

上海交通大学医学院



学者介绍

Author introduction

**傅 扬** 博士

副主任医师、硕士生导师

ORCID ID: 0000-0002-4528-7944

FU Yang

Ph.D

Associate Chief Physician, Master's Supervisor

ORCID ID: 0000-0002-4528-7944

傅 扬 (1977—), 上海交通大学附属第一人民医院眼科副主任医师。2018 年获南京医科大学博士学位。2015 年赴美国密歇根大学 Kellogg 眼科中心做访问学者。现任上海医学会斜视与小儿眼科学组副组长、中国医师学会眼科分会斜视小儿眼病专委会委员。

- 从事眼科临床工作 20 余年, 擅长斜视性弱视、屈光不正以及儿童眼病的诊治。近 5 年, 主持国家自然科学基金和上海市卫生健康委员会(原上海市卫生和计划生育委员会)面上项目等 5 项国家及省部级科研项目, 在国内外学术期刊发表论文约 30 篇。入选上海交通大学附属第一人民医院卓越医师人才计划和上海市高校教师出国访学计划。

- 该研究依托上海交通大学医学院“双一流”暨高水平地方高校建设“一流学科——临床医学—临床科研支撑体系建设”项目。

FU Yang born in 1977, associate chief physician of Department of Ophthalmology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine. In 2018, she got her Ph.D from Nanjing Medical University. In 2015, she worked as a visiting scholar at the Kellogg Eye Center, University of Michigan in USA. She is currently the deputy head of Strabismus and Pediatric Ophthalmology Group of Shanghai Medical Association and the member of Children's Eye Disease Committee of Eye Branch of Chinese Medical Association.

- She has been engaged in clinical work in ophthalmology for over 20 years, specializing in the diagnosis and treatment of strabismus amblyopia, refractive error and pediatric eye disease. In the past 5 years, she has been supported as a principal investigator by 5 national and provincial research projects, including National Natural Science Foundation of China and Project of Shanghai Municipal Health Commission. She has published about 30 articles in academic journals at home and abroad. Furthermore, she was enrolled into the Excellent Physician Talent Program of Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine and Shanghai University Teachers' Visiting Program.

- The research relies on the project of Clinical Research Supporting System, Clinical Medicine, First-Class Discipline of "National Double First-Class" and "Shanghai-Top-Level" high education initiative at Shanghai Jiao Tong University School of Medicine.



综述

富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白对青光眼滤过泡瘢痕化影响的研究进展

罗丽颖, 吴佳慧, 项潇琼, 唐敏, 傅扬

上海交通大学附属第一人民医院眼科, 上海 200080

[摘要] 滤过泡瘢痕化是导致青光眼滤过术失败的主要原因。目前, 临床上多应用结膜下注射丝裂霉素及 5- 氟尿嘧啶等抗代谢药物以减少瘢痕化的发生, 一定程度上提高了手术成功率, 但其伴随的细胞毒性等不良反应不可忽视。富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白 (secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC) 作为一种基质细胞蛋白在眼内广泛分布, 在创伤修复和组织重塑的过程中发挥重要作用。结膜下瘢痕化的小鼠模型中可观察到 SPARC 表达明显升高。研究表明 SPARC 可通过多种途径参与并调控滤过泡瘢痕化的形成, 有望成为抗瘢痕化治疗的特异性新靶点。

[关键词] 富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白; 滤过泡; 瘢痕化; 青光眼滤过术

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2019.06.020 **[中图分类号]** R799 **[文献标志码]** A

Research progress of secreted protein acidic and rich in cysteine in glaucoma filtering bleb scarring

LUO Li-ying, WU Jia-hui, XIANG Xiao-qiong, TANG Min, FU Yang

Department of Ophthalmology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200080, China

[Abstract] Filtering bleb scarring is the main cause of glaucoma filtration surgery failure. Subconjunctival injection of antimetabolites, such as mitomycin and 5-fluorouracil, is widely used clinically to reduce the incidence of scarring, which improves the success rate of the surgery. However, accompanied side effects such as cytotoxicity should not be ignored. Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) as a matricellular protein is widely distributed in the eyes, which plays an important role in the process of wound repairing and tissue remodeling. The expression of SPARC is significantly elevated in the mouse model of subconjunctival scarring. Researches suggest that SPARC participates in and regulate the formation of bleb scarring through multiple pathways, therefore it may become a specific new target in the anti-scarring therapy.

