关键基因。

**关键词** 高通量测序; 昆布多糖; 糖尿病视网膜病变; C57BL/6

中图分类号 R 774.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2025)03-0392-07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.03.002

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)作为糖尿病最常见的微血管并发症,预计到2040年将影响全球约2亿糖尿病患者,严重威胁人类健康。DR主要分为非增生性糖尿病视网膜病变(nonproliferative DR, NPDR)和增生性DR(proliferative DR, PDR)两类<sup>[1]</sup>。NPDR的早期阶段若未能得到有效抑制,将显著增加病情进展的风险。目前,针对DR的治疗手段虽多,但早期干预及预防机制的研究仍显不足。昆布多糖(laminarin, LAM)是一种存在于褐藻类植物中的天然活性成分。近年来因其抗炎、神经保护及抗氧化等药理作用而受到广泛关注<sup>[2]</sup>。

在糖尿病、神经退行性疾病及肿瘤的治疗领域中发挥了重要的作用<sup>[3]</sup>。然而,关于LAM在糖尿病中对视网膜保护作用的机制尚缺乏深入研究。该研究采用DNBSEQ测序平台高通量测序技术探讨LAM对DR保护作用的潜在机制。通过挖掘LAM作用下DR的关键差异基因(differentially expressed gene, DEG),期望能够发现新的治疗靶点,为DR的预防及治疗提供科学依据和潜在的药物干预策略。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 雄性C57BL/6小鼠24只,6至8周龄, (20±2)g,由安徽医科大学实验动物中心提供,实验动物质量合格许可证编号:SCXK(皖)2022-001。于21~23℃、湿度60%~65%的SPF动物实验室中自适应饲养1周,12/12h昼夜节律,自由摄食饮水,状况良好。所有动物实验均经动物伦理委员会批准(伦理编号:LLSC20221203)。

**1.1.2 主要试剂和仪器** LAM及链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)(美国SigmaAldrich公司); Si-

2024-11-04 接收

基金项目:安徽省高校科研项目(编号:2022AH050651);安徽医科大学校级科研项目(编号:2022xkj107);蚌埠医学院科技项目自然科学基金重点项目(编号:2022byzd196)

作者简介:张蕾,女,副主任医师,博士研究生;

廖荣丰,男,博士,教授,主任医师,博士生导师,通信作者, E-mail: liaorayfy@126.com

张胜权,男,博士,教授,硕士生导师,通信作者, E-mail: zhangshengquan@ahmu.edu.cn

nocare 血糖仪(长沙三诺生物传感股份有限公司); 正置显微镜(中国 YUESHI 公司), 超微量分光光度计 NanoDrop 2000(美国赛默飞公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 实验分组及处理** 小鼠随机分为对照(Control)、模型(Model)、昆布多糖(LAM)组, 每组8只小鼠。Model组及LAM组小鼠禁食不禁水6h后, 连续5d腹腔注射链脲菌佐素(STZ 60 mg/kg) 3d后经尾静脉检测血糖, 当血糖浓度 > 16.7 mmol/L时符合糖尿病标准。Control组大鼠注射等量柠檬酸缓冲液, 正常饮食。LAM组在建模后8周用LAM (300 mg/kg/d) 腹腔注射治疗4周。Control组和Model组等剂量生理盐水每日腹腔注射。记录造模前、造模后8周、12周的小鼠体质量和血糖。给予2%戊巴比妥麻醉后取眼球进行组织病理学研究。提取Control、Model、LAM组(均  $n = 3$ ) 视网膜总RNA, 然后用总RNA进行RNA-seq分析。委托深圳华大基因公司对9个转录组样本进行检测。

**1.2.2 组织病理学检查** 眼球组织用10%福尔马林固定, 乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 用于组织病理学检查。5  $\mu\text{m}$  厚度切片后进行脱蜡, 逐级乙醇脱水, 伊红染色。观察切片形态学变化。

**1.2.3 Total RNA 提取** 取一片视网膜放于装有1 ml TRIzol 的研磨匀浆器中, 充分研磨后转移至无RNA酶的EP管。样品室温孵育5 min后加入200  $\mu\text{l}$  氯仿, 震荡30 s, 静置3 min 4  $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心15 min。吸取400  $\mu\text{l}$  上清液加入等体积异丙醇, 颠倒后室温静置15 min 4  $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心10 min。弃上清液, 用75%乙醇洗涤得到的Total RNA, 12 000 r/min 室温离心5 min后, 弃上清液, 用30  $\mu\text{l}$  DEPC水溶解。Nanodrop 2000检测RNA浓度和质量。

