

P53 和 mTOR 在翼状胬肉的表达和相关性分析

张方琳¹, 赵新荣², 万慧娟², 华 耘¹, 蔡 岩^{1,3}

引用:张方琳,赵新荣,万慧娟,等. P53 和 mTOR 在翼状胬肉的表达和相关性分析. 国际眼科杂志, 2024,24(9):1381-1386.

基金项目:2021 年国家自然科学基金项目(No.82060171)

作者单位:¹(832002)中国新疆维吾尔自治区石河子市,石河子大学医学院;²(832000)中国新疆维吾尔自治区石河子市,石河子大学第一附属医院眼科;³(830000)中国新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市,新疆军区总医院全军眼科中心

作者简介:张方琳,女,硕士研究生,住院医师,研究方向:眼表疾病、眼底病。

通讯作者:蔡岩,博士,主任医师,眼科主任,硕士研究生导师,研究方向:眼表疾病、眼底病. wlmqren101@126.com

收稿日期:2024-02-04 修回日期:2024-07-31

摘要

目的:检测 P53 和 mTOR 在翼状胬肉组织和健康结膜组织中的表达,探讨 P53 和 mTOR 表达之间的关系,以及 P53 和 mTOR 的表达与翼状胬肉重要临床特征之间的关系。

方法:收集 2022-11/2023-05 在石河子大学第一附属医院眼科行翼状胬肉切除术+自体结膜移植术的患者的手术标本,共 43 例 43 眼。选取 13 例患者取健康结膜组织作为健康结膜组,健康结膜组织来源于患眼颞侧结膜。选取 10 例翼状胬肉标本、6 例健康结膜标本,采用 qPCR 检测 P53 和 mTOR 在翼状胬肉和健康结膜组织中的 mRNA 表达水平;选取 33 例翼状胬肉标本、7 例健康结膜标本,采用免疫组织化学法检测 P53 和 mTOR 蛋白在翼状胬肉组织和健康结膜组织中的表达水平,使用 IPP6.0 软件统计平均光密度值,分析 P53 和 mTOR 表达之间的相关性,以及 P53 和 mTOR 与翼状胬肉的重要临床特征之间的相关性。

结果:根据 qPCR 结果,翼状胬肉组中 P53 和 mTOR 的 mRNA 表达水平相较于健康结膜组显著增强(均 $P < 0.05$)。根据免疫组织化学染色结果,P53 和 mTOR 蛋白在翼状胬肉组中的表达水平相较于健康结膜组显著升高($P < 0.05$)。P53 的表达量与 mTOR 的表达量呈正相关($r = 0.417, P < 0.05$)。P53 在户外活动时间 > 3 h 组的表达量高于户外活动时间 ≤ 3 h 组($P < 0.05$),在翼状胬肉头端侵入角膜缘距离 > 2 mm 组的表达量高于翼状胬肉头端侵入角膜缘距离 ≤ 2 mm 组($P < 0.05$),在 > 40 岁和 ≤ 40 岁两组翼状胬肉患者中无差异性表达($P > 0.05$)。mTOR 的表达量在户外活动时间 > 3 h 和 ≤ 3 h 组、翼状胬肉头端侵入角膜缘距离 > 2 mm 和 ≤ 2 mm 组以及 > 40 岁和 ≤ 40 岁组中无差异(均 $P > 0.05$)。P53 的表达量与患者的户外活动时间($r = 0.484, P < 0.01$)、侵入角膜缘距离($r = 0.479, P < 0.01$)呈正相关。mTOR 的表达量与年龄、户外活动时间、侵入角膜缘距离无相关性(均 $P > 0.05$)。

结论:P53 和 mTOR 在翼状胬肉中过度表达且呈正相关,提示在翼状胬肉的发病过程中 P53 和 mTOR 的异常表达

可能起到一定促进作用,为进一步探究翼状胬肉的发病机制提供实验依据;P53 的表达量与户外活动时间、翼状胬肉头端侵入角膜缘距离呈正相关,提示 P53 与翼状胬肉的发生发展相关,为翼状胬肉的临床诊断和治疗提供新思路。

关键词:P53;mTOR;翼状胬肉;相关性分析

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2024.9.06

Expression and correlation analysis of P53 and mTOR in pterygium

Zhang Fanglin¹, Zhao Xinrong², Wan Huijuan², Hua Yun¹, Cai Yan^{1,3}

Foundation item: National Natural Science Foundation of China in 2021 (No.82060171)

¹Shihezi University School of Medicine, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; ²Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; ³Military Ophthalmology Center, General Hospital of Xinjiang Military Command, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Cai Yan. Shihezi University School of Medicine, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; Military Ophthalmology Center, General Hospital of Xinjiang Military Command, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. wlmqren101@126.com

Received:2024-02-04 Accepted:2024-07-31

Abstract

• **AIM:** To detect the expression of P53 and mTOR in pterygium tissues and healthy conjunctival tissues, and to explore the relationship between the expression of P53 and mTOR, and the relationship between the expression of P53 and mTOR and the important clinical features of pterygium.

