

MicroRNAs 在晶状体中的功能

陶海波, 贾音, 高谦, 李闻捷

基金项目: 中国国家自然科学基金(面上项目)(No. 81170834)
作者单位: (200433) 中国上海市, 第二军医大学附属上海长海医院实验诊断科
作者简介: 陶海波, 男, 在读本科。
通讯作者: 李闻捷, 男, 博士, 博士研究生导师, 教授, 研究方向: 晶状体蛋白功能与老年性白内障病因学. wenjieli@pku.org.cn
收稿日期: 2013-10-11 **修回日期:** 2013-12-12

Functions of MicroRNAs in lens

Hai-Bo Tao, Yin Jia, Qian Gao, Wen-Jie Li

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 81170834)
Department of Experiment and Diagnosis, Changhai Hospital of the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
Correspondence to: Wen-Jie Li. Department of Experiment and Diagnosis, Changhai Hospital of the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China. wenjieli@pku.org.cn
Received: 2013-10-11 **Accepted:** 2013-12-12

Abstract

• MicroRNAs (miRNAs) are a class of single-stranded, small non-coding RNAs with 21 to 23 nucleotides, which can promote the degradation of mRNA or suppress their translation to regulate the expression of target gene through their incomplete combination with non-coding region at 3'terminal of target mRNAs. miRNAs are widely involved in the physiological and pathological processes *in vivo* and affect the cell development, the processes of diseases by changing their expression levels. In recent years, more researchers have found that miRNAs are identified widely and specifically in eyes including the lens, retina and cornea and their abnormal expressions may be associated with some eye diseases. This review summarizes the current information about expressions and functions of miRNAs in the lens, in order to seek for new targets for the clinical diagnosis and treatment of the lens opacity.

• **KEYWORDS:** microRNAs; lens; cataract

Citation: Tao HB, Jia Y, Gao Q, et al. Functions of MicroRNAs in lens. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(1):56-58

摘要

MicroRNAs(miRNAs)是一类包含21~23个碱基的非编码单链小分子RNA。通过与靶基因3'端非翻译区(UTR)不完全碱基配对,使mRNA降解或抑制靶mRNA的翻译,进而发挥基因调控作用。miRNAs广泛参与生物体内的多种生理和病理过程,通过其表达量的上调或下调,影响细胞

发育和疾病的进程。近年来许多研究表明,miRNAs在眼部的多种组织,包括晶状体、视网膜和角膜中均有表达,其异常表达可能与某些眼部疾病的发生、发展有密切关系。本文综述近年来miRNAs在晶状体中的表达、功能及研究进展,以期寻求可用于临床诊断、治疗晶状体混浊的新型靶点。

关键词: MicroRNAs; 晶状体; 白内障

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.01.15

引用: 陶海波, 贾音, 高谦, 等. MicroRNAs 在晶状体中的功能. 国际眼科杂志 2014;14(1):56-58

0 引言

MicroRNA(miRNA)的发现,把人类疾病在分子水平上的研究带入了一个新层次,其在基因调控及生物发育中的作用,越来越受到人们的重视,并被不断开发、应用^[1]。miRNA通过与靶基因3'端非翻译区(UTR)不完全碱基配对,使mRNA降解或抑制靶mRNA的翻译,从而发挥基因调控作用。其在体内不仅作为功能分子发挥作用,还参与并决定基因表达调控、蛋白质翻译,从而影响细胞的生长发育、增殖、分化、代谢、凋亡等重要生理过程^[2]。研究表明miRNA在眼部组织,包括角膜、晶状体、视网膜中均有特异性表达,其在晶状体中的特异性表达可能与晶状体疾病的发病机制有密切关系^[3,4],对miRNA的深入研究有望为晶状体疾病的预防、治疗和预后开辟新途径。

