

长链非编码 RNA MALAT1 对人晶状体上皮细胞凋亡和氧化应激的作用

董晓鸣^{1,2,3,4}, 刘雨轩^{1,2,3}, 王艺菲⁵, 李 栋⁶, 张劲松^{1,2,3,7}, 王 静^{1,2,3,7}

引用:董晓鸣,刘雨轩,王艺菲,等. 长链非编码 RNA MALAT1 对人晶状体上皮细胞凋亡和氧化应激的作用. 国际眼科杂志, 2026,26(9):1517-1523.

基金项目:辽宁省科学技术计划项目 (No.2025-MS-364); 湖南省湘江公益基金 (No.KY24003, KY25032)

作者单位:¹(110000) 中国辽宁省沈阳市, 爱尔集团白内障与人工晶状体研究所; ²(110000) 中国辽宁省沈阳市, 沈阳爱尔眼科精准医疗研究所; ³(110000) 中国辽宁省沈阳市, 辽宁爱尔眼科医院有限公司; ⁴(115000) 中国辽宁省营口市, 营口职业技术学院; ⁵(110000) 中国辽宁省沈阳市, 中国医科大学第二临床学院; ⁶(122000) 中国辽宁省朝阳市, 爱尔眼科朝阳眼科医院; ⁷(110000) 中国辽宁省沈阳市, 沈阳爱尔卓越眼科医院

作者简介:董晓鸣, 硕士, 初级研究员, 研究方向:白内障。

通讯作者:王静, 博士, 主任医师, 研究方向:白内障、青光眼及其它相关眼病. wj047322@163.com

收稿日期:2026-01-08 修回日期:2026-07-14

摘要

目的:明确长链非编码 RNA (lncRNA) 肺腺癌转移相关转录本 1 (MALAT1) 在过氧化氢 (H₂O₂) 诱导的人晶状体上皮细胞系 HLE-B3 氧化应激与凋亡中的表达特征及调控作用。

方法:将 HLE-B3 细胞分为 Control 组与 H₂O₂ 组 (200 μmol/L H₂O₂ 培养 24 h), 通过流式细胞术检测活性氧簇 (ROS) 水平及细胞凋亡率, 试剂盒测定超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性, 实时荧光定量 PCR 检测 MALAT1 表达, 荧光原位杂交明确其细胞定位。筛选沉默效率最佳的 Si-MALAT1 序列后, 设置 Control 组、H₂O₂ 组、H₂O₂+Si-NC 组、H₂O₂+Si-MALAT1 组, 免疫荧光染色检测凋亡标志物 TUNEL 及 Nr2 定位情况。

结果:与 Control 组相比, H₂O₂ 组细胞 ROS 水平显著升高, SOD、CAT 活性显著降低 (均 $P<0.001$), 凋亡率升高 ($P<0.01$); MALAT1 表达上调 ($P<0.01$), 且定位于细胞核。沉默 MALAT1 后, H₂O₂ 诱导的细胞凋亡被显著抑制 ($P<0.01$)。

结论:H₂O₂ 诱导的氧化应激可上调 MALAT1 表达, 沉默 MALAT1 减轻 HLE-B3 细胞氧化应激损伤及凋亡, 为白内障的防治提供潜在靶点。

关键词:晶状体上皮细胞; 长链非编码 RNA; 肺腺癌转移相关转录本 1 (MALAT1); 凋亡; 氧化应激

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2026.9.03

Long non - coding RNA MALAT1 in apoptosis and oxidative stress of human lens epithelial cells

Dong Xiaoming^{1,2,3,4}, Liu Yuxuan^{1,2,3}, Wang Yifei⁵, Li Dong⁶, Zhang Jinsong^{1,2,3,7}, Wang Jing^{1,2,3,7}

Foundation items: Liaoning Province Science and Technology Plan Project (No.2025-MS-364); Hunan Xiangjiang Public Welfare Fund (No.KY24003, KY25032)

¹Aier Group Cataract and Intraocular Lens Research Institute, Shenyang 110000, Liaoning Province, China; ²Shenyang Aier Eye Precision Medical Research Institute, Shenyang 110000, Liaoning Province, China; ³Liaoning Aier Eye Hospital Co., Ltd., Shenyang 110000, Liaoning Province, China; ⁴Yingkou Vocational & Technical College, Yingkou 115000, Liaoning Province, China; ⁵The Second Clinical College of China Medical University, Shenyang 110000, Liaoning Province, China; ⁶Aier Eye Chaoyang Eye Hospital, Chaoyang 122000, Liaoning Province, China; ⁷Shenyang Aier Excellence Eye Hospital, Shenyang 110000, Liaoning Province, China

Correspondence to: Wang Jing. Aier Group Cataract and Intraocular Lens Research Institute, Shenyang 110000, Liaoning Province, China; Shenyang Aier Eye Precision Medical Research Institute, Shenyang 110000, Liaoning Province, China; Liaoning Aier Eye Hospital Co., Ltd., Shenyang 110000, Liaoning Province, China; Shenyang Aier Excellence Eye Hospital, Shenyang 110000, Liaoning Province, China. wj047322@163.com

Received: 2026-01-08 Accepted: 2026-07-14

Abstract

• **AIM:** To clarify the expression characteristics and regulatory role of the long non - coding RNA (lncRNA) metastasis - associated lung adenocarcinoma transcript 1 (MALAT1) in oxidative stress and apoptosis of H₂O₂ - induced human lens epithelial cell line HLE-B3.

• **METHODS:** HLE-B3 cells were divided into Control group and H₂O₂ group (cultured with 200 μmol/L H₂O₂ for 24 h). Levels of reactive oxygen species (ROS) and cell apoptosis rates were detected by flow cytometry. Activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were measured using kits, MALAT1 expression was quantified by real - time quantitative PCR, and its cellular localization was determined by fluorescence *in situ* hybridization. After selecting the Si - MALAT1 sequence with the highest silencing efficiency, the groups were established as Control, H₂O₂, H₂O₂ + Si - NC, and

H₂O₂ + Si - MALAT1. Immunofluorescence staining was employed to detect the apoptosis marker TUNEL and Nrf2 nuclear translocation.

• RESULTS: Compared with the Control group, the H₂O₂ group exhibited significantly elevated ROS levels, markedly decreased SOD and CAT activities (both $P < 0.001$), and a significantly increased apoptosis rate ($P < 0.01$). MALAT1 expression was upregulated ($P < 0.01$) and localized in the nucleus. After silencing MALAT1, H₂O₂-induced cell apoptosis was significantly inhibited ($P < 0.01$).

