

# 青光眼小鼠基因模型的研究进展

刘科琳, 许文晶, 胡萍, 裴颖

引用: 刘科琳, 许文晶, 胡萍, 等. 青光眼小鼠基因模型的研究进展. 国际眼科杂志 2023;23(6):933-937

作者单位: (130041) 中国吉林省长春市, 吉林大学白求恩第二医院

作者简介: 刘科琳, 毕业于吉林大学, 硕士, 研究方向: 青光眼、白内障。

通讯作者: 裴颖, 毕业于吉林大学, 博士, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 白内障. peiying@jlu.edu.cn

收稿日期: 2022-07-12 修回日期: 2023-05-05

## 摘要

青光眼作为目前全球首位不可逆性致盲眼病, 是具有遗传倾向的多因素复杂疾病, 病理性眼压升高是其危险因素。关于青光眼的发病机制尚不完全清楚, 现有研究多建立在动物模型的基础上, 以小鼠为主要研究对象, 通过实验诱导手段或转基因操作重建青光眼病理损伤过程, 进一步研究相关的发病机制和病理变化。实验诱导构建青光眼小鼠模型技术经过诸多学者的研究, 逐渐趋于成熟。而随着分子生物学和遗传学的研究深入, 越来越多的研究集中在青光眼的相关疾病基因上, 转基因小鼠模型成为近年的热点, 与实验操作控制单一因素相比, 基因编辑更能模拟出疾病发病的复杂过程。本文主要通过阐述相关青光眼小鼠转基因模型的研究进展, 为今后研究中模型的选择提供更完整的方向与策略。

**关键词:** 转基因; 青光眼; 眼压; 动物模型; 视网膜神经节细胞

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2023.6.10

## Research progress on genetic model of mouse with glaucoma

Ke-Lin Liu, Wen-Jing Xu, Ping Hu, Ying Pei

The Second Norman Bethune Hospital of Jilin University, Changchun 130041, Jilin Province, China

**Correspondence to:** Ying Pei. The Second Norman Bethune Hospital of Jilin University, Changchun 130041, Jilin Province, China. peiying@jlu.edu.cn

Received: 2022-07-12 Accepted: 2023-05-05

## Abstract

• Glaucoma, currently the world's first irreversible blindness, is a complex multifactorial disease with a genetic predisposition, and pathologically elevated

intraocular pressure is its risk factor. The pathogenesis of glaucoma is not fully understood, and most existing studies are based on animal models, with mice as the main research object, and the pathological damage process of glaucoma is reconstructed through experimental induction means or transgenic manipulation to further investigate the relevant pathogenesis and pathological changes. The technique of experimentally induced construction of glaucoma mouse models has been studied by many scholars and is gradually becoming mature. And as research in molecular biology and genetics has advanced, more and more studies have focused on the disease genes associated with glaucoma, and transgenic mouse models have become a hot topic in recent years. In contrast to experimental manipulation to control a single factor, gene editing is better able to simulate the complex process of disease pathogenesis. This paper focuses on providing a more complete direction and strategy for model selection in the future research by describing the progress of research on relevant transgenic mouse model of glaucoma.

• **KEYWORDS:** transgenic; glaucoma; intraocular pressure; animal models; retinal ganglion cell

**Citation:** Liu KL, Xu WJ, Hu P, et al. Research progress on genetic model of mouse with glaucoma. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023;23(6):933-937

