

Wnt3a 诱导人晶状体上皮细胞细胞外基质合成和胶原凝胶收缩的机制研究

包秀丽 刘婷婷 王艳艳 李琳

010050 内蒙古医科大学附属医院眼科

通信作者:包秀丽,Email:ophbaxili@hotmail.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.07.005

【摘要】 背景 晶状体上皮细胞(LECs)的细胞外基质(ECM)的产生、异常沉积和收缩是 PCO 发生的重要病理机制。Wnt3a 蛋白参与机体组织上皮细胞 ECM 的产生和纤维化过程,但 Wnt3a 对晶状体组织中上皮间质转化(EMT)相伴行的 ECM 的产生和收缩的影响尚不清楚。目的 研究 Wnt3a 对体外培养的人 LECs ECM 合成的影响,并探讨其介导胶原凝胶收缩的相关分子机制。方法 用脂质体介导转染技术将 Wnt3a cDNA 表达载体瞬时转染人 LECs 系 SRA01/04 细胞作为 Wnt3a 转染组,对照组转染 pcDNA3-HA 表达载体。细胞转染后 48 h,采用 Western blot 法测定各组细胞中 Wnt3a、ECM 主要成分 I 型胶原纤维(Col-I),IV 型胶原纤维(Col-IV)和整合素 $\beta 1$ (integrin $\beta 1$) 的表达;采用免疫荧光法检测 α -SMA、细胞纤维状肌动蛋白(F-actin)在胞中的表达和分布。将 SRA01/04 细胞与 I 型胶原凝胶混合,观察胶原收缩情况。结果 Wnt3a 转染 48 h,SRA01/04 细胞内 Wnt3a 蛋白相对表达量(相对灰度值)明显升高,对照组细胞和 Wnt3a 转染组细胞中 Wnt3a 蛋白表达量分别为 0.290 ± 0.066 和 0.703 ± 0.105 ,差异有统计学意义($t = 5.782, P < 0.01$)。Western blot 法检测显示,Wnt3a 转染组 SRA01/04 细胞中的 Col-I 和 integrin $\beta 1$ 蛋白的相对表达量分别为 0.697 ± 0.021 和 0.875 ± 0.055 ,明显高于对照组的 0.370 ± 0.020 和 0.580 ± 0.030 ,差异均有统计学意义($t = 19.600, 8.156$,均 $P < 0.01$),Wnt3a 转染组 Col-IV 蛋白相对表达量为 0.430 ± 0.020 ,高于对照组的 0.383 ± 0.031 ,但差异无统计学意义($t = 2.514, P > 0.05$)。免疫荧光检测显示,对照组细胞中 F-actin 和 α -SMA 蛋白主要表达于细胞膜,而 Wnt3a 转染组细胞中 F-actin 和 α -SMA 蛋白表达于细胞膜、细胞质和细胞核周围,阳性染色程度较对照组明显增强。Col-I 凝胶收缩试验结果显示,细胞与 Col-I 胶原凝胶混合后 24 h 凝胶收缩面积比率明显低于混合后 8 h ($64.1\% \pm 2.3\%$ 与 $98.9\% \pm 1.0\%$),Wnt3a 转染组凝胶收缩面积比率明显低于对照组 ($64.1\% \pm 2.3\%$ 与 $93.9\% \pm 3.1\%$),差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。结论 Wnt3a 过表达可诱导 SRA01/04 细胞 ECM 合成和细胞骨架重建,促进细胞收缩。

【关键词】 上皮间质转化; 晶状体上皮细胞; 晶状体囊/细胞学; 细胞外基质; 后囊膜混浊; Wnt 信号通路; 转染

基金项目:国家自然科学基金项目(81360145)

Wnt3a-induced extracellular matrix production and gel contraction in human lens epithelial cells Bao Xiuli, Liu Tingting, Wang Yanyan, Li Lin

Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Huhhot 010050, China

Corresponding author: Bao Xiuli, Email: ophbaxili@hotmail.com

【Abstract】 **Background** Excessive production, deposition and contraction of extracellular matrix (ECM) of human lens endothelial cells (LECs) is one of main causes to posterior capsular opacification (PCO). Researches indicated that Wnt3a protein was involved in production of ECM and fibrosis in epithelial cells, but its effect on LECs is still unclear. **Objective** This study aimed to elucidate the roles of Wnt3a in production of ECM and gel contraction of LECs. **Methods** Lipofectamine-mediated transient transfection technique was used to introduce cDNA of Wnt3a gene and pcDNA3-HA vector into the LEC cell line SRA01/04 to act as Wnt3a transfection group and control group respectively. After 48 h of transfection, Western blot was used to detect the expression of Wnt3a, main components of ECM Col-I, Col-IV and integrin $\beta 1$. Immunofluorescence was used to detect the expression and distribution of α -SMA and F-actin; collagen contraction was observed by mingling SRA01/04 cells with Col-I.

Results After 48 hours of transfection using lipofectamine 2000, the expressions of wnt3a protein in SRA01/04 cells

was 0.703 ± 0.105 in the wnt3a transfected group, and that in the control group was 0.290 ± 0.066, showing a significant difference between the two groups ($t = 5.782, P < 0.01$). Western blot assay showed that the expression levels of Col- I and Integrin $\beta 1$ was 0.697 ± 0.021 and 0.875 ± 0.055 in the Wnt3a transfected group, and which was significantly higher than 0.370 ± 0.020 and 0.580 ± 0.030 in the control group ($t = 19.600, 8.156, both P < 0.01$). The expression level of Col IV in the Wnt3a transfected group was higher than that of the control group (0.430 ± 0.020 vs 0.383 ± 0.031), but the difference was not significant ($t = 2.514, P > 0.05$). Immunofluorescence assay revealed that F-actin and α -SMA were weakly expressed in the cell membrane primarily in the control group, while they were strongly expressed in the cell membrane, cytoplasm in the Wnt3a transfected group. Twenty-four hours after addition of Col- I, the gel contraction area ratio appeared to be more obvious in comparison with the 8 hours (64.1% ± 2.3% vs 98.9% ± 1.0%), and gel contraction area ratio was lower in the Wnt3a transfected group than that in the control group (64.1% ± 2.3% vs 93.9% ± 3.1%). **Conclusions** The overexpression of Wnt3a activates the production of ECM, and the remodeling of cellular skeleton and cellular contraction.

[Key words] Epithelial-mesenchymal transition; Epithelial cells, lens; Lens capsule, crystalline/ cataract; Extracellular matrix; Posterior capsular opacification; Wnt signaling pathway; Transfection

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81360145)

后囊膜混浊 (posterior capsular opacification, PCO) 是白内障囊外摘除术后最常见的并发症,其发生与晶状体囊膜的纤维化和囊袋内基质的积聚和收缩有关。其中细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的异常沉积是 PCO 发生的重要病理机制。Wnts 蛋白参与肺及子宫内膜组织上皮细胞 ECM 的产生和纤维化过程^[1-2]。我们先前的研究也发现 Wnt3a 介导的 Wnt/ β -catenin 信号通路诱导 LECs 发生上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT)^[3], 但 Wnt3a 对晶状体组织中 EMT 相伴行的 ECM 的产生和收缩的影响尚不清楚。本研究中通过瞬时转染 Wnt3a 过表达载体使人 LECs SRA01/04 过表达 Wnt3a, 检测 Wnt3a 对 ECM 蛋白的表达和细胞骨架蛋白在细胞中的表达和分布及其对 ECM 收缩的影响, 明确 Wnt3a 促进 LECs 分泌 ECM 及细胞骨架重构的作用并探讨相关分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

人 LECs 系 SRA01/04 细胞株 (中国医学科学院肿瘤医院细胞库)。人 Wnt3a 序列 PCR 扩增引物 (NM-033131, 上海生工生物工程公司); DMEM 培养液、胎牛血清 (bovine serum albumin, BSA) (美国 Gibco 公司); 脂质体转染试剂 Lipofectamine 2000、I 型鼠尾胶原 (美国 Invitrogen 公司); SDS 细胞裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒 (美国 Pierce 公司); 小鼠抗人 Wnt3a 单克隆抗体 (ab81614, 1 : 1 000)、小鼠抗人整合素 $\beta 1$ (integrin $\beta 1$) 单克隆抗体 (ab52971, 1 : 1 000)、小鼠抗人细胞纤维状肌动蛋白 (F-actin) 单克隆抗体 (ab11005, 1 : 1 000) (英国 Abcam 公司); 小鼠抗人 I 型胶原纤维 (collagen type I, Col- I) 单克隆抗体

