

尾加压素 II 体外促进晶状体上皮细胞增殖的细胞信号转导机制

黄秀榕¹, 祁明信², 李坤鹏¹, 陈 义¹

基金项目: 中国福建省中医药重点资助项目 (No. Wzzb0601)

作者单位:¹ (350003) 中国福建省福州市, 福建中医药大学病理生理研究中心;² (350003) 中国福建省福州市, 福建中医药大学附属第二人民医院眼科

作者简介: 黄秀榕, 女, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 白内障。

通讯作者: 祁明信, 男, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 白内障. qihuang@netease.com

收稿日期: 2010-01-07 修回日期: 2010-02-25

Mechanism on signal transduction of proliferation induced by urotensin II in lens epithelial cell

Xiu-Rong Huang¹, Ming-Xin Qi², Kun-Peng Li¹, Yi Chen¹

Foundation item: Key Foundation of Traditional Chinese Medicine in Fujian Province, China (No. Wzzb0601)

¹ Research Centre of Pathophysiology, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, Fujian Province, China;

² Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, Fujian Province, China

Correspondence to: Ming-Xin Qi. Department of Ophthalmology, The Second Affiliated Hospital, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350003, Fujian Province, China. qihuang@netease.com

Received: 2010-01-07 Accepted: 2010-02-25

Abstract

• **AIM:** To study the mechanism on signal transduction of proliferation induced by urotensin-II (U-II) in lens epithelial cell (LEC).

• **METHODS:** U-II were incubated with cultured LEC. Meanwhile four blockers of signal transduction, H₇, PD98059, W₇ and nicardipine, were incubated with LEC separately. Then the proliferations of LEC were detected via ³H-TdR incorporation.

• **RESULTS:** The radioactivity of ³H-TdR in U-II group was higher than that in control group ($P < 0.01$). The radioactivities of ³H-TdR in groups of four blockers decreased in varying degrees compared with U-II group ($P < 0.01, P < 0.01$). The blocking effects of PD₉₈₀₅₉ and H₇ were higher than that of nicardipine and W₇ ($F = 13.251, P < 0.01$).

• **CONCLUSION:** U-II induced LEC proliferation by means of signal transduction which can be blocked by four signal transduction blockers. The result provides a new thinking for prevention and treatment of after cataract.

• **KEYWORDS:** urotensin II; lens epithelial cell; proliferation; signal transduction; after cataract

Huang XR, Qi MX, Li KP, et al. Mechanism on signal transduction of proliferation induced by urotensin II in lens epithelial cell. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2010;10(3):432-434

摘要

目的: 探讨尾加压素 II (urotensin II, U-II) 促进晶状体上皮细胞 (lens epithelial cell, LEC) 增殖的细胞信号转导机制。

方法: 采用 U-II 与体外培养的 LEC 共同孵育, 并用 4 种细胞信号转导阻断剂 H₇, PD98059, W₇, 尼卡地平 (nicardipine) 分别作用于 LEC, 再用 ³H - 胸腺嘧啶 (³H-TdR) 掺入法检测 LEC 增殖的情况。

结果: U-II 组 LEC 的 ³H 掺入放射活性显著高于对照组 ($P < 0.01$), 4 种信号转导阻断剂组的放射活性与 U-II 组比较均有不同程度的降低 ($P < 0.01, P < 0.01$)。PD₉₈₀₅₉ 和 H₇ 的阻断作用强于 nicardipine 和 W₇ ($F = 13.251, P < 0.01$)。