[Key words] secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC); filtering bleb; scarring; glaucoma filtration surgery

青光眼为全球最主要的致盲性眼病之一。据预测, 到 2020 年将会有 7 960 万青光眼患者, 其中有 1 100 万患者因青光眼导致双目失明^[1]。青光眼造成的视神经损伤可导致视力下降及视野缺损, 最终发展为失明。控制眼压是延缓疾病发展的唯一有效途径。

在药物降眼压效果不理想的情况下, 青光眼滤过术 (glaucoma filtration surgery, GFS) 被认为是实现并维持低眼压状态的最有效方法^[2]。该手术通过在结膜下建立长期有功能的滤过泡以维持房水流动。若术后发生过度创伤愈合反应使滤过泡瘢痕化从而阻碍房水的流出, 则眼压会逐渐上升至术前水平, 这是造成手术失败的主要原因^[3]。目前临床上多应用结膜下注射丝裂霉素 (mitomycin, MMC) 及 5- 氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU) 等抗代谢药物以减少纤维化造成的流出道阻塞, 一定程度上提高了

手术成功率^[4]。其作用机制是减少成纤维细胞分化及细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 重塑等术后创伤愈合反应。然而, 其抑制细胞增殖作用非成纤维细胞特异性, 过量应用会导致细胞毒性, 例如可诱导无细胞无血管滤过泡的生成, 增加房水漏出、眼内炎以及低眼压性黄斑变性的风险^[5]。因此, 仍需进一步发展疗效确切的安全、特异的抗瘢痕药物。富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白 (secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC), 也称为骨连结素或基底膜 -40 (BM-40), 是一种相对分子质量为 32 000 的细胞基质蛋白^[6], 可在细胞与 ECM 之间发挥调节作用^[7]。作为一种在眼内广泛分布的细胞基质蛋白, SPARC 在创伤修复和组织重塑的过程中发挥重要作用, 其表达升高与组织瘢痕、纤维化密切相关^[8-9]。Seet 等^[10]的研究表明, *Sparc* 基因敲除小鼠的结膜下瘢痕化模型结果显示,

[作者简介] 罗丽颖 (1995—), 女, 硕士生; 电子信箱: miss_lyluo@163.com。

[通信作者] 傅扬, 电子信箱: fuyang_smile@126.com。

手术部位纤维化延迟,且滤过泡存活时间明显延长。因此 SPARC 有望成为青光眼滤过术后抗瘢痕化的特异性新靶点。本文主要从 SPARC 对 ECM 成分的沉积、血管再生,以及与细胞因子的相互作用等方面探讨 SPARC 影响青光眼滤过泡瘢痕化的机制。

1 滤过泡瘢痕化的病理过程

滤过泡瘢痕化的过程与成纤维细胞增殖、胶原沉积、炎症因子的浸润以及血管再生等因素有关,但其确切机制仍未阐明。目前认为,滤过泡瘢痕的原因与成纤维细胞的大量增殖和凋亡抑制、ECM 的合成和降解失衡,以及细胞因子的作用有关^[11]。在创伤愈合的早期阶段,伤口暴露于炎症环境中,局部产生转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)、血小板衍生生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF)、集落刺激因子 (colony stimulating factor, CSF)、白细胞介素 (interleukin, IL) 等大量炎症细胞因子。上述炎症介质促进中性粒细胞和巨噬细胞的激活,并使炎症细胞和趋化因子进入创伤组织。结膜下的基质细胞在创伤反应中被炎症介质激活,比如 TGF- β 诱导间叶细胞和成纤维细胞的活化,随后促使它们移行并转化为肌成纤维细胞。转化后的细胞作为主要的调节因子导致 ECM 降解,原有结构被破坏。肌成纤维细胞有不同的来源,除了来自活化后的间叶细胞转化外,创伤后的表皮细胞和内皮细胞也可发生去分化并转化为肌成纤维细胞。ECM 在肌成纤维细胞收缩蛋白的作用下发生重塑并失去正常组织功能^[12]。因此在纤维化瘢痕组织中,必须减少炎症反应的发生和肌成纤维细胞的形成来维持组织结构的正常功能。

