

# 非编码 RNA 在后囊膜混浊中的研究进展

张冰钰<sup>1</sup>, 丁芝祥<sup>2</sup>, 陈 阳<sup>1</sup>

基金项目: 广西自然科学基金项目资助 (No. 2015GXNSFAA139179); 广西医疗卫生适宜技术与开发项目资助 (No. S201407-08); 桂林市科学研究与技术开发计划项目资助 (No. 20130120-4)

作者单位:<sup>1</sup>(541000) 中国广西壮族自治区桂林市, 桂林医学院;<sup>2</sup>(541001) 中国广西壮族自治区桂林市, 桂林医学院附属医院眼科

作者简介: 张冰钰, 在读硕士研究生, 研究方向: 白内障。

通讯作者: 丁芝祥, 毕业于湘雅医学院, 博士研究生, 教授, 主任医师, 研究方向: 白内障. [zxding99@163.com](mailto:zxding99@163.com)

收稿日期: 2017-02-16 修回日期: 2017-05-02

## Research progress of non-coding RNA in posterior capsule opacification

Bing-Yu Zhang<sup>1</sup>, Zhi-Xiang Ding<sup>2</sup>, Yang Chen<sup>1</sup>

**Foundation items:** Guangxi Natural Science Foundation (No. 2015GXNSFAA139179); Guangxi Health Appropriate Technology Research and Development Program (No. S201407-08); Guilin Scientific Research and Technological Development Project (No. 20130120-4)

<sup>1</sup>Guilin Medical University, Guilin 541000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

**Correspondence to:** Zhi - Xiang Ding. Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. [zxding99@163.com](mailto:zxding99@163.com)

Received: 2017-02-16 Accepted: 2017-05-02

### Abstract

• Posterior capsule opacification (PCO) is the most common complication after cataract surgery. How to prevent and treat PCO is an urgent problem we need to solve at present. Non-coding RNA (ncRNA) is a kind of RNA, which can not encode proteins. Studies have shown that non-coding RNA is closely related to the occurrence and development of human diseases. This paper has collected the progress of research on different kinds of ncRNA in PCO and may raise new ideas and methods on the prevention and treatment of PCO.

• **KEYWORDS:** posterior capsule opacification; non-coding RNA; microRNA; small interfering RNA; long non-coding RNA

**Citation:** Zhang BY, Ding ZX, Chen Y. Research progress of non-coding RNA in posterior capsule opacification. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2017;17(6):1069-1072

### 摘要

后囊膜混浊 (posterior capsule opacification, PCO) 是白内障手术后最常见的并发症, 如何预防和治疗 PCO 是我们当前亟需解决的问题。非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 是一类不具备蛋白编码功能的 RNA。已有研究证明非编码 RNA 与人类疾病的发生和发展密切相关。本文就不同的非编码 RNA 在 PCO 中的研究进展作一综述, 为 PCO 的防治提供新思路与新方法。

**关键词:** 后囊膜混浊; 非编码 RNA; 微小 RNA; 小干扰 RNA; 长链非编码 RNA

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2017.6.15

**引用:** 张冰钰, 丁芝祥, 陈阳. 非编码 RNA 在后囊膜混浊中的研究进展. *国际眼科杂志* 2017;17(6):1069-1072

### 0 引言

白内障是目前世界致盲率第一位的眼部疾病。根据 2010 年 WHO 的全球视觉障碍报告显示, 全世界约有两千万人口因白内障致盲, 占盲人总数的 51%。目前尚没有有效的药物治疗能完全阻止或延缓其发生与发展, 手术治疗仍是当前治疗白内障最有效的方法, 但会引发许多并发症。后囊膜混浊 (posterior capsule opacification, PCO) 是白内障手术最常见的并发症<sup>[1]</sup>。在白内障术后, 晶状体前囊膜周边部和赤道部 (即晶状体上皮生发区) 残留的晶状体上皮细胞过度增殖、迁移至后囊膜、发生上皮-间质转分化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 并分泌胶原与细胞外基质, 这是 PCO 发生的主要生物学基础<sup>[2-5]</sup>。非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 是一类不具备蛋白编码功能的 RNA。研究表明, 非编码 RNA 与人类疾病的发生和发展密切相关。本文就非编码 RNA 在后囊膜混浊中的研究进展作一综述。

### 1 非编码 RNA 的概述

1965 年, Holley 等<sup>[6]</sup>在面包酵母中发现了丙氨酸 tRNA, 这是第一个被发现并报道的非编码 RNA。在随后的研究中, 核糖体 RNA、snoRNA、Xist 等越来越多的非编码 RNA 相继被发现。2001 年人类基因组测序计划工作完成, 研究发现全基因组中能够编码蛋白质的 DNA 仅占很少的一部分, 绝大部分为不编码蛋白质的 DNA, 这些 DNA 转录形成的产物即为非编码 RNA。非编码 RNA 按大小主要可分为短链非编码 RNA 和长链非编码 RNA