结论: 尾加压素 II 促进 LEC 增殖是通过细胞信号转导的机制, 该作用可被信号转导阻断剂所阻断。

关键词: 尾加压素 II; 晶状体上皮细胞; 增殖; 细胞信号转导; 后发性白内障

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2010.03.009

黄秀榕, 祁明信, 李坤鹏, 等. 尾加压素 II 体外促进晶状体上皮细胞增殖的细胞信号转导机制. 国际眼科杂志 2010;10(3):432-434

0 引言

尾加压素 II (urotensin II, U-II) 是一种具有多种生物学效应的新型生物活性物质。最早由 Coulouarn 于 1998 年从人体中克隆出人 U-II (human urotensin II, hU-II)^[1]。此后的研究表明, 体内多种组织中含有 U-II。U-II 不仅具有强烈的缩血管作用^[2], 而且具有促进细胞增殖的作用, 可使大鼠心肌成纤维细胞、气道平滑肌细胞、肾系膜细胞和血管平滑肌细胞等发生增殖^[3]。我们曾发现眼部各组织均含有 U-II, 并发现 U-II 具有促进晶状体上皮细胞 (lens epithelial cell, LEC) 增殖的作用。后发性白内障 (after cataract) 是白内障囊外摘除联合人工晶状体植入术后的主要并发症。其病理生理机制是手术后残留的 LEC 发生增殖、移行, 使晶状体后囊膜发生混浊导致视力再度下降。我们拟探讨 U-II 促进 LEC 增殖的细胞信号转导机制, 为防治后发性白内障寻求新的途径。

1 材料和方法

1.1 材料 无菌操作取健康新鲜小牛眼的晶状体前囊膜, 用胰蛋白酶消化法, 在 37℃, 5% CO₂ 培养箱中进行晶状体上皮细胞原代和传代培养, 取第 3 代细胞进行如下实验。

hU-II, H₇, PD98059, W₇, 尼卡地平 (nicardipine) 均系美国 Sigma 公司产品, DMEM 培养基为美国 GIBCO 公司产品, ³H-胸腺嘧啶 (³H-TdR) 购自上海原子核研究所, 2,5-二苯基恶唑 (PPO) 及 1,4-双-(5-苯基恶唑基-2)-苯 (POPOP) 为中国医药集团上海化学试剂公司产品, 胰蛋白酶 (trypsin) 购自华美生物工程公司, 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 购自杭州四季青生物工程材料有限公司, 冰醋酸、二甲苯为市售分析纯产品。本研究采用 CO₂ 培养箱 (美国 FORMA 2111)、倒置研究显微镜 (日本 Olympus IMT-413)、低温冰箱 (日本 MDF-V5410)、真空泵 (美国 Nulgene EF006)、微量移液器 (法国 Gilson)、γ-液闪计数仪 (西安 FJ2003PS)。

1.2 方法 将实验分成 6 组, 每组 8 个样本。对照组在 LEC 中加入胎牛血清和 DMEM 培养液。U-II 组在对照组的基础上加入终浓度为 10⁻⁸ mol/L 的 U-II。H₇ 组、PD98059 组、W₇ 组和尼卡地平组分别在 U-II 组的基础上加入 4 种细胞信号转导阻断剂, 终浓度分别为 H₇ 10⁻⁵ mol/L, PD98059 10⁻⁵ mol/L, W₇ 10⁻⁶ mol/L, Nicardipine 10⁻⁵ mol/L。取第 3 代培养的 LEC 并使细胞生长同步化。在 CO₂ 培养箱中继续培养 12h 后, 按照上述实验分组, 分别加入 hU-II 和 H₇, PD98059, W₇ 和尼卡地平。将 LEC 在 CO₂ 培养箱中继续培养 12h 后, 吸去培养液, 每孔分别加入 ³H-TdR (其放射比活性为每孔 3.7 × 10⁴ 个/min), 继续培养 12h。吸去培养液, 消化细胞并用真空泵抽滤, 将细胞收集于玻璃纤维膜上。于 60℃, 30min 条件下烘干滤膜, 用液闪计数仪测定 ³H 放射活性。

统计学分析: 用 SPSS 12.0 统计软件分析。所有结果用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。各组与对照组间数据比较采用 *t* 检验, 各组间数据比较采用单因素方差 One-Way ANOVA 分析。

