

角膜内皮细胞间质转化的研究进展

卢青 综述 洪晶 审校

北京大学第三医院眼科中心 100191

通信作者:洪晶, Email: hongjing1964@sina.com

【摘要】 角膜内皮细胞(CECs)对于维持角膜透明至关重要。成年人的 CECs 在体内不可进行有丝分裂,损伤后不可再生。体外培养的人 CECs 可进行有丝分裂,但是体外培养的人 CECs 传代后形态易趋向于成纤维细胞改变且标志性蛋白表达减少,发生角膜内皮细胞间质转化(EndMT),成为体外培养 CECs 发展角膜再生医学的阻碍。同时,体内 EndMT 也参与到多种角膜病理改变,造成视力下降,甚至致盲,但是其发生机制尚未完全阐明。目前研究发现,CECs EndMT 的机制可能涉及转化生长因子- β (TGF- β)信号通路、成纤维细胞生长因子(FGF)家族细胞因子、Notch 信号通路。因此,相应的抑制角膜 EndMT 的方法有抑制 TGF- β 信号通路、使用 PI3K 抑制剂、应用小干扰 RNA (siRNA) 干扰 p120、使用富含亮氨酸重复序列 G 蛋白偶联受体 5 (LGR5) 及其配体、使用 Notch 信号传导抑制剂、敲低 connexin43、使用基质金属蛋白酶抑制剂以及使用抗坏血酸-2-磷酸(Asc-2P)。本文就角膜 EndMT 的发生机制、间质转化抑制或逆转方法的研究进行综述。

【关键词】 角膜内皮细胞; 内皮细胞间质转化; 机制; 抑制; 逆转

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31271045)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.06.018

Advances in corneal endothelial-to-mesenchymal transition

Lu Qing, Hong Jing

Department of Ophthalmology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China

Corresponding author: Hong Jing, Email: hongjing1964@sina.com

【Abstract】 Corneal endothelial cells (CECs) are essential for maintenance of corneal transparency. Proliferative potency of human CECs is poor *in vivo*, so endothelial dysfunction is irreversible. Many studies have showed that CECs are able to proliferate *in vitro*. However, endothelial to mesenchymal transition (EndMT) will emerge with CECs acquire a myofibroblastic phenotype and lose their specific markers, which hinders the development of corneal regenerative medicine. EndMT participates in corneal disorders, but its process has not been clarified yet. Now, researchers have found that the mechanism of EndMT may include transforming growth factor- β (TGF- β) signaling pathway, fibroblast growth factors (FGFs), and Notch signaling pathway. Therefore, there are several ways to prevent EndMT, such as inhibiting TGF- β signaling pathway, using anti-phosphatidylinositol 3-kinase antibody, small interfering RNA (siRNA) against p120, Leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor 5 (LGR5) and LGR5 ligand, inhibiting Notch signaling pathway, making connexin43 knockdown, inhibiting matrix metalloproteinase activity and using Asc-2P. This review elaborated the mechanism of EndMT and ways to prevent or reverse it.

【Key words】 Corneal endothelial cells; Endothelial to mesenchymal transition; Mechanics; Inhibition; Reverse

Fund Program: National Natural Science Foundation of China (31271045)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.06.018

内皮细胞间质转化 (endothelial-to-mesenchymal transition, EndMT) 是指内皮细胞失去内皮细胞正常形态而向间质细胞形态转变,并表达间质细胞特征蛋白,如波形蛋白、 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA)、成纤维细胞特异性蛋白 1 (fibroblast specific protein 1, FSP1) 的过程^[1-2]。EndMT 广泛存在于体内多个组织器官的内皮细胞,参与纤维化病变,近年来

受到越来越多的关注^[3-4]。EndMT 也参与角膜的病理改变。假性剥脱综合征患者的角膜内皮细胞 (corneal endothelial cells, CECs) 有明显的向成纤维细胞转化趋势^[5]。在梅毒性角膜基质炎患者中发现成纤维细胞样的 CECs,波形蛋白和 α -SMA 表达阳性,且分泌大量的 I 型、III 型以及 IV 型胶原形成角膜后膜^[6]。多项研究显示,成纤维样细胞大量存在于 Fuchs 角膜内

