

MicroRNA-34a 通过上调 Cdc42 和 Rac1 促进人晶状体上皮细胞衰老和凋亡

兰文, 陈志钧, 周璐

引用: 兰文, 陈志钧, 周璐. MicroRNA-34a 通过上调 Cdc42 和 Rac1 促进人晶状体上皮细胞衰老和凋亡. 国际眼科杂志 2020; 20(5):768-772

作者单位: (210000) 中国江苏省南京市, 南京医科大学附属儿童医院眼科

作者简介: 兰文, 毕业于南京大学, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向: 小儿斜弱视、先天性白内障。

通讯作者: 陈志钧, 博士, 主任医师, 主任, 硕士研究生导师, 研究方向: 小儿斜弱视、疑难屈光不正. 18951769678@163.com

收稿日期: 2019-07-15 修回日期: 2020-04-16

摘要

目的: 观察 MicroRNA-34a 对人晶状体上皮细胞系 SRA01/04 衰老和凋亡的影响及作用机制。

方法: qRT-PCR 检测年龄相关性白内障 (ARC) 晶状体和透明晶状体上皮细胞中 MicroRNA-34a 表达水平, 采用脂质体转染试剂盒将 MicroRNA-34a mimics (过表达组)、MicroRNA-34a inhibitors (抑制组) 和空脂质体 (对照组) 转染至 SRA01/04 细胞, qRT-PCR 检测 MicroRNA-34a 的表达量; 采用 β -半乳糖苷酶 (SA- β -gal) 染色检测转染后细胞的衰老情况。Annexin V-FITC/PI 双染色流式细胞仪检测 MicroRNA-34a 对人晶状体细胞系 SRA01/04 细胞凋亡的影响; 蛋白免疫印迹检测 Cdc42、Rac1 蛋白的表达。

结果: 透明晶状体前囊膜组织中 MicroRNA-34a 的表达量显著低于 ARC 晶状体前囊膜组织 ($P < 0.05$); MicroRNA-34a 过表达组、对照组、MicroRNA-34a 抑制组 SA- β -gal 阳性率分别为 $(87.56 \pm 2.34)\%$ 、 $(12.22 \pm 2.74)\%$ 、 $(3.45 \pm 0.45)\%$ 。MicroRNA-34a 过表达组明显高于对照组, 而 MicroRNA-34a 抑制组 SA- β -gal 阳性率明显低于对照组 ($P < 0.05$); MicroRNA-34a 抑制组、对照组和 MicroRNA-34a 过表达组的细胞凋亡率分别为 $(5.87 \pm 1.22)\%$ 、 $(12.26 \pm 2.14)\%$ 、 $(29.45 \pm 3.12)\%$, MicroRNA-34a 抑制组细胞凋亡率明显低于对照组, 而 MicroRNA-34a 过表达组细胞凋亡率明显高于对照组 ($P < 0.05$); MicroRNA-34a 过表达组中 Cdc42 和 Rac1 的表达明显高于对照组 ($P < 0.05$), MicroRNA-34a 抑制组中 Cdc42 和 Rac1 的表达明显低于对照组 ($P < 0.05$)。

结论: MicroRNA-34a 可能通过上调 Cdc42 和 Rac1 促进人晶状体上皮细胞衰老和凋亡。

关键词: MicroRNA-34a; 人晶状体上皮细胞; Cdc42; Rac1; 衰老; 凋亡

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2020.5.05

MicroRNA-34a promotes the senescence and apoptosis of human lens epithelial cells by up-regulating Cdc42 and Rac1

Wen Lan, Zhi-Jun Chen, Lu Zhou

Department of Ophthalmology, Children's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Zhi-Jun Chen. Department of Ophthalmology, Children's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China. 18951769678@163.com

Received: 2019-07-15 Accepted: 2020-04-16

Abstract

• **AIM:** To observe the effect and mechanism of MicroRNA-34a on senescence and apoptosis of human lens epithelial cell line SRA01/04.

• **METHODS:** MicroRNA-34a expression levels in ARC lens and transparent lens epithelial cells were detected by qRT-PCR. MicroRNA-34a mimics, MicroRNA-34a inhibitors and empty liposome (control group) were transfected into SRA01/04 cells by liposome transfection kit. Annexin V-FITC/PI double staining was used to detect the effect of MicroRNA-34a on the apoptosis of human lens cell line SRA01/04. The expression of Cdc42 and Rac1 protein was detected by western blot.

