

# 正常幼儿及不同年龄段白内障患者晶状体中常见 miRNA 的表达

张 建<sup>1,2</sup>, 景瑞花<sup>1</sup>, 秦 莉<sup>1</sup>, 裴 澄<sup>1</sup>, 吴昌睿<sup>1</sup>

引用: 张建, 景瑞花, 秦莉, 等. 正常幼儿及不同年龄段白内障患者晶状体中常见 miRNA 的表达. 国际眼科杂志 2020; 20(12): 2044-2048

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81700823); 陕西省重点研发计划 (No. 2017SF-236); 中央高校基本科研业务费专项基金 (No. xjj2017134)

作者单位: <sup>1</sup>(710061) 中国陕西省西安市, 西安交通大学第一附属医院眼科; <sup>2</sup>(727000) 中国陕西省铜川市人民医院眼科

作者简介: 张建, 本科, 主治医师, 研究方向: 晶状体疾病。

通讯作者: 吴昌睿, 博士, 主治医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 白内障的基础与临床研究. gxwcr001@163.com; 秦莉, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 白内障的基础与临床研究. eyeqinli@163.com

收稿日期: 2020-07-15 修回日期: 2020-10-30

## 摘要

**目的:** 检测并分析 miRNA 在正常幼儿及不同年龄段白内障患者晶状体中的表达差异, 初步探讨其在维持晶状体正常功能和不同年龄段白内障形成中的可能作用。

**方法:** 使用 stem-loop RT-PCR 法检测正常幼儿和幼儿 (先天性白内障)、中青年及老年 (年龄相关性白内障) 白内障患者晶状体中 miRNA 的表达情况, 比较各组间 miRNA 表达差异。

**结果:** 正常幼儿晶状体中 miR-184 表达量最高。与正常幼儿相比, 白内障幼儿晶状体中 miR-184、miR-182 表达升高, miR-124、miR-204 表达降低。与幼儿患者相比, 中青年患者晶状体中 miR-204、miR-124 和 let-7d 表达升高, miR-184、miR-183 和 let-7a 表达降低, 而老年患者晶状体中所有被检测 miRNA 表达均有改变, 其中 miR-182、miR-204、miR-124 表达均升高, miR-184、miR-181b、miR-183、miR-125b、let-7a/b/d 表达均降低。

**结论:** 正常幼儿及不同年龄段白内障患者晶状体中 miRNA 表达差异显著, 部分 miRNA 与晶状体的正常形态、功能及某些病理状态相关, 这为进一步研究 miRNA 在维持幼儿晶状体正常功能及不同年龄段白内障形成过程中的可能作用机制提供了理论依据。

**关键词:** 微小 RNA; 正常幼儿; 先天性白内障; 中青年白内障; 年龄相关性白内障

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2020.12.06

## Expression of miRNAs in the lens of normal infants and cataract patients at different ages

Jian Zhang<sup>1,2</sup>, Rui-Hua Jing<sup>1</sup>, Li Qin<sup>1</sup>, Cheng Pei<sup>1</sup>, Chang-Rui Wu<sup>1</sup>

Foundation items: National Natural Science Foundation of China

(No.81700823); Shaanxi Provincial Key Research and Development Program (No. 2017SF-236); Fundamental Scientific Research Business Expenses of Central Universities (No.xjj2017134)

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China;

<sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Tongchuan City People's Hospital, Tongchuan 727000, Shaanxi Province, China

**Correspondence to:** Chang-Rui Wu. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China. gxwcr001@163.com; Li Qin.

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China. eyeqinli@163.com

Received: 2020-07-15 Accepted: 2020-10-30

## Abstract

• **AIM:** To describe microRNAs (miRNAs) expression pattern in infant and cataract human lens, analyzing the possible difference to assess their function in transparent human lens and cataract formation.

• **METHODS:** The different ages of miRNAs in lens were extracted and samples were divided into four groups: infant lens group (lens from non-ophthalmopathy infant), congenital cataract group (lens from cataract infant), young and middle-aged group (lens from young cataract patients) and senile group (lens from age-related cataract patients). The expression of the 10 miRNAs was detected in the four groups using stem-loop RT-PCR respectively.