皮营养不良患者的角膜中,CECs 高表达 α -SMA,发生 EndMT^[7-8]。另外,后部多型性角膜内皮营养不良患者的 CECs 也呈现纤维化样的转变^[9]。在角膜外伤后,除了正常的 CECs 迁移到损伤处外,还有一种修复途径就是 CECs 转变为成纤维样细胞,分泌非正常的细胞外基质形成角膜后膜^[10-11]。角膜后膜是位于角膜后弹力层和内皮层之间的非正常胶原纤维组织,可导致角膜透明度降低、视力下降,甚至致盲^[12]。角膜后膜的形成机制尚不明确,多数研究认为角膜后膜是由间质化的 CECs 分泌而来。由此可见,EndMT 是导致 CECs 结构功能改变、角膜透明度下降的原因之一。因此,明确 CECs 发生 EndMT 的机制并找出有效的抑制方法,或可有效阻止视力下降。

体外培养的人 CECs 也容易发生 EndMT 改变,且细胞间连接丢失,细胞极性消失,功能蛋白表达减少,间质细胞特征蛋白 α -SMA 呈阳性表达,并且分泌 I 型胶原^[13-14]。这种体外培养的 CECs 发生 EndMT 的现象严重阻碍了角膜再生医学的研究和发展。因此,不断有学者试图阐明 CECs EndMT 的机制并找出抑制方法。

1 CECs EndMT 的机制

1.1 转化生长因子 β 信号通路的激活

转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 信号通路是一个包含众多成员的多功能细胞因子的大家族,参与调节细胞的增生、分化、黏附和凋亡等过程。同时,TGF- β 是调节组织炎症和修复损伤的重要细胞因子,在 TGF- β 的趋化作用下,成纤维细胞向损伤部位迁移并被激活,细胞外基质的合成和分泌增加。虽然 TGF- β 在正常组织损伤修复中起着非常重要的作用,但是有研究发现 TGF- β 1 过多表达或者合成与降解失衡则会导致组织发生纤维化^[15-16]。杨咏梅等^[17]提出,TGF- β 对角膜创伤早期的角膜纤维细胞活化起主要作用,间接促进细胞外基质的合成,从而形成角膜瘢痕。与此相同,靳荷等^[18]研究发现,在体外培养角膜基质细胞时,在培养液中添加 TGF- β 1 可以引起角膜细胞外基质的过度产生以及细胞纤维化。也有不少研究发现,TGF- β 2 促进 Tenon 囊成纤维细胞的活化,在青光眼滤过术后结膜下纤维化过程中发挥作用^[19-20]。TGF- β 2 诱导晶状体上皮细胞的 EndMT 转化也已得到越来越多学者的认可^[21-22]。对于其他组织的 EndMT 研究发现,TGF- β 信号通路在组织纤维化过程中起到非常重要的作用,间质细胞的标志性蛋白,如钙黏素蛋白为 TGF- β 调控的下游靶蛋白^[23]。

TGF- β 包括 TGF- β 1、TGF- β 2 和 TGF- β 3 3 个亚型。Petroli 等^[24]发现,向培养基中添加 TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3 可促使 CECs 向肌成纤维细胞转变,CECs 连接蛋白-1 表达减少,出现 α -SMA 的表达,分泌基质纤维蛋白纤维,并形成黏着斑连接。Zhu 等^[25]研究发现,经 EDTA 消化得到的 CECs 在含有碱性成纤维生长因子(basic fibroblast growth factor,bFGF)的培养基中培养后发生 EndMT 转化,这一转化在培养基中加入 TGF- β 1 后更明显。但是,Wang 等^[26]认为,体外培养的 CECs 可分泌 TGF- β 2,从而引起细胞微管系统的重排,使细胞形态趋向于纺锤状。在体内 CECs EndMT 研究中,de Roo 等^[27]提出,TGF- β 2 和

TGF- β 3 是 Fuchs 角膜内皮营养不良的特异性细胞因子,但在白内障术后 TGF- β 1 是 Fuchs 角膜内皮营养不良的特异性细胞因子。Okumura 等^[28]也提出,TGF- β 信号通路参与 Fuchs 角膜内皮营养不良的病理改变,造成细胞外基质的异常沉积,伴随着内皮细胞发生 EndMT。由此可知,TGF- β 家族在 CECs EndMT 中起着重要作用,但是具体哪些成员参与发病机制还有待进一步研究。