**1.2.4 视网膜转录组测序分析** RNA测序由深圳华大基因公司使用DNBSEQ测序平台进行RNA检

测质量、逆转录、构建文库及测序。原始序列参数参考GCF\_000001635.27\_GRCm39小鼠基因组进行比对和注释。转录组数据分析通过深圳华大基因公司的DR. TOM多组学交互系统完成。

**1.3 统计学处理** 本实验采用SPSS 23.0和GraphPad Prism 9进行数据统计分析。所有实验结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间均值的比较采用单因素方差分析, 两组间均数的比较采用  $t$  检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组小鼠的体质量和血糖情况** 如表1所示, 3组小鼠初始体质量血糖无明显差异, 建模后Model、LAM组血糖均高于16.7 mmol/L。8周及12周Model、LAM组小鼠的体质量和血糖与Control组比较, 明显降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ )。在12周时经过LAM治疗后小鼠的体质量相对于Model组没有明显差异, 虽然血糖水平仍然符合高于16.7 mmol/L的模型标准, 但相较于Model组降低, 差异有统计学意义 ( $P = 0.04$ )。

**2.2 各组小鼠的视网膜组织病理表现** 如图1A所示, Control组小鼠视网膜中各层细胞结构清晰、排列规整、内外丛状层结构清晰、无细胞水肿。与Control组相比, Model组(图1B)视网膜网状结构疏松, 空泡增多, 内外颗粒层排列紊乱, 肿胀变性, 形态不规则。而LAM组视网膜形态学相对于Model组改善(图1C)。

## 2.3 RNA-Seq 数据分析

**2.3.1 Control组 vs Model组** 将处理后的原始数据通过DR. TOM多组学交互系统DESeq2软件进行处理后如图2A显示, 与Control组相比, Model组小鼠视网膜共有214个DEGs, 其中上调基因103个, 下调基因111个。KEGG\_pathway通路分析(图2B)结果显示, 有10条通路发生显著富集, 分别为抗原

表1 小鼠的体质量和血糖资料汇总( $\bar{x} \pm s$ )

Tab.1 Summary of mice body weight and blood glucose data( $\bar{x} \pm s$ )

Group	Initial weight	8 weeks weight	12 weeks weight	Initial blood glucose	8 weeks blood glucose	12 weeks blood glucose
Control	21.91 $\pm$ 1.48	27.20 $\pm$ 1.14	29.48 $\pm$ 1.24	4.30 $\pm$ 0.82	3.70 $\pm$ 0.57	7.45 $\pm$ 0.98
Model	21.12 $\pm$ 2.74	21.70 $\pm$ 2.23*	20.12 $\pm$ 1.90*	4.16 $\pm$ 0.70	20.58 $\pm$ 2.77*	26.17 $\pm$ 2.10*
LAM	21.15 $\pm$ 2.26	21.93 $\pm$ 1.58*	19.71 $\pm$ 1.58*	3.89 $\pm$ 0.81	20.71 $\pm$ 3.83*	23.22 $\pm$ 2.54* <sup>△</sup>
F value	0.323	26.262	95.239	0.319	100.965	204.258
P value	0.727	<0.001	<0.001	0.730	<0.001	<0.001

\*  $P < 0.001$  vs Control group; <sup>△</sup>  $P = 0.04$  vs Model group.

加工和呈递 黏着斑 ,PI3K-Akt 信号通路 ,蛋白质消化和吸收 ,光传导 ,ECM-受体相互作用 ,人乳头瘤病毒感染 ,糖尿病并发症中的 AGE-RAGE 信号通路 ,脂质和动脉粥样硬化 松弛素信号通路。而其中又以诱导内皮细胞增殖和血管形成的 PI3K-Akt 信号通路中IV型胶原( collagen type VI ,Col4)  $\alpha 3$  ,Col4a4 ,

I 型胶原( collagen type I , Col1)  $\alpha 2$  ,VI型胶原( collagen type VI ,Col6)  $\alpha$  VI ,整合素  $\beta 8$  ( integrin  $\beta 8$  , Itgb8) 等基因的差异表达最为引人注目。GO 按照生物过程、细胞组分、分子功能 3 个方面对功能进行分类 ,3 个分类对应的 3 级条目数量分别为 27、15、13 个 在生物过程中的细胞过程、生物调节等

