

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.17.009

lncRNA BANCR 在晶体上皮细胞上皮-间质转化、增殖、凋亡及自噬的作用*

刘含若[△] 白玮玲 夏子尧 董 喆 宋旭东

(首都医科大学附属北京同仁医院 北京同仁眼科中心\北京市眼科研究所\眼科学与视觉科学北京市重点实验室 北京 100005)

摘要 目的:探索长链非编码 RNA BANCR(lncRNA BANCR) 在晶状体上皮细胞 FHL24 中对上皮-间质转化的作用,并进一步探究了其调控晶体上皮细胞增殖、凋亡及自噬的作用及相关分子机制。方法:运用 qReal-time PCR 检测 TGF- β 诱导对 FHL24 细胞内 EMT 相关标志物 α -SMA, E-cadherin, Coll I, ZO1 及 BANCR mRNA 相对表达量。细胞中转染 BANCR。Western 印迹检测各组细胞中 EMT 相关标志蛋白及 LC3 II/I 的蛋白表达。MTT 法检测各组细胞的增殖、凋亡情况。结果:与正常对照组比较, TGF- β 诱导组细胞中 BANCR, α -SMA, Coll I, ZO1 mRNA 的相对表达量明显增加,而 E-cadherin mRNA 显著下降,差异均有统计学意义 ($t=-5.031, -7.145, -9.023, -6.012, 5.097$ 均 $P<0.05$),以上因子的蛋白表达趋势相同,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。siRNA-BANCR TGF- β 诱导组细胞中 E-cadherin mRNA 相对表达量比 siRNA TGF- β 诱导组显著增加 ($t=-9.98, P<0.05$); α -SMA, Coll I 及 ZO1 mRNA 相对表达则显著减少($t=9.003; 27.738; 19.620, P<0.05$)。抑制 BANCR 后细胞增殖活力 48、72 h 时细胞活性显著降低($t=5.032, 9.041$, 均 $P<0.05$),细胞凋亡率显著升($t=16.772, P<0.001$)。自噬标志蛋白 LC3-II/LC3-I 比例增加 ($P<0.05$)。结论:长链非编码 BANCR 参与了晶体上皮细胞的抑制其上皮-间质转化,抑制 BANCR 可抑制晶体上皮细胞增殖、增加凋亡及自噬的发生。

关键词: 后发性白内障,长链非编码 RNA BANCR,自噬

中图分类号: R-33; R776.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2020)17-3343-05

The Effect of lncRNA BANCR on EMT, Proliferation, Apoptosis and Autophagy in Human Lens Epithelial Cells*

LIU Han-ruo[△], BAI Wei-ling, XIA Zi-yao, DONG Zhe, SONG Xu-dong

(Beijing Tongren Eye Center/Beijing Key Laboratory of Ophthalmology and Visual Sciences/Beijing Institute of Ophthalmology/Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing, 100005, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effect of long non-coding RNA BANCR (lncRNA BANCR) on epithelial-mesenchymal transition in human lens epithelial cells FHL24, and to further explore its role in regulating the proliferation, apoptosis and autophagy of lens epithelial cells and related molecular mechanisms. **Methods:** qReal-time PCR was used to detect the relative expression of EMT-related markers α -SMA, E-cadherin, Coll I, ZO1 and BANCR mRNA induced by TGF- β in FHL24 cells. Transfect the cells with BANCR. Western blotting was used to detect the expression of EMT-related marker proteins and LC3 II/I in each group of cells. MTT method was used to detect cell proliferation and apoptosis in each group. **Results:** Compared with the normal control group, the relative expression of BANCR, α -SMA, Coll I, and ZO1 mRNA in the cells of the TGF- β induction group increased significantly, while the E-cadherin mRNA decreased significantly, and the differences were statistically significant ($t=-5.031, -7.145, -9.023, -6.012, 5.097$ all $P<0.05$), the protein expression trends of the above factors were the same, and the differences were statistically significant (all $P<0.05$). The relative expression of E-cadherin mRNA in the cells of the siRNA-BANCR TGF- β induction group was significantly higher than that in the siRNA TGF- β induction group ($t=-9.98, P<0.05$); the relative expression of α -SMA, Coll I and ZO1 mRNA was significant Decrease ($t=9.003; 27.738; 19.620, P<0.05$). After inhibiting BANCR, the cell proliferation activity was significantly reduced at 48 and 72 h ($t=5.032, 9.041$, all $P<0.05$), and the apoptosis rate was significantly increased ($t=16.772, P<0.001$). The ratio of autophagy marker protein LC3-II/LC3-I increased ($P<0.05$). **Conclusions:** Long-chain non-coding BANCR is involved in the inhibition of epithelial-mesenchymal transition of lens epithelial cells. Inhibition of BANCR can inhibit the proliferation of lens epithelial cells, increase apoptosis and autophagy.