2 SPARC 对青光眼滤过泡瘢痕化的影响机制

SPARC 为细胞基质蛋白家族的一员,与细胞基质成分、生长因子和细胞因子相互影响,参与细胞迁移和增殖、组织重建,以及形态功能改变的过程。细胞基质蛋白家族是一类非结构性分泌糖蛋白,还包括血栓连接素 1/2 (thrombospondin-1/2, TSP-1/2)、生腱蛋白 (tenascin, TN) C/X、骨桥蛋白 (osteopontin, OPN) 等其他蛋白质。这些蛋白质在青光眼患者中均有广泛表达,其过度表达增加了 ECM 的沉积量,促进纤维化的发生^[13]。此外,在翼状胬肉、白内障、增生性玻璃体视网膜病变等眼病中均检测出 SPARC 表达上调^[14-15]。Zhang 等^[16]应用眼前节光学相干断层扫描 (anterior segment optical coherence

tomography, AS-OCT) 评估青光眼滤过术后 18 个月滤过泡的大小与内部折射率,结果显示房水中较高的 SPARC 水平与较小的滤过泡面积以及较高的内部折射率相关,房水中高水平 SPARC 是青光眼滤过术失败的独立危险因素。目前,已有大量研究关注于 SPARC 对滤过泡瘢痕化的作用机制。

2.1 SPARC 对 ECM 的调节作用

ECM 主要包括胶原蛋白、纤维连接蛋白、糖胺聚糖等,由小梁细胞 (trabecular meshwork cell, TMC) 产生,是形成组织复杂蛋白质网络的关键成分,填充细胞外空间并为组织提供结构支架。维持 ECM 的稳态有利于组织保持正常的结构和功能,保证房水流出通畅。ECM 表达增加会使小梁网 (human trabecular meshwork, HTM) 堵塞,从而阻碍房水流出^[17-18]。

在创伤组织中,SPARC 参与 ECM 的合成并抑制其降解,造成 ECM 的过度沉积而促进术后滤过通道纤维化的进程。Wei 等^[17]发现,在体外培养的人眼 TMC 中,特异性小干扰 RNA (siRNA) 抑制 SPARC 的表达使 I / III 型胶原蛋白表达增多,纤维连接蛋白减少。Oh 等^[7]通过建立体外灌注模型上调 SPARC 的表达,造成 I / IV 型胶原蛋白以及纤维连接蛋白含量增加,而对 VI 型胶原蛋白及层粘连蛋白的表达无影响;在体外培养的 HTM 细胞中,SPARC 的过表达使 I / III / IV 型胶原蛋白、纤维连接蛋白和层粘连蛋白的表达均增多。动物研究^[18]发现:SPARC 是调控 TGF- β 2 介导的 ECM 表达的关键节点;在 *Sparc* 基因敲除小鼠体内,由 TGF- β 2 介导的 IV 型胶原蛋白及纤维连接蛋白表达减少。此外,SPARC 可作为保护性蛋白抑制 ECM 的降解。

