

## 综述

## 人角膜内皮细胞自体再生的研究进展

陈 瑾, 傅 瑶

上海交通大学医学院附属第九人民医院眼科, 上海市眼眶病眼肿瘤重点实验室, 上海 200011

**[摘要]** 人角膜内皮细胞 (human corneal endothelial cells, HCECs) 对于维持角膜透明性非常重要, 但胚胎发育后该细胞停滞于细胞周期G1期, 常无法进行增殖与再生。伴随着角膜的发育与年龄的增长, HCECs密度不断下降, 且全身性因素及眼部疾病又可进一步加剧HCECs的缺失, 造成角膜混浊与水肿, 最终进展为视力损害。因此, HCECs的再生一直是角膜内皮研究领域的热点。目前, 细胞疗法介导的外源性角膜内皮功能重建与内源性HCECs自体再生均已取得了卓有成效的进展, 其中HCECs自体再生则是更加便捷且更符合生理学的治疗方案。基于此, 该文从手术治疗、基因治疗以及药物治疗这三方面对HCECs自体再生的策略及与之相关的技术进行汇总与分析。

**[关键词]** 人角膜内皮细胞; 细胞增殖; 自体再生; 手术治疗; 基因治疗; 药物治疗

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1674-8115.2023.06.015 **[中图分类号]** R77 **[文献标志码]** A

## Research progress in autologous regeneration of human corneal endothelial cells

CHEN Jin, FU Yao

Department of Ophthalmology, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine; Shanghai Key Laboratory of Orbital Diseases and Ocular Oncology, Shanghai 200011, China

**[Abstract]** Human corneal endothelial cells (HCECs) are very important for maintaining corneal transparency, but HCECs remain arrested at the G1 phase after embryonic development and could not proliferate and regenerate *in vivo*. The density of HCECs decreases spontaneously with corneal development and aging, while systemic factors and corneal diseases can further cause a massive loss to HCECs, lead to corneal opacity and edema and ultimately induce vision impairment. Therefore, the regeneration of HCECs has always been a heated topic in the field of corneal endothelial research. Currently, function restoration of exogenous corneal endothelium mediated by cell therapy and autologous regeneration of endogenous HCECs have made amazing breakthroughs, with endogenous HCECs autologous regeneration being a more convenient and physiological treatment option. This review summarizes and analyzes the strategies and related techniques that are currently applied to the autologous regeneration of HCECs in aspects of operative treatment, gene therapy and pharmacological treatment.

**[Key words]** human corneal endothelial cell (HCEC); cell proliferation; autologous regeneration; operative treatment; gene therapy; pharmacological treatment

人角膜是眼球壁外层前部的透明部分。从组织学的角度来讲, 角膜从外向内可分为5层, 包括上皮细胞层、前弹力层、基质层、后弹力层及内皮细胞层; 其中, 内皮细胞层由单层的六边形人角膜内皮细胞 (human corneal endothelial cells, HCECs) 组成。虽然仅为单层细胞, 但HCECs致密的排列可发挥屏障作用, 且能够承担泵水功能, 对维持角膜透明状态有

着举足轻重的作用<sup>[1]</sup>。

HCECs在胚胎发育后停滞于细胞周期的G1期, 继而无法在体内增殖、再生, 且目前该机制尚未被完全阐明; 相关研究<sup>[1]</sup>显示, HCECs周期阻滞的影响因素可能包括细胞接触抑制、房水中的生长抑制因子 [如转化生长因子 $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )] 及角膜内皮细胞负性周期调节因子 (如细胞周期

**[基金项目]** 上海市教育委员会高峰高原学科建设计划 (20161421, 20191914)。

**[作者简介]** 陈 瑾 (1996—), 女, 博士生; 电子信箱: kookiethebunny@126.com。

**[通信作者]** 傅 瑶, 电子信箱: drfuyao@126.com。

**[Funding Information]** Shanghai Municipal Education Commission—Gaofeng Clinical Medicine Grant Support (20161421, 20191914).

