

## 人角膜基质细胞的表型研究进展

杨怡<sup>1</sup> 综述 牛阳<sup>2</sup> 袁玲<sup>3</sup> 审校

<sup>1</sup>宁夏医科大学基础医学院,银川 750004; <sup>2</sup>宁夏少数民族医药现代化教育部重点实验室,银川 750004; <sup>3</sup>宁夏医科大学药学院,银川 750004

通信作者:袁玲,Email:nxykdx@qq.com

**【摘要】** 人角膜基质细胞(HCSCs)是一类呈静息状态的神经嵴间充质细胞,是负责分泌基质的高度特化的透明组织,在维持角膜透明度和人眼正常视觉功能等方面发挥重要作用。正常情况下,角膜基质细胞呈静息状态并表现为扁平、树突状,在角膜受到创伤刺激后被激活,激活状态的人角膜基质细胞(HCK)向修复表型转变,发生凋亡或向角膜成纤维细胞表型和肌成纤维细胞表型转化。HCSCs的表型转化与人角膜损伤修复过程所引起的瘢痕组织形成以及角膜透明度降低等方面具有密切关系。本文通过对HCSCs的3种表型、表型标志物、表型间转化以及体外转化的机制进行综述,发现通过干预HCK向纤维化表型转化过程及TGF- $\beta$ /Smad等相关信号通路可以抑制角膜纤维化。因此,深入研究HCSCs表型转化的分子机制及干预角膜瘢痕形成的调控机制,有助于临床防治患者角膜纤维化和角膜术后混浊。

**【关键词】** 人角膜基质细胞; 细胞表型; 体外转化

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(81960836); 国家留学基金委西部地区人才培养特别项目(201908645028)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200626-00455

### Progress on the phenotype of human corneal stromal cells

Yang Yi<sup>1</sup>, Niu Yang<sup>2</sup>, Yuan Ling<sup>3</sup>

<sup>1</sup>School of Basic Medicine, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; <sup>2</sup>Key Laboratory of Ningxia Ethnomedicine Modernization, Ministry of Education, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; <sup>3</sup>School of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China

Corresponding author: Yuan Ling, Email:nxykdx@qq.com

**【Abstract】** Human corneal stromal cells (HCSCs), a type of resting neural crest mesenchymal cell, are highly specialized transparent tissues responsible for the secretion of stroma and play an important role in maintaining the transparency of the cornea and the normal visual function of human eye. Normally, corneal stromal cells are quiescent, flat and dendritic. After the cornea is stimulated by trauma, the corneal stromal cells will be activated, and the activated human corneal keratocytes (HCK) will turn to a repair phenotype, undergo apoptosis or transform to corneal fibroblast phenotype and myofibroblast phenotype. The phenotype transformation of HCSCs is closely related to the formation of scar tissue and the reduction of ocular transparency caused by the repair process of human corneal injury. In this article, three phenotypes, phenotypic markers, phenotype transformation and *in vitro* transformation mechanisms of HCSCs were reviewed, and it was found that corneal fibrosis could be inhibited by interfering with the transformation process of HCK to fibrotic phenotype and TGF- $\beta$ /Smad signaling pathways. Therefore, in-depth study of the molecular mechanism of phenotypic transformation of HCSCs and the regulatory mechanism of intervention in corneal scarring formation is helpful for prevention and treatment of corneal fibrosis and postoperative corneal opacity in patients.

**【Key words】** Human corneal stromal cells; Cell phenotype; Transformation *in vitro*

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81960836); China Scholarship Council State Scholarship Fund (201908645028)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200626-00455

人角膜基质细胞(human corneal stromal cells, HCSCs)是正常角膜基质层中的主要细胞成分,存在于平行排列的胶原纤维之间,通过细胞突起顶部的间隙进行相邻细胞间物质信息传递<sup>[1]</sup>;其具有合成和分泌细胞外基质(extracellular matrix,

ECM)成分,如胶原蛋白、糖胺聚糖、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)以及受到刺激后向角膜细胞修复表型转化的功能,在维持角膜结构完整性和创伤修复中发挥重要作用<sup>[2]</sup>。

人角膜基质创伤愈合是一个非常复杂的过程,当角膜基质层受到创伤、感染或手术后,处于静息状态的 HCSCs 被刺激,转变为激活状态的人角膜基质细胞(human corneal keratocytes, HCK),继而发生死亡或转化为修复表型,引起角膜基质混浊,角膜深层出现新生血管、持续性炎症反应、纤维化甚至不同程度的角膜瘢痕,导致畏光和视力下降等临床症状<sup>[3]</sup>。感染性角膜溃疡、免疫紊乱(如圆锥角膜等)以及目前临床应用激光矫正视力角膜手术(如准分子激光手术、激光光学角膜切削术等)均能引起角膜基质混浊和瘢痕<sup>[4]</sup>。同时 HCSCs 的结构和功能发生变化可导致角膜的透明度降低,使视力受到损害。因此,深入研究 HCSCs 表型的转化过程以及其调控机制,不仅有助于了解角膜损伤修复的发展过程,而且对于发现、预防和治疗角膜基质纤维化、减少瘢痕形成,甚至逆转瘢痕损伤程度,具有重要的临床意义。本文就 HCSCs 表型、标志物、表型的转化及其体外转化机制进行综述,以期发现新的临床治疗手段提供思路。

## 1 HCSCs 表型

### 1.1 HCSCs

HCSCs 是位于角膜的纤维母细胞,是一种正常角膜细胞表型,其能合成并沉积胶原蛋白和硫酸角质素蛋白聚糖(keratan-sulfate proteoglycans, KSPG)等成分,调节基质组织,有助于提高角膜的机械强度和光学清晰度。正常状态下,HCSCs 在细胞周期的 G0 期处于静息状态,呈扁平、树突状,随着哺乳动物胚胎的发育,HCSCs 合成并分泌 I 型胶原蛋白(collagen I, Col I)、Col III、Col V 和 Col VI 等 ECM 成分,其中 Col I 最为丰富,Col V 是胶原纤维组装的重要调控因子<sup>[5]</sup>。HCSCs 所分泌的硫酸角质素、硫酸软骨素等蛋白多糖及晶状体蛋白等(例如乙醛脱氢酶)具有减少角膜细胞光散射的作用,其中晶状体蛋白也可以降低视轴中其他眼部细胞(如晶状体上皮细胞)的光散射<sup>[6-7]</sup>,同时 HCSCs 能够合成和降解胶原分子,还能产生 MMP,在 ECM 重构、细胞基质相互作用、炎症细胞募集和细胞因子激活等维持基质稳态方面中发挥至关重要的作用<sup>[8]</sup>。