Key words: After cataract; Long non-coding RNA BANCR; Autophagy

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R776.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)17-3343-05

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81700813);北京市医院管理局"青苗"计划专项经费(QML20180205);

北京市优秀人才培养资助项目;北京市科技新星项目(Z191100001119072);

首都医科大学附属北京同仁医院拔尖人才培养计划,医药协同科研创新研究专项(Z181100001918035)

作者简介:刘含若(1985-),女,助理研究员,主要研究方向:眼科学,E-mail: hanruo.liu@hotmail.co.uk,电话:18600659099

[△] 通讯作者:刘含若(1985-),女,助理研究员,主要研究方向:眼科学,E-mail: hanruo.liu@hotmail.co.uk,电话:18600659099

(收稿日期:2020-05-06 接受日期:2020-05-30)

前言

后发性白内障(posterior capsule opacification, PCO)是白内障术后最常见的并发症,也是导致患者视力再次下降的最主要的原因^[1,2]。PCO 源于内囊袋中残留晶状体上皮细胞在后囊膜上增殖,迁移,转分化为分泌胶原和基底膜营养物质使后囊膜在此浑浊,上皮-间质转化(Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT)被认为是形成 PCO 主要病理机制^[3]。从理论上说,防止 PCO 发生最有效的方式,是在手术中消除内囊袋的细胞或抑制残留在前囊细胞的增殖和迁移^[4,5]。一系列的细胞毒性剂在许多人类和动物模型系统已经过测试,诸如丝裂霉素,5-氟尿嘧啶,和毒胡萝卜素^[6-12]。但所有这些治疗方法还没有被应用于临床,因此找到一个安全有效可以阻止白内障术后 PCO 的发生一直是近年来眼科临床,基础研究的热点之一。

长链非编码 RNA(long noncoding RNA, lncRNA)是一类转录本长度超过 200 个核苷酸的 RNA 分子,并不具有蛋白质编码功能,但以 RNA 形式在表观遗传学上、转录及转录后等多种层面上实现对基因的表达水平的调控,把基因组成复杂的调控网络,共同调节细胞增殖、分化与死亡^[13]。在眼科相关疾病的 lncRNA 相关研究,尤其在晶体细胞的研究还刚刚起步。现有的研究包括心肌梗死相关转录本(myocardial infarction associated transcript, lncRNA-MIAT)在晶状体上皮细胞中氧化应激时的对增殖,凋亡和迁移的影响,和在 PCO 相关病理过程中的潜在作用等^[14]。长链非编码 BANCR (BRAV600E-Activated Non-Protein-Coding RNA,)是由 Flockhart^[15]在 2012 年通过 RNA-seq 筛选出的,是染色体 9 上的长度 693bp 的非编码 RNA,曾有其在肝癌和膀胱癌等肿瘤疾病中差异性表达的报道^[16-18]。目前, BANCR 在晶体上皮细胞领域的研究还尚属空白。

本研究拟以人晶体上皮细胞系 FHL124 细胞为研究对象,利用典型的 EMT 标志蛋白, E-钙粘蛋白(E-Cadherin), 闭锁小带蛋白(zonula occludens-1, ZO-1), α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscleactin, α -SMA), 胶原蛋白(collagen, Coll)I, 研究 BANCR 对晶体上皮细胞的抑制上皮-间质转化的作用,并进一步探究了其调控晶体上皮细胞增殖、凋亡及自噬的作用及相关分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

人晶状体上皮细胞系 FHL124 (英国东安格利亚大学馈赠), 实验用 23-28 代。SFN 和四甲基偶氮唑盐(美国 Sigma 公司); Eagle's 最低要求培养液 (Eagle's minimum essential medium, EMEM)胎牛血清(美国 Hyclone 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养和转染 取 FHL124 用 FM(Fibroblast Medium)培养基(美国 Alabaster 公司), 在 37℃、体积分数 5% CO₂ 的培养箱中培养, 倒置显微镜下观察细胞融合后, 按 1:4 传代。取第 5-8 代细胞, 待细胞 80% 融合后进行实验。细胞以 2×10⁵/孔密度接种于 12 孔板, 过夜后更换含 1% 胎牛血清的培养液。继续培养 24 h 后将培养细胞分为对照组、TGF- β 2 处理组、SFN 组和 TGF- β 2+SFN 处理组, 对照组细胞添加 1 μ L 二甲基亚砜

(dimethyl sulfoxide, DMSO), 各组培养 48 h, 光学显微镜下观察细胞形态。转染前 24 h 将培养的 FHL124 细胞按每孔 5×10⁵ 个种于六孔板中, 并用全培养基进行培养, 待细胞达到 70% 融合时, 根据 Lipofectamine 2000(Invitrogen 公司, 上海)转染细胞。转染前 2 h 细胞换取新鲜无血清 opti-MEM, 轻轻混匀静置 5 min, 加入待转染溶液, 进入上述六孔板 FHL124 细胞中。