**[Corresponding Author]** FU Yao, E-mail: drfuyao@126.com.



蛋白依赖性激酶抑制因子1b)的表达等。同时,随着角膜的发育与年龄的增长HCECs密度会不断降低,如孕6个月胎儿的HCECs密度约达10 840个/mm<sup>2</sup>,长至1岁时约为4 252个/mm<sup>2</sup>,10岁时约为(2 697±246)个/mm<sup>2</sup>,20~39岁时约为3 000个/mm<sup>2</sup>,此后该细胞的密度将按照每年约0.3%的速度下降<sup>[2]</sup>。除了个体的生长发育和衰老等客观因素,全身性因素(如糖尿病、高血压等)、眼部疾病(如角膜内皮营养不良、青光眼等)以及一些眼内手术等均可导致HCECs损伤。由于该细胞无法增殖,使得其损伤修复只能依靠未损伤的健康HCECs的形变及移行至损伤区进行。然而,当HCECs密度减少至500个/mm<sup>2</sup>以下时<sup>[3]</sup>,细胞形变与移行均无法维系正常的屏障和泵功能,继而不可避免地出现角膜内皮功能失代偿,引起角膜混浊与水肿,最终进展为视力损害。

事实上,HCECs是否具有再生能力一直存在争议。研究<sup>[4]</sup>表明,HCECs在角膜内皮层位置的不同会呈现出不同的特征;总的来说,相比于中央HCECs,外围HCECs的密度更高、有丝分裂活性更强、分化程度更低,且形态更偏向于球形。新加坡研究团队<sup>[5]</sup>通过进一步研究发现,在小梁网与外围HCECs中间的移行区存在着如巢蛋白、碱性磷酸酶、端粒酶等干性标志物表达的细胞,且提示这些细胞可能具有内皮前体样细胞的特性。基于此,研究人员提出了许多促进HCECs自体再生的策略并取得了一定的成果。本文即是针对目前HCECs自体再生的技术及其作用机制进行汇总,以期为开展相关基础和临床研究提供参考。

## 1 手术治疗

角膜移植手术是目前角膜内皮功能失代偿唯一有效的治疗方法,主要包括传统穿透性角膜移植术(penetrating keratoplasty, PKP)与内皮移植术,其中后者又可分为后弹力层剥除自动角膜内皮移植术(Descemet stripping automated endothelial keratoplasty, DSAEK)和后弹力层角膜内皮移植术(Descemet's membrane endothelial keratoplasty, DMEK)<sup>[1]</sup>。研究<sup>[6]</sup>显示,PKP可有效提高患者的视力,但免疫排斥反应及并发症的发生概率均较高。相对而言,DSAEK及DMEK的移植排斥率较低,术中、术后的并发症较少,患者视力恢复更快。但尽管如此,

DMEK仍存在植片脱落的风险,对手术操作的要求较高<sup>[7]</sup>。

近年来,研究人员发现部分Fuchs角膜内皮营养不良(Fuchs endothelial corneal dystrophy, FECD)患者行DMEK后,虽有移植物脱落,但仍出现了角膜水肿自发清除的现象,而后研究人员又报道了剥离患者角膜后弹力层后,其角膜水肿自发清除的病例<sup>[8-9]</sup>。鉴于此,临床上提出仅剥离后弹力层而无角膜内皮移植的手术(Descemetorhexis without endothelial keratoplasty, DWEK)<sup>[2]</sup>。目前,有关DWEK的治疗机制尚不明确,研究观点多集中于周围HCECs的迁移及细胞接触抑制的解除方面。就其疗效而言,DWEK在治疗中轻度FECD患者时可有效减轻角膜水肿,但患者的恢复期显著延长;且中央后弹力层剥离大小、遗传因素、环境因素及全身性疾病都会影响DWEK的疗效<sup>[10]</sup>。目前,有关DWEK研究的样本量较少,随访周期较短,所获结论尚存在一定的局限性,仍需大样本量的临床研究对其机制及最佳适应证进行探索。

