

晶状体上皮细胞凋亡的基因调控

刘思源, 康刚劲

作者单位:(646000) 中国四川省泸州市, 泸州医学院附属医院眼科

作者简介:刘思源,男,硕士研究生,研究方向:白内障。

通讯作者:康刚劲,女,医学硕士,副教授,硕士生导师,四川省眼康复学会委员,四川省中西医结合学会委员,四川省泸州市病残儿童专家鉴定组成员,研究方向:晶状体病. kanggangjin2@sohu.com

收稿日期:2009-09-25 修回日期:2009-11-30

Gene regulation of lens epithelial cell apoptosis

Si-Yuan Liu, Gang-Jin Kang

Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Gang-Jin Kang. Department of Ophthalmology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. kanggangjin2@sohu.com

Received: 2009-09-25 Accepted: 2009-11-30

Abstract

• Lens epithelial cell apoptosis is the cytological foundation of all kinds of cataract except congenital cataract. Accordingly, it is the key point to prevent and cure cataract. To study the gene regulation of apoptosis is an important method to know the mechanism of lens epithelial cell apoptosis. We summarize the research progress about gene regulation of lens epithelial cell apoptosis in this article.

• **KEYWORDS:** lens epithelial cell; apoptosis; gene regulation

Liu SY, Kang GJ. Gene regulation of lens epithelial cell apoptosis. *Int J Ophthalmol (Guji Yanke Zazhi)* 2010;10(2):292-294

摘要

晶状体上皮细胞凋亡是除先天性白内障以外的所有类型白内障形成的细胞学基础,是防治除先天性白内障以外的其它类型白内障的关键。凋亡相关基因调控的研究是解决晶状体上皮细胞凋亡机制的重要途径,我们综述了关于晶状体上皮细胞凋亡基因调控方面的研究进展。

关键词: 晶状体上皮细胞; 凋亡; 基因调控

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2010.02.029

刘思源, 康刚劲. 晶状体上皮细胞凋亡的基因调控. 国际眼科杂志 2010;10(2):292-294

0 引言

白内障是由于先天或后天因素引起的晶状体混浊并导致视功能障碍,是世界范围内首要的致盲性眼病。随着

全球人口的老齡化加剧,白内障的发病率及患者人数正不断上升,因此寻求新的白内障防治方法是当今的研究热点之一。虽然白内障的形成机制至今尚不清楚,但目前得以公认的观点是:白内障的形成是多因素综合作用的结果,而晶状体上皮细胞凋亡是除先天性白内障以外的所有类型白内障形成的细胞学基础^[1]。因此,关于晶状体上皮细胞凋亡的研究对于除先天性白内障以外的其它类型白内障的防治具有重用意义。目前,有关晶状体上皮细胞凋亡的确切分子机制仍不完全清楚,但凋亡相关基因调控的研究仍将是解决细胞凋亡机制的重要途径。晶状体上皮细胞接受外界死亡信号后,通过早期反应基因(联系外界信号与发生凋亡的中介)的作用,经多种途径启动细胞自杀程序,使细胞发生凋亡。

1 参与晶状体上皮细胞凋亡的早期反应基因

参与晶状体上皮细胞凋亡的早期反应基因包括 *c-myc*, *c-fos*, *c-jun*, 它们是联系外界信号与发生凋亡的中介,其特点在于接受外界信号刺激后能迅速做出反应,其表达不需要重新合成蛋白,而由其原有蛋白进行翻译后修饰来实现,表达产物位于细胞核,与 DNA 相结合,有转录因子 AP-1 的活性,决定着其他基因的转录和表达。

1.1 *c-myc* 基因 *c-myc* 基因是一个具有多重功能的癌基因。*c-myc* 表达低水平时,细胞生长停滞;*c-myc* 表达,且有血清生长因子存在时,培养细胞进入增生状态;*c-myc* 表达,但取消生长因子时,细胞发生凋亡,而且 *c-myc* 水平越高,细胞对生长因子的依赖性越强^[2]。研究发现半乳糖白内障早期存在 *c-myc* 基因的高表达,证明白内障发生过程中也有快速早期反应核因子的变化,而在白内障后期 *c-myc* 基因的表达水平可恢复正常^[3]。