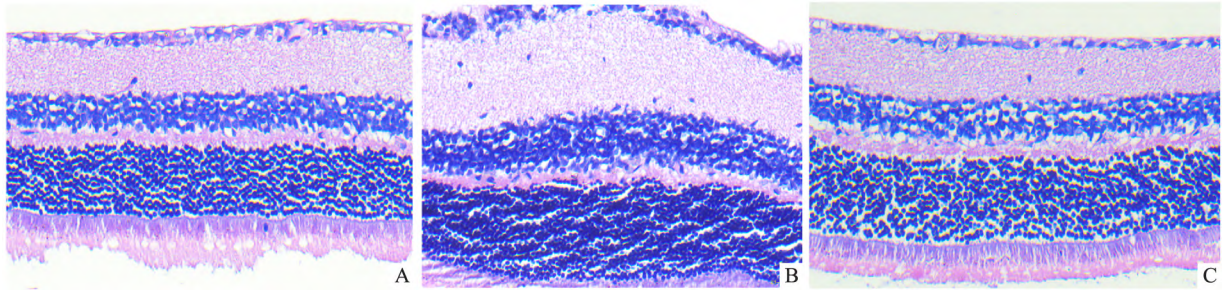


图 1 各组小鼠视网膜组织病理学表现 HE  $\times 200$

Fig. 1 Histopathological manifestations of mice retina in each group HE  $\times 200$

A: Control Group; B: Model Group; C: LAM Group.