## 0 引言

青光眼作为一类神经退行性疾病, 视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGC) 的死亡导致进行性、不可逆性视力丧失。病理性眼压 (intraocular pressure, IOP) 升高是青光眼的主要危险因素, 已经发现的与青光眼发病相关的因素包括高眼压、血流量减少、氧化应激、神经毒性及易感基因如 Optineurin、Myocilin<sup>[1]</sup> 等。降低眼压是目前青光眼治疗的重点, 药物治疗是常见的降眼压措施。青光眼动物模型的建立是目前研究疾病发病机制和药物设计的重要手段。然而, 青光眼的复杂性使得单一的动物模型不可能精确地模拟人类青光眼的的所有方面, 往往需要多种青光眼模型充分了解这类疾病的不同方面。现有的动物模型可以通过实验诱导产生, 也可以通过转基因获得。实验诱导型高眼压动物模型多通过前房阻塞、机械损伤等手段建立, 具有可操控性的优点; 而转基因高眼压动物模型具有可大量获得、减少动物饲养成本的优势, 小鼠的低成本和快速生长使其成为动物模型的理想研究对象。本文对国内外青光眼小鼠基因模型进行综述 (表 1), 为后续研究选择转基因模型提供一定的理论依据。

表1 青光眼小鼠基因模型

类型	品系	造模机制	造模时间	病理变化	模型评价
开角高眼压	C57BL/6	细菌重组过表达 Y437H	受精卵	IOP 升高 2mmHg, RGC 丢失 20%	优点:降低了实验时间和动物饲养成本 缺点:病理变化不显著
	C57BL/6J BALB/CJ	病毒诱导过表达 Y437H	6~7 月龄	IOP 升高 3mmHg, RGC 丢失约 30%	优点:克服目的基因递送不良 缺点:病理变化不显著/炎症反应
	C57BL/6	Y <sup>437H/+</sup> 和 Sod2 <sup>+/-</sup> 小鼠杂交获得	受精卵	IOP 升高 3.7~4.2mmHg, RGC 丢失 37%	基因突变与危险因素(氧化应激)的组合更接近人类青光眼的复杂致病机制
	C57BL/6	CRISPR/Cas9 沉默 P370L	受精卵	IOP 升高 7mmHg, RGC 丢失 24.06%±6.02%	首个探索 MYOCP370L 突变在青光眼中的发病机制的小鼠模型
	DBA/2J	DBA/2J 近交	-	与年龄相关	优点:眼压逐渐增加 缺点:角膜钙化/角膜新生血管/影响眼底可视度
闭角高眼压	C57BL/6J BALB/CJ	病毒诱导过表达 TGFβ2	6~8 月龄	IOP 升高 3mmHg	优点:克服目的基因递送不良 缺点:炎症反应
	C57BL/6J	Sh3pxd2b 自发突变	-	IOP 升高 15mmHg, RGC 丢失 15%	优点:降低了实验时间和动物饲养成本 缺点:角膜混浊/白内障
正常眼压	C57BL/6	Prss56 自发突变	-	IOP 升高 3mmHg	研究较少,尚不成熟
	C57BL/6J	CRISPR/Cas9 敲入含有 E50K 突变的 OPTN	受精卵	视网膜变薄 20μm	易受到氧化应激的影响,增强了 RGC 的年龄依赖性损失
	C57BL/6J	细菌重组过表达 TBK1	-	RGC 丢失 20%	证实了 TBK1 基因复制在人青光眼中的致病性