TGF- β 通过具有高亲和力的跨膜 I 型和 II 型丝氨酸/苏氨酸激酶受体的联合作用介导信号从膜表面传递到细胞核^[29]。TGF- β 和 II 型受体结合形成异四聚体后,磷酸化 I 型受体使其活化。磷酸化的 I 型受体使 Smad2 和 Smad3 磷酸化,进而与 Smad4 发生联系,形成杂聚肽复合体进入细胞核后通过与其他转录因子协调作用来调节特异基因的转录应答,调控 EndMT 的发生^[30]。TGF- β 的刺激可以同时诱导拮抗性 Smad 的活化,尤其是 Smad7,阻断活化的 I 型受体对 Smad2 和 Smad3 的磷酸化。在角膜内皮损伤修复的研究中发现,通过转入 Smad7 基因可阻止 Smad2 信号,从而有效抑制角膜内皮损伤诱导的 EndMT 而不损伤伤口的修复^[31]。因此,认为 Smad2 作为 TGF- β 信号通路中重要的下游信号分子参与 EndMT 转化,而 Smad7 可以抑制这个过程。在血管内皮细胞 EndMT 研究中发现,TGF- β 可通过激活 Rho 实现 EndMT^[32]。也有报道称 TGF- β 1 通过激活 Rho/ROCK 信号通路可以分解紧密连接,参与肾小管上皮-间充质转化^[33]。因此,TGF- β 通过激活哪些信号通路参与到 EndMT,还需要深入研究。

1.2 FGF 家族细胞因子的刺激

成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor,FGF)是多效性的生长因子,在许多器官中发挥着调控各种细胞的增生、迁移、分化和凋亡的作用。内皮细胞中的 FGF 信号传导在损伤后的组织修复和新血管形成中发挥关键作用^[34]。

在传统的 CECs 体外培养方法中,bFGF 被广泛用于促进 CECs 的分裂和增生^[35]。然而,bFGF 对 CECs 的作用具有两面性。Kay 等^[36]早在 1993 年就发现,bFGF 对细胞形态和胶原表型的调节具有很强的影响,可诱导多形 CECs 呈现细长的形状以及 I 型和 V 型纤维状胶原合成,而 IV 型纤维状胶原合成显著降低,且 bFGF 的这种调节作用由角膜内皮调节因子增强。Zhu 等^[25]研究发现,EDTA-bFGF 可解除 CECs 接触性抑制,但是也同时激活了 Wnt- β -连环蛋白通路,使得 β -连环蛋白和转录因子 LEF1 mRNA 表达增高,出现 EndMT;但是单独使用 EDTA 却没有改变 β -连环蛋白和 LEF1 mRNA 的表达量。因此该研究认为,bFGF 通过激活 Wnt- β -连环蛋白通路参与 EndMT。bFGF 是怎样激活 Wnt- β -连环蛋白通路的,目前仍不得而知。

FGFs 活化的受体与细胞内多个信号通路相偶联,比如 Ras-MAPK、PI3K-AKT、PLC γ 以及 STAT 通路^[37-38]。Kay 等^[39]研究发现,阻断 PI3K 可引起 FGF-2 调节的成纤维细胞形态恢复为多边形,因此认为 PI3K 是决定 FGF-2 介导的细胞形状的关键分子。在 PI3K 作用下,FGF-2 使得内皮细胞中 I 型胶原的表达增多^[40];白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 可通过 PI3K 的作用磷酸化核因子- κ B,从而上调 FGF-2 的表达,参与

内皮细胞 EndMT^[41]。由此可见,PI3K 在 CECs EndMT 中起到重要作用。Lee 等^[42]研究中发现,FGF-2 通过与 Rho(Ras 超家族)或 Rho 相关激酶(Rho associated kinase,ROCK)途径的抑制剂共同作用,激活 Cdc42(Rho 家族成员),从而导致应激纤维和局部粘连的损失,促进细胞形状转变为纺锤形细胞,伴有伪足的形成。所以推测,FGF-2 也可通过 Rho/ROCK 信号途径诱导 EndMT。

矛盾的是,在其他组织的内皮细胞研究中发现,bFGF 可抵抗 TGF- β 信号转导并逆转 EndMT^[43]。Correia 等^[44]也提出,FGF-2 具有双向作用,它参与 EndMT,同时也可抑制由 TGF- β 1 引起的 EndMT。因此,FGF 家族因子对于 EndMT 的双向作用还有待进一步探索研究。

1.3 Notch 信号通路的激活

Notch 信号通路是一种依赖于细胞之间相互接触的通讯方式,通过细胞之间相互接触的旁分泌,直接将这种相互作用转化为基因表达的改变,具有调控细胞增生、分化和凋亡的功能。Li 等^[45]在体外培养大鼠 CECs 时发现,Notch 信号通路涉及 CECs EndMT,该过程可被 Notch 信号传导抑制剂 DAPT 抑制;同时发现,DAPT 几乎完全阻断了 TGF- β 诱导的 EndMT,这一现象支持 Notch 信号传导在 TGF- β 信号传导下游的机制。另外,Notch 配体 Jagged-1 是 Wnt/TCF 的靶基因,因此可推测,激活 Wnt 信号通路或 TGF- β 信号通路都可以激活 Notch 信号通路。