• CONCLUSION: H₂O₂ - induced oxidative stress can increase the expression of MALAT1, and silencing MALAT1 reduces oxidative stress damage and apoptosis, providing a potential target for preventing and treating cataracts.

• KEYWORDS: lens epithelial cells; long non - coding RNA; metastasis - associated lung adenocarcinoma transcript 1 (MALAT1); apoptosis; oxidative stress

Citation: Dong XM, Liu YX, Wang YF, et al. Long non-coding RNA MALAT1 in apoptosis and oxidative stress of human lens epithelial cells. Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci), 2026, 26(9): 1517-1523.

0 引言

白内障作为一种常见的年龄相关性眼病,是全球致盲的关键因素^[1]。当房水成分、晶状体囊通透性及代谢多种因素出现紊乱,如晶状体蛋白质发生变性,透明晶状体就会变混浊,进而形成白内障^[2]。常见类型有年龄相关性白内障(ARC)、糖尿病性白内障(DC)、后囊混浊(PCO)等,其中ARC最为多见。氧化应激损伤导致晶状体上皮细胞(LECs)发生凋亡是白内障形成的细胞学基础^[3]。肺腺癌转移相关转录本1 (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1)是最早被鉴定出来的lncRNA之一,2020年,Ye等^[4]研究发现,在糖尿病性白内障中lncRNA - MALAT1表达上调,它可通过miR-144-3p靶向调控Nrf2表达,提示MALAT1或为防治糖尿病性白内障的潜在靶点。但关于lncRNA - MALAT1在ARC中的调控机制,相关研究报道甚少。本研究计划利用H₂O₂构建人LECs体外氧化损伤模型,验证lncRNA - MALAT1在ARC细胞模型中的表达情况,明确其在细胞凋亡和氧化应激方面的生物学功能。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞 人LECs细胞系HLE-B3购自广州吉妮欧生物公司。

1.1.2 主要试剂及仪器 总超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒(WST-8法)(S0101S)、过氧化氢酶(CAT)检测试剂盒(S0051)、RIPA裂解液(P0013B)、活性氧检测试剂盒(CA1410)、DAPI染色液(C1006-10 mL)、抗荧光衰减封片剂(P0128M)、Biotin Fluorescence in Situ Hybridization Kit for RNA (Green)(R0307S)购自碧云天公司;DMEM培养基(HY-K3001)、PBS(HY-K3005)、胰蛋白酶-EDTA(0.25%)(HY-K3009)、胎牛血清(HY-T1000)购自美国MCE公司;H₂O₂溶液(10011218)购自中国医药集团有限

公司;异丙醇(I112020)购自阿拉丁公司;多聚甲醛(500 g,AR)购自天津大茂公司;无水乙醇(10009218)购自中国医药集团有限公司;2×RealStar通用染料法qPCR预混液(A308)购自Genstar;Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒(C1062S)、TritonX-100(IT9100)购自北京索莱宝科技有限公司;TUNEL试剂盒(KGA7073)购自凯基;Cy3标记山羊抗兔(A0516)购自碧云天;Nrf2[710574(兔)]购自invitrogen;流式细胞仪(FACSCelesta)购自美国BD公司;PCR仪(Lightcycler 96)购自罗氏公司;化学发光成像仪(GV 6000 Plus)购自广州博鹭腾公司;正置显微镜(Ci-L)购自德国Nikon;显微镜拍照系统(Fi3)购自德国Nikon。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和分组 选取经低温保存的HLE-B3,将其转移至DMEM完全培养基培养环境中(DMEM培养基内含10%胎牛血清、1%青链霉素混合液)。在37℃5%CO₂环境中培养48h以备后续分析。参考课题组已发表文献[5]设立两个研究组别:Control与H₂O₂组,H₂O₂组向培养基中加入200 μmol/L的H₂O₂,处理时长为24 h。Control组加入等体积无菌PBS溶剂同步处理,其余培养条件与H₂O₂组完全一致。

1.2.2 细胞内ROS含量测定 依据试剂盒说明书进行操作。对两组细胞(每组设置三个平行样本)进行PBS溶液清洗处理,重复两次。随后向细胞中加入经无血清培养液稀释的DCFH-DA探针每孔200 μL(终浓度10 μmol/L)。在37℃条件下避光培养20 min后,使用流式细胞仪进行定量分析。

1.2.3 氧化应激指标检测 试剂盒检测细胞SOD、CAT表达水平,实验操作严格按照产品说明书规程进行。

1.2.4 流式细胞术检测细胞凋亡情况 选取生长状态适宜的细胞,按照2×10⁵个/孔的密度,在6孔板内铺板,加入1 mL培养液。细胞培养48 h后进行收集,经PBS溶液清洗两次并离心(1 000 r/min,5 min)获取细胞。向细胞中加入200 μL的Binding buffer制备悬液,然后加入Annexin V-FITC 5 μL,室温10 min(避光)。使用200 μL的Binding buffer清洗细胞并离心收集,加入190 μL的Binding buffer重悬,继续加入10 μL的PI染液,室温避光培养15 min后进行流式检测。实验中设立不加染料的阴性对照及单一染料(Annexin V-FITC或PI)的对照,各组对照用于校准荧光补偿,辅助精准统计早期、晚期凋亡细胞比例,降低死亡率计算误差。最终凋亡比率通过早期与晚期凋亡细胞占比之和进行计算。

1.2.5 实时荧光定量PCR 裂解液提取细胞的总RNA,并进行浓度测定。利用逆转录技术将RNA转化为cDNA。PCR反应参数设定如下:95℃预变性(10 min);随后进行40轮循环扩增,包括95℃变性(15 s)与60℃退火延伸(60 s)。MALAT1正向引物为5'-GCTCTGTGGTGTGGGATTGA-3',反向引物为5'-GTGGCAAAATGGCGGACTTT-3';GAPDH正向引物为5'-TCAAGGCTGAGAACGGGAAG-3',反向引物5'-TGGACTCCACGACGTACTCA-3'。引物设计序列保持不变。以GAPDH作为内参,使用2^{-ΔΔCT}法计算相对表达量。

1.2.6 荧光原位杂交实验检测细胞中lncRNA-MALAT1的定位 经分组培养的细胞采用多聚甲醛固定1 h,随后PBS清洗3次,每次5 min。向样本中加入0.5% TritonX-