2 结果

U-II 组 LEC 的 ³H 掺入放射活性 (个/min) 显著高于对照组 (2027.4 ± 109.1 vs 1203.8 ± 107.6, *P* < 0.01), 说明 U-II 使 LEC 发生明显的增殖。4 种信号转导阻断剂的放射活性与 U-II 组比较均有不同程度的降低 (1819.6 ± 47.2, 1759.1 ± 169.0, 1557.9 ± 71.9, 1442.9 ± 192.4, *P* < 0.01, *P* < 0.01), 显示这 4 组 LEC 的增殖减少, 表明 4 种阻断剂均不同程度地阻断了 U-II 促进 LEC 增殖的信号转导途径。在 4 种阻断剂中, PD₉₈₀₅₉ 组和 H₇ 组的放射活性显著低于 W₇ 组和 Nicardipine 组 (*F* = 13.251, *P* < 0.01), 表明 PD₉₈₀₅₉ 组和 H₇ 组对 U-II 促进 LEC 增殖的细胞信号转导途径的阻断作用更强 (表 1)。

3 讨论

U-II 是一种生长抑素样环型结构的神经肽, 最早取自鱼的尾部下垂体, 1998 年首次从人体克隆出来。研究表明, U-II 是具有多种生物学效应的新型生物活性物质, 具有较强的促进多种细胞增殖的作用。U-II 可刺激离体培养的大鼠胸主动脉血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 发生增殖, 呈浓度依赖关系; 降钙素基因相关肽、肾上腺髓质素、IL-10 等均能抑制由 U-II 诱导的 VSMC 增殖; U-II 上调 VSMC 内皮素基因表达并促进 VSMC 内皮素的合成释放; 肾上腺髓质素可浓度依赖性地抑制 U-II 刺激的 VSMC 内皮素 mRNA 水平的增加^[4-6]。还有报道 U-II 能促进实验大鼠心肌成纤维细胞、气道平滑肌细胞、肾系膜细胞发生增殖, 且在一定的浓度范围内

表 1 ³H-TdR 掺入法检测 4 种信号转导阻断剂对 U-II 诱导 LEC 增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

分组	放射活性 (个/min)
对照组	43336 ± 3875
U-II 组	72987 ± 3928 ^b
W ₇ 组	65504 ± 1698 ^d
Nicardipine 组	63328 ± 6085 ^d
PD ₉₈₀₅₉ 组	56083 ± 2587 ^d
H ₇ 组	51946 ± 6926 ^d

^b*P* < 0.01 vs 对照组; ^d*P* < 0.01 vs U-II 组。

其促增殖作用具有浓度依赖性。有关 U-II 促进细胞增殖作用的细胞信号转导机制已有报道^[7], U-II 促进细胞增殖的途径与 Ca²⁺ 介导的信号转导通路有密切关系。另有文献指出^[8], 抑制与有丝分裂有关的多种信号蛋白分子, 如 c-src, PKC (protein kinase C), CaM-PK, MAPK (mitogen activated protein kinase), 钙调神经磷酸酶 (CaN), 均可在不同程度上抑制 U-II 的有丝分裂效应, 从而抑制 U-II 刺激细胞增殖的作用。Watanabe 等^[9] 研究发现, PKC/CaM/GPCR/MAPK 的阻断剂可抑制 U-II 对 VSMC 的增殖作用, 从而间接表明 U-II 是通过 PKC/CaM/GPCR/MAPK 信号转导途径发挥其促增殖的作用。

我们曾发现, 眼内各组织中均有一定量的 U-II, U-II 能显著促进 LEC 发生明显的增殖并呈浓度依赖关系。在此基础上, 我们采用 ³H-TdR 掺入法检测 4 种细胞信号转导阻断剂对 U-II 促进 LEC 增殖的影响, 以探讨 U-II 促进 LEC 增殖的信号转导机制。这 4 种信号转导阻断剂中, H₇ 是蛋白激酶 C (PKC) 抑制剂, PD₉₈₀₅₉ 是丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 抑制剂, W₇ 是钙调素 (CaM) 抑制剂, 尼卡地平 (Nicardipine) 是钙通道阻滞剂。研究结果发现, 4 种信号转导阻断剂均能降低 LEC 的放射活性, 阻断 U-II 促进 LEC 增殖的信号转导通路, 使 U-II 促进 LEC 增殖的作用减弱。间接表明 U-II 是通过 DG 蛋白激酶 C 途径、受体酪氨酸蛋白激酶/丝裂原活化蛋白激酶途径、Ca²⁺ 和钙调蛋白激酶途径等细胞信号转导途径发挥其促进 LEC 增殖的作用, 从而探明了 U-II 促进 LEC 增殖的细胞信号转导机制。

