

# BHMT 对同型半胱氨酸诱导的人晶状体上皮细胞氧化损伤的保护作用

周海燕<sup>1</sup>, 薛雨顺<sup>1</sup>, 严宏<sup>2</sup>, 李迪<sup>1</sup>, 王新川<sup>3</sup>

引用:周海燕,薛雨顺,严宏,等. BHMT 对同型半胱氨酸诱导的人晶状体上皮细胞氧化损伤的保护作用.国际眼科杂志 2019;19(10):1652-1656

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81600720);陕西省自然科学基金项目(No.2017JQ8012)

作者单位:<sup>1</sup>(710068)中国陕西省西安市,陕西省人民医院眼科;<sup>2</sup>(710004)中国陕西省西安市第四医院眼科 陕西省眼科医院;<sup>3</sup>(710032)中国陕西省西安市,空军军医大学基础医学院

作者简介:周海燕,女,毕业于第四军医大学,眼科学博士,主治医师,研究方向:白内障的发病机制及防治。

通讯作者:周海燕.zhy2006614@163.com

收稿日期:2019-02-27 修回日期:2019-09-11

## 摘要

**目的:**观察甜菜碱高半胱氨酸甲基转移酶(BHMT)在同型半胱氨酸(Hcy)环境下对人晶状体上皮细胞(HLEC)的保护作用。

**方法:**构建BHMT基因过表达慢病毒载体,将体外培养的HLEC随机分为3组:正常组:正常培养的HLEC;对照组:感染了空载体的HLEC-B3,BHMT过表达组(OE):感染了过表达BHMT基因载体的HLEC-B3,均培养于10%FBS(胎牛血清)培养基+5mmol/L Hcy培养液中。应用EdU(5-乙炔基-2'脱氧尿嘧啶核苷)试剂盒检测细胞的增殖能力,流式细胞仪检测活性氧(ROS)含量,可见分光光度计测算谷胱甘肽(GSH)活性,Western blotting检测内质网应激相关蛋白(GPR78, Nrf2)及凋亡相关酶Caspase-12的表达。

**结果:**BHMT过表达组较对照组细胞增殖能力增长约30.0%( $P<0.05$ )。ROS检测显示,正常组、对照组、过表达组荧光强度分别为(89.2043±0.3511)%、(91.4502±0.0606)%、(49.5625±0.4502)%,过表达组与正常组有差异( $P<0.05$ );GSH活性检测显示:相比于正常组与对照组,BHMT高表达组GSH活性明显上升( $P<0.05$ );Western blotting结果显示:GRP78的相对表达量在正常组及对照组中明显高于过表达组,Nrf2的相对表达量在正常组与对照组中明显低于过表达组。凋亡相关酶Caspase-12的相对表达量在过表达组中明显低于对照组。

**结论:**BHMT可以抑制Hcy对HLEC的氧化损伤作用,降低ROS水平,升高GSH活性,减轻内质网应激反应,抑制细胞凋亡。BHMT对Hcy诱导的HLEC氧化损伤有重要的保护作用。

**关键词:**甜菜碱高半胱氨酸甲基转移酶;同型半胱氨酸;人晶状体上皮细胞;氧化损伤;细胞凋亡

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.10.04

## Protective effects of betaine-homocysteine methyl transferase on oxidative damaged human lens epithelial cells induced by high homocysteine

Hai-Yan Zhou<sup>1</sup>, Yu-Shun Xue<sup>1</sup>, Hong Yan<sup>2</sup>, Di Li<sup>1</sup>, Xin-Chuan Wang<sup>3</sup>

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (No.81600720); Natural Science Foundation of Shaanxi Province (No.2017JQ8012)

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, Shaanxi Province, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Xi'an No.4 Hospital, Shaanxi Eye Hospital, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China; <sup>3</sup>Basic Medical College, Air Force Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

**Correspondence to:** Hai-Yan Zhou. Department of Ophthalmology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, Shaanxi Province, China. zhy2006614@163.com

Received:2019-02-27 Accepted:2019-09-11

## Abstract

• **AIM:** To discuss the protective effects of betaine-homocysteine methyl transferase (BHMT) on oxidative damaged human lens epithelial cells (HLEC) induced by homocysteine.