(sc-166865, 1 : 1 000)、小鼠抗人 Col-IV 单克隆抗体 (sc-29010, 1 : 1 000)、羊抗小鼠二抗 (Alexa 594) (sc-45101, 1 : 5 000)、小鼠抗人 β -actin (sc-81178, 1 : 5 000) (美国 Santa cruz 公司); 小鼠抗人 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle action, α -SMA) 单克隆抗体 (F-3777, 1 : 1 000) (美国 Sigma 公司); 化学发光 ECL (美国 Millipore 公司)。激光扫描共焦显微镜 (德国 Leica 公司)。

1.2 方法

1.2.1 Wnt3a 过表达载体构建 根据 GenBank 数据库提供的人 Wnt3a (NM-033131) 序列设计合成带有 Xho I /EcoR I 酶切位点的 Wnt-3a 的 PCR 扩增引物, 探针序列为: 正义引物 5' -AAAATCTAGAACAACACC AATGAAA-3', 反义引物 5' -GGGGAATTCCAAGAAT GTAAATGTCAT-3', 扩增产物的片段为 1 076 bp。扩增产物与 pcDNA3-HA 载体同时进行 EcoR I 和 Xho I 的双酶切, 回收酶切产物, 经 T₄ DNA 连接酶进行连接反应, 连接产物常规转化感受态细菌, 取阳性克隆, 碱裂解法提取表达载体, 经 EcoR I 和 Xho I 的双酶切鉴定及 DNA 测序鉴定, 得到 Wnt3a cDNA 表达载体。

1.2.2 细胞培养及转染 将 SRA01/04 细胞株放入含体积分数 10% BSA 的 DMEM 中, 置于 37 °C, 体积分数 5% CO₂ 的培养箱中培养。转染前 1 d 将对数生长期的细胞以 4 × 10⁵ /孔的密度接种于 6 孔板内, 加入不含抗生素的 DMEM (含 15% BSA) 2 ml 进行培养。将 4 μ g 质粒和 10 μ l 脂质体转染试剂 Lipofectamine 2000 分别用 250 μ l DMEM 稀释, 轻柔混匀, 室温下孵育 5 min, 两者混合孵育 20 min 后缓慢加入 6 孔板的培养液中。将 pcDNA3-HA 质粒转染作为对照组。

1.2.3 Western blot 法检测细胞中 Col I、Col IV 和

integrin $\beta 1$ 蛋白的表达 转染后 48 h, 分别在对照组及 Wnt3a 转染组 SRA01/04 细胞培养液中加入 SDS 细胞裂解液, 获取细胞蛋白, 采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白质浓度后, 取 35 ~ 50 μg 样品行 SDS-PAGE 电泳, 然后应用电转仪将样品转移至聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜, 用质量分数 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 分别加入相应一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 洗膜后加入相应二抗室温孵育 1 h, 洗膜后化学发光 ECL 法显影, 暗室曝光。以 β -actin 作为内参。实验重复 3 次, 蛋白表达相对强度以各组条带灰度值与 β -actin 条带灰度值的比值表示。

1.2.4 免疫荧光染色法检测细胞中 α -SMA、F-actin 表达 转染后 48 h, 分别将对照组及 Wnt3a 转染组 SRA01/04 细胞以 $1 \times 10^4/\text{ml}$ 的密度接种于含玻片的 24 孔培养板中, 置于培养箱中培养 1 ~ 2 d; 取出细胞爬片, 用预热的 pH 7.4 PBS 洗 2 遍; 用质量分数 4% 多聚甲醛室温下固定细胞 10 min, PBS 洗 3 遍; 0.1% Triton X-100 作用 5 min, PBS 洗 2 遍; 1% BSA (PBS 配制) 孵育 30 min; 于细胞玻璃片上分别滴加 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 小鼠抗人 α -SMA 单克隆抗体或鬼笔环肽 (Phalloidin) 室温避光染色 20 min; PBS 快速洗 3 遍, 加入羊抗小鼠荧光 (Alexa 594) 二抗避光孵育 1 h, PBS 洗 3 遍, DAPI 复染 10 min; PBS 洗 3 遍, 封片。激光扫描共焦显微镜下观察。