• **RESULTS:** In normal infant's lens, the expression of miR-184 was the highest. Compared with the normal infant's lens tissue, the miR-184 and miR-182 in congenital cataract patients increased, the miR-124 and miR-204 decreased. Compared with the children's lens with cataract, the expression of miR-204, 124 and let-7d in young and middle-aged cataract patients increased, while the expression of miR-184, 183 and let-7a decreased. In the lens of senile cataract patients, all of the 10 miRNAs changed. The expression of miR-182, 204, 124 increased, while miR-184, 181b, 183, 125b, let-7a/b/d decreased.

• **CONCLUSION:** There are significant differences in the expression of miRNA in the lens of children and cataract patients of different ages. Some miRNAs are related to the normal morphology, function and certain pathological conditions of the lens. This study provided a theoretical basis of further study on the role of miRNAs in maintaining the normal function of the young children's lens and the formation of cataracts at different ages.

• **KEYWORDS:** miRNA; normal infant; congenital cataract; young and middle-aged cataract; age-related cataract

**Citation:** Zhang J, Jing RH, Qin L, *et al.* Expression of miRNAs in the lens of normal infants and cataract patients at different ages. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020;20(12):2044-2048

## 0 引言

白内障是世界首位致盲眼病,不同年龄段均可发病<sup>[1]</sup>。微小RNA(microRNA, miRNA)是包含21~25个核苷酸的内源性小分子非编码RNA,能够在转录后水平对基因表达进行调控<sup>[2]</sup>。已有研究表明,miRNA在不同年龄段白内障的发生中发挥作用,但其具体机制尚不完全明确。既往研究证实,晶状体上皮细胞内miR-184, miR-204, miR-183, miR-181b, miR-182, miR-125b, miR-124, let-7a/b/d这10条miRNA显著高表达<sup>[3-7]</sup>,提示其可能在晶状体相关疾病中发挥重要作用。本研究通过检测晶状体中这10条常见miRNA的表达水平,比较其在正常幼儿及不同年龄段白内障患者晶状体中的表达差异,并进行靶基因预测、GO和KEGG富集分析,为深入研究miRNA在不同年龄段白内障发生中的作用机制提供依据。

## 1 对象和方法

**1.1 对象** 正常幼儿晶状体组织取自死亡8~24h的尸体眼,来源于西安交通大学医学院第一附属医院角膜移植供体患儿,透明晶状体6个,年龄1~4(平均2.2±0.6)岁;不同年龄段白内障晶状体组织来源于幼儿(先天性白内障)、中青年、老年(年龄相关性白内障)患者手术过程中撕除的前囊膜,其中幼儿白内障患者标本6例,年龄1~3(平均2.0±0.4)岁;中青年白内障患者标本6例,年龄29~45(平均38.7±4.5)岁;老年白内障患者标本6例,年龄62~68(平均65.3±6.8)岁。正常幼儿和白内障幼儿年龄差异无统计学意义( $t=0.535, P=0.605$ ),幼儿、中青年和老年白内障患者各组间年龄差异有统计学意义( $t=-16.892, -61.324, -21.432$ , 均 $P<0.05$ )。所有病例均排除其他眼部病变,晶状体组织均取自晶状体前囊膜,每组标本随机平均分为3等份,用来进行重复试验。本研究严格遵循《赫尔辛基宣言》,并征得患者及/或其监护人的知情同意,获得西安交通大学伦理委员会的批准。

## 1.2 方法

**1.2.1 stem-loop RT-PCR引物设计与合成** miRNA检测需要三种引物,即stem-loop RT引物、miRNA特异性正向引物和一致的miRNA反向引物。stem-loop RT引物是一段含44个碱基的特定序列之后延续6个特异性碱基,这6个特异性碱基与miRNA 3'端的6个碱基反向互补。miRNA特异性正向引物是一段特定的富含GC的序列之后延续特异性碱基,该特异性碱基是由除外miRNA 3'端8个碱基后剩余碱基组成(表1)。一致的miRNA反向引物是一段特定的碱基序列(GTGCAGGTCCTGAGGT)。miRNA引物由西安壮志生物科技有限公司合成。