• **METHODS:** The surgical specimens of 43 patients (43 eyes) who underwent pterygium excision and autologous conjunctival transplantation in the First Affiliated Hospital of Shihezi University from November 2022 to May 2023 were collected. Healthy conjunctiva group was selected from the healthy conjunctival tissue that originated from the temporal conjunctiva of 13 patients. Totally 10 pterygium specimens and 6 normal conjunctival specimens were selected and the qPCR was used to detect the mRNA expression levels of P53 and mTOR in pterygium and normal conjunctival tissues. Another 33 cases of pterygium and 7 cases of normal conjunctival

tissues were collected and the expression of P53 and mTOR in pterygium and normal conjunctival tissues were detected by immunohistochemistry. IPP6.0 software was used to calculate the average optical density, the correlation between the expression levels of P53 and mTOR, and the correlation between the expression levels of P53 and mTOR and the important clinical features of pterygium were analyzed.

• **RESULTS:** According to qPCR results, the mRNA expression levels of TP53 and mTOR in the pterygium group were significantly higher than those in the healthy conjunctiva group (all $P < 0.05$). According to the immunohistochemical staining results, the expression levels of P53 and mTOR proteins in the pterygium group were significantly higher than those in the healthy conjunctiva group ($P < 0.05$). The expression of P53 was positively correlated with the expression of mTOR ($r = 0.417, P < 0.05$). The expression of P53 in the group of outdoor activity time > 3 h was higher than that in the group of outdoor activity time ≤ 3 h ($P < 0.05$). The expression of P53 in the group of pterygium head invasive limbal distance > 2 mm was higher than that in the group of pterygium head invasive limbal distance ≤ 2 mm ($P < 0.05$). There was no difference in the expression of pterygium between the two groups of patients aged > 40 years and ≤ 40 years ($P > 0.05$). There was no significant difference in the expression of mTOR between the groups of outdoor activity time > 3 h and ≤ 3 h, the group of pterygium head invasion distance > 2 mm and ≤ 2 mm, and the group of > 40 years old and ≤ 40 years old (all $P > 0.05$). The expression of P53 was positively correlated with the duration of outdoor activities ($r = 0.484, P < 0.01$) and the distance of limbal invasion ($r = 0.479, P < 0.01$). The expression of mTOR was not correlated with age, duration of outdoor activities, and distance of limbus invasion (all $P > 0.05$).

• **CONCLUSION:** The overexpression of P53 and mTOR in pterygium showed a positive correlation, suggesting that the abnormal expression of P53 and mTOR may play a role in the pathogenesis of pterygium, which provides an experimental basis for further exploring the pathogenesis of pterygium; the expression of P53 is positively correlated with the time of outdoor activities and the distance of pterygium invasion. The P53 plays a role in evaluating the severity of pterygium, and provides new ideas for the clinical diagnosis and treatment of pterygium.

• **KEYWORDS:** P53; mTOR; pterygium; correlation analysis

Citation: Zhang FL, Zhao XR, Wan HJ, et al. Expression and correlation analysis of P53 and mTOR in pterygium. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2024,24(9):1381-1386.

0 引言

翼状胬肉被认为是一种慢性、增殖性疾病,以纤维血管组织呈三角形过度增生为特征,多双眼发病,鼻侧多见,可侵入角膜甚至覆盖视轴,影响患者的视力。根据流行病学证据,紫外线辐射是翼状胬肉的一个公认的致病因素。