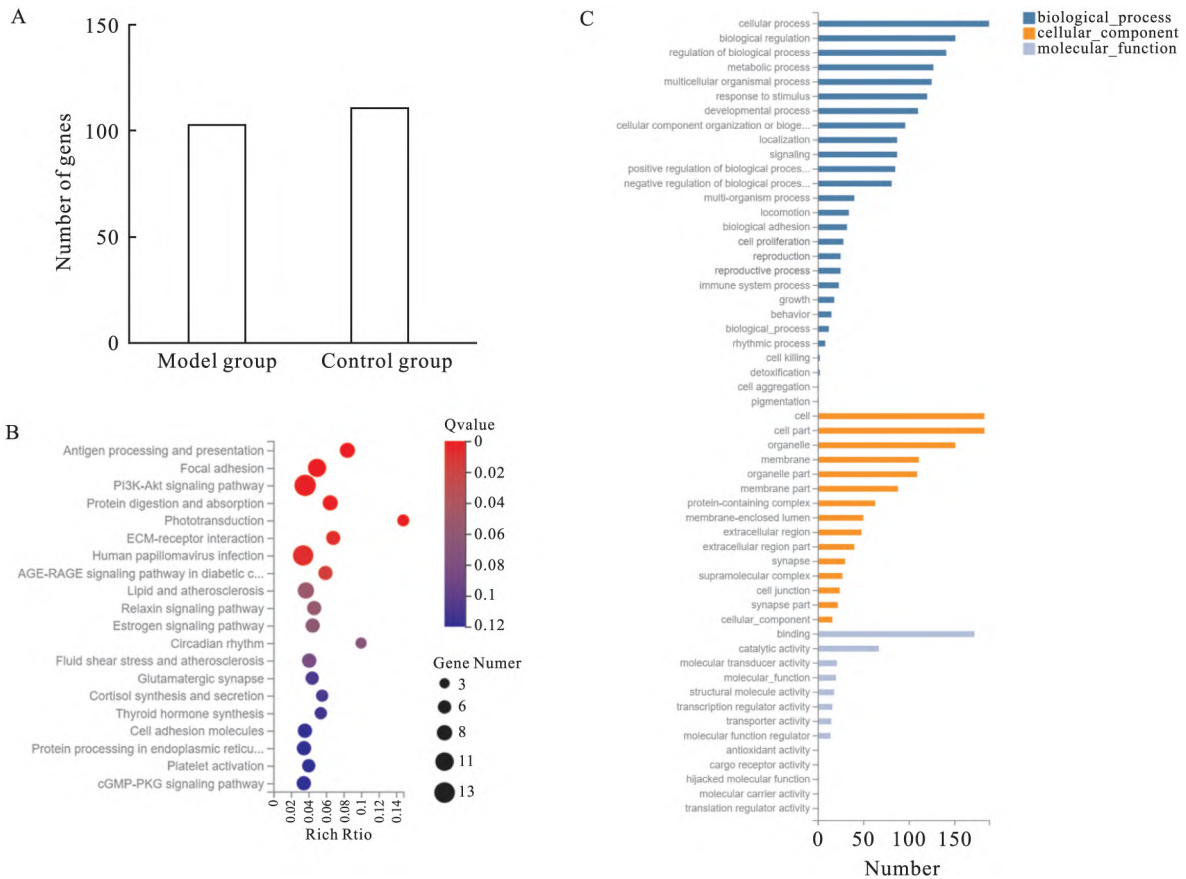


图 2 Model 组与 Control 组差异基因分析

Fig. 2 Differential gene analysis between Model group and Control group

A: Bar chart of DEGs in the Model and Control group; B: Bubble chart of DEG KEGG\_pathway enrichment in the Model and Control group; C: Bar chart of DEG GO enrichment in the Model and Control group.

GO 条目发生显著富集(图 2C)。在细胞组分中细胞、细胞组分、细胞器等条目发生显著富集。在分子功能中结合、催化活性等发生显著富集。

**2.3.2 Model 组 vs LAM 组** 如图 3A 显示,与 Model 组相比,LAM 组小鼠视网膜共有 42 个 DEG,其中上调基因 14 个,下调基因 28 个。KEGG\_pathway 通路分析(图 3B)结果显示,有 10 条通路发生显著富集,分别为系统性红斑狼疮、乙醇中毒、中性粒细胞外陷阱形成、光传导、病毒致癌作用、癌症中的中心碳代谢、胰高血糖素信号通路、甲状旁腺激素的合成、分泌和作用、MAPK 信号通路、雌激素信号通路。以诱导炎症及促进血管通透性的中性粒细胞外陷阱形成机制中 H3 聚集组蛋白 14(H3 clustered histone 14, H3c14),H4 聚集组蛋白 9(H4 clustered histone 9, H4c9),H2A 聚集组蛋白 15(H2A clustered histone 15, H2ac15),H2B 聚集组蛋白 3(H2B clustered histone 3, H2bc3)等基因的差异表达最有意义。(图 3C)GO 富集生物过程、细胞组分、

分子功能对应的 3 级条目数量分别为 23 个、14 个、8 个,在生物过程中的细胞过程、生物调节等 GO 条目发生显著富集。在细胞组分中细胞、细胞组分、细胞器等条目发生显著富集。在分子功能中结合、催化活性等发生显著富集。

**2.3.3 Control 组 vs Model 组及 Model 组 vs LAM 组** (图 4A)韦恩图提示 Model 组 vs LAM 组的 42 个 DEGs 中有 11 个基因与使用 LAM 治疗由 STZ 引起的糖尿病有关。从 DEGs 表达热图(图 4B)可以发现这 11 个共表达 DEGs 受 STZ 调节,而 LAM 能显著回调其表达。KEGG\_pathway 通路分析(图 4C)结果显示前 10 个显著富集通路为 MAPK 信号通路,甲状旁腺激素的合成、分泌和作用,雌激素信号通路,麻疹,脂质和动脉粥样硬化,T 细胞白血病病毒 1 感染,朊病毒病,军团菌病,长寿调节通路-多种物种,安非他明成瘾。根据 GO 注释分类生物过程、细胞组分、分子功能对应的三级条目数量分别为 22 个、14 个、6 个(图 4D),在生物过程富集在细胞