2 CECs EndMT 抑制方法

2.1 抑制 TGF- β 信号通路

研究发现,选择性 TGF- β 受体拮抗剂 SB431542 可抵抗体外培养 CECs 形态的变化且维持内皮细胞生理功能,并降低细胞 I 型胶原和纤连蛋白的表达;向培养基中添加 SB431542 可以使体外培养的 CECs 维持良好的细胞表型,减少 EndMT 的发生^[46]。然而,Miyamoto 等^[47]发现 TGF- β 受体拮抗剂同时阻断了 p38、MAPK、JNK 和 Smad2/3 通路,其在抑制 EndMT 的同时也影响了内皮细胞的迁移。p38 和 MAPK 在内皮细胞的损伤后修复,特别在细胞迁移中起到重要的作用,而 JNK 和 Smad2/3 并不影响细胞的迁移^[48]。因此,推测选择性阻断 TGF- β 信号通路的下游信号可避免对细胞迁移的影响。也有研究证明使用 ROCK 激酶抑制剂抑制肌动蛋白细胞骨架相关的功能,在促进细胞增生分裂的同时阻碍细胞迁移性,从而保留了细胞的鹅卵石形态^[49]。这为有效抑制 EndMT,同时促进 CECs 的增生提供了新的方法。

2.2 使用 PI3K 抑制剂

Nakahara 等^[50]研究中发现,使用 PI3K 的抑制剂 LY294002 可阻断 CECs 的增生,但是使用人类骨髓间充质干细胞获得的条件培养基 MSC-CM 通过降解 p27,同时激活 PI3K 和 ERK1/2 途径来刺激人 CECs 的增生,且维持内皮功能所必需的特征分化表型^[51]。由此可见,PI3K 也具有双重作用,是否可通过使用 PI3K 抑制剂来抑制 EndMT 还需要进一步研究。

2.3 应用 siRNA 干扰 p120

核 p120 连环蛋白信号传导途径通常参与调节接触抑制的细胞增生,siRNA 可促进 p120 向核内转移,从而激活 p120-连环蛋白-Kaiso 信号传导途径,促进细胞增生,同时避免了 Wnt- β -连环蛋白的活化引起的 EndMT^[52]。

2.4 使用 LGR5 及其配体

LGR5 是保持 CECs 完整性的关键分子,是新近发现的 Wnt 信号通路的目标基因。Hirata-Tominaga 等^[53]发现,持续的 LGR5 表达可维持 CECs 表型,并通过 Wnt 途径抑制内皮细胞 EndMT,此外,其显著加速了 CECs 增生,并且还通过 Wnt 途径抑制 EndMT。关于 LGR5 的研究不多,且 Wnt 通路也参与了 EndMT 的生成,因此这种方法有待深入研究。

2.5 使用 Notch 信号传导抑制剂

Li 等^[45]发现 Notch 信号传导抑制剂 DAPT 几乎完全阻断了 TGF- β 诱导的 EndMT。Notch 信号传导在 TGF- β 信号传导和 Wnt 信号传导的下游,因此,阻断 Notch 信号传导或许对于细胞的增生影响较小。

2.6 敲低 Connexin43

Connexin43(Cx43)是一种间隙连接蛋白,广泛表达于 CECs^[54]。Nakano 等^[55]在一项体内研究中发现,敲低 Cx43 不但可以促进大鼠 CECs 的增生,且抑制了 EndMT。在 Cx43 敲低模型中,p27 的表达也显著降低,因此推测敲低 Cx43 也同时降低了 p27,从而促进内皮细胞的增生。Dai 等^[56]研究报道,Cx43 通过 Smads 介导 TGF- β 信号转导。TGF- β -Smads 信号通路与 EndMT 密切相关,这也为 Cx43 影响 EndMT 提供了证据。

2.7 使用基质金属蛋白酶抑制剂

Ho 等^[57]培养牛 CECs 时发现,抑制基质金属蛋白酶活性可降低 EndMT 调节物的水平,广谱基质金属蛋白酶抑制剂 Marimastat 可加速 Wnt 信号通路关键调节剂 β -连环蛋白的磷酸化和降解。因此推测,Marimastat 可通过提高细胞膜上全长 N-钙黏蛋白的水平来增强细胞黏附,进一步通过 β -连环蛋白降解逆转 EndMT,并抑制由 N-钙黏蛋白的降解产物引起的任何进一步的信号传导。该研究同时发现,前房内注射 Marimastat 抑制大鼠角膜内皮冷冻损伤模型中 bFGF 诱导的 EndMT,并显著减轻角膜水肿^[57]。这为体内和体外抑制和逆转 EndMT 提供了新的方法。