紫外线辐射通常在颞侧入射角膜,穿过前房,聚焦于鼻缘,导致鼻缘处的峰值光强比入射光强大 20 倍,紫外线通过氧化应激诱导的级联反应直接和间接影响 DNA 的完整性。这种未修复的 DNA 损伤导致突变,突变引起一系列细胞反应诱发翼状胬肉的发生^[1]。P53 是一种已知的肿瘤抑制基因,在 DNA 损伤的时候,可以起到阻止细胞增殖或诱导细胞凋亡的作用^[2]。P53 在翼状胬肉组织高表达^[3],在翼状胬肉的发生过程中起到重要作用^[4]。mTOR 可以协调细胞的合成代谢和分解代谢过程,包括细胞生长、增殖、存活和自噬,并且研究发现 P53 和 mTOR 之间存在相互影响、互相调节的机制^[5],mTOR 的高表达也被认为和翼状胬肉生长发育过程中发生的异常凋亡和过度增生密切相关^[6]。基于前人在 P53 和 mTOR 通路的研究,并且 P53 异常表达和 mTOR 过度激活均在翼状胬肉的病理生理过程当中扮演重要角色,本实验旨在检验 P53 和 mTOR 在翼状胬肉组织中的表达情况,探讨 P53 和 mTOR 的表达是否具有关联性,P53 和 mTOR 的表达水平与翼状胬肉的重要临床特征之间的关系,以期为进一步探究翼状胬肉的发病机制提供实验依据,为指导临床治疗寻找新的靶点治疗提供理论依据。

1 对象和方法

1.1 对象 收集 2022-11/2023-05 在石河子大学第一附属医院行原发性翼状胬肉切除术+自体结膜移植术患者的手术标本 43 例 43 眼。纳入标准:(1)符合翼状胬肉诊断标准的单眼鼻侧发病的翼状胬肉患者,根据翼状胬肉头端的位置进行分级(表 1);(2)16-60 岁非孕期患者;(3)受试者或其监护人能够理解研究目的,并签署知情同意书。排除标准:(1)患其他的眼部疾病,如眼部表面炎症性疾病、泪道阻塞性疾病、年龄相关性白内障、青光眼、年龄相关性黄斑变性、糖尿病视网膜病变;(2)1 mo 以内有眼部手术史、外伤史、化学药物烧伤史;(3)假性翼状胬肉;(4)复发的翼状胬肉;(5)不愿配合和不能交流者。选取 13 例患者取健康结膜组织作为对照组,健康结膜组织来源于患眼颞侧结膜,对照组纳入、排除标准同翼状胬肉组。两组间性别、年龄比较,差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。本研究遵循《赫尔辛基宣言》,经过石河子大学第一附属医院伦理委员会批准(伦理审查号:KJX2022-093-01)。

1.2 方法 选取 33 例翼状胬肉组织和 7 例健康结膜组织出来作为实验 1,采用免疫组织化学法检测 P53 和 mTOR 蛋白在翼状胬肉组织和健康结膜组织中的表达水平;选取 10 例翼状胬肉组织和 6 例健康结膜组织作为实验 2,采用 qPCR 检测 P53 和 mTOR 在翼状胬肉和健康结膜组织中的 mRNA 表达水平。

表 1 翼状胬肉诊断和分级标准

分级	裂隙灯下所见
0	结膜无异常结缔组织向角膜呈三角形增生
I	翼状胬肉头部达到角膜边缘(< 2 mm)
II	翼状胬肉头部达到角膜缘至瞳孔缘之间(≥ 2 mm, < 4 mm)
III	翼状胬肉头部达到瞳孔区(≥ 4 mm)
IV	翼状胬肉头部越过瞳孔区达到对侧角膜缘至瞳孔缘之间
V	复发的翼状胬肉

注:0 级翼状胬肉代表未罹患翼状胬肉。

1.2.1 免疫组织化学法检测 P53 和 mTOR 蛋白表达 标本用 4% 中性缓冲福尔马林固定 24 h 后移至 70% 乙醇溶液中保存,自动包埋机包埋。以厚度为 3.5 μm 切片,置于 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱里干燥 1 h。在二甲苯中脱蜡,梯度浓度的乙醇中水化,磷酸盐缓冲液洗涤。两个指标均使用 EDTA (PH=9) 修复,用 3% 过氧化氢避光处理 10 min 抑制内源性过氧化物酶后,磷酸盐缓冲液洗涤。5% 正常山羊血清封闭非特异性抗原,磷酸盐缓冲液中洗涤。4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱孵育一抗 12 h,P53 抗体(北京中杉金桥)浓度 1:50,mTOR 抗体(英国 Abcam)浓度 1:100,健康结膜组同等条件下孵育非特异性同源免疫球蛋白 12 h。37 $^{\circ}\text{C}$ 复温 30 min 后磷酸盐缓冲液洗去一抗,滴加酶标羊抗兔二抗(北京中杉金桥)37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,磷酸盐缓冲液洗去二抗。DAB(北京中杉金桥)显色,自来水终止显色,苏木素复染,稀盐酸分化,自来水反蓝 10 min。梯度乙醇脱水透明,中性树脂胶封片。以上步骤磷酸盐缓冲液冲洗均是冲洗 3 次,每次 5 min。切片在光镜下随机选择 5 个 200 \times 视野,使用 IPP6.0 软件计算光密度值,并取 5 个视野的光密度值计算平均光密度值。