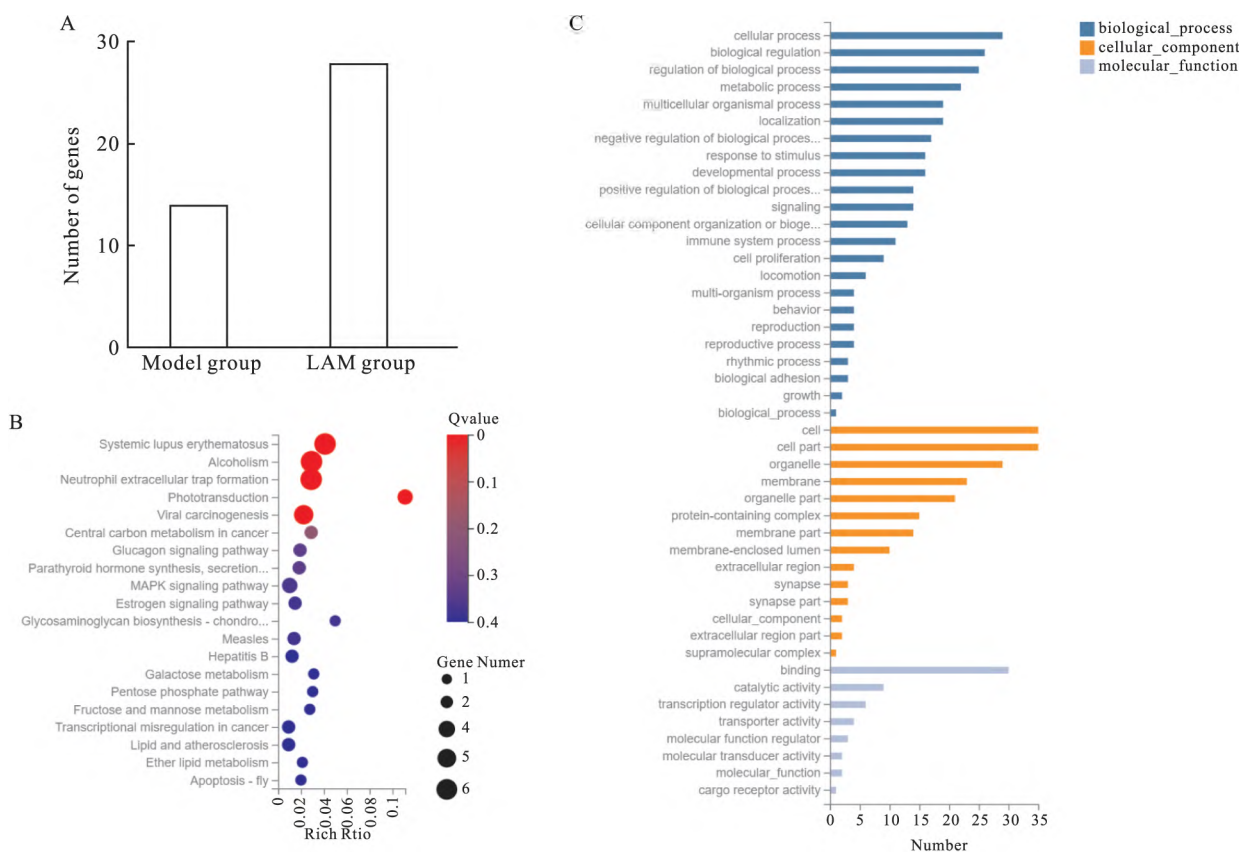


图 3 Model 组与 LAM 组差异基因分析

Fig. 3 Differential gene analysis between Model group and LAM group

A: Bar chart of DEGs in the Model and LAM group; B: Bubble chart of DEG KEGG\_pathway enrichment in the Model and LAM group; C: Bar chart of DEG GO enrichment in the Model and LAM group.