## 2 基因治疗

基因突变是角膜内皮疾病的重要病因,且基因的改变可影响正常HCECs的功能。目前已发现了4类具有明确遗传原因的角膜内皮营养不良,分别为后部多形性角膜营养不良、先天性遗传性角膜内皮营养不良、X连锁性角膜内皮营养不良以及最常见的FECD<sup>[1]</sup>。以FECD为例,其最常见的遗传学改变是转录因子4(transcription factor 4, TCF4)中CTG的重复扩增<sup>[11]</sup>。研究<sup>[1-2]</sup>显示,临床上常用的基因疗法包括基因修饰、反义寡核苷酸(antisense oligonucleotide, ASO)技术、成簇规律间隔短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeat, CRISPR)相关蛋白9(CRISPR-associated nuclease 9, CRISPR/Cas9)基因编辑等。该疗法可通过纠正相应的基因突变或避免其相关影响来促进HCECs再生,具有良好的临床应用前景。

### 2.1 基因修饰

基因修饰又称基因增补,是将目的基因通过各类载体(通常为病毒载体)导入病变细胞或其他细胞,利用目的基因的表达产物对缺陷细胞的功能进行修饰

或使其原有的某些功能加强。部分研究发现,通过对供体角膜组织行基因修饰,可促进HCECs再生并提高角膜移植的成功率。FUCHSLUGER等<sup>[12]</sup>发现,将B细胞淋巴瘤因子2 xL (human B-cell 2 xL, *Bcl-xL*)及*p35*基因导入人角膜组织,可提高HCECs的存活率并能够较长时间地维持该细胞的正常形态。KAMPIK等<sup>[13]</sup>在人角膜组织中过表达闭锁小带蛋白-1相关性核酸结合蛋白,可成功提高HCECs密度。在角膜内皮病变方面,TOYONO等<sup>[14]</sup>在角膜组织中通过慢病毒过表达微核糖核酸-29b,以减少细胞外基质的过度沉积(即FECD的主要病理表现之一),从而为FECD的治疗提供新思路。目前,对于载体系统的优化仍需要更多的基础与临床研究加以支持,包括提高载体的基因装载能力、增强载体的特异性与靶向性、减轻载体对机体的免疫原性等方面,从而提高基因修饰的效率。

## 2.2 ASO技术

ASO技术是将一类人工或生物合成的与目的DNA或RNA互补的特异序列导入细胞,通过特异性结合来抑制甚至阻断目的基因的转录和/或翻译,达到人工调控基因表达的目的。该基因治疗方法适用于由RNA重复翻译产生有毒肽链引起的遗传疾病<sup>[1]</sup>,且相关研究人员已利用该技术开展了针对CTG碱基序列重复扩增导致的FECD的治疗<sup>[15-17]</sup>。而ASO技术的部分缺点,如ASO难以精准靶向HCECs,体内降解速度较快导致患者需终身用药,可能与基因组其他CTG重复区域结合从而对细胞的正常生理功能产生未知的影响等,也限制了其在临床上的使用<sup>[1]</sup>。

## 2.3 CRISPR/Cas9基因编辑

CRISPR/Cas9基因编辑的过程是将Cas9由特异性向导RNA序列引导至靶序列处,剪切双链DNA以实现基因组DNA序列的编辑。作为一个相对较新的技术手段,CRISPR/Cas9基因编辑应用于治疗角膜内皮营养不良的研究报道仍相对较少<sup>[1]</sup>。RONG等<sup>[18]</sup>使用该技术对CTG碱基序列异常扩增导致的FECD患者角膜内皮细胞开展了体外实验,结果发现经基因编辑后CUG碱基序列重复的异常mRNA有显著减少,细胞状态得以改善。UEHARA等<sup>[19]</sup>在Ⅷ型胶原a2 (collagen VIIIa2, *Col8a2*)突变导致的早发性FECD小鼠模型中,利用这一技术靶向*COL8A2*的起

