

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.12.001

❖ 基础研究 ❖

miR-146a 通过靶向调控 Notch1 抑制晶状体上皮细胞间质转化作用

刘文兰, 王莉, 杨扬, 闫瑾, 朱丹, 李怡琛

(西安医学院医学技术学院, 陕西 西安 710021)

【摘要】目的: 探讨 miR-146a 如何通过靶向调控 Notch1 影响转化生长因子- β (TGF- β) 诱导的人晶状体上皮细胞 (LECs) 上皮-间充质转化 (EMT)。**方法:** TGF- β 处理人 LECs 细胞诱导 EMT 作为后囊混浊白内障模型, 采用 RT-qPCR、Western blot 和免疫荧光检测 miR-146a、EMT 相关标记物的 mRNA 和蛋白水平。**结果:** TGF- β 诱导的 LEC 细胞中, miR-146a 表达水平降低, 而 Notch1 的转录和蛋白表达水平增高 ($P < 0.05$)。TGF- β 诱导后 LEC 细胞发生 EMT。Western blot 和免疫荧光分析显示, 通过转染 miR-146a mimics 可抑制 TGF- β 诱导的 LECs 细胞 EMT。荧光素酶报告基因分析显示, Notch1 基因是 miR-146a 的直接靶点。**结论:** miR-146a 可通过靶向 Notch1 抑制 TGF- β 诱导的 LECs 细胞 EMT, miR-146a/Notch1 可能是一个潜在的白内障治疗靶点。

【关键词】 白内障; 晶状体上皮细胞; miR-146a; Notch1; 上皮-间充质转化

【中图分类号】 R776.1 **【文献标志码】** A

Effect of microRNA-146a regulation on epithelial-mesenchymal transition of lens epithelial cells by targeting Notch1

LIU Wen-lan, WANG Li, YANG Yang, YAN Jin, ZHU Dan, LI Yi-chen

(School of Medical Technology, Xi'an Medical College, Xi'an 710021, Shaanxi, China)

【Abstract】 Objective: To investigate the role of microRNA-146a (miR-146a) on transforming growth factor- β (TGF- β)-induced epithelial mesenchymal transition (EMT) of human lens epithelial cells (LECs) by targeting Notch1. **Methods:** Human LECs were treated with TGF- β to induce EMT as a model for posterior capsule opacification. The mRNA and protein levels of miR-146a and EMT related markers were detected by real-time quantitative qPCR, Western blot and immunofluorescence. **Results:** The expression level of miR-146a decreased, while the transcription and protein expression level of Notch1 increased in TGF- β induced LEC cells ($P < 0.05$). EMT occurred in LEC cells after induction of TGF- β . Western blot and immunofluorescence analysis showed that TGF- β -induced EMT of LECs cells was inhibited by transfection of miR-146a mimics. A dual-luciferase reporter assay showed that Notch1 gene was the direct target of miR-146a. **Conclusion:** miR-146a inhibit TGF- β -induced EMT of LECs cells by targeting Notch1- β . Therefore, miR-146a/Notch1 probably possess the therapeutic potential for cataract.

【Key words】 Cataract; Lens epithelial cells; MicroRNA-146a; Notch1; Epithelial-mesenchymal transformation

白内障指眼部晶状体混浊, 是世界上致盲的主要因素, 占所有致盲病例的 47.8%^[1-3]。囊外晶状体纤维摘除和人工晶状体植入等手术是治疗白内障的主要手段^[4-5]。然而, 白内障手术后可能导致继发性晶状体混浊, 也称为后囊膜混浊 (posterior capsule opacification, PCO), 是术后最常见的并发症^[6-8]。术后残留在前囊膜周边部和赤道部的晶状体上皮细胞 (lens epithelial cells, LECs) 增殖并迁移到后囊, 并且进行上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是 PCO 发展中的一个关键

过程^[9-10]。LECs 在 EMT 过程中失去上皮细胞的特征, 包括上皮细胞的标志物 E 钙粘蛋白 (E-cadherin) 的下调和间质标记物如 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA)、波形蛋白 (Vimentin) 水平上升, 从而获得间充质特性, 并合成细胞外基质^[11]。因此, 抑制 EMT 是治疗 PCO 的关键环节。目前, microRNAs 参与调节多种生理和病理过程已被学界普遍认同^[12]。此外, 最近的证据^[13]表明, 许多 miRNA 在晶状体发育和白内障发生中发挥着重要作用。据报道^[14-15], MicroRNA-146a (miR-146a) 是许多肿瘤包括胃癌、

