

TGF- β /Smads 信号传导通路在后发性白内障中的研究进展

乔羽,余玲,张熙伯

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 30901658)
作者单位:(646000)中国四川省泸州市,泸州医学院附属医院眼科
作者简介:乔羽,女,在读硕士研究生,研究方向:青光眼。
通讯作者:余玲,副教授,医学博士,研究方向:青光眼. yu-lz@tom. com
收稿日期:2011-05-01 修回日期:2011-05-16

Research progress of TGF- β /Smads signaling pathway on posterior capsule opacification

Yu Qiao, Ling Yu, Xi-Bo Zhang

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 30901658)
Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Correspondence to: Ling Yu. Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. yu-lz@tom. com
Received: 2011-05-01 Accepted: 2011-05-16

Abstract

• The posterior capsule opacification (PCO) is one of the most mainly common complications after modern cataract surgery. Smad proteins family are important factors of intracellular TGF (transforming growth factor)- β signaling transduction. TGF- β /Smads signalling pathway is very important for PCO, especially all kinds of Smads are being close relationship with PCO in induction of TGF- β_2 . This article reviewed the relationship between TGF- β /Smads and PCO.

• **KEYWORDS:** transforming growth factor- β ; Smad proteins; posterior capsule opacification

Qiao Y, Yu L, Zhang XB. Research progress of TGF- β /Smads signaling pathway on posterior capsule opacification. *Guoji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011;11(7):1166-1168

摘要

后发性白内障 (posterior capsular opacification, PCO) 是现代白内障术后最常见的主要并发症之一。Smad 蛋白家族是转化生长因子- β (TGF- β) 细胞内信号传导的重要因子。TGF- β /Smads 信号传导通路在 PCO 中起着至关重要的作用,特别是各类 Smads 在 TGF- β_2 的诱导中与 PCO 存在密切关系。本文就 TGF- β /Smads 与 PCO 的关系作一综述。

关键词: 转化生长因子- β ; Smads 蛋白质类; 后发性白内障

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2011. 07. 012

乔羽,余玲,张熙伯. TGF- β /Smads 信号传导通路在后发性白内障中的研究进展. 国际眼科杂志 2011;11(7):1166-1168

0 引言

后发性白内障 (posterior capsular opacification, PCO) 又称后囊膜混浊,是现代白内障术后最常见的主要并发症之一,给患者带来了诸多不便,其发病机制尚未完全明了。转化生长因子- β (TGF- β) 是目前公认的、与创伤愈合和纤维化关系最为密切的生长因子,Smad 蛋白家族是 TGF- β 细胞内信号传导的重要因子。TGF- β /Smads 信号传导通路在 PCO 中起着至关重要的作用。本文就 TGF- β /Smads 与 PCO 的关系以及调控 TGF- β /Smads 信号通路对 PCO 产生的作用进行综述。

1 Smads 蛋白家族介导 TGF- β 的信号传导

TGF- β 超家族是具有保守结构的二聚体蛋白,包括近 30 个分泌信号分子,如 TGF- β s、激活素、抑制素、骨形成蛋白 (BMPs)、生长/分化因子 (GDFs) 和抗米勒激素 (AMH)、神经胶质细胞衍生因子 (GDNF) 和 Nodal 等,主要作用是介导组织的正常生长、发育,包括细胞分化、增殖、迁移和死亡。如果根据结构和功能指标可将其分为 3 类: TGF- β 、激活素、BMPs^[1]。其中第一类 TGF- β 有 4 个亚型,即 TGF- β_1 、TGF- β_2 、TGF- β_3 和 TGF- β_4 ,哺乳动物只有前 3 种结构,并且具有结构的相近性、高度的同源性和保守性^[2]。Smads 是细胞内重要的 TGF- β 信号传导和调节分子,可以将细胞因子信号直接由细胞膜传导入细胞核内^[3]。Smads 蛋白分子根据其功能和特征的不同大概分为 3 类:受体调节型 (R-Smads),包括 Smad1, Smad2, Smad3, Smad5 和 Smad8,其中 Smad1, Smad5 和 Smad8 是 BMP/GDF 的细胞内信号传导分子。而 Smad2 和 Smad3 是 TGF- β /Activin 的细胞内信号传导分子^[4]。共同通路型 (Co-Smads) 主要是 Smad4,其功能是与磷酸化的 R-Smads 形成 Smads 复合物并共同转运至细胞核,在转录因子共同作用下特异性调控靶基因的转录^[5]。抑制型 (I-Smads) 包括 Smad6 和 Smad7,可与激活的 I 型受体结合,从而竞争性抑制 R-Smads 的磷酸化,阻断信号通路^[6]。