白内障囊外摘除联合人工晶状体植入手术后残留的 LEC 发生增殖, 并移行至后囊下形成再生的晶状体结构如珍珠样 (Elschnig) 小体及 Soemmering 环, 再向成纤维细胞转化、分泌胶原形成纤维膜, 使晶状体后囊膜发生混浊, 导致白内障术后视力再度下降。这是后发性白内障的主要病理生理过程。我们的前期研究发现 U-II 能促进 LEC 增殖, 提出其很可能是后发性白内障的一个重要发生机制。我们的研究结果发现, 4 种细胞信号转导阻断剂均能阻断 U-II 促进 LEC 增殖的信号转导通路, 使 U-II 促进 LEC 增殖作用减弱。该结果一方面表明 U-II 促进 LEC 增殖的作用及其细胞信号转导机制, 阐明了后发性白内障发生发展的可能机制; 另一方面揭示采用信号转导阻断剂可阻断 U-II 促 LEC 增殖作用, 减少白内障术后的后囊膜混浊, 提出这可能是防治后发性白内障的一个新途径。经广泛查阅国内外文献, 有关 U-II 促进晶状体上皮细胞等眼内组织细胞增殖的研究尚未见报道, 更未见 U-II 促进 LEC 增殖作用的细胞信号转导机制的研究报道, 本研究具有一定的科学意义和应用前景。

参考文献

1 Matsushita M, Shichiri M, Fukai N, *et al.* Urotensin II is an autocrine/paracrine growth factor for the porcine renal epithelial cell line. *Endocrinol* 2003;144(5):1825-1831
2 Maguire JJ, Kue RE, Davenport AP. Ophen-receptor ligand human urotensin II: receptor localization in human tissues and comparison of vasoconstrictor responses with endothelin-1. *Br J Pharmacol* 2000;131(3):441-446
3 张勇刚, 陈亚红, 马春艳, 等. 尾加压素的促丝裂作用. 中国动脉硬化杂志 2001;9(1):14-16
4 夏春芳, 霍勇, 尹航, 等. IL-10 对尾加压素 II 诱导的大鼠血管平滑肌细胞增殖的影响. 北京大学学报(医学版) 2001;33(4):332-334

5 齐永芬, 夏春芳, 陈亚红, 等. 肾上腺髓质素对尾加压素 II 刺激的血管平滑肌细胞增殖的影响. 中国病理生理杂志 2002;18(3):230-232
6 袁杰, 李菊香, 李国华, 等. 降钙素基因相关肽对尾加压素 II 诱导的血管平滑肌细胞增殖的影响. 贵阳医学院学报 2002;21(3):129-132
7 强正浩, 张孙曦, 李菊香, 等. 钙信号在尾加压素-II 促血管平滑肌增殖中的作用. 北京大学学报(医学版)2002; 34(3):261-265
8 陈亚红, 赵鸣武, 夏春芳, 等. 尾加压素在大鼠气管平滑肌细胞增殖中的作用及其机制. 中华医学杂志 2002;80(12):928-930
9 Watanabe T, Pakala R, Katagiri T, *et al.* Synergistic effect of urotensin-II with mildly oxidized LDL on DNA synthesis on vascular smooth muscle cells. *Circulation* 2001;4(1):16-18