100 室温处理 10 min,继续 PBS 清洗。滴加预杂交液 (20 μ L)37 $^{\circ}$ C 封闭培养 30 min。将探针与杂交液按特定比例 (1:39) 配制反应液,充分混匀后置于冰上。向样本加入反应液 (20–40 μ L) 后进行 73 $^{\circ}$ C 变性处理 (5–8 min),随后 37 $^{\circ}$ C 过夜杂交。用不同浓度的 SSC 缓冲液进行梯度清洗,DAPI 染色 (10 min) 并封片,荧光显微镜观察拍摄。

1.2.7 MALAT1 沉默 使用人源 MALAT1 shRNA 序列进行基因沉默实验。具体步骤包括:待细胞密度达到 70%–80%时,配制转染体系 (RNA 与 Lipo8000 的用量参照说明书),分别制备含 RNA 的 A 液与含转染试剂的 B 液。将混合液加入细胞中培养 6 h,随后换浓度为 1%–5% 血清的培养基持续培养。实验共设置 4 组:Control 组无任何处理; H_2O_2 组加入 200 μ mol/L 的 H_2O_2 处理 24 h 造模; H_2O_2 +Si-NC 组预先转染阴性对照 Si-NC 序列; H_2O_2 +Si-MALAT1 组预先转染靶向 MALAT1 干扰片段, H_2O_2 +Si-NC 组与 H_2O_2 +Si-MALAT1 组转染 siRNA 48 h 后,再加入 H_2O_2 处理 24 h 造模。造模完成后收集细胞样本,采用 qRT-PCR 检测 MALAT1 表达,验证 siRNA 干扰效率,选择最优序列作为 H_2O_2 +Si-MALAT1 组进行后续实验。

1.2.8 免疫荧光染色 弃去细胞培养液,PBS 浸洗爬片 3 次,每次 5 min;加入 4% 多聚甲醛室温固定 15 min,固定完成后弃去多聚甲醛固定液,用 PBS 浸泡爬片,每次 5 min,共 3 次。滴加 0.5% TritonX-100 将细胞完全覆盖,室温条件下孵育 30 min。弃去 TritonX-100 后用 PBS 浸泡爬片,每次 5 min,共 3 次。TdT 酶反应液现用现配,每样本用量:将 1.0 μ L Biotin-11-dUTP 和 4.0 μ L TdT Enzyme 加入到 45 μ L Equilibration Buffer 中;每个爬片滴加 100 μ L TdT 酶反应液,37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min。然后用 PBS 浸泡爬片每次 5 min 共 3 次。Streptavidin-FITC 试剂按每张切片 5 μ L 用量与 45 μ L Labeling Buffer 混匀,计算所需的总量后,即

用即配。每个爬片上滴加 100 μ L Streptavidin-FITC 标记液,37 $^{\circ}$ C 避光条件下孵育 30 min。反应后的爬片用 PBS 浸泡,每次 5 min,共 3 次。滴加与二抗同一种属山羊血清室温条件下孵育 15 min 后弃去血清。一抗 (1:300) 滴加至完全覆盖爬片,4 $^{\circ}$ C 过夜。弃去一抗,用 PBS 浸泡爬片,每次 5 min,共 3 次。滴加荧光二抗 (1:400) 至将爬片完全覆盖,室温条件下孵育 60 min。弃去二抗,用 PBS 浸泡爬片,每次 5 min,共 3 次。滴加 DAPI (1:500) 至将爬片完全覆盖,室温条件下孵育 5 min。弃去 DAPI,PBS 清洗每次 5 min,共 3 次,抗荧光衰减封片剂封片,全程避光操作。

统计学分析:采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行,Shapiro-Wilk 检验证实数据呈正态分布,以 $\bar{x}\pm s$ 形式表示。两组间比较采用独立样本 t 检验;多组间比较采用单因素方差分析,事后两两比较采用 Tukey 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组细胞氧化应激相关指标水平比较 H_2O_2 组 ROS 表达水平高于 Control 组,CAT、SOD 表达均低于 Control 组,差异有统计学意义 (均 $P<0.001$),见表 1,图 1。

2.2 两组细胞凋亡情况比较 流式细胞术结果显示,相较于 Control 组 (6.70% $\pm$ 0.15%), H_2O_2 组细胞凋亡率 (12.33% $\pm$ 0.38%) 更高,差异有统计学意义 ($t=24.08$, $P<0.01$),见图 2。

表 1 两组氧化应激指标比较				$\bar{x}\pm s$
分组	ROS	CAT	SOD	
Control 组	18.20 $\pm$ 1.02	23.02 $\pm$ 0.49	11.94 $\pm$ 0.09	
H_2O_2 组	51.10 $\pm$ 0.84	8.92 $\pm$ 2.14	0.67 $\pm$ 0.31	
t	43.12	11.13	59.96	
P	<0.001	<0.001	<0.001	

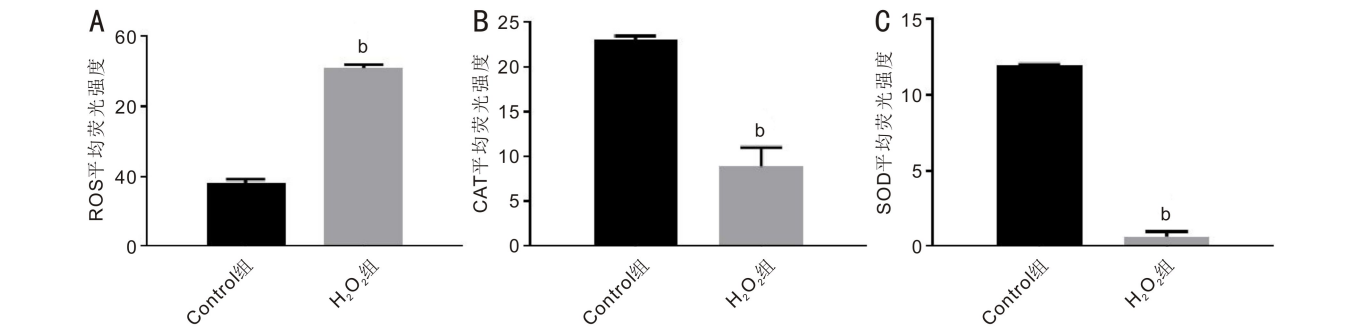


图 1 两组细胞氧化应激指标比较 A:两组细胞 ROS 平均荧光强度比较;B:两组细胞 CAT 平均荧光强度比较;C:两组细胞 SOD 平均荧光强度比较;^b $P<0.01$ vs Control 组。