### 1.2 人角膜成纤维细胞

人角膜成纤维细胞由激活状态的 HCK 转化而来,转化发生在伤口边缘的脱细胞区。人角膜成纤维细胞呈梭形或纺锤形,胞体细长并具有多个核仁,与成纤维细胞相似,因而被称为角膜成纤维细胞<sup>[9]</sup>。在角膜受到创伤、手术或感染刺激时,HCK 迅速发生凋亡,并转化为角膜成纤维细胞和肌成纤维细胞,这些修复表型的细胞参与纤维性创伤愈合反应,通过改变环境条件调节基因表达、收缩性和基质蛋白的产生等<sup>[10]</sup>,促进角膜再生或诱导产生纤维化瘢痕,有助于创伤修复。同时,有研究发现瘢痕和角膜营养不良等类型的角膜混浊主要是由活化后的 HCK 光散射增加引起的<sup>[11]</sup>。

人角膜成纤维细胞在角膜基质损伤修复过程中不断合成各种 ECM 成分和蛋白酶,重塑基质层,在维持角膜透明度和机械稳定性方面起着重要的作用<sup>[12]</sup>。在细菌侵入角膜基质层诱发白细胞浸润和溃疡时,角膜成纤维细胞在炎症因子的刺激下产生多种化学物质和黏附因子,从而促进角膜损伤的修复,在角膜

的防御系统及角膜的创伤愈合过程中起至关重要的作用<sup>[13]</sup>。

### 1.3 人角膜肌成纤维细胞

人角膜肌成纤维细胞可由人角膜成纤维细胞转化,是角膜手术、损伤和感染后在角膜基质中观察到的另一种修复表型,也是成纤维细胞被激活后的一个具有较大外形的细胞亚群。在正常未受伤的角膜中未检测到肌成纤维细胞<sup>[14]</sup>。人角膜肌成纤维细胞是具有平滑肌细胞超微结构和生理特性的成纤维细胞,具有收缩伤口、分泌 ECM 并与周围基底产生黏附结构的能力。因此,人角膜肌成纤维细胞可能在创伤性角膜撕裂后恢复眼部完整性的过程中发挥重要作用。

## 2 HCSCs 表型的标志物

### 2.1 HCSCs 标志物

HCSCs 是一种来源于神经嵴的间充质细胞,其典型特征是在某些细胞表面标志物和中间纤维。CD34 和 CD133 是体内静息状态 HCSCs 的典型标志物,在角膜创伤后,CD34 表达迅速消失,HCSCs 被激活,伤口附近的 HCK 分化为成纤维细胞表型<sup>[15-16]</sup>。研究发现 HCK 在标准组织培养条件下,角蛋白、核心蛋白聚糖等富含亮氨酸的小蛋白多糖以及乙醛脱氢酶 1A1(acetaldehyde dehydrogenase 1A1, ALDH1A1)和 ALDH3A1 亚型等角膜晶状体蛋白的表达迅速消失<sup>[7,10]</sup>,同时产生的细胞也失去 HCK 特有的树突状结构,具有了成纤维细胞的特性<sup>[17-20]</sup>。

### 2.2 人角膜成纤维细胞标志物

角膜创伤导致与伤口相邻的 HCK 向成纤维细胞转化,产生高表达的纤维连接蛋白(fibronectin, FN)、整合素  $\alpha 5 \beta 1$ 、MMP-1、MMP-3 和 MMP-9,并分泌胶原蛋白和蛋白多糖<sup>[21]</sup>。研究还发现在培养的人角膜成纤维细胞中可以检测到 CD90 mRNA 和蛋白,但在新鲜分离的 HCK 中未检测到,因此认为 CD90 的表达是由 HCK 转化为角膜成纤维细胞和肌成纤维细胞引起的<sup>[22]</sup>。角膜成纤维细胞也是基质混浊、角膜晶状体蛋白减少和 ECM 表达改变的来源<sup>[23]</sup>。

### 2.3 人角膜肌成纤维细胞标志物

肌成纤维细胞特定生化标志物是  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA),该肌动蛋白是肌成纤维细胞特征性表达的细胞骨架蛋白,也具有增强角膜组织收缩的功能,在组织纤维化、伤口愈合及瘢痕形成中起着重要作用<sup>[24-25]</sup>。有研究表明角膜肌成纤维细胞最早的基质前体表达波形蛋白,不表达  $\alpha$ -SMA 或结蛋白, $\alpha$ -SMA 是细胞发育成熟的后期标志物<sup>[26]</sup>。也有研究发现,角膜创伤愈合后形成的瘢痕中含有大量的纤维粘连蛋白 EDA 片段和 Col III,而在角膜发育过程中几乎看不到这 2 种蛋白,认为这 2 种蛋白可作为纤维化标志物<sup>[5]</sup>。与  $\alpha$ -SMA 和 Col III 一样,血小板反应蛋白 1(thrombospondin-1, TSP-1)在健康人的 HCSCs 中不表达,在损伤后的细胞中有表达<sup>[27]</sup>。TSP-1 是在伤口愈合过程中转化生长因子  $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )的重要激活因子<sup>[28]</sup>。

Słoniecka 等<sup>[29]</sup>构建体外人角膜纤维化模型,诱导角膜成纤维细胞向肌成纤维细胞转化,发现诱导纤维化后细胞内 I 型前胶原蛋白、Col III、Col V、光蛋白聚糖和 FN 表达水平明显升