基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划项目 (2021JM-500)

作者简介: 刘文兰 (1986-), 女, 硕士, 副教授。E-mail: lwltg1986@163.com

通讯作者: 王莉。E-mail: 63148645@qq.com

前列腺癌和乳腺癌的已知肿瘤抑制因子,并参与调节细胞增殖、迁移、凋亡和 EMT 等多种细胞生理和代谢机制。本研究拟探讨 miR-146a 在调节 LEC 细胞 EMT 中的关键作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器设备

HLE-B3 购自上海赛百慷公司; Dulbecco's 改良鹰培养基 (Dulbecco's modified eagle medium, DMEM) 培养基 (Gibco, USA)、miR-146a 的模拟物 (miR-146a mimics) 和阴性对照模拟物 (miR-NC) 均购自上海生工生物有限公司; 转化生长因子-β (transforming growth factor-β, TGF-β)、总核糖核酸 (ribonucleic acid, RNA) 提取试剂盒 (Tiangen, Beijing)、M-MLV 逆转录酶、SYBR Green qPCR Master Mix 试剂盒、实时定量聚合酶链式反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) 扩增产物由上海生工生物设计合成; 放射免疫沉淀分析 (radio immunoprecipitation assay, RIPA) 裂解缓冲液 (Beyotime, Beijing)、抗 Notch1 抗体 (Abcam 公司)、抗 α-平滑肌肌动蛋白抗体 (美国 CST 公司)、抗 E-钙粘蛋白抗体 (美国 CST 公司)、抗波形蛋白抗体 (美国 CST 公司)、抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 的抗体 (美国 Proteintech) HRP 标记二抗 (北京 Solarbio 公司)、DAPI 一抗 (美国 CST 公司)、pmirGLO 载体 (Promega, USA) 购自试剂代理公司。

1.2 细胞培养及细胞转染

人晶状体上皮细胞 HLE-B3 细胞株在 10% 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 的 DMEM 培养基, 37 °C 和 5% CO₂ 的 MCO-18AC 细胞培养箱中培养, 待汇合度达到 80% 左右进行实验。实验分为对照组 (Control 组)、TGF-β 处理组 (TGF-β 组)、TGF-β 处理 + miR-NC 转染组 (TGF-β + miR-NC 组) 和 TGF-β 处理 + miR146a mimics 转染组 (TGF-β + miR146a mimics 组)。miR-146a mimics 序列为 5'-CTT TGA GAA CTG AAT TCC ATG GGT TGT GTC AGT GTC AGA CC-3; miR-NC 序列为 5'-CAG CAG TTC TAT TAG ACT GTG TAT CTA AGC TTT GTT GTC CCT A-3。严格按照产品说明书进行规范操作, 以 Lipofectamine 2000 对 TGF-β + miR-NC 组和 TGF-β + miR146a mimics 组的两组 HLE-B3 细胞分别进行 miR-NC 和 miR-146a mimics 的转染, 转染 4 h 后, 根据分组需要将两组转染细胞和 TGF-β 组细胞与含有 10 ng/mL TGF-β 的 HLE-B3 细胞孵育 48 h。单独 TGF-β 诱导则以 10 ng/mL TGF-β 处理 HLE-B3

细胞 48 h, 收集细胞进行下一步的检测和分析。

1.3 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)

收集处理的培养细胞, 按照说明书操作步骤, 以总 RNA 提取试剂盒提取总 RNA, 以 M-MLV 逆转录酶将提取的 100 ng 总 RNA 逆转录为 cDNA 样本。cDNA 第一链的合成按照说明书进行, cDNA 扩增的 PCR 反应程序: 16 °C 30 min, 42 °C 30 min, 85 °C 5 min。采用 SYBR Green qPCR Master Mix 试剂盒进行 RT-qPCR, 扩增体系 20 μL。扩增条件: 95 °C 5 min, 40 个 PCR 循环 (95 °C 10 s; 55 °C 20 s; 72 °C 34 s)。相关基因的 mRNA 表达以 GAPDH 为内参基因, micro-RNA 以 U6 内参基因, 读取每个基因的 Ct 值, 以 2^{-ΔΔCt} 表示基因相对表达量。引物序列如表 1 所示。