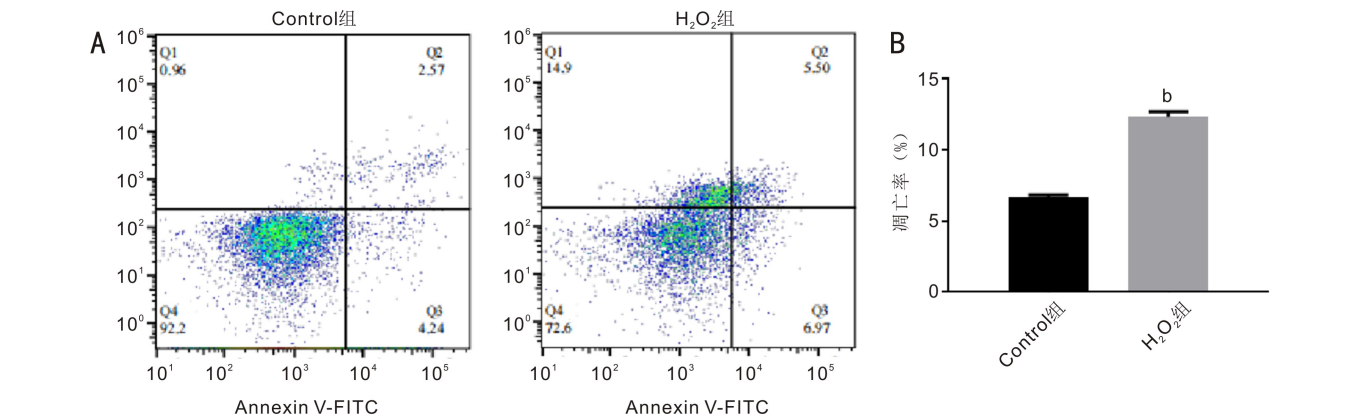


图 2 两组细胞凋亡水平比较 A:细胞凋亡流式细胞图;B:两组细胞凋亡率比较;^b $P<0.01$ vs Control 组。

2.3 RT-qPCR 比较两组细胞中 lncRNA 表达 通过查阅文献筛选出 7 个与 ARC 相关的 lncRNA: FEZF1AS1、KCNQ10T1、MALAT1、TUG1、OIP5-AS1、PLCD3-OT1、XIST,进行 qPCR 验证,结果显示,与 Control 组相比,H₂O₂ 组 lncRNA-MALAT1 的相对表达量明显升高,差异有统计学意义($P=0.001$),见表 2。因此后续选择 MALAT1 做相应研究。

2.4 荧光原位杂交实验检测 lncRNA-MALAT1 细胞定位 H₂O₂组荧光原位杂交实验结果显示,lncRNA-MALAT1 定位于细胞核中,见图 3。

2.5 MALAT1 沉默效率验证 将 3 条不同序列的 Si-MALAT1 分别转染细胞,48 h 后 RT-qPCR 检测 MALAT1 表达,发现 3 条 Si-MALAT1 均能明显敲低 MALAT1 的表达,与 Si-NC 组对比差异均有统计学意义(Si-MALAT1-1: $t=3.839,P<0.05$; Si-MALAT1-2: $t=3.967,P<0.05$; Si-MALAT1-3: $t=23.80,P<0.01$),见图 4。其中 Si-MALAT1-3 (编号 SIGS0019997,靶序列: GATCCATAATCGGTTTCAA)的敲低效率最高,后续实验均采用 Si-MALAT1-3 进行干扰实验。

2.6 沉默 MALAT1 对 HLE-B3 细胞凋亡及 Nrf2 表达水平的影响 为了验证 MALAT1 对 H₂O₂诱导的 HLE-B3 细胞凋亡率的影响,进行了 TUNEL 免疫荧光染色。结果显示,H₂O₂组细胞凋亡率明显高于 Control 组($P<0.01$),与

H₂O₂+Si-NC 组比,Si-MALAT1 转染显著降低了细胞的凋亡率($P<0.01$),证实 MALAT1 沉默抑制 H₂O₂诱导的细胞凋亡,见表 3,图 5。

免疫荧光染色分析显示,与 Control 组相比,H₂O₂组细胞中 Nrf2 的表达更高($P<0.01$),说明 H₂O₂处理后细胞发生氧化损伤,与 H₂O₂+Si-NC 组比,Si-MALAT1 转染细胞的 Nrf2 表达降低,但差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3,图 5。

3 讨论

白内障为受多种因素影响的眼科疾病,其显著特征为原本透明的晶状体变得混浊或丧失透明度^[6]。手术干预和晶状体置换是白内障患者仅有的临床治疗方法。因此,白内障的研究应侧重于探索新的治疗靶点。近年来,随着分子生物学技术的发展,已经发现 lncRNAs 在眼部疾病中起着重要的调节作用,这与 LECs 的增殖、迁移、分化、凋亡和晶体蛋白修饰密切相关^[7-8]。有研究指出,在 ARC 发展过程中,lncRNA MIAT 能够通过 miR-181a/CTGF 激活细胞外信号调节激酶信号通路,进而增加细胞活力,促进细胞迁移、上皮-间充质转化(EMT),并增加细胞外基质的生成^[9]。lncRNA MEG3 在年龄相关的皮质性白内障(ARCC)晶状体囊中呈现表达上调趋势,且其表达水平与 ARCC 的组织学程度呈正相关。深入研究发现,MEG3 通过抑制 miR-223 并促进 p53 表达,从而上调 TP53INP1

表 2 两组细胞中 lncRNA 表达比较

组别	FEZF1AS1	KCNQ10T1	MALAT1	PLCD3-OT1	TUG1	XIST	OIP5-AS1
Control 组	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
H ₂ O ₂ 组	0.84±0.09	1.40±0.11	1.91±0.15	1.09±0.11	1.17±0.17	0.99±0.05	0.94±0.08
<i>t</i>	0.96	2.09	8.447	1.19	1.51	0.32	0.54
<i>P</i>	0.216	0.098	0.001	0.478	0.107	0.695	0.581

