

microRNAs 调控近视发生发展的研究进展

刘德政^{1,2}, 郭大东², 李谦^{1,2}, 吴姗姗^{1,2}, 王兴荣³

引用:刘德政,郭大东,李谦,等. microRNAs 调控近视发生发展的研究进展.国际眼科杂志 2020;20(2):276-278

基金项目:国家自然科学基金项目(No.81603421);山东省重点研发计划(No.2019GSF108252)

作者单位:¹(250014)中国山东省济南市,山东中医药大学;
²(250002)中国山东省济南市,山东省中西医结合眼病防治重点实验室 山东省高校中西医结合眼病防治技术(强化)重点实验室 山东中医药大学眼科研究所;³(250002)中国山东省济南市,山东中医药大学附属眼科医院

作者简介:刘德政,在读硕士研究生,研究方向:屈光不正和眼底疾病的发病机制及治疗。

通讯作者:王兴荣,教授,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:屈光不正、角膜病、玻璃体视网膜疾病及眼外伤. semxrw@163.com

收稿日期:2019-05-12 修回日期:2019-12-27

摘要

近视是目前世界上最常见的人类眼部疾病之一。微小RNA(microRNAs, miRNAs)是一类长度约20~25个核苷酸的非蛋白编码的小分子单链RNA,能广泛参与基因转录后水平的调控,与机体的生理病理过程密切相关。近年来,miRNAs在近视发生发展中的调控作用引起了研究人员的广泛关注。本文就miRNAs在近视发生发展过程中的调控作用及可能涉及的通路进行综述,以期对近视发生发展的机制研究和分子生物学诊断提供思路。

关键词: microRNAs; 近视; 基因调控; 信号通路; 近视防控

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.2.18

Advances in research on microRNAs regulating the development of myopia

De-Zheng Liu^{1,2}, Da-Dong Guo², Qian Li^{1,2}, Shan-Shan Wu^{1,2}, Xing-Rong Wang³

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No.81603421); Shandong Provincial Key Research and Development Program (No.2019GSF108252)

¹Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, Shandong Province, China; ²Shandong Provincial Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases, Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Disease in University of Shandong, Eye Institute of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, Shandong Province, China; ³Affiliated Eye Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, Shandong Province, China

Correspondence to: Xing - Rong Wang. Department of

Ophthalmology, Ophthalmic Hospital Affiliated to Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Shandong Province, China. semxrw@163.com

Received:2019-05-12 Accepted:2019-12-27

Abstract

• Myopia is one of the most common eye diseases in the world. MicroRNAs (miRNAs) are small, non-protein-coded single-stranded RNAs with a length of about 20-25 nucleotides, which are widely involved in the process of post-transcriptional regulation of many physiological and pathological processes of organisms. It has attracted extensive attention for the regulation role of miRNAs in the process of induction and development of myopia in recent years. This article reviews the regulatory role and related signal pathways of miRNAs in the development of myopia. It will provide highlights for the understanding of molecular mechanism of myopia and benefit for potential molecular diagnosis of myopia in the future.

• KEYWORDS: microRNAs; myopia; gene regulation; signaling pathway; myopia prevention and control

Citation: Liu DZ, Guo DD, Li Q, et al. Advances in research on microRNAs regulating the development of myopia. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020;20(2):276-278

0 引言

近视是一种常见的屈光不正,以儿童和青少年发病为主。据统计,我国3~19岁儿童和青少年近视和高度近视患病率已高达37.7%和3.1%^[1]。到2050年,全世界范围内近视和高度近视的患病率将分别达到50%和10%^[2]。在近视发生发展过程中,遗传和环境因素均起重要作用。近视相关基因的异常表达易促进眼轴伸长和近视的发生。迄今为止,已鉴定出近视相关基因近200个^[3]。微小RNA(microRNAs, miRNAs)是一类不具有编码蛋白质功能的单链RNA,可广泛参与细胞的发育、分化、代谢、衰老、防御等过程,其正常表达与机体的生理状态密切相关。miRNAs作为一种重要的高度保守的非编码RNA,参与了1%人类基因组的构成以及多数蛋白编码基因的调控,并可决定基因转录的最终结果。据报道,约50%的miRNAs可在组织和细胞中特异表达^[4]。miRNAs在眼发育和眼科疾病中起关键作用^[5]。miRNAs通过调控近视相关基因的表达及介导多种信号通路参与近视的发生,然而,miRNAs在近视相关基因调控中的具体作用仍待研究。本文综述了miRNAs在近视发生发展过程中相关基因表达调控方面的最新研究成果,以期今后通过研究miRNAs调控近视相关基因的表达从而治疗近视提供思路。

