

Dickkopf-1 调控 Wnt 通路在缺氧诱导的晶状体上皮细胞转分化中的作用

李彦松¹, 孙乙², 朱玉广¹, 钟莹莹¹

引用:李彦松,孙乙,朱玉广,等. Dickkopf-1 调控 Wnt 通路在缺氧诱导的晶状体上皮细胞转分化中的作用. 国际眼科杂志 2023;23(10):1627-1633

基金项目:潍坊医学院附属医院医学研究培育基金项目(No. 2021wyfyzjj13);潍坊市科技发展计划项目(No.2020YX044)

作者单位:¹(261053)中国山东省潍坊市,潍坊医学院附属医院(临床医学院)眼科中心;²(266033)中国山东省青岛市,青岛大学附属青岛市海慈医院(青岛市中医医院)

作者简介:李彦松,潍坊医学院在读硕士研究生,研究方向:白内障。

通讯作者:钟莹莹,毕业于潍坊医学院,硕士,主治医师,研究方向:白内障、角膜病的基础与临床研究. phoenixzhongyi@163.com

收稿日期:2023-01-27 修回日期:2023-08-30

摘要

目的:探讨缺氧条件下 Wnt/ β -catenin 通路在晶状体上皮细胞上皮-间充质转化(EMT)中的作用,分析 Dickkopf-1(DKK-1)的表达对晶状体上皮细胞 EMT 的影响。

方法:将体外培养人晶状体上皮细胞(HLEB3 细胞)分为正常氧培养组(加入含 10% FBS 的 DMEM 培养液)和缺氧培养组(加入含 100 μ mol/L CoCl₂ 溶液的培养液进行缺氧处理 6、12、24、48h)。利用免疫荧光染色法检测 Wnt3a 和 DKK-1 蛋白的表达及 β -catenin 蛋白的表达和定位;利用 qRT-PCR 法检测 DKK-1 mRNA 的表达。

结果:免疫荧光染色结果显示,随着缺氧时间的延长,HLEB3 细胞中 Wnt3a 和 DKK-1 蛋白表达水平明显上调, β -catenin 蛋白在细胞核内积聚逐渐增多。qRT-PCR 检测结果显示,与正常氧培养组相比较,缺氧培养 6h 组细胞中 DKK-1 mRNA 无显著差异($P>0.05$),而缺氧培养 12、24、48h 组细胞中 DKK-1 mRNA 表达明显增加($P<0.001$)。

结论:缺氧可以激活晶状体上皮细胞 Wnt/ β -catenin 通路,并诱导 Dickkopf-1 的表达,参与调控 Wnt/ β -catenin 通路,影响 EMT 进程。

关键词:Wnt/ β -catenin 信号通路;Dickkopf-1(DKK-1);缺氧;晶状体上皮细胞;转分化

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2023.10.05

Effect of Dickkopf-1 regulated Wnt pathway on transdifferentiation of hypoxia-induced lens epithelial cells

Yan-Song Li¹, Yi Sun², Yu-Guang Zhu¹, Ying-Ying Zhong¹

Foundation items: Medical Research Cultivation Fund of Affiliated

Hospital of Weifang Medical University (No. 2021wyfyzjj13); Science and Technology Development Project of Weifang (No. 2020YX044)

¹Eye Center, Affiliated Hospital of Weifang Medical University (School of Clinical Medicine), Weifang 261053, Shandong Province, China; ²Qingdao Hiser Hospital Affiliated to Qingdao University (Qingdao Traditional Chinese Medicine Hospital), Qingdao 266033, Shandong Province, China

Correspondence to: Ying-Ying Zhong. Eye Center, Affiliated Hospital of Weifang Medical University (School of Clinical Medicine), Weifang 261053, Shandong Province, China. phoenixzhongyi@163.com

Received:2023-01-27 Accepted:2023-08-30

Abstract

• AIM: To scrutinize the role of the Wnt/ β -catenin signaling pathway in the epithelial-mesenchymal transition (EMT) of lens epithelial cells under hypoxic conditions, and to further analyze the effect of Dickkopf-1 (DKK-1) expression on EMT of lens epithelial cells.

• METHODS: Human lens epithelial cells (HLEB3 cells) were propagated *in vitro* and then separated into two groups: one exposed to standard oxygen levels, added DMEM culture solution containing 10% FBS (normoxic group) and another subjected to low oxygen levels (hypoxic group). The hypoxic condition was emulated by applying a concentration of 100 μ mol/L cobalt chloride (CoCl₂) for 6, 12, 24, and 48h. The utilization of immunofluorescence staining enabled the detection of Wnt3a and DKK-1 expressions, along with the expression and localization of β -catenin protein in these groups. The expression of DKK-1 mRNA was discerned by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR).

• RESULTS: Immunofluorescence assays indicated an escalating trend in the Wnt3a and DKK-1 protein expression, which corresponded with the increasing duration of hypoxia. Likewise, an intensified nuclear accumulation of β -catenin protein was observed to be directly proportional to the length of hypoxia treatment. The qRT-PCR demonstrated that the difference in DKK-1 mRNA expression between the normoxic group and the group exposed to hypoxia for 6h was not statistically significant ($P>0.05$), whereas the DKK-1 mRNA expression of the 12, 24, and 48h hypoxia groups were significantly increased ($P<0.001$).