• **RESULTS:** The expression level of MicroRNA-34a in anterior capsular tissue of transparent lens was significantly lower than that in ARC anterior capsular tissue ($P < 0.05$). The positive rates of SA- β -gal in the MicroRNA-34a mimics group, the control group and the MicroRNA-34a inhibitors group were $(87.56 \pm 2.34)\%$, $(12.22 \pm 2.74)\%$ and $(3.45 \pm 0.45)\%$, respectively. The positive rates of SA- β -gal in the MicroRNA-34a mimics group was significantly higher than the control group, while the SA- β -gal positive rate in the MicroRNA-34a inhibitors group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). The apoptosis rate of the MicroRNA-34a inhibitors group, control group and MicroRNA-34a mimics group were $(5.87 \pm 1.22)\%$, $(12.26 \pm 2.14)\%$ and $(29.45 \pm 3.12)\%$, respectively. The apoptosis rate of the MicroRNA-34a mimics group was significantly higher than that of the control group, while that of the MicroRNA-34a inhibitors group was significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$). The expressions of Cdc42 and Rac1 in the MicroRNA-34a mimics group were significantly higher than those in the control group

($P<0.05$), while the expressions of Cdc42 and Rac1 in the MicroRNA-34a inhibitors group were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$).

• CONCLUSION: MicroRNA-34a may promote the senescence and apoptosis of human lens epithelial cells by up-regulating Cdc42 and Rac1.

• KEYWORDS: microRNA-34a; human lens epithelial cells; Cdc42; Rac1; senescence; apoptosis

Citation: Lan W, Chen ZJ, Zhou L. MicroRNA-34a promotes the senescence and apoptosis of human lens epithelial cells by up-regulating Cdc42 and Rac1. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020; 20(5):768-772

0 引言

据统计,全球致盲性眼病中,因白内障致盲的患者占比约为50%。随着世界人口增加,老龄化加剧,年龄相关性白内障(age-related cataract, ARC)发病人数逐年上升^[1]。目前研究表明,细胞氧化应激是白内障产生的首要因素,病理学研究称为晶状体上皮细胞衰老凋亡^[2-3]。微小RNA(MicroRNA)存在于真核生物中,是一类长约18~25个核苷酸的内源性单链非编码RNA,能在转录水平与特定的靶基因3'非翻译区完全或不完全互补配对,促使靶基因在mRNA水平发生降解。现阶段研究表明,MicroRNA作为重要的调节因子,参与多种人类疾病的发展^[4],在疾病的诊断和治疗中发挥积极作用^[5]。近年来MicroRNA在眼科疾病的研究已经开展,MicroRNA在哺乳动物眼部表达丰富且分布广泛,高表达于角膜上皮细胞、睫状体、晶状体及视网膜色素上皮细胞。其中ARC中表达最多的是MicroRNA-34a。文献报道称Rho蛋白家族(Cdc42, Rac1等)作为Ras超家族中小分子G蛋白的成员之一,在晶状体上皮细胞和纤维细胞中表达,参与到细胞信号转导^[6],激活其下游靶分子Rho激酶从而参与多种生物效应,譬如维持细胞微观形态功能的稳定、增殖与迁移^[7]、基因转录、分化^[8-9]、增殖凋亡等^[10]。Rac1和Cdc42又是Rho家族蛋白重要成员,有文献指出Rac1和Cdc42能够促进晶状体上皮细胞迁移^[11],但对细胞的衰老和凋亡还没有研究。本文通过观察ARC晶状体和透明晶状体中MicroRNA-34a的表达,探讨其对晶状体细胞衰老和凋亡的研究,以期对白内障的防治提供新的方法。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 组织标本和细胞 透明晶状体前囊膜40例,取自南京医科大学附属儿童医院眼库,来源于眼库角膜移植供体;ARC晶状体前囊膜40例,取自南京医科大学附属儿童医院眼科常规白内障手术中。透明晶状体前囊膜患者的平均年龄为52.34±5.21岁,ARC晶状体前囊膜患者的平均年龄为52.35±5.19岁。患者及其家属签署知情同意书。晶状体上皮细胞SRA01/04采购自中科院上海细胞生物研究所。本研究经医院伦理委员会批准展开。