2.2 SPARC 对血管再生的影响

青光眼滤过术后结膜下血管增生和成纤维细胞的异常增加可导致肉芽组织和纤维结构增生,这一过程是导致滤过泡瘢痕化以及手术失败的重要原因^[19]。生理状态下,血管再生为组织生长和创伤修复提供必要的营养和有氧环境;病理状态下,异常的血管再生与糖尿病视网膜病变、早产儿视网膜病变、视网膜静脉阻塞、年龄相关性黄斑病变等眼科疾病均相关^[20]。

动物实验^[21]表明,在多种组织毛细血管中均检测到 SPARC 的表达,而 *Sparc* 基因敲除小鼠模型中血管数量和血管成熟度均降低。Seet 等^[22]应用小鼠模型系统性分析了青光眼滤过术后创伤修复的不同阶段;其中,早期的急性炎症反应阶段表现为炎症细胞的渗出增加,这一过程

与血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、趋化因子配体 CXCL、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 表达升高相关。缺血性视网膜病变研究^[23]发现, SPARC 和 VEGF 之间存在正反馈的调节作用。此外, SPARC 抑制内皮细胞和成纤维细胞的扩散, 并增强内皮细胞的通透性, 发挥调节血管再生的作用^[24]。以上研究表明, SPARC 可通过多种途径发挥促进血管再生和纤维化的作用。

然而, 关于胃癌、结肠癌、乳腺癌等的肿瘤研究^[25]认为, SPARC 作为血管再生的抑制因子发挥着抗肿瘤作用。SPARC 通过与 VEGF 结合, 抑制 VEGF 的磷酸化而使 VEGF 活性降低, 从而抑制 VEGF 诱导的血管生成和内皮再生过程。说明 SPARC 在部分情况下促进血管生成, 而在其他情况下发挥抗血管生成作用, 是血管生成过程中的关键调节因子, 也体现了 SPARC 功能的复杂性。

2.3 SPARC 在人眼球筋膜囊成纤维细胞中的抗纤维化作用

人眼球筋膜囊成纤维细胞 (human Tenon's capsule fibroblast, HTF) 是参与形成结膜下瘢痕化的主要细胞, 对 HTF 的研究有助于了解不同因素对于滤过泡瘢痕化影响的机制。HTF 主要通过分泌大量 ECM 促进滤过泡瘢痕化的形成^[26], 因此研究 HTF 增殖的调控对于抗滤过泡瘢痕化至关重要。Przekora 等^[26]认为, 在青光眼滤过术期间进行的组织活检以及体外 HTF 培养分析可以发挥指导治疗及患者预后的作用。Seet 等^[27]发现, SPARC 敲除的 HTF 增殖和坏死无明显变化, 但迁移能力较差, 同时胶原收缩能力降低; I 型胶原蛋白、MMP-2/9/14、IL-8、单核细

胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein 1, MCP-1) 和 TGF- β 2 等表达降低; 此外, TGF- β 2 介导的 I 型胶原蛋白和纤维连接蛋白表达上调过程被抑制。而 Nakamura-Shibasaki 等^[28]的研究表明, MMP 作为细胞外蛋白水解酶, 由活化的成纤维细胞和巨噬细胞在组织修复期间产生, SPARC 通过调控 MMP-2/9/14 的表达从而参与 MMP 相关的 ECM 重塑、胶原收缩以及瘢痕形成过程。

3 总结与展望

尽管青光眼滤过术的技术在不断发展和创新, 但结膜下滤过泡纤维化仍然是导致手术失败的首要原因。抗增殖药物 MMC 和 5-FU 一定程度上减少了纤维化的发生, 提高了手术成功率, 但其伴随的细胞毒性等不良反应不容忽视。因此, 需要进一步发展疗效确切的能够选择性减少创伤后纤维化和炎症反应的抗瘢痕化药物。