高。Rönty 等<sup>[30]</sup>发现在 TGF- $\beta$ 1 诱导肌成纤维细胞分化过程中, Palladin 4Ig(一种控制应力纤维完整性的细胞骨架蛋白)表达明显上升, 因此认为 Palladin 4Ig 是一种新的肌成纤维细胞体外和体内转化的标志物。

Nishtala 等<sup>[31]</sup>利用定量蛋白质组学分析发现, 与 HCK 相比, 角膜成纤维细胞和肌成纤维细胞中的整合素信号传导、SLIT-ROBO 通路 (PFN1、CAPR1、PSMA5) 以及 ECM 蛋白 (SERPINH1、SPARC、ITG $\beta$ 1、CRTAP) 表达增强, 表明其在伤口愈合过程中发挥作用。

### 3 HCSCs 表型的转化

#### 3.1 体内转化过程

当角膜受到严重创伤、手术或感染后, 损伤区域周围的 HCK 通过凋亡来防止修复过程引起的对组织结构不利的变化。损伤约 6 h 后, 相邻的静息状态 HCSCs 被激活, 细胞大小和细胞器含量均增加, 并在 24 h 内向损伤处迁移, 开始从 HCK 向成纤维细胞转化。该转化过程由成纤维细胞生长因子 2 (fibroblast growth factor-2, FGF-2) 和血小板衍生生长因子 BB、TGF- $\beta$  等生长因子介导<sup>[32-33]</sup>, 与细胞 FN 和机械张力共同调节白细胞介素 1 (interleukin-1, IL-1) 和胰岛素样生长因子 1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1), 从而促进细胞有丝分裂。转化后的角膜成纤维细胞进入细胞增生期并向损伤部位迁移, 同时细胞形态和功能均发生改变, 能够识别、清除死亡细胞<sup>[10]</sup>。创伤后 48 h 细胞抵达损伤处, 表现出成纤维细胞的典型形态学特征, 包括梭形、多核仁和缺乏胞质颗粒<sup>[34]</sup>。这些成纤维细胞通过肌动蛋白细胞骨架重塑, 从星状变为细长状并获得应力<sup>[35]</sup>。TGF- $\beta$  调节静息状态 HCSCs 转化为成纤维细胞, 上调 ECM 物质分泌, 并在细胞迁移至创面后诱导肌成纤维细胞标志物  $\alpha$ -SMA、结蛋白和波形蛋白的表达并向肌成纤维细胞转化<sup>[34]</sup>。

在角膜损伤后 1~2 周, 具有收缩特性的肌成纤维细胞进入损伤区并参与基质重建, 控制创面收缩以及异常 ECM 沉积, 是导致基质瘢痕/纤维化和混浊的主要病理过程<sup>[36-37]</sup>。当组织修复达到一定程度时, 成纤维细胞发生凋亡, 数量缓慢减少, 肌成纤维细胞开始侵袭并充满创伤处, 最终形成成熟的瘢痕<sup>[38]</sup>。经过数月或数年的修复, 上皮基底膜完全再生, 规则的角膜 ECM 逐渐取代肌成纤维细胞及其产生的混浊基质, 该过程中肌成纤维细胞与基质细胞相互竞争, 异常的 ECM 被重吸收, 角膜细胞重新组成前基质, 角膜透明度逐渐恢复<sup>[37]</sup>。

角膜瘢痕的形成导致角膜透明度降低并损害视力, 因此, 研究角膜伤口愈合过程, 探讨预防纤维化和新生血管并发症发生的机制和方法具有重要的临床意义。有研究表明, 活化的角膜成纤维细胞和肌成纤维细胞不是终末分化表型, 而是可以彼此相互转化的<sup>[39]</sup>。利用这一点可以针对 HCSCs 被激活后的表型转化进行体外研究, 以预防瘢痕对角膜透明度及视力的影响。

#### 3.2 体外转化过程

**3.2.1 HCK 转化为成纤维细胞和肌成纤维细胞** 当在体外无血清培养基中培养时, HCK 会保持树突状, 通过添加血清、TGF- $\beta$  或某些生长因子可诱导其向成纤维细胞和肌成纤维细

胞转化。Sharma 等<sup>[40]</sup>将人角膜基质切成小块置于培养皿中, 加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 杜氏改良 Eagle 培养基中并在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 湿化培养箱中培养 2 周或以上, 得到角膜成纤维细胞, 然后置于含 10% 胎牛血清的 DMEM 中培养, 在其融合度达到 60%~70% 后改用含 10% 血清的 DMEM 培养, 在 8~12 h 后换至含有 TGF- $\beta$ 1 (1 ng/ml) 的无血清培养基中培养 4~7 d, 每 24 h 更换新鲜不含血清的 TGF- $\beta$ 1 培养基, 成功得到肌成纤维细胞。

在体外细胞培养过程中发现, 添加血小板衍生生长因子 BB 后, 细胞聚集并形成细长梭形的成纤维细胞表型<sup>[41]</sup>。FGF-2 具有促进细胞分化、增生、维持成纤维细胞表型的作用, 而碱性成纤维细胞生长因子可通过增加细胞增生来抑制肌成纤维细胞分化, 从而加速伤口闭合<sup>[9]</sup>。Słoniecka 等<sup>[29]</sup>研究发现在培养基中加入维生素 C 和 TGF- $\beta$ 1 可以诱导角膜成纤维细胞向肌成纤维细胞转化。

角膜瘢痕形成的关键是 TGF- $\beta$  诱导 HCK 分化为成纤维细胞和肌成纤维细胞, 抑制该分化过程可能对角膜瘢痕形成具有抑制作用。诱导 HCK 纤维化的关键因子 TGF- $\beta$  有 3 个亚型, 分别为 TGF- $\beta$ 1、TGF- $\beta$ 2 和 TGF- $\beta$ 3。TGF- $\beta$ 1 是角膜创伤愈合过程中释放的主要亚型, 与 TGF- $\beta$ 2 共同诱导纤维蛋白的合成以及黏着斑的聚集、诱导细胞迁移、瘢痕收缩和 ECM 沉积<sup>[42]</sup>; TGF- $\beta$ 1 还可促进  $\alpha$ -SMA 的表达, 在角膜瘢痕形成中起至关重要的作用。与 TGF- $\beta$ 1 相似, TGF- $\beta$ 3 也可促进肌成纤维细胞的分化, 诱导细胞 Col III 和  $\alpha$ -SMA 表达增加<sup>[41, 43]</sup>。但也有研究表明 TGF- $\beta$ 3 能够刺激角膜成纤维细胞分泌大量 ECM, 可以逆转纤维化标志物 Col III 的表达, 具有抗纤维化特性, 推测 IL-10 和 TGF- $\beta$ 3 是治疗角膜修复和预防纤维化的潜在靶点<sup>[26-27]</sup>。