1.2.2 qRT-PCR 实验 Real-time PCR 为提取细胞内总 RNA, Trizol 试剂(Invitrogen 公司, 美国)用于裂解细胞。收集 RNA 后, 使用 Power SYBR Green(TaKaRa 公司, 大连)作 Real-time PCR 分析。PCR 循环扩增条件: 95℃ 预变性 30 s; 94℃ 变性 15 s, 56℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 45 s, 扩增 40 个循环。PCR 引物详情见表 1。Real-time PCR 和数据收集基于 ABI7500 平台。使用 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 法计算并标准化相对表达。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequence for gene amplification

Gene	ID	Primer
E-cadherin		Forward: 5'-GCTTCAGCAAAGACAACGAG-3'
		Reverse: 5'-GTGTAATGCAGGACCACAGC-3'
ZO1		Forward: 5'-CGGGTCTACGCCTACGTCCTTGAACAC-CGTGCTTC-3'
		Reverse: 5'-CACAGGTCTGAGCAGCGATCCTGCTTGCTG-3'
α -SMA		Forward: 5'-CCTGTCCACACGGGTGAAC-3'
		Reverse: 5'-CACCAGGCCTAGCATTTCATTG-3'
β -Actin		Forward: 5'-ACTACCTGAGCACCCAGTCC-3'
		Reverse: 5'-CACAGGTCTGAGCAGCGATCCTGCTTGCTG-3'
Coll I		Forward: 5'-TCGGAGGAGAGTCAGGAAGG-3'
		Reverse: 5'-TCAGCAACACAGTTACACAAGG-3'
BANCR		Forward: 5'-CGGGTCTACGCCTACGTCGTGCTTC-3'
		Reverse: 5'-CACAGGTCTGCGATCCTGCTTGCTG-3'

1.2.3 MTT 实验 取适量各组细胞, 加入 5 g/L 的 MTT 溶液 20 μ L, 培养 4 h, 然后弃去上清, 每孔加入 150 μ L DMSO, 震荡, 使结晶溶解, 在 490 nm 波长下检测细胞吸光度(A)。细胞的增殖力与细胞活力呈正比。

1.2.4 Western Blot 法 检测凋亡过程中自噬特异蛋白 LC3 表达变化: 将 10 μ M SFN 作用于 FHL124 细胞 24 h 后, 检测 LC3 的表达。收集细胞, 加入细胞裂解液, 4℃, 离心半径 8 cm, 12000 r/min, 离心 5 min, 收集上清液, 蛋白质样品于等体积的 2×十二烷基硫酸钠加样缓冲液混匀, 煮沸 5 min, 紫外分光光度法测定蛋白质浓度。按蛋白质含量测定结果每孔上样量为 20 μ g, 10%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离样品。用 0.8 mA/cm² 电转移 2 h, 将蛋白转至聚偏二氟乙烯膜上, 用封闭液室温封闭 2 h, 将膜与融于封闭液中的一抗(1:2000)室温孵育 2 h, PBS 洗 5 min×3 次, TBS 洗 5 min×3 次, 将膜与融于封闭液中的二抗(1:1000)室温孵育 2 h, TBS 洗 7 min×3 次, 双蒸

馏水清洗 2 次,加入超强二氨基联苯胺显色,将蛋白带的颜色深度达到要求时,蒸馏水冲洗中止显色,摄片。

1.3 统计学分析

本研究中所有数据采用 SPSS 22.0 软件分析系统对所得数据进行处理,测量指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间差异用单因素方差分析,组间两两比较用 Dunett 检验,以 $P < 0.05$ 作为差异有统计学意义。

2 结果

表 2 各组内 EMT 相关标志物及 BANCR mRNA 的相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the relative expression of EMT-related markers and BANCR mRNA in each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	α -SMA	E-cadherin	Coll I	ZO1	BANCR
Control	6	1.534 $\pm$ 0.213	1.235 $\pm$ 0.302	1.001 $\pm$ 0.042	1.129 $\pm$ 0.232	0.835 $\pm$ 0.051
TGF- β 2	6	2.545 $\pm$ 0.214	0.435 $\pm$ 0.002	2.415 $\pm$ 0.082	0.435 $\pm$ 0.002	2.635 $\pm$ 0.052
t		-7.145	5.097	-9.023	-6.012	-5.031
P		0.002	0.012	0.001	0.007	0.009

Western blot 用于研究 TGF- β 2 诱导对 FHL124 细胞内 EMT 相关标志物蛋白的影响,在 TGF- β 2 诱导组对比正常对照组 E-cadherin 蛋白表达强度减弱($t=28.165$, $P < 0.001$); α -SMA,

2.1 TGF- β 2 诱导对细胞内 EMT 相关标志物及 BANCR 表达的影响

Real-time PCR 用于检测 TGF- β 2 诱导对细胞内 EMT 相关标志物及 BANCR mRNA 相对表达量的影响。与正常对照组比较,TGF- β 2 诱导组细胞中 BANCR, α -SMA, Coll I, ZO1 mRNA 的相对表达量明显增加,而 E-cadherin mRNA 显著下降,差异均有统计学意义 ($t=-5.031$, -7.145 , -9.023 , -6.012 , 5.097 均 $P < 0.05$)。结果见表 2。