• CONCLUSION: Hypoxia can activate Wnt/ β -catenin pathway in lens epithelial cells and induce the expression of DKK-1, thus regulating the Wnt/ β -catenin pathway and affecting the EMT process.

• KEYWORDS: Wnt/ β -catenin signaling pathway; Dickkopf-1 (DKK-1); hypoxia; lens epithelial cells; transdifferentiation

Citation: Li YS, Sun Y, Zhu YG, et al. Effect of Dickkopf-1 regulated Wnt pathway on transdifferentiation of hypoxia-induced lens epithelial cells. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023;23(10):1627-1633

0 引言

后囊膜混浊 (posterior capsular opacification, PCO), 又称后发性白内障, 是白内障术后主要的一种并发症, 发生于白内障术后或晶状体外伤后, 由于残留的晶状体皮质或晶状体上皮细胞 (lens epithelial cells, LECs) 发生增殖, 形成混浊, 使患者的视力再次下降, 是影响白内障术后患者视力恢复的一个重要因素^[1]。正常情况下, LECs 位于晶状体前部, 处于富氧区, 而白内障术后晶状体囊袋内残留的 LECs 由前部富氧区移行至晶状体后部的缺氧微环境中, 在缺氧、炎症因子等刺激下, LECs 在数小时内开始发生增殖、迁移和转分化过程^[2]。既往研究发现, 诱导 Wnt3a 过表达能够促进 LECs 的上皮-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 过程, 激活核内靶基因 C-myc 和 Cyclin D1 的表达, 促进 LECs 增殖^[3]。在体外培养的 LECs 中加入外源性 Dickkopf-1 (DKK-1) 后发现, β -catenin 核转移明显减少, 下游核内靶基因 C-myc 和 Cyclin D1 的表达明显下降, 证实外源性应用 DKK-1 能够抑制经典 Wnt 通路, 抑制 LECs 的 EMT 过程^[4]。但在缺氧条件下, 经典 Wnt 通路能否激活并发挥作用尚未见报道。本研究旨在探讨缺氧条件下 Wnt/ β -catenin 通路在 LECs 的 EMT 过程中的作用, 分析 DKK-1 表达对 LECs 的 EMT 过程的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验细胞 人晶状体上皮细胞 (HLEB3 细胞) 购买于深圳市豪地华拓生物科技有限公司。

1.1.2 主要试剂和仪器设备 主要试剂: DMEM 培养基 (GIBCO 公司), 胎牛血清 (FBS, 杭州四季青公司), 氯化钴六水合物 (Sigma 公司), 兔抗人 Wnt3a 单克隆抗体、兔抗人 β -catenin 单克隆抗体 (Abcam 公司), DKK-1 重组兔单克隆抗体 (Thermo Fisher Scientific), Alexa Fluor 488 标记亲和纯化山羊抗兔 IgG (H+L) 二抗 (Abways 公司), Trizol RNA 提取液 (Biosharp 公司), 逆转录试剂盒 (Takara 公司)。主要仪器设备: CO₂ 细胞培养箱 (Thermo Fisher Scientific), 倒置相差照相显微镜、荧光显微镜 (OLYMPUS)。

1.2 方法

1.2.1 HLEB3 细胞培养及传代 快速解冻保存于液氮的 HLEB3 细胞, 加入含 10% FBS 的 DMEM 培养液, 吹打混匀后培养, 1~2d 更换 1 次培养液, 融合度达 80% 时, 胰蛋白酶消化传代。

1.2.2 HLEB3 细胞缺氧模型的构建 取处于对数生长期的 HLEB3 细胞, 胰蛋白酶消化后, 加入培养液继续培养 24h, 观察细胞贴壁后去培养液, 加入浓度为 100 μ mol/L 的

CoCl₂ 溶液, 置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 饱和湿度培养箱内进行培养。

1.2.3 划痕实验观察细胞迁移能力 取对数生长期、生长状态良好的 HLEB3 细胞, 传代后以每孔 1×10^6 个细胞均匀接种于 6 孔细胞培养板内, 置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 的细胞培养箱中培养 24h 后, 使用高压灭菌后的 200 μ L 枪头在 6 孔板上划痕, 正常氧培养组加入 10% FBS 的 DMEM 培养液, 缺氧培养组加入含 100 μ mol/L CoCl₂ 溶液的培养液, 置于培养箱中培养, 每组设置 2 个复孔。于划痕后 0、24h 时分别在倒置显微镜下拍照记录各组细胞划痕之间的距离及细胞形态, 计算细胞迁移率。细胞迁移率 = (0h 划痕距离 - 24h 划痕距离) / 0h 划痕距离 \times 100%。在同等实验条件下重复 3 次。