始密码子来阻断其表达,结果显示其可有效恢复小鼠角膜内皮细胞功能,减轻角膜的水肿程度。以上结果均提示了CRISPR/Cas9基因编辑在治疗角膜内皮营养不良中的应用前景,但目前尚未开发出将Cas9和向导RNA序列靶向传递至HCECs的途径,且CRISPR/Cas9基因编辑的安全性还有待考究<sup>[2]</sup>。

## 3 药物治疗

相对于手术治疗和基因治疗,药物治疗是一种更为便捷的途径。一方面该治疗可以局部给药的方式避免可能出现的全身并发症或手术相关并发症,另一方面在治疗时可实时观察效果,若无效则可及时采取其他补救措施。目前,研究较为广泛的药物为生长因子及Rho相关蛋白激酶(Rho-associated protein kinase, ROCK)抑制剂<sup>[1]</sup>。此外,研究人员还针对FECD的病理特征[如HCECs发生内皮-间质转化(endothelial-to-mesenchymal transition, EndMT)、氧化应激的增加导致HCECs凋亡等],利用TGF- $\beta$ 抑制剂、抗氧化剂来发挥治疗作用。

### 3.1 生长因子

相关研究已证实多种生长因子可用于促进HCECs的增殖和迁移,如表皮生长因子<sup>[20]</sup>、血小板衍生生长因子<sup>[21]</sup>和成纤维细胞生长因子<sup>[22]</sup>等。目前,生长因子的应用形式主要有2种:一是作为供体角膜保存或细胞培养液中的添加剂,减少细胞失活;二是作为临床上的治疗剂,促进HCECs的再生及损伤修复<sup>[23]</sup>。尽管生长因子能够发挥促HCECs再生的作用,但其过度使用易引起EndMT<sup>[1]</sup>,导致角膜透明度下降。除了上述提到的3种常见生长因子外,近期有研究开发出了一种工程成纤维细胞生长因子1分子,该药物在体内外均可有效且安全地促进HCECs的增殖、再生,目前其在美国已处于I、II期临床试验阶段<sup>[24]</sup>。

### 3.2 Rho/ROCK通路及ROCK抑制剂

ROCK是一种丝/苏氨酸蛋白激酶,也是目前功能研究最为详细的Rho下游靶效应分子;其包含有2种亚型即ROCK I、ROCK II,二者均参与了细胞的有丝分裂、黏附、骨架调整等一系列重要的细胞生命过程。研究<sup>[25]</sup>显示,ROCK的高表达或过度激活

均可影响细胞的正常生长, 而ROCK抑制剂则能有效调节该激酶的活性, 促进细胞增殖。

近年来, ROCK抑制剂在促进HCECs再生的研究中已取得了较大进展。4-[ (1R)-1-氨基乙基]-N-(吡啶-4-基)环己烷-1-甲酰胺二盐酸盐(Y-27632)是一种选择性蛋白激酶抑制剂, 对ROCK I、ROCK II亚型的活性均有抑制作用<sup>[26-27]</sup>。基于Y-27632在兔、猴角膜内皮损伤模型中表现出明显的修复效果, 日本学者随即开展了相关临床研究。即4名FECD患者及4名大疱性角膜病变患者被纳入研究, 以局部滴眼的形式连续7 d给药, 每日6次、每次10 mmol/L Y-27632; 在治疗后的6个月随访期间, FECD患者中央角膜的厚度下降、水肿有明显改善, 而大疱性角膜病变患者的治疗效果则不明显<sup>[28-29]</sup>。随后, OKUMURA等<sup>[30]</sup>调整了Y-27632的使用剂量及治疗持续时间, 在另外3名白内障术后的大疱性角膜病变患者中进行了试验, 结果显示3个月后患者的角膜水肿有明显改善。这些研究均说明Y-27632具有促进HCECs再生、修复角膜内皮损伤的作用, 但其治疗效果与患者的疾病情况、药物使用剂量和治疗时间有关。(2S)-1-[ (4-氟-5-异喹啉基)磺酰基]六氢-2-甲基-1H-1, 4-二氮杂草单盐酸盐二水合物(瑞舒地尔)也是一类ROCK抑制剂, 其对ROCK I、ROCK II亚型的亲和力高于Y-27632, 可有效促进细胞的增殖、黏附及迁移, 以实现HCECs再生<sup>[31]</sup>。在澳大利亚的一项研究<sup>[32]</sup>中, 瑞舒地尔用于治疗DWEK后的FECD患者; 结果显示, 1个月后患者的角膜中央内皮重新生长, 角膜水肿减轻。以上结果均表明, ROCK抑制剂在治疗角膜内皮疾病、促进HCECs再生与功能恢复中有一定的成效。但上述研究的受试者数量较少, 因此仍需要更多的研究者开展更大规模的临床试验, 以明确ROCK抑制剂的治疗剂量、疗程及适应证等。