**3.2.2 成纤维细胞和肌成纤维细胞转化为 HCK** 针对角膜创伤后愈合过程中纤维化表型对角膜透明度的影响, 亟需探索逆转纤维化的方法。体外细胞研究发现, 在无血清基础培养基中加入抗坏血酸、视黄酸、胰岛素转铁蛋白硒、IGF-1 和 3-异丁基-1 甲基黄嘌呤可部分恢复静息状态的 HCSCs 的树突形态, 增加 HCK 标志物 ALDH3A1 和 CD34 的表达, 阻止 HCK 向肌成纤维细胞分化, 可恢复部分细胞为 HCK 表型<sup>[41]</sup>。Miyagi 等<sup>[44]</sup>将人角膜成纤维细胞培养在含有 TGF- $\beta$ 1 和肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 的培养基中, 发现  $\alpha$ -SMA mRNA 表达量与 TGF- $\beta$ 1 浓度表现出明显的剂量依赖性, 并证明了 HGF 可以抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的肌成纤维细胞表型分化过程, 结果显示 HGF 通过减少角膜纤维化来改善伤口愈合。

目前大多数针对角膜纤维化的研究仅能抑制该过程。Park 等<sup>[45]</sup>发现胰岛素样生长因子结合蛋白 2 可以抑制 TGF- $\beta$ 1 诱导的角膜成纤维细胞中  $\alpha$ -SMA 表达上调, 增加细胞中角蛋白和 ALDH1A1 的表达, 具有维持 HCK 表型、抑制其向肌成纤维细胞转化的作用。研究发现将含 10% 胎牛血清的 DMEM/Ham 培养基培养的原代 HCK 置于不同浓度光敏剂 Ce6 下, 670 nm 光照 13 min, HCK 向肌成纤维细胞转化在短期内似乎被抑制, 但对 CD34 阳性的 HCK 激活没有影响<sup>[46]</sup>。Mohan 等<sup>[47]</sup>研究发现核心蛋白聚糖基因转移可有效抑制 TGF- $\beta$  诱导

的 HCK 转化和成纤维细胞向肌成纤维细胞的转化。胰岛素样生长因子 2 受体蛋白 (insulin-like growth factor 2 receptor, IGF2R) 可调节人角膜成纤维细胞向肌成纤维细胞的转化, 抑制 IGF2R 的合成可减少成纤维细胞向肌成纤维细胞的转化, 并可用于控制角膜纤维化<sup>[48]</sup>。有研究发现乙酰胆碱也可以在体外人角膜纤维化模型中抑制角膜成纤维细胞向肌成纤维细胞的转化, 表现出抗纤维化作用<sup>[29]</sup>。Angunawela 等<sup>[49]</sup> 对比研究了添加 TGF- $\beta$ 1 和 6-磷酸甘露糖 (mannose-6-phosphate, M6P) 的含血清培养基与仅添加 TGF- $\beta$ 1 的含血清培养基中培养的 HCK, 发现 M6P 可抑制 TGF- $\beta$ 1 介导的人角膜成纤维细胞向肌成纤维细胞的转化。体外研究显示, 富含生长因子的血浆 (plasma rich in growth factor, PRGF) 对 TGF- $\beta$ 1 诱导成纤维细胞向肌成纤维细胞转化具有逆转作用, 可降低与成纤维细胞分化相关的所有细胞骨架蛋白的表达, 表明 PRGF 可能促进角膜伤口愈合再生并抑制瘢痕的形成<sup>[50-51]</sup>。

在体外模型中, 将聚乙烯亚胺 (polyethylenimine, PEI)-DNA 纳米颗粒介导可溶性 TGF- $\beta$ 2 受体的胞外区基因导入人角膜成纤维细胞中可抑制肌成纤维细胞转化<sup>[40]</sup>。Nicholas 等<sup>[26]</sup> 使用建立的人角膜成纤维细胞 3D 体外模型, 发现鞘氨醇-1-磷酸 (sphingosine-1-phosphate, S1P) 的外源性刺激可使  $\alpha$ -SMA 表达下调, 并抑制了角膜成纤维细胞的迁移, 提示 S1P 可能具有抗角膜纤维化能力。近年来, 雷帕霉素被发现具有抗纤维化和抗新生血管的作用, 对碱损伤也具有保护作用, 并可抑制碱损伤后成纤维细胞向肌成纤维细胞的分化过程<sup>[52]</sup>。

#### 4 HCSCs 的体外转化机制

角膜创伤愈合后的瘢痕形成和透明度降低是影响视力的关键因素, 深入了解该过程中涉及的生长因子、细胞因子和信号传导中间体, 寻找有效干预角膜愈合中瘢痕形成的方法, 可为临床防治角膜创伤愈合过程所带来不利影响提供理论指导。

##### 4.1 PI3K/Akt-1 和 RhoA/ROCK 信号通路

表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 与细胞表面的 EGF 受体结合, 激活酪氨酸激酶, 并生成 ECM 分子, 可促进细胞增生。研究发现 EGF 通过激活 EGF 受体和 PI3K/Akt-1 信号通路, 协同 TGF- $\beta$ 1 诱导 HCK 向肌成纤维细胞分化和增生, 增加 FN 的分泌, 使 ECM 成分发生变化<sup>[53]</sup>。

