

AG490 对高糖环境中人晶状体上皮细胞向间充质转化的抑制作用

冯莉¹, 张良², 韩笑¹, 陆博¹, 王欣玲¹, 阎启昌¹

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81170836);辽宁省自然科学基金资助项目(No. 201202260;2013021016)

作者单位:¹(110005) 中国辽宁省沈阳市,中国医科大学附属第四医院眼科 中国医科大学眼科医院 辽宁省晶状体学重点实验室;²(110031) 中国辽宁省沈阳市第四人民医院眼科

作者简介:冯莉,硕士研究生,住院医师,研究方向:白内障。

通讯作者:阎启昌,医学博士,教授,主任医师,博士研究生导师,副主任,中国医科大学眼科医院副院长,研究方向:白内障与眼科流行病学。cmu4h-yqc@126.com

收稿日期:2014-08-04 修回日期:2014-11-20

Inhibition effect of AG490 on high glucose-induced epithelial-mesenchymal transition in human lens epithelial cells

Li Feng¹, Liang Zhang², Xiao Han¹, Bo Lu¹, Xin-Ling Wang¹, Qi-Chang Yan¹

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 81170836); Natural Science Foundation of Liaoning Province (No. 201202260; 2013021016)

¹Department of Ophthalmology, the Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110005, Shenyang Province, China; ²Department of Ophthalmology, Shenyang the Fourth Hospital of People, Shenyang 110031, Liaoning Province, China

Correspondence to: Qi-Chang Yan. Department of Ophthalmology, the Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110005, Shenyang Province, China. cmu4h-yqc@126.com
Received:2014-08-04 Accepted:2014-11-20

Abstract

• AIM: To study the relationship between JAK-STAT pathway and epithelial-mesenchymal transition in human lens epithelial cells. Meanwhile, the function of AG490 as a JAK inhibitor was also demonstrated in this article.

• METHODS: Human lens epithelial cells SRA01/04 (LECs) were treated by low concentration of glucose (5.5mmol/L). High concentration of glucose (30.5mmol/L) was used to treat the cells in order to form the high glucose model. According to adding AG490 or not, cells were divided into the control group and the experimental group, appropriate concentration 10μmol/L and 50μmol/L of AG490 were chosen and acting time of 6, 12, 24, 48h were selected. Effect of AG490 on cell migration was measured by wound healing test. The expression of TGF-β₁, FN, α-SMA mRNA were examined by RT-PCR.

• RESULTS: With the prolonged acting time (6, 12, 24 and 48h), cell activity increased in the HG group, as well as more expression of TGF-β₁, FN, α-SMA mRNA were detected compared to the LG group ($P < 0.05$). In AG490 group, the cell migration activity and expression of TGF-β₁, FN, α-SMA mRNA decreased compared to the HG group ($P < 0.05$).

• CONCLUSION: JAK-STAT pathway takes part in high glucose-induced epithelial-mesenchymal transition in human lens epithelial cells. The mechanism is that it impacts the transcriptional expression of TGF-β₁ and extracellular matrix. AG490, a JAK inhibitor, inhibits high glucose-induced epithelial-mesenchymal transition in human lens epithelial cells, And the inhibition enhances with the increasing concentration of AG490.

• KEYWORDS: lens epithelial cells; high glucose; JAK-STAT pathway; AG490; epithelial mesenchymal transition

Citation: Feng L, Zhang L, Han X, et al. Inhibition effect of AG490 on high glucose-induced epithelial-mesenchymal transition in human lens epithelial cells. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(12):2122-2126

摘要

目的:研究在高糖诱导人晶状体上皮细胞向间充质转化的过程中JAK-STAT通路的作用及AG490对此过程的影响。

方法:低糖(5.5mmol/L)DMEM培养液体外培养人晶状体上皮细胞系SRA01/04。高糖(30.5mmol/L)处理细胞,按照是否加入AG490及其浓度的不同分为实验组和对照组。CCK-8试剂盒检测晶状体上皮细胞的活性,选择实验组AG490浓度为10μmol/L和50μmol/L,处理时间分别为6,12,24和48h;细胞划痕实验检测细胞迁移能力的变化;RT-PCR方法半定量检测TGF-β₁,FN和α-SMA的mRNA表达量变化。

结果:在不同的处理时间(6,12,24,48h),高糖组(HG组)与低糖组相比,细胞的迁移能力增加($P < 0.05$),TGF-β₁,FN和α-SMA表达量增高($P < 0.05$);AG490组与HG组相比,细胞的迁移能力降低($P < 0.05$),TGF-β₁,FN和α-SMA的mRNA表达量下降。