Coll I, ZO1 蛋白表达条带增强,均有统计学意义 ($t=-19.476$; -15.543 ; -20.148 , $P < 0.001$)。结果图见图 1,表 3。

表 3 各组内 EMT 相关标志物蛋白 α -SMA, E-cadherin, Coll I 和 ZO1 相对表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of relative expression of EMT-related marker proteins in each group ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	α -SMA	E-cadherin	Coll I	ZO1
Control	4	1.755 $\pm$ 0.402	1.055 $\pm$ 0.341	1.235 $\pm$ 0.431	1.217 $\pm$ 0.292
TGF- β 2	4	2.132 $\pm$ 0.357	0.629 $\pm$ 0.282	1.938 $\pm$ 0.542	1.976 $\pm$ 0.287
t		-19.476	28.165	-15.543	-20.148
P		0.000	0.000	0.000	0.000

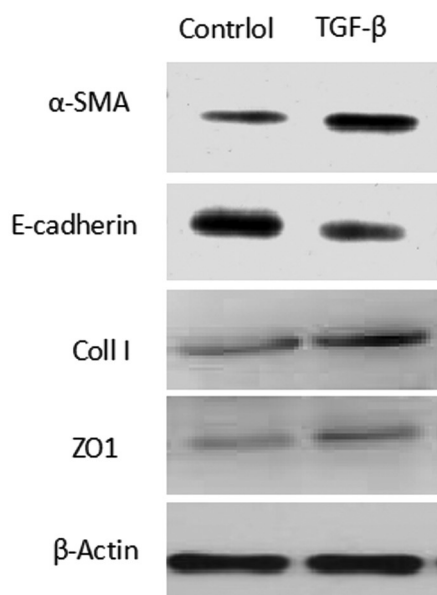


图 1 Western blot 法检测的细胞中 EMT 相关蛋白 α -SMA, E-cadherin, Coll I 和 ZO1 表达变化

Fig.1 The changes of expression of EMT-related marker proteins α -SMA, E-cadherin, Coll I and ZO1 detected by Western blotting

2.2 不同转染组细胞中 EMT 相关标志物及 BANCR mRNA 相对表达量

与 siRNA 空载体组比较, siRNA-BANCR 转染组和 siRNA-BANCR TGF- β 2 诱导组细胞中 BANCR mRNA 相对表达量明显下降,差异有统计学意义($t=24.341$, $P < 0.001$); siRNA 空载体组与 siRNA-BANCR 转染组比较,其中 EMT 相关标志物 α -SMA, Coll I, ZO1 和 E-cadherin 的 mRNA 相对表达量无明显差异 ($t=1.003$, 0.546 , 0.978 , 0.672 ; 均 $P > 0.05$)。而在 siRNA-BANCR TGF- β 2 诱导组细胞中 E-cadherin mRNA 相对表达量比 siRNA TGF- β 2 诱导组显著增加 ($t=-9.98$, $P < 0.05$); α -SMA, Coll I 及 ZO1 mRNA 相对表达则显著减少 ($t=9.003$; 27.738 ; 19.620 , $P < 0.05$)。见图 2,表 4。

2.3 抑制 BANCR 对 FHL124 细胞增殖、凋亡和自噬的影响

与对照组相比, si-BANCR 组 FHL124 细胞中 BANCR 表达显著降低($t=14.387$, $P < 0.001$)。MTT 用于检测抑制 BANCR 后对 FHL124 细胞系增殖活力的影响,结果显示 48、72 h 时细胞活性显著降低($t=5.032$, 9.041 , 均 $P < 0.05$)。而与对照组相比, si-BANCR 组细胞凋亡率显著升高($t=16.772$, $P < 0.001$)。Western blot 用于研究抑制 BANCR 对 FHL124 细胞系自噬的影响。与对照组相比,抑制 BANCR 增加自噬标志蛋白 LC3-II/LC3-I 比例,细胞自噬水平增强 ($P < 0.05$)。见表 5,图 3。

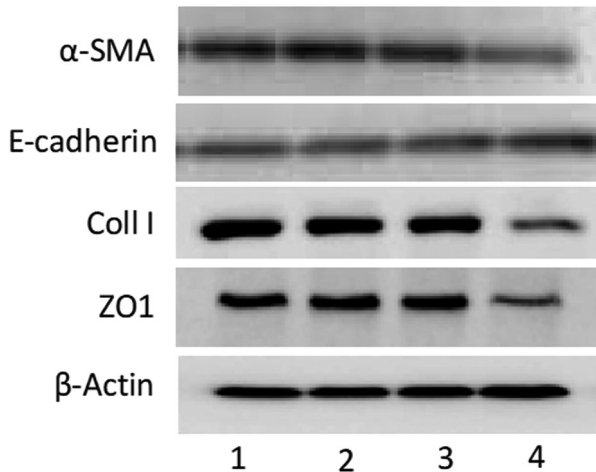


图2 Western-blot 法检测不同转染组中 EMT 相关标识蛋白 α -SMA, E-cadherin, Coll I 和 ZO1 表达
1: siRNA 空白对照转染组 2: siRNA-BANCR 转染组 3: siRNA+TGF- β 2 转染组 4: siRNA-BANCR+TGF- β 2 转染组