**1.2.2 晶状体组织总RNA的提取** (1)晶状体组织冰上匀浆后移入1.5mL EP管中,加Trizol试剂(美国Invitrogen公司)1mL,混匀,室温静置5min。(2)加氯仿0.2mL,震荡15s,室温静置3min,4℃、12 000g离心15min。(3)吸取上层水相0.4mL,移至另一EP管中,加0.4mL异丙醇,室温

10min,4℃、12 000g离心10min。(4)倒掉上清液,加75%乙醇(无RNA酶水配置)1mL,震荡充分洗涤沉淀,4℃、7500g离心5min。(5)干燥后沉淀溶解于无RNA酶水中备用。

**1.2.3 stem-loop RT-PCR法检测miRNA的表达** 每个样本取总RNA 1μL,2μmol/L stem-loop RT引物1μL,加入到RT体系中,震荡溶解后短暂离心,设置反应条件为42℃ cDNA合成60min,85℃反转录失活5s,-20℃保存备用。将RT反应后的cDNA溶液稀释为浓度0.5ng/μL,将miRNA正向引物和反向引物配制为浓度0.2μmol/L,取该两种溶液各5μL,并且与10μL SYBR green混合,反应体系为20μL,反应程序为:95℃ 3min 1个循环;95℃ 15s,60℃ 30s 40个循环,从65℃开始,每5s增加0.5℃到95℃,最后4℃结束。内参采用β-actin,引物序列:F:ACTACCTCATGAAGATCCTCA,R:CAGGAGGAGCAATGATCTTGA。逆转录PCR试剂盒和荧光定量PCR试剂盒购自北京康为世纪生物科技有限公司。PCR结果分析采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行计算,分析相对表达量。

**1.2.4 miRNA靶基因预测及GO/KEGG富集分析** 本研究使用miRWalk2(<http://zmf.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk2/>)在线工具预测miRNA的靶基因,然后汇总并采用R语言clusterProfiler包(<http://www.bioconductor.org/packages/release/bioc/html/clusterProfiler.html>)对预测的靶基因进行GO和KEGG通路富集分析。

统计学分析:采用SPSS 19.0软件对所有数据进行统计学分析。所有数据采用均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,两组间比较应用独立样本 $t$ 检验;三组间比较应用单因素方差分析,若差异有统计学意义,进一步两两比较采用Tukey检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 常见的晶状体miRNA** 近年来不同研究者采用多种分子生物学技术(如*In situ* hybridization、Microarray等)检测逾50种miRNA在晶状体组织中的表达,不同方法检测晶状体组织中miRNA表达谱不尽相同,但部分miRNA表达丰度高且功能已经有了初步研究,文献中已有不同研究方法检测到了晶状体中miRNA的表达,见表2。

**2.2 正常幼儿晶状体中miRNA的表达** 使用stem-loop RT-PCR法检测上述10种miRNA在正常幼儿晶状体中的表达情况,发现所有的miRNA均可被检测,但是表达量各不相同( $F=27, P=0.000068$ ),其中miR-184的Ct值(miRNA Ct值与其起始含量相关,起始含量越高,Ct值越小)明显低于其他miRNA,差异均有统计学意义( $P=0.000092, 0.000065, 0.00043, 0.00023, 0.00012, 0.00034, 0.00056, 0.00054, 0.00012$ ),表明miR-184在正常幼儿晶状体中含量最高(图1)。

**2.3 正常幼儿与先天性白内障幼儿晶状体中miRNA的表达** 使用stem-loop RT-PCR法检测正常幼儿与先天性白内障幼儿晶状体中miRNA的表达,结果发现,与正常幼儿相比,先天性白内障幼儿晶状体中6种miRNA表达升高(miR-184, miR-181b, miR-182, miR-183, miR-125b, let-7d),其余均降低,其中miR-184, miR-182表达升高,差异具有统计学意义( $t=12, P=0.0002; t=5.27, P=0.0061$ ),且miR-182表达升高最明显;miR-124, miR-204表达降低,差异具有统计学意义( $t=8.6, P=0.0009; t=13, P=0.00015$ ),且miR-204降低最明显(图2)。