1.1.2 主要仪器和试剂 胰蛋白酶、qRT-PCR检测试剂盒购自碧云天生物技术有限公司;RPIM1640细胞培养基购自美国Gibco公司;Trizol总RNA提取试剂盒购自广东锐博生物科技技术股份有限公司;反转录试剂盒购自美国

Sigma;MicroRNA-34a inhibitors, MicroRNA-34a mimics和空脂质体(货号B05009)由上海吉玛制药技术有限公司代为合成;Lipofectamine 2000购自美国Invitrogen公司;青、链霉素购自华北制药有限公司;SYBR Premix Extaq system日本Takara公司;细胞培养箱采购自上海三腾仪器有限公司。兔抗人Cdc42和兔抗人Rac1(WB)购自美国abcam公司;二抗(IHC)、GAPDH鼠抗购自Fermentas公司。实时荧光定量PCR仪购自美国Thermo公司;细胞培养箱购自SANYO;生物安全柜购自haier;高速离心机购自Thermo;Ti-U/Ti-s倒置荧光显微镜购自Nikon。

1.2 方法

1.2.1 qRT-PCR检测MicroRNA-34a基因的表达 取透明人晶状体前囊膜组织和ARC人晶状体前囊膜组织, Trizol液与组织处理液混合作用10min,以 1.2×10^4 r/min离心10min,去除上层清液,加入Trizol与氯仿震荡混匀,以 1.2×10^4 r/min离心20min,加入异丙醇,用移液器吹打均匀,以 1.2×10^4 r/min离心10min后,弃去上层清液,留下层絮状沉淀,加入Trizol与乙醇的混合液,以 1.2×10^4 r/min离心10min后,弃上清液,提取的RNA用DEPC水溶解,用反转录试剂盒转录cDNA,按照SYBR方法进行实时定量PCR。反应条件为94℃ 30s, 1 cycle; 95℃ 5s, 60℃ 30s, 40 cycles; 95℃ 5s, 60℃ 1min, 95℃, 1 cycle。以U6作为内参,上游引物为5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3', 下游引物为5'-AAC GCT TCA CGA ATT TGC GT-3'。引物MicroRNA-34a上游引物为5'-CGG CGT GGC AGT GTC TTA G-3', 下游引物为5'-GTC GTA TCC AGT GCA GGC TCC GAG GTA TTC GCA CTG GAT ACG ACA CAA CC-3', 结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

1.2.2 细胞培养 液氮中取出人晶状体细胞系SRA01/04,置于37℃水浴溶解,加入含10%胎牛血清(FBS)的DMEM培养基中培养48h,然后离心去上清,加入DMEM培养基悬浮细胞,接种于培养瓶中。置于二氧化碳培养箱中培养,培养条件37℃, 5% CO₂浓度。传代一次,待细胞处于对数期用于后续研究。

1.2.3 细胞转染 调整人晶状体细胞系SRA01/04细胞浓度为 1×10^6 个/mL,取2mL接种于6孔板中,培养过夜,采用Lipofectamine2000将浓度均为50nmol/L的MicroRNA-34a mimics, MicroRNA-34a inhibitors和空脂质体转染至细胞。其中转染MicroRNA-34a mimics的细胞作为MicroRNA-34a过表达组,转染MicroRNA-34a inhibitors的细胞作为MicroRNA-34a抑制组,转染空脂质体的细胞作为对照组。qRT-PCR检测MicroRNA-34a的表达量。

1.2.4 采用β-半乳糖苷酸(SA-β-gal)染色检测细胞的衰老情况 将各组细胞接种于6孔板培养24h后,离心去除培养基,然后采用PBS洗涤,离心去上清,加入1mL β-半乳糖苷酶染色固定液,室温固定15min, PBS洗涤3次,离心,去上清加入1mL染色工作液,37℃孵育过夜,光学显微镜下观察染色结果并进行衰老细胞计数, SA-β-gal阳性细胞(衰老细胞)中可见蓝色沉淀物,分别统计3个不同视野中的细胞总数和SA-β-gal阳性细胞数, SA-β-gal阳性细胞百分比(%) = SA-β-gal阳性细胞个数/总细胞数×100%。