1.2 *c-fos* 与 *c-jun* 基因 原癌基因 *c-fos*, *c-jun* 属于即刻早期基因,其特点在于静止的细胞在受到有丝分裂原刺激时能瞬间增强表达,二者的表达产物 C-fos 和 Jun 蛋白结合成二聚体激活蛋白-1,将细胞外信号转导给细胞核,激活 AP-1 位点的靶基因的表达和转录,发挥信使作用。Li 等^[4] 处理体外培养的鼠晶状体时,证实 *c-fos* 基因的延长表达是唯一伴随晶状体上皮细胞凋亡过程的一个早期应答基因。*c-jun* 基因主要通过蛋白激酶 C 传导通路对细胞凋亡进行调控,与白内障的发生关系密切,Long 等^[4] 将人晶状体上皮细胞分别暴露于紫外线和过氧化氢中诱导其凋亡,发现 *c-jun* 的激活在紫外线照射诱导晶状体上皮细胞凋亡的过程中具有重要作用,Yao 等^[5] 发现 fisetin(一种黄酮类化合物)能抑制紫外线诱导的晶状体上皮细胞内 P38 和促分裂活化蛋白激酶(MAPK)系统中的 *c-jun* 氨基端激酶的磷酸化,发挥抗凋亡作用。

2 细胞膜凋亡的三种途径

目前普遍的观点认为,细胞凋亡具有三种途径:细胞膜死亡受体途径、线粒体途径、内质网应激途径。

2.1 细胞膜死亡受体途径 各种外界因素是细胞凋亡的启动因子,它们可通过不同的信号传递系统传递凋亡信号,从而引起细胞凋亡。在外界因素的刺激下 Fas 与其配

体 Fas L 的相互作用是引起细胞凋亡的主要途径之一。Fas (又称 APO-1 或 CD95) 是 *fas* 基因的表达产物, 属于肿瘤坏死因子受体和神经生长因子受体家族, 为跨膜蛋白分子, 又称死亡受体, 在细胞凋亡死亡受体通路中发挥着重要作用。在外界刺激的诱导下, Fas 发生三聚体化; 三聚体化的 Fas 和 Fas L 结合后, 使三个 Fas 分子胞内段的死亡结构域 (DD) 相聚成簇; 以吸引胞质中另一种带有相同死亡结构域的蛋白 FADD; FADD 作为死亡信号转录中的一种连接蛋白, 其 C 端含有 DD, 与 Fas 三聚体中的 DD 结合, N 端含有 DED, 与无活性的 caspase-8 酶原发生同嗜性交联, 聚合多个 caspase-8 分子, 导致 caspase-8 分子由单链酶原转化成有活性的双链蛋白, 激活下游的 caspase-3, caspase-6 及 caspase-7, 以剪切胞质和核底物^[6]。Li 等^[7]发现人晶状体上皮细胞中 Fas 的表达与细胞内 4-HNE 的浓度呈浓度-时间依赖关系, 并伴随着 JNK, caspase-3 的激活及凋亡的发生。Hueber 等^[8]的研究表明 Fas 和 Fas L 能有效地抑制晶状体上皮细胞增殖, 促进其凋亡, 为解决白内障术后的晶状体上皮细胞增殖, 防治后发性白内障提供了新的思路。

2.2 内质网应激途径 内质网主要负责折叠和装配蛋白质, 当其处于被干扰状态时, 未能折叠的蛋白质将会聚集其中, 形成内质网应激。内质网膜上的受体一旦探测到了施加于内质网的干扰, 就会启动非折叠蛋白反应, 通过减少新生蛋白、降解未折叠蛋白以维持细胞内钙的平衡, 稳定细胞内环境; 如果干扰持续, 而应激反应没有发挥应有的作用, 那么细胞就会启动凋亡程序^[9], 通过内质网释放的蛋白质分子与 caspase-8 以及其他蛋白 (Bap31, IRE1 等) 组合成复合物, 作用于 Bcl-2 家族中的 Bid, Bim, 进而作用于线粒体, 进入线粒体通路的细胞凋亡信号途径^[10], 可见内质网应激途径与线粒体途径相互关联。杨雪莉等^[11]的研究表明: 高浓度的内质网刺激因子 (未折叠蛋白-同型半胱氨酸) 可刺激晶状体上皮细胞产生内质网应激, 并通过未折叠蛋白应答导致晶状体上皮细胞凋亡, 产生白内障。

