

# microRNA-155 在原发性开角型青光眼发病机制中的作用

杨茹菲, 苏颖, 蒋鑫, 王峰

作者单位: (150001) 中国黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学附属第一医院眼科分院

作者简介: 杨茹菲, 在读硕士研究生, 研究方向: 原发性开角型青光眼的分子机制。

通讯作者: 王峰, 毕业于暨南大学, 医学博士, 留美博士后, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 副主任, 研究方向: 青光眼、白内障的分子机制。wangfd@126.com

收稿日期: 2017-12-02 修回日期: 2018-04-03

## Effect of microRNA - 155 on the pathogenesis of primary open angle glaucoma

Ru-Fei Yang, Ying Su, Xin Jiang, Feng Wang

Eye Hospital, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Feng Wang. Eye Hospital, First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China. wangfd@126.com

Received: 2017-12-02 Accepted: 2018-04-03

### Abstract

• microRNA is specifically expressed in ocular tissues and plays a unique role in ocular tissues. microRNA - 155 regulates a variety of signaling pathways, affects the expression of the corresponding protein, then leads to the morphology and function abnormality of cells and tissue. The mechanism of primary open angle glaucoma is not yet clear. It is considered that the morphology and function abnormality of trabecular meshwork is the main cause of the increasing intraocular pressure. The effect of microRNA - 155 on primary open angle glaucoma can provide a new direction for the pathogenesis, diagnosis and treatment of primary open angle glaucoma.

• KEYWORDS: microRNA - 155; primary open angle glaucoma; trabecular meshwork; extracellular matrix

Citation: Yang RF, Su Y, Jiang X, et al. Effect of microRNA-155 on the pathogenesis of primary open angle glaucoma. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2018;18(5):836-839

### 摘要

microRNA 在眼部组织有特定表达, 对眼部组织发挥独特作用。microRNA-155 可调控多种信号通路, 影响相应蛋

白的表达, 导致细胞、组织的形态和功能等异常。原发性开角型青光眼的产生机制尚不完全明确, 现认为小梁网的形态功能异常是引起眼内压升高的主要原因。研究 microRNA-155 对原发性开角型青光眼发生发展的影响, 可以为原发性开角型青光眼的发病机制和诊治提供新的思路。

关键词: microRNA-155; 原发性开角型青光眼; 小梁网; 细胞外基质

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2018.5.16

引用: 杨茹菲, 苏颖, 蒋鑫, 等. microRNA-155 在原发性开角型青光眼发病机制中的作用. *国际眼科杂志* 2018;18(5):836-839

### 0 引言

青光眼是不可逆性视神经损伤疾病, 为全球第二大失明原因。在青光眼发病过程中, 视神经乳头处视神经轴索持续受损, 轴索变性, 视网膜神经节细胞凋亡, 最终导致患者特征性视野缺陷<sup>[1]</sup>。据估计, 近 840 万患者因青光眼双眼失明, 到 2020 年这一数字预计将增至 1 110 万人<sup>[2]</sup>。原发性开角型青光眼 (primary open angle glaucoma, POAG) 是最常见的青光眼类型, 约占所有青光眼病例的四分之三 (74%)<sup>[3]</sup>。POAG 在临床上表现为房水流出受阻, 眼内压 (intraocular pressure, IOP) 持续升高, 眼后节视神经中的视网膜神经节细胞进行性萎缩和凹陷或杯盘比扩大。这引起视神经的破坏, 导致 POAG 患者视力丧失。

### 1 房水流出与眼内压

房水是血液的超滤液, 由睫状体上皮细胞产生并释放, 主要生理功能是为无血管的角膜和晶状体提供营养。小梁网 (trabecular meshwork, TM) 是房水流出的主要路径, 在正常的生理条件下, 经 TM 通道流出的房水占总流出量的 90%<sup>[4-6]</sup>。