Fig.2 The expression of EMT-related marker proteins α -SMA, E-cadherin, Coll I and ZO1 in each group after transfection detected by Western blotting

Note: 1: siRNA ; 2:siRNA-BANCR; 3:siRNA+TGF- β 2;
4: siRNA-BANCR+TGF- β 2

3 讨论

白内障是世界上第一位致盲的眼病,后发性白内障是白内障术后最常见的并发症,也是导致患者视力再次下降的最主要的原因^[9]。PCO 源于内囊袋中残留晶状体上皮细胞在后囊膜上增殖,迁移,转分化为分泌胶原和基底膜营养物质使后囊膜在此浑浊,防止 PCO 发生最有效的方式,是找到一种能有效控制内囊袋残留的前囊细胞增殖和迁移,并抑制其上皮-间质转化异常增生转分化为成纤维细胞的方法。

lncRNA 是由 RNA 聚合酶 II 转录,缺乏开放阅读框的一类转录本,通常以多种形式参与调控靶基因的表达。近几年,越来越多的研究结果揭示,lncRNA 能调节机体细胞生长、分裂、分化,并可以参与调控染色质的形态、RNA 表达及调节蛋白活性,也可以发挥组织结构分子的生物学功能。在晶状体上皮细胞和晶状体纤维细胞中检测到的 254 种 lncRNA 中有 86 种存在表达差异,提示特定种类的 lncRNA 的差异表达可能密切参与了晶状体上皮细胞的分化。其中心肌梗死相关转录本 MIAT 已被证实混浊晶状体中表达水平明显增加,而通过 MIAT 敲除或 miRNA-150-5p 过表达,均可加剧氧化应激导致的细胞增殖能力下降及细胞凋亡,并诱导细胞增殖和迁移,提示其可能

表 4 转染后各组内 EMT 相关标志物及 BANCR mRNA 的相对表达量($\bar{x} \pm s$)

Table 4 The relative expression of EMT-related markers and BANCR mRNA in each group after transfection ($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	α -SMA	E-cadherin	Coll I	ZO1	BANCR
siRNA	4	1.522 $\pm$ 0.363	0.934 $\pm$ 0.213	0.681 $\pm$ 0.245	1.189 $\pm$ 0.139	1.087 $\pm$ 0.202
siRNA-BANCR	4	1.589 $\pm$ 0.424	1.099 $\pm$ 0.129	0.529 $\pm$ 0.342	1.170 $\pm$ 0.204	0.100 $\pm$ 0.002
iRNA+TGF- β s2	4	3.286 $\pm$ 0.294	0.454 $\pm$ 0.115	1.872 $\pm$ 0.415	1.812 $\pm$ 0.431	3.172 $\pm$ 0.542
Si-BANCR+TGF- β 2	4	0.502 $\pm$ 0.032	1.988 $\pm$ 0.532	0.029 $\pm$ 0.002	0.921 $\pm$ 0.298	0.304 $\pm$ 0.002

表 5 BANCR 转染后对 FHL124 细胞增殖,凋亡和自噬相关蛋白 LC3 II/I 的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effects of BANCR transfection on FHL124 cell proliferation, apoptosis and autophagy-related protein LC3 II/I ($\bar{x} \pm s$)

Groups	BANCR	Cell viability(490nm)			Apoptosis rate (%)	LC3 II/I
		24 h	48 h	72 h		
si-NC	4.31 $\pm$ 0.37	0.56 $\pm$ 0.07	0.81 $\pm$ 0.12	1.31 $\pm$ 0.22	10.23 $\pm$ 0.16	0.33 $\pm$ 0.18
si-BANCR	1.28 $\pm$ 0.21	0.29 $\pm$ 0.04	0.31 $\pm$ 0.11	0.32 $\pm$ 0.08	22.71 $\pm$ 5.52	2.35 $\pm$ 0.58
t	14.387	1.998	5.032	9.041	16.772	13.287
P	0.000	0.302	0.006	0.001	0.000	0.000

与后发性白内障的病理过程密切相关^[20,21]。研究证实 lncRNA-BANCR 曾在肝癌和膀胱癌等肿瘤疾病中差异性表达,并可能与细胞 EMT 过程相关^[22-24]。本研究探讨 lncRNA-BANCR 在 FHL124 细胞中的作用。通过研究发现 TGF- β 2 刺激细胞发生 EMT 后细胞内 BANCR 表达上调,表明 BANCR 在 FHL124 细胞纤维化过程中可能起重要作用。为了进一步证实,我们利用 siRNA 质粒转染技术,证实 siRNA-BANCR 可抑制由 TGF- β 2 诱导的 FHL124 细胞纤维化,包括与此过程相关的一系列相关基因如 α -SMA, E-cadherin, Coll I, ZO1 蛋白的表达,由此揭示 BANCR 与 FHL124 细胞的纤维化过程密切相关,下调 BANCR 表达可抑制由 TGF- β 2 诱导的 FHL124 细