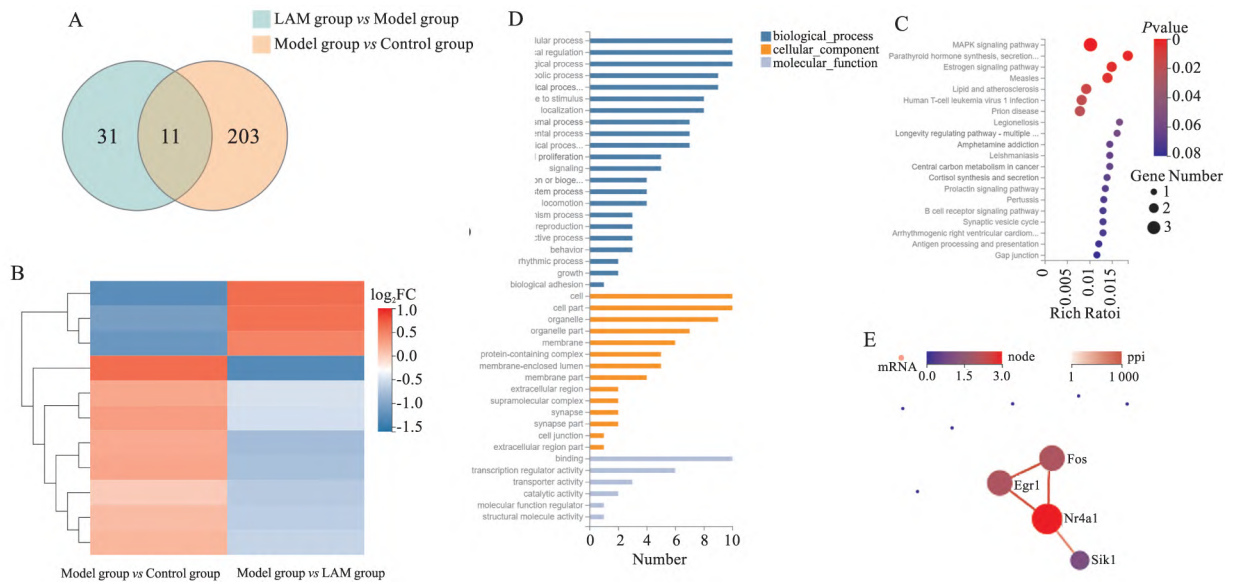


图4 Model组 vs Control及Model组 vs LAM组差异基因分析

Fig. 4 Differential gene analysis between Model group vs Control group and Model group vs LAM group

A: Venn diagram of DEGs in Model group vs Control group and Model group vs LAM group; B: Heatmap of DEGs in Model group vs Control group and Model group vs LAM group; C: Bubble chart of KEGG\_pathway enrichment for DEGs in Model group vs Control group and Model group vs LAM group; D: Bar chart of GO enrichment for DEGs in Model group vs Control group and Model group vs LAM group; E: Visualized protein-protein interaction (PPI) network for co-expressed DEGs.

过程、生物调控;在细胞组分中,细胞条目富集程度较高;在分子功能中结合、转录调节活性、转运蛋白活性条目富集程度最高。使用网络互作分析获得对应的11个共表达DEG的可视化蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interactions,PPI)图。如图4E所示得到4个核心基因,分别是早期生长反应因子1(early growth response factor 1,Egr1),FBJ骨肉瘤致癌基因(FBJ osteosarcoma oncogene,Fos),核受体亚家族4A成员1(nuclear receptor subfamily 4A member 1,Nr4a1),盐诱导激酶1(salt-inducible kinase 1,Sik1)。

### 3 讨论

本研究致力于探索LAM对链脲佐菌素(STZ)诱导的C57BL/6小鼠DR的潜在治疗作用。首先,通过STZ成功建立了糖尿病小鼠模型<sup>[4]</sup>,其血糖水平持续高于16.7 mmol/L,伴随体质量进行性下降及视网膜结构的显著病理改变,包括视网膜网状结构疏松、空泡增多、颗粒层排列紊乱及肿胀变性,这些特征与以往DR的研究相符<sup>[5]</sup>。

在DR中,微血管系统的损伤导致血-视网膜屏障(blood-retinabARRIER,BRB)功能下降,进而触发

异常血管生成<sup>[6]</sup>。本研究通过高通量测序技术,比较了Control组与Model组小鼠视网膜的基因表达谱,鉴定出214个差异表达基因,其中包括胶原蛋白家族成员(如Col4a3、Col4a4)和整合素β8(Itgb8)等,这些基因对生物过程、细胞组分和分子功能有重要影响。尤为关键的是,PI3K-Akt信号通路在Model组中显著上调,与先前研究<sup>[7]</sup>一致,即低氧和高糖环境激活PI3K/Akt通路,促进内皮细胞增殖和抗凋亡,加速血管生成。本研究进一步确认了PI3K-Akt信号通路在DR发生发展中的关键作用。

LAM作为一种天然多糖,因其多种生物活性而受到关注,包括抗氧化、抗炎、辅助降血糖等<sup>[8]</sup>。本研究发现,LAM治疗不仅能在一定程度上降低糖尿病小鼠的血糖水平,还能有效减轻视网膜结构的破坏。进一步的高通量测序分析显示,LAM组与Model组相比,有42个基因差异表达,这些基因主要涉及细胞过程和生物调节。值得注意的是,LAM治疗后,中性粒细胞胞外陷阱(neutrophil extracellular traps,NETs)形成相关通路的关键基因表达下调。NETs由中性粒细胞在中性粒细胞网捕死亡(NETosis)过程中释放,用以防御病原体,但在糖尿病患者中,NETs水平升高,尤其是在DR晚期,高血糖促使

NETs 穿越 BRB 沉积于视网膜, 加剧病变<sup>[9]</sup>。因此, LAM 可能通过抑制 NETs 形成来减轻 DR。

利用 DR. TOM 系统分析发现, 11 个共表达差异基因在 STZ 处理后受调节, 而 LAM 能显著回调这些基因的表达, 提示 LAM 具有潜在的 DR 治疗价值。这些基因涉及细胞过程、生物调控、转录调节及转运蛋白活性等多个方面, 进一步确认了它们在 DR 发病机制中的作用。通过 PPI 网络分析, 识别出 Egr1、Fos、Nr4a1 和 Sik1 等核心基因, 它们可能与 LAM 的治疗作用密切相关。