1 miRNAs和近视相关信号通路

1.1 miR-328与维甲酸介导的信号通路 PAX6基因是

中枢神经系统和眼球发育的主要基因,尤其在晶状体和视网膜分化诱导过程中发挥着重要作用。据报道,PAX6 单倍型与中国人对高度近视发生的易感性有关^[6]。有研究人员对 204 例近视患者和 247 例健康人外周血进行基因分析,证实 miR-328 在近视患者中的表达水平显著高于健康人,同时发现 PAX6 基因 SNP rs662702 C 等位基因是近视的风险基因。由此推测 miR-328 在 PAX6 基因 SNP rs662702 C 等位基因的调控中起重要作用,并促进近视的发生^[7]。Liang 等^[8]通过研究近视相关基因 PAX6 单核苷酸多态性与 miR-328 之间的联系发现,SNP rs662702 位于 PAX6 基因 miR-328 结合位点,证实 miR-328 可能通过调控 PAX6 C 等位基因的差异性表达,从而在促进近视发生发展中发挥作用。Kunzeviciene 等^[7]从 451 例受检者(低度近视者 142 例,中度近视者 49 例,高度近视者 13 例,健康者 247 例)外周血标本中提取 DNA 和 RNA,对 PAX6(rs662702)中 miR-328 的表达水平进行评估,发现 miR-328 在近视患者外周血细胞中的表达水平明显高于对照组($P < 0.05$),提示 miR-328 的异常表达可能与近视的发生密切相关,结果与 Liang 等^[8]研究结果相互印证,再次证实了 miR-328 在近视基因调控中的重要作用,但其在近视基因调控过程中参与的信号分子尚不清楚。另有研究显示,miR-328 可通过与 PAX6 基因的 3'-UTR 区结合,降低 PAX6 表达水平,引起 MMP2 表达增加,从而使细胞外基质降解增强,巩膜变薄,眼轴延长而影响近视的进展^[9]。上述研究还发现维甲酸(RA)可以通过调节 miR-328 的水平反向调控 PAX6 表达,从而影响其对近视的易感性。其结果显示 RA 可以使视网膜色素上皮细胞中 miR-328 水平显著上调,表明 RA 介导的信号通路可能通过直接调节 miR-328 表达控制近视发展。另有相关报道发现,形觉剥夺性近视的小鸡^[10]和豚鼠^[11]视网膜中 RA 的水平明显增加。向豚鼠喂食 RA 也可导致眼轴增长速度加快^[11]。因此,miR-328 可能通过参与调控 RA 相关的信号通路控制近视的发生,但其具体机制仍不明确。

1.2 miR-184 与 Wnt/ β -catenin 信号通路 圆锥角膜与轴性近视密切相关,圆锥突起可导致严重的不规则散光及高度近视,引起视力严重下降。有研究发现,5 种不同 miRNAs 的突变可能与圆锥角膜有潜在的因果关系,分别为 miR-143、miR-145、miR-184、miR-1224 和 miR-29b1^[12]。其中 miR-184 是角膜和晶状体中含量最丰富的 miRNA^[13],可以调节人类多能干细胞向角膜上皮样细胞的分化。通过对 miR-184 的靶向测序,发现存在突变的 15q22-q24 的 5.5Mb 连锁区,且种子区域 miR-184 (+57C>T)的突变可导致家族性严重圆锥角膜,与其后段较长导致其平均眼轴较正视眼长有关^[14]。研究发现,敲除 miR-184 会导致 PAX6 的下调^[15],而 PAX6 与高度近视发展的易感性密切相关。miR-184 的异常表达可能和近视的形成及发展有关,但其具体作用机制及其与近视发生的相关程度仍所知甚少。圆锥角膜的病理变化与细胞信号传导和细胞代谢异常密切相关,Hedgehog、Wnt 和 Notch1 信号通路相关基因在圆锥角膜中明显下调^[16]。Wnt/ β -catenin 信号通路是一条高度保守的信号通路,其部分下游靶基因参与近视及其并发症的发生发展。在裸鼠中,miR-184 高表达可使 Wnt 和 β -catenin 水平显著增加,而 miR-184 抑制后,Wnt 和 β -catenin 水平则显著降低^[17],表明 miR-184 可能通过参与介导 Wnt/ β -catenin