### 3.3 TGF- $\beta$ 通路及TGF- $\beta$ 抑制剂

TGF- $\beta$ 具有广泛的生物学功能, 如参与细胞生长及分化、创伤修复、机体免疫、调节基质合成等。HCECs表面可同时表达TGF- $\beta$ 的3种受体, 且房水中的TGF- $\beta$ 与HCECs自身合成的TGF- $\beta$ 均可对HCECs产生重要的影响<sup>[33-34]</sup>。研究<sup>[35]</sup>发现, 在兔角膜内皮细胞中, TGF- $\beta$ 能够降低细胞周期蛋白依赖性激酶4(cyclin-dependent protein kinase, CDK4)的表达, 从

而阻止兔角膜内皮细胞进入S期, 干扰其细胞周期的进展。此外, TGF- $\beta$ 还可刺激内皮细胞发生EndMT<sup>[36]</sup>。有研究<sup>[37-38]</sup>显示, 在体外TGF- $\beta$ 信号通路抑制剂4-[4-(1, 3-苯并二氧戊环-5-基)-5-(2-吡啶基)-1H-咪唑-2-基]苯甲酰胺(SB431542)可促进细胞的增殖并降低EndMT的发生。基于上述研究我们发现, TGF- $\beta$ 作为普遍存在的多功能细胞因子, 可参与机体的众多生理过程; 且TGF- $\beta$ 信号通路抑制剂具有一定的治疗潜力, 但尚缺少临床研究, 使用时需慎重考量。

### 3.4 氧化应激与抗氧化剂

随着对FECD病理机制的不断深入, 有学者认为FECD患者角膜氧化应激的增加可导致内皮细胞DNA氧化损伤、内皮细胞形态学改变和细胞凋亡<sup>[11]</sup>。在紫外线小鼠角膜内皮损伤动物模型<sup>[39]</sup>以及COL8A2敲除的FECD小鼠模型<sup>[40]</sup>中, 活性氧清除剂N-乙酰半胱氨酸能够显著降低角膜内皮细胞的死亡率。萝卜硫素是存在于多种蔬菜的天然抗氧化剂, 可磷酸化激活核因子E2相关因子2(nuclear factor-erythroid 2-related factor 2, Nrf2); 而Nrf2则是维持细胞内氧化还原稳态的中枢调节因子, 在相关体外实验中萝卜硫素的抗氧化、保护内皮细胞的作用得到了证实<sup>[41]</sup>。此外, 选择性胆碱能M2受体激动剂氧特莫林和非甾体抗炎药甲芬那酸也在部分研究中被证实能够通过减少氧化应激来提高HCECs的存活率<sup>[42]</sup>。以上研究均表明, 氧化应激参与FECD的发生, 与HCECs损伤息息相关; 而抗氧化剂则有望成为角膜内皮损伤的治疗药物, 其适应证、使用剂量、给药方式等也有待在更多的临床实验中加以探究。