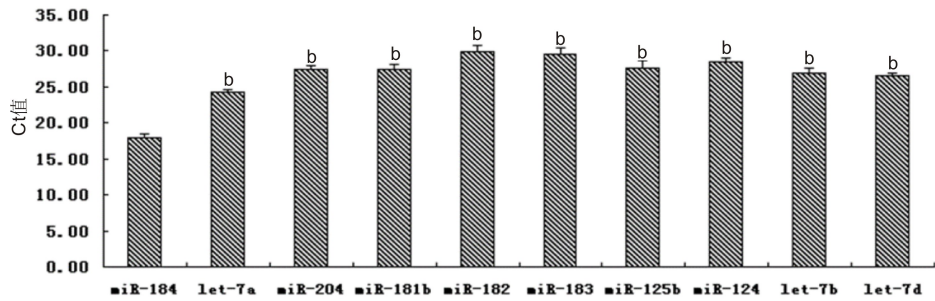


图1 正常幼儿晶状体组织中 miRNA 的表达 <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs miR-184。

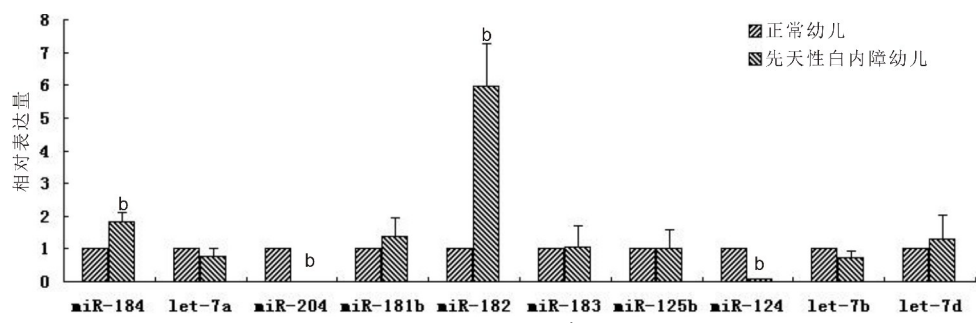


图2 正常幼儿与先天性白内障幼儿晶状体中 miRNA 的相对表达差异 <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常幼儿。

表1 miRNA 序列及其 stem-loop RT 引物和特异性正向引物

miRNA	miRNA 序列	stem-loop RT 引物	正向引物
miR-184	UGGACGGAGAACUGAUAAAGGGU	<sup>a</sup> -ACCCTT	<sup>b</sup> -AACATTCAACGCTGT
let-7a	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	<sup>a</sup> -AACTAT	<sup>b</sup> -TGAGGTAGTAGGTT
miR-204	UUCCCUUUGUCAUCCUAUGCCU	<sup>a</sup> -AGGCAT	<sup>b</sup> -TTCCCTTTGTCATC
miR-181b	AACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGU	<sup>a</sup> -ACCCAC	<sup>b</sup> -AACATTCATTGCTGT
miR-182	UUUGGCAAUGGUAGAACUCACACU	<sup>a</sup> -AGTGTG	<sup>b</sup> -TTTGGCAATGGTAGA
miR-183	UAUGGCACUGGUAGAAUUCACU	<sup>a</sup> -AGTGAA	<sup>b</sup> -TATGGCACTGGTAG
miR-125b	UCCCUGAGACCCUAACUUGUGA	<sup>a</sup> -TCACAA	<sup>b</sup> -TCCCTGAGACCCTA
miR-124	UAAGGCACGCGGUGAAUGCC	<sup>a</sup> -GGCATT	<sup>b</sup> -TAAGGCACGCGG
let-7b	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGUU	<sup>a</sup> -AACCAC	<sup>b</sup> -TGAGGTAGTAGGTT
let-7d	AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU	<sup>a</sup> -AACTAT	<sup>b</sup> -TGAGGTAGTAGGTT