1.1 信号传导的分子调控 TGF- β /Smads 信号传导通路的相关调节因子有 SARA, STRAP, Dab2 及 Smad6 和 7 等。SARA 呈递 R-Smad 与 T β RI 结合而发挥正性调控作用^[7],而 STRAP 则呈递 Smad7 与 T β R I 结合发挥负性调控作用。STRAP 招募细胞质内的 Smad7,并引导其与活化的 T β R I 结合形成复合物,从而帮助 Smad7 阻止 R-Smads 与 T β R I 的结合,下调 TGF- β 的生物学作用。Dab2 是能与磷酸化的酪氨酸作用的正调节分子,羧基端富含脯氨酸,氨基端含有磷酸化酪氨酸结合区 (PTD),PTD 可与 Smad2 的 SH2 区域结合后调节 Smad2 的磷酸化,促进 Smad2 与 Smad4

的结合^[8]。

1.2 核内靶基因转录的分子调控 在细胞核中, Smads 在 DNA 结合蛋白协助下接近靶基因, 同时招募其它转录因子参与靶基因转录调节。进入核内的 Smad 蛋白异聚体与两类调节因子结合, 即转录激活因子和转录抑制因子^[9]。如 Smad2 与核 DNA 连接蛋白 FAST 家族成员连接后, 才能与 Smad4 协同激活靶基因的转录。Smad3 和 Smad4 可通过 MH1 区的发夹样结构与 DNA 上的 SBE 直接结合, 由于这种结合很疏松, 需要在核内其它 DNA 结合辅助因子的帮助下才能发挥诱导和调节靶基因转录的作用。目前发现, 主要的辅助激活因子有 CBP, p300 和 Irf-1 等, 主要的辅助抑制因子有病毒癌蛋白 E1A, 原癌基因 c-Ski, SnoN, Sipl 和 TGIF 蛋白等^[10]。有研究证明, TGF- β 信号对基因转录的调节是通过 Smads 与特定细胞内存在的多种转录因子共同作用的结果。在 TGF- β 刺激下, 转录抑制因子 TGIF 与转录激活因子 p300 竞争结合 Smad2/Smad3, 并募集 HDAC 到转录调节复合物上, 从而抑制 TGF- β 诱导表达基因的转录^[11]。另外, 细胞核内转录共抑制因子 Ski 和 SnoN 的水平对开启和终止 Smads 靶基因的转录起到重要的调节作用^[12]。

2 TGF- β /Smads 与 PCO

白内障是一个很普遍的晶状体疾病, 全世界致盲原因中居首位, 世界人口发病率随着年龄的增加而增长, 唯一有效的治疗方式是手术。现代白内障手术后最常见的一个并发症就是 PCO, 余下的晶状体囊袋混浊所引起的第 2 次视力丧失。PCO 的发病已经通过手术技术的改进有所下降, 但仍然是一个重大问题^[13]。PCO 一旦发生, 通常采用 Nd:YAG 激光治疗, 但每一次的费用相当昂贵, 而且有视网膜脱离、黄斑水肿、虹膜出血等并发症的发生^[14]。已有研究表明, TGF- β /Smads 信号传导系统在 PCO 和晶状体创伤修复中起着至关重要的作用, 正确地调节 TGF- β /Smads 信号通路可能为今后 PCO 的防治提供新的研究思路。

