

结缔组织生长因子对 POAG 患者 Tenon 囊成纤维细胞的影响

陈小霞^{1,2}, 曹 阳¹

引用:陈小霞,曹阳. 结缔组织生长因子对 POAG 患者 Tenon 囊成纤维细胞的影响. 国际眼科杂志 2019;19(5):740-744

作者单位:¹(430022)中国湖北省武汉市,华中科技大学同济医学院附属协和医院眼科;²(450006)中国河南省郑州市,暨南大学附属郑州医院 郑州市第二人民医院眼科

作者简介:陈小霞,硕士,主治医师,研究方向:青光眼、白内障、眼底病。

通讯作者:曹阳,主任医师,副教授,硕士研究生导师,研究方向:青光眼、白内障. tsaoyoung@hotmail.com

收稿日期:2018-09-10 修回日期:2019-04-02

摘要

目的:研究结缔组织生长因子(CTGF)对原发性开角型青光眼(POAG)患者 Tenon 囊成纤维细胞(Tfb)增殖、移行和转化的影响。

方法:POAG 患者的 Tenon 囊组织行组织块法培养出来的 Tfb 细胞分为 2 组:(1)对照组;(2)CTGF 处理组:DMEM-F12 培养液中分别加入终浓度为 1.0、10.0、100.0ng/mL 的 CTGF。细胞处理 24h 后,分别用 MTT 法和细胞划痕法分别检测 Tfb 的增殖和移行,半定量 RT-PCR 法和免疫组织化学法分别检测 Tfb 中 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA) mRNA 水平的变化和蛋白的表达。

结果:MTT 法测得 1.0、10.0、100.0ng/mL CTGF 处理组的 A 值分别是 0.436 ± 0.009 、 0.643 ± 0.009 、 0.679 ± 0.006 , 对照组为 0.423 ± 0.156 。细胞划痕法显示,细胞移行数分别为 34.600 ± 3.507 、 70.400 ± 2.074 、 80.000 ± 2.915 个,对照组为 31.000 ± 3.536 个。RT-PCR 法得出不同浓度 CTGF 处理组 α -SMA/ β -actin 条带吸光度比值分别为 0.873 ± 0.161 、 1.213 ± 0.312 、 1.352 ± 0.376 , 对照组是 0.851 ± 0.158 。免疫组织化学法得出 1.0、10.0、100.0ng/mL CTGF 处理组阳性细胞的平均光密度值分别是 0.110 ± 0.026 、 0.141 ± 0.017 、 0.175 ± 0.027 , 对照组是 0.108 ± 0.020 。上述所有观察指标 10.0、100.0ng/mL CTGF 组与对照组相比较均有差异($P < 0.05$),而 1.0ng/mL CTGF 与对照组相比较均无差异($P > 0.05$)。

结论:CTGF 能促进 POAG 患者 Tfb 的增殖、移行和表型转化,CTGF 可能在滤过泡瘢痕化中扮演了重要作用。

关键词:结缔组织生长因子;青光眼;Tenon 囊成纤维细胞

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.5.07

Effect of connective tissue growth factor on Tenon capsule fibroblasts in POAG patients

Xiao-Xia Chen^{1,2}, Yang Cao¹

¹Department of Ophthalmology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan

430022, Hubei Province, China; ²Department of Ophthalmology, Zhengzhou Second Hospital, Zhengzhou 450006, Henan Province, China

Correspondence to: Yang Cao. Department of Ophthalmology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. tsaoyoung@hotmail.com

Received:2018-08-10 Accepted:2019-04-02

Abstract

• **AIM:** To investigate the effect of connective tissue growth factor (CTGF) on the proliferation and migration and transformation in Tenon's capsule fibroblasts (Tfb) of primary open angle glaucoma (POAG) patients.

• **METHODS:** Tfb were cultured from Tenon's tissues in POAG patients *in vitro*. The free-serum DMEM-F12 containing 1.0, 10.0, 100.0ng/mL of CTGF was added into medium for 24h and 48h in different experimental group respectively, and only equal volume of free-serum DMEM-F12 was added in the negative control group. After 24h, the cell proliferation was analyzed through MTT assay, and migration was evaluated by crutch method. After 48h, Semi-quantitative RT-PCR was used to observed the mRNA expression of α -smooth muscle actin (α -SMA), and expression of α -SMA protein was examined by immunohistochemistry.