注:a-表示 GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGACTGGATACGAC;b-表示 CGGCG。

表2 不同方法检测晶状体中 miRNA 的表达

检测方法	miRNA
<i>In situ</i> hybridization (ISH) <sup>[5-6]</sup>	miR-184, miR-204, let-7b
Microarray <sup>[5]</sup>	miR-184, miR-204, miR-181b, let-7b
Real-time PCR <sup>[4,7]</sup>	miR-184, miR-204, miR-125b, miR-181b, let-7b/d
Northern blot <sup>[3]</sup>	miR-124, miR-125b, miR-184, miR-204, miR-182, miR-183, let-7a/b

2.4 不同年龄段白内障患者晶状体中 miRNA 的表达 使用 stem-loop RT-PCR 法检测不同年龄段白内障患者晶状体中 miRNA 的表达,结果发现,与幼儿患者相比,中青年和老年患者晶状体中 miRNA 表达均有变化(miR-184:  $F = 91.3, P = 0.00070$ ; let-7a:  $F = 82.19, P = 0.00008$ ; miR-204:  $F = 32.09, P = 0.00055$ ; miR-181b:  $F = 24.05, P = 0.001$ ; miR-182:  $F = 31.99, P = 0.0006$ ; miR-183:  $F = 120.9, P = 0.0007$ ; miR-125b:  $F = 8.533, P = 0.0176$ ; miR-124:  $F = 19.00, P = 0.0025$ ; let-7b:  $F = 10.33, P = 0.0114$ ; let-7d:  $F = 130.9, P = 0.0001$ ),中青年患者晶状体中 miR-204 ( $P = 0.034$ )、miR-124 ( $P = 0.033$ )、let-7d ( $P = 0.00013$ ) 表达升高,miR-184 ( $P = 0.00009$ )、miR-183 ( $P = 0.0045$ )、let-7a ( $P = 0.00005$ ) 表达降低,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ );老年患者晶状体中 miR-204 ( $P =$

$0.000085$ )、miR-182 ( $P = 0.0076$ )、miR-124 ( $P = 0.003$ ) 表达升高,miR-184 ( $P = 0.00006$ )、miR-181b ( $P = 0.00096$ )、miR-183 ( $P = 0.00015$ )、miR-125b ( $P = 0.003$ )、let-7a ( $P = 0.00003$ )、let-7b ( $P = 0.0176, P = 0.005$ )、let-7d ( $P = 0.023$ ) 表达降低,差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,图3)。

2.5 差异表达的 miRNA 靶基因通路富集分析 由于年龄相关性白内障患者晶状体中 10 条 miRNA 均存在表达差异,为了探索其可能的功能机制,本研究使用 miRWalk 在线工具预测这 10 条 miRNA 的靶基因,共计 2937 个,并进行靶基因的 GO 和 KEGG 富集分析。靶基因的 GO 分析显示(图4A),细胞与基质之间的连接富集最多,提示晶状体上皮细胞与囊袋及内层皮质之间的紧密连接在维持晶状体正常形态及透明性方面发挥重要作用。KEGG 富集分

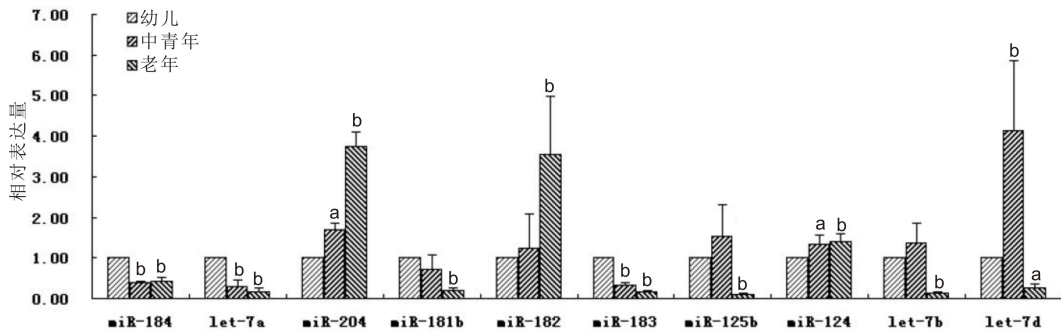


图3 不同年龄段白内障患者晶状体中 miRNA 的相对表达差异 <sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 幼儿。