结论:JAK-STAT通路通过影响TGF-β₁和细胞外基质转录表达参与了高糖诱导的人晶状体上皮细胞向间充质转化的过程。JAK抑制剂AG490对此过程有抑制作用,且随着AG490浓度的增加其抑制作用增强。

关键词:晶状体上皮细胞;高糖;JAK-STAT通路;AG490;上皮向间充质转化

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.12.04

引用:冯莉,张良,韩笑,等. AG490 对高糖环境中人晶状体上皮细胞向间充质转化的抑制作用. 国际眼科杂志 2014; 14(12): 2122-2126

0 引言

糖尿病性白内障(diabetic cataract)已成为继糖尿病性视网膜病变之后的糖尿病眼部第二大常见并发症^[1,2],且向患者年轻化和病程快速化发展^[3]。糖尿病患者体内葡萄糖失去胰岛素调控扩散到晶状体中,因此晶状体是受影响最严重的身体部位之一。最近眼科初步研究表明,Janus 激酶-信号转导子与转录激活子(Janus kinase-signal transducer and activator of transcription, JAK-STAT)通路可能不仅参与了晶状体的发育过程,而且参与了晶状体疾病的病理过程^[4-6]。AG490 (Tyrphostin AG490)是一种人工合成的苯亚甲基丙二腈的脂类衍生物,可以与受体酪氨酸激酶竞争结合位点^[7]。AG490 可以有效地阻断蛋白酪氨酸激酶 JAK2 和 JAK3,从而阻断 JAK-STAT 信号传导,引起一系列生物学效应^[8,9]。高浓度葡萄糖可以诱导晶状体上皮细胞增殖、上皮向间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是其糖尿病性白内障发生机制之一^[10]。TGF- β 是病理条件下晶状体上皮细胞特性改变的始动调节因子。TGF- β 浓度增高使晶状体上皮表型不稳定,发生 EMT,并诱导产生大量特异性细胞外基质(extracellular matrix, ECM)如纤维连接蛋白(FN)、I/III型胶原蛋白、层黏连蛋白、蛋白多糖,还产生中间丝包括肌丝素和 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle-actin, α -SMA),以及整合素^[11-15],从而导致白内障的发生^[11-13]。因此,研究 JAK 抑制剂 AG490 对高糖诱导人晶状体上皮发生 EMT 过程中的作用和对 EMT 标记物 TGF- β_1 , FN, α -SMA mRNA 表达的影响,从而寻找一种有效抑制高浓度葡萄糖引起晶状体上皮细胞损伤的药物,对防治糖尿病性白内障具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 材料 实验所用低糖型 Dulbecco 最低必需培养液(Dulbecco's modification of Eagle's medium, DMEM)、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自美国 Hyclone 公司, D-葡萄糖(美国 Sigma 公司)、AG490(中国 Peprotech 公司)、CCK-8 试剂盒(碧云天生物技术研究所)、总 RNA 提取试剂盒(北京天根生物公司)、RT-PCR 试剂盒(日本 TaKaRa 公司)、反转录试剂盒(日本 TaKaRa 公司)、倒置显微镜(日本 Olympus 公司, TH4-200 型)、实时 PCR 仪(美国 BioRAD 公司, S1000 Thermal Cycler)。

1.2 方法

1.2.1 人晶状体上皮细胞的体外培养 将 20 代以内人晶状体上皮细胞系 SRA01/04(中国医科大学附属第四医院晶状体学实验室提供)复苏后用含 10% 胎牛血清的低糖 DMEM 完全培养液培养人晶状体上皮细胞系(SRA01/04),置于 5% CO₂, 37°C 培养箱内培养。2~3d 传代 1 次,每次实验所需细胞均取自同一批传代。

1.2.2 细胞毒性实验(CCK-8 实验) 收集对数期细胞,每孔加入 100 μ L,约 5 \times 10³个细胞。5% CO₂培养箱,37°C 孵育,至单层细胞均匀铺满孔底(24h 左右)。吸出 DMEM 培养液,加入 100, 50, 25, 10 μ mol/L 浓度的 AG490 溶液,对照组为不含血清的高糖培养液,分别孵育 6, 12, 24, 48 和 72h。每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液,在 CO₂培养