## 1 高眼压青光眼小鼠模型

### 1.1 开角型青光眼小鼠模型

**1.1.1 MYOC 小鼠模型** 原发性开角型青光眼(primary open angle glaucoma, POAG)是青光眼的常见形式之一,遗传上已经发现相关基因<sup>[2]</sup>。最早被发现的基因是 Myocilin 基因(MYOC)。MYOC 蛋白在小梁网(trabecular meshwork, TM)中积累,导致持续性内质网应激,最终可能引起 TM 细胞死亡、房水流出通路结构改变和眼压升高<sup>[3-4]</sup>,到目前为止,MYOC 基因中已经发现了 70 多种不同的青光眼相关突变,早期通过细菌重组技术将 Y437H 点突变引入 MYOC 基因构建开角型青光眼小鼠模型,此模型表现出与青光眼患者相似的病理变化,眼压升高约 2mmHg, RGC 丢失 20%<sup>[5]</sup>。2011 年, Zode 等<sup>[6]</sup>通过过表达含有 Y437H 突变的 MYOC 基因构建的转基因小鼠在 3 月龄时眼压升高约 3mmHg, 3~5 月龄时 RGC 丢失约 18%, 12~14 月龄时 RGC 丢失约 30%, 这类转基因小鼠的一系列表现如眼压升高、RGC 死亡和轴突变性等与 Y437H-MYOC 突变引起的 POAG 患者的表现非常相似。后续出现以病毒为载体,携带人类突变 MYOC 基因构建青光眼小鼠模型的新方法<sup>[7]</sup>。Joe 等<sup>[5]</sup>将 MYOC<sup>Y437H/+</sup>转基因小鼠与超氧化物歧化酶 2(Sod2)缺陷小鼠交配,产生双突变 MYOC<sup>Y437H/+</sup>/Sod2<sup>+/-</sup>小鼠,杂交小鼠既携带 Y437H 点突变的人类 MYOC 基因,同时具备 Sod2 基因杂合缺失,该模型与野生型小鼠相比,眼压升高更高,周围视网膜中 RGC 丢失约 37%。2022 年,首都医科大学团队证实 MYOC-N450Y 突变可以诱导内质网应激,激活自噬机制并导致青光眼<sup>[8]</sup>,首次构建了 Tg-MYOC<sup>P370L</sup>小鼠模型,转基因小

鼠从 5 月龄眼压开始升高, 9 月龄升高幅度达到 6mmHg, RGC 数量减少了 24.06%±6.02%, 且在视网膜中存在胶质细胞驱动神经炎症<sup>[9]</sup>。

**1.1.2 DBA/2J 小鼠模型** DBA/2J 近交系小鼠是应用最广泛的青光眼模型之一<sup>[10-11]</sup>, 基因 Tyrp1 突变导致虹膜基质萎缩, 基因 Gpnmb 突变导致虹膜色素分散, 进而影响房水流出引起眼压升高, 模型小鼠表现类似于人类的色素分散综合征(pigment dispersion syndrome, PDS)和色素性青光眼(pigmented glaucoma, PG)<sup>[12-13]</sup>。DBA/2J 小鼠眼压升高与视网膜、脉络膜循环血量减少和年龄增长存在一定关系<sup>[14]</sup>。DBA/2J 小鼠眼压升高的时间多在 6~16 月龄, 其中 8~9 月龄是大部分小鼠出现高眼压的过渡时间, 与 6 月龄测量的眼压(9.3±0.24mmHg)相比, 9 月龄(13.53±0.88mmHg)和 12 月龄(23.53±1.72mmHg)的平均眼压均增加, 眼压升高后引起视神经退行性变, 12 月龄时大部分小鼠视神经严重受损<sup>[15]</sup>。既往使用 DBA/2J 小鼠模型的实验多表现为眼压升高和视功能进行性丧失, 实验结果确实可观, 该小鼠品系已被广泛用于研究青光眼视神经病变和视网膜病变的分子机制<sup>[16-18]</sup>。但随着近年研究的深入, 已有学者提出该模型的局限性, 如后期部分动物会出现角膜钙化及角膜新生血管形成, 既会降低手持眼压计测量的准确性又会降低眼底的可视程度, 继而影响视神经功能的评估<sup>[19]</sup>。而实验研究中经常用作 DBA/2J 小鼠对照的 C57BL/6 小鼠, 仅出现轻度年龄相关性眼压升高, 眼部形态通常不会出现小眼症或角膜混浊等异常<sup>[20]</sup>。