· 短篇报道 ·

眼挫伤致一过性近视 23 例

郝志侠, 牛洪明

作者单位:(257055)中国山东省东营市,胜利石油管理局胜利医院眼科

作者简介:郝志侠,女,主治医师。

通讯作者:郝志侠. lvkaihe@vip.sina.com

收稿日期:2009-12-08 修回日期:2010-01-17

郝志侠, 牛洪明. 眼挫伤致一过性近视 23 例. 国际眼科杂志 2010;10(3):434

0 引言

钝挫伤在眼外伤患者中比较常见,机械性钝力作用于眼球后,可以引起眼内各种组织结构的变化。挫伤后发生的近视就是其中常见改变之一,主要表现为以往较好的视力,伤后出现明显的视力下降。这种改变在临床工作中容易被忽视,因为只注意到伤后眼部的损害,而忽略了由此引发的屈光变化,这需要引起我们临床医师的注意。

1 临床资料

挑选 2007-05/2009-05 眼挫伤后发生一过性近视的病例 23 例 23 眼。其中男 19 例,女 4 例。年龄 19~52(平均 30.2)岁。23 眼伤前均无屈光不正病史,视力 1.0(16 眼),视力 1.2(5 眼),视力 1.5(2 眼)。其中拳击伤 13 例,踢伤 5 例,球类击伤 3 例,撞伤 2 例。23 眼均有眼睑皮肤肿胀瘀血,球结膜下出血 19 例,前房积血 2 例,瞳孔散大 2 例,睫状体脱离 3 例,视网膜震荡 9 例。受伤后初诊时裸眼视力为 0.04~0.4,平均视力 0.152。小瞳下验光屈光度为 -0.75~-5.25D,经凹透镜矫正后,患眼视力均达 1.0。治疗:依据患者病情用糖皮质激素或非甾体激素滴眼液滴眼,控制炎症反应;托吡卡胺滴眼液或阿托品眼

膏松弛睫状肌;重者全身应用糖皮质激素(3d)、扩张血管、脱水、维生素等药物治疗。伤后随访时间 1~2mo。伤后 2wk 内裸眼视力达 1.0 者 17 例,视力达 1.2 者 2 例,4 例 1mo 后裸眼视力达 1.0。

2 讨论

外伤性近视是继发于眼球震荡伤后的病变,是外伤性屈光不正的一种。眼球挫伤后常导致视力不同程度的下降,挫伤性近视比较常见,近视的程度与致伤力的大小密切相关,致伤力量越大,近视程度越高,并发症越多^[1]。眼球受外力后,外力由眼部流体传导,眼内组织受到震荡。眼挫伤后发生近视的机制:(1)角膜水肿引起角膜曲率增加^[2];(2)前房积血、炎症使房水混浊,房水屈光指数增加^[2];(3)睫状体损伤,房水生成减少,前房变浅,晶状体前移^[3];(4)虹膜根部离断、睫状体损伤,组织充血、水肿致晶状体悬韧带松弛,晶状体变凸^[4];(5)外伤致交感神经支配麻痹,调节痉挛引起晶状体厚度加大,曲率增加^[5];(6)晶状体悬韧带破裂。大多数患者在伤后 1mo 左右恢复正常视力。治疗中应用睫状肌麻痹剂缓解痉挛、应用血管扩张剂改善眼部微循环增加眼部血供,这些治疗对近视的恢复有积极的作用。临床工作中对于眼挫伤患者,应该仔细检查患者的屈光状态,以便能够及早发现由此引起的近视,及早给予治疗,以免出现漏诊,延误治疗。

参考文献

1 贺雷. 挫伤性近视 43 例临床分析. 遵义医学院学报 2004;27(4):376
2 张效房,杨进献. 眼外伤学. 郑州:河南医科大学出版社 1997:149
3 熊伟,熊娜,王英,等. 外伤性近视 21 例临床分析. 眼外伤职业眼病杂志 2001;23(6):680
4 晋秀明. 外伤性近视 18 例临床分析. 眼外伤职业眼病杂志 2000;22(1):77
5 董玲,张兴元,张家江. 眼挫伤导致调节痉挛临床分析. 眼科新进展 2003;23:221