信号通路参与近视的发展。

1.3 miR-29 与 Smad3 和 Wnt/ β -catenin 信号通路

miR-29 簇包含 3 种 miRNAs (miR-29a、miR-29b、miR-29c),被公认为是细胞外基质(ECM)产生的调节剂。在调节眼球生长的过程中,巩膜 ECM 重塑导致眼球轴长和屈光状态发生变化是近视的重要特征。既往研究表明,miR-29 家族对调节眼病中胶原基因的表达发挥重要作用^[18-19]。miR-29b 可负调节胶原蛋白、LAMC1 和 FBN 等多种 ECM 分子的表达,并参与人体小梁网细胞中 ECM 的沉积和重塑。另有研究报道,转化生长因子(TGF)- β 是纤维发生的中枢介质,可通过激活 Smad3 或 Wnt/ β -catenin 信号通路诱导 miR-29 的显著下调^[20]。Smad3 和 Wnt 信号通路在形觉剥夺性近视的发展中发挥作用已有报道^[21]。TGF- β 1 通过激活 R-Smads 发挥作用,需要其特异性受体和细胞内信号转导子 Smads 家族参与。其中 Smad3 是 TGF- β 1 信号传导的首个信号分子,在 TGF- β 1 生物学效应的发挥中起重要作用。miR-29 可通过降低 COL1A1 的表达抑制 Wnt/ β -catenin 信号传导途径^[22],而 COL1A1 功能的缺失会导致成骨不全、巩膜变薄等系统疾病和近视的发生。

1.4 miR-let-7 与 NF- κ B 相关信号通路 Xie 等^[23]发现 miR-29a 和 miR-let-7i 的 2 个 SNP (rs157907 A/G 和 rs10877885 C/T)可能与近视相关。研究人员通过对中国西部地区 254 例近视患者和 300 名正常对照者进行观察发现,SNP rs157907 的 G 等位基因与降低近视风险密切相关($P = 0.04$)。rs157907 A/G 变体可能通过结合特异性 miRNA 调节其表达水平并最终影响胶原合成,从而影响近视的发展进程。miR-let-7a 已被发现参与核转录因子(NF)- κ B 相关通路的信号传导和 I 型胶原的调节^[24-25]。尽管 NF- κ B 信号通路尚未在巩膜重塑和近视中报道,但其与 I 型胶原的调控密切相关。I 型胶原是巩膜基质的主要成分,而近视患者的巩膜胶原蛋白水平明显降低。因此,miR-let-7 可能通过介导 NF- κ B 相关信号通路参与近视形成。

2 巩膜 miRNAs 表达谱

2.1 巩膜 miRNAs 表达谱的动物研究 近视可能与眼球快速增长有关,由于巩膜决定眼球的大小和形状,且近视患者眼轴的变化涉及多种巩膜基因的异常表达,因此巩膜重塑在近视的发生发展过程中起重要作用。深入探讨巩膜 ECM 重塑的机制,有助于发现治疗近视的新靶点。Metlapally 等^[26]对形觉剥夺(FD)近视小鼠巩膜 RNA 表达谱进行分析,发现有 54 个差异表达的 miRNAs,其中上调 24 个,下调 30 个。该研究首次报道了 miRNAs 在 FD 近视小鼠模型中的巩膜全基因组表达谱。虽然近视相关 miRNAs 表达的变化幅度相对较小,但在发生 FD 近视 2wk 后,便出现巩膜 miRNAs 的差异调控。上述发现与“miRNAs 是基因表达的微调因子”这一概念是一致的,并且表明巩膜基因表达可能受 miRNAs 驱动严格控制。由于这是首次研究 FD 近视小鼠巩膜中全基因组 miRNAs 表达谱,所以目前还没有可用的表达谱进行直接比较,且小鼠巩膜中 RNA 的含量极低,也限制了 qPCR 技术验证实验的可行性,故上述研究结果需要进一步设计实验或改良技术加以验证。