2.3 线粒体途径 作为细胞生命活动控制中心, 线粒体不仅是细胞呼吸链和氧化磷酸化的中心, 也是细胞凋亡调控中心。其通过 PT 孔 (permeability transition pore) 或 Bcl-2 家族成员形成的线粒体跨膜通道释放细胞色素 C 的过程是细胞凋亡的关键步骤, 同时 Bcl-2 家族成员对 PT 孔的开合有着重要的调节作用, 释放到胞质中的细胞色素 C 激活 caspase-9, 进而激活下游的 caspase, 引起细胞凋亡^[12]。可见在凋亡的线粒体途径中, Bcl-2 家族和 caspase 家族发挥着重要作用。

2.3.1 bcl-2 基因家族 *bcl-2* 基因表达产物 Bcl-2 有多种同源蛋白和结合蛋白, 其中 Bcl-2, Bax 和 Bcl-x 三者形成一个凋亡调控系统, Bcl-2 与 Bax 的比例决定着细胞的存亡。Wu 等^[13]在研究银杏叶提取物对高糖引起的人晶状体上皮细胞凋亡的保护作用及可能的机制时就发现银杏提取物的存在使得人晶状体上皮细胞凋亡率降低, 且 Bax 与 Bcl-2 比值的增加明显减少。另外, *bcl-2* 是目前已知凋亡相关基因中与氧化关系最密切的基因, 所以它在过氧化氢诱导的晶状体上皮细胞凋亡中具有重要作用。黄秀榕等^[14]发现复方水蛭滴眼液能有效抑制过氧化氢诱导的大鼠晶状体上皮细胞凋亡, 上调 Bcl-2 的表达及下调 Bax 的表达可能是其分子机制。

2.3.2 白介素-1 β -转化酶 一簇细胞凋亡蛋白酶, 在细胞

凋亡过程中起“刽子手”的作用, 按其发现先后, 分别被命名为 caspase 1 ~ 12, 均属于半胱氨酸蛋白酶, 是直接导致凋亡细胞解体的蛋白酶系统, 其活化是使效应细胞发生凋亡的中心环节。在凋亡的线粒体途径中, caspase-9 是最重要的起始因子; caspase-3 属于凋亡效应亚类, 是细胞凋亡过程中最重要的终末执行酶^[15], 所以下调其表达有助于抑制晶状体上皮细胞凋亡, Yao 等^[16]在探讨 Epigallocatechin gallate (EGCG, 绿茶的主要成分) 对过氧化氢诱导的人晶状体上皮细胞凋亡的保护作用时发现: EGCG 能减少线粒体释放细胞色素 C, 并抑制由过氧化氢造成的 caspase-9, caspase-3 表达增强和 Bcl-2/Bax 比值降低, 从而抑制晶状体上皮细胞凋亡。细胞凋亡的三种途径并非完全独立地发挥作用, 它们联系紧密, 最终都集中到线粒体上完成凋亡过程。例如, 当 Ca^{2+} 从内质网中释放时, 胞质中 Ca^{2+} 负载, 造成内质网腔内钙稳态的改变, 继而产生内质网应激反应, 触发了包括 Bid, Bim, caspase-8, 12, JNK 和 Bax, Bad 等在内的多种凋亡相关蛋白的表达才最终激活凋亡执行分子 caspase-3, 从而导致细胞凋亡^[17, 18]。目前研究结果也显示晶状体上皮细胞凋亡的途径是与此类似的多基因参与、多途径的复杂过程。

目前, 关于晶状体上皮细胞凋亡基因调控的研究主要集中在不同药物对不同致凋亡因素诱导的晶状体上皮细胞凋亡的作用观察以及对 *bcl-2*, *bax* 和 caspase 等部分基因表达的影响, 这些研究证实了部分凋亡相关基因对晶状体上皮细胞凋亡的调节作用, 但对于其具体调节途径、相互关系以及是否还有其他基因参与调控尚待进一步研究, 以更深入地探讨白内障的发病机制, 为白内障防治提供更多的理论依据。