表 1 Real-time PCR 引物序列

引物名称	引物序列	产物 (bp)
miR-146a	F: 5'-CAG TGC GTG TCG TGG AGT-3'	46
	R: 5'-GGG TGA GAA CTG AAT TCC A-3'	
α-SMA	F: 5'-CCT TCC TCC CAA TAC ATC TCC-3'	174
	R: 5'-GGT CGT TGT ACT GAA TGG TCC-3'	
Vimentin	F: 5'-AGA GAG GAA GCC GAA AAC ACC -3'	156
	R: 5'-GAT TCC ACT TTG CGT TCA AGG -3'	
E-cadherin	F: 5'-CCT TCC TCC CAA TAC ATC TCC-3'	80
	R: 5'-GGT CGT TGT ACT GAA TGG TCC-3'	
Notch1	F: 5'-GAT CCG AAC TGC ACG CAG TCT -3'	63
	R: 5'-TCT GTC TCT TGA ACA GAG ACT GCG -3'	
GAPDH	F: 5'- GAC CTG ACT GCC GTC TAG-3'	128
	R: 5'- AGG ATT GGT CGC TGT -3'	
U6	F: 5'- GCT TCG GCA GCA TAT ACT -3'	79
	R: 5'- GTG CAG GGC CGA GGT ATTC -3'	

1.4 Western blot

以含有蛋白酶抑制剂苯甲磺酰氟的 RIPA 裂解缓冲液对培养的 LECs 细胞进行细胞裂解物制备, 参照既往研究中 Western blot 的标准流程进行操作^[16], 根据 BCA 蛋白定量试剂盒定量, 然后在 SDS-PAGE 凝胶凝胶上进行电泳、分离, 再转入聚偏氟乙烯 [poly (1, 1-difluoroethylene), PVDF] 膜上转膜, 5% 脱脂奶溶液室温封闭 2 h, 添加一抗: 抗 Notch1 (1: 1 000)、抗 α-平滑肌肌动蛋白 (α-SMA, 1: 500)、E-钙粘蛋白 (E-cadherin, 1: 500)、波形蛋白 (1: 500)、抗 GAPDH (1: 500), 4 °C 孵育过夜, 次日 PVDF 膜恢复室温后用 TBST 洗膜 3 次, 每次 8 min, 分别加入二抗 HRP 标记二抗 (1: 3 000), 室温下孵育 1 h, 再次用 TBST 洗膜 3 次, 每次 8 min, 最后加电学发光 (electrochemiluminescence, ECL) 显影液显影。

GAPDH 作为内参,采用 Image J 软件分析结果。蛋白表达水平以与内参比值的平均灰度表示。

1.5 免疫荧光分析

处理培养后的 LECs 细胞在室温下依次以 4% 多聚甲醛固定 15 min,用 0.1% tritonX-100 通透处理 30 min,再以 1% 山羊血清封闭 15 min,与相应 DAPI 一抗 (1:200) 以及抗 α -SMA 抗体 (1:200) 4 °C 下孵育过夜,然后与相应的 Cy3 标记的二级抗体在 37 °C 下孵育 1 h。以 DAPI 进行核复染后,用抗荧光淬灭封片剂对细胞进行荧光淬灭,在 400 倍放大的荧光显微镜下观察细胞。

1.6 双荧光素酶报告基因分析

通过使用 TargetScan (<http://www.targetscan.org>) 和 miRDB (<http://www.mirdb.org>) 生物信息学数据库检索 miR-146a 靶向目的基因 Notch1 的结合位点。在 HEK 293 T 细胞中构建双荧光素酶基因报告分析。通过 PCR 扩增 Notch1 的野生型 (WT) 3'-UTR 序列,并将其克隆到 pmirGLO 载体中,采用点突变法扩增 Notch1 突变株 (MUT) 3'-UTR 序列 (突变位点位于 3'-UTR 序列 242-263 region),并克隆到 pmirGLO 载体中。使用 Lipofectamine 2000 试剂将 pmirGLO-Notch1-3'-UTR-WT 或 pmirGLO-Notch1-3'-UTR-MUT 与 miR-146a mimics 或 miR-NC 共转染到 293 T 细胞中。转染 48 h 后,按照试剂盒说明书操作流程,通过双荧光素酶报告试剂盒测量相对荧光素酶活性。

1.7 统计学分析

采用 GraphPad Prism 6.0 软件进行统计分析。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较行 *t* 检验或单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TGF- β 诱导的 LECs 细胞中 miR-146a 和 Notch1 表达变化