## 4 总结与展望

基于HCECs特殊的增殖特性, 实现其损伤修复及再生一直是角膜内皮研究领域的难点和热点。随着手术技术的不断提升, 成分角膜移植的革新大幅提高了角膜移植的成功率, 但全球角膜供体稀缺依旧是无法逾越的鸿沟。目前, 尽管组织工程角膜内皮植片的突破性成功已为治疗角膜内皮疾病带来了新的希望, 基于手术治疗、基因治疗及药物治疗的HCECs自体再生仍是最符合生理学、创伤更小、临床操作更方便、更为患者所接受的治疗方案。然而, 在广泛应用

于临床治疗前, HCECs 自体再生的治疗效果与安全性还需大量的实验进行验证, 同时也有必要对 HCECs 的增殖特性、再生机制等进行更深入的探索, 从而为今后角膜内皮疾病的治疗提供新方向。

#### 利益冲突声明/Conflict of Interests

所有作者声明不存在利益冲突。

All authors disclose no relevant conflict of interests.

#### 作者贡献/Authors' Contributions

陈瑾负责论文初稿的撰写, 傅瑶提出构思并参与论文的审阅和修订。2位作者均阅读并同意了最终稿件的提交。

CHEN Jin drafted the original manuscript. FU Yao conceived the idea and participated in the reviewing and editing. Both authors have read the last version of paper and consented for submission.