1.2.5 MicroRNA-34a对人晶状体细胞系SRA01/04细胞凋亡的影响 Annexin V-FITC/PI双染色流式细胞仪检测细胞凋亡,收集各组细胞, PBS洗涤,离心去除上清,然

后加入 300 μ L 的结合缓冲液,混匀,加入 5 μ L Annexin V-FITC 和 5 μ L PI,避光孵育 30min,然后上机检测,分析细胞早期和晚期凋亡率。

1.2.6 蛋白免疫印迹检测 Cdc42、Rac1 蛋白的表达 收集各组细胞,加细胞裂解液,冰上裂解 30min,超声裂解 30s,10000r/min,4 $^{\circ}$ C 离心 10min,收集上清,BCA 检测蛋白浓度,待测样品和 Loading buffer 混合,然后加入至制备好的 SDS-PAGE 凝胶上样孔中,进行分离,结束后取出凝胶,转膜,封闭,加入兔抗人 Cdc42(兔抗人 Rac1),4 $^{\circ}$ C 过夜,加入辣根过氧化物标记的羊抗兔 IgG,37 $^{\circ}$ C 孵育 2h,ECL 显影,采用自动凝胶成像系统采集图像,以 GAPDH 作为内参进行分析。

统计学分析:数据分析采用 SPSS16.0 软件,所有数据均经正态分布和方差齐性检验,其中计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,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。作图工具采用 Graphpad5.01, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MicroRNA-34a 在透明晶状体前囊膜组织和 ARC 晶状体前囊膜组织中的表达 qRT-PCR 结果显示透明晶状体前囊膜组织中 MicroRNA-34a 的表达量显著低于 ARC 晶状体前囊膜组织,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。

2.2 MicroRNA-34a 转染晶状体细胞系 SRA01/04 的表达 qRT-PCR 检测结果显示 MicroRNA-34a 过表达组中 MicroRNA-34a 的表达明显高于对照组($P < 0.05$),MicroRNA-34a 抑制组中 MicroRNA-34a 的表达明显低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见图 2,提示成功构建 MicroRNA-34a 过表达/抑制细胞株。

2.3 MicroRNA-34a 对人晶状体细胞系 SRA01/04 细胞衰老的影响 光学显微镜下观察,SA- β -gal 阳性细胞中可见蓝色沉淀物。MicroRNA-34a 过表达组呈强阳性染色,对照组、MicroRNA-34a 抑制组着染阴性。MicroRNA-34a 过表达组、对照组、MicroRNA-34a 抑制组 SA- β -gal 阳性率分别为(87.56 \pm 2.34)%、(12.22 \pm 2.74)%、(3.45 \pm 0.45)%。MicroRNA-34a 过表达组明显高于对照组,而 MicroRNA-34a 抑制组 SA- β -gal 阳性率明显低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),提示过表达 MicroRNA-34a 可促进 SRA01/04 细胞衰老,见图 3。

2.4 MicroRNA-34a 对人晶状体细胞系 SRA01/04 细胞凋亡的影响 MicroRNA-34a 抑制组、对照组和 MicroRNA-34a 过表达组的细胞凋亡率分别为(5.87 \pm 1.22)%、(12.26 \pm 2.14)%和(29.45 \pm 3.12)%。MicroRNA-34a 抑制组细胞凋亡率明显低于对照组,而 MicroRNA-34a 过表达组细胞凋亡率明显高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见图 4。

2.5 MicroRNA-34a 对 Cdc42 和 Rac1 蛋白的影响 Western blot 检测结果显示,MicroRNA-34a 过表达组中 Cdc42 和 Rac1 的表达明显高于对照组,MicroRNA-34a 抑制组中 Cdc42 和 Rac1 的表达明显低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见图 5。