2.8 使用抗坏血酸-2-磷酸

Kimoto 等^[58]研究显示,抗坏血酸-2-磷酸可阻碍 EndMT 并且使 CECs 保持较高的增生速率,其很可能通过保护氧化性 DNA 损伤和上调肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor,HGF)来发挥作用,其中 HGF 具有促进 CECs 增生的作用。

3 展望

EndMT 参与角膜的病理改变,当体内 CECs 发生 EndMT 时,分泌细胞外基质形成角膜后部纤维膜,从而导致视力下降,甚至致盲。体外培养 CECs 时也容易发生 EndMT,为体外构建组织工程 CECs 膜片造成阻碍。数年来,不少学者为研究角膜 EndMT 做出努力,提出了角膜 EndMT 的发生机制涉及细胞增生和分化的多个细胞信号通路,这些通路相互联系和制约,构

成了一个复杂的网络,故在抑制 EndMT 的同时,很难确保细胞正常的增生。如何破解 EndMT 相关的细胞信号通路并找出安全有效的方法,是今后研究的重点。

参考文献

- [1] Ubil E, Duan J, Pillai IC, et al. Mesenchymal-endothelial transition contributes to cardiac neovascularization[J]. *Nature*, 2014, 514(7524): 585-590. DOI:10.1038/nature13839.
- [2] Liang X, Duan N, Wang Y, et al. Advanced oxidation protein products induce endothelial-to-mesenchymal transition in human renal glomerular endothelial cells through induction of endoplasmic reticulum stress[J]. *J Diabetes Complications*, 2016, 30(4): 573-579. DOI:10.1016/j.jdiacomp.2016.01.009.
- [3] Ribera J, Pauta M, Melgar-Lesmes P, et al. A small population of liver endothelial cells undergoes endothelial-to-mesenchymal transition in response to chronic liver injury[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2017, 313(5): G492-492G504. DOI:10.1152/ajpgi.00428.2016.
- [4] Erba BG, Gruppi C, Corada M, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition in bone marrow and spleen of primary myelofibrosis[J]. *Am J Pathol*, 2017, 187(8): 1879-1892. DOI:10.1016/j.ajpath.2017.04.006.
- [5] Naumann GO, Schlötzer-Schrehardt U. Keratopathy in pseudoexfoliation syndrome as a cause of corneal endothelial decompensation: a clinicopathologic study[J]. *Ophthalmology*, 2000, 107(6): 1111-1124.
- [6] Kawaguchi R, Saika S, Wakayama M, et al. Extracellular matrix components in a case of retrocorneal membrane associated with syphilitic interstitial keratitis[J]. *Cornea*, 2001, 20(1): 100-103.
- [7] De Roo AK, Wouters J, Govaere O, et al. Identification of circulating fibrocytes and dendritic derivatives in corneal endothelium of patients with Fuchs' dystrophy[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(1): 670-681. DOI:10.1167/iovs.16-20880.
- [8] De Roo AK, Janssens T, Foets B, et al. Immunohistochemical profiling of corneas with Fuchs endothelial corneal dystrophy[J]. *Cornea*, 2017, 36(7): 866-874. DOI:10.1097/ICO.0000000000001212.
- [9] Bozkurt B, Irkek M, Mocan MC. *In vivo* confocal microscopic findings in posterior polymorphous corneal dystrophy[J]. *Cornea*, 2013, 32(9): 1237-1242. DOI:10.1097/ICO.0b013e31828e324d.
- [10] Singh JS, Haroldson TA, Patel SP. Characteristics of the low density corneal endothelial monolayer[J]. *Exp Eye Res*, 2013, 115: 239-245. DOI:10.1016/j.exer.2013.06.024.
- [11] Chen J, Li Z, Zhang L, et al. Descemet's membrane supports corneal endothelial cell regeneration in rabbits[J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 6983 [2018-02-23]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28765543>. DOI:10.1038/s41598-017-07557-2.
- [12] Lee SH, Kim KW, Kim MK, et al. Evaluation of stem cell components in retrocorneal membranes[J]. *J Korean Med Sci*, 2014, 29(6): 846-851. DOI:10.3346/jkms.2014.29.6.846.
- [13] Roy O, Leclerc VB, Bourget JM, et al. Understanding the process of corneal endothelial morphological change *in vitro*[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(2): 1228-1237. DOI:10.1167/iovs.14-16166.
- [14] Böhnke M, Vogelberg K, Engelmann K. Detection of neurone-specific enolase in long-term cultures of human corneal endothelium[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1998, 236(7): 522-526.
- [15] 刘镛,赵琴平,董惠芬,等. TGF- β 信号传导通路及其生物学功能[J]. *中国病原生物学杂志*, 2014, 9(1): 77-83. DOI:10.13350/j.cjpb.140120.
Liu R, Zhao QP, Dong HF, et al. The TGF- β signaling pathways and their biological functions[J]. *J Pathogen Bio*, 2014, 9(1): 77-83. DOI:10.13350/j.cjpb.140120.