PCO 的发生来自白内障术后晶状体上皮细胞 (lens epithelial cells, LEC) 的增殖、迁移和上皮间质转分化 (EMT)^[15]。在白内障术后, LEC 的病理改变是囊袋内有纤维化膜、Soemmering 环或 Elschnig 小体等不同组织形态出现。纤维化膜为数层上皮样细胞以及细胞外基质物质相互交替的分层结构, Elschnig 小体为单个 LEC 发生的肿胀增大和增生, Soemmering 环则是被前后囊膜包起残存或是新生的透明皮质^[16]。研究表明, TGF- β 在 PCO 发展中起着至关重要的角色。在 TGF- β 的作用下, 残留的前囊膜下和赤道部的 LEC 迁移增殖, 发生 EMT, 表达大量的细胞外基质蛋白、中间丝和整合素, 致使后囊膜混浊和皱缩, 是 PCO 形成的重要机制^[17]。

有研究发现, TGF- β 的三种同源异构体均可诱导 LEC 发生转分化, 但 TGF- β_2 和 TGF- β_3 的作用强于 TGF- β_1 的 10 倍以上^[18]。特别是 TGF- β_2 即使在 10ng/mL 的微小浓度时也可诱导动物 LEC 发生转分化^[19]。TGF- β 配体与细胞膜受体结合, 激活细胞内 Smads 蛋白, 协同多种转录因子最终导致目的基因的表达。Smads 蛋白是 TGF- β 信号传导通路中必不可少的中介蛋白, 存在于胞质中。Smad4 与上游分子形成核转运复合物后, 将信号由胞质传入核内, 协同转录因子上调或下调靶基因的表达, Smad4 由于其中枢作用被认为是调控 TGF- β 信号通路的关键分子, 因此 Smad 蛋白家族作为 TGF- β 受体信号传递的关键效应分

子, 在胞膜信号与基因转录间开通了一条最为简捷的途径。有研究结果显示, 随着 TGF- β_1 表达的增加, Smad4 在转录和翻译水平均有升高, 其高表达具有一定的时间消减性, 说明 TGF- β_1 的 Smad4 依赖途径参与 LEC 的增殖抑制过程^[20]。残留 LEC 的迁移、异常分化和细胞外基质的沉积作用导致了后囊膜的褶皱和斑块而形成 PCO。通过调节 TGF- β /Smads 通路来阻止 EMT 和细胞外基质的表达可能是今后防止 PCO 的新方向。TGF- β 引起的 LEC 外基质沉积是通过激活 Smad 信号通路实现的。Saika 等通过免疫组化研究证明, 在损伤引起的晶状体混浊、细胞外基质沉积和 PCO 中, TGF- β 受体激活 Smad 蛋白, 细胞核出现 Smad2, Smad3/Smad4 结合物, 表明 TGF- β /Smad 信号途径的激活, 而使用 TGF- β 抗体可以阻断这一过程。Smad3/Smad4 的核转位, 在 Smad3 基因沉默大鼠和 Smad7 抑制感染的人晶状体细胞中, 由于 Smad 信号途径的抑制, 损伤引起的细胞外基质沉积也被抑制^[21]。

Wormstone 等^[22]对白内障摘除人工晶状体植入术后发生 PCO 的患者进行了晶状体后囊膜检测, 发现其内源性 TGF- β_2 活性增高, α -SMA 和纤维连接蛋白表达增强, 囊膜皱缩。进一步研究证实, 内源性 TGF- β_2 通过 Smad 信号通路参与了小鼠晶状体损伤后 LEC 愈合过程。对正常囊膜细胞的培养发现, 外源性 TGF- β_2 可以刺激晶状体囊袋细胞的转化和收缩, 予以 10ng/mL 人 TGF- β_2 单克隆抗体 CAT-152 共孵育后, TGF- β_2 的作用受到阻断, 上皮-间质转化和细胞收缩也受到抑制。在小鼠晶状体外伤模型中, TGF- β_2 可以激活 LEC 内的 Smad3 和 Smad4, 而 TGF- β_2 抗体可以阻断 Smad3 和 Smad4 的活化^[23]。在 Smad3 基因敲除的晶状体前囊膜外伤模型小鼠的体内, 有研究证明了 Smad3 的缺失可以抑制 LEC 的上皮-间质转化, 阻断 α -SMA、蛋白多糖和 I 型胶原的增高, 减少了晶状体的纤维化^[24]。