2.2 巩膜 miRNAs 表达谱的临床研究 有研究者通过选取胎儿眼进行研究,以筛选在眼生长加速期间与巩膜重塑

密切相关的 miRNAs。研究人员利用基因表达谱分析技术,通过将快速生长的胎儿眼(24周龄)巩膜 miRNAs 表达谱与稳定成体供眼的巩膜 miRNAs 表达谱进行比较,发现无论组织样本收集于后极部还是外周部,胎儿的巩膜组织均表达更高水平的 miR-214、miR-let-7c、miR-let-7e、miR-103、miR-107 和 miR-98(1.5~4倍, $P < 0.01$)。微阵列分析研究发现成人与胎儿巩膜组织存在 miR-29b 的差异表达(成人较胎儿巩膜后部表达增加 2.2倍, $P < 0.01$; 成人较胎儿巩膜外周部表达增加 2.6倍, $P < 0.01$)。miR-328在胎儿与成人外周巩膜中的表达也存在差异(胎儿较成人巩膜外周部表达增加 1.5倍, $P < 0.01$)^[27]。上述研究结果表明,这些差异表达的 miRNAs 通过调控相关靶基因的表达水平,从而调控眼睛的发育进程,其可能通过影响结合蛋白、G 蛋白、钙离子、光转导等信号通路,最终干扰巩膜的正常重塑,从而导致近视的形成,但相关 miRNAs 及其介导的信号通路至今仍不明确,需要进一步研究加以探索。

3 展望

研究证实,多种 miRNAs 可在视觉发育过程中起调控作用。这些 miRNAs 的异常表达与近视的发生发展密切相关。基于 miRNAs 疗法的独特优势在于单个 miRNA 可在一种或多种途径中调节多个基因。在过去数年中,新技术的应用已经将 miRNAs 疗法从实验室研究延伸到了临床应用,很可能提供未来治疗近视的新方法。因此,在今后的研究中,需精心设计特异 miRNA 功能丧失实验来确定其在近视发展中的作用,并观察其在近视发生不同时间点中是否存在差异性表达。

miRNAs 在近视发生发展中的作用的研究需要从视网膜和巩膜中获取材料故而变得困难。房水和玻璃体液中含有一定浓度的分泌型视网膜 miRNAs。此外,miRNAs 也可以从白内障手术和玻璃体切除术等手术过程中获得的水溶液和玻璃体液样品中纯化得到,这可能为实验材料的获取提供了一条新的途径,进而推动 miRNAs 调控近视发生发展的相关研究。此外,检测血液中的 miRNAs 也可能对快速诊断有特殊效果,或可通过确定近视相关 miRNAs 并检测个体 miRNAs 的表达,从而筛选出近视易感人群,进一步借助生物技术调控其表达以控制近视发展从而达到预防或治疗近视的目的。因此,进一步研究循环 miRNAs 的生物学功能和起源并确定其与近视发生发展之间的关系,将成为未来研究的方向之一。

参考文献

- 1 Dong L, Kang YK, Li Y, et al. Prevalence and time trends of myopia in children and adolescents in China: a systemic review and meta-analysis. *Retina* 2019 [Epub ahead of print]
- 2 Holden BA, Fricke TR, Wilson DA, et al. Global Prevalence of Myopia and High Myopia and Temporal Trends from 2000 through 2050. *Ophthalmology* 2016; 123(5): 1036-1042
- 3 Tedja MS, Haarman AEG, Meester-Smoor MA, et al. IMI-Myopia Genetics Report. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2019; 60(3): M89-M105
- 4 Davis BN, Hata A. Regulation of microRNA biogenesis: a miRiad of mechanisms. *Cell Commun Signal* 2009; 7(1): 18
- 5 Nagai T, Trakanant S, Kawasaki M, et al. The microRNAs control eyelid development through regulating Wnt signaling. *Dev Dyn* 2019; 248(3): 201-210
- 6 Jiang B, Yap MK, Leung KH, et al. PAX6 haplotypes are associated with high myopia in Han chinese. *PLoS One* 2011; 6(5): e19587