- [16] 程显禄,黄琦磊,张建成. 转化生长因子- β 1 和阿托伐他汀对人心房成纤维细胞 I 型胶原和 Smads 蛋白表达的影响[J]. *中国循环杂志*, 2015, 30(06): 562-566. DOI:10.3969/j.issn.1000-3614.2015.06.013.
Cheng XL, Huang QL, Zhang JC. Effects of transforming growth factor- β 1 and Atorvastatin on the expression of collagen type I P-Smads in human atrial fibroblasts[J]. *Chin Circul J*, 2015, (6): 562-566. DOI:10.3969/j.issn.1000-3614.2015.06.013.
- [17] 杨咏梅,吴欣怡,杜立群. 结缔组织生长因子与转化生长因子及 Smad 信号通路在兔角膜创伤愈合中的作用[J]. *中华眼科杂志*, 2006, 10(10): 918-924.
Yang YM, Wu XY, Du LQ. The role of connective tissue growth factor, transforming growth factor and Smad signaling pathway during corneal wound healing[J]. *Chin J Ophthalmol*, 2006, 42(10): 918-924.
- [18] 靳荷,罗世男,范梓晰,等. 转化生长因子- β 1 介导的角膜基质细胞外基质纤维化体外三维培养模型的构建[J]. *中华实验眼科杂志*, 2015, 33(5): 406-411. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.05.005.
Jin H, Luo SN, Fan ZX, et al. Establishment of a three-dimensional corneal stroma extracellular matrix fibrosis model induced by transforming growth factor- β 1 *in vitro*[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2015, 33(5): 406-411. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.05.005.
- [19] 郭凤,宋晓燕,陈侠,等. 转化生长因子 β 2 对人眼 Tenon 囊成纤维细胞中赖氨酰氧化酶家族表达的诱导作用[J]. *中华实验眼科杂志*, 2017, 35(4): 314-319. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.04.007.
Guo F, Zhu XY, Chen X, et al. Induction of transforming growth factor- β 2 to the expression of lysyl oxidases in human Tenon capsule fibroblasts *in vitro*[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2017, 35(4): 314-319. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.04.007.
- [20] 朱晓燕,李磊,鲜光军,等. 转化生长因子- β 2 诱导人 Tenon 囊成纤维细胞转化及其在瘢痕形成中的作用[J]. *中华实验眼科杂志*, 2013, 31(3): 215-219. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.03.002.
Zhu XY, Li L, Xian GJ, et al. Effects of transforming growth factor- β 2 on human Tenon fibroblasts transformation and scarring after glaucoma filtration surgery[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2013, 31(3): 215-219. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.03.002.
- [21] 崔昆明,张凤妍,祈颖,等. 灯盏花素对转化生长因子- β 2 诱导的人晶状体上皮细胞上皮-间质转化的影响[J]. *中华实验眼科杂志*, 2013, 31(10): 930-934. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.10.006.
Cui KM, Zhang FY, Qi Y, et al. Effects of breviscapine on epithelial-mesenchymal transition induced by transforming growth factor- β 2 in human lens epithelial cells[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2013, 31(10): 930-934. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.10.006.
- [22] Zhang B, Chen Y, Qiu M, et al. Long noncoding RNA expression profile in HLE B-3 cells during TGF- β 2-induced epithelial-mesenchymal transition[J/OL]. *BMC Ophthalmol*, 2017, 17(1): 69 [2018-05-11]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28511643>. DOI:10.1186/s12886-017-0461-z.
- [23] Chen XF, Zhang HJ, Wang HB, et al. Transforming growth factor- β 1 induces epithelial-to-mesenchymal transition in human lung cancer cells via PI3K/Akt and MEK/Erk1/2 signaling pathways[J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(4): 3549-3556. DOI:10.1007/s11033-011-1128-0.
- [24] Petroll WM, Jester JV, Bean JJ, et al. Myofibroblast transformation of cat corneal endothelium by transforming growth factor- β 1, - β 2, and - β 3[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1998, 39(11): 2018-2032.
- [25] Zhu YT, Chen HC, Chen SY, et al. Nuclear p120 catenin unlocks mitotic block of contact-inhibited human corneal endothelial monolayers without disrupting adherent junctions[J]. *J Cell Sci*, 2012, 125(Pt 15): 3636-3648. DOI:10.1242/jcs.103267.
- [26] Wang J, Fan TJ, Yang XX, et al. Transforming growth factor- β 2 induces morphological alteration of human corneal endothelial cells *in vitro*[J]. *Int J Ophthalmol*, 2014, 7(5): 759-763. DOI:10.3980/j.issn.2222-3959.2014.05.03.