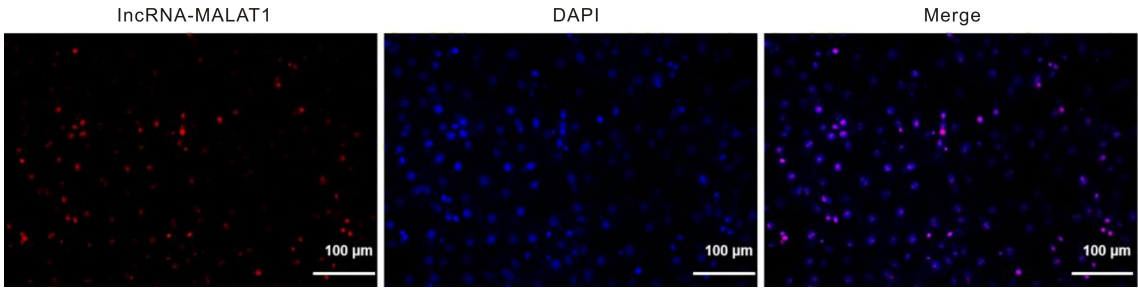


图 3 荧光原位杂交实验检测 lncRNA-MALAT1 细胞定位 H₂O₂组 HLE-B3 细胞 lncRNA-MALAT1 定位的荧光原位杂交图,图中红色为 Cy3 标记的 lncRNA-MALAT1,蓝色为 DAPI 标记的细胞核。

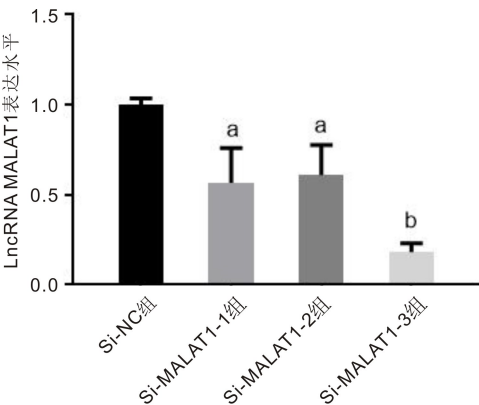


图 4 MALAT1 沉默效率验证 ^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs Si-NC 组。

表 3 沉默 MALAT1 对 HLE-B3 细胞凋亡及 Nrf2 表达水平的影响

组别	TUNEL 阳性细胞率 (%)	Nrf2 相对荧光强度
Control 组	15.56±3.85	15.00±5.34
H ₂ O ₂ 组	39.22±7.49 ^b	74.01±12.27 ^b
H ₂ O ₂ +Si-NC 组	40.92±5.42	78.94±11.95
H ₂ O ₂ +Si-MALAT1 组	26.52±2.05 ^{c,f}	56.19±10.72
<i>F</i>	16.97	23.18
<i>P</i>	<0.001	<0.001

注: ^b $P<0.01$ vs Control 组; ^c $P<0.05$ vs H₂O₂组; ^f $P<0.01$ vs H₂O₂+Si-NC 组。

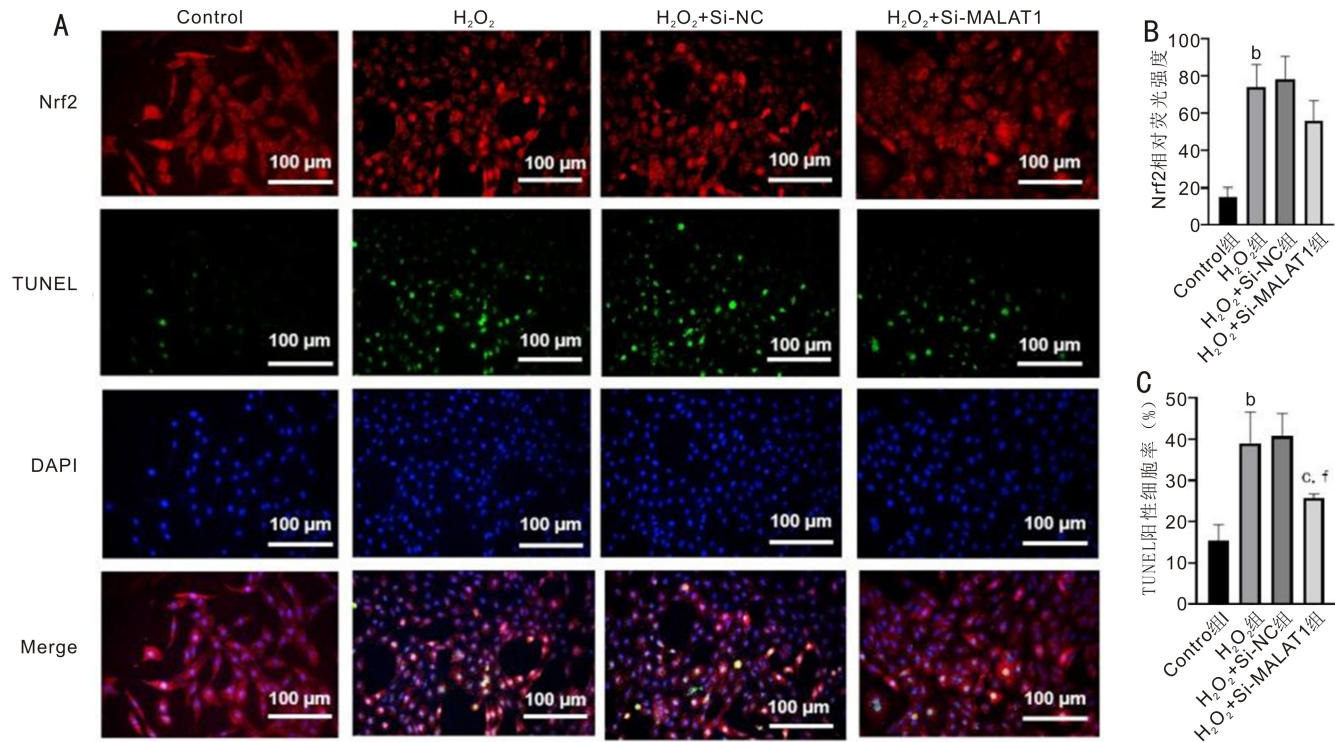


图 5 沉默 MALAT1 对 HLE-B3 细胞中凋亡和 Nrf2 的影响 A:免疫荧光染色检测 Nrf2 和 TUNEL 的表达;B:Nrf2 相对荧光强度统计图;C:TUNEL 阳性细胞率统计图;^b*P*<0.01 vs Control 组;^c*P*<0.05 vs H₂O₂组;^f*P*<0.01 vs H₂O₂+Si-NC 组。