1.2.4 免疫荧光法测定 Wnt3a 和 β -catenin 及 DKK-1 蛋白的表达 取对数生长期、生长状态良好的 HLEB3 细胞, 传代后以每孔 1×10^4 个细胞均匀接种于 96 孔细胞培养板中, 置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 培养箱中培养 24h 后, 正常氧培养组加入含 10% FBS 的 DMEM 培养液, 缺氧培养组加入含 100 μ mol/L CoCl₂ 溶液的细胞培养液, 分别培养 6、12、24、48h 后, 行免疫荧光染色。4% 多聚甲醛室温下固定 20min, 0.3% Triton X-100 通透 10min, 10% 山羊血清室温下封闭 30min, 每孔滴加足量的一抗 (稀释比例: Wnt3a 1:100, β -catenin 1:250, DKK-1 1:100), 每组设置 5 个复孔, 37 $^{\circ}$ C 孵育 2h 后置于 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。在暗室中滴加荧光二抗 37 $^{\circ}$ C 孵育 30min, 滴加 DAPI 孵育 5min, 加入抗荧光淬灭剂进行封片, 荧光显微镜下观察并采集图像, 为确保染色强度比较的有效性, 对于同一蛋白的测定使用相同配置进行成像。所有实验在同等实验条件下重复 3 次, 应用 Image J 软件对实验结果进行分析。

1.2.5 qRT-PCR 检测 DKK-1 mRNA 的表达 取对数生长期、生长状态良好的 HLEB3 细胞传代后接种于 6 孔细胞培养板内, 置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 培养箱中培养至细胞贴壁后用 PBS 冲洗, 正常氧培养组加入含 10% FBS 的 DMEM 培养液, 缺氧培养组加入含 100 μ mol/L 的 CoCl₂ 培养基进行缺氧处理 6、12、24、48h 后, 采用 Trizol RNA 提取液提取总 RNA, 逆转录合成 cDNA, 以 cDNA 为模板进行 PCR 反应。PCR 引物序列见表 1。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 预变性 30s; 95 $^{\circ}$ C 变性 5s, 60 $^{\circ}$ C 退火及延伸 30s, 40 个循环; 最后 60 $^{\circ}$ C ~ 95 $^{\circ}$ C 融解。采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算 DKK-1 mRNA 的相对表达量。

统计学分析: 应用 SPSS 26.0 统计学软件对实验结果进行分析。所有数据进行正态性分布及方差齐性检验, 服从正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差的形式表示, 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, 组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

表 1 引物序列

基因名称	引物序列
DKK-1 Sense	5'-CCTGAACTCGGTCTCAATCC-3'
DKK-1 Antisense	5'-CAATGGTCTGGTACTTATCCCG-3'
β -actin Sense	5'-CTACCTCATGAAGATCCTCACC-3'
β -actin Antisense	5'-AGTTGAAGGTAGTTTCGTGGAT-3'

2 结果

2.1 缺氧对晶状体上皮细胞迁移能力的影响 划痕实验结果显示,正常氧培养组和缺氧培养组细胞迁移率分别为 $(14.54\pm 3.66)\%$ 、 $(14.71\pm 4.52)\%$,两组间比较差异无统计学意义($t = -0.18, P = 0.86$)。观察两组细胞迁移运动发现,两组细胞迁移率未见显著差异,但缺氧培养组个别细胞运动随意,表现出单个细胞迁移运动;观察两组细胞形态发现,正常氧培养组细胞排列规则,表现为规则的梭形,结构稳定,但缺氧培养组部分细胞胞体延长伸展,细胞呈现极性(图1)。

2.2 缺氧对晶状体上皮细胞 Wnt3a 蛋白表达的影响 免疫荧光检测结果显示,与正常氧培养组相比,随着缺氧处理时间延长,Wnt3a 蛋白表达明显上调,在细胞内的分布明显增加(图2)。正常氧培养组、缺氧培养(6、12、24、48h)组细胞中 Wnt3a 蛋白平均荧光强度分别为 1.35 ± 0.41 、 1.58 ± 0.21 、 2.53 ± 0.54 、 2.89 ± 0.55 、 3.59 ± 0.65 。

2.3 缺氧对晶状体上皮细胞 DKK-1 蛋白表达的影响 免疫荧光检测结果显示,与正常氧培养组相比,随着缺氧处理时间的延长,DKK-1 蛋白在细胞内的表达上调(图3)。正常氧培养组、缺氧培养(6、12、24、48h)组细胞中 DKK-1 蛋白平均荧光强度分别为 0.66 ± 0.12 、 0.74 ± 0.21 、 0.82 ± 0.18 、 0.98 ± 0.19 、 1.42 ± 0.13 。

2.4 缺氧对晶状体上皮细胞 β -catenin 蛋白表达的影响 免疫荧光检测结果显示, β -catenin 蛋白在正常氧培养组细胞中几乎均位于细胞浆中;缺氧培养 6h 后, β -catenin 蛋白在细胞浆和细胞膜上表达增强;缺氧培养 24h 后, β -catenin 蛋白表达明显上调,并逐渐向细胞核内转移,随着缺氧处理时间的延长,细胞核内积聚逐渐增多;缺氧培养 48h 后, β -catenin 蛋白在细胞浆、细胞膜及细胞核内均有表达(图4)。