Dawes 等^[25]研究在人类 LEC 中 RNA 小片段干扰核糖核酸 (siRNA) 阻断 Smad4 基因和蛋白表达, 结果显示, 与对照组相比, siSmad4 组细胞无论有无 10ng/mL TGF- β_2 干预, Smad4 细胞核表达明显减少; 而 siSmad4 细胞采用 TGF- β_2 诱导的 Smad2/3 核易位, 与 Smad4 表达细胞组相比较, 两者没有明显的不同。实时 PCR 分析 α SMA 和纤维连接蛋白基因表达, Smad4 表达细胞组表现明显, 而在 siSmad4 组中 α SMA 和纤维连接蛋白基因表达被抑制。在该研究中 TGF- β 诱导 mSmad7 表达不受 Smad4 基因沉默的影响, Smad4 表达细胞在有 10ng/mL TGF- β_2 刺激条件下, 培养 24h 细胞没有表现明显的收缩反应。然而, 囊膜下的斑块区域 Smad4 敲除细胞在 TGF- β_2 处理之后显示一个明显的减少。

3 抑制 TGF- β /Smads 信号传导通路防治 PCO 的展望

目前预防 PCO 的方法主要有超声波、激光、冷冻、 β -射线、抗代谢药物、手术等, 但均存在一些创伤和副作用。临床上, 有 3 种方法通过药物减少细胞的增殖, 包括药物直接注入到前房, 调整灌注液成分, 调整人工晶状体成分。但这些药物释放对其它组织有毒性作用, 尤其是对角膜内皮的伤害。释放药物的最佳途径是通过人工晶状体, 这样能便于控制药物的释放, 同时局部达到较高浓度, 有利于原位抑制有潜在增殖能力的细胞^[26]。手术方面, 术中行晶状体囊膜抛光可以有效减少 LEC 的数量, 但是通过这种方法不可能完全去除所有细胞, 并且少量残留细胞可以引起后囊再生。与手术相关的技术改进主要针对

眼内晶状体的创新,制备人工晶状体的材料有多种,各种人工晶状体在防治PCO发生的作用主要是由晶状体的物理特性决定的。现在认为,直角型晶状体能够形成一个屏障阻止细胞向后囊生长,但是仍不能完全杜绝PCO的发生^[27]。

既然TGF- β /Smads对PCO的发生发展起着根本性作用,那么唯有研究出拮抗TGF- β /Smads通路的高效低毒的药物才能从根本上预防PCO的发生,或者利用基因工程技术将外源性基因导入LEC作用于该通路并使其稳定表达的方法来防治PCO。

综上所述,Smad蛋白在TGF- β 超家族的细胞信号传导途径中具有重要作用,特别是Smads在TGF- β_2 的诱导中与PCO存在密切关系。虽然TGF- β 的细胞信号传导途径还有许多方面需要进一步的研究,但调节TGF- β /Smads通路为从根本上防治PCO提供了新的方法,有重要的临床指导意义。