1 miRNA的生成与作用机制

miRNA在各种生物体内的加工合成过程及机制基本相似。首先,在RNA聚合酶II的作用下先合成初级转录产物(pri-miRNA),后经两种RNase III酶——Drosha酶和Dicer酶进行加工,生成长度约22个碱基的成熟miRNA。这些成熟的miRNA与目标mRNA结合,形成RNA诱导的基因沉默复合体(RNA-Induced silencing complex, RISC),发挥抑制靶基因mRNA翻译或降解靶基因mRNA的作用^[5]。miRNA经转录、加工、结合到靶mRNA的互补位点,通过改变mRNA的稳定性或抑制蛋白翻译来抑制基因表达,使细胞的生长、增殖、分化和凋亡维持动态平衡;单个miRNA能通过调节多个靶基因影响蛋白质的表达,miRNA表达失调影响生物体的正常生理功能,使细胞生长发育异常,甚至致疾病发生^[6]。其发病机制大约有以下几种:(1)miRNA表达异常;(2)生物合成途径中某些成分的错误表达或突变;(3)转录调控位点发生改变;(4)miRNA-mRNA靶向识别失调等。

2 miRNA在晶状体中的表达

晶状体为双凸面结构,中央厚边缘薄,无神经和血管,全透明并有弹性,富含高浓度蛋白质,直径9~10mm,中央厚度4~5mm。晶状体悬韧带连接赤道部和睫状体,使晶状体悬挂于虹膜和玻璃体之间。晶状体是眼球屈光系

统的重要组成部分,起到汇聚光线到达视网膜的作用,具有复杂的生理代谢过程。Tsonis 等^[7]利用芯片技术对水螅的晶状体进行检测,发现 miRNA 对晶状体的再生具有独特的调节作用,在晶状体纤维再生早期,let-7 家族表达量下调。miR-124a 与晶状体组织的再生也有着密切的关系。Frederikse 等^[8]应用 RNA 印迹法证实在啮齿类动物晶状体中存在 miR-124,miR-7,miR-125b 和 let-7a 的表达。Ryan 等^[9]研究发现在晶状体组织中 miR-184 主要表达于生发区的表皮细胞,而 miR-204 则均匀表达于所有的晶状体上皮细胞中。miRNA 在晶状体组织和细胞中分布的独特性,提示了 miRNA 在眼的发育和分化调节中起着不同的作用。

2.1 miR-184 在晶状体中的表达及作用 miR-184 基因位于人类基因组 15 号染色体的长臂上,是一段高度保守的单核苷酸序列。研究人员对大鼠角膜上皮细胞、晶状体、睫状体和视网膜组织进行检测,结果发现不同 miRNA 在眼部不同组织和细胞中特异性表达不同^[10]。原位杂交实验显示,在中央角膜上皮的基底层细胞和晶状体上皮,miR-184 的含量最丰富,可能于这两种组织的一些生理特性如透明性、无血管以及纤维排列等方面有密切联系。miR-184 在晶状体中的表达,始于晶状体发育早期,直到成年时期,都能在晶状体赤道区的上皮细胞中检测到。另外,miR-205 也广泛表达于上皮细胞中,研究发现 miR-184 可以通过竞争性抑制 miR-205 的靶基因多磷酸肌醇磷酸酶-1 (INPPL-1),以抑制 miR-205 降解,从而保护 INPPL-1 的生成,最终得以维持磷酸化的 AKT 和磷酸化的 BCL-2 相关死亡启动子(BAD)的水平^[11],参与调节细胞凋亡。Liu 等^[12]发现甲基化的 CpG 结合蛋白-1(MBD-1)可直接调节 miR-184 的表达,而高表达的 miR-184 可促进细胞增殖、抑制干细胞的分化;此外,其对干细胞分化表型的抑制作用可能与 MBD1 的缺乏有关。

2.2 miR-204 在晶状体中的表达及作用 miR-204 基因位于人类基因组 9 号染色体上。在晶状体中,miR-204 均匀表达于所有晶状体上皮细胞(lens epithelial cells, LECs)中;与 miR-184 类似,许多在角膜上皮细胞中高表达的 miRNA (如 miR-26a,miR-31,miR-125b,miR-181)在 LECs 中也有很高的杂交信号^[13]。研究发现 miR-204 在视网膜色素上皮、晶状体、睫状体和神经视网膜中高表达;miR-204 通过调控 Meis-2 基因的表达量,对眼部形态的形成和分化有显著的影响。Meis-2 基因是 miR-204 的作用靶点,miR-204 通过作用于 Meis-2,调控 Pax6 转录途径而控制晶状体分化^[14]。miR-204 对于晶状体的分化、视盘的生长和视裂隙的闭合都是必须的。然而,miR-204 的活性有可能是依赖于 Meis-2 的,因为保护 Meis-2 基因并不会改变上皮细胞和晶状体纤维细胞的组成。