1.2.5 Col-I 凝胶收缩试验 1% BSA 覆盖 24 孔板, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵化 1 h, 避免凝胶与培养皿接触。将 I 型鼠尾胶原配制成质量浓度为 2 mg/ml 的中和胶原混合液, 胰蛋白酶消化后用无血清 DMEM/F12 培养液重悬细胞并计数, 分别将对照组和 Wnt3a 转染组细胞以 $2.5 \times 10^5/\text{ml}$ 的质量浓度接种于 Col-I 溶液中, 混悬后加入 24 孔板, 每孔 0.5 ml, 胶原液于 37 $^{\circ}\text{C}$ 下静置 60 min, 将培养皿置入温箱中。分别于 0、4、6、12 和 24 h 摄像监测胶原凝胶收缩, 应用 Image Pro Plus 6.0 软件分析胶原凝胶面积, 计算各时间点凝胶面积与初始凝胶面积的比值。每组设 3 个孔, 实验重复 3 次。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学 (4106532834, 美国 Chicago 公司) 软件进行统计分析。本研究中测量指标的数据资料经 W 检验接近正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间经 Levene 检验证实方差齐。采用均衡分组两水平实验设计, 对照组与 Wnt3a 转染组间细胞中 Wnt3a 蛋白、integrin $\beta 1$ 、Col-I 和 Col-IV 的相对表达量差异比较均采用独立样本 *t* 检验。对照组与 Wnt3a 转染组在不同 Col I 培养时间胶原收缩率的比较采用区组设计两因素方差分析, 多重比较采用 LSD-*t* 检验。采用双尾

检测法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 转染后 SRA01/04 细胞中 Wnt3a 过表达

Western blot 法检测发现, Wnt3a 转染组 SRA01/04 细胞转染 Wnt3a 后细胞中 Wnt3a 蛋白相对表达量为 0.703 ± 0.105 , 对照组为 0.290 ± 0.066 , 2 个组间差异有统计学意义 ($t = -5.782, P = 0.004$) (图 1)。

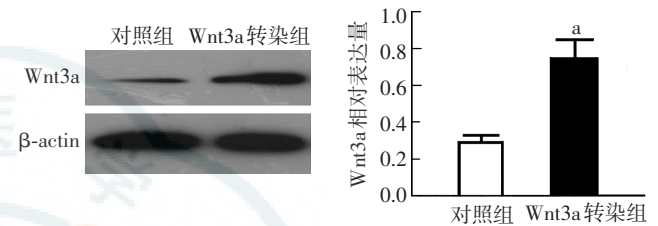


图 1 Western blot 法检测 SRA01/04 细胞中 Wnt3a 蛋白的表达 与对照组比较, $^a P < 0.01$ (独立样本 *t* 检验, $n = 3$)

2.2 各组 SRA01/04 细胞中 Col-I 和 integrin $\beta 1$ 蛋白表达

Western blot 法检测发现 Wnt3a 转染组细胞转染后 48 h SRA01/04 细胞中 Col-I 蛋白相对表达量为 0.697 ± 0.021 , 高于对照组的 0.370 ± 0.020 , 差异有统计学意义 ($t = -19.600, P = 0.000$); SRA01/04 细胞中 integrin $\beta 1$ 蛋白的相对表达量为 0.875 ± 0.055 , 明显高于对照组的 0.580 ± 0.030 , 差异有统计学意义 ($t = -8.156, P = 0.001$)。SRA01/04 细胞中 Col-IV 蛋白的相对表达量为 0.430 ± 0.020 , 高于对照组的 0.383 ± 0.031 , 但差异无统计学意义 ($t = -2.514, P = 0.066$) (图 2)。