与正常对照组 LECs 细胞相比,TGF- β 诱导 LECs 细胞后 miR-146a 表达水平降低,而 Notch1 的转录和蛋白表达水平增高,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1。

2.2 microRNA-146a 可抑制 TGF- β 诱导的 LECs 细胞 EMT

Western blot 检测结果表明,TGF- β 处理 LECs 细胞后,促进 LECs 细胞的间质标志物 α -SMA、Vimentin 表达上升,而上皮标志物 E-cadherin 表达下降 ($P < 0.05$);而转染 miR-146a mimics 后可抑制 TGF- β 诱导的 α -SMA、Vimentin 蛋白表达上升,并提升 E-cadherin 的表达水平 ($P < 0.05$)。见图 2。免疫荧

光法发现,TGF- β 诱导 α -SMA 在 LECs 细胞中的免疫反应性显著增加,转染 miR-146a mimics 后可显著逆转 TGF- β 诱导的 EMT 反应变化。见图 3。TGF- β 可诱导 LECs 细胞的 EMT,而 miR-146a 抑制了 TGF- β 诱导的 LECs 细胞 EMT。

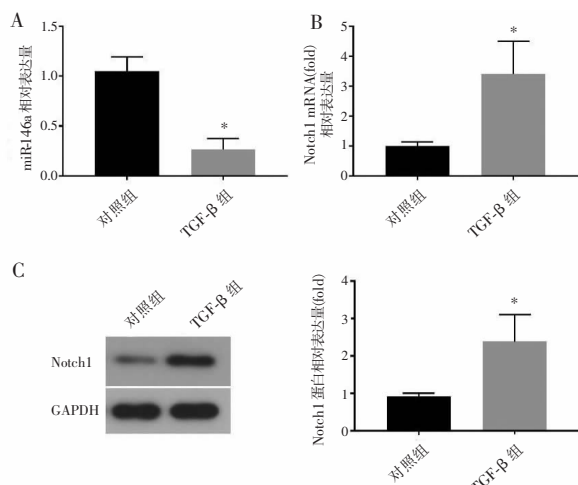


图 1 MicroRNA-146a 和 Notch1 在 TGF- β 诱导的 LECs 细胞中表达水平

A. LECs 细胞 miR-146a 表达水平;B. LECs 细胞 Notch1 mRNA 转录水平;C. LECs 细胞 Notch1 蛋白表达水平。 $*P < 0.05$,与对照组比较。

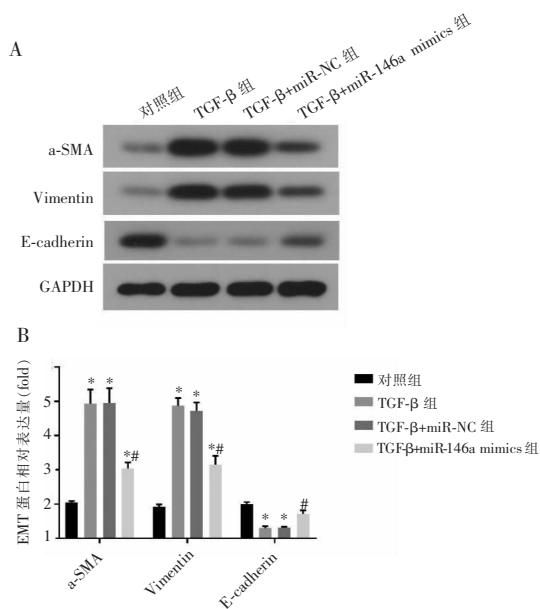


图 2 MicroRNA146a 对 EMT 相关蛋白 α SMA、Vimentin 和 E-cadherin 的表达水平影响

A. 各组 LECs 细胞 EMT 相关蛋白的表达水平;B. 各组 LECs 细胞 EMT 相关蛋白的相对表达量。 $*P < 0.05$,与对照组比较;# $P < 0.05$,与 TGF- β 组比较。

2.3 miR-146a 通过靶向调控 Notch1 的表达

通过利用 TargetScan Human 7.2 (<http://www.targetscan.org>) 生物信息学数据库进行检索发现,Notch1 mRNA 的 3'-UTR 序列 242-263 预测是 miR-146a 的结合序列,提示 Notch1 可能是 miR-146a 的