3 讨论

随着当今社会老龄化发展,有报告指出 2020 年我国 50 岁以上患白内障的人群将达到总人数的 1/4,白内障手

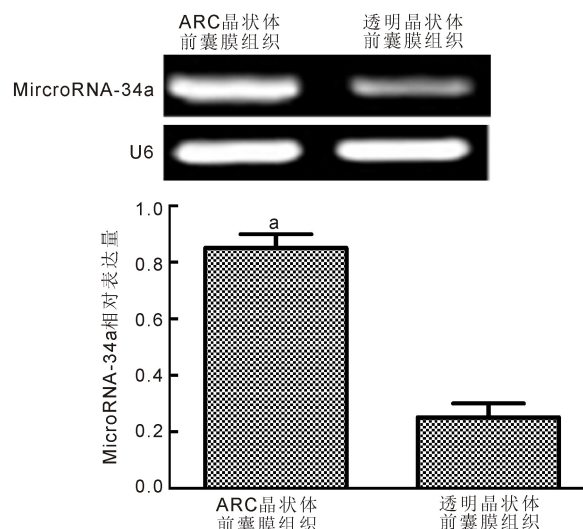


图 1 MicroRNA-34a 在透明晶状体前囊膜组织和 ARC 晶状体前囊膜组织的表达 $^a P < 0.05$ vs 透明晶状体前囊膜组织。

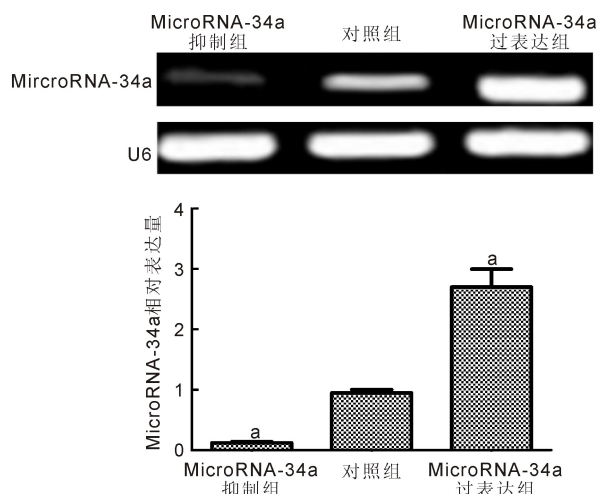


图 2 RT-PCR 检测 MicroRNA-34a 在人晶状体细胞系 SRA01/04 中的表达 $^a P < 0.05$ vs 对照组。

术需求量逐年增加,给国家和个人带来了巨大的经济负担。因此研究 ARC 的发病机制,寻找非手术的治疗方法,具有重大意义。

文献报道^[12]称 ARC 是晶状体衰老的表现,而氧化损伤是 ARC 发生的独立危险因素。随着年龄增加,细胞机能减退,细胞代谢产物和外部因子均不断形成自由基,衰老的晶状体细胞酶活性下降,抗氧化能力减弱,多余的自由基无法被清除,出现积累,就会对晶状体产生氧化损伤,进而攻击细胞膜,导致脂质过氧化,造成蛋白质和 DNA 损伤,导致晶状体混浊^[12-13]。表观遗传学调控基因表达的机制包括 DNA 甲基化、组蛋白修饰及微小 RNA (MicroRNA)。其中 MicroRNA 的出现,为研究开拓了新思路。MicroRNA 在哺乳动物中保持高度同源性,可与靶基因序列 3' 非编码区结合,通过调节基因的转录表达,调节细胞的生长发育、分化、增殖、凋亡和衰老等。文献报道称在过氧化氢诱导的早衰细胞以及自然复制性衰老细胞中 MicroRNA-34a 表达均会出现异常升高^[14-15]。

文献报道称患者晶状体混浊程度与 MicroRNA-34a 表达呈明显的正相关关系,提示 MicroRNA-34a 在 ARC 发生发展过程中起着关键作用^[16]。本研究 qRT-PCR 结果显示透明晶状体前囊膜组织中 MicroRNA-34a 的表达量