**1.1.3 TGFβ2 小鼠模型** TGFβ2 通过结缔组织生长因子

影响 TM 细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的合成, POAG 房水和 TM 中 TGF $\beta$ 2 表达的增加会增加 ECM 的沉积, TGF $\beta$ 2 影响交联肌动蛋白网络的形成<sup>[20]</sup>, 导致房水流受受阻而引起眼压增加。此外, TGF $\beta$ 2 一定程度上诱导纤溶酶原激活物抑制剂-1 表达, 从而抑制基质金属蛋白酶 (MMPs) 活化, 影响 TM 稳态, 导致视神经损伤<sup>[21]</sup>, TGF $\beta$ 2 诱导的高眼压 (ocular hypertension, OHT) 模型已经被用于多种研究<sup>[22-23]</sup>。除了自发基因突变的小鼠品系, 病毒载体也逐渐用于动物模型中<sup>[24-25]</sup>, 通过病毒转导 TM 过度表达青光眼相关基因, 几种不同的病毒载体已被用于转导 TM, 包括腺病毒、单纯疱疹病毒、腺相关病毒或慢病毒<sup>[26]</sup>。Shepard 等<sup>[27]</sup>首次报道使用 Ad5 转导小鼠 TM 并过表达突变型人类 TGF $\beta$ 2, 结果证明 Ad5 介导的 TGF $\beta$ 2 过表达可诱导 OHT, 并降低房水流出功能。虽然 Ad5 具有较高的转导效率, 是一种适合于 TM 转导的病毒载体, 但由于腺病毒的高免疫原性, 使用时经常会出现炎症<sup>[28-29]</sup>。为了解决这一问题, Peng 等<sup>[30]</sup>尝试使用慢病毒载体表达 TGF $\beta$ 2 建立小鼠 OHT 模型, 但低剂量慢病毒诱导的 TGF $\beta$ 2 升高似乎难以引起 OHT, 高剂量 (2.5 倍) 时部分小鼠的 OHT 高于 3mmHg, 对于慢病毒诱导 OHT 基因模型的使用仍待进一步研究。

## 1.2 闭角型青光眼小鼠模型

### 1.2.1 Sh3pxd2b<sup>nee</sup> 小鼠模型

Sh3pxd2b<sup>nee</sup> 小鼠模型是由 Sh3pxd2b 基因突变引起的, Sh3pxd2b 编码一种表达蛋白, 可影响虹膜、房角的生长和发育。2009 年, Mao 等<sup>[31]</sup>通过分析 Sh3pxd2b 的编码蛋白对动物正常发育的重要作用, 推测 nee 突变与青光眼的发展有关。Sh3pxd2b<sup>nee</sup> 突变小鼠表现出眼前节发育不良, 主要是严重的虹膜角膜黏连, 这种黏连可能会阻塞房水流出, 导致眼压急剧升高, 随后会发生视网膜变性和视神经萎缩, 表现出眼压升高、RGC 丢失和轴突变性等青光眼相关表现<sup>[32]</sup>。其病理变化类似于 Frank-Ter Haar 综合征, 一种由于 Sh3pxd2b 突变引起的常染色体隐性人类疾病, 导致包括继发性先天性青光眼在内的发育综合征<sup>[33]</sup>。Sh3pxd2b<sup>nee</sup> 突变小鼠与同窝出生的、作为对照组的纯合型基因小鼠相比, 不同于对照组的角膜透明、前房深度适中、房角发育正常, Sh3pxd2b<sup>nee</sup> 突变小鼠在 3~4 月龄时表现出高眼压 (30.8 $\pm$ 12.5mmHg)、角膜混浊和前房增大, 并且出现进行性 RGC 丢失、视乳头凹陷和轴突细胞丢失, 对视神经进行染色量化病理损伤发现轴突数减少约 15%<sup>[32]</sup>。目前关于 Sh3pxd2b<sup>nee</sup> 小鼠模型的研究相对较少<sup>[34]</sup>, 现有研究指出 Sh3pxd2b<sup>nee</sup> 小鼠作为青光眼模型的优势之一是降低实验时间和动物饲养成本, 但是仍然存在着一些需要重视的问题: (1) 眼压的急剧升高很可能无法完全反映青光眼的所有病理变化, 因为一些青光眼的组织损伤多与眼压持续升高有关; (2) 模型小鼠部分表现出角膜混浊和白内障, 增加了观察评估眼底视神经和正确测量眼压的难度; (3) 未能完全清楚 Sh3pxd2b<sup>nee</sup> 小鼠的病理表现哪些是由于基因突变而自发产生, 哪些是继发于疾病变化。