1.2.2 qPCR 法定量检测 P53 和 mTOR mRNA 表达 使用 Trizol 法提取翼状胬肉和结膜组织总 RNA,使用 DNase 试剂盒(美国 Thermo)清除残留的 DNA 后逆转录成 cDNA,配置 PCR 反应体系(中国康为世纪)。应用 P53 和 mTOR 引物扩增相应基因,P53 引物序列:上游引物 5'-CGAGCACTGCCCAACAACAC-3',下游引物 5'-TGGCGGGAGGTAGACTGACC-3';mTOR 引物序列:上游引物 5'-CCTGACCCTGACATTCGCTAC-3',下游引物 5'-CAATCCCACTGTGCTCCAAC-3'; β -actin 引物序列:上游引物 5'-AACCGCGAGAAGATGACCCAG-3',下游引物 5'-GGATAGCACAGCCTGGATAGCAA-3'。扩增反应后进行熔解曲线分析,取循环阈值均值(Ct 值),使用 β -actin 为内参基因,至少进行 3 次以上不同样本的独立重复实验,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算目的基因的相对表达量。

统计学分析:使用统计学软件 SPSS27.0 进行分析。两组间比较采用独立样本 t 检验。计数资料采用 $n(\%)$ 描述,运用 χ^2 检验和 Fisher 确切概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。计量资料采用 Pearson 相关性分析, $r > 0.3$ 并且 $P < 0.05$ 表示指标之间具有相关性。

2 结果

2.1 一般资料对比 按照本研究纳入和排除标准收集患者信息和组织标本,实验 1 中,翼状胬肉组男 10 例(30%),女 23 例(70%);健康结膜组男 2 例(29%),女 5 例(71%),见表 2。实验 2 中,翼状胬肉组男 4 例(40%),女 6 例(60%);健康结膜组男 2 例(33%),女 4 例(67%),见表 3。

2.2 P53 和 mTOR 的 mRNA 表达 翼状胬肉组 P53 和 mTOR 的 mRNA 表达水平显著高于健康结膜组,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$,图 1)。

2.3 P53 蛋白在翼状胬肉中的表达和分析 在翼状胬肉组中,可见上皮层明显增厚,基质层有较多纤维增生以及炎症细胞浸润,阳性表达部位呈现棕黄色或棕褐色,尤其是上皮基底有 P53 蛋白强弱不等的过度表达(图 2A 中箭头 a),基质层的成纤维细胞也存在散在阳性表达(图 2A 中箭头 b)。健康结膜组的上皮细胞层无明显阳性

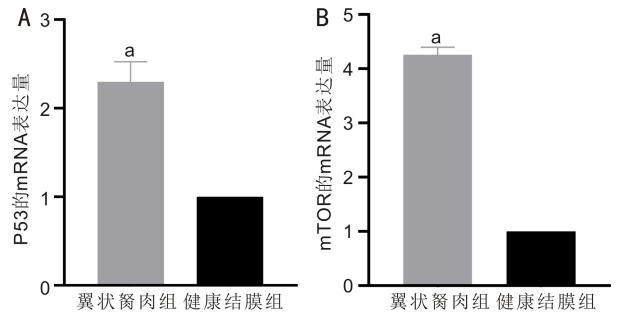


图 1 两组间 P53 和 mTOR 的 mRNA 表达 A:P53;B:mTOR。
* $P < 0.05$ vs 健康结膜组。

表 2 实验 1 的人口学资料对比

组别	例数	平均年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	性别比(男:女)
翼状胬肉组	33	45.60 \pm 12.00	10:23
健康结膜组	7	46.68 \pm 10.50	2:5
χ^2		0.367	0.008
P		0.716	0.928

表 3 实验 2 的人口学资料对比

分组	例数	平均年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	性别比(男:女)
翼状胬肉组	10	47.60 \pm 7.56	2:3
健康结膜组	6	46.83 \pm 6.18	1:2
χ^2		0.209	0.071
P		0.837	0.79

表达,基质层可见极少量的阳性表达(图 2B 中箭头 c),定量分析翼状胬肉组和健康结膜组中 P53 蛋白的表达,P53 蛋白在翼状胬肉组织中高表达($P < 0.01$,图 3)。