TM 是调节前房流出的关键组织, 而异常调节常导致眼压升高。目前, 已有很多研究发现 Schlemm 氏管 (Schlemm's canal, SC) 内壁的内皮细胞和邻管组织 (juxta canalicular tissue, JCT) 是 TM 最大流出阻力的解剖位置。JCT 是一个由内皮细胞和细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 组成的不定形的动态层, 可改变 TM 细胞的形态功能和 ECM 的合成分解, 从而影响房水流出。基质细胞蛋白, 特别是富含半胱氨酸的分泌蛋白, 都与 JCT 纤维化的增加和异常组织重构有关<sup>[7]</sup>, 从而影响房水流出通道, IOP 升高, 成为青光眼形成的主要影响因素。

### 2 microRNA 概述

microRNA (miRNA) 是内源性进化保守的非编码 RNA

的大家族,其长度约为22个核苷酸,并且通过在转录后水平调节基因表达而参与几乎每个生物过程的调节<sup>[8]</sup>。miRNA在各种生物过程中起作用,包括免疫、炎症、自噬、癌症和纤维化。已有许多研究证实,miRNA与POAG的发生发展有着密切联系,如miRNA-29、miRNA-24和miRNA-200c等<sup>[9]</sup>。

### 3 microRNA-155与青光眼

microRNA-155(miR-155)是一种多功能miRNA,与眼部组织的生长、发育、功能调节以及发病机制等方面密切相关,在诸多眼部疾病的病理过程中扮演着重要的角色,如角膜病、干眼症、葡萄膜炎、视网膜疾病、甲状腺相关眼病、眼部肿瘤等<sup>[10]</sup>。miR-155调节的信号通路对某些特定蛋白的表达有一定影响,这些蛋白在TM中的异常表达引起相应的形态功能异常,提高房水流出通道阻力,继而引起IOP升高。

**3.1 通过调节ECM引起青光眼** ECM由分泌的多糖和蛋白质组成,它们组成明确的复合结构围绕在产生它们的细胞表面。ECM的各种蛋白质和多糖可以分为至少两组:具有结构作用的蛋白质,如纤维蛋白和糖胺聚糖;具有调节作用的蛋白质,包括不同的生长因子(如转化生长因子- $\beta$ 和胰岛素样生长因子)、基质蛋白(CCN家族蛋白、胰岛素样生长因子结合蛋白、核心蛋白聚糖和双糖链蛋白聚糖)、酶(金属蛋白酶)和受体(整联蛋白)<sup>[11]</sup>。ECM具有特定物理和生物化学性质的高度动态结构,影响所有固有细胞的表型,并调节许多细胞活动,例如迁移、增殖、分化、存活和免疫系统信号,最终影响发育、体内平衡和组织修复的黏附<sup>[12-14]</sup>。合成和转归之间的良好平衡决定了ECM的最终组成和正常功能的维持<sup>[15-16]</sup>。TM中ECM沉积,小梁网孔径变窄或闭塞消失,房水外流阻力增加,眼压升高,最终导致青光眼。

**3.1.1 转化生长因子- $\beta$**  miR-155可以作为ECM动态平衡的调节点。据研究显示,miR-155可影响转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor-beta, TGF- $\beta$ )信号通路中的相关蛋白,如TGF- $\beta$ 1和Smad2等<sup>[17]</sup>。miR-155抑制TGF- $\beta$ 信号通路,而其他的病毒编码miR-155类似物也被证明可以抑制TGF- $\beta$ 信号通路。

TGF- $\beta$ 是一种多肽生长因子,经分泌产生后与受体结合,具有多种生物学功能。TGF- $\beta$ 在促进ECM的合成、调节细胞增殖和组织损伤后修复过程中有重要作用<sup>[18]</sup>,还可以抑制基质降解酶产生,促进ECM沉积。TGF- $\beta$ 能诱导许多纤维形成基因,如通过Smad2、Smad3或丝裂原活化蛋白激酶等诱导ECM蛋白<sup>[19-21]</sup>。与年龄匹配的健康对照者相比,POAG患者房水中的生物活性TGF- $\beta_2$ 含量增加约60%~70%<sup>[22-24]</sup>。