• **METHODS:** HLEC were cultured *in vitro* and then randomly divided into 3 groups. Normal group: normal cultured HLEC; control group: normal cultured HLEC transfected with empty vector; BHMT gene overexpression group (OE): HLEC transfected with BHMT gene overexpression. All groups were cultured in 10% FCS DMEM + 5mmol/L Hcy for 16h. After cultured, BHMT mRNA expression was measured by qRT-PCR and Western blot, the cell proliferation was detected by EdU Assay Kit, The level of ROS and GSH of HLEC were measured by Flow Cytometer and Visible Spectrophotometers. The expression level of protein (GRP78, Nrf2, Caspase-12) was measured by western blotting.

• **RESULTS:** After cultured 16h, cell proliferation ability in OE group was increased by 30.0% compared with NC group ( $P<0.05$ ). The expression of ROS in normal group (89.2043±0.3511)% was obviously higher than OE group (49.5625±0.4502)%,  $P<0.05$ , GSH activity in OE group was obviously higher than control group and normal group,

( $P < 0.05$ ). The expression level of GRP78 in the normal group and the control group was significantly higher than overexpression group. The expression level of Nrf2 in the normal group and the control group was significantly lower than overexpression group. The expression level of Caspase-12 in the overexpression group was significantly lower than that in the control group.

• **CONCLUSION:** BHMT *in vitro* can prevent the oxidative damage of HLEC by high homocysteine, clear the ROS and decrease the ER stress reaction. Apoptosis of lens epithelial cells was inhibited. BHMT plays an important protective role in oxidative damaged HLEC induced by Hcy.

• **KEYWORDS:** betaine-homocysteine methyltransferase; Hcy; human lens epithelial cells; oxidative damage; cell apoptosis

**Citation:** Zhou HY, Xue YS, Yan H, *et al.* Protective effects of betaine-homocysteine methyl transferase on oxidative damaged human lens epithelial cells induced by high homocysteine. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019;19(10):1652-1656

## 0 引言

晶状体蛋白质是晶状体内重要的结构蛋白,晶状体蛋白质结构发生变化、溶解度改变,凝集、交联均可导致光散射和晶状体透明度改变,进而引起视力下降。大量的研究已证实蛋氨酸(Methionine, Met)对维持晶状体透明度是非常重要的,甜菜碱高半胱氨酸甲基转移酶(betaine-homocysteine methyl transferase, BHMT)是Met循环中重要的酶。BHMT主要在肝脏和肾皮质中有大量表达,它利用同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)和提供甲基的甜菜碱(betaine, Bet)催化Met的再合成<sup>[1-2]</sup>。前期我们利用基于同位素相对和绝对定量(isobaric tags for relative and absolute quantitation, iTRAQ)标记的蛋白质组学技术研究分析了不同年龄人白内障晶状体核与透明晶状体核间的差异蛋白质,并首次报道了BHMT在老龄组白内障晶状体核区的水平较年轻组明显下调,进一步通过新的临床白内障晶状体标本进行了验证<sup>[3]</sup>。但其在晶状体老化和白内障形成中如何参与代谢等确切机制尚不清楚。已有研究发现,高Hcy是导致年龄相关性疾病的重要风险因素<sup>[4]</sup>。除此,还与多种眼部疾病相关<sup>[5]</sup>。在白内障的研究中,高水平的Hcy与年龄相关性白内障发病密切相关<sup>[6-7]</sup>。本研究利用BHMT基因过表达人晶状体上皮细胞(HLEC)进行研究,观察Hcy干预下细胞中内质网应激蛋白、ROS及抗氧化系统相关酶水平及凋亡相关酶Caspase-12的变化,探讨BHMT在高浓度Hcy环境下对晶状体的保护作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验细胞和仪器与试剂 HLEC-B3细胞、胎牛血清(FBS, Ausbian)、DMEM(Corning)、胰酶(上海生工生物工程股份有限公司)、Puromycin(Clontech)、D-Hanks(上海吉凯基因技术有限公司)、BCA蛋白定量检测试剂盒、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒(中国碧云天公司)、乳酸脱氢酶试剂、抗-GRP78试剂盒(Abcam, Cambridge, MA)、Caspase-12检测试剂盒(Abcam, Cambridge, MA)、抗-Nrf2