胞纤维化过程。

有研究表明 lncRNA-BANCR 可能参与轴突导向,丝裂原活化蛋白激酶信号通路(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路,补体和凝血级联反应,趋化因子信号转导通路和丙酮酸代谢过程,参与炎症、免疫、应激调节等生理病理过程^[25,26]。BANCR 作用方式和调控机制多样,在人体的不同生理进程中扮演不同的角色。本研究也证实,下调 BANCR 表达可抑制 FHL124 细胞增殖,促进凋亡和自噬。自噬是细胞用于降解和回收细胞内受损老化细胞器、长寿命蛋白、错误折叠蛋白聚集体的一种高度保守的过程,其功能主要是维持细胞物质、能量代谢及内环境的稳定,并参与机体的多种生理及病理过

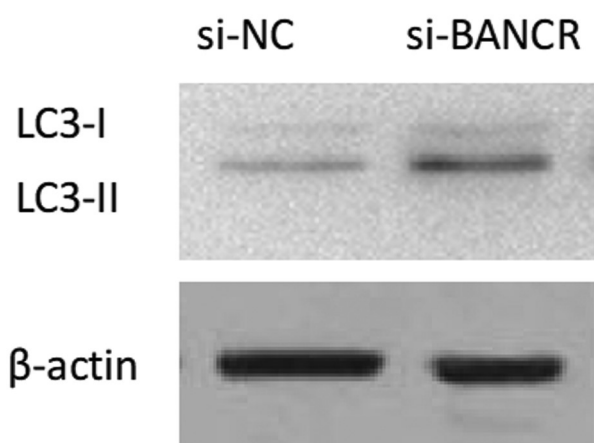


图3 抑制 BANCR 表达对 FHL124 细胞自噬相关蛋白 LC3 I、II 表达的影响

Fig.3 Effects of inhibiting BANCR on the expression of autophagy-related protein LC3 II/I in FHL124 cell

程,如发育、免疫及老化等^[27-29]。根据自噬对细胞死亡的调节具有"双重性",正常状态下细胞可通过温和且持续的上调 MAPKs 自噬通路,起到持续保护细胞免受氧化损伤的作用;而蛋白异常表达所导致的激烈且快速的上调自噬,则可起到抑制细胞增殖作用。自噬与 EMT 过程,两个看似独立的生理及过程是否存在内在关联?信息通路之间的 crosstalk 作为信号转导途径间的"串扰"是指不同信号转导途径间的相互影响,即通常所说的"相互作用"在信号转导中,虽然每种体系都有自己相对独立的系统,似乎互不影响,实际上细胞内的各种信息往往交织在一起形成一个信息网共同起作用^[30-32]。现阶段随着基因组学和蛋白组学研究的发展,到目前已发现多种 miRNA 和 lncRNA 参与晶状体发育以及白内障的形成。而对作用机制研究发现, BANCR 可以通过靶向调控下游基因的表达发挥不同的生物学作用,并且 BANCR 在不同的组织以及病理进程中的靶向调控作用可能不同。本研究结果初步揭示 BANCR 在 FHL124 细胞中可能作为交互因子关联 EMT 通路及 MAPKs 自噬通路发生 crosstalk,协同作用调节上皮细胞增殖、凋亡及自噬,抑制其上皮-间质转化等相关病理生理活动,可以借此为寻找治疗和干预 PCO 的新靶点提供思路。

综上所述,本研究初步探索了长链非编码 BANCR 对晶体上皮细胞的抑制作用,并进一步探究了其调控晶体上皮细胞增殖、凋亡及自噬,抑制其上皮-间质转化等相关分子机制。以期通过本研究从细胞微环境动态平衡和信息通路整合的角度加深对 PCO 发病机制的理解,为实现多防御系统联合的药物防治提供新靶点。

参考文献(References)