2.4 mTOR 蛋白在翼状胬肉中的表达 mTOR 蛋白在翼状胬肉组上皮细胞层胞浆部位着色,呈棕黄色或棕褐色(图 4A 中箭头 a),血管壁内皮细胞的胞浆可见黄染(图 4A 中箭头 b),间质层中可见炎症细胞、成纤维细胞的胞浆着色(图 4A 中箭头 c、d),健康结膜组的细胞质有极少量的阳性表达(图 4B 中箭头 e)。对两组进行 mTOR 蛋白表达的定量分析,在翼状胬肉组中的表达高于健康结膜组($P < 0.01$,图 5)。

2.5 P53 和 mTOR 蛋白在翼状胬肉中表达的相关性 将 P53 和 mTOR 蛋白在翼状胬肉组织的表达,用 IPP6.0 软件统计 MOD 值,经过正态分布检验,无异常值出现后进行 Pearson 相关性分析,P53 蛋白和 mTOR 蛋白在翼状胬肉组织的表达量呈正相关($r = 0.417, P < 0.05$)。

2.6 实验 1 中 P53 和 mTOR 蛋白表达与年龄、户外活动时间、严重程度

2.6.1 年龄 在 > 40 岁和 ≤ 40 岁两组翼状胬肉患者中,P53 和 mTOR 的蛋白表达量均无差异($P > 0.05$,表 4)。

2.6.2 户外活动时间 在户外活动时间 > 3 h 和 ≤ 3 h 两组翼状胬肉患者中,P53 的蛋白表达量有差异($P < 0.05$),mTOR 的蛋白表达量无差异($P > 0.05$),见表 5。

2.6.3 翼状胬肉头端侵入角膜缘距离 在翼状胬肉头端侵入角膜缘距离 > 2 mm 和 ≤ 2 mm 两组中,P53 的蛋白表达量有差异($P < 0.05$),mTOR 的蛋白表达量无差异($P > 0.05$),见表 6。

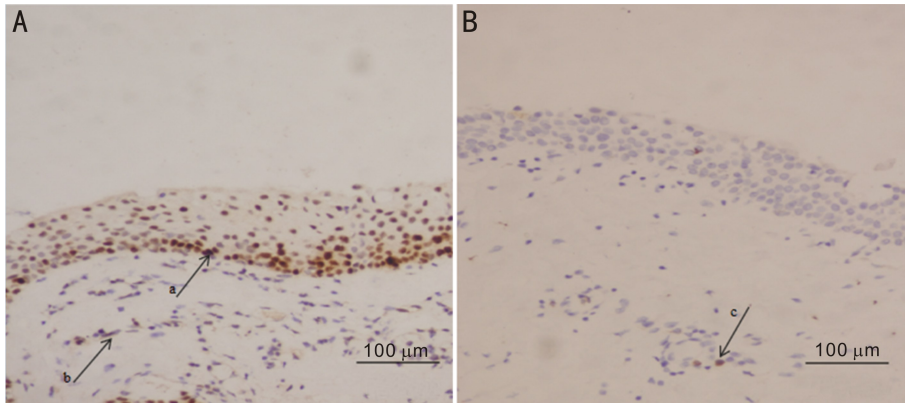


图2 200X 光镜下观察到的 P53 蛋白在两组间的表达 A:翼状胬肉组,可见上皮层明显增厚,基质层有较多纤维增生以及炎症细胞浸润,阳性表达部位呈现棕黄色或棕褐色,尤其是上皮基层有 P53 蛋白强弱不等的过度表达(箭头 a),基质层的成纤维细胞也存在散在阳性表达(箭头 b);B:健康结膜组,上皮细胞层无明显阳性表达,基质层可见极少量的阳性表达(箭头 c)。