在体外实验中,TGF- $\beta_2$ 已被证明能显著增强人TM细胞中ECM蛋白的合成和分泌,还可增强纤溶酶原激活物抑制剂-1和组织转谷氨酰胺酶的合成和分泌,同时选择性地减弱纤溶酶原激活物抑制剂-1依赖性金属蛋白酶-2的活性<sup>[18,25-28]</sup>。人、猴和猪眼前节的体外研究结果进一步支持TGF- $\beta_2$ 在POAG中的致病作用<sup>[18,29-31]</sup>。此外,在体内实验中,啮齿动物的房水中采取人TGF- $\beta_2$ 处理也可使IOP提高<sup>[32-36]</sup>。

**3.1.2 基质金属蛋白酶** 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是参与ECM体内平衡和重塑的一组锌和钙依赖性内肽酶。已有实验明确显示,miR-155的上调抑制胶原酶MMP-1和基质溶素MMP-3等的水平<sup>[37]</sup>。MMPs可以降解改变ECM分子,并影响细胞活性,维持上皮细胞膜的稳态。在青光眼的发展中,MMP和其抑制因子金属蛋白酶组织抑制剂之间的不平衡可能损害TM中的ECM转归,从而增加房水流出通道的阻力,引起IOP升高,最终导致青光眼<sup>[38]</sup>。

**3.2 通过调节细胞骨架蛋白引起青光眼**  $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)是一种细胞骨架蛋白,是TM细胞的重要成分,参与小梁细胞的收缩与运动功能,并影响ECM的沉积。miR-155可下调 $\alpha$ -SMA的表达,在细胞骨架组织的基础调节中具有抑制作用。Bijkerk等<sup>[39]</sup>实验发现,在无TGF- $\beta$ 等处理的情况下, $\alpha$ -SMA的表达量从 $3.29 \pm 0.29$ 到 $4.07 \pm 0.3$ ( $P < 0.05$ ),证实miR-155的沉默可以提高 $\alpha$ -SMA的表达。

据已有研究结果显示,RhoA是miR-155可确定的靶标<sup>[40]</sup>,miR-155可对RhoA的表达情况和活性进行调节。RhoA、ROCK1、ROCK2、MLC、MLCK和MLCP等均为Rho信号通路成分,可在人类和动物的TM和睫状肌组织处表达<sup>[41-46]</sup>。已知RhoA转化为GTP结合状态是TGF- $\beta$ 刺激后的一个快速过程<sup>[47]</sup>,因此Bijkerk等<sup>[39]</sup>实验中,选择TGF- $\beta$ 刺激后的细胞,用Antagomir-155和Scramblemir处理并评估RhoA活性。miRNA Antagomir是经过特殊化学修饰的miRNA拮抗剂,抑制miRNA发挥作用。Scramblemir是miRNA所有核苷酸序列的随机重新排列,实验中用作对照组miRNA。实验显示,在TGF- $\beta$ 刺激后2.5h内,实验组RhoA活性与对照组相比显著上调。于TGF- $\beta$ 刺激后1h进一步试验,Western blot结果显示实验组RhoA蛋白表达较对照组明显增高。双重结果证实沉默miR-155可上调RhoA的活性和表达。

RhoA是应力纤维形成的中枢调节剂<sup>[48]</sup>,其在TM中表达,作用于 $\alpha$ -SMA,并上调其表达。在Rao等进行的实验研究中,通过腺病毒将激活态RhoA突变体引入培养的人TM细胞,结果显示TM细胞表现出肌动蛋白纤维增多,局部粘连加强等特征<sup>[49]</sup>,从而导致TM细胞形态异常,功能减低,房水外流通道受阻,IOP升高。而相反地,Rho相关卷曲螺旋形成蛋白激酶(Rho-associated coiled coil-forming kinase, ROCK)的选择性抑制剂,例如Y27632,可增加肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)-磷酸酶的活性和降低MLC的磷酸化,使得细胞收缩减轻,肌动蛋白纤维的数量减少,局部粘连减弱<sup>[41-42,46,50-51]</sup>。房水流出通道阻力下降,IOP随之下降。

除了通过Rho信号通路,TGF- $\beta$ 也是影响细胞骨架蛋白的调节因素。结缔组织生长因子是TM表达TGF- $\beta_2$ 的调控靶点,其对眼压的影响在于能改变TM肌动蛋白的细胞骨架<sup>[1]</sup>。Benjamin的研究中,将人小梁网(human trabecular meshwork, HTM)细胞在三维胶原凝胶中培养,并以凝胶表面积随时间的变化分析细胞收缩力的量度,TGF- $\beta_2$ 处理24h后,观察到凝胶面积减少 $80\% \pm 7\%$ <sup>[52]</sup>。HTM细胞收缩力显著提高,从而影响小梁网孔径,提高房水流出阻力。