(long non-coding RNA, lncRNA)。短链非编码 RNA 又可分为微小 RNA (microRNA, miRNA)、小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 和一类能与 piwi 蛋白质相互作用的新型非编码小 RNA (piwi interacting RNA, piRNA)。越来越多的研究表明非编码 RNA 在生物的生长发育和疾病的发生发展中起着重要作用。目前已有研究证实 miRNA、siRNA 和 lncRNA 与 PCO 的发生发展密切相关。

## 2 miRNA 与 PCO

miRNA 是一类约含有 22 个核苷酸的非编码单链小分子 RNA, 它通过结合目的 mRNA 3' 端的非编码区, 致使翻译被阻滞或者引起 mRNA 降解, 从而在 RNA 沉默及基因表达的转录调控方面发挥重要作用<sup>[7-8]</sup>。近年来的研究证实, 非编码 RNA 在晶状体分化、白内障及 PCO 的发生发展过程中均发挥了重要作用。

2012 年, Hoffmann 等<sup>[9]</sup>通过对小鼠白内障术后晶状体囊膜的微阵列技术分析, 发现 55 个表达量变化的 miRNA, 其中表达量升高的 miR-184 和表达量降低的 miR-204 已被发现在成年蝾螈的虹膜细胞分化与晶状体再生过程中发挥作用, 所以推测 miR-184 和 miR-204 在晶状体再生方面具有潜在作用, 并用它们做进一步的研究。他们使用 miR-184 的抑制剂 anti-miR-184 和 miR-204 的促进剂 pre-miR-204 来调控 miRNA 的表达, 发现 anti-miR-184 和 pre-miR-204 可以抑制晶状体上皮细胞的增殖和迁移, 降低上皮-间质转分化标志物  $\alpha$ -SMA 的表达。另外, pre-miR-204 还能降低后囊膜混浊相关的转录因子 MEIS2 的表达。而后对 miR-184 和 miR-204 的目标结合位点的研究说明它们在 PCO 的形成过程中起着重要的作用, 并且通过一个复杂的互相协调拮抗的 RNA 网络来实现对 PCO 的调节。Wang 等<sup>[10]</sup>通过比较人体发生 PCO 的晶状体与正常晶状体的晶状体上皮细胞的微阵列, 发现了 122 条差异表达的 miRNA。接着对表达降低倍数较大的 miR-204-5P 的研究发现, 它能够通过其靶基因 SMAD4 干预 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路, 从而调节晶状体上皮细胞的转分化, 由此推测 miR-204-5P 可以作为预防和治疗后发性白内障的新靶点。2014-2015 年, Dong 等<sup>[11-12]</sup>发现 miRNA-26b 和 miRNA-181a 均能抑制晶状体上皮细胞的增殖、迁移和转分化。miRNA-26b 可作为 PCO 的抑制基因, 通过沉默 Smad4 和 COX-2 来干预 PCO 的发生发展。miRNA-181a 可通过沉默 c-Met、Slug 和 COX-2 在 PCO 的治疗中发挥重要作用。王晓媛等<sup>[13]</sup>将不同浓度的 miRNA-184 重组腺病毒 ADV-miR-184 成功转染至体外培养的人晶状体上皮细胞, 研究这些晶状体上皮细胞的移行能力后发现, 细胞的移行距离随着 ADV-miR-184 浓度的增加而缩短, 证明高表达的 miRNA-184 可以抑制细胞的移行, 由此推测 miRNA-184 可能参与后发性白内障的形成过程。丁芝祥等<sup>[14]</sup>应用不同浓度的 TGF- $\beta_2$  诱导人晶状体上皮细胞发生 EMT, 发现细胞内 miR-184 的表达量增加, 并且与诱导浓度和时间有关, 浓度越大, 作用时间越长, miR-184 的表达量越高, 由此提示 miR-184 可能通过调控人晶状体上皮细胞的 EMT 而参与 PCO 的发生。

## 3 siRNA 与 PCO

siRNA 是一类长度在 20 ~ 25 个碱基对的双链 RNA 分子, 它通过降解转录后的 mRNA 来干扰具有互补核苷酸序列的基因的表达<sup>[15]</sup>。目前 siRNA 技术已被广泛运用到与 PCO 相关的信号通路的研究。