试剂盒(Santa Cruz Biotechnology, USA)、同型半胱氨酸化合物(梯希爱化成工业发展有限公司)、荧光显微镜(奥林帕斯)、CO<sub>2</sub>培养箱(日本三洋)、倒置显微镜(上海蔡康光学仪器有限公司)、离心机(赛默飞世尔科技有限公司)、生物安全柜(上海振祥创空气净化设备有限公司)、GV358载体, AgeI/AgeI酶切(上海吉凯基因化学技术有限公司), EdU试剂盒(C10310锐博)。

1.1.2 分组 将HLEC随机分为3组。正常组:正常HLEC+10% FBS培养基;对照组:感染了空载体的HLEC+10% FBS培养基+5mmol/L Hcy; BHMT过表达组: BHMT过表达病毒感染HLEC+10% FBS培养基组+5mmol/L Hcy。根据Velazquez等的实验方法<sup>[8]</sup>, 孵育24h后检测相关指标。

### 1.2 方法

1.2.1 BHMT基因过表达慢病毒载体的构建 基因BHMT(NM\_001713)由上海吉凯基因化学技术有限公司合成,所扩增的BHMT基因条带大小为1262bp,插入经AgeI/AgeI酶切的GV358慢病毒载体构建GV358-BHMT慢病毒质粒,将重组慢病毒质粒GV358-BHMT, pHelper1.0载体, pHelper2.0混合液稀释后,利用Lipofactamin 2000脂质体对HEK293T细胞进行转染,48h后收集细胞并采用Western blotting法检测BHMT表达情况,裂解细胞提取总蛋白,BCA法测定蛋白浓度,经SDS-PAGE分离后电转移至PVDF膜上,一抗(1:500)孵育过夜后给予二抗(1:1000)孵育,漂洗后加入配置好的显色液用ECL法结合X光片显色。

1.2.2 BHMT基因过表达慢病毒载体感染细胞 根据1.2.1构建BHMT基因过表达慢病毒载体,转染HEK293T细胞后48~72h进行病毒收获,确定采用相应的浓缩纯化得到高滴度的慢病毒保存液,病毒感染HLEC-B3后,通过抗性筛选获得过表达慢病毒感染细胞株,提取mRNA,经过qPCR检测表达水平。BHMT上游引物序列:5'-CCACTTTGACCCACCATTA-3';下游引物序列:5'-GCTAGCTCATTGTGGTCATC-3'。以GAPDH基因为内参基因,采用2<sup>- $\Delta\Delta Ct$</sup> 法计算目的基因的相对表达量。

1.2.3 细胞增殖能力的测定 EdU细胞增殖实验方法:取对数生长期细胞,以每孔2000细胞接种于96孔板中,培养至正常生长阶段;制备适量50 $\mu$ mol/L EdU培养基;每孔加入100 $\mu$ L 50 $\mu$ mol/L EdU培养基孵育2h,弃培养基;PBS清洗细胞2次,每次5min;每孔加入50 $\mu$ L细胞固定液(即含4%多聚甲醛的PBS)室温孵育30min,弃固定液。每孔加入50 $\mu$ L 2mg/mL甘氨酸,脱色摇床孵育5min后,弃甘氨酸溶液;每孔加入100 $\mu$ L PBS,脱色摇床清洗5min,弃PBS;每孔加入100 $\mu$ L 1 $\times$ Apollo染色反应液,避光、室温、脱色摇床孵育30min后,弃染色反应液;加入100 $\mu$ L渗透剂(0.5% TritonX-100的PBS)脱色摇床清洗2~3次,每次10min,弃渗透剂;每孔每次加入100 $\mu$ L甲醇清洗1~2次,每次5min;PBS清洗1次,每次5min;去离子水按100:1的比例稀释试剂F,制备适量1 $\times$ Hoechst 33342反应液,避光保存;每孔加入100 $\mu$ L 1 $\times$ Hoechst 33342反应液,避光、室温、孵育30min;弃染色反应液;加入100 $\mu$ L PBS清洗2次;染色后立即进行荧光显微镜观测。