靶基因之一。采用双荧光素酶报告基因进行靶向分析,结果显示:当 pmirGLO-Notch1-3' UTR-WT 和 miR-146a 模拟物共转染时,相对荧光素酶活性显著降低 ($P < 0.05$)。此外, pmirGLO-Notch1-3' UTR-MUT 和 miR-146a 模拟物共转染不抑制荧光素酶的相对活性,确认 miR-146a 直接靶向 Notch1 mRNA 的 3'UTR。见图 4。

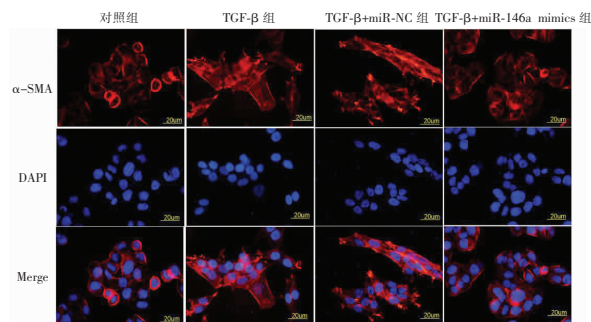


图 3 免疫荧光法检测 LECs 细胞中 α SMA 的表达水平 ($\times 400$)

4 组分别进行 α -SMA 和 DAPI 染色。 α -SMA: α -SMA 蛋白免疫染色; DAPI: 细胞核免疫染色; Merge: α -SMA 蛋白和核免疫染色合成图结果。

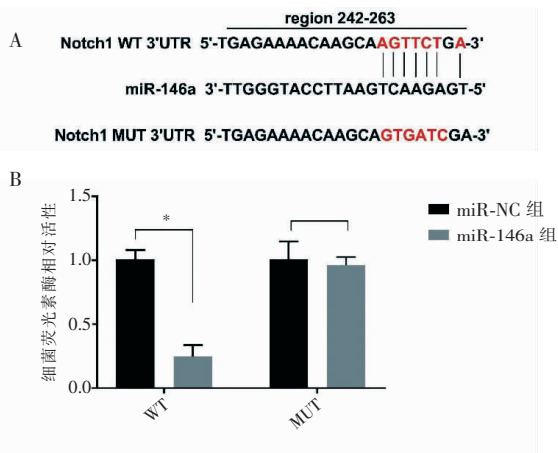


图 4 miR-146a 对 Notch1 转录 mRNA 的 3'-UTR 的抑制作用

WT: Notch1 转录 mRNA 序列野生型; MUT: Notch1 转录 mRNA 序列突变型。A. Targetscan 软件预测 miR-146a 靶向 Notch1 mRNA 的 3'-UTR; B. 在 HEK 293 T 细胞中进行双荧光素酶报告分析,检测转染 miR-146a mimics 或 miR-NC 的 Notch1 野生型 (WT) 或突变型。* $P < 0.05$, 与 miR-NC 组比较。

3 讨论

本研究利用 TGF- β 诱导 LECs 细胞建立 PCO 细胞模型,证明 TGF- β 诱导后 LECs 细胞发生 EMT。早有研究^[17]报道, TGF- β 、表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF)、肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 等多种细胞因子可触发 EMT。且 TGF- β 被发现在白内障术后的房水中显著升高,

活化后的 TGF- β 对术后残留 LECs 的增生、迁移和转分化等细胞过程中起着关键性作用,是 LECs 在各种生理、病理过程中最重要的调节因子之一^[18]。Zavadil 等^[19]报道, TGF- β 呈剂量和时间依赖性诱导 LECs 细胞通过 TGF- β /Smad 信号通路的激活,促使 LECs 细胞的 EMT 发生。而本研究显示 LECs 细胞经 TGF- β 诱导后胞浆中的间质标记物 α -SMA 显著表达上升,利用 Western blot 进一步分析细胞蛋白表达水平,结果发现 TGF- β 诱导后 LECs 细胞中不仅间质标记物 α -SMA、Vimentin 表达上升,且上皮标志物 E-cadherin 显著下降,表明 LECs 细胞表现出失去细胞极性而向间质纤维化转变,获得间质特征。综合既往研究结果,提示 TGF- β 在 LECs 细胞 EMT 中发挥关键作用,从而参与 PCO 的发生。