• **RESULTS:** The proliferation values A of the cells in 1.0, 10.0, 100.0ng/mL of CTGF group respectively were 0.436 ± 0.009 , 0.643 ± 0.009 , 0.679 ± 0.006 , and 0.423 ± 0.156 in the negative control group. The migrated cell number was 34.600 ± 3.507 , 70.400 ± 2.074 , 80.000 ± 2.915 in different concentrations of CTGF group respectively, and 31.000 ± 3.536 in the negative control group. And also in different experimental groups respectively, the absorbance ratio of α -SMA/ β -actin was 0.873 ± 0.161 , 1.213 ± 0.312 , 1.352 ± 0.376 , and 0.851 ± 0.158 in the negative control group, the expressing levels A of α -SMA protein in Tfb were 0.110 ± 0.026 , 0.141 ± 0.017 , 0.175 ± 0.027 , and 0.108 ± 0.020 in the negative control group. The statistics of the above experimental data showed that, comparing with the negative control group, the 10.0 and 100.0ng/mL CTGF groups was statistically significant different ($P < 0.05$), but there was no statistical different between the 1.0ng/mL CTGF group and the negative control group ($P > 0.05$).

• **CONCLUSION:** The proliferation, migration, and phenotypic transformation of Tfb can be promoted in CTGF group in POAG patients. These findings suggest that CTGF may play a role in the development of filtering bleb scarring.

• **KEYWORDS:** connective tissue growth factor; glaucoma; Tenon's capsule fibroblasts

Citation: Chen XX, Cao Y. Effect of connective tissue growth factor on Tenon capsule fibroblasts in POAG patients. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019;19(5):740-744

0 引言

滤过手术是目前治疗原发性开角型青光眼(primary open-angle glaucoma, POAG)的经典手术方式,滤过泡瘢痕化是抗青光眼滤过术失败的主要原因,主要是由于 Tenon 囊成纤维细胞(Tenon's capsule fibroblasts, Tfb)在多种生长因子(如 TGF- β 家族)的作用下增殖、移行和发生表型转化,转化为肌成纤维细胞,其特征性变化是胞浆内 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)大量增加,细胞外基质过度合成蓄积,最终导致滤过区瘢痕化^[1-3]。Esson 等^[4]研究发现兔抗青光眼滤过术后结膜滤过泡组织中存在 TGF- β_2 和结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)的高表达,提示在滤过泡瘢痕形成过程中 CTGF 可能起作用。因此,我们通过体外实验研究 CTGF 对 POAG 患者 Tfb 细胞增殖、移行和转化的影响,以进一步探讨 CTGF 在滤过泡瘢痕化中的可能作用。

1 材料和方法

1.1 材料 POAG 患者 Tenon 囊组织:经华中科技大学同济医学院附属协和医院伦理委员会审核通过,和拟在本院眼科接受小梁切除术的 POAG 患者同意,其 Tenon 囊组织取自小梁切除术中。主要试剂:DMEM-F12 培养基(美国 Hyclone 公司);胎牛血清(fetalbovine serum, FBS)(中国杭州四季青生物工程材料研究所);0.25%胰蛋白酶(美国 Ameresco 公司);Trizol、逆转录聚合酶链反应试剂盒(美国 Invitrogen 公司); α -SMA 及 β -actin 引物(中国武汉众一生物技术有限公司合成);噻唑蓝(3, 4, 5-dimethyliazol-2, 5diphenyltetrazolium bromide, MTT)(美国 Sigma 公司);小鼠抗人 α -SMA 多克隆抗体、免疫组化(SABC 法)即用型试剂盒(山羊 IgG)和 DAB 试剂盒(武汉意德生物技术有限公司);人重组 CTGF 蛋白(美国 Peprotech 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 利用 POAG 患者的 Tenon 囊组织行组织块法培养 Tfb 细胞,接种后约 1~2d,细胞开始贴壁生长,繁殖较快,呈放射状或旋涡状走行。光镜下检查呈典型的梭形,胞体狭长(图 1)。经免疫组化染色, α -SMA 阳性成纤维细胞表现为胞浆呈棕黄色染色(图 2)。待细胞生长至融合状态,用 0.25%胰蛋白酶消化、传代,实验使用 3~6 代细胞。