### 1.2.4 氧化损伤标志物检测

1.2.4.1 检测ROS含量 培养的细胞加入DCFH-DA 荧

光探针于培养基,浓度为  $10\mu\text{mol/L}$ 。37℃ 孵育细胞 30min,收集细胞,37℃ 避光 30min,流式细胞仪检测。

**1.2.4.2 测定 GSH 活性** 用可见分光光度计(波长 420nm)测算组织中谷胱甘肽(GSH)活性:取各组样本 0.5mL,加应用液 2mL 混匀,3500~4000r/min 离心 10min,取上清液 1mL 进行显色反应。混匀,静置 5min,420nm 处,1cm 光径,蒸馏水调零比色测各管 OD 值。

**1.2.4.3 Western blotting 检测细胞内质网应激相关蛋白及凋亡相关蛋白(GPR78, Nrf2, Caspase-12)** 接收细胞样品,PBS 洗涤 2 次后,适量预冷的 2×Lysis Buffer 裂解,刮下细胞转移入 EP 管中,冰上裂解 10~15min 后超声破碎细胞,取上清 BCA 法测定蛋白浓度。加样进行 SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜及脱脂牛奶封闭,按照不同检测试剂盒比例加入一抗(1:1000),之后于 4℃ 冰箱内与一抗孵育过夜,室温漂洗后按照比例加入二抗(1:10000),孵育 1h,再次漂洗后加入配置好的显色液,于 Bio-Rad 发光成像仪显色。蛋白质表达量以“目的蛋白灰度值/GAPDH 灰度值”表示。

**统计学分析:**采用统计学软件 SPSS19.0 进行统计学分析。计量资料用均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,各组结果均复测 3 次,采用单因素方差分析,多重比较采用 LSD-*t* 检验。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 Western blotting 检测 BHMT 蛋白表达情况** 重组慢病毒质粒转染 HEK293T 细胞 48h 后,BHMT 慢病毒转染组细胞 BHMT 蛋白表达水平明显高于正常组和空载体转染组(图 1),表明 BHMT 基因过表达慢病毒载体构建成功。

**2.2 qPCR 检测 BHMT mRNA 表达情况** 采用 BHMT 基因过表达慢病毒载体感染 HLEC-B3 细胞后进行实时定量 PCR 检测,所得结果与 GAPDH 的结果相比较,通常认为 Ct 值相差 2 以上即存在显著差异。本实验中正常组为  $1.0032\pm 0.090$ ,空载体感染组为  $1.475\pm 0.047$ ,BHMT 慢病毒感染组为  $986.181\pm 106.033$ ,差异有统计学意义( $P<0.05$ ,图 2),BHMT 基因表达丰度明显升高,约是正常组的 986.181 倍,空载体感染组与正常组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**2.3 BHMT 基因过表达对 HLEC 增殖能力的影响** 利用 EdU 试剂盒对 HLEC 进行增殖能力检测,正常组、对照组、过表达组细胞增殖能力分别为  $(33.342\pm 0.045)\%$ 、 $(28.099\pm 0.307)\%$ 、 $(58.141\pm 0.192)\%$ ,差异有统计学意义( $F=38.726, P<0.05$ )。与正常组相比,过表达组细胞增殖比例增加,差异有显著统计学意义( $P<0.01$ ),而对照组与正常组相比,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见图 3。

**2.4 BHMT 基因过表达对氧化损伤指标的影响** 细胞内 ROS 水平:使用流式细胞仪行 DCFH-DA 定量检测显示,正常组、对照组、过表达组细胞内 ROS 水平分别为  $(89.2043\pm 0.3511)\%$ 、 $(91.4502\pm 0.0606)\%$ 、 $(49.5625\pm 0.4502)\%$ ,差异有统计学意义( $F=99.348, P<0.05$ )。与正常组相比,过表达组 ROS 降低,差异有显著统计学意义( $P<0.01$ ),而对照组与正常组相比,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见图 4。