表 1 TGF- β_1 , FN, α -SMA 和 β -actin 引物序列

名称	引物序列	长度	退火温度
TGF- β_1	5'-GGC CAG ATC CTG TCC AAG-3'	201bp	59.7°C
	5'-GTG GGT TTC CAC CAT TAG CAC-3'		
FN	5'-TCC GTG GTT GTA TCA GGA-3'	270bp	57.4°C
	5'-GAC ATC TGG CTT GAT GGT TC-3'		
α -SMA	5'-CGC ATC CTC ATC CTC CCT-3'	268bp	59.5°C
	5'-GGC CGT GAT CTC CTT CTG-3'		
β -actin	5'-CAT CAC CAT TGG CAA TGA GC-3'	351bp	64°C
	5'-TCG TCA TAC TCC TGC TTG C-3'		

注:经梯度 PCR 确定退火温度; β -actin 为内参照。

箱内继续孵育 1h,然后用酶标仪检测吸光度(A 值),设定波长为 450nm,光吸收值比率=实验组 A 值/对照组 A 值 \times 100%。

1.2.3 实验分组 高糖(30.5mmol/L)处理细胞,按照是否加入 AG490 分为实验组和对照组。其中对照组又分为高糖组(HG)和低糖组(LG);实验组根据 CCK-8 实验结果,选择 AG490 的浓度为 10 μ mol/L 和 50 μ mol/L,以此分为高糖+AG490 10 μ mol/L 组(AG10)和高糖+AG490 50 μ mol/L 组(AG50)。处理时间分别为 6, 12, 24 和 48h。

1.2.4 细胞划痕试验 收集对数期细胞,铺 6 孔板,每孔加入约 5 \times 10⁵个细胞。5% CO₂培养箱,37°C 孵育,至单层细胞均匀铺满孔底(24h 左右)。用 20 μ L 枪头比着直尺,枪头垂直均匀划 4 条线, PBS 洗涤 3 次,去除划下的细胞。实验组分别加入浓度为 10 μ mol/L 和 50 μ mol/L 的 AG490 溶液,对照组分别加入高糖(30.5mmol/L) DMEM 培养液和低糖(5.5mmol/L) DMEM 培养液,置于 5% CO₂培养箱,37°C 分别孵育 6, 12, 24 和 48h,用倒置显微镜拍照(\times 400)。细胞划痕实验通过测量细胞划痕的闭合情况来检测细胞迁移能力的变化。划痕宽度恢复百分率作为待检指标。划痕宽度恢复百分率=[(0h 宽度-nh 宽度) \div 0h 宽度] \times 100%。实验重复 3 次,取算术平均数进行统计学分析。

1.2.5 RT-PCR 检测 TGF- β_1 , FN 和 α -SMA mRNA 表达量 操作步骤:(1)总 RNA 提取试剂盒提取 RNA:按试剂盒说明进行提取,获得总 RNA,各组样品质量(A₂₆₀/A₂₈₀)均在 1.8~2.1。(2)反转录:按 cDNA 合成试剂盒说明进行反转录,在 PCR 仪上按 37°C 15min(反转录反应)、85°C 5s(反转录酶的失活反应)体系扩增,得到 cDNA。(3)实时 PCR:按照 RT-PCR 试剂盒说明进行目的片段的扩增,TGF- β_1 , FN, α -SMA 和 β -actin 引物序列参见表 1。引物均由上海生工公司合成。PCR 扩增反应条件为预变性 94°C 5min,变性 94°C 30s,退火 30s,30 个循环,延伸 72°C 30s。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,凝胶成像分析系统扫描成像,以电泳条带的灰度值作为条带的强度指标,以内参照 β -actin 表达条带的强度为标准,待检指标 mRNA 与相应 β -actin 的条带灰度比值表示相对含量,实验重复 3 次,取算术平均数进行统计学分析。

统计学分析:采用统计学软件 SPSS 13.0。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用独立样本 t 检验进行分析。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AG490 对细胞活性的影响 CCK-8 实验检测加入不同浓度 AG490(10, 25, 50, 100 μ mol/L)处理不同时间(6, 12, 24, 48, 72h)对细胞活性的影响,发现随着 AG490 浓度(10, 25, 50, 100 μ mol/L)的增加,细胞活性呈下降趋势,都未达到 LD₅₀,但高浓度(100 μ mol/L)的 AG490 细胞活性呈下降较明显。检测发现随着 AG490 处理时间(6,

表2 各组细胞划痕宽度恢复百分率 ($\bar{x} \pm s, \%, n=3$)

时间	LG组	HG组	AG10组	AG50组
6h	3.47±2.33	16.60±3.18 ^a	2.47±0.92 ^c	1.47±1.50 ^c
12h	11.23±2.40	25.83±4.91 ^a	8.43±3.62 ^c	6.88±2.89 ^c
24h	23.36±4.98	35.67±3.51 ^a	23.13±1.80 ^c	12.83±1.04 ^{c,e}
48h	37.13±4.00	47.40±1.97 ^a	30.43±6.36 ^c	16.13±1.03 ^{c,e}