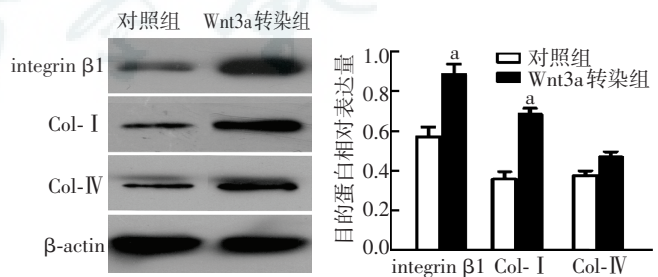


图 2 Western blot 法检测 SRA01/04 细胞中 integrin $\beta 1$ 、Col-I 和 Col-IV 的相对表达量 与各自的对照组比较, $^a P < 0.05$ (独立样本 *t* 检验, $n = 3$) integrin $\beta 1$: 整合素 $\beta 1$; Col-I: I 型胶原纤维; Col-IV: IV 型胶原纤维; β -actin: β -肌动蛋白

2.3 Wnt3a 过表达促进细胞骨架蛋白重建

转染 Wnt3a 后 48 h 细胞形态由典型的多边铺路石样变为纤维细胞样, 并有多个突起。与对照组细胞

相比较, Wnt3a 转染组细胞中 F-actin 和 α -SMA 表达增多, F-actin 呈绿色荧光, 而 α -SMA 呈红色荧光。对照组细胞中 F-actin 和 α -SMA 主要分布于细胞膜, 少量在细胞核周边部, 在细胞质中形成规则的条带状。Wnt3a 转染组细胞中 F-actin 和 α -SMA 的表达在细胞核周边及细胞质, 在细胞质形成束状纤维状结构, 少部分在细胞核结成斑块状, 显示细胞骨架重建(图 3, 4)。

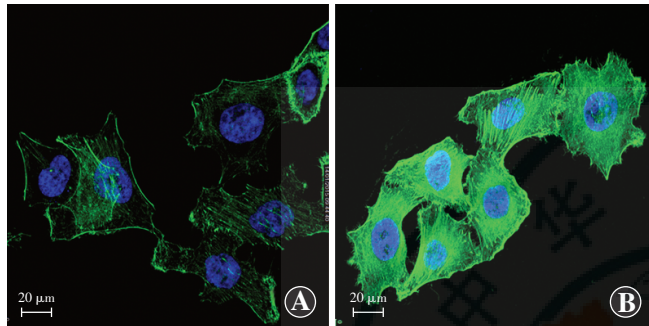


图 3 2 个组细胞细胞骨架的 F-actin 免疫荧光染色 (FITC 标尺 = 20 μ m, $\times 400$) A: 对照组 SRA01/04 细胞中可见 F-actin 表达, 呈绿色荧光, 细胞膜表达较强 B: Wnt3a 转染组 SRA01/04 细胞中 F-actin 表达明显强于对照组, 细胞膜及细胞质均可见强荧光

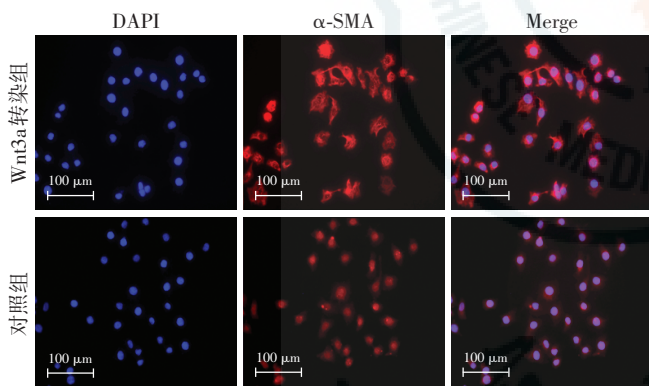


图 4 2 个组细胞细胞骨架的 α -SMA 免疫荧光染色 (Alexa 594 标尺 = 100 μ m, $\times 100$) Wnt3a 转染组 SRA01/04 细胞中 α -SMA 表达强, 呈红色荧光, 位于细胞膜和细胞质, 对照组 SRA01/04 细胞中 α -SMA 表达弱于 Wnt3a 转染组 α -SMA: α -平滑肌肌动蛋白