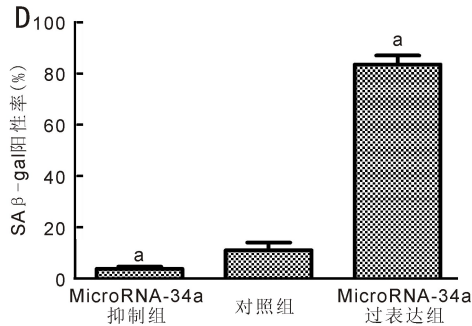
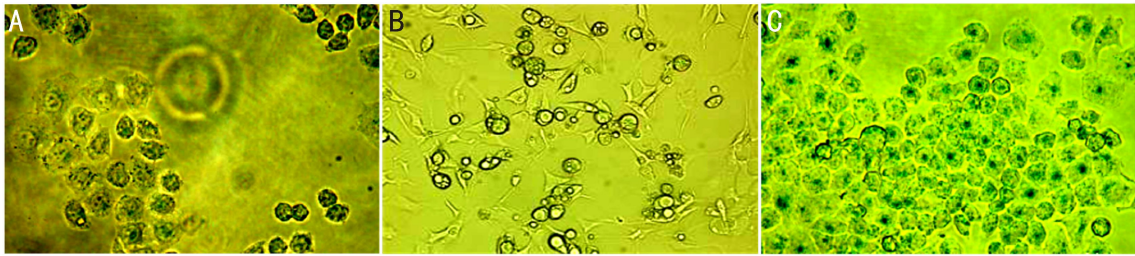


图3 MicroRNA-34a 对人晶状体细胞系 SRA01/04 细胞衰老的影响 (×200) A: MicroRNA-34a 抑制组; B: 对照组; C: MicroRNA-34a 过表达组; D: 三组 SA-β-gal 阳性率比较, ^a*P*<0.05 vs 对照组。

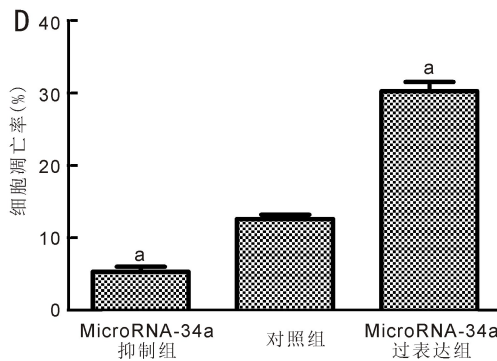
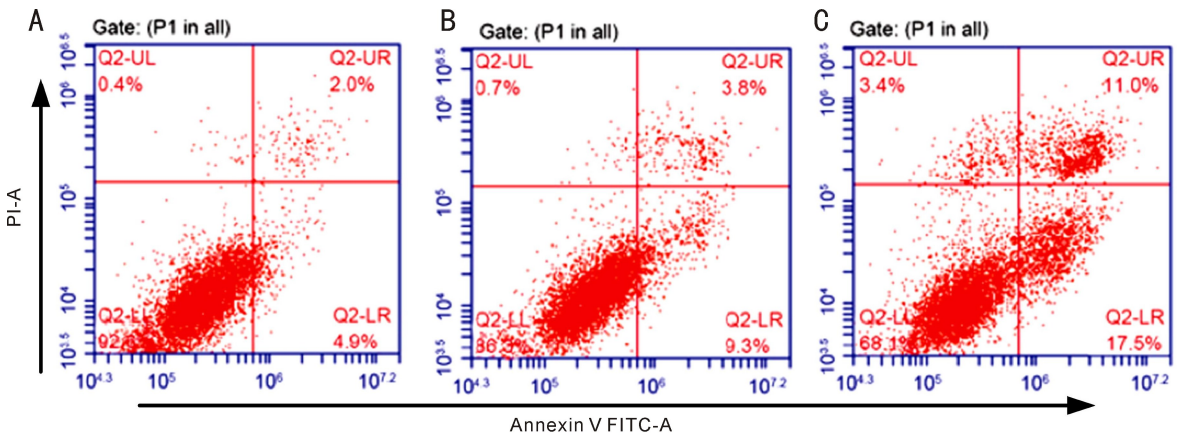


图4 MicroRNA-34a 对人晶状体细胞系 SRA01/04 细胞凋亡的影响 A: MicroRNA-34a 抑制组; B: 对照组; C: MicroRNA-34a 过表达组; D: 三组细胞凋亡率比较, ^a*P*<0.05 vs 对照组。