^a $P<0.05$ vs LG组; ^c $P<0.05$ vs HG组; ^e $P<0.05$ vs AG10组。

表3 AG490处理不同时间 TGF- β_1 , FN, α -SMA 相对表达量 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

时间	TGF- β_1				FN				α -SMA			
	LG	HG	AG10	AG50	LG	HG	AG10	AG50	LG	HG	AG10	AG50
6h	0.50±0.0	0.56±0.01 ^a	0.55±0.04	0.42±0.01 ^{c,e}	0.22±0.01	0.42±0.03 ^a	0.30±0.03 ^c	0.19±0.01 ^c	0.64±0.07	1.06±0.12 ^a	0.99±0.06	0.78±0.06 ^c
12h	0.54±0.01	1.05±0.02 ^a	0.80±0.02 ^c	0.53±0.04 ^{c,e}	0.31±0.02	0.74±0.05 ^a	0.49±0.01 ^c	0.32±0.01 ^c	1.09±0.02	1.31±0.05 ^a	1.21±0.02	1.06±0.01 ^c
24h	0.95±0.02	1.58±0.11 ^a	1.11±0.10 ^c	0.64±0.06 ^{c,e}	0.66±0.04	0.96±0.02 ^a	0.56±0.04 ^c	0.39±0.03 ^c	1.65±0.25	1.76±0.10 ^a	1.65±0.08	1.49±0.04 ^{c,e}
48h	0.96±0.01	1.64±0.04 ^a	1.10±0.02 ^c	0.90±0.05 ^{c,e}	0.73±0.03	1.14±0.03 ^a	0.67±0.03 ^c	0.47±0.05 ^c	1.76±0.07	1.89±0.07 ^a	1.79±0.04 ^c	1.74±0.07 ^c

^a $P<0.05$ vs LG组; ^c $P<0.05$ vs HG组; ^e $P<0.05$ vs AG10组。

12,24,48,72h)的延长,细胞活性也呈下降趋势,且处理72h在AG490剂量为25,50,100 μ mol/L细胞活性呈下降较明显,未达到LD₅₀(图1)。根据此结果和其他文献综述,后续实验组选择AG490浓度为10和50 μ mol/L,处理时间分别为6,12,24和48h。

2.2 各组细胞迁移能力的变化 随着时间的延长,各组划痕的闭合程度有所不同,在不同的处理时间(6,12,24,48h),高糖组与低糖组相比,细胞的迁移能力增加;AG490组与HG组相比,细胞的迁移能力降低(图2)。细胞划痕宽度恢复百分率见表2。采用独立样本t检验分析,各实验组与对照组相比,差异有统计学意义($P<0.05$,图3),说明AG490具有抑制晶状体上皮细胞迁移的作用。

2.3 各组细胞 TGF- β_1 , FN 和 α -SMA 的 mRNA 表达量的变化 半定量 RT-PCR 检测不同浓度 AG490 处理不同时间 TGF- β_1 , FN 和 α -SMA 的 mRNA 表达量的变化。用 β -actin 做相对定量,发现高糖组与低糖组相比,TGF- β_1 , FN, α -SMA 表达量在各时间点均增高,AG490 组表达量低于 HG 组,且随着 AG490 浓度的增加表达量下降(图4)。不同浓度 AG490 处理不同时间 TGF- β_1 , FN 和 α -SMA 的 mRNA 相对表达量如表3所示,采用独立样本t检验分析。高糖组与低糖组相比,AG50组与高糖组相比,TGF- β_1 , FN 和 α -SMA 的相对表达量在各时间点,差异有统计学意义($P<0.05$)。AG10组与高糖组相比,TGF- β_1 的相对表达量在12,24和48h有统计学差异($P<0.05$),在6h,无统计学差异($P>0.05$);FN的相对表达量在6,12,24和48h,有统计学差异($P<0.05$); α -SMA的相对表达量在48h有统计学差异($P<0.05$),在6,12和24h,无统计学差异($P>0.05$);AG50组与AG10组相比,TGF- β_1 的相对表达量在各时间点,有统计学差异($P<0.05$),FN的相对表达量在各时间点,无统计学差异($P>0.05$), α -SMA的相对表达量在24h,有统计学差异($P<0.05$),在6,12和48h,无统计学差异($P>0.05$,图5~7)。说明AG490具有抑制晶状体上皮细胞向间充质转化的作用。