- 7 Kuncevičienė E, Liutkevičienė R, Budiene B, et al. Independent association of whole blood miR-328 expression and polymorphism at 3'UTR of the PAX6 gene with myopia. *Gene* 2019; 687: 151-155
- 8 Liang CL, His E, Chen KC, et al. A functional polymorphism at 3'UTR of the PAX6 gene may confer risk for extreme myopia in the Chinese. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(6): 3500-3505
- 9 Chen KC, Hsi E, Hu CY, et al. MicroRNA-328 may influence myopia development by mediating the PAX6 gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53(6): 2732-2739
- 10 Seko Y, Shimizu M, Tokoro T. Retinoic acid increases in the retina of the chick with form deprivation myopia. *Ophthalmic Res* 1998; 30(6): 361-367
- 11 McFadden SA, Howlett MH, Mertz JR. Retinoic acid signals the direction of ocular elongation in the guinea pig eye. *Vision Res* 2004; 44(7): 643-653
- 12 Çağıl N, Uğurlu N, Şahan CY, et al. Lack of MIR143, MIR145, MIR184, MIR1224, and MIR29b1 mutations in keratoconus pathogenesis. *Turk J Med Sci* 2017; 47(5): 1669-1671
- 13 Ryan DG, Oliveira-Fernandes M, Lavker RM. MicroRNAs of the mammalian eye display distinct and overlapping tissue specificity. *Mol Vis* 2006; 12: 1175-1184
- 14 Ernst BJ, Hsu HY. Keratoconus association with axial myopia: a prospective biometric study. *Eye Contact Lens* 2011; 37(1): 2-5
- 15 Hughes AE, Bradley DT, Campbell M, et al. Willoughby CE. Mutation altering the miR184 seed region causes familial keratoconus with cataract. *Am J Hum Genet* 2011; 89(5): 628-633
- 16 You J, Corley SM, Wen L, et al. RNA-Seq analysis and comparison of corneal epithelium in keratoconus and myopia patients. *Sci Rep* 2018; 8(1): 389
- 17 Du Z, Li F, Wang L, et al. Regulatory effects of microRNA184 on osteosarcoma via the Wnt/ β catenin signaling pathway. *Mol Med Rep* 2018; 18(2): 1917-1924
- 18 Li Z, Hassan MQ, Jafferji M, et al. Biological functions of miR-29b contribute to positive regulation of osteoblast differentiation. *J Biol Chem* 2009; 284(23): 15676-15684
- 19 van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(35): 13027-13032
- 20 Loosen SH, Lurje G, Wiltberger G, et al. Serum levels of miR-29, miR-122, miR-155 and miR-192 are elevated in patients with cholangiocarcinoma. *PLoS One* 2019; 14(1): e0210944
- 21 Ma M, Zhang Z, Du E, et al. Wnt signaling inform deprivation myopia of themice retina. *PLoS One* 2014; 9: e91086
- 22 Tan J, Tong BD, Wu YJ, et al. MicroRNA-29 mediates TGF β 1-induced extracellular matrix synthesis by targeting wnt/ β -catenin pathway in human orbital fibroblasts. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7(11): 7571-7577
- 23 Xie M, Li Y, Wu J. Genetic variants in MiR-29a associated with high myopia. *Ophthalmic Genet* 2016; 37(4): 456-458
- 24 Makino K, Jinnin M, Hirano A, et al. The downregulation of microRNA let-7a contributes to the excessive expression of type I collagen in systemic and localized scleroderma. *J Immunol* 2013; 190(8): 3905-3915
- 25 Liu C, Wang L, Chen W, et al. USP35 activated by miR let-7a inhibits cell proliferation and NF- κ B activation through stabilization of ABIN-2. *Oncotarget* 2015; 6(29): 27891-906
- 26 Metlapally R, Park HN, Chakraborty R, et al. Genome-Wide Scleral Micro- and Messenger-RNA Regulation During Myopia Development in the Mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016; 57(14): 6089-6097
- 27 Metlapally R, Gonzalez P, Hawthorne FA, et al. Scleral micro-RNA signatures in adult and fetal eye. *PLoS One* 2013; 8(10): e78984