**2.5 BHMT 高表达对 HLEC 内 GSH 活性的影响** 各组 GSH 活性结果见表 1。三组间 GSH 活性差异有统计学意义( $F=93.375, P<0.05$ )。与正常组相比,过表达组 GSH

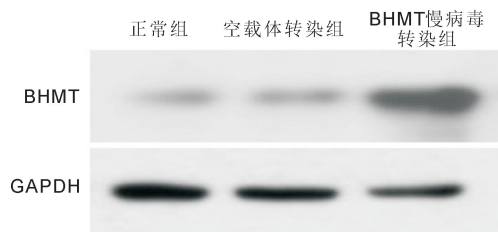


图 1 Western blotting 检测 BHMT 蛋白表达。

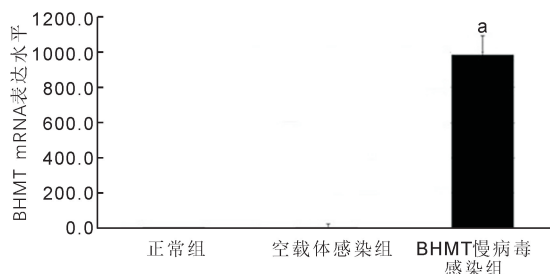


图 2 qPCR 检测 BHMT mRNA 表达情况 <sup>a</sup> $P<0.05$  vs 正常组。

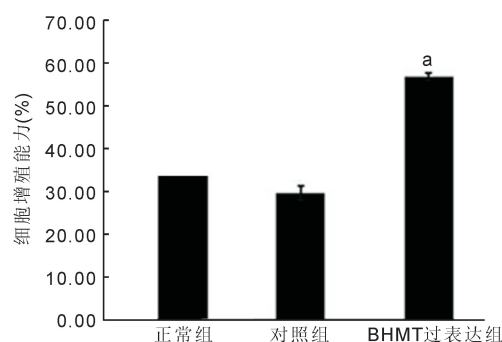


图 3 各实验组细胞增殖比例 <sup>a</sup> $P<0.05$  vs 正常组。

表 1 各实验组 GSH 活性

组别	OD	GSH 活性(mg/g prot)
正常组	$0.151\pm 0.03$	$27.334\pm 0.23$
对照组	$0.099\pm 0.04$	$25.016\pm 0.32$
BHMT 过表达组	$0.141\pm 0.09$	$51.135\pm 0.11^a$

注:正常组:正常 HLEC+10% FBS 培养基;对照组:感染了空载体的 HLEC+10% FBS 培养基+5mmol/L Hcy;BHMT 过表达组: BHMT 过表达病毒感染 HLEC+10% FBS 培养基组+5mmol/L Hcy。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 正常组。

活性增加,差异有显著统计学意义( $P<0.01$ ),而对照组与正常组相比,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**2.6 Western blotting 检测 GRP78、Nrf2、Caspase-12 在各组表达的差异** 三组 GRP78 相对表达量分别为  $1.1081\pm 0.031$ 、 $1.2433\pm 0.020$ 、 $0.2282\pm 0.013$ ,正常组及对照组明显高于过表达组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );正常组、对照组、过表达组 Nrf2 的相对表达量分别为  $0.1061\pm 0.047$ 、 $0.1081\pm 0.040$ 、 $0.8276\pm 0.070$ ,正常组与对照组明显低于过表达组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 5。正常组、对照组、过表达组凋亡相关酶 Caspase-12 的相对表达量分别为  $0.3032\pm 0.055$ 、 $0.8781\pm 0.043$ 、 $0.1026\pm 0.050$ ,过表达组与正常组明显低于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 6,表 2。