3 讨论

各种细胞外因素对细胞行为的调节主要与细胞内多种信号传导通路的活化密切相关,其中Janus激酶-信号转导子与转录激活子(JAK-STAT)通路近年受到广泛关注。目前,已发现哺乳动物JAKs家族中4种激酶,即JAK1, JAK2, JAK3和Tyk2,发现7种STAT蛋白,即STAT1, STAT2,

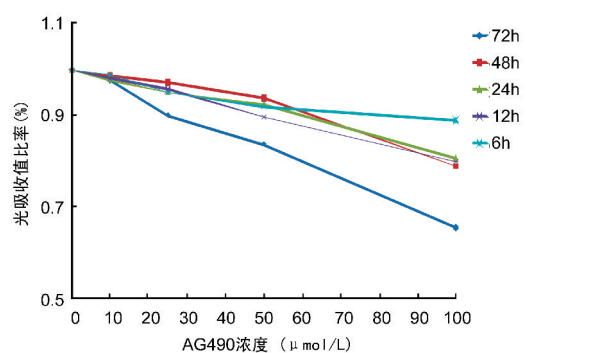


图1 不同浓度AG490处理不同时间对细胞活性的影响。

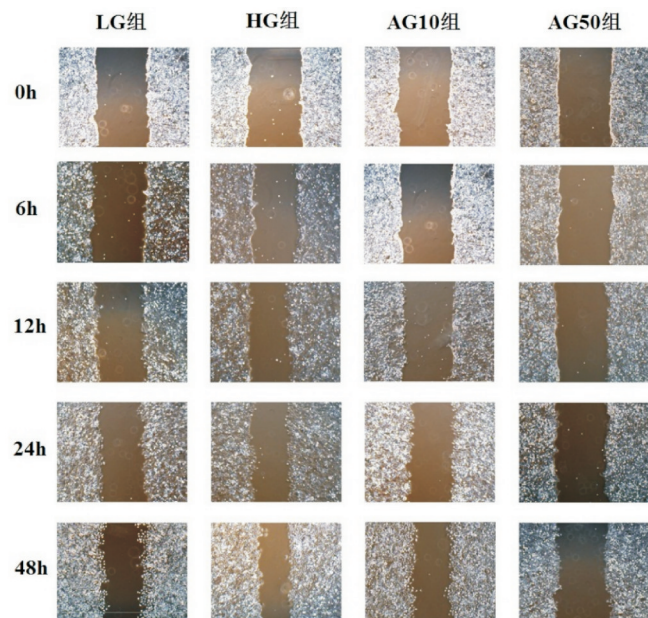


图2 各组细胞划痕实验显微镜下划痕闭合情况(x400)。

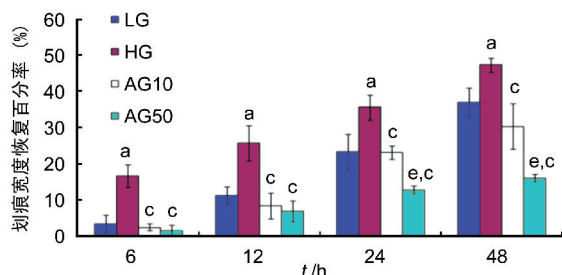


图3 不同浓度AG490处理不同时间对细胞迁移能力的影响
^a $P<0.05$ vs LG组; ^c $P<0.05$ vs HG组; ^e $P<0.05$ vs AG10组。