2.5 缺氧对晶状体上皮细胞 DKK-1 mRNA 表达的影响 qRT-PCR 检测结果显示,正常氧培养组、缺氧培养(6、12、24、48h)组细胞 DKK-1 mRNA 相对表达水平分别为 1.01 ± 0.15 、 1.29 ± 0.15 、 2.15 ± 0.11 、 2.99 ± 0.23 、 5.21 ± 0.23 ,差异有统计学意义($F = 259.55, P < 0.001$),与正常氧培养组相比,缺氧培养 6h 组细胞 DKK-1 mRNA 表达少量增加,差异无统计学意义($P = 0.088$),而缺氧培养 12、24、48h 组细胞 DKK-1 mRNA 表达量明显增加,差异均有统计学意义($P < 0.001$)。

3 讨论

PCO 是影响白内障术后视力的一种主要并发症,主要作用机制是白内障术后残留的 LECs 发生了 EMT^[5]。LECs 为单层立方上皮,位于晶状体前囊膜及赤道部囊膜下,细胞与细胞之间通过缝隙连接和桥粒等连接紧密结构形成屏障,阻挡大分子物质进出细胞。正常情况下,晶状体的前部由含氧量较高的房水供氧,晶状体后部由含氧量较低的玻璃体供氧,白内障术后 LECs 迁移至晶状体后部相对缺氧的微环境中,开始发生增殖、转分化的过程。本课题组前期研究发现,在 LECs 培养液中分别加入 0、25、50、100、200、400 $\mu\text{mol/L}$ CoCl₂ 溶液,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 培养箱中孵育 24h 后,采用 CCK-8 法检测细胞存活率,结果显示在含 100 $\mu\text{mol/L}$ CoCl₂ 溶液的培养液中细胞存活率更

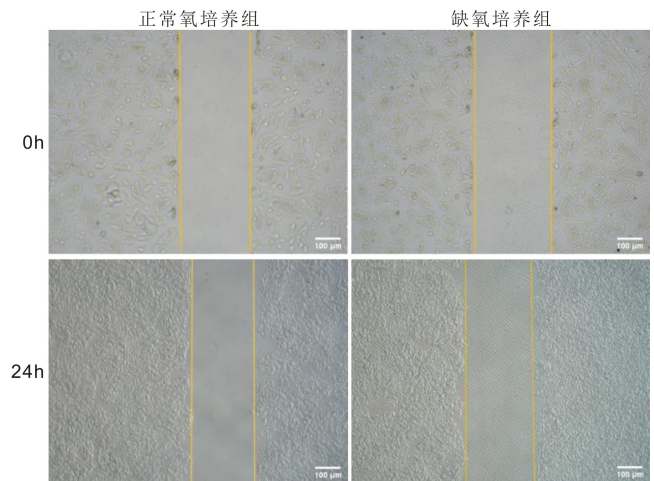


图1 划痕实验观察 HLEB3 细胞运动迁移情况。

高^[6]。本研究选择 100 $\mu\text{mol/L}$ CoCl₂ 作用于 HLEB3 细胞,建立 LECs 缺氧模型,模拟正常机体中 LECs 的缺氧微环境。

细胞迁移是活细胞广泛存在的一种运动形式,是指细胞在受到某些信号刺激后而产生的移动^[7]。晶状体在白内障术后发生创伤愈合反应,残留的 LECs 发生增殖、迁移、EMT 及胶原沉积等过程,由富氧的晶状体前部移行至缺氧的晶状体后部,最终形成皱褶,使后囊膜混浊。细胞划痕实验是比较经典的体外细胞迁移实验,本研究发现,缺氧处理后的 LECs 与正常氧培养组细胞迁移率未见明显差异($P > 0.05$),仅表现为个别细胞胞体延长伸展,细胞呈现极性,出现个别细胞迁移的随意运动。由此认为缺氧诱导的 Wnt 信号通路在 EMT 初期并非发挥主要作用。这与陈曦^[8]研究结论相符,虽然 Wnt/ β -catenin 通路在 PCO 发展过程中被激活,但在疾病发展的不同阶段,表达水平和激活状态不同,随着时间的延长表达不断增加。Wang 等^[9]研究也发现,随着时间的推移,白内障模型鼠晶状体摘除术后残留的 LECs 中 Wnt 表达上调。

Wnt 信号通路是细胞内一条非常重要的信号传导通路,不仅在胚胎形成、发育过程中发挥作用,并且能够调节干细胞的分化和自我更新过程^[10],主要包括 1 条经典的 Wnt/ β -catenin 信号通路及 2 条非经典平面细胞极性(PCP)信号通路和 Wnt/Ca²⁺ 信号通路^[11],其中研究最多的是 Wnt/ β -catenin 信号通路,其异常激活与癌症的发生、代谢紊乱等多种疾病密切相关^[12],由于众多 Wnt 蛋白在眼内均有表达,因此在眼睛器官发育中 Wnt/ β -catenin 信号通路也起着不可或缺的作用,可以调控眼部组织的正常发育。 β -catenin 是一种多功能蛋白,在细胞中有双重作用,其不仅参与 Wnt/ β -catenin 信号通路的转录,还通过与细胞骨架的相互作用在细胞的黏附连接中发挥作用。 β -catenin 与细胞浆 α -catenin 结合形成复合物,将膜钙黏蛋白与肌动蛋白细胞骨架连接起来发挥作用^[13]。Wnt/ β -catenin 信号通路未激活时, β -catenin 以发挥黏附作用为主,在细胞内维持低水平状态,从而抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路下游靶基因的转录。而当 Wnt 配体通过与 LRP5/6 和 Fz 等跨膜受体结合时,激活细胞内的酪氨酸激酶,阻止 β -catenin 磷酸化,促使其在细胞浆内逐渐积累,