- [1] Tabin, Geoffrey, Chen, et al. Cataract surgery for the developing world[J]. Current Opinion in Ophthalmology, 2007, 19(1): 55-59
- [2] Wormstone I M, Wang L, Liu C S C. Posterior capsule opacification[J]. Experimental Eye Research, 2009, 88(2): 257-269
- [3] Mootha V V, Tesser R, Qualls C. Incidence of and risk factors for residual posterior capsule opacification after cataract surgery[J]. Journal of Cataract and Refractive Surgery, 2004, 30(11): 2354-2358
- [4] Chunmei Z, Jingjing L, Na J, et al. SiRNA Targeting mTOR Effectively Prevents the Proliferation and Migration of Human Lens Epithelial Cells[J]. Plos One, 2016, 11(12): e0167349
- [5] Bourne R, Dineen B, Jadoon Z, et al. Outcomes of cataract surgery in Pakistan: results from The Pakistan National Blindness and Visual Impairment Survey [J]. British Journal of Ophthalmology, 2007, 91(4): 420-426
- [6] Jordan J, Kociok N, Grisanti S, et al. Specific features of apoptosis in human lens epithelial cells induced by mitomycin C in vitro[J]. Graefes Archive for Clinical & Experimental Ophthalmology, 2001, 239(8): 613-618
- [7] Fernandez V, Frago M A, Billotte C, et al. Efficacy of various drugs in the prevention of posterior capsule opacification: Experimental study of rabbit eyes [J]. J Cataract Refract Surg, 2004, 30(12): 2598-2605
- [8] Duncan G, Wormstone I M, Liu C S C, et al. Thapsigargin-coated intraocular lenses inhibit human lens cell growth [J]. Nature Medicine, 1997, 3(9): 1026-1028
- [9] Hintze K J, Keck A S, Finley J W, et al. Induction of hepatic thioredoxin reductase activity by sulforaphane, both in Hepa1c1c7 cells and in male Fisher 344 rats[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2003, 14(3): 173-179
- [10] 刘含若,袁博伟,安莹,等.莱菔硫烷激发的细胞自噬潮对离体人晶状体囊上细胞增生的抑制作用 [J]. 中华实验眼科杂志, 2017, 35(03): 226-232
- [11] Liu H, Smith A J, Ball S S, et al. Sulforaphane promotes ER stress, autophagy, and cell death: implications for cataract surgery [J]. Journal of Molecular Medicine, 2017, 95(5): 553-564
- [12] Liu H, Smith AJ, Lott MC, et al. Sulforaphane can protect lens cells against oxidative stress: implications for cataract prevention[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(8): 5236-5248
- [13] Engreitz J M, Haines J E, Perez E M, et al. Local regulation of gene expression by lncRNA promoters, transcription and splicing [J]. Nature, 2016, 539(7629): 452-455
- [14] Huarte, Maite. A lncRNA links genomic variation with celiac disease [J]. Science, 2016, 352(6281): 43-44
- [15] Flockhart RJ, Webster DE, Qu K, et al. BRAFV600E remodels the melanocyte transcriptome and induces BANCR to regulate melanoma cell migration[J]. Genome Res, 2012, 22(6): 1006-1014
- [16] He A, Liu Y, Chen Z, et al. Over-expression of long noncoding RNA BANCR inhibits malignant phenotypes of human bladder cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2016, 35(1): 125
- [17] Zhou T, Gao Y. Increased expression of lncRNA BANCR and its prognostic significance in human hepatocellular carcinoma[J]. World J Surg Oncol, 2016, 14(1): 8
- [18] Wang D, Wang D, Wang N, et al. Long Non-Coding RNA BANCR Promotes Endometrial Cancer Cell Proliferation and Invasion by Regulating MMP2 and MMP1 via ERK/MAPK Signaling Pathway [J]. Cell Physiol Biochem, 2016, 40(3-4): 644-656
- [19] Garg P, Roy A, Sharma S. Endophthalmitis after cataract surgery: epidemiology, risk factors, and evidence on protection [J]. Curr Opin Ophthalmol, 2017, 28(1): 67-72
- [20] Sun C, Huang L, Li Z, et al. Long non-coding RNA MIAT in development and disease: a new player in an old game [J]. J Biomed Sci, 2018, 25(1): 23