分布于神经纤维内的一种神经肽 P 物质 (SP) 参与角膜创伤的愈合过程, Sloniecka 等<sup>[54]</sup> 研究利用体外培养的人角膜纤维化模型发现 SP 具有诱导角膜细胞收缩, 上调 Col I、III、V 和 Lumican 基因表达的作用, 可以促进纤维化标志物  $\alpha$ -SMA 和 FN 的分泌和表达, 并发现 SP 可通过激活 PI3K/Rac1/RhoA 通路和 IL-8 增强角膜细胞迁移, 激活 RhoA/ROCK 通路诱导 HCK 发生纤维化改变, 从而促进角膜创面愈合。

##### 4.2 TGF- $\beta$ /Smad 信号通路

TGF- $\beta$  是角膜瘢痕形成过程中的关键因子, 由 TGF- $\beta$  超家族成员特异性激活的 Smad 蛋白作为 TGF- $\beta$  信号转导通路下游重要的信号分子, 在角膜创伤修复过程中调节细胞的生长、增生、迁移和分化。Smad 信号传导是典型的 TGF- $\beta$  信号通路, 可

直接或与其他通路协同将 TGF- $\beta$  通路的信号从细胞外转导到细胞核内, 调控 TGF- $\beta$  在细胞水平介导的多种生物学效应<sup>[55]</sup>。TGF- $\beta$  与其受体的结合可以诱导 Smad 受体磷酸化, 导致通过与 Smad 结合并易位至细胞核内与其他共激活因子、DNA 结合并活化启动子。

Sarenac 等<sup>[56]</sup> 采用 IGF-1 干预 HCK, 发现其可以减弱 TGF- $\beta$ /Smad 信号转导, 从而抑制 HCK 向肌成纤维细胞的分化, 因此认为 IGF-1 是抗纤维化治疗的有效辅助手段。而 Izumi 等<sup>[57]</sup> 则发现 IGF-1 可以有效刺激 TGF- $\beta$ 2 诱导的成纤维细胞增生, 而不会逆转纤维化。Guo 等<sup>[58]</sup> 发现一种特异性阻断 TGF- $\beta$ /Smad 的抑制剂 Trx-SARA, 其可通过阻断 Smad 途径抑制角膜成纤维细胞的增生, 还能阻断 TGF- $\beta$ 1 刺激角膜成纤维细胞中 FN 的表达, 这也表明 FN 受到 TGF- $\beta$ 1 的调节。Chen 等<sup>[59]</sup> 发现葡萄糖胺可以靶向诱导角膜成纤维细胞中 KLF4 因子的表达, 抑制了 TGF- $\beta$ 1 诱导的  $\alpha$ -SMA 表达, 并通过抑制 Smad2 磷酸化和 ERK 依赖性信号传导, 降低细胞中胶原蛋白收缩能力, 表明成纤维细胞向肌成纤维细胞转化减少。

##### 4.3 TGF- $\beta$ /p38 信号通路

TGF- $\beta$  受体激活下游的信号分子似乎对角膜成纤维细胞中  $\alpha$ -SMA 和 ECM 成分的合成起不同的调节作用, 其中 TGF- $\beta$ 1 可有效刺激 p38 诱导的磷酸化, 在角膜纤维化伤口修复中 p38 蛋白是 TGF 的重要中间体<sup>[60]</sup>。Guo 等<sup>[61]</sup> 在 TGF- $\beta$ 1 刺激的人角膜成纤维细胞中添加 p38 抑制剂, 发现  $\alpha$ -SMA 和其他纤维化基因 (FN、TSP-1 和 Col III) 表达显著降低, 表明 p38 抑制剂可能会降低角膜伤口愈合过程中 ECM 中的纤维化蛋白沉积, 从而阻止基质细胞转化为肌成纤维细胞; 研究还发现阻断 p38 途径可使肌成纤维细胞变回成纤维细胞, 表明 p38 抑制剂可能是一种潜在的预防或治疗人角膜纤维化的药物。

##### 4.4 miRNA 相关信号通路

角膜基质细胞纤维化的发生及发展涉及多种相关调节因子, 是一个十分复杂的过程。有研究发现特异性地上调 HCSCs 内 miR-29a-3p 的含量, 可以抑制 HCSCs 向成纤维细胞和肌成纤维细胞转化, 或可抑制或延缓角膜组织纤维化的发生和发展<sup>[62]</sup>。与健康角膜细胞相比, 人角膜瘢痕组织和 TGF- $\beta$ 1 诱导的角膜肌成纤维细胞中 miR-145 的表达增加了 13 倍。TGF- $\beta$ 1 可以促进 miR-145 的表达, 通过下调 KLF4 (一种已知的  $\alpha$ -SMA 的负调节因子) 间接诱导  $\alpha$ -SMA 表达, 抑制 miR-145 显著降低了 TGF- $\beta$ 1 分泌和肌成纤维细胞的收缩力。因此, miR-145 在 TGF- $\beta$ 1 刺激的角膜肌成纤维细胞分化和活化中起重要作用, 有望用于预防或治疗角膜纤维化引起的视力丧失<sup>[63]</sup>。

与静息状态的 HCSCs 相比, 角膜肌成纤维细胞中的 LINC00963 表达量减少一半, LINC00963 的过表达抑制角膜肌成纤维细胞的形成。研究发现 LINC00963 可以通过下调 miR-143-3p 的表达来抑制角膜成纤维细胞中 TGF- $\beta$ 1 诱导的  $\alpha$ -SMA 表达。此外, 无论是促进 LINC00963 还是抑制 miR-143-3p 的表达都可以显著降低肌成纤维细胞收缩性以及 Col I 和 III 的分泌, 这是导致角膜纤维化的关键<sup>[64]</sup>。

综上所述, HCSCs 的表型转化对于人角膜损伤修复过程所

引起的瘢痕组织形成和角膜透明度降低等方面具有至关重要的作用。因此,深入研究 HCSCs 表型转化的分子机制及干预角膜瘢痕形成的调控机制,有助于临床防治患者角膜纤维化和术后角膜混浊,为发现新的临床治疗手段提供理论指导。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**志谢** 本文得到了美国哈佛大学医学院 Schepens 研究所 Zieske 实验室和 Ciolino 实验室的共同指导和帮助