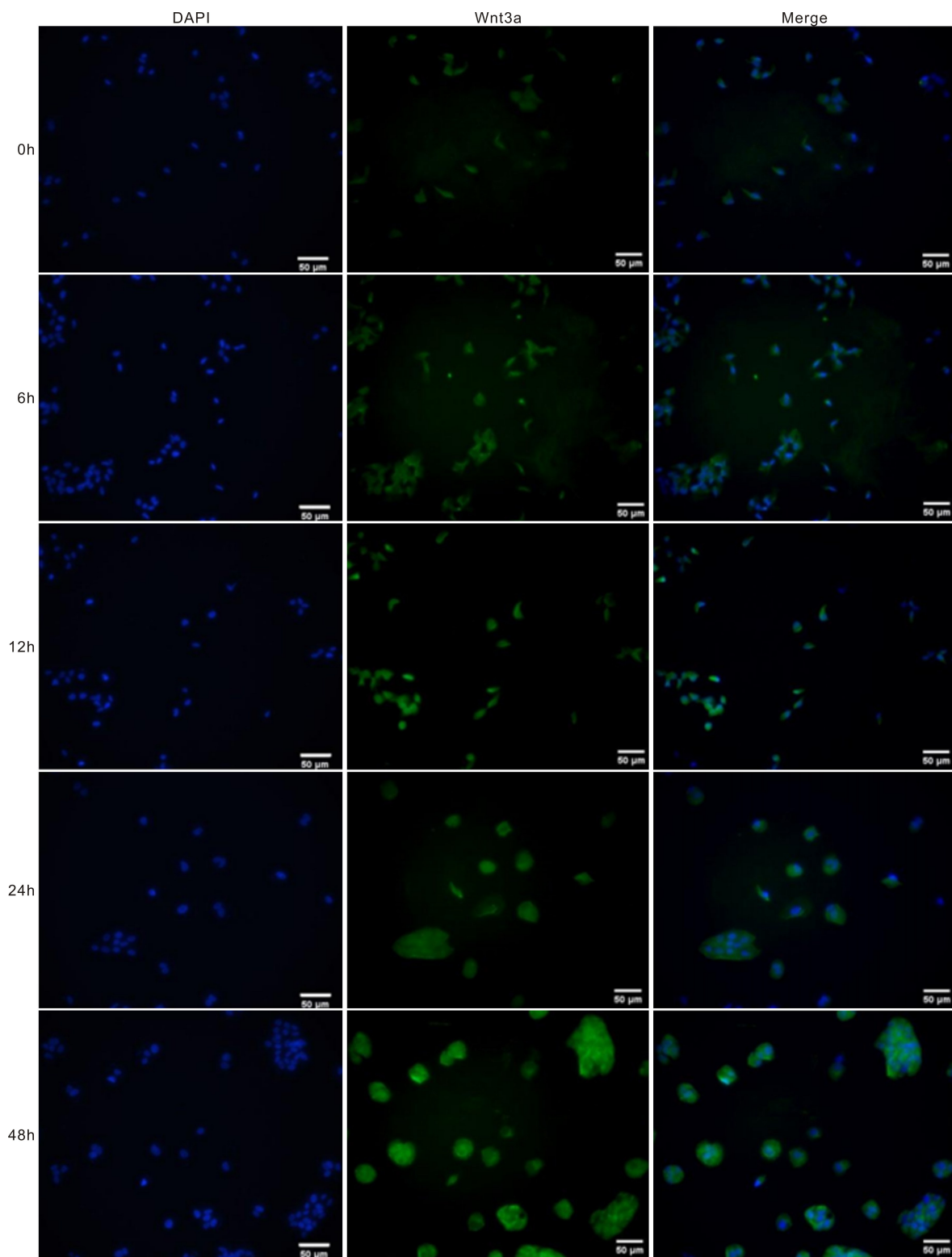


图2 免疫荧光法检测 HLEB3 细胞中 Wnt3a 蛋白的表达情况 蓝色:DAPI 染料进行的 DNA 核染色;绿色:Wnt3a 蛋白表达阳性; Merge:融合图像。

当积累到一定程度时向细胞核内转移,结合转录因子 TCF/LEF1 成员,促进下游靶基因如 CD44、C-myc、Cyclin D1 和基质金属蛋白酶等的转录和表达,抑制细胞黏附,促进细胞的 EMT 转变,从而影响细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭及干细胞分化的能力^[14-18]。 β -catenin 的核转移与细胞增殖、分化和运动密切相关,由于能够结合钙黏蛋白,因此 β -catenin 的核转移也是间充质改变的标志之一。