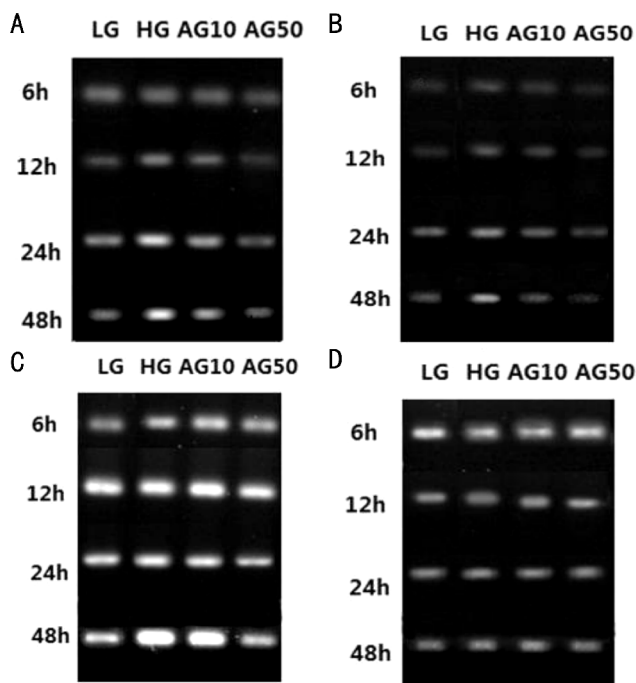


图4 AG490处理不同时间TGF-β₁, FN, α-SMA表达量的变化 A: TGF-β₁; B: FN; C: α-SMA; D: β-actin。

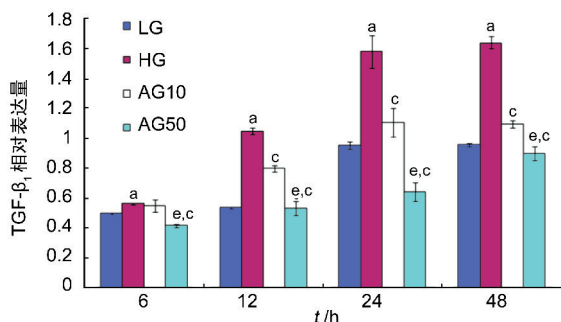


图5 AG490处理不同时间TGF-β₁相对表达量的变化 ^a*P*<0.05 vs LG组; ^c*P*<0.05 vs HG组; ^{e,c}*P*<0.05 vs AG10组。

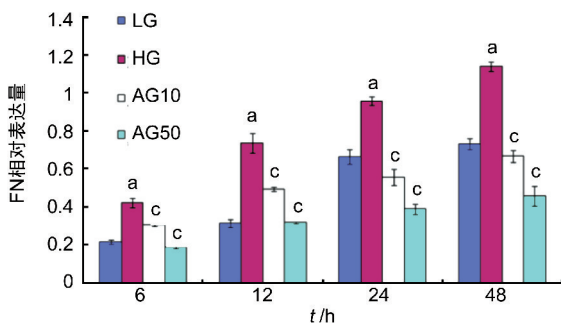


图6 AG490处理不同时间FN相对表达量的变化 ^a*P*<0.05 vs LG组; ^c*P*<0.05 vs HG组。

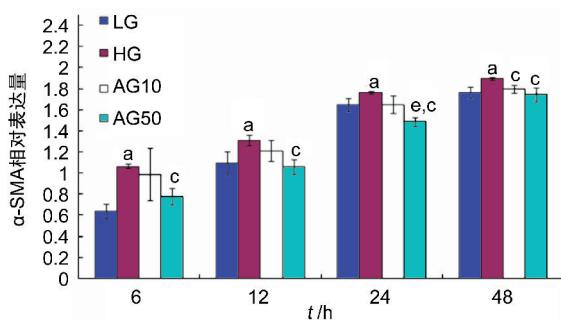


图7 AG490处理不同时间α-SMA相对表达量的变化 ^a*P*<0.05 vs LG组; ^c*P*<0.05 vs HG组; ^{e,c}*P*<0.05 vs AG10组。

STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b 和 STAT6。JAK-STAT 信号传导通路是细胞因子信号转导的重要通路之一,对细胞的生理和病理反应有调控作用,在细胞生长、肥大、增生、分化等方面发挥重要作用^[16]。

本实验采用细胞划痕实验定性观察细胞迁移能力,观察到高糖处理的晶状体上皮细胞迁移能力的增加与低糖组相比,差异有统计学意义,说明高糖可诱导晶状体上皮迁移能力的增加,且时间越长,此作用越明显。当加入不同浓度的 JAK 抑制剂 AG490,观察到实验组与高糖组比较,有统计学差异 ($P < 0.05$),说明 AG490 可以抑制高糖引起的细胞迁移能力的增加,且随着 AG490 浓度的增加,细胞的迁移能力下降,因此认为 JAK-STAT 通路参与了高糖诱导的晶状体上皮细胞向间充质转化的过程,AG490 可以抑制这一过程。有研究表明^[5,17,10],在相关因素的作用下 JAK2 和 STAT3 先后发生酪氨酸磷酸化,进而激活其下游靶基因的表达,影响细胞的增殖、迁移和上皮向间充质转化。有研究发现高糖和血管紧张素 II 能够激活体外培养的血管内皮细胞的 JAK-STAT 信号途径,使 JAK2 磷酸化以及 STAT1 和 STAT3 酪氨酸和/或丝氨酸磷酸化,导致血管内皮细胞增殖^[18]。