**3.3 通过物理学引起青光眼** 有研究显示,JCT区域发现青光眼中房水流出通道存在着另外一种阻力,它并非来自TM细胞及其ECM或是SC的内壁。该阻力在一些文章被称为“漏斗”,以流体动力学效应的原理协同调节房水流出阻力。SC内壁同基底层之间存在分离,光镜下基底层不能清晰地分辨,可见JCT的明显扩张和内壁的突出于房水流出网腔,除了这些分离的位置之外,内壁是相对不渗透的,房水流经该处即形成所谓“漏斗”。因此引起的房水流聚减少了参与过滤的JCT的面积,从而提高了有效的静水压力,房水流出阻力减小,IOP随之下降<sup>[53]</sup>。

miR-155过表达下调RhoA。已有实验<sup>[54]</sup>证实ROCK抑制物Y27632处理后,SC内壁同JCT分离程度明显增加,甚至足以使内壁与外壁物理接触,房水流出的网腔几乎完全塌陷,大大降低了房水流出阻力。即沉默miR-155通过上调RhoA的表达,引起SC内壁和JCT分离减少,房水流出阻力增加,从而使得IOP升高,POAG形成。但该实验选取的对象为牛眼,尚需进一步实验验证在人眼组织中的效果。

#### 4 总结与展望

miRNA作为近年来国内外研究的热点,广泛渗透于医学各个学科,其对于眼部疾病发生发展的作用也逐渐被关注。关于POAG房水外流阻力的产生机制、调节特点和准确部位,尚不完全明确。已有研究结果显示,多种miRNA影响ECM的合成与转归,以及细胞骨架蛋白的表达,从而调节房水流出阻力,引起IOP的改变。但仍有一些尚未被研究的miRNA应当引起研究者的关注,这些miRNA表达于TM,且与增殖和纤维化相关,可能与POAG的发生机制相关,是进一步研究的方向。本文探讨了miR-155对POAG发生机制的影响,但是实验基础尚不足够,仍需更多实验研究证实我们的观点,而关于miR-155应以何种方式应用于临床发挥疾病预防与治疗的作用也需要进一步探讨。我们认为,对于miRNA的研究,在不远的将来对POAG的发病机制和疾病的治疗都有重要意义。

#### 参考文献

- 1 Junglas B, Kuespert S, Seleem AA, et al. Connective tissue growth factor causes glaucoma by modifying the actin cytoskeleton of the trabecular meshwork. *Am J Pathol* 2012;180(6):2386-2403
- 2 Challa P, Arnold JJ. Rho-kinase inhibitors offer a new approach in the treatment of glaucoma. *Expert Opin Investig Drugs* 2014;23(1):81-95
- 3 Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *Br J Ophthalmol* 2006;90(3):262-267
- 4 Tamm ER. The trabecular meshwork outflow pathways: structural and functional aspects. *Exp Eye Res* 2009;88(4):648-655
- 5 Johnson M. What controls aqueous humor outflow resistance? *Exp Eye Res* 2006;82(4):545-557
- 6 Lutjen-Drecoll E. Functional morphology of the trabecular meshwork in primate eyes. *Prog Retin Eye Res* 1999;18(1):91-119
- 7 Xiao Q, Feng GQ. Recent advances in MiRNA regulating TGF-β and CYP1B1 gene in primary glaucoma. *Rec Adv Ophthalmol* 2014;34(5):497-500
- 8 Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature* 2004;431(7006):350-355
- 9 Chen JL, Su Y, Wang F. Role of microRNA in primary open angle glaucoma. *Chin J Ophthalmol* 2016;52(6):476-480
- 10 张玲,苏颖,王峰. MicroRNA-155与眼病. *中国实用眼科杂志*