DKK-1 是一种分泌型糖蛋白,DKK 家族包括 4 种不

同的形式(DKK-1、DKK-2、DKK3 和 DKK-4)。DKK-1 的研究最为成熟,其在许多组织中广泛表达,包括成骨细胞和骨细胞、皮肤、前列腺、胎盘和内皮等^[19-20]。不仅是 Wnt 信号通路的拮抗剂,也是 Wnt/ β -catenin 信号通路的下游信号分子,Wnt 信号通路的激活会导致 DKK-1 自身表达增加,并参与 Wnt 信号通路的负性调节^[21]。DKK-1拮抗 Wnt/ β -catenin 信号通路发挥抑制作用主要通过两方面:(1) DKK-1 直接与 LRP5/6 结合,阻止其

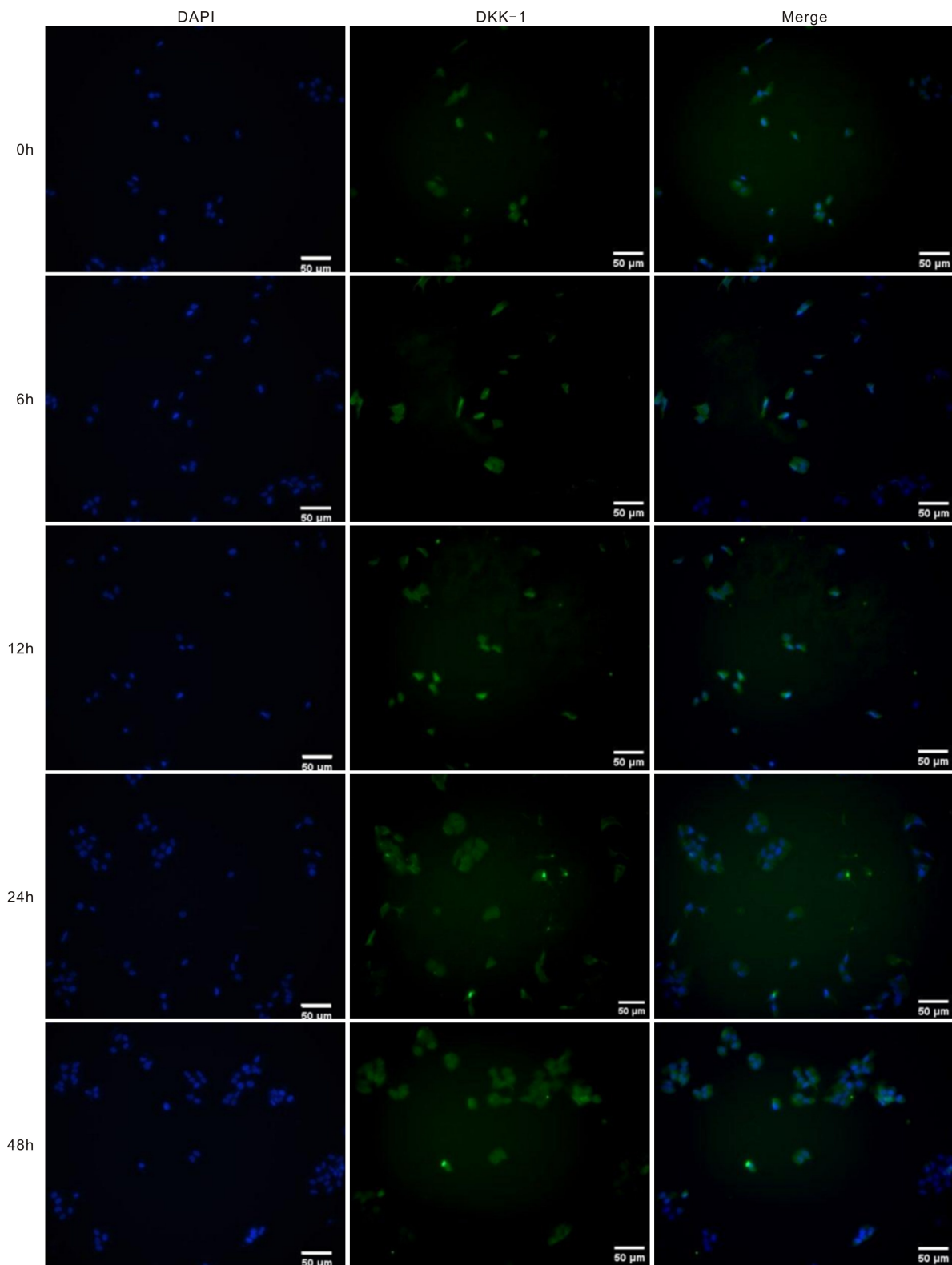


图3 免疫荧光法检测 HLEB3 细胞中 DKK-1 蛋白的表达情况 蓝色:DAPI 染料进行的 DNA 核染色;绿色:DKK-1 蛋白表达阳性; Merge:融合图像。

合成 FZD-Wnt-LRP5/6 三聚体,进而阻止细胞内酪氨酸激酶的激活;(2)通过减少 LRP5/6 发挥作用,DKK-1 与另一种受体 Kremen1/Kremen2 结合,三者之间形成三聚体,诱导细胞发挥内吞作用,使 LRP5/6 数量减少,Wnt 蛋白活性受到明显抑制,不能向细胞内传导,进而影响下游靶基因的转录^[22],以此抑制经典的 Wnt 通路活化。刘婷婷^[23]研究建立 PCO 兔模型,发现 DKK-1 可以抑制 Wnt3a 诱导的 EMT 和 LECs 迁移能力。