TGF-β₁在细胞外基质(ECM)代谢中发挥着重要的作用,是上皮向间充质转化和糖尿病发生的关键中介物^[17,10]。现认为,高糖可通过多条细胞内信号传导通路(MAPK, Smad, ROS)上调 TGF-β 的表达,进而导致系膜细胞 FN 和 I/III型胶原合成增多及 ECM 堆积。本实验观察到晶状体上皮细胞 TGF-β₁, FN 和 α-SMA 在基因水平上的表达量,高糖组与低糖组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),说明高糖可使其表达量增加,促使晶状体上皮向间充质转化。为探讨 JAK-STAT 信号传导通路与晶状体上皮细胞向间充质转化标志物高表达、ECM 高分泌的关系,本实验将晶状体上皮细胞培养于高糖环境中并加入不同浓度的 JAK 抑制剂 AG490,观察到实验组与高糖组相比,细胞转分化标志物表达量下降 ($P < 0.05$),并且表达量随着 AG490 浓度的增加进一步降低,说明 JAK-STAT 通路参与上皮细胞向间充质转化,并且其机制是影响 TGF-β₁ 和细胞外基质转录表达进行的。TGF-β₁, FN 和 α-SMA 为上皮细胞向间充质转化标志物。本实验中,高糖组与低糖组比较,AG50 与高糖组比较,TGF-β₁, FN 和 α-SMA 的表达量均有差异 ($P < 0.05$)。但 AG50 组与 AG10 组比较,TGF-β₁ 表达量在各时间点有差异;FN 表达量在各时间点均无差异;α-SMA 表达量仅在 24h 有差异,此结果需今后具体分析。高糖状态下 JAK-STAT 信号传导通路的活化和介导晶状体上皮细胞 TGF-β₁ 高表达的机制仍不明确。有研究表明^[19-23]可能与高糖通过多种途径产生的活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)有关。高糖能通过活性氧、血管紧张素 II 等自分泌作用导致细胞内一系列反应,如 JAK2 和 MAPK-ERK1/2 等与细胞生长有关的信号传导通路的活化。这些通路活化以后,通过下游转录因子诱导核内相关基因如 c-fos 和 c-jun 基因表达,从而引起细胞转分化标记物 TGF-β₁ 等表达增多,促进细胞分泌 ECM 并发生一系列病理生理变化。

本实验用 AG490 作用于高糖诱导的晶状体上皮向间充质转化,发现其可有效地抑制这一过程,且随着浓度的升高抑制上皮向间充质转化的能力增强。JAKs 家族是一

种非受体酪氨酸蛋白激酶(PTK),其活化后作为上游激酶可介导STATs分子发生磷酸化,并转移到核内,结合于启动子区的相关序列,从而调控基因表达^[24]。AG490是一种人工合成的苯亚甲基丙二腈的脂类衍生物,结构类似酪氨酸,可以与受体酪氨酸激酶竞争结合位点^[6],是拮抗JAK酪氨酸磷酸化的抑制剂,有效抑制JAK酪氨酸磷酸化并阻断其下游的信号传导和转录活化因子STAT的活化。有研究表明在STZ诱导的糖尿病大鼠,AG490干预治疗能够显著抑制肾小球JAK2,STAT1和STAT3磷酸化^[25]。目前应用于临床的JAK抑制剂主要有INCB-28050,VX-509和SB-1578等,用于治疗特发性骨髓纤维化、类风湿性关节炎、银屑病等,但其不良反应很多,如感染、恶心、头痛、骨髓抑制、胃肠道不适。防治糖尿病性白内障的理想药物应该具有长期有效、副作用小、全身或局部应用药物能维持晶状体的透明性等特点。本实验对AG490抑制高糖诱导的晶状体上皮向间充质转化做了初步的实验研究,AG490应用于临床的作用效果及其可能产生的副作用还需进一步研究探讨。

因此本研究从形态学和基因水平上探讨高糖对晶状体上皮细胞向间充质转化的作用,认为这一过程有JAK-STAT通路参与,初步证明了JAK抑制剂AG490对晶状体上皮向间充质转化有抑制作用,从而为探讨糖尿病性白内障的发病机制、减缓和防止晶状体上皮细胞向间充质转化、防治糖尿病性白内障的发生发展及药物的开发提供了新的实验依据和思路。