## 3 讨论

前期我们利用 iTRAQ 标记的蛋白质组学技术研究分析了不同年龄人白内障晶状体核与透明晶状体核间的差

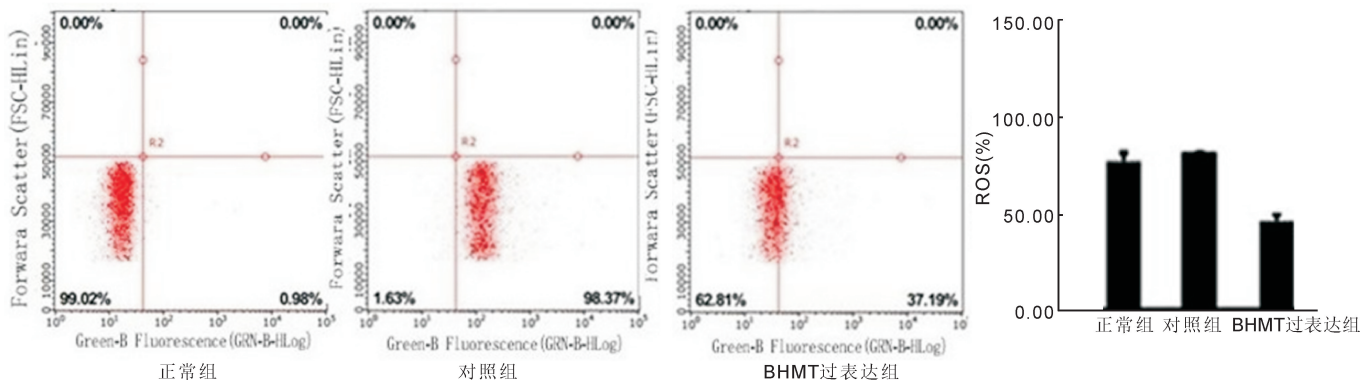


图4 各实验组细胞内 ROS 水平。

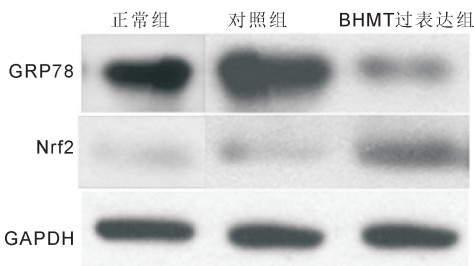


图5 GRP78, Nrf2 在各组表达的 Western blotting 分析。

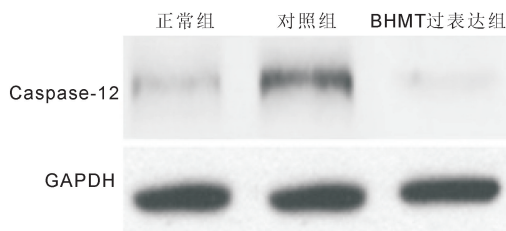


图6 Caspase-12 在各组表达的 Western blotting 分析。

表2 各组细胞内相关蛋白质表达  $\bar{x} \pm s$ 

组别	GRP78	Nrf2	Caspase-12
正常组	1.1081±0.031	0.1061±0.047	0.3032±0.055 <sup>c</sup>
对照组	1.2433±0.020	0.1081±0.040	0.8781±0.043
过表达组	0.2282±0.013 <sup>a,c</sup>	0.8276±0.070 <sup>a,c</sup>	0.1026±0.050 <sup>c</sup>
<i>F</i>	14.9	18.2	15.2
<i>P</i>	<0.05	<0.05	<0.05

注:正常组:正常 HLEC+10% FBS 培养基;对照组:感染了空载体的 HLEC+10% FBS 培养基+5mmol/L Hcy;BHMT 过表达组: BHMT 过表达病毒感染 HLEC+10% FBS 培养基组+5mmol/L Hcy。<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 正常组; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs 对照组。

异蛋白质,并首次报道了 BHMT 在老龄组白内障晶状体核区的水平较年轻组明显下调,进一步通过新的临床白内障晶状体标本进行了验证<sup>[3]</sup>。但其在晶状体老化和白内障形成中如何参与代谢等确切机制尚不清楚。在胎儿晶状体文库中, BHMT 是一个大量表达的基因<sup>[9]</sup>。Rao 等<sup>[10]</sup>第一次在恒河猴的晶状体核中发现了 BHMT,其表达约占核部总蛋白的 0.5%~10%,但具体机制不清。BHMT 是 Met 循环中重要的酶,它利用 Hcy 和提供甲基的甜菜碱 (betaine, Bet) 催化 Met 的再合成<sup>[11-12]</sup>,是机体在生理状况下维持 Hcy 稳定代谢水平的重要功能蛋白质。实验研究已经观察到 Hcy 对人类和动物晶状体上皮细胞的影响,高