- 2016;34(9):922-925
- 11 Li Z, Dang J, Chang KY, et al. MicroRNA-mediated regulation of extracellular matrix formation modulates somatic cell reprogramming. *RNA* 2014;20(12):1900-1915
- 12 Hynes RO. The extracellular matrix: not just pretty fibrils. *Science* 2009;326(5957):1216-1219
- 13 Rozario T, DeSimone DW. The extracellular matrix in development and morphogenesis: a dynamic view. *Dev Biol* 2010;341(1):126-140
- 14 Lu P, Takai K, Weaver VM, et al. Extracellular matrix degradation and remodeling in development and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011;3(12):a005058
- 15 Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003;92(8):827-839
- 16 Verrecchia F, Mauviel A. Transforming growth factor-beta and fibrosis. *World J Gastroenterol* 2007;13(22):3056-3062
- 17 Chi JQ, Teng M, Yu ZH, et al. Marek's disease virus-encoded analog of microRNA-155 activates the oncogene c-Myc by targeting LTBP1 and suppressing the TGF-β signaling pathway. *Virology* 2015;476:72-84
- 18 Fleenor DL, Shepard AR, Hellberg PE, et al. TGFbeta2-induced changes in human trabecular meshwork: implications for intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(1):226-234
- 19 Hoffman BB, Sharma K, Ziyadeh FN. Potential role of TGF-beta in diabetic nephropathy. *Miner Electrolyte Metab* 1998;24(2-3):190-196
- 20 Schnaper HW, Hayashida T, Hubchak SC, et al. TGF-beta signal transduction and mesangial cell fibrogenesis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003;284(2):F243-252
- 21 Chung AC, Huang XR, Zhou L, et al. Disruption of the Smad7 gene promotes renal fibrosis and inflammation in unilateral ureteral obstruction (UUO) mice. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24(5):1443-1454
- 22 Inatani M, Tanihara H, Katsuta H, et al. Transforming growth factor-beta 2 levels in aqueous humor of glaucomatous eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001;239(2):109-113
- 23 Picht G, Welge-Lüssen U, Grehn F, et al. Transforming growth factor beta 2 levels in the aqueous humor in different types of glaucoma and the relation to filtering bleb development. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2001;239(3):199-207
- 24 Min SH, Lee TI, Chung YS, et al. Transforming growth factor-beta levels in human aqueous humor of glaucomatous, diabetic and uveitic eyes. *Korean J Ophthalmol* 2006;20(3):162-165
- 25 Welge-Lüssen U, May CA, Lütjen-Drecoll E. Induction of tissue transglutaminase in the trabecular meshwork by TGF-beta1 and TGF-beta2. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(8):2229-2238
- 26 Wordinger RJ, Fleenor DL, Hellberg PE, et al. Effects of TGF-beta2, BMP-4, and gremlin in the trabecular meshwork: implications for glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(3):1191-1200
- 27 Tovar-Vidales T, Clark AF, Wordinger RJ. Transforming growth factor-beta2 utilizes the canonical Smad-signaling pathway to regulate tissue transglutaminase expression in human trabecular meshwork cells. *Exp Eye Res* 2011;93(4):442-451
- 28 Fuchshofer R, Welge-Lüssen U, Lutjen-Drecoll E. The effect of TGF-beta2 on human trabecular meshwork extracellular proteolytic system. *Exp Eye Res* 2003;77(6):757-765
- 29 Gottanka J, Chan D, Eichhorn M, et al. Effects of TGF-beta2 in perfused human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(1):153-158
- 30 Bachmann B, Birke M, Kook D, et al. Ultrastructural and biochemical evaluation of the porcine anterior chamber perfusion model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(5):2011-2020
- 31 Bhattacharya SK, Gabelt BT, Ruiz J, et al. Cochlin expression in