**3.1 siRNA 对 TGF- $\beta$ /Smad 通路的影响** 转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 是目前已知的与 PCO 关系最为密切的细胞因子。Smad 是细胞内调节 TGF- $\beta$  信号转导的重要因子。Li 等<sup>[16]</sup>使用 siRNA 分别干扰 Smad2、Smad3 和 Smad2Smad3 的复合物, 比较晶状体上皮细胞 HLE B-3 在 TGF- $\beta_2$  诱导前后增殖、迁移和细胞外基质产物的不同, 发现干扰 Smad2、Smad3 的表达均能起到抑制 TGF- $\beta_2$  在细胞增殖、迁移和产生相关细胞外基质产物方面的作用。由此证明, Smad2 和 Smad3 是 TGF- $\beta_2$  信号转导通路的重要因子, 可以通过阻滞 TGF- $\beta_2$ /Smad2 和 TGF- $\beta_2$ /Smad3 信号通路来预防 PCO 的发生。

Dawes 等<sup>[17]</sup>为了探究 Smad4 在 TGF- $\beta_2$  诱导晶状体上皮细胞发生转分化、基质收缩及在 Smad 通路中的重要性, 将 Smad4 siRNA 加入到 FHL124 细胞中后用 TGF- $\beta_2$  诱导其发生转分化, 发现 Smad4 siRNA 能通过抑制 Smad4 的表达从而抑制上皮转分化标记物  $\alpha$ -SMA 和纤维连接蛋白的表达, 但对基质收缩没有显著影响。他们同时发现 Smad4 对由 TGF- $\beta$  诱导的 Smad2/Smad3 的核转移和 Smad7 的表达没有明显影响。

**3.2 siRNA 对 EGF-EGFR 通路的影响** 表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 是与 PCO 的发生发展相关的一种生长因子, 它能够通过结合自身受体 EGFR, 在调节细胞的生长、增殖和分化方面发挥重要作用。Huang 等<sup>[18]</sup>通过比较 EGFR siRNA 转染的晶状体上皮细胞、加入了 EGF 的晶状体上皮细胞和加入了 EGF 的 EGFR siRNA 转染的晶状体上皮细胞, 发现与 EGF 组相比 EGFR siRNA 组和 EGFR siRNA +EGF 组在细胞生长增殖方面受到明显抑制, 而 EGFR siRNA 组和 EGFR siRNA +EGF 组之间未见明显差异。在体内实验中, EGFR siRNA 组的 PCO 发生范围远小于转染了 RNA 干扰的质粒载体组。通过以上实验说明, EGFR siRNA 能抑制 PCO 的发生发展, 为 PCO 的防治提供新思路与新方法。

**3.3 siRNA 对 PI3K/mTOR 通路的影响** mTOR (mammalian target of rapamycin) 是存在于哺乳动物细胞中的一种高度保守的丝氨酸/苏氨酸激酶。它有两种不同的蛋白复合物: mTORC1 和 mTORC2, 它们都能调节细胞的增殖和迁移。mTORC1 能通过活化 S6K1、S6K2 和 eIF4E 来调节细胞周期及蛋白质合成, mTORC2 能使 PKB 和 AKT 磷酸化从而调节细胞的分化、增殖、侵袭及糖代谢。Zhang 等<sup>[19]</sup>将 mTOR-siRNA 转染至晶状体上皮细胞 HLE B-3 上, 发现 mTOR 的表达量明显减少, 同时细胞的增殖和移行能力受到明显抑制。他们进一步研究 mTORC1 和 mTORC2 信号通路, 发现在 mTORC1 信号通路上 mTOR-siRNA 能抑制 mTOR 下游效应蛋白 p70S6K 的磷酸化, 在 mTORC2 信号通路上 mTOR-siRNA 能抑制

mTOR 下游效应蛋白 AKT 的表达及其磷酸化。同时还发现 mTOR-siRNA 能抑制 TGF- $\beta$  诱导 EMT 的作用。由此证明, mTOR-siRNA 能抑制 mTORC1 和 mTORC2 信号通路, 还能抑制 HLE B-3 的增殖、迁移和转分化从而抑制 PCO 的发生与发展。