2.3 miR-148 和 let-7 家族在晶状体中的表达及作用 关于蝶螈晶状体再生的研究已有较长的研究历史,并且一直在晶状体再生的机制研究方面关注较多。针对这一再生现象,miRNA 可以从一个新的层面上对信号通路以及转录因子的表达进行调节,有助于我们更加深入的了解晶状体再生过程中的信号调控机制。成年蝶螈的晶状体再生是通过背侧虹膜来源的色素上皮细胞转分化实现的,腹侧同一来源的细胞却不能。这个现象可能与 miRNA 的表达有关。学者们^[15]研究了 miR-148 和 let-7b 可能的作用,发现 let-7b 的上调可以同时影响虹膜背缘以及腹缘

色素上皮的增生,miR-148 的表达量上调只能显著抑制虹膜腹缘色素上皮细胞的增殖,同时发现这两种 miRNA 的表达量下调对细胞增殖无影响^[16]。Tsonis 等^[7]在检测成年水螅晶状体 miRNA 的表达情况时,发现 let-7 家族在晶状体再生的去分化调节中具有一定作用。晶状体纤维再生早期,let-7 表达量下调。其过表达可以干扰衰老组织中的细胞增殖或影响细胞周期,但它在白内障形成中的作用和具体机制还有待进一步研究。Makarev 等^[17]也对水螅眼部的 miRNA 进行了研究,结果发现很多 miRNAs, piRNAs 以及其他一些 RNA 的表达,其中 miR-124a 与晶状体组织的再生有着密切的关系。Frederikse 等^[8]发现除了 miR-125b 和 let-7a,在鼠脑组织内特异性表达的 miR-124 和 miR-7 在晶状体组织中也有表达。

3 miRNA 与晶状体疾病

3.1 miR-184 与家族性圆锥角膜性白内障 圆锥角膜性白内障属于常染色体显性遗传疾病,是一种非炎症性的角膜中央细化,导致角膜的锥形突起,使屈光力改变,视力降低,图像失真。是最常见的角膜营养不良性疾病,发病率在 1/2000 左右,也是角膜移植最常见的原因。目前对圆锥角膜的病理机制研究甚少,有证据表明其与细胞凋亡相关。研究发现 miR-184 种子区域的突变会导致家族性圆锥角膜病,并伴有早发性前极白内障;这种突变形式不能与 miR-205 竞争重叠 INPPL1 和 ITGB4 上的 3'非编码区的靶位点^[18,19]。虽然这些靶基因和 miR-205 在人体内是广泛表达的,但是由于 miR-184 主要在角膜和晶状体中的高表达,故上述突变表型仅局限于角膜和晶状体组织中。miR-184 的组织特异性表达在致突变的表型效应中有重要作用。晶状体的上皮细胞位于前部,平行于角膜,增生能力较弱;晶状体前部的上皮细胞高表达 miR-184,毗邻白内障患者的病变部位,有多达 1 000 个基因的表达可能受到 miR-184 单独或与其他 miRNA 共同的竞争性调节作用^[20]。miR-184 的众多作用靶点中,有晶状体转录的主要因子(FOXE3)和眼部晶状体纤维的主要内在蛋白(MIP),它们的突变可以引起人晶状体的异常^[21]。Hoffmann 等^[11]研究发现了 miR-205 和 miR-184 之间的竞争作用,并验证了 miRNA 之间相互作用的复杂性。另有研究者^[22]利用重组腺病毒包装的 ADV-miR-184 成功转染人的晶状体上皮细胞,抑制细胞的移行分化,提示 miRNA 可能参与了后发性白内障的形成过程。因此,在晶状体上皮细胞中适度高表达 miR-184 有望成为阻止细胞增生,防止后发性白内障形成的新手段。