2.4 各组细胞中 Col- I 凝胶收缩率的比较

Col- I 凝胶收缩试验结果显示, 细胞与胶原混合培养 4 h 后, Wnt3a 转染组胶原收缩面积比率随着时间的延长逐渐低于对照组。各时间点 Wnt3a 转染组与对照组间胶原收缩面积比率的总体比较差异有统计学意义 ($F_{\text{分组}} = 14.526, P = 0.001$); 不同时间点间 2 个组细胞的胶原收缩面积比率差异也有统计学意义 ($F_{\text{时间}} = 9.216, P = 0.001$)。细胞与胶原混合培养 24 h 时, Wnt3a 转染组 Col- I 胶原收缩面积比率明显低于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 5, 表 1)。

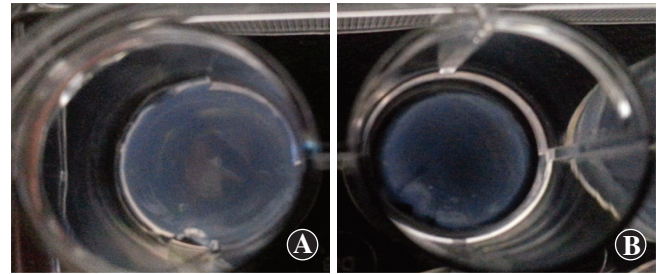


图 5 与胶原混合培养的 SRA01/04 细胞在 24 h 时的胶原收缩像 A: 对照组 B: Wnt3a 转染组 SRA01/04 细胞面积较对照组缩小

表 1 对照组及 Wnt3a 转染组细胞不同时间点胶原收缩面积比率 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	样本量	不同时间点胶原收缩面积比率			
		4 h	8 h	12 h	24 h
对照组	3	99.8 \pm 0.3	96.3 \pm 3.5	95.7 \pm 3.7	93.9 \pm 3.1
Wnt3a 转染组	3	98.9 \pm 1.0	93.4 \pm 2.8	85.7 \pm 5.5	64.1 \pm 2.4 ^{ab}

注: $F_{\text{分组}} = 14.526, P = 0.001; F_{\text{时间}} = 9.216, P = 0.001$ 。与各自时间点对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 Wnt3a 转染组 4 h 值比较, ^b $P < 0.05$ (两因素方差分析, Bonferroni 检验)

3 讨论

PCO 的形成是是白内障囊外摘除手术后残余晶体上皮细胞纤维化并向后囊中心区移入, 同时分泌多种纤维性胶原使后囊膜纤维化、皱缩的过程^[4]。白内障囊外摘除手术可激发残留的前囊膜 LECs 发生创伤愈合反应, LECs 发生 EMT 后具有肌成纤维细胞的特性, 促进 ECM 蛋白的分泌, ECM 沉积在晶状体囊膜下, 与异常排列的晶状体纤维细胞共同作用, 引起囊膜皱缩并在囊袋内形成混浊的斑块^[5-7]。在 PCO 发生过程中, LECs 的纤维化及晶状体囊膜收缩起着重要作用^[8-9]。EMT 是目前研究 PCO 发生机制的研究热点。已有研究表明许多生长因子及信号通路如 TGF- β 、ERK 等通过调控 LECs EMT 在 PCO 发生中有重要作用^[10-11]。Wnt 信号通路是调节 LECs 表型的重要信号通路, 在保持晶状体前囊膜表面上皮细胞表型, 特别是干细胞特性方面有重要作用^[12]。研究发现, Wnt3a 可通过调控 Wnt/ β -catenin 信号通路促进 LECs 发生 EMT, 细胞迁移活性大大提高, 从而促进 PCO 的发生, 但关于 Wnt3a 信号通路活化后的 LECs 是否具有肌成纤维细胞的分泌性, 其对于 LECs 骨架及 ECM 合成的影响还并不明确^[3]。