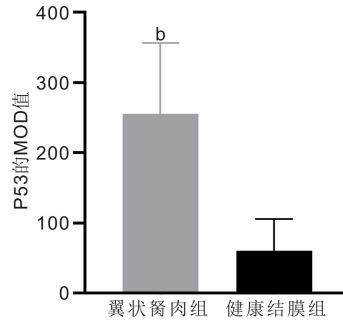


图3 使用 IPP6.0 定量分析两组 P53 蛋白的表达 ^b $P < 0.01$ vs 健康结膜组。

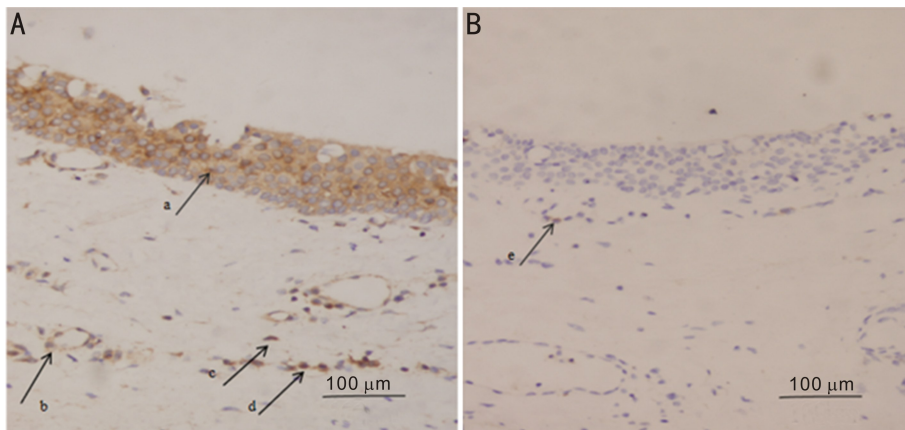


图4 两组间 mTOR 蛋白的表达 A:翼状胬肉组,mTOR 蛋白在翼状胬肉组上皮细胞层胞浆部位着色,呈棕黄色或棕褐色(箭头 a),血管壁内皮细胞的胞浆可见黄染(箭头 b),间质层中可见炎症细胞、成纤维细胞的胞浆着色(箭头 c、d);B:健康结膜组,细胞质有极少量的阳性表达(箭头 e)。

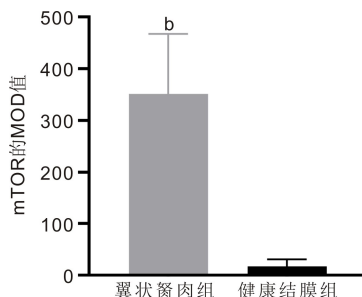


图5 使用 IPP6.0 定量分析两组 mTOR 蛋白的表达 ^b $P < 0.01$ vs 健康结膜组。

表4 不同年龄组 P53 及 mTOR 蛋白表达量的比较 ($\bar{x} \pm s, OD$)

年龄(岁)	例数	mTOR	P53
≤40	13	399.54±70.727	239.28±115.739
>40	20	400.82±183.938	264.91±93.396
<i>t</i>		0.018	0.488
<i>P</i>		0.986	0.701

表5 不同户外时间组 P53 和 mTOR 蛋白表达的比较 ($\bar{x} \pm s, OD$)

户外活动时间(h)	例数	P53	mTOR
≤3	16	227.670±101.272	391.53±206.457
>3	17	302.31±87.381	415.67±182.131
<i>t</i>		2.136	0.337
<i>P</i>		0.041	0.739

表 6 不同侵入角膜缘距离组 P53 和 mTOR 蛋白表达的比较

		$(\bar{x} \pm s, OD)$	
侵入角膜缘距离(mm)	例数	P53	mTOR
≤2	18	224.234±91.551	401.51±199.216
>2	15	301.58±102.036	398.48±197.421
<i>t</i>		2.276	0.43
<i>P</i>		0.030	0.996

2.6.4 相关性分析 异常增生的结缔组织侵入角膜缘距离越大, P53 的表达量越高, 呈现正相关 ($r = 0.479, P = 0.005$), 户外活动时间也与 P53 的表达量呈现正相关 ($r = 0.484, P = 0.004$)。但是在本实验中, mTOR 的表达量与翼状胬肉的高危因素(高龄、户外活动时间较长)和侵入角膜缘距离并未发现明显的相关性, 见表 7。

3 讨论

本研究当中, 翼状胬肉组织的上皮层鳞状上皮增生明显, 基质层有较多成纤维细胞, 成纤维细胞周围伴有累积的胶原蛋白, 伴有较多新生血管以及炎性细胞; 正常结膜组织可分为上皮层和基质层, 上皮层较薄, 基质层几乎不含成纤维细胞、新生血管以及炎症因子, 和以往的研究结果一致^[7]。