## 参考文献

- Espana EM, Birk DE. Composition, structure and function of the corneal stroma[J/OL]. *Exp Eye Res*, 2020, 198: 108137 [2021-10-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32663498>. DOI: 10.1016/j.exer.2020.108137.
- de Oliveira RC, Wilson SE. Fibrocytes, wound healing, and corneal fibrosis[J/OL]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2020, 61(2): 28 [2021-10-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32084275>. DOI: 10.1167/iovs.61.2.28.
- Torricelli AA, Santhanam A, Wu J, et al. The corneal fibrosis response to epithelial-stromal injury[J]. *Exp Eye Res*, 2016, 142: 110-118. DOI: 10.1016/j.exer.2014.09.012.
- Yam GH, Fuest M, Yusoff N, et al. Safety and feasibility of intrastromal injection of cultivated human corneal stromal keratocytes as cell-based therapy for corneal opacities[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59(8): 3340-3354. DOI: 10.1167/iovs.17-23575.
- Sloniecka M, Danielson P. Substance P induces fibrotic changes through activation of the RhoA/ROCK pathway in an *in vitro* human corneal fibrosis model[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2019, 97(12): 1477-1489. DOI: 10.1007/s00109-019-01827-4.
- 李芳, 李轩. 角膜晶状体蛋白的概念及其研究进展[J]. *中华实验眼科杂志*, 2016, 34(12): 1149-1152. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.12.022.  
Li F, Li X. The concept and research progress of corneal crystallin[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2016, 34(12): 1149-1152. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.12.022.
- Chen Y, Thompson DC, Koppaka V, et al. Ocular aldehyde dehydrogenases: protection against ultraviolet damage and maintenance of transparency for vision[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2013, 33: 28-39. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2012.10.001.
- DelMonte DW, Kim T. Anatomy and physiology of the cornea[J]. *J Cataract Refract Surg*, 2011, 37(3): 588-598. DOI: 10.1016/j.jcrs.2010.12.037.
- Gallego-Muñoz P, Ibares-Frías L, Valsero-Blanco MC, et al. Effects of TGFβ1, PDGF-BB, and bFGF, on human corneal fibroblasts proliferation and differentiation during stromal repair[J]. *Cytokine*, 2017, 96: 94-101. DOI: 10.1016/j.cyto.2017.03.011.
- Hovakimyan M, Falke K, Stahnke T, et al. Morphological analysis of quiescent and activated keratocytes: a review of *ex vivo* and *in vivo* findings[J]. *Curr Eye Res*, 2014, 39(12): 1129-1144. DOI: 10.3109/02713683.2014.902073.
- Jester JV. Corneal crystallins and the development of cellular transparency[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2008, 19(2): 82-93. DOI: 10.1016/j.semcdb.2007.09.015.
- Yeung V, Sriram S, Tran JA, et al. FAK inhibition attenuates corneal fibroblast differentiation *in vitro*[J/OL]. *Biomolecules*, 2021, 11(11): 1682 [2022-01-11]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34827680>. DOI: 10.3390/biom11111682.
- Gao N, Kumar A, Yu FS. Matrix metalloproteinase-13 as a target for suppressing corneal ulceration caused by *Pseudomonas aeruginosa* infection[J]. *J Infect Dis*, 2015, 212(1): 116-127. DOI: 10.1093/infdis/jiv016.
- Jester JV, Petroll WM, Cavanagh HD. Corneal stromal wound healing in refractive surgery: the role of myofibroblasts[J]. *Prog Retin Eye Res*, 1999, 18(3): 311-356. DOI: 10.1016/s1350-9462(98)00021-4.
- Joseph A, Hossain P, Jham S, et al. Expression of CD34 and L-selectin on human corneal keratocytes[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44(11): 4689-4692. DOI: 10.1167/iovs.02-0999.
- Perrella G, Brusini P, Spelat R, et al. Expression of haematopoietic stem cell markers, CD133 and CD34 on human corneal keratocytes[J]. *Br J Ophthalmol*, 2007, 91(1): 94-99. DOI: 10.1136/bjo.2006.097352.
- Foster JW, Gouveia RM, Connon CJ. Low-glucose enhances keratocyte-characteristic phenotype from corneal stromal cells in serum-free conditions[J/OL]. *Sci Rep*, 2015, 5: 10839 [2021-10-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26039975>. DOI: 10.1038/srep10839.
- Abidin FZ, Gouveia RM, Connon CJ. Application of retinoic acid improves form and function of tissue engineered corneal construct[J]. *Organogenesis*, 2015, 11(3): 122-136. DOI: 10.1080/15476278.2015.1093267.
- Bhattacharjee P, Cavanagh BL, Ahearne M. Effect of substrate topography on the regulation of human corneal stromal cells[J/OL]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2020, 190: 110971 [2021-10-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32197207>. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2020.110971.
- 来凌波, 宋彦铮, 张丰菊. 人突变 Lumican 转基因小鼠角膜组织中小分子亮氨酸蛋白聚糖成员表达改变的研究[J]. *中华眼科杂志*, 2018, 54(12): 911-917. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2018.12.008.  
Lai LB, Song YZ, Zhang FJ. Differential expression of small leucine-rich proteoglycans gene in Lumican transgenic mouse cornea[J]. *Chin J Ophthalmol*, 2018, 54(12): 911-917. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2018.12.008.
- Miron-Mendoza M, Graham E, Manohar S, et al. Fibroblast-fibronectin patterning and network formation in 3D fibrin matrices[J]. *Matrix Biol*, 2017, 64: 69-80. DOI: 10.1016/j.matbio.2017.06.001.
- Pei Y, Sherry DM, McDermott AM. Thy-1 distinguishes human corneal fibroblasts and myofibroblasts from keratocytes[J]. *Exp Eye Res*, 2004, 79(5): 705-712. DOI: 10.1016/j.exer.2004.08.002.
- Wilson SE. Corneal myofibroblasts and fibrosis[J/OL]. *Exp Eye Res*, 2020, 201: 108272 [2022-01-19]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33010289>. DOI: 10.1016/j.exer.2020.108272.
- Anumanthan G, Gupta S, Fink MK, et al. KCa3.1 ion channel: a novel therapeutic target for corneal fibrosis[J/OL]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0192145 [2021-10-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29554088>. DOI: 10.1371/journal.pone.0192145.
- Shu DY, Lovicu FJ. Myofibroblast transdifferentiation: the dark force in ocular wound healing and fibrosis[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2017, 60: 44-65. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2017.08.001.
- Nicholas SE, Rowsey TG, Priyadarsini S, et al. Unravelling the interplay of sphingolipids and TGF-β signaling in the human corneal stroma[J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0182390 [2021-10-26]. DOI: 10.1371/journal.pone.0182390.
- Karamichos D, Hutcheon AE, Zieske JD. Reversal of fibrosis by TGF-β3 in a 3D *in vitro* model[J]. *Exp Eye Res*, 2014, 124: 31-36. DOI: 10.1016/j.exer.2014.04.020.
- Wu W, Hutcheon A, Sriram S, et al. Initiation of fibrosis in the integrin Avβ6 knockout mice[J]. *Exp Eye Res*, 2019, 180: 23-28. DOI: 10.1016/j.exer.2018.11.027.
- Sloniecka M, Danielson P. Acetylcholine decreases formation of myofibroblasts and excessive extracellular matrix production in an *in vitro* human corneal fibrosis model[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(8): 4850-4862. DOI: 10.1111/jcmm.15168.
- Rönty MJ, Leivonen SK, Hinz B, et al. Isoform-specific regulation of the actin-organizing protein plectin during TGF-beta1-induced myofibroblast differentiation[J]. *J Invest Dermatol*, 2006, 126(11): 2387-2396. DOI: 10.1038/sj.jid.5700427.
- Nishtala K, Panigrahi T, Shetty R, et al. Quantitative proteomics reveals molecular network driving stromal cell differentiation: implications for corneal wound healing[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5): 2572 [2022-08-10]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35269714>. DOI: 10.3390/ijms23052572.
- Chen J, Guerriero E, Sado Y, et al. Rho-mediated regulation of TGF-beta1- and FGF-2-induced activation of corneal stromal keratocytes[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(8): 3662-3670. DOI: 10.1167/iovs.08-3276.
- Jester JV, Ho-Chang J. Modulation of cultured corneal keratocyte