ECM 是由基质蛋白包括胶原、蛋白聚糖和基底膜蛋白如层黏连蛋白组成, 以纤维状结构排列在间质中, 维持组织结构的稳定性。生理状态下, 这些蛋白的合成和降解处于平衡状态, 发生纤维化疾病时组织纤维化异常活跃, 使这种平衡被破坏, ECM 合成过多, 参与

调控多种组织细胞包括 LECs 的黏附、迁移等病理过程^[6,13-14]。细胞外 Col- I、Col-IV 及纤维黏连蛋白刺激 LECs 的增生^[15]。正常 LECs 产生少量胶原蛋白,大量的胶原蛋白主要由肌成纤维细胞产生。Col- I 在正常 LECs 中几乎检测不到,主要表达于白内障的晶状体组织中,且其表达随人的年龄增加而增加^[16]。Integrin 是调控细胞与 ECM 之间黏附的关键分子,是典型的异二聚体跨膜基质受体,一方面其细胞内部分将胞质蛋白聚集成局部黏附斑块,形成细胞内外的双向信号;另一方面 integrin 可将 ECM 与细胞骨架连结在一起,调控细胞骨架蛋白肌动蛋白,引起细胞形状改变和局部黏附异常^[17-18]。Blattner 等^[19]发现在 integrin 表达缺失的肺组织中,上皮组织纤维化明显减轻,而肌成纤维细胞和 Col- I 明显减少,表明 integrin 是调控组织纤维化病理过程的关键分子。当 LECs 发生 EMT 获得间质细胞特性时, integrin $\beta 1$ 表达改变,提示 integrin $\beta 1$ 与晶状体上皮表型的缺失和间质表型的表达相关,其机制尚不清楚^[20]。本研究中 Wnt3a 可诱导 LECs Col- I 及 integrin $\beta 1$ 表达增加,提示 Wnt3a 可能促进晶状体囊袋内 ECM 的合成和沉积,参与 PCO 的形成。另外, integrin 和 Col- I 是经典 Wnt 信号通路的下游效应靶点,提示 Wnt3a 上调 Col- I 及 integrin $\beta 1$ 表达的作用可能与其活化 Wnt/ β -catenin 信号通路密切相关^[21]。这也与我们前期的研究一致,即 Wnt3a 过表达可使 LECs 中 β -catenin 表达增加且聚积于细胞核内,激活 wnt/ β -catenin 信号通路及上调下游靶蛋白的表达。我们还发现 wnt3a 可诱导 LECs 内 α -SMA 表达增加及细胞骨架 F-actin 的重排,引起细胞自身形态的改变,增强细胞运动能力。在胶原收缩功能实验中, Wnt3a 过表达使得混有 LECs 的胶原中收缩更为明显,通过体外实验证实 Wnt3a 促进 PCO 发生。

综上所述, Wnt3a 能促进人 LECs Col-I 和 integrin 蛋白的表达,还促进细胞骨架重排,增强细胞的收缩能力。Wnt3a 可能通过参与 ECM 形成支架结构,增强细胞及 ECM 的收缩,导致 PCO 和皱缩,促进 PCO 的发生。