SPARC 可能成为抗瘢痕治疗的新靶点。原因如下: 首先, SPARC 在重建组织和愈合伤口, 特别是纤维化的组织中表达显著升高^[29]; 体内外实验均证实, 敲除 *Sparc* 基因可导致胶原纤维的改变, 并在伤口愈合期间延迟纤维化^[30]。其次, 在创伤活化组织中, SPARC 被特异性诱导表达增高, 这意味着 SPARC 可能对稳态组织作用不大, 而在组织更新过程发挥重要意义, 预计降低 SPARC 的表达不会对正常组织产生不利影响。因此, SPARC 在特异性和安全性等方面均优于传统抗代谢药物。SPARC 作为抗瘢痕治疗潜在的作用靶点, 有必要对其分子生物学和相关的瘢痕化机制方面开展进一步的研究。

参·考·文·献

- [1] Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020[J]. Br J Ophthalmol, 2006, 90(3): 262-267.
- [2] Sawchyn AK, Slabaugh MA. Innovations and adaptations in trabeculectomy[J]. Curr Opin Ophthalmol, 2015, 27(2): 158-163.
- [3] Md Noh SM, Sheikh Abdul Kadir SH, Bannur ZM, et al. Effects of ranibizumab on the extracellular matrix production by human Tenon's fibroblast[J]. Exp Eye Res, 2014, 127: 236-242.
- [4] De Fendi LI, Arruda GV, Scott IU, et al. Mitomycin C versus 5-fluorouracil as an adjunctive treatment for trabeculectomy: a meta-analysis of randomized clinical trials[J]. Clin Exp Ophthalmol, 2014, 41(8): 798-806.
- [5] Yamamoto T, Sawada A, Mayama C, et al. The 5-year incidence of bleb-related infection and its risk factors after filtering surgeries with adjunctive mitomycin C: collaborative bleb-related infection incidence and treatment study 2[J]. Ophthalmology, 2014, 121(5): 1001-1006.
- [6] Al-Dabbagh N, Al-Shahrani H, Al-Dohayan N, et al. The SPARC-related modular calcium binding protein 2 (SMOC2) gene polymorphism in primary glaucoma: a case-control study[J]. Clin Ophthalmol, 2017, 11: 549-555.
- [7] Oh DJ, Kang MH, Ooi YH, et al. Overexpression of SPARC in human trabecular meshwork increases intraocular pressure and alters extracellular matrix[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(5): 3309-3319.
- [8] Wong SL, Sukkar MB. The SPARC protein: an overview of its role in lung cancer and pulmonary fibrosis and its potential role in chronic airways disease[J]. Br J Pharmacol, 2017, 174(1): 3-14.
- [9] Toba H, de Castro Brás LE, Baicu CF, et al. Increased ADAMTS1 mediates SPARC-dependent collagen deposition in the aging myocardium[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2016, 310(11): E1027-E1035.
- [10] Seet LF, Tan YF, Toh LZ, et al. Targeted therapy for the post-operative conjunctiva: SPARC silencing reduces collagen deposition[J]. Br J Ophthalmol, 2018, 102(10): 1460-1470.
- [11] Yamanaka O, Kitano-Izutani A, Tomoyose K, et al. Pathobiology of wound healing after glaucoma filtration surgery[J]. BMC Ophthalmol, 2015, 15(Suppl 1): 157.
- [12] Nakamura M, Tokura Y. Epithelial-mesenchymal transition in the skin[J]. J Dermatol Sci, 2011, 61(1): 7-13.
- [13] Chatterjee A, Villarreal G Jr, Rhee DJ. Matricellular proteins in the trabecular meshwork: review and update[J]. J Ocul Pharmacol Ther, 2014, 30(6): 447-463.
- [14] Seet LF, Tong L, Su R, et al. Involvement of SPARC and MMP-3 in the pathogenesis of human pterygium[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(2): 587-595.
- [15] Scavelli K, Chatterjee A, Rhee DJ. Secreted protein acidic and rich in cysteine in ocular tissue[J]. J Ocul Pharmacol Ther, 2015, 31(7): 396-405.
- [16] Zhang Z, Miao Y, Wang J, et al. Matricellular protein levels in aqueous humor