- Received: 2023-01-16
- Accepted: 2023-05-30
- Published online: 2023-06-28

#### 参·考·文·献

- [1] CATALÀ P, THURET G, SKOTTMAN H, et al. Approaches for corneal endothelium regenerative medicine[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2022, 87: 100987.
- [2] 任志超, 李宗义, 谢立信. 人角膜内皮细胞再生的研究进展[J]. *中华眼科杂志*, 2022, 58(10): 821-830.  
REN Z C, LI Z Y, XIE L X. Research advances in human corneal endothelial cell regeneration[J]. *Chinese Journal of Ophthalmology*, 2022, 58(10): 821-830
- [3] JOYCE N C. Proliferative capacity of corneal endothelial cells[J]. *Exp Eye Res*, 2012, 95(1): 16-23.
- [4] SIE N M, YAM G H F, SOH Y Q, et al. Regenerative capacity of the corneal transition zone for endothelial cell therapy[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 523.
- [5] YAM G H, SEAH X, YUSOFF N Z B M, et al. Characterization of human transition zone reveals a putative progenitor-enriched niche of corneal endothelium[J]. *Cells*, 2019, 8(10): 1244.
- [6] PRICE M O, MEHTA J S, JURKUNAS U V, et al. Corneal endothelial dysfunction: evolving understanding and treatment options[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2021, 82: 100904.
- [7] DUNKER S L, DICKMAN M M, WISSE R P L, et al. Descemet membrane endothelial keratoplasty *versus* ultrathin descemet stripping automated endothelial keratoplasty: a multicenter randomized controlled clinical trial[J]. *Ophthalmology*, 2020, 127(9): 1152-1159.
- [8] DIRISAMER M, YEH R Y, VAN DIJK K, et al. Recipient endothelium may relate to corneal clearance in descemet membrane endothelial transfer[J]. *Am J Ophthalmol*, 2012, 154(2): 290-296. e1.
- [9] SHAH R D, RANDLEMAN J B, GROSSNIKLAUS H E. Spontaneous corneal clearing after Descemet's stripping without endothelial replacement[J]. *Ophthalmology*, 2012, 119(2): 256-260.
- [10] BORKAR D S, VELDMAN P, COLBY K A. Treatment of fuchs endothelial dystrophy by descemet stripping without endothelial keratoplasty[J]. *Cornea*, 2016, 35(10): 1267-1273.
- [11] ONG TONE S, KOCABA V, BÖHM M, et al. Fuchs endothelial corneal dystrophy: the vicious cycle of Fuchs pathogenesis[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2021, 80: 100863.
- [12] FUCHSLUGER T A, JURKUNAS U, KAZLAUSKAS A, et al. Anti-apoptotic gene therapy prolongs survival of corneal endothelial cells during storage[J]. *Gene Ther*, 2011, 18(8): 778-787.
- [13] KAMPIK D, BASCHE M, GEORGIADIS A, et al. Modulation of contact inhibition by *ZO-1/ZONAB* gene transfer: a new strategy to increase the endothelial cell density of corneal grafts[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019, 60(8): 3170-3177.
- [14] TOYONO T, USUI T, VILLARREAL G Jr, et al. MicroRNA-29b overexpression decreases extracellular matrix mRNA and protein production in human corneal endothelial cells[J]. *Cornea*, 2016, 35(11): 1466-1470.
- [15] HU J X, RONG Z Y, GONG X, et al. Oligonucleotides targeting TCF4 triplet repeat expansion inhibit RNA foci and mis-splicing in Fuchs' dystrophy[J]. *Hum Mol Genet*, 2018, 27(6): 1015-1026.
- [16] HU J X, SHEN X L, RIGO F, et al. Duplex RNAs and ss-siRNAs block RNA foci associated with fuchs' endothelial corneal dystrophy[J]. *Nucleic Acid Ther*, 2019, 29(2): 73-81.
- [17] ZAROUCHLIOTI C, SANCHEZ-PINTADO B, HAFFORD TEAR N J, et al. Antisense therapy for a common corneal dystrophy ameliorates TCF4 repeat expansion-mediated toxicity[J]. *Am J Hum Genet*, 2018, 102(4): 528-539.
- [18] RONG Z Y, GONG X, HULLEMAN J D, et al. Trinucleotide repeat-targeting dCas9 as a therapeutic strategy for fuchs' endothelial corneal dystrophy[J]. *Transl Vis Sci Technol*, 2020, 9(9): 47.
- [19] UEHARA H, ZHANG X H, PEREIRA F, et al. Start codon disruption with CRISPR/Cas9 prevents murine Fuchs' endothelial corneal dystrophy[J]. *Elife*, 2021, 10: e55637.
- [20] 赵靖, 谢立信, 史伟云, 等. 表皮生长因子对猫角膜内皮细胞DNA合成的影响[J]. *眼科研究*, 2002, 20(5): 419-422.  
ZHAO J, XIE L X, SHI W Y, et al. Effects of epidermal growth factor on wound healing in cat corneal endothelial culture[J]. *Chinese Ophthalmic Research*, 2002, 20(5): 419-422.
- [21] PETSOGLOU C, WEN L, HOQUE M, et al. Effects of human platelet lysate on the growth of cultured human corneal endothelial cells[J]. *Exp Eye Res*, 2021, 208: 108613.
- [22] LEE J G, 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.
- [23] 钟一声. 生长因子与角膜内皮细胞[J]. *眼科研究*, 1999, 17(4): 314-316.  
ZHONG Y S. Growth factors and corneal endothelium[J]. *Chin Ophthal Res*, 1999, 17(4): 314-316.
- [24] XIA X, BABCOCK J P, BLABER S I, et al. Pharmacokinetic properties of 2nd-generation fibroblast growth factor-1 mutants for therapeutic application[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e48210.
- [25] SYED Z A, RAPUANO C J. Rho kinase (ROCK) inhibitors in the management of corneal endothelial disease[J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2021, 32(3): 268-274.
- [26] OKUMURA N, UENO M, KOIZUMI N, et al. Enhancement on primate corneal endothelial cell survival *in vitro* by a ROCK inhibitor[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(8): 3680-3687.
- [27] PIPARELLI A, ARSENIJEVIC Y, THURET G, et al. ROCK inhibitor enhances adhesion and wound healing of human corneal endothelial cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e62095.
- [28] KOIZUMI N, OKUMURA N, UENO M, et al. Rho-associated kinase inhibitor eye drop treatment as a possible medical treatment for Fuchs corneal dystrophy[J]. *Cornea*, 2013, 32(8): 1167-1170.
- [29] OKUMURA N, KOIZUMI N, KAY E P, et al. The ROCK inhibitor eye drop accelerates corneal endothelium wound healing[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(4): 2493-2502.