### 1.2.2 Prss56 小鼠模型

Prss56 是一种编码胰蛋白酶样丝氨酸蛋白酶的基因<sup>[35]</sup>, 正常的眼球生长需要持续的 Prss56 活性, 分泌丝氨酸蛋白酶, Prss56 在眼睛的大小和

屈光发育中起着重要作用<sup>[36]</sup>。Prss56 参与调控虹膜-角膜结构的发育过程, 其变化可能构成高血压和青光眼的危险因素, Prss56 功能丧失可导致房角受损, 增加高血压易感性。Labelle-Dumais 等<sup>[37]</sup>对比发现 Prss56 突变小鼠虽然没有出现高眼压, 但平均眼压值较对照组 (Prss56<sup>-/-</sup>小鼠) 升高 (20.92mmHg vs 17.79mmHg)。Prss56 与真性小眼球有关, 真性小眼球是一种发育障碍, 其特征是眼睛明显变小但结构正常, 以及由于眼部生长受损导致的极端远视, 这类患者非常容易发生致盲的情况, 包括继发性闭角型青光眼、自发性脉络膜积液、白内障和视网膜脱离<sup>[38]</sup>。Prss56 突变小鼠主要表现为眼轴缩短、房角结构异常, 进而眼压升高, 出现近似闭角型青光眼的病理变化。Nair 等<sup>[39]</sup>基于此构建了一种新的小鼠 ACG 基因动物模型。但是关于 Prss56 基因在小鼠中的研究, 多集中在眼球发育异常的相关病理改变, 对于继发性青光眼的病理研究相对较少。

## 2 正常眼压性青光眼小鼠模型

### 2.1 OPTN 小鼠模型

2002 年发现了一个与遗传性正常眼压性青光眼 (normal tension glaucoma, NTG) 有关的基因, 并以 Optineurin (OPTN) 命名。OPTN 参与多种细胞过程, 如信号转导、囊泡运输和细胞自噬等, 该基因的某些突变与 POAG 有关, 已经报道了与青光眼相关的几种 OPTN 基因错义突变, 如 E50K、H26D、H486R、E322K 等, 可导致 RGC 死亡<sup>[40]</sup>。E50K 突变与家族性 NTG 相关, E50K 突变可能通过直接诱导 RGC 死亡而引起青光眼<sup>[41]</sup>。目前已经构建出表达 E50K-OPTN 的转基因小鼠, 与野生型小鼠相比, E50K 突变小鼠视网膜变薄 (203.0 $\pm$ 5.143 $\mu$ m vs 180.0 $\pm$ 6.141 $\mu$ m)、RGC 丢失和胶质细胞增生, 表现出 POAG 的病理变化<sup>[42]</sup>, 且眼压和前房结构方面无显著差异, 与 NTG 的临床表现一致<sup>[43]</sup>。这侧面表明 E50K-OPTN 转基因小鼠可以成为 NTG 模型。Minegishi 等<sup>[44]</sup>利用 CRISPR-Cas9 介导的基因组编辑技术建立了 E50K-OPTN 转基因小鼠基因模型, E50K 转基因小鼠将是未来研究 NTG 和开发治疗药物的有效的小鼠模型。

### 2.2 TBK1 小鼠模型

TBK1 基因突变被发现与 NTG 有关<sup>[45-46]</sup>。虽然 TBK1 基因突变导致 NTG 的具体机制尚不清楚, 但 TBK1 编码的蛋白与 OPTN 编码的蛋白参与了相同的生物途径, 如自噬。TBK1 被发现通过调节视网膜细胞自噬, 诱导视网膜细胞死亡, 这提供了 TBK1 与 RGC 死亡之间的分子联系<sup>[47]</sup>。Fingert 等<sup>[48]</sup>将人 TBK1 基因拷贝整合到小鼠基因组中, 建立转基因 TBK1 小鼠, 构建模拟人的 NTG 模型, 转基因 TBK1 小鼠在 5 周龄、3、7、12、18 月龄时平均眼压无明显升高, 但伴有青光眼的主要症状——RGC 进行性丧失, 半合子 TBK1 小鼠 (每个基因组有 1 个 TBK1 转基因) 在 18 月龄时 RGC 丢失 13%, 纯合 TBK1 小鼠的 RGC 比半合子 TBK1 小鼠少 7.6%, 比野生型小鼠少 20%, 证实 TBK1 基因过表达在人类青光眼中的致病性。转基因 TBK1 小鼠和转基因 OPTN 小鼠均是研究青光眼发病机制的有效模型, 对转基因 OPTN 小鼠和转基因 TBK1 小鼠的研究表明, 涉及线粒体的自噬可能在青光眼中起重要作用, 继而引发关于自噬基因导致 RGC 损伤和青光眼的机制的新思路。