本研究通过对 HLEB3 细胞进行缺氧处理,利用免疫荧光检测发现,随着缺氧处理时间的延长,Wnt3a 蛋白表达上调,表明缺氧条件下 Wnt/ β -catenin 通路激活,且随着缺氧处理时间的延长, β -catenin 表达不断增加,在细胞膜、细胞浆内逐渐积聚,并逐渐转移到细胞核中,证实 LECs 发生了 EMT。本研究还发现,随着缺氧处理时间的延长,DKK-1 mRNA 及蛋白表达增加,其中 DKK-1 蛋白为弱阳性表达,说明缺氧激活了 Wnt/ β -catenin 信号通

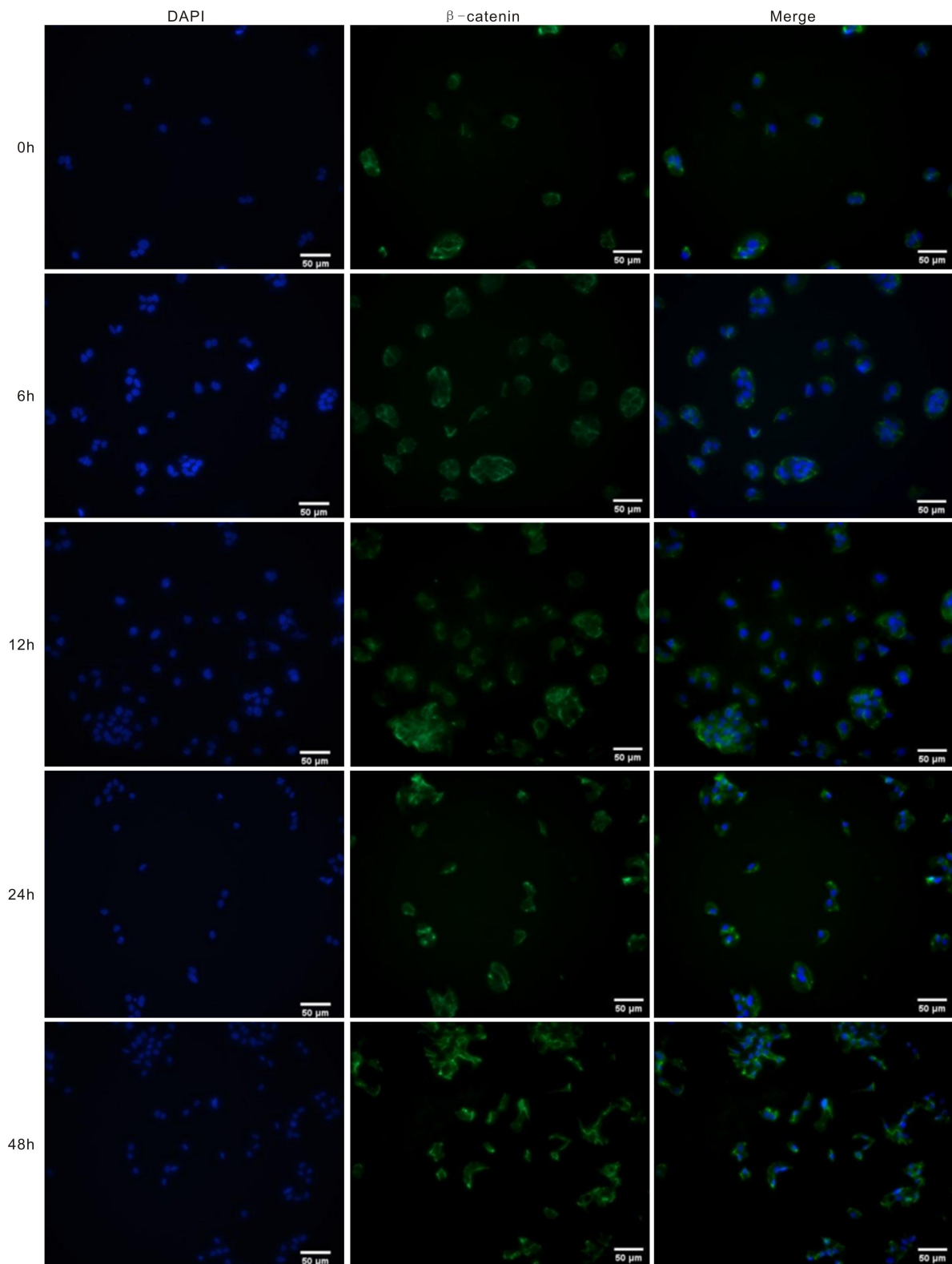


图4 免疫荧光法检测 HLEB3 细胞中 β -catenin 蛋白的表达情况 蓝色:代表 DAPI 染料进行的 DNA 核染色;绿色: β -catenin 蛋白表达阳性;Merge:融合图像。