- [30] OKUMURA N, INOUE R, OKAZAKI Y, et al. Effect of the Rho kinase inhibitor Y-27632 on corneal endothelial wound healing[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(10): 6067-6074.
- [31] SCHLÖTZER-SCHREHARDT U, ZENKEL M, STRUNZ M, et al. Potential functional restoration of corneal endothelial cells in Fuchs endothelial corneal dystrophy by ROCK inhibitor (ripiasudil)[J]. *Am J Ophthalmol*, 2021, 224: 185-199.
- [32] MOLONEY G, PETSOGLOU C, BALL M, et al. Descemetorhexis without grafting for Fuchs endothelial dystrophy-supplementation with topical ripasudil[J]. *Cornea*, 2017, 36(6): 642-648.
- [33] SANTERRE K, CORTEZ GHIO S, PROULX S. TGF- $\beta$ -mediated modulation of cell-cell interactions in postconfluent maturing corneal endothelial cells[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2022, 63(11): 3.
- [34] MIN S H, LEE T I, CHUNG Y S, et al. Transforming growth factor- $\beta$  levels in human aqueous humor of glaucomatous, diabetic and uveitic eyes[J]. *Korean J Ophthalmol*, 2006, 20(3): 162-165.
- [35] KIM T Y, KIM W I, SMITH R E, et al. Differential activity of TGF- $\beta$ 2 on the expression of p27Kip1 and Cdk4 in actively cycling and contact inhibited rabbit corneal endothelial cells[J]. *Mol Vis*, 2001, 7: 261-270.
- [36] WILSON S E, SHJU T M, SAMPAIO L P, et al. Corneal fibroblast collagen type IV negative feedback modulation of TGF  $\beta$ : a fibrosis modulating system likely active in other organs[J]. *Matrix Biol*, 2022, 109: 162-172.
- [37] SMERINGAIOVA I, UTHEIM T P, JIRSOVA K. *Ex vivo* expansion and characterization of human corneal endothelium for transplantation: a review[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 554.
- [38] OKUMURA N, HASHIMOTO K, KITAHARA M, et al. Activation of TGF- $\beta$  signaling induces cell death *via* the unfolded protein response in Fuchs endothelial corneal dystrophy[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 6801.
- [39] LIU C L, MIYAJIMA T, MELANGATH G, et al. Ultraviolet a light induces DNA damage and estrogen-DNA adducts in Fuchs endothelial corneal dystrophy causing females to be more affected[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(1): 573-583.
- [40] KIM E C, MENG H, JUN A S. N-Acetylcysteine increases corneal endothelial cell survival in a mouse model of Fuchs endothelial corneal dystrophy[J]. *Exp Eye Res*, 2014, 127: 20-25.
- [41] ZIAEI A, SCHMEDT T, CHEN Y, et al. Sulforaphane decreases endothelial cell apoptosis in Fuchs endothelial corneal dystrophy: a novel treatment[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(10): 6724-6734.
- [42] KIM E C, TOYONO T, BERLINCKE C A, et al. Screening and characterization of drugs that protect corneal endothelial cells against unfolded protein response and oxidative stress[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(2): 892-900.

[本文编辑] 邢宇洋

## 学术快讯

### 上海交通大学医学院附属瑞金医院于颖彦团队就患者源性类器官发表权威综述

2023年6月,上海交通大学医学院附属瑞金医院于颖彦教授团队在国际癌症研究权威刊物 *Cancer Letters* 发表题为 *Patient-derived organoids in translational oncology and drug screening* 综述文章。该综述全面阐述了患者源性类器官 (patient-derived organoid, PDO) 从构建到发病机制以及药物筛选研究中的最新进展,在生物医药领域 PDO 模型日益受到重视的当下具有重要参考价值。该文指出同一类型癌症对于治疗反应的多样性与肿瘤细胞异质性密切相关; PDO 是药物敏感性评价的良好实验模型; PDO 培养过程中需要根据来源组织类型的不同调整培养基成分; 研发 PDO 与其他成分的共培养体系有助于拓展其应用领域。