3.2 miR-204 与后发性白内障 后发性白内障即后囊膜混浊,是目前白内障晶状体摘除联合人工晶状体植入术后影响视力恢复的主要并发症。Hoffmann 等^[11]通过研究小鼠白内障术后晶状体囊膜 miRNA 表达谱的改变,使用体外晶状体囊模型,研究 miRNA 对后发性白内障潜在的反向调控作用。在小鼠白内障手术后的前 3wk,微矩阵分析发现与后发性白内障相关的 55 种 miRNA 的表达谱发生改变。进一步研究发现,通过 miR-184 抑制物和 miR-204 的前体 miRNA(pre-miR-204)来改变相应的 miRNA 表达后,后发性白内障相关的晶状体上皮细胞的增生和迁移减弱。此外,pre-miR-204 也减弱了后发性白内障相关的转录因子 Meis homeobox2 (MEIS2)的表达^[23]。通过检测 miR-184 和 miR-204 的作用靶点,显示有一段很长的预测目标 mRNA 序列,这段序列也是其他后发性白内障

相关的 miRNA 复杂网络的作用靶点^[24]。后发性白内障中特异的 miRNA 表达谱的确定,说明 miR-184 和 miR-204 在调控后发性白内障的形成过程中有重要作用;而后发性白内障的形成可能是通过一个复杂的竞争性 RNA 网络系统所调控的。Wang 等^[24]通过比较人后囊膜混浊组织和正常人晶状体后囊膜组织 miRNA 表达谱的差异,发现在后囊膜组织中 miR-31 和 miR-204-5p 的表达量有明显的下调,过表达的 miR-204-5P 可促进人晶状体上皮细胞钙粘素 E 的表达,同时抑制波形蛋白、 α -平滑肌肌动蛋白的表达。miR-204-5P 通过作用于下游的靶基因 SMAD4 而参与 TGF- β /Smad 信号通路,发挥对晶状体上皮细胞转分化的调控作用,由此推测 miR-204-5P 可能是预防和治疗后发性白内障的新靶点。

3.3 Let-7 家族与年龄相关性白内障 Let-7 家族具有广泛的生物学功能,其表达上调会使细胞增殖相关基因的表达紊乱,导致衰老。研究发现晶状体上皮细胞中 let-7b 的水平在年龄相关性白内障患者中,是随着年龄的增加而增加的^[7]。超过 85 岁的白内障患者的晶状体上皮细胞中 let-7b 的表达是 55 ~ 64 岁之间的患者中的 1.15 倍。由此可以推测晶状体上皮细胞中的 miRNA 可能与年龄相关性白内障的发生有关,而 let-7b 可能参与调控晶状体衰老的发展过程^[10, 15]。许多研究表明,let-7 家族表达上调与细胞衰老和组织老化有关。Peng 等^[15]研究发现人类晶状体衰老和晶状体透性减弱的严重程度与高水平的 let-7 表达有关,可导致年龄相关性白内障的形成。let-7 的水平增加,也许会使晶状体上皮受损,最终导致白内障的形成。let-7b 的过表达和 Hmga2 的减少呈负相关,而后者是胚胎形成中在未分化细胞中广泛表达的。let-7 家族通常是作为一个整体来调控基因的表达和细胞的功能的。因此,let-7 家族的表达异常可能作为衡量晶状体衰老的一个新指标。

4 展望

目前,对晶状体中 miRNA 功能的研究还处于初级阶段,miRNA 在晶状体中的表达情况及其对晶状体疾病的影响还有待进一步探究。现已明确 miRNA 通过与靶 mRNA 结合,抑制其翻译,从而调控相应蛋白质的水平,改变机体的生理状态。随着研究方法的不断改进和高通量技术的普及,miRNA 在晶状体中的表达及功能将有更多被发现,其异常表达对晶状体疾病的作用机制也将被进一步揭示,而这些异常表达的 miRNA 可能成为晶状体疾病早期诊断的检测指标。此外,鉴于 miRNA 天然、无毒性、内源性及定点调控基因表达等特点,其在疾病治疗和药物研发方面存在这巨大的发展空间,尤其是在白内障的治疗方面,有着较大潜能。