### 3 小结

近年来,基因组学研究逐渐发现并确定了与青光眼相关的基因位点,同时也为青光眼的研究带来了许多成果,然而关于基因或特定等位基因变异如何影响疾病,目前尚不完全清楚。动物模型的成功构建为了解疾病的发病机制和后续药物开发的研究提供了重要信息和方向。此外,转基因动物模型在一定程度上弥补了现有实验诱导模型的缺陷,更能模拟出疾病发病的复杂过程。这不仅为实验模型的研究提供了更多选择,还为针对基因的新疗法提供了新的方向和思路。

#### 参考文献

- 1 Janssen SF, Gorgels TGMF, Ramdas WD, et al. The vast complexity of primary open angle glaucoma: disease genes, risks, molecular mechanisms and pathobiology. *Prog Retin Eye Res* 2013;37:31-67
- 2 Gauthier AC, Liu J. Epigenetics and signaling pathways in glaucoma. *Biomed Res Int* 2017;2017:5712341
- 3 Jain A, Zode G, Kasetti RB, et al. CRISPR-Cas9-based treatment of myocilin-associated glaucoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017;114(42):11199-11204
- 4 Zhou BT, Lin XJ, Li Z, et al. Structure-function-pathogenicity analysis of C-terminal myocilin missense variants based on experiments and 3D models. *Front Genet* 2022;13:1019208
- 5 Joe MK, Nakaya N, Abu-Asab M, et al. Mutated myocilin and heterozygous Sod2 deficiency act synergistically in a mouse model of open-angle glaucoma. *Hum Mol Genet* 2015;24(12):3322-3334
- 6 Zode GS, Kuehn MH, Nishimura DY, et al. Reduction of ER stress via a chemical chaperone prevents disease phenotypes in a mouse model of primary open angle glaucoma. *J Clin Invest* 2011;121(9):3542-3553
- 7 McDowell CM, Luan T, Zhang Z, et al. Mutant human myocilin induces strain specific differences in ocular hypertension and optic nerve damage in mice. *Exp Eye Res* 2012;100:65-72
- 8 Yan XJ, Wu S, Liu Q, et al. Myocilin gene mutation induced autophagy activation causes dysfunction of trabecular meshwork cells. *Front Cell Dev Biol* 2022;10:900777
- 9 Cheng Y, Wu S, Yan XJ, et al. Human Pro370Leu mutant myocilin induces the phenotype of open-angle glaucoma in transgenic mice. *Cell Mol Neurobiol* 2022;1-13
- 10 Buchanan RA, Foley KE, Pepper KW, et al. Meox2 haploinsufficiency accelerates axonal degeneration in DBA/2J glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2019;60(10):3283-3296
- 11 Bosco A, Anderson SR, Breen KT, et al. Complement C3-targeted gene therapy restricts onset and progression of neurodegeneration in chronic mouse glaucoma. *Mol Ther* 2018;26(10):2379-2396
- 12 Pu LP, Zhou RY, Li Q, et al. Distribution of pigment particles in aqueous drainage structures in a DBA/2J mouse model of pigmentary glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2022;63(6):2
- 13 Harada C, Kimura A, Guo XL, et al. Recent advances in genetically modified animal models of glaucoma and their roles in drug repositioning. *Br J Ophthalmol* 2019;103(2):161-166
- 14 Muir ER, Chandra SB, Narayanan D, et al. Effects of chronic mild hyperoxia on retinal and choroidal blood flow and retinal function in the DBA/2J mouse model of glaucoma. *PLoS One* 2022;17(3):e0266192
- 15 Rohowetz LJ, Mardelli ME, Duncan RS, et al. The contribution of anterior segment abnormalities to changes in intraocular pressure in the DBA/2J mouse model of glaucoma: DBA/2J - *Gpnmb*<sup>+</sup>/SjJ mice as critical controls. *Front Neurosci* 2022;15:801184
- 16 Hirt J, Porter K, Dixon A, et al. Contribution of autophagy to ocular