- phenotype by growth factors/cytokines control *in vitro* contractility and extracellular matrix contraction [J]. *Exp Eye Res*, 2003, 77 ( 5 ) : 581-592. DOI:10.1016/S0014-4835(03)00188-x.
- [34] Fini ME, Stramer BM. How the cornea heals: cornea-specific repair mechanisms affecting surgical outcomes [J]. *Cornea*, 2005, 24 ( 8 Suppl ) : S2-S11. DOI:10.1097/01.ico.0000178743.06340.2c.
- [35] 李宗源, 黄一飞, 王丽强. 角膜损伤修复与 Notch 信号通路 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2020, 38 ( 2 ) : 150-155. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2020.02.013.  
Li ZY, Huang YF, Wang LQ. Corneal wound healing and the Notch signaling pathway [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2020, 38 ( 2 ) : 150-155. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2020.02.013.
- [36] Saika S, Yamanaka O, Okada Y, et al. Modulation of Smad signaling by non-TGF $\beta$  components in myofibroblast generation during wound healing in corneal stroma [J]. *Exp Eye Res*, 2016, 142 : 40-48. DOI:10.1016/j.exer.2014.12.015.
- [37] Torricelli AA, Singh V, Agrawal V, et al. Transmission electron microscopy analysis of epithelial basement membrane repair in rabbit corneas with haze [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54 ( 6 ) : 4026-4033. DOI:10.1167/iov.13-12106.
- [38] Ljubimov AV, Saghizadeh M. Progress in corneal wound healing [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2015, 49 : 17-45. DOI:10.1016/j.preteyeres.2015.07.002.
- [39] Maltseva O, Folger P, Zekaria D, et al. Fibroblast growth factor reversal of the corneal myofibroblast phenotype [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42 ( 11 ) : 2490-2495.
- [40] Sharma A, Rodier JT, Tandon A, et al. Attenuation of corneal myofibroblast development through nanoparticle-mediated soluble transforming growth factor- $\beta$  type II receptor ( sTGF $\beta$ R II ) gene transfer [J]. *Mol Vis*, 2012, 18 : 2598-2607.
- [41] Fernández-Pérez J, Ahearne M. Influence of biochemical cues in human corneal stromal cell phenotype [J]. *Curr Eye Res*, 2019, 44 ( 2 ) : 135-146. DOI:10.1080/02713683.2018.1536216.
- [42] Jiang N, Ma M, Li Y, et al. The role of pirfenidone in alkali burn rat cornea [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 64 : 78-85. DOI:10.1016/j.intimp.2018.08.032.
- [43] Guo X, Hutcheon A, Zieske JD. Molecular insights on the effect of TGF- $\beta$ 1/- $\beta$ 3 in human corneal fibroblasts [J]. *Exp Eye Res*, 2016, 146 : 233-241. DOI:10.1016/j.exer.2016.03.011.
- [44] Miyagi H, Jalilian I, Murphy CJ, et al. Modulation of human corneal stromal cell differentiation by hepatocyte growth factor and substratum compliance [J]. *Exp Eye Res*, 2018, 176 : 235-242. DOI:10.1016/j.exer.2018.09.001.
- [45] Park SH, Kim KW, Kim JC. The role of insulin-like growth factor binding protein 2 (IGFBP2) in the regulation of corneal fibroblast differentiation [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56 ( 12 ) : 7293-7302. DOI:10.1167/iov.15-16616.
- [46] Szentmáry N, Wang J, Stachon T, et al. CD34 and alpha-smooth muscle actin expression of keratocytes following photodynamic inactivation (PDI) [J]. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2013, 230 ( 6 ) : 570-574. DOI:10.1055/s-0032-1328639.
- [47] Mohan RR, Gupta R, Mehan MK, et al. Decorin transfection suppresses profibrogenic genes and myofibroblast formation in human corneal fibroblasts [J]. *Exp Eye Res*, 2010, 91 ( 2 ) : 238-245. DOI:10.1016/j.exer.2010.05.013.
- [48] Bohnsack RN, Warejcka DJ, Wang L, et al. Expression of insulin-like growth factor 2 receptor in corneal keratocytes during differentiation and in response to wound healing [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55 ( 12 ) : 7697-7708. DOI:10.1167/iov.14-15179.
- [49] Angunawela RI, Marshall J. Inhibition of transforming growth factor- $\beta$ 1 and its effects on human corneal fibroblasts by mannose-6-phosphate potential for preventing haze after refractive surgery [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2010, 36 ( 1 ) : 121-126. DOI:10.1016/j.jcrs.2009.07.042.