TP53 定位于 17 号染色体, 是一种肿瘤抑制基因。TP53 在多种细胞应激下被激活, 包括 DNA 损伤、致癌基因激活、核糖体应激和缺氧, 以诱导细胞周期阻滞、凋亡和衰老, 通过消除受损的细胞和潜在的癌前细胞来抑制肿瘤的发生^[5]。当 DNA 修复完成时, p53 恢复到基础水平, 随后, 细胞周期恢复到正常进展^[8]。P53 是 TP53 的转录产物, P53 可通过激活下游基因 TP21 发挥作用, 阻止细胞进入 S 期, 参与抑制细胞在 G1 期的增殖。Cao 等^[9]的研究表明, P53 在翼状胬肉组中高表达相对于正常结膜组织具有统计学意义, 并且原代培养的翼状胬肉细胞中的 P53 不能激活下游凋亡基因如 TP21 的转录。翼状胬肉上皮层中检测到 TP53 的 4-8 号外显子均发生突变, 在翼状胬肉组织中均检测到突变, 但是突变位点和突变具体类型与 P53 蛋白的表达量之间并未发现规律性^[10]。Reisman 等^[11]的研究发现 TP53 等位基因的缺失或杂合性缺失发生在翼状胬肉的发生过程中, 并且起到重要作用。这表明在翼状胬肉中存在 P53 异常累积并且作用失效。在正常情况下, P53 蛋白的半衰期很短, 小于 30 min, 通常在细胞中检测不到, TP53 基因突变后会导致异常 P53 蛋白的积累, 该蛋白的半衰期较长, 可达数小时, 从而使其能够被检测。这些研究表明了 P53 蛋白的异常累积和失活在翼状胬肉的发生和发展中起到重要作用。在本实验中, 验证了 P53 在 mRNA 和蛋白层面的表达相较于健康结膜是明显增强的, 这和以往研究结果一致^[3]。P53 蛋白的表达水平与 TOR 的表达水平呈正相关 ($r = 0.417, P < 0.05$), 提示 P53 和 mTOR 在翼状胬肉病理生理过程有着一定程度的联系。将 P53 的表达水平与翼状胬肉的重要临床特征进行分组分析, P53 在户外活动时间 > 3 h 组的表达量高于户外活动时间 ≤ 3 h 组 ($P < 0.05$), 在翼状胬肉头端侵入角膜缘距离 > 2 mm 组的表达水平高于翼状胬肉头端侵入角膜

表 7 Pearson 相关性分析

指标	年龄	侵入角膜缘距离	户外活动时间
mTOR	<i>r</i>	0.181	0.019
	<i>P</i>	0.314	0.917
P53	<i>r</i>	0.143	0.479
	<i>P</i>	0.426	0.005

缘距离 ≤ 2 mm 组 ($P < 0.05$), 在 > 40 岁和 ≤ 40 岁两组翼状胬肉患者中无差异性表达 ($P > 0.05$)。将 P53 的表达水平和翼状胬肉的重要临床特征进行相关性分析, P53 蛋白的表达量与患者的户外活动时间 ($r = 0.484, P = 0.004$)、侵入角膜缘距离 ($r = 0.479, P = 0.005$) 呈现正相关性, 提示 P53 的异常表达在翼状胬肉的发生和发展中起到了作用。

mTOR 可以对多种信号做出反应, 包括 DNA 损伤、营养物质、能量、生长因子和氧气水平, 通过整合细胞内外信号, 协调细胞的合成代谢和分解代谢过程, 包括细胞生长、增殖、存活和自噬^[5]。mTOR 蛋白的过度表达对翼状胬肉的过度增殖起到作用^[12]。mTOR 形成两种不同的多蛋白复合物: 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 1 (mTORC1) 和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 2 (mTORC2)。mTORC1 还可以通过抑制 p73 下调 FGFR3 的转录, 发挥抑制翼状胬肉细胞自噬, 调节上皮细胞凋亡的作用, 而 FGFR3 表达的缺失也佐证了翼状胬肉生长发育过程中存在异常的增殖机制^[13]。mTORC2 通过磷酸化 Akt、SGK1 和 PKC 亚型的疏水基元, 控制增殖和肌动蛋白细胞骨架重塑^[14]。有研究发现 P53 在多个水平上调节 mTOR 通路, 以控制广泛的细胞过程, 包括细胞增殖、凋亡、自噬、迁移和肿瘤发生^[6, 15]。此外, 有研究证明 Torin1 (mTORC1 和 mTORC2 的抑制剂) 或 PF04691502 (PI3K/mTOR 双重抑制剂) 通过抑制 mTOR 信号可以增加 P53 蛋白的表达^[16]。P53 和 mTOR 之间的相互作用机制在翼状胬肉的发生和发展中起到的作用, 值得深入探究。将 mTOR 的表达量与 P53 的表达量以及翼状胬肉的重要临床特征做相关性分析, 发现 mTOR 的表达量与 P53 的表达量呈正相关 ($r = 0.417, P < 0.05$), 但是并未发现与年龄、户外活动时间、侵入角膜缘距离相关 (均 $P > 0.05$)。mTOR 的表达增强和 P53 的异常累积在翼状胬肉的发病机制中是存在一定相关性的, 可以为进一步探究翼状胬肉的发病机制提供实验依据。