参考文献

- [1] Matsuzaki S, Darcha C. Involvement of the Wnt/ β -catenin signaling pathway in the cellular and molecular mechanisms of fibrosis in endometriosis [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8 (10) : e76808 [2015-10-04]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0076808>. DOI:10.1371/journal.pone.0076808.
- [2] Königshoff M, Balsara N, Pfaff EM, et al. Functional Wnt signaling is increased in idiopathic pulmonary fibrosis [J/OL]. *PLoS One*, 2008, 3 (5) : e2142 [2015-10-04]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0002142>. DOI:10.1371/journal.pone.0002142.
- [3] Bao XL, Song H, Chen Z, et al. Wnt3a promotes epithelial-mesenchymal transition, migration, and proliferation of lens epithelial cells [J]. *Mol Vis*, 2012, 18 (7) : 1983-1990.
- [4] West-Mays JA, Pino G. Matrix metalloproteinases as mediators of primary and secondary cataracts [J]. *Exp Rev Ophthalmol*, 2007, 2 (6) : 931-938. DOI:10.1586/17469899.2.6.931.
- [5] Tanaka S, Sumioka T, Fujita N, et al. Suppression of injury-induced epithelial-mesenchymal transition in a mouse lens epithelium lacking tenascin-C [J]. *Mol Vis*, 2010, 16 (7) : 1194-1205.
- [6] Choi J, Park SY, Joo CK. Transforming growth factor-beta1 represses E-cadherin production via slug expression in lens epithelial cells [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48 (6) : 2708-2718. DOI:10.1167/iovs.06-0639.
- [7] Eldred JA, Hodgkinson LM, Dawes LJ, et al. MMP2 activity is critical for TGF β 2-induced matrix contraction-implications for fibrosis [J]. *Invest Ophthalmol Vis sci*, 2012, 53 (7) : 4085-4098. DOI:10.1167/iovs.12-9457.
- [8] Tiwari A, Ram J, Luthra-Guptasarma M. Targeting the fibronectin type III repeats in tenascin-C inhibits epithelial-mesenchymal transition in the context of posterior capsular opacification [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55 (1) : 272-273. DOI:10.1167/iovs.14-14934.
- [9] Wormstone IM, Wang L, Liu CS. Posterior capsule opacification [J]. *Exp Eye Res*, 2009, 88 (2) : 257-269. DOI:10.1016/j.exer.2008.10.016.
- [10] Dawes LJ, Sleeman MA, Anderson IK, et al. TGF β /Smad4-dependent and-independent regulation of human lens epithelial cells [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50 (11) : 5318-5327. DOI:10.1167/iovs.08-3223.
- [11] Dawes LJ, Duncan G, Wormstone IM. Age-related differences in signaling efficiency of human lens cells underpin differential wound healing response rates following cataract surgery [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54 (1) : 333-342. DOI:10.1167/iovs.12-10425.
- [12] Martinez G, de Jongh RU. The lens epithelium in ocular health and disease [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42 (12) : 1945-1963. DOI:10.1016/j.biocel.2010.09.012.
- [13] Saika S, Yamanaka O, Sumioka T, et al. Fibrotic disorders in the eye: targets of gene therapy [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2008, 27 (2) : 177-196. DOI:10.1016/j.preteyeres.2007.12.002.
- [14] Eldred JA, Dawes LJ, Wormstone IM. The lens as a model for fibrotic disease [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2011, 366 (1568) : 1301-1319. DOI:10.1098/rstb.2010.0341.
- [15] de Jong-Hesse Y, Kampmeier J, Lang GK, et al. Effect of extracellular matrix on proliferation and differentiation of porcine lens epithelial cells [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2005, 243 (7) : 695-700. DOI:10.1007/s00417-004-1116-3.
- [16] Shimada A, Miyata Y, Kosano H. Type I collagen accelerates the spreading of lens epithelial cells through the expression and activation of matrix metalloproteinases [J]. *Curr Eye Res*, 2014, 39 (5) : 460-471. DOI:10.3109/02713683.2013.853194.
- [17] Kim KK, Wei Y, Szekeres C, et al. Epithelial cell alpha 3 beta 1 integrin links beta-catenin and Smad signaling to promote myofibroblast formation and pulmonary fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119 (1) : 213-224. DOI:10.1172/JCI36940.
- [18] Borok Z. Role for alpha3 integrin in EMT and pulmonary fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119 (1) : 7-10. DOI:10.1172/JCI38084.
- [19] Blattner SM, Kretzler M. Integrin-linked kinase in renal disease: connecting cell-matrix interaction to the cytoskeleton [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2005, 14 (4) : 404-410.
- [20] Walker J, Menko AS. Integrins in lens development and disease [J]. *Exp Eye Res*, 2009, 88 (2) : 216-225. DOI:10.1016/j.exer.2008.06.020.
- [21] Wu X, Wang J, Jiang H, et al. Wnt3a activates $\beta 1$ -integrin and regulates migration and adhesion of vascular smooth muscle cells [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 9 (4) : 1159-1164. DOI:10.3892/mmr.2014.1937.

(收稿日期:2016-02-19)

(本文编辑:尹卫靖 杜娟)