参考文献

- 1 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
- 2 Ifandi V, Al-Rubeai M. Regulation of cell proliferation and apoptosis in CHO-K1 cells by the coexpression of c-Myc and Bcl-2. *Biotechnol Prog* 2005;21(3):671-677
- 3 Hann SR. Role of post-translational modifications in regulating c-Myc proteolysis, transcriptional activity and biological function. *Semin Cancer Biol* 2006;16(4):288-302
- 4 Long AC, Colitz CM, Bomser JA. Apoptotic and necrotic mechanisms of stress-induced human lens epithelial cell death. *Exp Biol Med (Maywood)* 2004;229(10):1072-1080
- 5 Yao K, Zhang L, Zhang Y, *et al.* The flavonoid, fisetin, inhibits UV radiation-induced oxidative stress and the activation of NF-kappaB and MAPK signaling in human lens epithelial cells. *Mol Vis* 2008;14:1865-1871
- 6 MacEwan DJ. TNF receptor subtype signalling: differences and cellular consequences. *Cell Signal* 2002;14(6):477-492
- 7 Li J, Sharma R, Patrick B, *et al.* Regulation of CD95 (Fas) expression and Fas-mediated apoptotic signaling in HLE B-3 cells by 4-hydroxynonenal. *Biochemistry* 2006;45(40):12253-12264
- 8 Hueber A, Eichholtz CD, Kociok N, *et al.* Lens epithelial cells express CD95 and CD95 ligand treatment induces cell death and DNA fragmentation *in vitro*. *Eur J Ophthalmol* 2003;13(3):241-245
- 9 Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, *et al.* Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO Rep* 2006;7(9):880-885
- 10 Momoi T. Caspases involved in ER stress-mediated cell death. *J Chem Neuroanat* 2004;28(1-2):101-105
- 11 杨雪莉, 蔡可丽, 高雪, 等. 未折叠蛋白应答在晶状体上皮细胞凋亡中的作用. *山东大学学报医学版* 2008;46(1):52-56

12 Shoshan-Barmatz V, Israelson A, Brdiczka D, et al. The voltage-dependent anion channel (VDAC): function in intracellular signalling, cell life and cell death. *Curr Pharm Des* 2006;12(18):2249-2270
13 Wu ZM, Yin XX, Ji L, et al. Ginkgo biloba extract prevents against apoptosis induced by high glucose in human lens epithelial cells. *Acta Pharmacol Sin* 2008;29(9):1042-1050
14 黄秀榕, 祁明信, 汪朝阳, 等. 复方水蛭滴眼液抑制大鼠晶状体上皮细胞凋亡及其对 Bcl-2 和 Bax 基因的调控. *中西医结合学报* 2007;5(6):681-685
15 Gupta S, Knowlton AA. HSP60, Bax, apoptosis and the heart. *J Cell*

Mol Med 2005;9(1):51-58
16 Yao K, Ye P, Zhang L, et al. Epigallocatechin gallate protects against oxidative stress-induced mitochondria-dependent apoptosis in human lens epithelial cells. *Mol Vis* 2008;31(14):217-223
17 Xu C, Bailly-Maitre B, Reed JC. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions. *J Clin Invest* 2005;115(10):2656-2664
18 Zhang K, Kaufman RJ. The unfolded protein response: a stress signaling pathway critical for health and disease. *Neurology* 2006;66(2 Suppl 1):S102-109

· 短篇报道 ·

保留眼球的义眼配戴效果分析

王秀芝¹, 罗英¹, 练海东²

作者单位:¹(830013)中国新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市,解放军第474医院眼科;²(832000)中国新疆维吾尔自治区石河子市,石河子大学医学院第一附属医院眼科
作者简介:王秀芝,女,主管护师,研究方向:眼部整形。
通讯作者:王秀芝. qxp991006@163.com
收稿日期:2009-12-09 修回日期:2010-01-18

王秀芝,罗英,练海东. 保留眼球的义眼配戴效果分析. *国际眼科杂志* 2010;10(2):294

0 引言

义眼配戴是一种改善患者面部缺陷,恢复外观美容的方法,对树立患者自信,重新融入社会生活发挥了重大作用,传统的义眼制作与配戴均需先让患者行眼球摘除,再根据患者的需求而选择是否行义眼台的植入,最后行义眼的制作与配戴。而我院自2004-06开展针对先天性小眼球与外伤眼球缝合后眼球萎缩的患者采用保留眼球情况下的义眼制作与配戴,取得了满意的临床效果,现报告如下。