- [27] de Roo AK, Struyf S, Foets B, et al. Transforming growth factor beta switch in aqueous humor of patients with Fuchs' endothelial corneal dystrophy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57 (2) : 771-772. DOI:10.1167/iov.15-18768.
- [28] Okumura N, Minamiyama R, Ho LT, et al. Involvement of ZEB1 and Snail1 in excessive production of extracellular matrix in Fuchs endothelial corneal dystrophy [J]. *Lab Invest*, 2015, 95(11) : 1291-1304. DOI:10.1038/labinvest.2015.111.
- [29] Zeng Z, de Gorter DJ, Kowalski M, et al. Ter94/VCP is a novel component involved in BMP signaling [J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(12) : e114475 [2018-05-11]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25469707>. DOI:10.1371/journal.pone.0114475.
- [30] Kassem L, Deygas M, Fattet L, et al. TGF β 1 interferes with TGF β 1/SMAD4 signaling to promote poor outcome in operable breast cancer patients [J/OL]. *BMC Cancer*, 2015, 15 : 453 [2018-05-14]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26040677>. DOI:10.1186/s12885-015-1471-y.
- [31] Yong KW, Li Y, Liu F, et al. Paracrine effects of adipose-derived stem cells on matrix stiffness-induced cardiac myofibroblast differentiation via angiotensin II type 1 receptor and Smad7 [J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6 : 33067 [2018-05-09]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27703175>. DOI:10.1038/srep33067.
- [32] Mihira H, Suzuki HI, Akatsu Y, et al. TGF- β -induced mesenchymal transition of MS-1 endothelial cells requires Smad-dependent cooperative activation of Rho signals and MRTF-A [J]. *J Biochem*, 2012, 151(2) : 145-156. DOI:10.1093/jb/mvr121.
- [33] Zhang K, Zhang H, Xiang H, et al. TGF- β 1 induces the dissolution of tight junctions in human renal proximal tubular cells; role of the RhoA/ROCK signaling pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32(2) : 464-468. DOI:10.3892/ijmm.2013.1396.
- [34] Oladipupo SS, Smith C, Santeford A, et al. Endothelial cell FGF signaling is required for injury response but not for vascular homeostasis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(37) : 13379-13384. DOI:10.1073/pnas.1324235111.
- [35] Luo WJ, Zhou Y, Liu MG, et al. Effect of basic fibroblast growth factor on cat corneal endothelial cell proliferation [J]. *Int J Ophthalmol*, 2011, 4(4) : 384-387. DOI:10.3980/j.issn.2222-3959.2011.04.12.
- [36] Kay EP, Gu X, Ninomiya Y, et al. Corneal endothelial modulation: a factor released by leukocytes induces basic fibroblast growth factor that modulates cell shape and collagen [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1993, 34(3) : 663-672.
- [37] Ornitz D M, Itoh N. The fibroblast growth factor signaling pathway [J/OL]. *WIREs Develop Biol*, 2015, 4(3) : 215-266 [2018-05-06]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/wdev.176>. DOI:10.1002/wdev.176.
- [38] Oulion S, Bertrand S, Escriva H. Evolution of the FGF gene family [J/OL]. *Int J Evol Biol*, 2012, 2012 : 298147 [2018-05-21]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22919541>. DOI:10.1155/2012/298147.
- [39] Kay EP, Park SY, Ko MK, et al. Fibroblast growth factor 2 uses PLC-gammal for cell proliferation and PI3-kinase for alteration of cell shape and cell proliferation in corneal endothelial cells [J]. *Mol Vis*, 1998, 4 : 22.
- [40] Ko MK, Kay EP. Regulatory role of FGF-2 on type I collagen expression during endothelial mesenchymal transformation [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46(12) : 4495-4503. DOI:10.1167/iov.05-0818.
- [41] Lee JG, Kay EP. NF- κ B is the transcription factor for FGF-2 that causes endothelial mesenchymal transformation in cornea [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(3) : 1530-1538. DOI:10.1167/iov.11-9102.
- [42] Lee JG, Jung E, Heur M. Fibroblast growth factor 2 induces proliferation and fibrosis via SNAI1-mediated activation of CDK2 and ZEB1 in corneal endothelium [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(10) : 3758-3769. DOI:10.1074/jbc.RA117.000295.