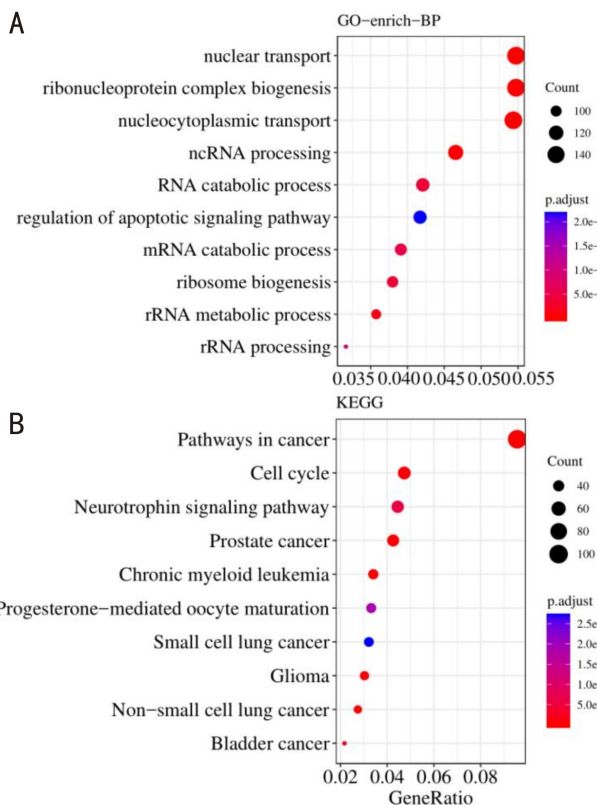


图4 miRNA 靶基因 GO 和 KEGG 富集分析 A:10 条 miRNA 靶基因 GO 富集分析;B:10 条 miRNA 靶基因 KEGG 富集分析。

析显示(图4B),肿瘤相关通路富集最多,可能是由于肿瘤中 miRNA 研究最广泛所致,众所周知,晶状体无肿瘤性疾病。其次细胞周期排名靠前,而晶状体上皮细胞的过度凋亡是白内障的细胞学基础<sup>[8]</sup>,细胞周期与细胞凋亡紧密相关,进一步说明 miRNA 在调控白内障中发挥着重要作用。

### 3 讨论

miRNA 可调节人类基因组中约 1/3 基因的表达,功能涉及生物体多种生理和病理过程<sup>[9]</sup>。近年研究发现,部分 miRNA 在晶状体中稳定表达,它们的功能与白内障的发生相关。本课题组之前的研究使用 Microarray 技术在成人正常晶状体中检测发现 206 种 miRNA 表达,其中 miR-184 表达最丰富,其后依次为 let-7b、miR-923、miR-1826、miR-125b、miR-1308、miR-26a 和 miR-638,而在不同年龄段的白内障患者晶状体中 miRNA 表达谱差异明显<sup>[10]</sup>。不同研究报道晶状体中 miRNA 表达谱不尽相同,但部分晶状体相关的 miRNA(表2)始终稳定表达。目前常见晶状体相关 miRNA 的研究多集中在老年人(正常或白内障)晶状体组织中,对其在幼儿及中青年晶状体组织

中表达的研究较少。本研究提取正常幼儿晶状体组织总 RNA,检测其中常见晶状体相关 miRNA 的表达,结果发现该类 miRNA 在正常幼儿晶状体组织中均有表达,表达量各不相同,其中 miR-184 的 Ct 值明显低于其他 miRNA,表明 miR-184 在正常幼儿晶状体组织中表达量最高,这与本课题组之前在成人透明晶状体中的研究结果一致。miR-184 在角膜上皮细胞中被首次报道,是角膜和晶状体组织中显著表达的一种 miRNA,研究发现,miR-184 可以抑制血管内皮生长因子(VEGF)的表达,通过维持 SHIP2(SH2 结构域的 II 型肌醇 5' 磷酸酶)的水平抑制血管生长,在维持正常角膜无血管状态中发挥重要作用。晶状体也是眼部重要的屈光介质之一,无血管状态保证了其基本的屈光功能,miR-184 在晶状体中的高表达可能与其能够维持无血管状态相关<sup>[11-12]</sup>。