- anterior segment organ culture models after TGFbeta2 treatment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(2):551-559
- 32 Robertson JV, Golesic E, Gaultie J, et al. Ocular gene transfer of active TGF-beta induces changes in anterior segment morphology and elevated IOP in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(1):308-318
- 33 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
- 34 McDowell CM, Tebow HE, Wordinger RJ. Smad3 is necessary for transforming growth factor-beta2 induced ocular hypertension in mice. *Exp Eye Res* 2013;116:419-423
- 35 Swaminathan SS, Oh DJ, Kang MH, et al. TGF-beta2-mediated ocular hypertension is attenuated in SPARC-null mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(7):4084-4097
- 36 Hill LJ, Mead B, Blanch RJ, et al. Decorin Reduces Intraocular Pressure and Retinal Ganglion Cell Loss in Rodents Through Fibrolysis of the Scarred Trabecular Meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(6):3743-3757
- 37 Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, et al. Altered expression of MicroRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008;58(4):1001-1009
- 38 Nga AD, Yap SL, Samsudin A, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in the aqueous humour of patients with primary angle closure glaucoma - a quantitative study. *BMC Ophthalmol* 2014;14:33
- 39 Bijkerk R, de Bruin RG, van Solingen C, et al. MicroRNA-155 functions as a negative regulator of RhoA signaling in TGF-beta-induced endothelial to mesenchymal transition. *Microna* 2012;1(1):2-10
- 40 Kong W, Yang H, He L, et al. MicroRNA-155 is regulated by the transforming growth factor beta/Smad pathway and contributes to epithelial cell plasticity by targeting RhoA. *Mol Cell Biol* 2008;28(22):6773-6784
- 41 Rao PV, Deng PF, Kumar J, Epstein DL. Modulation of aqueous, humor outflow facility by the Rho kinase-specific inhibitor Y27632. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(5):1029-1037
- 42 Honjo M, Tanihara H, Inatani M, et al. Effects of rho-associated protein kinase inhibitor Y-27632 on intraocular pressure and outflow facility. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(1):137-144
- 43 Honjo M, Inatani M, Kido N, et al. Effects of protein kinase inhibitor, HA 1077, on intraocular pressure and outflow facility in rabbit eyes. *Arch Ophthalmol* 2001;119(8):1171-1178
- 44 Thieme H, Nuskovski M, Nass JU, et al. Mediation of calcium-independent contraction in trabecular meshwork through protein kinase C and RhoA. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(13):4240-4246
- 45 Nakajima E, Nakajima T, Minagawa Y, et al. Contribution of ROCK in contraction of trabecular meshwork: proposed mechanism for regulating aqueous outflow in monkeys and human eyes. *J Pharm Sci* 2005;94(4):701-708
- 46 Fukiage C, Mizutani K, Kawamoto Y, et al. Involvement of phosphorylation of myosin phosphatase by ROCK in trabecular meshwork and ciliary muscle contraction. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;288(2):296-300
- 47 Bhowmick NA, Ghiassi M, Bakin A, et al. Transforming growth factor-beta1 mediates epithelial to mesenchymal transdifferentiation through a RhoA-dependent mechanism. *Mol Biol Cell* 2001;12(1):27-36
- 48 Maekawa M, Ishizaki T, Boku S, et al. Signaling from Rho to the actin cytoskeleton through protein kinases ROCK and LIM-kinase. *Science* 1999;285(5429):895-898
- 49 Zhang M, Maddala R, Rao PV. Novel molecular insights into rhoA GTPase-induced resistance to aqueous humor outflow through the trabecular meshwork. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008;295(5):C1057-1070
- 50 Kaibuchi K, Kuroda S, Amano M. Regulation of the cytoskeleton and cell adhesion by the Rho family GTPases in mammalian cells. *Ann Rev Biochem* 1999;68:459-486
- 51 Rosenthal R, Choritz L, Schlott S, et al. Effects of ML-7 and Y-27632 on carbachol- and endothelin-1-induced contraction of bovine trabecular meshwork. *Exp Eye Res* 2005;80(6):837-845
- 52 Junglas B, Kuespert S, Seleem AA, et al. Connective Tissue Growth Factor Causes Glaucoma by Modifying the Actin Cytoskeleton of the Trabecular Meshwork. *Am J Pathol* 2012;180(6):2386-2403
- 53 Stamer WD, Acott TS. Current understanding of conventional outflow dysfunction in glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 2012;23(2):135-143
- 54 Lu Z, Overby DR, Scott PA, et al. The mechanism of increasing outflow facility by rho-kinase inhibition with Y-27632 in bovine eyes. *Exp Eye Res* 2008;86(2):271-281