#### 4 lncRNA 与 PCO

lncRNA 是一类内源性, 转录本长度超过 200nt 的, 缺乏有意义的开放阅读框, 不编码蛋白质的 RNA。大规模测序 cDNA 库和最近的基因测序结果表明在哺乳动物中存在着成千上万的 lncRNA。lncRNA 逐渐成为研究的热点, 越来越多的 lncRNA 被发现, 对它们的功能与作用机制的研究也越来越深入。研究表明 lncRNA 在转录、转录前以及基因的表达遗传调控中均发挥了重要作用<sup>[20-21]</sup>。

lncRNA 还与许多疾病的发生发展密切相关, 例如消化道肿瘤、乳腺癌、阿尔兹海默病、心肌病等。研究表明 lncRNA 可能参与细胞的增殖、迁移和转分化过程。Yuan 等<sup>[22]</sup>发现 lncRNA-ATB 能与 miR-200 家族共享反应原件 ZEB1 和 ZEB2。而 ZEB1 和 ZEB2 可以诱导 EMT。他们观察在体外原位移植的乳鼠和肝癌组织发现, 异常表达的 lncRNA-ATB 能够引起 ZEB1 和 ZEB2 的表达增加, 并且诱导 EMT 的发生。lncRNA-ATB 过表达后的 mRNA 表达更是强化了其诱导 EMT 的作用。Hu 等<sup>[23]</sup>用 Twist 诱导 MCF10A 细胞发生 EMT, 运用微阵列技术比较 Twist 诱导的 MCF10A 细胞和正常 MCF10A 细胞的 lncRNA 表达谱的变化, 发现有 99 条异常表达的 lncRNAs, 包括 30 条表达上调和 69 条表达下调的 lncRNAs。其中 lncRNA (chr17, 44833874 - 44834830, +) 的目标基因 WNT3, lncRNA (chr17, 21142183 - 21156578, +) 的目标基因 TCF7 和 lncRNA (chr6, 26124411 - 26139312, +) 的目标基因 PKC 表达上调, 而 lncRNA (chr19, 438420 - 2083745, -) 的目标基因 APC2 表达下调。这些 lncRNA 目标基因的变化与 EMT 的重要通路 WNT 通路的活化结果一致, 因此他们推测 lncRNA (chr17, 44833874 - 44834830, +), lncRNA (chr17, 21142183 - 21156578, -), lncRNA (chr6, 26124411 - 26139312, +) 和 lncRNA (chr19, 438420 - 2083745, -) 可能通过调控它们的目标基因来调控 EMT 的发生。Ma 等<sup>[24]</sup>通过对 H19 的敲除实验发现, H19 能促进胰腺癌细胞的迁移和侵袭性。H19 通过去遏制 let-7 对其目标蛋白 HMGA2 介导的 EMT 的抑制作用来促进胰腺癌的发生。

但目前与 PCO 相关的 lncRNA 的研究较少。lncRNA 在晶状体疾病的研究还处于起步阶段。2014 年, Hoang 等<sup>[25]</sup>运用 RNA 测序技术来分析新生小鼠晶状体上皮细胞与成纤维细胞的 RNA, 发现有 254 种 lncRNAs 在晶状体中表达, 其中有 86 种 lncRNAs 在上皮细胞与成纤维细胞中表达有差异, 32 种 lncRNAs 在上皮细胞中表达上调, 54 种 lncRNAs 在成纤维细胞中表达上调。这是第一次有关 lncRNA 在晶状体中的研究。2016 年, Shen 等<sup>[26]</sup>使用微阵列技术分析了透明晶状体与已发生白内障的晶状体, 发现了 38 种差异表达的 lncRNAs, 其中 MIAT 在已

发生白内障的晶状体中表达明显上调, 敲除 MIAT 能影响晶状体上皮细胞的增殖、凋亡与迁移, 对 MIAT 的进一步研究发现敲除 MIAT 一方面能抑制细胞因子 TNF- $\alpha$  促进晶状体上皮细胞增殖的作用, 另一方面能减少受 TNF- $\alpha$  作用影响发生迁移的晶状体上皮细胞的数量。从而说明 MIAT 能通过调节晶状体上皮细胞增殖与迁移来参与 PCO 的发生与发展。

#### 5 小结

目前, 关于 PCO 的发病机制尤其是基因表达调控机制尚不完全清楚, 针对 PCO 的发生与发展还未有安全有效的预防方法, 非编码 RNA 的深入研究为 PCO 的发病机制研究和防治提供了新思路。但非编码 RNA 在 PCO 中的运用还存在诸多问题。miRNA 对基因的调控呈复杂网络状, 增加了对靶基因的预测难度, 易造成非靶向结合。siRNA 的运用已日趋成熟, 但如何将高效的 siRNA 转染至特定的靶细胞内仍是我们需要迫切解决的问题。而有关 PCO 的 lncRNA 研究还处于起步阶段, 今后仍需继续深入研究各种 lncRNA 在 PCO 发生发展过程中的生物学作用及机制, 进而为 PCO 的防治提供新方法。