路,其下游的信号分子 DKK-1 表达增强,影响晶状体上皮细胞 EMT 进程。但尚未发现随着 DKK-1 表达的增强而 β -catenin 入核减少,考虑 DKK-1 作为一种下游分子,少量表达后尚不足以抑制大量表达的 Wnt3a 蛋白的激活作用,因此本研究中发现 β -catenin 蛋白能够持续表达并入核,而张利民^[24]研究发现,外源性加入 Wnt 抑制剂 DKK-1 后能够抑制 β -catenin 的核转移及下游 β -catenin/TCF 信

号通路靶基因 C-myc 和 Cyclin D1 的表达,证实能够抑制 LECs 增殖,我们也将进行后续实验继续研究。

综上所述,缺氧可以诱导 LECs 的 Wnt/ β -catenin 通路激活,参与 LECs 的 EMT 过程,并诱导 DKK-1 表达,这为寻求有效抑制白内障术后 PCO 提供了新靶点。

参考文献

1 Kohnen T. Preventing posterior capsule opacification: what have we learned? *J Cataract Refract Surg* 2011;37(4):623-624

- 2 孙乙, 王惠, 于腾飞, 等. HIF-1 α 基因沉默对缺氧诱导晶状体上皮细胞转分化的影响. 山东医药 2021;61(11):24-27
- 3 Bao XL, Song H, Chen Z, *et al.* Wnt3a promotes epithelial - mesenchymal transition, migration, and proliferation of lens epithelial cells. *Mol Vis* 2012;18:1983-1990
- 4 张利民, 包秀丽. Dickkopf-1 对人晶状体上皮细胞增生的抑制作用及其生物学机制. 中华实验眼科杂志 2020;38(4):285-290
- 5 Feng H, Yang ZB, Bai XE, *et al.* Therapeutic potential of a dual mTORC1/2 inhibitor for the prevention of posterior capsule opacification: an *in vitro* study. *Int J Mol Med* 2018;41(4):2099-2107
- 6 朱艳, 朱玉广, 曹智, 等. 整合素连接激酶在缺氧晶状体上皮细胞中的表达变化及其对细胞上皮-间充质转化的影响. 山东医药 2019;59(8):29-32
- 7 刘艳, 李月洁, 黄小环, 等. 缺氧环境对宫颈腺癌细胞增殖和迁移的影响及其作用机制. 山东医药 2019;59(31):46-50
- 8 陈曦. TGF- β /Smad 和 Wnt/ β -catenin 信号通路在后发性白内障形成中的作用. 重庆医科大学 2021
- 9 Wang YC, Mahesh P, Wang Y, *et al.* Spatiotemporal dynamics of canonical Wnt signaling during embryonic eye development and posterior capsular opacification (PCO). *Exp Eye Res* 2018;175:148-158
- 10 Huang H, He X. Wnt/beta-catenin signaling: new (and old) players and new insights. *Curr Opin Cell Biol* 2008;20(2):119-125
- 11 Lee JG, Heur M. WNT10B enhances proliferation through β -catenin and RAC1 GTPase in human corneal endothelial cells. *J Biol Chem* 2015;290(44):26752-26764
- 12 Nusse R, Clevers H. Wnt/ β - catenin signaling, disease, and emerging therapeutic modalities. *Cell* 2017;169(6):985-999
- 13 Cain S, Martinez G, Kokkinos MI, *et al.* Differential requirement for beta-catenin in epithelial and fiber cells during lens development. *Dev Biol* 2008;321(2):420-433
- 14 Liao BH, Chen RM, Lin F, *et al.* Long noncoding RNA HOTTIP promotes endothelial cell proliferation and migration via activation of the Wnt/ β -catenin pathway. *J Cell Biochem* 2018;119(3):2797-2805
- 15 刘洪彦, 郑毅. 兔骨关节炎模型中 Wnt/ β -catenin 信号通路研究. 风湿病与关节炎 2015;4(9):5-8
- 16 Li J, Zhou XD, Yang KH, *et al.* Hinokitiol reduces matrix metalloproteinase expression by inhibiting Wnt/ β - Catenin signaling *in vitro* and *in vivo*. *Int Immunopharmacol* 2014;23(1):85-91
- 17 唐芳, 马武开, 姚血明. Wnt/ β -catenin 信号通路与骨关节炎. 风湿病与关节炎 2014;3(2):70-73,77
- 18 朱梦云, 崔双慧, 郝泽宇, 等. 姜黄素通过 Wnt/ β -catenin 信号通路诱导人晶状体上皮细胞的凋亡和细胞周期阻滞. 南方医科大学学报 2021;41(5):722-728
- 19 Huang Y, Liu L, Liu AG. Dickkopf-1: current knowledge and related diseases. *Life Sci* 2018;209:249-254
- 20 Baetta R, Banfi C. Dkk (Dickkopf) proteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2019;39(7):1330-1342
- 21 Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2004;20:781-810
- 22 Krupnik VE, Sharp JD, Jiang C, *et al.* Functional and structural diversity of the human Dickkopf gene family. *Gene* 1999;238(2):301-313
- 23 刘婷婷. Dickkopf-1 抑制人晶状体上皮细胞中 Wnt3a 诱导的细胞迁移和 EMT. 内蒙古医科大学 2018
- 24 张利民. Dickkopf-1 对人晶状体上皮细胞增生的抑制作用及其机制的实验研究. 内蒙古医科大学 2019