- [50] Anitua E, Muruzabal F, de la Fuente M, et al. Plasma rich in growth factors for the treatment of ocular surface diseases [J]. *Curr Eye Res*, 2016, 41 ( 7 ) : 875-882. DOI:10.3109/02713683.2015.1104362.
- [51] Anitua E, de la Fuente M, Muruzabal F, et al. Plasma rich in growth factors (PRGF) eye drops stimulates scarless regeneration compared to autologous serum in the ocular surface stromal fibroblasts [J]. *Exp Eye Res*, 2015, 135 : 118-126. DOI:10.1016/j.exer.2015.02.016.
- [52] Li J, Du S, Shi Y, et al. Rapamycin ameliorates corneal injury after alkali burn through methylation modification in mouse TSC1 and mTOR genes [J/OL]. *Exp Eye Res*, 2021, 203 : 108399 [ 2022 - 01 - 24 ]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33352197>. DOI:10.1016/j.exer.2020.108399.
- [53] He J, Bazan HE. Epidermal growth factor synergism with TGF- $\beta$ 1 via PI-3 kinase activity in corneal keratocyte differentiation [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49 ( 7 ) : 2936-2945. DOI:10.1167/iov.07-0900.
- [54] Sloniecka M, Le Roux S, Zhou Q, et al. Substance P enhances keratocyte migration and neutrophil recruitment through interleukin-8 [J]. *Mol Pharmacol*, 2016, 89 ( 2 ) : 215-225. DOI:10.1124/mol.115.101014.
- [55] 王仕娇, 王纯, 张敏, 等. 中药基于 TGF- $\beta$ /Smad 信号转导通路调控肿瘤细胞 [J]. *生命的化学*, 2020, 40 ( 4 ) : 535-541. DOI:10.13488/j.smhx.20190300.  
Wang SJ, Wang C, Zhang M, et al. The regulation of tumor cell growth by traditional Chinese medicine based on TGF- $\beta$ /Smad signal transduction pathway [J]. *Chemistry Life*, 2020, 40 ( 4 ) : 535-541. DOI:10.13488/j.smhx.20190300.
- [56] Sarenac T, Trapecar M, Gradisnik L, et al. Single-cell analysis reveals IGF-1 potentiation of inhibition of the TGF- $\beta$ /Smad pathway of fibrosis in human keratocytes *in vitro* [J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6 : 34373 [ 2021 - 11 - 26 ]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27687492>. DOI:10.1038/srep34373.
- [57] Izumi K, Kurosaka D, Iwata T, et al. Involvement of insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 in corneal fibroblasts during corneal wound healing [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47 ( 2 ) : 591-598. DOI:10.1167/iov.05-0097.
- [58] Guo X, Hutcheon A, Tran JA, et al. TGF- $\beta$ -target genes are differentially regulated in corneal epithelial cells and fibroblasts [J/OL]. *New Front Ophthalmol*, 2017, 3 ( 1 ) : 10.15761/NFO.1000151 [ 2021 - 12 - 06 ]. <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28649665>. DOI:10.15761/NFO.1000151.
- [59] Chen YJ, Huang SM, Tai MC, et al. Glucosamine impedes transforming growth factor  $\beta$ 1-mediated corneal fibroblast differentiation by targeting Krüppel-like factor 4 [J/OL]. *J Biomed Sci*, 2019, 26 ( 1 ) : 72 [ 2021 - 12 - 06 ]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31597574>. DOI:10.1186/s12929-019-0566-1.
- [60] Jeon KI, Kulkarni A, Woeller CF, et al. Inhibitory effects of PPAR $\gamma$  ligands on TGF- $\beta$ 1-induced corneal myofibroblast transformation [J]. *Am J Pathol*, 2014, 184 ( 5 ) : 1429-1445. DOI:10.1016/j.ajpath.2014.01.026.
- [61] Guo X, Sriram S, Tran JA, et al. Inhibition of human corneal myofibroblast formation [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59 ( 8 ) : 3511-3520. DOI:10.1167/iov.18-24239.
- [62] 李凌茜, 郝朋, 李轩. MicroRNA-29a-3p 调控转化生长因子  $\beta$ 1 诱导的人角膜基质细胞的肌成纤维细胞转化 [J]. *实用医学杂志*, 2020, 36 ( 1 ) : 44-48. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2020.01.009.  
Li LH, Hao P, Li X. MicroRNA-29a-3p regulates TGF- $\beta$ 1-induced myofibroblastic transformation in human corneal stromal cells [J]. *J Pract Med*, 2020, 36 ( 1 ) : 44-48. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2020.01.009.
- [63] Ratuszny D, Gras C, Bajor A, et al. miR-145 is a promising therapeutic target to prevent cornea scarring [J]. *Hum Gene Ther*, 2015, 26 ( 10 ) : 698-707. DOI:10.1089/hum.2014.151.
- [64] Zhang L, Gao J, Gong A, et al. The long noncoding rNA LINC00963 inhibits corneal fibrosis scar formation by targeting miR-143-3p [J]. *DNA Cell Biol*, 2022, 41 ( 4 ) : 400-409. DOI:10.1089/dna.2021.1034.

(收稿日期:2022-01-18 修回日期:2022-08-11)

(本文编辑:张宇 骆世平)