miR-146a 通常被认为涉及调控肿瘤细胞的分化、增殖、迁移和凋亡等多种生理过程^[20]。但也有越来越多的证据^[21]表明, miR-146a 参与包括白内障在内的各种眼部疾病发病和进展机制。有研究^[22]显示, miR-146a 与血管性眼科疾病有关,在湿性年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, AMD) 患者的视网膜内皮细胞中 miR-146a 显著上调,并通过参与调节补体因子 H (complement factor H, CFH) 介导的炎症影响发挥作用^[23]。而 Poe 等^[24]通过整合转录组和蛋白质组分析揭示了 miR-146a 通过 Notch 信号在人角膜缘上皮中介导伤口愈合、炎症、干细胞维持和分化等调节作用。而本研究首次发现, miR-146a 在 TGF- β 诱导的 LECs 细胞中表达下降,而转染 miR-146a mimic 能明显抑制 TGF- β 诱导的 LECs 细胞中 EMT 相关蛋白的表达,提示 miR-146a 可能参与白内障术后 PCO 的发生过程,并且 miR-146a 通过抑制 TGF- β 诱导的 LECs-EMT 来发挥关键作用。

此外,本研究通过双荧光素酶报告基因实验发现, Notch1 是 miR-146a 的靶基因之一。Notch1 属于 Notch 蛋白家族, Notch1 蛋白激活可通过介导多种 EMT 相关基因的表达从而诱导 EMT 的发生^[25]。抑制 Notch1 激活可减弱 TGF- β 诱导的 EMT, 表现为 E-cadherin 表达减少,而 α -SMA、snail 等表达增加^[26]。Notch 信号在 PCO 发病机制中也起着重要作用。Han 等^[27]表明, miR-34a 通过靶向 Notch1 能抑制 LECs 细胞的 EMT 发生,并且利用 Notch1 的小分子抑制剂 DAPT 也可以有效抑制 TGF β 诱导后 LECs 细胞中 α -SMA、Vimentin、纤连蛋白 (fibronectin, FN) 的表达上升,从而减轻 LECs 细胞中 TGF β 诱导的 EMT。而本研究发现,当利用 TGF β 刺激 LECs 细胞后,不但 miR-146a 表达水平下降,且

Notch1 的转录和表达水平明显上升,提示 miR-146a 和 Notch1 可能参与 TGF- β 诱导的 LECs-EMT。结合 miR-146a 可以通过靶向调控 Notch1,推测 miR-146a 抑制 TGF- β 诱导的 LECs-EMT 发生,可能是通过靶向调节 Notch1 的表达水平来实现。

综上所述,miR-146a 通过靶向调节 Notch1 的表达,抑制 Notch1 信号通路的激活,从而阻断 TGF- β 诱导的 LECs-EMT,为临床预防和治疗白内障术后 PCO 发生提供了一个新的理论策略途径。

参考文献

[1] Furtado JM, Berezovsky A, Ferraz NN, *et al.* Prevalence and causes of visual impairment and blindness in adults aged 45 years and older from Parintins; the Brazilian Amazon region eye survey [J]. *Ophthalmic Epidemiology*, 2019, 26(5): 345 - 354.

[2] Shanti Y, Taha I, Busttami A, *et al.* Prevalence and associated factors of cataract among diabetic patients in west bank, palestine: A cross sectional study [J]. *Acta Scientifica Ophthalmology*, 2021, 4(3): 72 - 86.

[3] Lee CM, Afshari NA. The global state of cataract blindness [J]. *Current Opinion in Ophthalmology*, 2017, 28(1): 98 - 103.

[4] Pershing S, Lum F, Hsu S, *et al.* Endophthalmitis after cataract surgery in the United States: a report from the intelligent research in sight registry, 2013 - 2017 [J]. *Ophthalmology*, 2020, 127(2): 151 - 158.

[5] Gupta PK, Drinkwater OJ, VanDusen KW, *et al.* Prevalence of ocular surface dysfunction in patients presenting for cataract surgery evaluation [J]. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 2018, 44(9): 1090 - 1096.

[6] Zhao Y, Yang K, Li J, *et al.* Comparison of hydrophobic and hydrophilic intraocular lens in preventing posterior capsule opacification after cataract surgery: An updated meta-analysis [J]. *Medicine*, 2017, 96(44): e8301.

[7] Sen P, Kshetrapal M, Shah C, *et al.* Posterior capsule opacification rate after phacoemulsification in pediatric cataract: Hydrophilic versus hydrophobic intraocular lenses [J]. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 2019, 45(10): 1380 - 1385.