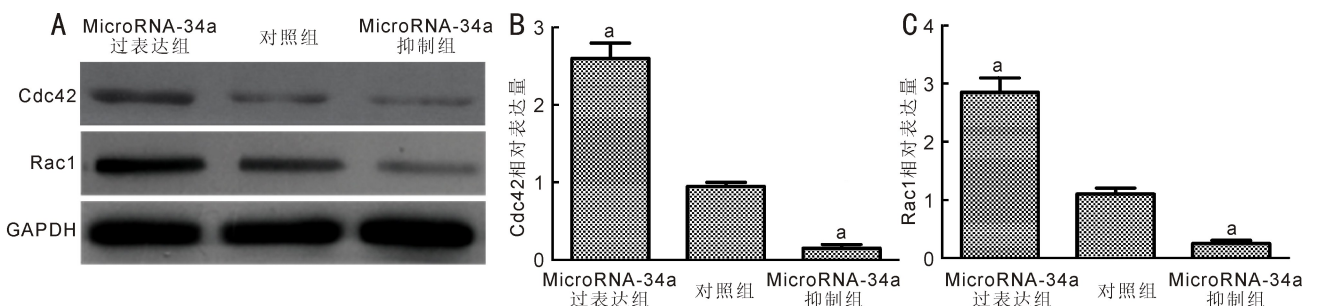


图5 MicroRNA-34a 对 Cdc42 和 Rac1 蛋白的影响 A: 三组 Western blot 检测结果; B: 三组 Cdc42 的表达比较; C: 三组 Rac1 的表达比较, ^a*P*<0.05 vs 对照组。

显著低于 ARC 晶状体前囊膜组织,差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。为了进一步观察 MicroRNA-34a 在 ARC 中的作用,本研究又以 SRA01/04 细胞株为研究对象,采用细胞转染技术构建 MicroRNA-34a 过表达抑制细胞株,然后观察 MicroRNA-34a 对 SRA01/04 细胞的衰老和凋亡的影响。文献报道^[17]称衰老的细胞中 β -半乳糖苷酶的表达量会极具升高,因此 SA- β -gal 染色阳性常常作为细胞衰老的生物学标志。本研究通过 SA- β -gal 染色检测 MicroRNA-34a 对 SRA01/04 细胞衰老情况的影响,结果显示 MicroRNA-34a 过表达组呈强阳性染色,空脂质体组、MicroRNA-34a 抑制组着染阴性,阳性率分别为 $(87.56\pm 2.34)\%$ 、 $(12.22\pm 2.74)\%$ 、 $(3.45\pm 0.45)\%$, MicroRNA-34a 过表达组明显高于对照组和 MicroRNA-34a 抑制组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。进一步采用流式细胞术检测 MicroRNA-34a 对 SRA01/04 细胞凋亡的影响,结果显示 MicroRNA-34a 抑制组、对照组和 MicroRNA-34a 过表达组的细胞凋亡率分别为 $(5.87\pm 1.22)\%$ 、 $(12.26\pm 2.14)\%$ 和 $(29.45\pm 3.12)\%$, MicroRNA-34a 抑制组细胞凋亡率明显低于对照组,而 MicroRNA-34a 过表达组细胞凋亡率明显高于对照组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),提示过表达 MicroRNA-34a 可促进 SRA01/04 细胞衰老和凋亡。

Rho 蛋白家族能够参与并调节细胞增殖、基因表达及细胞骨架重组,是参与细胞内信号转导的重要蛋白,能够改变和影响细胞生物学功能。其中 Cdc42 蛋白作为 Rho 家族蛋白重要成员之一,主要参与调解细胞骨架中肌动蛋白重排、调控蛋白激酶,启动细胞内外信号等来影响细胞增殖、侵袭、分化和转移等^[18]。Rac1 蛋白作为信号传导通路关键因子,文献报道称^[19]其是信号传导通路中的分子开关。本研究发现, MicroRNA-34a 过表达可促进晶状体上皮细胞凋亡。本研究 Western blot 检测结果显示 MicroRNA-34a 过表达组中 Cdc42 和 Rac1 的表达明显高于对照组, MicroRNA-34a 抑制组中 Cdc42 和 Rac1 的表达明显低于对照组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),提示 MicroRNA-34a 能通过调节 Cdc42、Rac1 基因表达来促进人晶状体上皮细胞 SRA01/04 的衰老和凋亡。