本研究验证了在翼状胬肉当中 P53 和 mTOR 的表达水平增高, 并且发现在翼状胬肉中 P53 和 mTOR 的表达水平具有相关性, 并和翼状胬肉的重要临床特征进行了相关性分析。与以往研究翼状胬肉发生与发展的文章相比^[17], 本文增加了指标与翼状胬肉严重程度的相关性分析。目前对于 P53 和 mTOR 在翼状胬肉中的联系研究较少, 由于平台的限制, 并未招募到翼状胬肉所有分级的志愿者, 因此可能需要更大样本量的临床标本以及细胞实验深入探索 P53 和 mTOR 在翼状胬肉的发病机制起到的作用以及相互关系。

参考文献

[1] van Acker SI, vanden Bogerd B, Haagdorens M, et al. Pterygium—the good, the bad, and the ugly. Cells, 2021, 10(7):1567.

- [2] Chen JD. The cell-cycle arrest and apoptotic functions of p53 in tumor initiation and progression. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2016, 6(3):a026104.
- [3] Turan M, Turan G. Bcl-2, p53, and Ki-67 expression in pterygium and normal conjunctiva and their relationship with pterygium recurrence. *Eur J Ophthalmol*, 2020, 30(6):1232-1237.
- [4] Cao D, Chu WK, Ng TK, et al. Cellular proliferation and migration of human pterygium cells: mitomycin versus small-molecule inhibitors. *Cornea*, 2018, 37(6):760-766.
- [5] Cui DR, Qu RR, Liu D, et al. The cross talk between p53 and mTOR pathways in response to physiological and genotoxic stresses. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:775507.
- [6] Han S, Chen Y, Gao YL, et al. MicroRNA-218-5p inhibits the migration and proliferation of pterygium epithelial cells by targeting EGFR via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Exp Eye Res*, 2019, 178:37-45.
- [7] Kato N, Shimmura S, Kawakita T, et al. Beta-catenin activation and epithelial-mesenchymal transition in the pathogenesis of pterygium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48(4):1511-1517.
- [8] Jiang H, Luo J, Lei HT. The roles of mouse double minute 2 (MDM2) oncoprotein in ocular diseases: a review. *Exp Eye Res*, 2022, 217:108910.
- [9] Cao D, Ng TK, Yip YWY, et al. p53 inhibition by MDM2 in human pterygium. *Exp Eye Res*, 2018, 175:142-147.
- [10] Tsai YY, Cheng YW, Lee H, et al. P53 gene mutation spectrum and the relationship between gene mutation and protein levels in pterygium. *Mol Vis*, 2005, 11:50-55.
- [11] Reisman D, McFadden JW, Lu G. Loss of heterozygosity and p53 expression in Pterygium. *Cancer Lett*, 2004, 206(1):77-83.
- [12] Cui DR, Dai XQ, Gong LY, et al. DEPTOR is a direct p53 target that suppresses cell growth and chemosensitivity. *Cell Death Dis*, 2020, 11:976.
- [13] Garbern JC, Helman A, Sereda R, et al. Inhibition of mTOR signaling enhances maturation of cardiomyocytes derived from human-induced pluripotent stem cells via p53-Induced quiescence. *Circulation*, 2020, 141(4):285-300.
- [14] Zhong XC, Xu PF, Chen KL, et al. A novel lncRNA lnc-PPRL promotes pterygium development by activating PI3K/PDK1 signaling pathway. *Exp Eye Res*, 2022, 219:109034.
- [15] Liu Y, Xu H, An M. mTORC1 regulates apoptosis and cell proliferation in pterygium via targeting autophagy and FGFR3. *Sci Rep*, 2017, 7(1):7339.
- [16] Kim SW, Kim HI, Thapa B, et al. Critical Role of mTORC2-Akt Signaling in TGF- β 1-Induced Myofibroblast Differentiation of Human Pterygium Fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019, 60(1):82-92.
- [17] 刘仓仓, 曹小彪, 黄建波, 等. 基质细胞衍生因子-1及其受体 CXCR4 在翼状胬肉中的表达及意义. *国际眼科杂志*, 2020, 20(3):517-521.