- (2): 137-152
- [9] Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma [J]. *Nature*, 2014, 513(7517): 202-209
- [10] Qiu Wen-sheng, Zhou Fang, Zhang Qian, et al. Overexpression of nucleolin and different expression sites both related to the prognosis of gastric cancer[J]. *Apmis*, 2013, 121(10): 919-925
- [11] Cong Rong, Das S, Ugrinova I, et al. Interaction of nucleolin with ribosomal RNA genes and its role in RNA polymerase I transcription [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(19): 9441-9454
- [12] Roger B, Moisand A, Amalric F, et al. Nucleolin provides a link between RNA polymerase I transcription and pre-ribosome assembly[J]. *Chromosoma*, 2003, 111(6): 399-407
- [13] Bouvet P, Diaz JJ, Kindbeiter K, et al. Nucleolin interacts with several ribosomal proteins through its RGG domain[J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(30): 19025-19029
- [14] Uribe DJ, Guo Ke-xiao, Shin YJ, et al. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K and nucleolin as transcriptional activators of the vascular endothelial growth factor promoter through interaction with secondary DNA structures[J]. *Biochemistry*, 2011, 50(18): 3796-3806
- [15] Ishimaru D, Zuraw L, Ramalingam S, et al. Mechanism of regulation of bcl-2 mRNA by nucleolin and A+U-rich element-binding factor 1 (AUF1) [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(35): 27182-27191
- [16] Föhling M, Steege A, Perlewitz A, et al. Role of nucleolin in posttranscriptional control of MMP-9 expression [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1731(1): 32-40
- [17] Hsu TI, Lin SC, Lu PS, et al. MMP7-mediated cleavage of nucleolin at Asp255 induces MMP9 expression to promote tumor malignancy [J]. *Oncogene*, 2015, 34(7): 826-837
- [18] Grinstein E, Wernet P, Snijders PJ, et al. Nucleolin as activator of human papillomavirus type 18 oncogene transcription in cervical cancer [J]. *J Exp Med*, 2002, 196(8): 1067-1078
- [19] Pichiorri F, Palmieri D, De Luca L, et al. In vivo NCL targeting affects breast cancer aggressiveness through miRNA regulation [J]. *J Exp Med*, 2013, 210(5): 951-968
- [20] Kumar S, Gomez EC, Chalabi-Dchar M, et al. Integrated analysis of mRNA and miRNA expression in HeLa cells expressing low levels of Nucleolin[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9017
- [21] Gilles ME, Maione F, Cossutta M, et al. Nucleolin Targeting Impairs the Progression of Pancreatic Cancer and Promotes the Normalization of Tumor Vasculature[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(24): 7181-7193
- [22] Romano S, Fonseca N, Simões S, et al. Nucleolin-based targeting strategies for cancer therapy: from targeted drug delivery to cytotoxic ligands[J]. *Drug Discov Today*, 2019, 24(10): 1985-2001
- [23] Bates PJ, Reyes-Reyes EM, Malik MT, et al. G-quadruplex oligonucleotide AS1411 as a cancer-targeting agent: Uses and mechanisms [J]. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*, 2017, 1861(5 Pt B): 1414-1428
- [24] Yazdian-Robati R, Bayat P, Oroojalian F, et al. Therapeutic applications of AS1411 aptamer, an update review [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, S0141-8130(19): 37475-6
- [25] Gregório AC, Lacerda M, Figueiredo P, et al. Meeting the needs of breast cancer: A nucleolin's perspective [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2018, 125: 89-101
- [26] Romano S, Moura V, Simões S, et al. Anticancer activity and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity of novel anti-nucleolin antibodies[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 7450
- [27] Mosafer J, Mokhtarzadeh A. Cell Surface Nucleolin as a Promising Receptor for Effective AS1411 Aptamer-Mediated Targeted Drug Delivery into Cancer Cells[J]. *Curr Drug Deliv*, 2018, 15(9): 1323-1329
- [28] Noaparast Z, Hosseini-mehr SJ, Piramoon M, et al. Tumor targeting with a (99m)Tc-labeled AS1411 aptamer in prostate tumor cells[J]. *J Drug Target*, 2015, 23(6): 497-505
- [29] Watanabe T, Hirano K, Takahashi A, et al. Nucleolin on the cell surface as a new molecular target for gastric cancer treatment [J]. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(5): 796-803
- [30] Yang Yong-gang, Yang Chun-yan, Zhang Jian-ping. C23 protein mediates bone morphogenetic protein-2-mediated EMT via up-regulation of Erk1/2 and Akt in gastric cancer [J]. *Med. Oncol*, 2015, 32(3): 76

(上接第 3247 页)

- [21] Shen Y, Dong LF, Zhou RM, et al. Role of long non-coding RNA MIAT in proliferation, apoptosis and migration of lens epithelial cells: a clinical and in vitro study [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(3): 537-548
- [22] Yang R, Chen J, Wang L, et al. LncRNA BANCRCR participates in polycystic ovary syndrome by promoting cell apoptosis [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(3): 1581-1586
- [23] Yu X, Zheng H, Chan MT, et al. BANCRCR: a cancer-related long non-coding RNA [J]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7(9): 1779-1787
- [24] Ma S, Yang D, Liu Y, et al. LncRNA BANCRCR promotes tumorigenesis and enhances adriamycin resistance in colorectal cancer[J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(8): 2062-2078
- [25] Zou Y, Li J, Chen Y, et al. BANCRCR: a novel oncogenic long non-coding RNA in human cancers [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(55): 94997-95004
- [26] Wang Y, Gu J, Lin X, et al. LncRNA BANCRCR promotes EMT in PTC via the Raf/MEK/ERK signaling pathway [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(4): 5865-5870
- [27] Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues[J]. *Cell*, 2011, 147(4): 728-741
- [28] Brennan LA, Kantorow WL, Chauss D, et al. Spatial expression patterns of autophagy genes in the eye lens and induction of autophagy in lens cells[J]. *Mol Vis*, 2012, 18: 1773-1786
- [29] Morishita H, Mizushima N. Autophagy in the lens [J]. *Experimental Eye Research*, 2016, 144: 22-28
- [30] Cadwell, Ken. Crosstalk between autophagy and inflammatory signalling pathways: balancing defence and homeostasis [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2016, 16(11): 661-675
- [31] Saint RJ, D'Elia RV, Bryant C, et al. Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) are modulated during *Francisella tularensis* infection, but inhibition of extracellular-signal-regulated kinases (ERKs) is of limited therapeutic benefit [J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2016, 35(12): 2015-2024
- [32] Zhang GL, Guo YY, Zhang L, et al. The effect of edaravone on MAPKs signal pathway associated with Abeta (25-35) treatment in PC12 cells [J]. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2015, 46(2): 179-184, 190