- and surgical outcomes of trabeculectomy[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018, 59(10): 3906-3910.
- [17] Wei HY, Liu JL, Lv BJ, et al. SPARC modulates expression of extracellular matrix genes in human trabecular meshwork cells[J]. Acta Ophthalmol, 2012, 90(2): E138-E143.
- [18] Swaminathan SS, Oh DJ, Kang MH, et al. TGF- β 2-mediated ocular hypertension is attenuated in SPARC-null mice[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55(7): 4084-4097.
- [19] Kim M, Lee C, Payne R, et al. Angiogenesis in glaucoma filtration surgery and neovascular glaucoma: a review[J]. Surv Ophthalmol, 2015, 60(6): 524-535.
- [20] Crawford TN, Alfaro DV 3rd, Kerrison JB, et al. Diabetic retinopathy and angiogenesis[J]. Curr Diabetes Rev, 2009, 5(1): 8-13.
- [21] Arnold SA, Rivera LB, Miller AF, et al. Lack of host SPARC enhances vascular function and tumor spread in an orthotopic murine model of pancreatic carcinoma[J]. Dis Model Mech, 2010, 3(1-2): 57-72.
- [22] Seet LF, Finger SN, Chu SW, et al. Novel insight into the inflammatory and cellular responses following experimental glaucoma surgery: a roadmap for inhibiting fibrosis[J]. Curr Mol Med, 2013, 13(6): 911-28.
- [23] Sobeih D, Hussein KA, Said N, et al. Deletion of SPARC enhances retinal vaso-obliteration in mouse model of oxygen-induced retinopathy[J]. HSOA J Ophthalmol Clin Res, 2014, 1(1): pii: 002.
- [24] Rosset EM, Trombetta-Esilva J, Hepfer G, et al. SPARC and the N-propeptide of collagen I influence fibroblast proliferation and collagen assembly in the periodontal ligament[J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0173209.
- [25] Chlenski A, Liu S, Guerrero L J, et al. SPARC expression is associated with impaired tumor growth, inhibited angiogenesis and changes in the extracellular matrix[J]. Int J Cancer, 2006, 118(2): 310-316.
- [26] Przekora A, Zarnowski T, Ginalska G. A simple and effective protocol for fast isolation of human Tenon's fibroblasts from a single trabeculectomy biopsy: a comparison of cell behaviour in different culture media[J]. Cell Mol Biol Lett, 2017, 22: 5.
- [27] Seet LF, Su R, Toh LZ, et al. *In vitro* analyses of the anti-fibrotic effect of SPARC silencing in human Tenon's fibroblasts: comparisons with mitomycin C[J]. J Cell Mol Med, 2012, 16(6): 1245-1259.
- [28] Nakamura-Shibasaki M, Ko JA, Takenaka J, et al. Matrix metalloproteinase and cytokine expression in Tenon fibroblasts during scar formation after glaucoma filtration or implant surgery in rats[J]. Cell Biochem Funct, 2013, 31(6): 482-488.
- [29] Zhou X, Tan FK, Guo X, et al. Attenuation of collagen production with small interfering RNA of SPARC in cultured fibroblasts from the skin of patients with scleroderma[J]. Arthritis Rheum, 2006, 54(8): 2626-2631.
- [30] Seet LF, Su R, Barathi VA, et al. SPARC deficiency results in improved surgical survival in a novel mouse model of glaucoma filtration surgery[J]. PLoS One, 2010, 5(2): e9415.

[收稿日期] 2019-01-02

[本文编辑] 瞿麟平

“双一流”暨高水平地方高校建设项目

高原学科——医学技术

将医学检验技术专业、医学影像技术专业、听力言语康复学专业建设为国内一流专业，使医学技术类学科跻身国内领先学科；面向国际学科前沿，瞄准国家和上海市重大发展战略需求，最终将本学科部分专业建成国内领先、国际具有影响力的上海市特色优势学科，提升在国际专业领域的影响力。