浓度 Hcy 可以诱导晶状体细胞发生严重的氧化应激反应,引起白内障的发生和发展<sup>[7,13]</sup>。Hcy 升高导致大量的活性氧的产生,诱导细胞死亡和凋亡,可能导致了皮质性白内障的形成<sup>[14]</sup>。而后囊下白内障的形成可能与玻璃体内 Hcy 的含量增多有关<sup>[15]</sup>。研究认为 Hcy 是一种引起白内障的内质网应激源。内质网应激是指由于内质网中钙离子紊乱和蛋白质不能正常折叠导致细胞内质网内稳态失衡、生理功能发生紊乱的一种亚细胞器的病理过程,葡萄糖调节蛋白 78 (glucose-regulated protein78, GRP78) 是内质网应激反应的标志性蛋白<sup>[16]</sup>。细胞内抵御过量 ROS 损伤的最重要机制是由 PERK 依赖的转录激活因子 (NF-E2-related factor2, Nrf2) 调控的<sup>[17-18]</sup>。Nrf2 调控许多抗氧化防御基因,包括 GR、谷胱甘肽-s-转移酶、硫氧还蛋白、硫氧还蛋白还原酶及另外的抗氧化酶。研究发现在相同的诱导条件下 BHMT 转基因小鼠的高 Hcy 血症发病率明显低于对照组,并可保护肝脏细胞免受高同半胱氨酸浓度的损伤<sup>[19-20]</sup>。Zhang 等<sup>[21]</sup>发现两种 miRNAs 通过分化靶向海刺参中 BHMT 来直接影响体腔细胞中 Hcy 含量,靶基因 BHMT siRNA 或补充 Hcy 均可明显促进体腔细胞 ROS 的产生,表明靶基因 BHMT 通过调控 Hcy 的含量发挥生物学功能。

前期我们成功构建了人晶状体上皮细胞 BHMT 基因过表达慢病毒载体,在实验中观察到空载体感染组及 BHMT 慢病毒感染组的细胞增殖率及活性未出现抑制现象<sup>[22]</sup>。然后观察其对 Hcy 干预的人晶状体上皮细胞的氧化损伤的抑制作用。本研究发现,当加入 Hcy 干预后, BHMT 过表达细胞内 ROS 水平较正常组及对照组明显降低, GSH 活性明显升高,提示 BHMT 可以在细胞接受高 Hcy 刺激后,减轻细胞的氧化损伤程度。Nrf2 的降低也进一步说明了对照组细胞内抵御过量 ROS 损伤的屏障削弱。内质网应激反应标志性蛋白 GRP78 的表达较阴性对照组明显降低,提示高 Hcy 启动了内质网应激反应,而 BHMT 可有效地抑制这种反应,增强细胞的保护作用,同时抑制了凋亡相关酶 Caspase-12 的表达。

综上所述,由于 Hcy 诱导了内质网应激反应的启动,并导致晶状体上皮细胞中 ROS 的产生,ROS 降低了游离谷胱甘肽的数量,削弱了氧化防御系统,加剧了更加氧化的环境,导致晶状体发生氧化损伤。而 BHMT 可以抑制 Hcy 对细胞的氧化损伤作用,减少细胞 ROS 水平,升高 GSH 活性,减轻内质网应激反应,抑制了细胞凋亡,最终