1 临床资料

2004-06/2009-06期间就诊我院门诊的55例患者55眼,男32例,女23例,年龄14~45岁,其中10例为先天性小眼球,45例为外伤眼球缝合后眼球轻度萎缩,患眼视力均无光感,且排除有活动性病变。义眼材料:聚甲基丙烯酸甲酯,硅橡胶和寒天印模材,石膏粉,牙科用蜡片。制作方法:先给予10g/L地卡因眼液滴入结膜囊内进行表面麻醉,将取模器置入患者结膜囊内,将膜粉调成糊状,注入结膜囊内,达到眼睑饱满度,大小与健眼相同为止,1min取出模型,修整模型使光滑。给患者试戴,睑裂的大小及瞳孔位置,虹膜的大小都要与健眼的大小相一致。然后在直接面对患者。按患者健眼的虹膜颜色、血丝分布去调色。经过热蒸、打磨、刨光完成制作。将义眼戴入保留眼球的患眼。义眼配戴后随访6~8mo。

2 结果

本组55例患眼配戴义眼后,义眼水平活动度15°~30°,垂直活动度10°~15°,以眼球突出仪测量义眼及健眼眼球突出度,相差均<2mm。巩膜、虹膜、瞳孔与健眼色泽相似,眼睑能自由开、闭,美容效果满意。其中45例患者

配戴早期自觉患眼周围有轻度膨胀感,3~7d后消失,无眼磨、眼痛等不适感觉;10例患者自觉眼磨、眼疼,无法忍受,遂在我院使用自体结膜或羊膜行角膜覆盖手术,术后14d左右再进行义眼配戴,上述症状消失。未发现角膜上皮脱落、结膜囊明显水肿。

3 讨论

各种眼外伤引起的眼球萎缩,先天性的小眼球的治疗,通常是先行眼球摘除,再选择珊瑚羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)义眼台的植入,恢复一段时间后再植入义眼。羟基磷灰石是人体骨的主要无机成分,具有许多格子状网眼,质量轻,其内联多孔结构珊瑚^[1],HA自1985年首先被采用作为埋藏型眶内义眼台,至1989年得到美国食品与药物管理局(FDA)批准,从此被广泛接受和采用,是目前国内外眼科学者公认的用于眼窝成形的较好材料。但义眼台植入有一些并发症,最常见如义眼台暴露^[2]、结膜口裂开等^[3],同时眼球摘除手术易使患者产生畏惧感,在心理上难以接受而产生排斥,同时珊瑚HA价格昂贵,限制了它在不发达地区和低收入人群的推广和应用。针对此种情况,我院采用直接在患者萎缩的眼球及小眼球上制作义眼,通过55例患者配戴义眼效果的观察,未出现严重不良反应,义眼活动性好,使患者恢复正常外貌,克服自卑心态,可以融入正常的工作、学习及活动中,极大地提高了患者的生活质量。由于是直接患者在患者萎缩的眼球上制作义眼,使患者容易接受,简单方便,减少了肉体和精神痛苦,同时又减轻了患者的经济负担,这种保留眼球的义眼植入的方法对部分患者而言是一条有较高可行性的新途径。

在制作完义眼后必须要教会患者怎样正确配戴义眼,第1wk配戴时晚上可取下义眼,用凉开水清洁义眼,并将义眼放在干净的容器中。随着配戴时间的延长,结膜囊的分泌物不多后就不必每晚取下义眼。间隔3~4mo到医院进行义眼清洗、消毒、抛光、保养。不可用乙醇、化学性药水进行浸泡,以免腐蚀眼球,使眼片褪色。如结膜囊分泌物增多,应及时到医院进行检查。

参考文献

1 洪玉,徐国兴,陈淑端. 义眼座植入联合皮片植入术治疗眼窝凹陷Ⅲ度结膜囊狭窄. *国际眼科杂志* 2008;8(12):2518-2519
2 Lee V, Subak-Sharpe I, Hungerford JL, et al. Exposure of primary orbital implants in postenucleation retinoblastoma patients. *Ophthalmology* 2000;107(5):940-945
3 Inkster CF, Ng SG, Leatherbarrow B. Primary banked scleral patch graft in the prevention of hydroxyapatite orbital implants. *Ophthalmology* 2002;109(2):389-392