参考文献

- 1 郭永红,罗金燕. TGF- β 超家族与Smad信号转导研究进展. 医学综述 2005;11(8):685-688
- 2 贾英民. Smads蛋白介导的TGF- β 超家族信号转导的研究进展. 疑难病杂志 2008;7(3):185-188
- 3 曹雪梅,李武修,高玉光,等. TGF- β /Smad信号转导通路及其调控机制的研究进展. 国际免疫学杂志 2008;31(6):482-485
- 4 Feng XH, Derynck R. A kinase subdomain of transforming growth factor-beta (TGF-beta) type I receptor determines the TGF-beta intracellular signaling specificity. *EMBO J* 1997;16(13):3912-3923
- 5 Masuyama N, Hanafusa H, Kusakabe M, et al. Identification of two Smad4 proteins in Xenopus. Their common and distinct properties. *J Biol Chem* 1999;274(17):12163-12170
- 6 Ishisaki A, Yamato K, Hashimoto S, et al. Differential inhibition of Smad6 and Smad7 on bone morphogenetic protein-and activin-mediated growth arrest and apoptosis in B cells. *J Biol Chem* 1999;274(19):13637-13642
- 7 陈俊,钱云良. TGF- β /Smads通路与增生性瘢痕肌成纤维细胞分化. 中国美容医学 2007;16(7):1000-1003
- 8 Hocevar BA, Smine A, Xu XX, et al. The adaptor molecule disabled-2 links the transforming growth factor beta receptors to the Smad pathway. *EMBO J* 2001;20(11):2789-2801
- 9 朱翠,丁丽华,曾宪根,等. TGF- β /Smads信号转导通路的研究进展. 生物技术通讯 2008;19(4):604-607
- 10 张勇,秦娜,于斌. TGF- β /Smads信号转导通路的研究进展. 广西医科大学学报 2009;26(1):155-157
- 11 Pessah M, Prunier C, Marais J, et al. c-Jun interacts with the corepressor TG-interacting factor(TGIF) to suppress Smad2 transcriptional activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98(11):6198-6203
- 12 Nagano Y, Mavrakis KJ, Lee KL, et al. Arkadia induces degradation of SnoN and c-Ski to enhance transforming growth factor-beta signaling. *J Biol Chem* 2007;282(28):20492-20501
- 13 Nishi O, Nishi K, Akura J, et al. Effect of round-edged acrylic intraocular lenses on preventing posterior capsule opacification. *J Cataract Refract Surg* 2001;27(4):608-613
- 14 Aslam TM, Devlin H, Dhillon B. Use of Nd:YAG laser capsulotomy. *Surv Ophthalmol* 2003;48(6):594-612
- 15 Awastbi N, Wang-Su ST, Wagner BJ. Downregulation of MMP-2 and -9 by proteasome inhibition: a possible mechanism to decrease LEC migration and prevent posterior capsular opacification. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(5):1998-2003
- 16 Awastbi N, Wagner BJ. Suppression of human lens epithelial cell proliferation by proteasome inhibition, a potential defense against posterior capsular opacification. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(10):4482-4489
- 17 王惕,周行涛,诸仁远. TGF- β /Smads信号传导通路眼部疾病. 国际眼科纵览 2010;34(4):274-278
- 18 Gordon-Thomson C, de Longh RU, Hales AM, et al. Differential cataractogenic potency of TGF-beta1, -beta2, and -beta3 and their expression in the postnatal rat eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39(8):1399-1409
- 19 Marcantonio JM, Syam PP, Liu CS, et al. Epithelial transdifferentiation and cataract in the human lens. *Exp Eye Res* 2003;77(3):339-346
- 20 Weiss C, Schneider S, Wagner EF, et al. JNK phosphorylation relieves HDAC3-dependent suppression of the transcriptional activity of c-Jun. *EMBO J* 2003;22(14):3686-3695
- 21 Saika S, Miyamoto T, Tanaka S, et al. Response of lens epithelial cells to injury: role of lumican in epithelial-mesenchymal transition. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(5):2094-2102
- 22 Wormstone IM, Tamiya S, Anderson I, et al. TGF-beta2-induced matrix modification and cell transdifferentiation in the human lens capsular bag. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(7):2301-2308
- 23 Saika S, Okada Y, Miyamoto T, et al. Smad translocation and growth suppression in lens epithelial cells by endogenous TGF-beta2 during wound repair. *Exp Eye Res* 2001;72(6):679-686
- 24 Saika S, Kono-Saika S, Ohnishi Y, et al. Smad3 signaling is required for epithelial-mesenchymal transition of lens epithelium after injury. *Am J Dathol* 2004;164(2):651-663
- 25 Dawes LJ, Sleeman MA, Anderson IK, et al. TGFbeta/Smad4-dependent and -independent regulation of human lens epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(11):5318-5327
- 26 刘红玲,张晓梅,关凤. 晶状体后囊膜混浊的研究方法及细胞生物学研究进展. 国际眼科杂志 2007;7(2):457-459
- 27 石海红,管怀进. 人工晶状体的设计对后囊膜混浊的影响. 国际眼科杂志 2004;4(5):882-886