表现为可以有效防护高 Hcy 环境下晶状体上皮细胞氧化损伤。证明了其在防治与 Hcy 有关的疾病方面的积极作用,为白内障氧化损伤机制提供新的依据。

#### 参考文献

- 1 Rui YN, Xu Z, Chen Z, *et al.* The GST-BHMT assay reveals a distinct mechanism underlying proteasome inhibition-induced macroautophagy in mammalian cells. *Autophagy* 2015;11(5):812-832
- 2 Zhang N. Role of methionine on epigenetic modification of DNA methylation and gene expression in animals. *Anim Nutr* 2018;4(1):11-16
- 3 Zhou HY, Yan H, Wang LL, *et al.* Quantitative proteomics analysis by iTRAQ in human nuclear cataracts of different ages and normal lens nuclei. *Proteomics Clin App* 2015;9(7-8):776-786
- 4 Bakeberg MC, Jefferson A, Riley M. Elevated Serum Homocysteine Levels Have Differential Gender-Specific Associations with Motor and Cognitive States in Parkinson's Disease. *Parkinsons Dis* 2019;2019:3124295
- 5 Ajith TA, Ranimenon. Homocysteine in ocular diseases. *Clin Chim Acta* 2015;450:316-321
- 6 Sen SK, Pukazhvanthen P, Abraham R. Plasma Homocysteine, Folate and Vitamin B12 levels in senile cataract. *Indian J Clin Biochem* 2008;23(3):255-257
- 7 Tan AG, Mitchell P, Rochtchina E, *et al.* Serum homocysteine, vitamin B12, and folate, and the Prevalence and incidence of posterior subcapsular cataract. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56:216-220
- 8 Elanchezian R, Palsamy P, Madson CJ, *et al.* Age-related cataracts: homocysteine coupled endoplasmic reticulum stress and suppression of Nrf2-dependent antioxidant protection. *Chem Biol Interact* 2012;200:1-10
- 9 Wistow G. The human crystallin gene families. *Hum Genomics* 2012;6(1):26
- 10 Rao PV, Garrow TA, John F, *et al.* Betaine - homocysteine methyltransferase is a developmentally regulated enzyme crystallin in rhesus monkey lens. *J Biol Chem* 1998;273:30669-30674

- 11 Zeisel S. Choline, Other Methyl-Donors and Epigenetics. *Nutrients* 2017;9(5). pii:E445
- 12 Slow S, Garrow TA. Liver choline dehydrogenase and kidney betaine-homocysteine methyltransferase expression are not affected by methionine or choline intake in growing rats. *J Nutr* 2006;136(9):2279-2283
- 13 Ikesugi K, Yamamoto R, Mulhern ML, *et al.* Role of the unfolded protein response (UPR) in cataract formation. *Exp Eye Res* 2006;83:508-516
- 14 Shinohara T, Ikesugi K, Mulhern ML. Cataracts; role of the unfolded protein response. *Med Hypotheses* 2006;66(2):365-370
- 15 Tan AG, Mitchell P, Rochtchina E, *et al.* Serum homocysteine, vitamin B12, and folate, and the Prevalence and incidence of posterior subcapsular cataract. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;56(1):216-220
- 16 Tsuchiya Y, Saito M, Kohno K. Pathogenic Mechanism of Diabetes Development Due to Dysfunction of Unfolded Protein Response. *Yakugaku Zasshi* 2016;136(6):817-825
- 17 Cullinan SB, Diehl JA. PERK - dependent activation of Nrf2 contributes to redox homeostasis and cell survival following endoplasmic reticulum stress. *J Biol Chem* 2004;279:20108-20117
- 18 Li X, Zhang Q, Hou N, *et al.* Carnosol as a Nrf2 Activator Improves Endothelial Barrier Function Through Antioxidative Mechanisms. *Int J Mol Sci* 2019;20(4). pii:E880
- 19 Holm PI, Hustad S, Ueland PM, *et al.* Modulation of the homocysteine-betaine relationship by methylenetetrahydrofolate reductase 677 C - > t genotypes and B - vitamin status in a large - scale epidemiological study. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(4):1535-1541
- 20 Ji C, Shinohara M, Vance D, *et al.* Effect of transgenic extrahepatic expression of betaine - homocysteine methyltransferase on alcohol or homocysteine-induced fatty liver. *Alcohol Clin Exp Res* 2008;32(6):1049-1058
- 21 Zhang P, Li C, Zhang R, *et al.* The Roles of Two miRNAs in Regulating the Immune Response of Sea Cucumber. *Genetics* 2015;201(4):1397-1410
- 22 周海燕, 薛雨顺, 王新川, 等. 人晶状体上皮细胞 BHMT 基因过表达慢病毒载体的构建及鉴定. *陕西医学杂志* 2019;48(8):963-967