此外,有研究报道多种 miRNA 表达与白内障的发生相关。Yao 等<sup>[13]</sup>在不同生长阶段鼠的晶状体中检测 miRNA 的表达,发现 miR-29c 可通过调节 FOS 影响白内障的发生;在研究晶状体生长、衰老过程中,Chien 等研究发现与组织衰老相关的 miR-34a 表达量与晶状体混浊程度呈正相关,严重混浊的晶状体中其表达水平较高,甚至有学者认为 miR-34a 可以作为白内障的一种标记物<sup>[14-15]</sup>。虽然有关 miRNA 调节白内障发生的研究越来越多,但在先天性白内障幼儿晶状体中是否有 miRNA 表达的改变仍罕有报道。因此,本研究检测先天性白内障幼儿晶状体中 miRNA 的表达并与正常幼儿进行比较,发现在先天性白内障幼儿晶状体中多种 miRNA 表达发生变化,其中 miR-184、miR-182 表达升高,miR-124、miR-204 表达降低。既往研究报道,在晶状体中 miR-124 与 HuB/C/D、nPTB、REST4 相互作用,能够维持晶状体细胞的正常特性,保持晶状体透明<sup>[16]</sup>,同时 Conte 等<sup>[17]</sup>研究表明在胚胎发育早期敲除 miR-204 基因的动物模型会出现晶状体异常、小眼球等特征。本研究中,先天性白内障幼儿晶状体 miR-124 和 miR-204 表达明显降低,这与之前的研究结果相似,进一步证实了 miR-124 和 miR-204 对维持晶状体正常功能及特性的重要性。

为了进一步揭示 miRNA 在不同年龄段白内障患者晶状体中的表达情况,我们分别对幼儿(先天性白内障)、中青年、老年(年龄相关性白内障)患者晶状体中 miRNA 的表达进行了检测,结果发现,与先天性白内障幼儿相比,中青年白内障患者晶状体 miR-204、miR-124 和 let-7d 表达升高,miR-184、miR-183 和 let-7a 表达降低;年龄相关性白内障患者晶状体所有被检测 miRNA 表达均有变化,其中 miR-182、miR-204、miR-124 表达升高,miR-184、

miR-181b、miR-183、miR-125b、let-7a/b/d 表达均降低。在表达差异 miRNA 中,已经发现 miR-182 在感觉器官中特异性表达,大鼠眼部组织中检测其表达丰富,且具有重要作用<sup>[18-19]</sup>,Li 等<sup>[20]</sup>发现 miR-182 与衰老相关,其可能通过调节 RARG 的表达引起细胞过早发生衰竭和死亡。衰老是年龄相关性白内障发生的根本原因,本研究发现年龄相关性白内障患者晶状体中 miR-182 表达明显高于先天性 and 中青年白内障患者,这进一步说明了 miR-182 与衰老相关,并可能在年龄相关性白内障的发生中发挥重要作用。

综上所述,目前关于 miRNA 在晶状体中表达的研究逐年增加,但尚未见正常幼儿和不同年龄段白内障患者晶状体中 miRNA 表达比较的报道。本研究在正常幼儿和不同年龄段白内障患者晶状体中检测发现多种 miRNA 表达,其中 miR-184 在正常幼儿晶状体中表达量最高;miR-124 和 miR-204 在先天性白内障幼儿晶状体中的表达明显低于正常幼儿,分析可能与它们维持晶状体正常功能和特性相关;年龄相关性白内障患者晶状体中 miR-182 表达量明显增加,分析可能与 miR-182 调节衰老相关。上述结果表明,miRNA 在不同年龄段白内障发生过程中发挥不同作用,但其具体的作用机制尚待深入的研究。