[8] 吴爽, 吴红, 潘麟, 等. 白内障术后囊膜混浊危险因素的逻辑回归分析 [J]. *中国实用眼科杂志*, 2018, 36(1): 50 - 54.

[9] Wormstone IM. The human capsular bag model of posterior capsule opacification [J]. *Eye*, 2020, 34(2): 225 - 231.

[10] Lin L, Lin Q, Li J, *et al.* ROCK inhibitor modified intraocular lens as an approach for inhibiting the proliferation and migration of lens epithelial cells and posterior capsule opacification [J]. *Biomaterials Science*, 2019, 7(10): 4208 - 4217.

[11] Wei Z, Caty J, Whitson J, *et al.* Reduced glutathione level promotes epithelial-mesenchymal transition in lens epithelial cells via a WNT/ β -catenin-mediated pathway: relevance for cataract therapy [J]. *The American Journal of Pathology*, 2017, 187(11): 2399 - 2412.

[12] Saliminejad K, Khorram KHR, Soleymani FS, *et al.* An overview of microRNAs: biology, functions, therapeutics, and analysis methods [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(5): 5451 - 5465.

[13] Yu X, Zheng H, Chan MT, *et al.* MicroRNAs: new players in cataract [J]. *American Journal of Translational Research*, 2017, 9(9): 3896.

[14] Li L, Chen XP, Li YJ. MicroRNA-146a and human disease [J]. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2010, 71(4): 227 - 231.

[15] Sathyanarayanan A, Chandrasekaran KS, Karunakaran D. MicroRNA-146a inhibits proliferation, migration and invasion of human cervical and colorectal cancer cells [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2016, 480(4): 528 - 533.

[16] Li LK, Wang N, Wang WD, *et al.* Blocking posttranslational core fucosylation ameliorates rat peritoneal mesothelial cell epithelial-mesenchymal transition [J]. *Chinese Medical Journal*, 2017, 130(18): 2147 - 2155.

[17] Das V, Bhattacharya S, Chikkaputtaiah C, *et al.* The basics of epithelial-mesenchymal transition (EMT): A study from a structure, dynamics, and functional perspective [J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2019, 234(9): 14535 - 14555.

[18] Taiyab A, Korol A, Deschamps PA, *et al.* β -catenin/CBP - dependent signaling regulates TGF- β -induced epithelial to mesenchymal transition of lens epithelial cells [J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2016, 57(13): 5736 - 5747.

[19] Zavadij J, Böttinger EP. TGF- β and epithelial-to-mesenchymal transitions [J]. *Oncogene*, 2005, 24(37): 5764 - 5774.

[20] 谢聪, 任广立, 许蔓春, 等. miR-146a 在 HepG2. 2. 15 细胞中对 c-Myc 基因表达影响的研究 [J]. *重庆医学*, 2017, 46(17): 32 - 35.

[21] Raghunath A, Perumal E. Micro-RNAs and their roles in eye disorders [J]. *Ophthalmic Research*, 2015, 53(4): 169 - 186.

[22] Liu CH, Huang S, Britton WR, *et al.* MicroRNAs in vascular eye diseases [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(2): 649.

[23] Lukiw WJ, Surjadipta B, Dua P, *et al.* Common micro RNAs (miRNAs) target complement factor H (CFH) regulation in Alzheimer's disease (AD) and in age-related macular degeneration (AMD) [J]. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2012, 3(1): 105.

[24] Poe AJ, Kulkarni M, Leszczynska A, *et al.* Integrated transcriptome and proteome analyses reveal the regulatory role of miR-146a in human limbal epithelium via Notch signaling [J]. *Cells*, 2020, 9(10): 2175.

[25] Natsuzaka M, Whelan KA, Kagawa S, *et al.* Interplay between Notch1 and Notch3 promotes EMT and tumor initiation in squamous cell carcinoma [J]. *Nature Communications*, 2017, 8(1): 1 - 16.

[26] Zhang J, Zheng G, Zhou L, *et al.* Notch signalling induces epithelial-mesenchymal transition to promote metastasis in oral squamous cell carcinoma [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2018, 42(4): 2276 - 2284.

[27] Han R, Hao P, Wang L, *et al.* MicroRNA-34a inhibits epithelial-mesenchymal transition of lens epithelial cells by targeting Notch1 [J]. *Experimental Eye Research*, 2019, 185(4): 107684.

(收稿日期: 2021 - 03 - 19

修回日期: 2021 - 04 - 22)