的表达,为阐释 ARC 的发病机制提供了新的见解^[10]。Shen 等^[11]的研究显示,敲低 lncRNA TUG1 可通过调节 ARC 中 miR-196a-5p 的表达,减轻氧化应激对 LECs 造成的损伤,进而参与 ARC 的病理发生过程。此外,敲低 lncRNA XIST 会通过 miR34a/SMAD2 轴抑制 DC 中的细胞增殖,并促进细胞凋亡^[12]。

作为最早被鉴定出来的 lncRNA 之一,MALAT1 在癌细胞的增殖、迁移以及上皮-间充质转化(EMT)过程中扮演着核心调控角色^[13-14]。最近的一篇综述研究发现,lncRNA MALAT1 与调控视网膜细胞发育过程中的蛋白编码基因共表达,在视网膜新生血管形成的发病机制和调控中起着重要作用^[15]。Gong 等^[16]研究发现,在 DC 中,lncRNA MALAT1 通过 p38 丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路促进糖尿病患者 LECs 的凋亡与氧化应激进程,从而发挥重要作用。Dong^[17]的研究揭示,转化生长因子-2(TGF-2)可诱导 MALAT1 过表达,而 MALAT1 则通过与 miR-26a 结合,作为竞争性内源性 RNA(ceRNA)靶向调控 Smad4,从而推动 LECs 的 EMT 进程。另有研究表明,在高糖环境下,LECs 中的 lncRNA MALAT1 表达上调,上调后的 MALAT1 可促进 ROS 的生成,并与 miR-144-3p 发生竞争性结合。miR-144-3p 表达下调会促使 Nrf2 表达增加,Nrf2 在受到 ROS 刺激后,会发生核转位,并激活 Notch1/Snail 通路,最终导致 LECs 发生 EMT^[5]。这一系列发现表明,MALAT1 极有可能成为 DC 预防与治疗的潜在靶点。然而,目前关于 lncRNA-MALAT1 是否参与 ARC 发生发展及其调控机制的研究仍相对较少。

LECs 的凋亡与白内障形成之间的关联已得到学界广泛认可,其中,氧化应激损伤被认为是引发 LECs 凋亡的关键因素^[18-19]。本研究采用 H₂O₂成功构建了人 LECs 氧化损伤细胞模型。研究结果显示,H₂O₂组的 HLE-B3 细胞中,ROS 含量显著升高,CAT、SOD 的表达水平明显降

低,同时细胞凋亡率显著增加。而对 MALAT1 进行沉默处理后,能够有效抑制 H₂O₂诱导的细胞凋亡现象。此外,本研究还发现,经 H₂O₂处理后,HLE-B3 细胞中 MALAT1 的表达水平显著上调。H₂O₂处理后 HLE-B3 细胞内 ROS 大量堆积,SOD、CAT 等抗氧化指标明显下降,表明氧化应激异常是造成 LECs 损伤的重要原因,也是 ARC 发展的关键因素。氧化应激水平升高的同时,细胞凋亡数量也随之增加,进一步说明氧化失衡会加速 LECs 死亡,推动晶状体混浊改变。本研究中沉默 MALAT1 之后,细胞氧化损伤情况得到缓解,细胞凋亡也明显减少,表明 MALAT1 的异常高表达会加重 LECs 损伤。同时,氧化应激环境能够明显上调 MALAT1 表达,二者互相影响,形成恶性循环,这也在一定程度上解释了白内障病情持续进展的分子原因。

lncRNA 在基因表达调控过程中发挥着重要作用,其调控机制丰富多样。定位于细胞质的 lncRNA 因含有与微小 RNA(miRNA)相同的结合位点,可与 miRNA 发生竞争性结合,从而保护靶 mRNA 不被降解^[20];定位于细胞核的 lncRNA 则能够与染色质修饰酶(如甲基转移酶)相互作用,影响基因的空间位置或表达状态,进而实现对基因表达的调控^[21]。lncRNA 还可以直接与 RNA 聚合酶 II 复合物或转录因子相结合,对转录过程起到促进或抑制作用^[22]。此外,lncRNA 能够作为分子支架,将不同的蛋白质或核酸复合物进行整合,并转运至特定的亚细胞区域^[23]。本研究通过荧光原位杂交实验证实,lncRNA-MALAT1 定位于细胞核内,由此推测,其可能通过转录调控或转录后调控等多种机制,对靶基因的表达水平产生影响。既往研究多围绕糖尿病性白内障展开,普遍认为 MALAT1 异常高表达会加重 LECs 氧化损伤与功能异常,本研究结论与其基本一致,说明 MALAT1 在晶状体损伤过程中的作用具有一定共性。但本研究和既往研究也存

在一定区别:既往研究多以高糖模型为主,研究方向多集中在 ceRNA 调控、EMT 改变等方面,很少关注普通氧化应激损伤,也较少探讨 Nrf2 核转位的变化。产生这些差异的原因主要有以下几点:(1)建模方式不同,过往多采用高糖诱导模型模拟糖尿病性白内障,本研究使用 H₂O₂ 造模,更贴合 ARC 常见的氧化损伤机制;(2)研究切入点不同,多数研究重点检测相关蛋白整体表达量,本研究更关注蛋白核内转移的活化过程;(3)实验观察角度不同,结合 MALAT1 核内定位的特点,本研究更偏向从核内调控层面分析其作用方式。