综上所述, MicroRNA-34a 在 ARC 人晶状体上皮细胞中高表达,其可能通过调节 Cdc42、Rac1 基因表达,调控人晶状体上皮细胞衰老和凋亡这一生理过程,从而在白内障的发病机制中行使重要的功能,成为白内障诊治的潜在新途径。

参考文献

1 Bourne RRA, Flaxman SR, Braithwaite T, et al. Magnitude, temporal trends, and projections of the global prevalence of blindness and distance and near vision impairment: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Global Health* 2017;5(9):e888-e897

2 Song J, Guo D, Bi H. Chlorogenic acid attenuates hydrogen peroxide-induced oxidative stress in lens epithelial cells. *Int J Mol Med* 2018;41(2):765-772

3 Bai J, Yang F, Dong L, et al. Ghrelin protects human lens epithelial cells against oxidative stress-induced damage. *Oxidative Med Cell Longevity* 2017;2017:1910450

4 Rupaimoole R, Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nature Rev Drug Discov* 2017;16(3):203

5 Oliveto S, Mancino M, Manfrini N, et al. Role of microRNAs in translation regulation and cancer. *World J Biol Chem* 2017;8(1):45

6 Hanke-Gogokhia C, Wu Z, Sharif A, et al. The guanine nucleotide exchange factor Arf-like protein 13b is essential for assembly of the mouse photoreceptor transition zone and outer segment. *J Biol Chem* 2017;292(52):21442-21456

7 Stengel K, Zheng Y. Cdc42 in oncogenic transformation, invasion, and tumorigenesis. *Cell Signall* 2011;23(9):1415-1423

8 Bourguignon LY, Zhu H, Shao L, et al. Rho-kinase (ROK) promotes CD44v(3, 8-10)-ankyrin interaction and tumor cell migration in metastatic breast cancer cells. *Cell Motil Cytoskel* 2015;43(4):269-287

9 Stanbery L, Petty EM. Steps solidifying a role for SEPT9 in breast cancer suggest that greater strides are needed. *Breast Cancer Res Bcr* 2012;14(1):101

10 Bharadwaj S, Thanawala RG, Falcioni R, et al. Resensitization of breast cancer cells to anoikis by tropomyosin-1; role of Rho kinase-dependent cytoskeleton and adhesion. *Oncogene* 2005;24(56):8291

11 孙国庆, 唐建明. siRNA 干扰 Rac1 表达对人晶状体上皮细胞增殖和迁移能力的影响. *中国医药导报* 2018;15(29):17-20

12 Shiels A, Hejtmancik JF. Mutations and mechanisms in congenital and age-related cataracts. *Exper Eye Res* 2017;156:95-102

13 Erol Tinaztepe Ö, Ay M, Eser E. Nuclear and mitochondrial DNA of age-related cataract patients are susceptible to oxidative damage. *Curr Eye Res* 2017;42(4):583-588

14 Yang L, Song X, Zhu J, et al. Tumor suppressor microRNA-34a inhibits cell migration and invasion by targeting MMP-2/MMP-9/FNDC3B in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2017;51(1):378-388

15 Deng X, Zheng H, Li D, et al. MicroRNA-34a regulates proliferation and apoptosis of gastric cancer cells by targeting silent information regulator 1. *Exper Therap Med* 2018;15(4):3705-3714

16 Fan F, Zhuang J, Zhou P, et al. MicroRNA-34a promotes mitochondrial dysfunction-induced apoptosis in human lens epithelial cells by targeting Notch2. *Oncotarget* 2017;8(66):110209

17 Yu X, Zheng H, Chan MTV, et al. MicroRNAs: new players in cataract. *Am J Translat Res* 2017;9(9):3896

18 zum Büschenfelde UM, Brandenstein LI, von Elsner L, et al. RIT1 controls actin dynamics via complex formation with RAC1/CDC42 and PAK1. *PLoS Gene* 2018;14(5):e1007370

19 Matsukawa T, Morita K, Omizu S, et al. Mechanisms of RhoA inactivation and CDC42 and Rac1 activation during zebrafish optic nerve regeneration. *Neurochem Int* 2018;112:71-80