Nr4a1 在 DR 中具有抗炎作用, LAM 可能通过回调 Nr4a1 表达保护微血管<sup>[10]</sup>。有研究<sup>[11]</sup>表明, Nr4a1 促进谷氨酰胺-果糖-6-磷酸酰胺转移酶 (glutamine-fructose-6-phosphoamidotransferase, GFAT2) 表达, 增加视网膜蛋白 O-连接的 N-乙酰葡萄糖胺 (o-linked n-acetylglucosamine, O-GlcNAc) 糖基化, 参与 DR 进程。Egr1 在 DR 中过度表达, 下调可减轻高血糖对视网膜血管的损害<sup>[12]</sup>, 本研究结果与之相符, LAM 下调 Egr1 表达, 可能通过抑制抑癌基因 (the tumor suppressor gene p53) 转录发挥保护作用。Fos 参与调控黏着斑通路, 减轻血管内皮损伤<sup>[13]</sup>, LAM 回调 Fos 表达可能与抑制血管生成和炎症反应相关。Sik1 作为腺苷酸活化激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK) 家族成员, 参与糖尿病和脂质代谢, LAM 通过回调 Sik1 表达可能改善这些代谢过程, 且 Sik1 的过表达已知具有神经保护作用<sup>[14]</sup>。

综上所述, 本研究揭示了 LAM 在降低糖尿病小鼠血糖水平和缓解视网膜病变方面的有效性, 转录组测序结果揭示了相关差异基因及其调控机制。这些发现不仅为 DR 的治疗提供了新的策略和方法, 也为进一步探究 LAM 的作用机制及其与糖尿病相关基因的相互作用提供了理论基础。未来的研究可以聚焦于这些差异基因的功能和调控机制, 以及 STZ、LAM 与这些基因之间的相互作用关系, 以期为其在临床上的应用提供理论依据和实验支持。

### 参考文献

- [1] Mjwara M, Khan M, Kruse C H, et al. Significance of HbA1c levels in diabetic retinopathy extremes in South Africa [J]. *S Afr Med J*, 2021, 111(9): 886-90.
- [2] Zhong Q, Wei B, Wang S, et al. The antioxidant activity of polysaccharides derived from marine organisms: an overview [J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(12): 674. doi: 10.3390/md17120674.
- [3] Dhahri M, Alghrably M, Mohammed H A, et al. Natural polysaccharides as preventive and therapeutic horizon for neurodegenerative diseases [J]. *Pharmaceutics*, 2021, 14(1): 1. doi: 10.3390/pharmaceutics14010001.
- [4] Furman B L. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats [J]. *Curr Protoc*, 2021, 1(4): e78. doi: 10.1002/cpz1.78.
- [5] 段梅, 曹凡, 桂衍超, 等. 塞来昔布下调 JAML 抑制糖尿病视网膜病变大鼠 VEGF 的表达及其机制 [J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(8): 1293-9. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.08.008.
- [5] Duan M, Cao F, Gui Y C, et al. Mechanism of celecoxib inhibiting the expression of retinal VEGF in diabetic retinopathy rats via JAML [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2023, 58(8): 1293-9. doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.08.008.
- [6] Kang Q, Yang C. Oxidative stress and diabetic retinopathy: molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications [J]. *Redox Biol*, 2020, 37: 101799. doi: 10.1016/j.redox.2020.101799.
- [7] Lu J M, Zhang Z Z, Ma X, et al. Repression of microRNA-21 inhibits retinal vascular endothelial cell growth and angiogenesis via PTEN dependent-PI3K/Akt/VEGF signaling pathway in diabetic retinopathy [J]. *Exp Eye Res*, 2020, 190: 107886. doi: 10.1016/j.exer.2019.107886.
- [8] Zargarzadeh M, Amaral A J R, Custódio C A, et al. Biomedical applications of laminarin [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 232: 115774. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115774.
- [9] Poznyak A, Grechko A V, Poggio P, et al. The diabetes mellitus-atherosclerosis connection: the role of lipid and glucose metabolism and chronic inflammation [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(5): 1835. doi: 10.3390/ijms21051835.
- [10] Tecilizach F, Phan T A, Simeoni F, et al. Patrolling monocytes are recruited and activated by diabetes to protect retinal microvessels [J]. *Diabetes*, 2020, 69(12): 2709-19. doi: 10.2337/db19-1043.
- [11] Dong W, Imdad L, Xu S, et al. O-GlcNAc modification is a promising therapeutic target for diabetic retinopathy [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(11): 6286. doi: 10.3390/ijms25116286.
- [12] Ao H, Liu B, Li H, et al. Egr1 mediates retinal vascular dysfunction in diabetes mellitus via promoting p53 transcription [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(5): 3345-56. doi: 10.1111/jcmm.14225.
- [13] Ge D, Luo T, Sun Y, et al. Natural diterpenoid EKO activates deubiquitinase ATXN3 to preserve vascular endothelial integrity and alleviate diabetic retinopathy through c-fos/focal adhesion axis [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 260(Pt 2): 129341. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.129341.
- [14] Zhou X, Xu B, Gu Y, et al. Long noncoding RNA SNHG1 protects brain microvascular endothelial cells against oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced injury by sponging miR-298 and upregulating SIK1 expression [J]. *Biotechnol Lett*, 2021, 43(6): 1163-74. doi: 10.1007/s10529-021-03096-z.