- [43] Wang Z, Calpe B, Zerdani J, et al. High-throughput investigation of endothelial-to-mesenchymal transformation (EndMT) with combinatorial cellular microarrays [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2016, 113(7) : 1403-1412. DOI:10.1002/bit.25905.
- [44] Correia AC, Moonen JR, Brinker MG, et al. FGF2 inhibits endothelial-mesenchymal transition through microRNA-20a-mediated repression of canonical TGF- β signaling [J]. *J Cell Sci*, 2016, 129(3) : 569-579. DOI:10.1242/jcs.176248.
- [45] Li C, Dong F, Jia Y, et al. Notch signal regulates corneal endothelial-to-mesenchymal transition [J]. *Am J Pathol*, 2013, 183(3) : 786-795. DOI:10.1016/j.ajpath.2013.05.025.
- [46] Toda M, Ueno M, Hiraga A, et al. Production of homogeneous cultured human corneal endothelial cells indispensable for innovative cell therapy [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(4) : 2011-2020. DOI:10.1167/iov.16-20703.
- [47] Miyamoto T, Sumioka T, Saika S. Endothelial mesenchymal transition: a therapeutic target in retrocorneal membrane [J]. *Cornea*, 2010, 29 Suppl 1 : S52-S56. DOI:10.1097/ICO.0b013e3181efe36a.
- [48] Joko T, Shiraishi A, Akune Y, et al. Involvement of P38MAPK in human corneal endothelial cell migration induced by TGF- β (2) [J]. *Exp Eye Res*, 2013, 108 : 23-32. DOI:10.1016/j.exer.2012.11.018.
- [49] Wu Q, Ouyang C, Xie L, et al. The ROCK inhibitor, thiazovivin, inhibits human corneal endothelial-to-mesenchymal transition/epithelial-to-mesenchymal transition and increases ionic transporter expression [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 40(4) : 1009-1018. DOI:10.3892/ijmm.2017.3103.
- [50] Nakahara M, Okumura N, Kay EP, et al. Corneal endothelial expansion promoted by human bone marrow mesenchymal stem cell-derived conditioned medium [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(7) : e69009 [2018-05-07]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23894393>. DOI:10.1371/journal.pone.0069009.
- [51] Lee JG, Song JS, Smith RE, et al. Human corneal endothelial cells employ phosphorylation of p27 (Kip1) at both Ser10 and Thr187 sites for FGF-2-mediated cell proliferation via PI 3-kinase [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(11) : 8216-8223. DOI:10.1167/iov.11-8213.
- [52] Zhu YT, Han B, Li F, et al. Knockdown of both p120 catenin and Kaiso promotes expansion of human corneal endothelial monolayers via RhoA-ROCK-noncanonical BMP-NF κ B pathway [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(3) : 1509-1518. DOI:10.1167/iov.13-13633.
- [53] Hirata-Tominaga K, Nakamura T, Okumura N, et al. Corneal endothelial cell fate is maintained by LGR5 through the regulation of hedgehog and Wnt pathway [J]. *Stem Cells*, 2013, 31(7) : 1396-1407. DOI:10.1002/stem.1390.
- [54] Laux-Fenton WT, Donaldson PJ, Kistler J, et al. Connexin expression patterns in the rat cornea: molecular evidence for communication compartments [J]. *Cornea*, 2003, 22(5) : 457-464.
- [55] Nakano Y, Oyamada M, Dai P, et al. Connexin43 knockdown accelerates wound healing but inhibits mesenchymal transition after corneal endothelial injury *in vivo* [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(1) : 93-104. DOI:10.1167/iov.07-0255.
- [56] Dai P, Nakagami T, Tanaka H, et al. Cx43 mediates TGF-beta signaling through competitive Smads binding to microtubules [J]. *Mol Biol Cell*, 2007, 18(6) : 2264-2273. DOI:10.1091/mbc.e06-12-1064.
- [57] Ho WT, Chang JS, Su CC, et al. Inhibition of matrix metalloproteinase activity reverses corneal endothelial-mesenchymal transition [J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(8) : 2158-2167. DOI:10.1016/j.ajpath.2015.04.005.
- [58] Kimoto M, Shima N, Yamaguchi M, et al. Role of hepatocyte growth factor in promoting the growth of human corneal endothelial cells stimulated by L-ascorbic acid 2-phosphate [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(12) : 7583-7589. DOI:10.1167/iov.12-10146.

(收稿日期:2018-11-29 修回日期:2019-02-15)

(本文编辑:张宇)