参考文献

- 1 Kyselova Z, Stefek M, Bauer V. Pharmacological prevention of diabetic cataract. *J Diabetes Complications* 2004;18:129-140
- 2 Obrosova IG, Chung SS, Kador PF. Diabetic cataracts: mechanisms and management. *Diabetes Metab Res Rev* 2010; 26(3): 172-180
- 3 Bron AJ, Brown NA, Harding JJ, et al. The lens and cataract in diabetes. *Int Ophthalmol Clin* 1998;38(2):37-67
- 4 Ozawa Y, Nakao K, Shimazaki T, et al. Downregulation of STAT3 activation is required for presumptive rod photoreceptor cells to differentiate in the postnatal retina. *Mol Cell Neurosci* 2004;26(2): 258-270
- 5 Mechoulam H, Pierce EA. Expression and activation of STAT3 in ischemia-induced retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(12): 4409-4416
- 6 Fasler-Kan E, Barteneva NS, Ketterer S, et al. Human cytokines activate JAK-STAT signaling pathway in porcine ocular tissue. *Xenotransplantation* 2013;20(6):469-480
- 7 DeVos J, Jourdan M. JAK2 tyrosine kinase inhibitor tyrphostin AG490 downregulates the mitogen-activated protein kinase (MAPK) and signal transducer and activator of transcription (STAT) pathways and induces apoptosis in myeloma cells. *Br J Haematol* 2000;109(4):823-828
- 8 Liu J, Kern JA. Neuregulin-1 activates the JAK-STAT pathway and regulates lung epithelial cell proliferation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002;27(3):306-313

- 9 Kim US, Nam SM, Jung SA, et al. Effects of AG490 on lens epithelial cell death induced by H₂O₂. *Jpn J Ophthalmol* 2010;54(2):151-155
- 10 Kim NH, Kim YS, Jung DH, et al. KIOM-79 prevents xylose-induced lens opacity and inhibits TGF-beta2 in human lens epithelial cells cultured under high glucose. *J Ethnopharmacol* 2010;130(3): 599-606
- 11 Lovicu FJ, McAvoy JW. Growth factor regulation of lens development. *Dev Biol* 2005;280(1):12-14
- 12 Liu J, Hales AM, Chamberlain CG. Induction of cataract-like changes in rat lens epithelial explants by transforming growth factor beta. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994; 35(2): 388-401
- 13 Kampmeier J, Baldysiak-Figiel A, de Jong-Hesse Y. Effect of growth factors on proliferation and expression of growth factor receptors in a human lens epithelial cell line. *Cataract Refract Surg* 2006; 32(3): 510-514
- 14 de Jongh RU, Wederell E, Lovicu FJ, et al. Transforming growth factorbeta-induced epithelial-mesenchymal transition in the lens: a model for cataract formation. *Cells Tissues Organs* 2005;179(1-2): 43-55
- 15 Saika S. TGF-beta pathobiology in the eye. *Lab Invest* 2006;86(2): 106-115
- 16 Cortes P, Zhao X, Riser BL, et al. Role of glomerular mechanical strain in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1997; 51(1): 57-58
- 17 Kim YS, Kim NH, Jung DH, et al. Genistein inhibits aldose reductase activity and high glucose-induced TGF-beta2 expression in human lens epithelial cells. *Eur J Pharmacol* 2008;594(1-3):18-25
- 18 Huang JS, Guh JY, Hung WC, et al. Role of the Janus(JAK)/signal transducers and activators of transcription(STAT) cascade in advanced glycation end-product-induced cellular mitogenesis in NRK-49F cells. *Biochem J* 1999; 342(Pt 1): 231-238
- 19 Kim YS, Kim NH, Lee YM, et al. Preventive effect of chlorogenic acid on lens opacity and cytotoxicity in human lens epithelial cells. *Biol Pharm Bull* 2011; 34(6): 925-928
- 20 Allen DA, Harwood S, Varaganam M, et al. High glucose-induced oxidative stress causes apoptosis in proximal tubular epithelial cells and is mediated by multiple caspases. *FASEB J* 2003;17(8):908-910
- 21 Han HJ, Lee YJ, Park SH, et al. High glucose-induced oxidative stress inhibits Na⁺/glucose cotransporter activity in renal proximal tubule cells. *Physiol Renal Physiol* 2005;288(5):F988-F996
- 22 Altomare E, Grattagliano I, Vendemiale G, et al. Oxidative protein damage in human diabetic eye: evidence of a retinal participation. *Eur J Clin Invest* 1997;27(2):141-147
- 23 Lou Z, Wang H, Li J, et al. Antioxidant activity and chemical composition of the fractions from burdock leaves. *J Food Sci* 2010;75(5):C413-C419
- 24 Levy DE, Damell JE. STATs: transcriptional control and biological impact. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3(9): 651-662
- 25 Banes AK, Shaw S, Jenkins J, et al. Angiotensin II blockade prevents hyperglycemia-induced activation of JAK and STAT proteins in diabetic rat kidney glomeruli. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286(4): 653-659