Nrf2 的转录活性主要由其负调控因子 Keap1 调控,在生理条件下,Nrf2 在胞浆中与 Keap1 的 Kelch 结构域结合,并进一步介导 Nrf2 蛋白的泛素化和蛋白酶体降解,以维持 Nrf2 的低水平状态;在氧化应激条件下,Keap1 的半胱氨酸残基发生修饰而构象改变,使二者解偶联,游离的 Nrf2 转定位到细胞核中,通过与下游基因启动子区的抗氧化反应元件(antioxidant response element,ARE)结合,在转录水平上调多种抗氧化基因从而抵抗氧化应激损伤^[24-26],目前已知 Nrf2 调控的基因有 200 多个^[25]。近年来研究发现 lncRNA 也能通过调控 Nrf2 来发挥作用^[27-32]。在人脐静脉内皮细胞中,lncRNA MALAT1 能够激活 Nrf2 信号通路,减轻 H₂O₂ 的侵害^[33]。最近发表的综述聚焦 MALAT1 与视网膜病变的关联,旨在阐明 MALAT1 参与视网膜病变发病的分子机制,为这类眼部疾病的诊断和治疗提供理论依据^[34]。在本研究中,当细胞经 H₂O₂ 处理后,Nrf2 发生明显的核转位现象;而在沉默 MALAT1 后,Nrf2 的核易位过程受到显著抑制。这一结果表明,MALAT1 可能通过调控 Nrf2 信号途径,对 LECs 的凋亡与氧化应激过程发挥调节作用。与丹莪片通过 Keap1-Nrf2/HO-1 信号通路缓解视网膜缺血-再灌注损伤的相关研究^[35]相比,本研究存在明显新颖性:(1)研究对象与疾病范畴不同,该研究针对视网膜缺血再灌注损伤及视网膜细胞,而本研究聚焦白内障核心病变的 LECs,紧扣白内障氧化应激损伤关键病理环节;(2)调控核心不同,该研究以中药复方为干预手段,本研究以 lncRNA-MALAT1 为内源性调控分子,填补了 MALAT1 调控 LECsNrf2 通路的研究空白;(3)机制侧重点不同,该研究围绕 Keap1-Nrf2/HO-1 经典通路,本研究聚焦 Nrf2 核转位这一核心活化环节,揭示了 MALAT1 对 Nrf2 的新型调控模式,且针对白内障缺乏早期非手术干预的痛点,更具靶向防治潜力。后续深入探究 MALAT1 与 Nrf2 之间的相互作用机制,不仅有助于揭示细胞抗氧化应激反应的复杂调控网络,更为氧化应激相关疾病的治疗策略开发提供了全新的研究方向与潜在靶点。

本研究初步揭示了 lncRNA MALAT1 通过调控 Nrf2 核转位参与 H₂O₂ 诱导的人 LECs 氧化应激与凋亡过程,为白内障发病机制研究提供了新的线索,相较于以往研究,本研究存在一定创新之处:(1)目前国内外关于 MALAT1 在白内障中的研究大多集中在糖尿病性白内障方向,针对普通氧化应激介导的 ARC 研究较少,本研究补充了这一研究方向的内容;(2)以往多数研究只检测 Nrf2 蛋白表达水平变化,本研究进一步明确了 MALAT1 对 Nrf2 活化过程的影响,补充了该通路的调控细节;(3)本研究通过荧光原位杂交明确 MALAT1 主要定位于细胞核,为后续分析其核内调控作用提供了实验基础;(4)现阶段白内障临床仍以手术治疗为主,缺少有效的早期干预手段,

本研究从 lncRNA 角度寻找潜在作用靶点,也为后续白内障早期机制研究和靶点探索提供新的思路。但仍存在以下局限性,需在后续研究中完善:(1)实验体系单一,本研究仅在 HLE-B3 细胞系中开展体外实验,未涉及动物模型及临床样本验证。LECs 的病理生理状态在体外培养与体内微环境中存在差异,且不同细胞系的遗传背景可能影响实验结果的普适性;(2)未收集白内障患者晶状体前囊膜组织样本,无法明确 MALAT1 与 Nrf2 通路在临床病例中的表达相关性,限制了研究结论的临床转化价值;(3)机制探究深度不足。本研究仅证实沉默 MALAT1 可抑制 Nrf2 表达,但未明确两者之间的直接作用方式,缺乏 MALAT1 与 Nrf2 或其上游调控分子(如 Keap1)的互作验证实验;且未进一步筛选 Nrf2 下游介导细胞凋亡的关键靶基因,未能完整阐明 MALAT1-Nrf2 通路调控 LECs 损伤的分子链。未来研究将针对上述局限性,进一步构建动物白内障模型,收集临床样本验证 MALAT1 与 Nrf2 的表达关联;通过 RNA pull-down、Co-IP 等实验明确 MALAT1 与 Nrf2 通路分子的直接互作关系;完善实验设计以排除脱靶效应,系统优化模型建立参数;并拓展功能验证维度,为 MALAT1 作为白内障防治潜在靶点的可行性提供更充分的实验依据。本研究结果也具备一定的理论意义和临床参考价值。在基础研究层面,初步明确了 MALAT1 通过影响 Nrf2 核转位,参与 LECs 氧化损伤和凋亡的过程,进一步完善了 ARC 的分子发病机制,为同类基础研究提供参考。在临床实际应用中,ARC 发病率高,且暂无有效的药物干预手段,只能依靠手术治疗。本研究证实 MALAT1 参与晶状体氧化损伤的调控过程,有望成为评估晶状体氧化损伤程度的潜在指标,也可以作为后续药物靶向干预的候选靶点。后续围绕该靶点开展深入研究,或许能够找到延缓白内障发展的干预方式,减轻临床手术压力,为中老年人群眼部疾病的防控提供新的参考方向。

利益冲突声明:本文不存在利益冲突。

作者贡献声明:董晓鸣论文选题与修改,初稿撰写;刘雨轩数据采集;王艺菲统计分析;李栋数据处理及分析;张劲松选题及定稿;王静选题指导,论文修改及审阅。所有作者阅读并同意最终的文本。

参考文献

[1] Flaxman SR, Bourne RRA, Resnikoff S, et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990-2020: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Heal*, 2017, 5 (12): e1221-e1234.

[2] Liu YC, Wilkins M, Kim T, et al. Cataracts. *Lancet*, 2017, 390(10094):600-612.

[3] Braakhuis AJ, Donaldson CI, Lim JC, et al. Nutritional strategies to prevent lens cataract: current status and future strategies. *Nutrients*, 2019,11(5):1186.

[4] Ye W, Ma JY, Wang F, et al. lncRNA MALAT1 regulates miR-144-3p to facilitate epithelial-mesenchymal transition of lens epithelial cells via the ROS/Nrf2/Notch1/snail pathway. *Oxid Med Cell Longev*, 2020,2020:8184314.

[5] 董晓鸣,刘雨轩,纪力旸,等.长链非编码 RNA-P21 在过氧化氢诱导的人晶状体上皮细胞损伤中的表达. *中华实验眼科杂志*, 2024,42(3):232-239.