hypertension and neurodegeneration in the DBA/2J spontaneous glaucoma mouse model. *Cell Death Discov* 2018;4:14

- 17 Schmitt HM, Gresser JA, Schlamp CL, et al. Targeting HDAC3 in the DBA/2J spontaneous mouse model of glaucoma. *Exp Eye Res* 2020;200:108244
- 18 Evangelho K, Mastrorardi CA, de-la-Torre A. Experimental models of glaucoma: a powerful translational tool for the future development of new therapies for glaucoma in humans - a review of the literature. *Medicina* 2019;55(6):280
- 19 Turner AJ, Vander Wall R, Gupta V, et al. DBA/2J mouse model for experimental glaucoma: pitfalls and problems. *Clin Exp Ophthalmol* 2017;45(9):911-922
- 20 Fiedorowicz M, Choragiewicz T, Turski WA, et al. Tryptophan pathway abnormalities in a murine model of hereditary glaucoma. *Int J Mol Sci* 2021;22(3):1039
- 21 Kasetti RB, Maddineni P, Patel PD, et al. Transforming growth factor  $\beta 2$  (TGF $\beta 2$ ) signaling plays a key role in glucocorticoid-induced ocular hypertension. *J Biol Chem* 2018;293(25):9854-9868
- 22 Kasetti RB, Maddineni P, Kodati B, et al. Astragaloside IV attenuates ocular hypertension in a mouse model of TGF $\beta 2$  induced primary open angle glaucoma. *Int J Mol Sci* 2021;22(22):12508
- 23 Roberts AL, Mavlyutov TA, Perlmutter TE, et al. Fibronectin extra domain A (FN-EDA) elevates intraocular pressure through Toll-like receptor 4 signaling. *Sci Rep* 2020;10:9815
- 24 Campa C, Gallenga CE, Bolletta E, et al. The role of gene therapy in the treatment of retinal diseases: a review. *Curr Gene Ther* 2017;17(3):194-213
- 25 Kampik D, Ali RR, Larkin DFP. Experimental gene transfer to the corneal endothelium. *Exp Eye Res* 2012;95(1):54-59
- 26 Patil SV, Kasetti RB, Millar JC, et al. A novel mouse model of TGF $\beta 2$ -induced ocular hypertension using lentiviral gene delivery. *Int J Mol Sci* 2022;23(13):6883
- 27 Shepard AR, Millar JC, Pang IH, et al. Adenoviral gene transfer of active human transforming growth factor- $\beta 2$  elevates intraocular pressure and reduces outflow facility in rodent eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(4):2067-2076
- 28 Giedrius K, Emmi K, Laura A, et al. Comparative study of adeno-associated virus, adenovirus, baculovirus and lentivirus vectors for gene therapy of the eyes. *Curr Gene Ther* 2017;17(3):235-247
- 29 Lee CS, Bishop ES, Zhang RY, et al. Adenovirus-mediated gene delivery: potential applications for gene and cell-based therapies in the new era of personalized medicine. *Genes Dis* 2017;4(2):43-63
- 30 Peng M, Margetts TJ, Rayana NP, et al. The application of lentiviral vectors for the establishment of TGF $\beta 2$ -induced ocular hypertension in C57BL/6J mice. *Exp Eye Res* 2022;221:109137
- 31 Mao M, Thedens DR, Chang B, et al. The podosomal-adaptor protein SH3PXD2B is essential for normal postnatal development. *Mamm Genome* 2009;20(8):462-475
- 32 Mao M, Hedberg-Buenz A, Koehn D, et al. Anterior segment dysgenesis and early-onset glaucoma in nee Mice with mutation of Sh3pxd2b. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(5):2679-2688
- 33 Daniel S, Meyer KJ, Clark AF, et al. Effect of ocular hypertension on the pattern of retinal ganglion cell subtype loss in a mouse model of early-onset glaucoma. *Exp Eye Res* 2019;185:107703
- 34 van der Heide CJ, Meyer KJ, Hedberg-Buenz A, et al. Quantification and image-derived phenotyping of retinal ganglion cell nuclei in the nee mouse model of congenital glaucoma. *Exp Eye Res* 2021;212:108774