## Effects of laminarin on non-proliferative diabetic retinopathy in C57BL/6 mice based on transcriptomics analysis

Zhang Lei<sup>1,2</sup>, Zhang Sumei<sup>3</sup>, Yang Zhen<sup>3</sup>, Hu Weikang<sup>3</sup>, Bai Hongmei<sup>3</sup>,

Zhou Wenjing<sup>3</sup>, Wang Zihan<sup>3</sup>, Li Mingcong<sup>4</sup>, Zhang Shengquan<sup>3</sup>, Liao Rongfeng<sup>1</sup>

[<sup>1</sup>Dept of Ophthalmology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

<sup>2</sup>Dept of Ophthalmology, Fuyang People's Hospital of Anhui Medical University, Fuyang 236012;

<sup>3</sup>Dept of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032; <sup>4</sup>Dept of Pathology, Anhui Medical University Affiliated Hefei Hospital (The Second People's Hospital of Hefei), Hefei 230022]

**Abstract Objective** To investigate the effect of laminarin (LAM) on nonproliferative diabetes retinopathy by high throughput sequencing (RNA-seq). **Methods** The diabetes model was established by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ), and the effect of LAM on diabetic mice was observed. C57BL/6 mice were randomly divided into three groups: Control group, Model group, and LAM group, with 8 mice in each group. After 8 weeks of modeling, the LAM group received a 4-week intraperitoneal injection of LAM treatment. Changes in blood glucose and body weight of the three groups of mice were recorded, HE staining was performed to examine retinal lesions, and RNA-seq was used to identify differentially expressed genes (DEGs) in diabetic retinopathy (DR) under the action of STZ and LAM. **Results** STZ successfully established the model of DR, and LAM reduced the blood sugar in diabetic mice to a certain extent and improved the pathological morphology of retinal structural looseness in diabetic mice. After RNA-seq analysis of DEGs, it was found that there were a total of 214 DEGs in the retina of the Model group mice compared to the Control group. Enrichment analysis revealed that DR could exacerbate the lesions through the PI3K-Akt signaling pathway. There were a total of 42 DEGs in the retina of the Model group and LAM group mice, and enrichment showed that LAM improved the lesions through the neutrophil extracellular trap pathway. Early growth response factor 1 (Egr1), FBJ osteosarcoma oncogene (Fos), nuclear receptor subfamily 4A member 1 (Nr4a1), and salt-induced kinase 1 (Sik1) were regulated by STZ, and LAM significantly regulated their expression, which might be closely related to LAM's treatment of diabetic retinopathy. **Conclusion** DEGs can exacerbate the severity of diabetic retinopathy via the PI3K-Akt signaling pathway. LAM can mitigate diabetic retinopathy via the neutrophil extracellular trap pathway. Egr1, Fos, Nr4a1, and Sik1 are key genes involved in LAM treatment of STZ-induced DR.

**Key words** high throughput sequencing; laminarin; diabetes retinopathy; C57BL/6

**Fund programs** Natural Science Research Project of Anhui Educational Committee (No. 2022AH050651); Scientific Research Project of Anhui Medical University (No. 2022xkj107); Natural Science Key Project of Bengbu Medical University (No. 2022byzd196)

**Corresponding authors** Liao Rongfeng, E-mail: liaorfyf@126.com; Zhang Shengquan, E-mail: zhangshengquan@ahmu.edu.cn