[6] Anderson DF, Dhariwal M, Bouchet C, et al. Global prevalence and economic and humanistic burden of astigmatism in cataract patients: a

systematic literature review. Clin Ophthalmol, 2018,12:439–452.

[7] 关瑞娟, 晏鑫, 亢泽峰. lncRNAs 对青光眼发生和发展的作用研究进展. 中华实验眼科杂志, 2025,43(5):466–470.

[8] 李学佳, 张开朗, 陈思思, 等. lncRNA 5033413D16Rik 对实验性自身免疫性葡萄膜炎 Th17 细胞活性的抑制作用. 中华实验眼科杂志, 2024,42(11):983–990.

[9] Ling JJ, Tan K, Lu L, et al. lncRNA MIAT increases cell viability, migration, EMT and ECM production in age-related cataracts by regulating the miR-181a/CTGF/ERK signaling pathway. Exp Ther Med, 2020,20(2):1053–1063.

[10] Tu YY, Xie LQ, Chen LL, et al. Long non-coding RNA MEG3 promotes cataractogenesis by upregulating TP53INP1 expression in age-related cataract. Exp Eye Res, 2020,199:108185.

[11] Shen QM, Zhou T. Knockdown of lncRNA TUG1 protects lens epithelial cells from oxidative stress-induced injury by regulating miR-196a-5p expression in age-related cataracts. Exp Ther Med, 2021,22(5):1286.

[12] Wang C, Zhao RL, Zhang SH. lncRNA XIST knockdown suppresses cell proliferation and promotes apoptosis in diabetic cataracts through the miR-34a/SMAD2 axis. Mol Med Rep, 2022,25(1):7.

[13] Malakar P, Shilo A, Mogilevsky A, et al. Long noncoding RNA MALAT1 promotes hepatocellular carcinoma development by SRSF1 upregulation and mTOR activation. Cancer Res, 2017,77(5):1155–1167.

[14] Li L, Chen H, Gao Y, et al. Long noncoding RNA MALAT1 promotes aggressive pancreatic cancer proliferation and metastasis via the stimulation of autophagy. Mol Cancer Ther, 2016,15(9):2232–2243.

[15] 李兆金, 底煜. 长链非编码 RNA MALAT1 对缺血性视网膜病变新生血管形成的调控作用研究进展. 中华实验眼科杂志, 2025,43(1):92–96.

[16] Gong WF, Zhu GY, Li J, et al. lncRNA MALAT1 promotes the apoptosis and oxidative stress of human lens epithelial cells via p38 MAPK pathway in diabetic cataract. Diabetes Res Clin Pract, 2018,144:314–321.

[17] Dong N. Long noncoding RNA MALAT1 acts as a competing endogenous RNA to regulate TGF- β 2 induced epithelial-mesenchymal transition of lens epithelial cells by a microRNA-26a-dependent mechanism. Biomed Res Int, 2019,2019:1569638.

[18] Liu HR, Smith AJ, Lott MC, et al. Sulforaphane can protect lens cells against oxidative stress: implications for cataract prevention. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013,54(8):5236–5248.

[19] Du SS, Shao JZ, Qi Y, et al. Long non-coding RNA ANRIL alleviates H₂O₂-induced injury by up-regulating microRNA-21 in human lens epithelial cells. Aging, 2020,12(8):6543–6557.

[20] Tay Y, Rinn J, Pandolfi PP. The multilayered complexity of

CeRNA crosstalk and competition. Nature, 2014,505(7483):344–352.

[21] Rinn JL, Chang HY. Genome regulation by long noncoding RNAs. Annu Rev Biochem, 2012,81:145–166.

[22] Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs. Mol Cell, 2011,43(6):904–914.

[23] Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions. Nat Rev Genet, 2009,10(3):155–159.

[24] Hayes JD, Chowdhry S, Dinkova-Kostova AT, et al. Dual regulation of transcription factor Nrf2 by Keap1 and by the combined actions of β -TrCP and GSK-3. Biochem Soc Trans, 2015,43(4):611–620.

[25] Nguyen T, Yang CS, Pickett CB. The pathways and molecular mechanisms regulating Nrf2 activation in response to chemical stress. Free Radic Biol Med, 2004,37(4):433–441.

[26] O'Connell MA, Hayes JD. The Keap1/Nrf2 pathway in health and disease: from the bench to the clinic. Biochem Soc Trans, 2015,43(4):687–689.

[27] Yang G, Yin HB, Lin F, et al. Long noncoding RNA TUG1 regulates prostate cancer cell proliferation, invasion and migration via the Nrf2 signaling axis. Pathol Res Pract, 2020,216(4):152851.

[28] Chen JS, Ke S, Zhong L, et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates generation of reactive oxygen species and the insulin responses in male mice. Biochem Pharmacol, 2018,152:94–103.

[29] Huang XL, Gao Y, Qin JJ, et al. The mechanism of long non-coding RNA MEG3 for hepatic ischemia-reperfusion: Mediated by miR-34a/Nrf2 signaling pathway. J Cell Biochem, 2018,119(1):1163–1172.

[30] Geng JF, Liu X, Zhao HB, et al. lncRNA UCA1 inhibits epilepsy and seizure-induced brain injury by regulating miR-495/Nrf2-ARE signal pathway. Int J Biochem Cell Biol, 2018,99:133–139.

[31] Gao M, Li CY, Xu M, et al. lncRNA MT1DP aggravates cadmium-induced oxidative stress by repressing the function of Nrf2 and is dependent on interaction with miR-365. Adv Sci (Weinh), 2018,5(7):1800087.

[32] Li HQ, Wu YB, Yin CS, et al. Obestatin attenuated doxorubicin-induced cardiomyopathy via enhancing long noncoding Mhrt RNA expression. Biomed Pharmacother, 2016,81:474–481.

[33] Zeng R, Zhang R, Song XT, et al. The long non-coding RNA MALAT1 activates Nrf2 signaling to protect human umbilical vein endothelial cells from hydrogen peroxide. Biochem Biophys Res Commun, 2018,495(4):2532–2538.

[34] Yang GK, Huang XG. lncRNA MALAT1's role in the development of retinopathy: a review. Medicine, 2025,104(12):e41954.

[35] 蔺彦娜, 吴惠琴, 郑博, 等. 丹菱片通过 Keap1-Nrf2/HO-1 信号通路缓解视网膜缺血-再灌注损伤. 国际眼科杂志, 2024,24(7):1027–1031.