- 35 Gal A, Rau I, El Matri L, *et al.* Autosomal – recessive posterior microphthalmos is caused by mutations in PRSS56, a gene encoding a trypsin-like serine protease. *Am J Hum Genet* 2011;88(3):382–390
- 36 Paylakhi S, Labelle – Dumais C, Tolman NG, *et al.* Müller glia – derived PRSS56 is required to sustain ocular axial growth and prevent refractive error. *PLoS Genet* 2018;14(3):e1007244
- 37 Labelle – Dumais C, Pyatla G, Paylakhi S, *et al.* Loss of PRSS56 function leads to ocular angle defects and increased susceptibility to high intraocular pressure. *Dis Model Mech* 2020;13(5):dmm042853
- 38 Koli S, Labelle – Dumais C, Zhao Y, *et al.* Identification of MFRP and the secreted serine proteases PRSS56 and ADAMTS19 as part of a molecular network involved in ocular growth regulation. *PLoS Genet* 2021;17(3):e1009458
- 39 Nair KS, Hmani – Aifa M, Ali Z, *et al.* Alteration of the serine protease PRSS56 causes angle – closure glaucoma in mice and posterior microphthalmia in humans and mice. *Nat Genet* 2011;43(6):579–584
- 40 Swarup G, Sayyad Z. Altered functions and interactions of glaucoma – associated mutants of optineurin. *Front Immunol* 2018;9:1287
- 41 Liu XN, Wang Q, Shao ZB, *et al.* Proteomic analysis of aged and OPTN E50K retina in the development of normal tension glaucoma. *Hum Mol Genet* 2021;30(11):1030–1044
- 42 Zhang SQ, Shao ZB, Liu XN, *et al.* The E50K optineurin mutation impacts autophagy – mediated degradation of TDP – 43 and leads to RGC apoptosis *in vivo* and *in vitro*. *Cell Death Discov* 2021;7(1):49
- 43 Hou MY, Shao ZB, Zhang SQ, *et al.* Age – related visual impairments and retinal ganglion cells axonal degeneration in a mouse model harboring OPTN (E50K) mutation. *Cell Death Dis* 2022;13(4):362
- 44 Minegishi Y, Nakayama M, Iejima D, *et al.* Significance of optineurin mutations in glaucoma and other diseases. *Prog Retin Eye Res* 2016;55:149–181
- 45 Kim MJ, Kim YW, Jeoung JW, *et al.* Genomic characterization of TBK1 duplication in Korean normal – tension glaucoma patients. *J Glaucoma* 2020;29(5):331–336
- 46 Quist TS, Johnson CA, Robin AL, *et al.* Long – term follow – up of normal tension glaucoma patients with TBK1 gene mutations in one large pedigree. *Am J Ophthalmol* 2020;214:52–62
- 47 Li LU, Zhao Y, Zhang H. P16INK4a upregulation mediated by TBK1 induces retinal ganglion cell senescence in ischemic injury. *Cell Death Dis* 2017;8(4):e2752
- 48 Fingert JH, Miller K, Hedberg – Buenz A, *et al.* Transgenic TBK1 mice have features of normal tension glaucoma. *Hum Mol Genet* 2017;26(1):124–132