#### 参考文献

- 1 李宇博,王峰,苏颖. miR-15a 在眼科疾病中的研究现状及进展. 国际眼科杂志 2020; 20(6): 999-1002
- 2 Saliminejad K, Khorram Khorshid HR, Soleymani Fard S, et al. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *J Cell Physiol* 2019; 234(5): 5451-5465
- 3 Frederikse PH, Donnelly R, Partyka LM. miRNA and Dicer in the mammalian lens: expression of brain-specific miRNAs in the lens. *Histochem Cell Biol* 2006; 126(1): 1-8
- 4 Makarev E, Spence JR, Del Rio-Tsonis K, et al. Identification of microRNAs and other small RNAs from the adult newt eye. *Mol Vis* 2006; 12: 1386-1391
- 5 Ryan DG, Oliveira-Fernandes M, Lavker RM. MicroRNAs of the mammalian eye display distinct and overlapping tissue specificity. *Mol Vis* 2006; 12: 1175-1184
- 6 Karali M, Peluso I, Gennarino VA, et al. miRNeYE: a microRNA expression atlas of the mouse eye. *BMC Genomics* 2010; 11: 715
- 7 Nakamura K, Maki N, Trinh A, et al. miRNAs in newt lens

regeneration: specific control of proliferation and evidence for miRNA networking. *PLoS One* 2010; 5(8): e12058

- 8 Li WC, Kuszak JR, Dunn K, et al. Lens epithelial cell apoptosis appears to be a common cellular basis for non-congenital cataract development in humans and animals. *J Cell Biol* 1995; 130(1): 169-181
- 9 Cui J, Zhou B, Ross SA, et al. Nutrition, microRNAs, and Human Health. *Adv Nutr* 2017; 8(1): 105-112
- 10 Wu C, Lin H, Wang Q, et al. Discrepant expression of microRNAs in transparent and cataractous human lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53(7): 3906-3912
- 11 Park JK, Peng H, Yang W, et al. miR-184 exhibits angiostatic properties via regulation of Akt and VEGF signaling pathways. *FASEB J* 2017; 31(1): 256-265
- 12 Wu P, Zhang D, Geng Y, et al. Circular RNA-ZNF609 regulates corneal neovascularization by acting as a sponge of miR-184. *Exp Eye Res* 2020; 192: 107937
- 13 Yao L, Yang L, Song H, et al. MicroRNA miR-29c-3p modulates FOS expression to repress EMT and cell proliferation while induces apoptosis in TGF- $\beta$ 2-treated lens epithelial cells regulated by lncRNA KCNQ1OT1. *Biomed Pharmacother* 2020; 129: 110290
- 14 Chien KH, Chen SJ, Liu JH, et al. Correlation between microRNA-34a levels and lens opacity severity in age-related cataracts. *Eye(Lond)* 2013; 27(7): 883-888
- 15 Wei YL, Sun H. Identification of hsa-mir-34a, hsa-mir-124, and hsa-mir-204 as signatures for cataract. *J Cell Physiol* 2019; 234(7): 10709-10717
- 16 Bitel CL, Perrone-Bizzozero NI, Frederikse PH. HuB/C/D, nPTB, REST4, and miR-124 regulators of neuronal cell identity are also utilized in the lens. *Mol Vis* 2010; 16: 2301-2316
- 17 Conte I, Carrella S, Avellino R, et al. miR-204 is required for lens and retinal development via Meis2 targeting. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(35): 15491-15496
- 18 Bellon A, Iyer A, Bridi S, et al. miR-182 Regulates Slit2-Mediated Axon Guidance by Modulating the Local Translation of a Specific mRNA. *Cell Rep* 2017; 18(5): 1171-1186
- 19 Wu KC, Chen XJ, Jin GH, et al. Deletion of miR-182 Leads to Retinal Dysfunction in Mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2019; 60(4): 1265-1274
- 20 Li G, Luna C, Qiu J, et al. Alterations in microRNA expression in stress-induced cellular senescence. *Mech Ageing Dev* 2009; 130(11-12): 731-741