参考文献

- 1 Arora S, Rana R, Chhabra A, et al. miRNA-transcription factor interactions: a combinatorial regulation of gene expression. *Mol Genet Genomics* 2013;288(3-4):77-87
- 2 Amiel J, de Pontual L, Henrion-Caude A. miRNA, development and disease. *Adv Genet* 2012;80:1-36
- 3 Arora A, McKay GJ, Simpson DA. Prediction and verification of miRNA expression in human and rat retinas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(9):3962-3967
- 4 Zhang LJ, Zhang Y, Dong LJ, et al. Expression and function of microRNA in the eye. *Zhonghua Yan Ke Za Zhi* 2012;48(12):1136-1140

- 5 Clifford RL, Singer CA, John AE. Epigenetics and miRNA emerge as key regulators of smooth muscle cell phenotype and function. *Pulm Pharmacol Ther* 2013;26(1):75-85
- 6 Tomaselli S, Panera N, Gallo A, et al. Circulating miRNA profiling to identify biomarkers of dysmetabolism. *Biomark Med* 2012;6(6):729-742
- 7 Tsonis PA, Call MK, Grogg MW, et al. MicroRNAs and regeneration: Let-7 members as potential regulators of dedifferentiation in lens and inner ear hair cell regeneration of the adult newt. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;362(4):940-945
- 8 Frederikse PH, Donnelly R, Partyka LM. miRNA and Dicer in the mammalian lens: expression of brain-specific miRNAs in the lens. *Histochem Cell Biol* 2006;126(1):1-8
- 9 Ryan DG, Oliveira-Fernandes M, Lavker RM. MicroRNAs of the mammalian eye display distinct and overlapping tissue specificity. *Mol Vis* 2006;12:1175-1184
- 10 Wu C, Lin H, Wang Q, et al. Discrepant expression of microRNAs in transparent and cataractous human lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(7):3906-3912
- 11 Hoffmann A, Huang Y, Suetsugu-Maki R, et al. Implication of the miR-184 and miR-204 competitive RNA network in control of mouse secondary cataract. *Mol Med* 2012;18:528-538
- 12 Liu C, Teng ZQ, Santistevan NJ, et al. Epigenetic regulation of miR-184 by MBD1 governs neural stem cell proliferation and differentiation. *Cell Stem Cell* 2010;6(5):433-444
- 13 Kovacs B, Lumayag S, Cowan C, et al. MicroRNAs in early diabetic retinopathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(7):4402-4409
- 14 Conte I, Carrella S, Avellino R, et al. miR-204 is required for lens and retinal development via Meis2 targeting. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107(35):15491-15496
- 15 Peng CH, Liu JH, Woung LC, et al. MicroRNAs and cataracts: correlation among let-7 expression, age and the severity of lens opacity. *Br J Ophthalmol* 2012;96(5):747-751
- 16 Ma J, Flemr M, Stein P, et al. MicroRNA activity is suppressed in mouse oocytes. *Curr Biol* 2010;20(3):265-270
- 17 Makarev E, Spence JR, Del RK, et al. Identification of microRNAs and other small RNAs from the adult newt eye. *Mol Vis* 2006;12:1386-1391
- 18 Hughes AE, Bradley DT, Campbell M, et al. Mutation altering the miR-184 seed region causes familial keratoconus with cataract. *Am J Hum Genet* 2011;89(5):628-633
- 19 Iliff BW, Riazuddin SA, Gottsch JD. A single-base substitution in the seed region of miR-184 causes EDICT syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(1):348-353
- 20 Zhao JJ, Yang J, Lin J, et al. Identification of miRNAs associated with tumorigenesis of retinoblastoma by miRNA microarray analysis. *Childs Nerv Syst* 2009;25(1):13-20
- 21 Shalom-Feuerstein R, Serrero L, De La Forest DS, et al. Pluripotent stem cell model reveals essential roles for miR-450b-5p and miR-184 in embryonic corneal lineage specification. *Stem Cells* 2012;30(5):898-909
- 22 王晓媛,曹文萍,滕旭,等. ADV-miR-184 体外转染对人晶状体上皮细胞移行的影响. *国际遗传学杂志* 2009;32(5):321-323
- 23 Melton C, Judson RL, Blelloch R. Opposing microRNA families regulate self-renewal in mouse embryonic stem cells. *Nature* 2010;463(7281):621-626
- 24 Wang Y, Li W, Zang X, et al. MicroRNA-204-5p regulates epithelial-to-mesenchymal transition during human posterior capsule opacification by targeting SMAD4. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(1):323-332