#### 参考文献

- Awasthi N, Guo S, Wagner BJ. Posterior capsular opacification a problem reduced but not yet eradicated. *Arch Ophthalmol* 2009; 127(4):555-562
- Greenburg G, Hay ED. Epithelia suspended in collagen gels can lose polarity and express characteristics of migrating mesenchymal cells. *J Cell Biol* 1982; 95(1):333-339
- Wormstone IM. Posterior capsule opacification: a cell biological perspective. *Exp Eye Res* 2002; 74(3):337-347
- Wormstone IM, Wang L, Liu CS. Posterior capsule opacification. *Exp Eye Res* 2009; 88(2):257-269
- Raj SM, Vasavada AR, Johar SR, et al. Post-operative capsular opacification: a review. *Int J Biomed Sci* 2007; 3(4):237-250
- Holley RW, Apgar J, Everett GA, et al. Structure of a ribonucleic acid. *Science* 1965; 147(3664):1462-1465
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116(2):281-297
- Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature* 2004; 431(7006):350-355
- Hoffmann A, Huang Y, Suetsugu-Maki R, et al. Implication of the miR-184 and miR-204 competitive RNA network in control of mouse secondary cataract. *Mol Med* 2012; 18:528-538
- Wang Y, Li W, Zang X, et al. MicroRNA-204-5p Regulates epithelial-to-mesenchymal transition during human posterior capsule opacification by targeting SMAD4. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54(1):323-332
- Dong N, Xu B, Benya SR, et al. MiRNA-26b inhibits the proliferation, migration, and epithelial-mesenchymal transition of lens epithelial cells. *Mol Cell Biochem* 2014; 396(1-2):229-238
- Dong N, Tang X, Xu B. miRNA-181a inhibits the proliferation, migration, and epithelial-mesenchymal transition of lens epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56(2):993-1001
- 王晓媛, 曹文萍, 滕旭, 等. ADV-miR-184 体外转染对人晶状体上皮细胞移行影响. *国际遗传学杂志* 2009; 32(5):321-323, 332
- 丁芝祥, 陈阳, 秦贤杰, 等. miRNA-184 在 TGF- $\beta$ 2 诱导人晶状

体上皮细胞上皮-间质转化中的表达. *眼科新进展* 2015;35(12):1116-1120

15 Agrawal N, Dasaradhi PV, Mohammed A, *et al.* RNA Interference: biology, mechanism, and applications. *Microbiol Mol Biol Rev* 2003;67(4):657-685

16 Li J, Tang X, Chen X. Comparative effects of TGF- $\beta$ 2/Smad2 and TGF- $\beta$ 2/Smad3 signaling pathways on proliferation, migration, and extracellular matrix production in a human lens cell line. *Exp Eye Res* 2011;92(3):173-179

17 Dawe LJ, Sleeman MA, Anderson IK, *et al.* TGF  $\beta$ /Smad4 -dependent and -independent regulation of human lens epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(11):5318-5327

18 Huang WR, Fan XX, Tang X. SiRNA targeting EGFR effectively prevents posterior capsular opacification after cataract surgery. *Mol Vis* 2011;17:2349-2355

19 Zhang C, Liu J, Jin N, *et al.* SiRNA Targeting mTOR Effectively Prevents the Proliferation and Migration of Human Lens Epithelial Cells. *PLoS one* 2016;11(12):e0167349

20 Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long

noncoding RNAs. *Cell* 2009;136(4):629-641

21 Wilusz JE, Sunwoo H, Spector DL. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world. *Genes Dev* 2009;23(13):1494-1504

22 Yuan JH, Yang F, Wang F, *et al.* A long noncoding RNA activated by TGF- $\beta$  promotes the invasion-metastasis cascade in hepatocellular carcinoma. *Cancer cell* 2014;25(5):666-681

23 Hu P, Yang J, Hou Y, *et al.* LncRNA expression signatures of twist-induced epithelial-to-mesenchymal transition in MCF10A cells. *Cell Signal* 2014;26(1):83-93

24 Ma C, Nong K, Zhu H, *et al.* H19 promotes pancreatic cancer metastasis by derepressing let-7's suppression on its target HMGA2-mediated EMT. *Tumour Biol* 2014;35(9):9163-9169

25 Hoang TV, Kumar PKR, Sutharzan S, *et al.* Comparative transcriptome analysis of epithelial and fiber cells in newborn mouse lenses with RNA sequencing. *Mol Vis* 2014;20:1491-1517

26 Shen Y, Dong LF, Zhou RM, *et al.* Role of long non-coding RNA MIAT in proliferation, apoptosis and migration of lens epithelial cells: a clinical and *in vitro* study. *J Cell Mol Med* 2016;20(3):537-548