1.2.2 MTT 法检测 CTGF 对 POAG 患者 Tfb 细胞增殖的影响 取对数生长期的细胞,用含 10% FBS 的 DMEM-F12 培养液调细胞密度至 5×10^4 /mL,接种于 96 孔板中,每孔 200 μ L。在 5% CO₂ 培养箱 37 $^{\circ}$ C 下培养 24h 后,换用无血清的培养液培养 24h,使细胞同步化。实验分为两组:(1)对照组:加入含 0.5% FBS 的 DMEM-F12 培养液;(2)CTGF 处理组:加入终浓度为 1.0、10.0、100.0 ng/mL CTGF 的培养液。每组设 5 个复孔,作用 48h 后,每孔加入 5g/L 的 MTT 20 μ L,继续培养 4h,吸弃培养液,每孔加入 150 μ L 的二甲基亚砷,振荡 10min,使结晶物充分溶解,应用酶联免疫检测仪测定各孔 490nm 吸光度(A)值。



图 1 正常 Tfb 细胞胞体狭长呈梭形($\times 100$)。



图 2 α -SMA 阳性成纤维细胞表现为胞浆呈棕黄色染色($\times 400$)。

1.2.3 细胞划痕法检测 CTGF 对 POAG 患者 Tfb 细胞移行的影响 细胞接种于 12 孔培养板中,细胞培养时间和同步化同前,用无菌的 1000 μ L 的 Tip 头造成条形细胞缺损区,PBS 漂洗 3 次以去除悬浮细胞,细胞处理同前,继续培养 24h,于倒置相差显微镜下观察细胞移行情况,随机选取每孔 5 个视野(100 倍)并照相计数越过划线移行的细胞个数。

1.2.4 RT-PCR 检测 CTGF 对 POAG 患者 Tfb 细胞中 α -SMA mRNA 表达的影响 细胞处理同前,24h 后收集对照组和实验组细胞,Trizol 试剂提取细胞总 RNA,溶于无 RNase 的水中,紫外分光光度计测定 A_{260}/A_{280} 的比值在 1.8~2.0 之间。 α -SMA 引物上游 5'-ACTACTGCTGAGCGTGAGATTG-3',下游 5'-CATGATGCTGTTGTAGGTGGTT-3',扩增片段长度为 246bp; β -actin 上游 5'-AACTGGAACGGTGAAGGTGACAGCA-3',下游 5'-CCACTCCCAGGGAGACCAAAAGCCT-3',引物扩增片段长度为 380bp。PCR 扩增条件:94 $^{\circ}$ C 预变性 5min,94 $^{\circ}$ C 变性 30s,50 $^{\circ}$ C 30s,72 $^{\circ}$ C 60s,35 次循环后,72 $^{\circ}$ C 延伸 7min,取 2.5 μ L PCR 产物进行 20g/L 琼脂糖凝胶电泳 40min,紫外灯下照相,用图像分析处理系统(UVI 公司)进行灰度扫描。并以 β -actin 为内参照,校正作相对量分析,数值以两者之积分吸光度的比值表示。

1.2.5 免疫细胞化学染色法检测 POAG 患者 Tfb 细胞 α -SMA 蛋白表达的作用 制备 Tfb 细胞悬液,调细胞浓度至 5×10^5 /mL,接种于放置消毒盖玻片的 12 孔板中,细胞培养时间和同步化同前,细胞处理同前。24h 后取出盖玻片,新鲜配制的 4%多聚甲醛固定 15min,采用 SABC 试剂盒进行 α -SMA 蛋白免疫组化染色,应用德国 DMR+Q550 病理图像免疫组化测量系统,对 α -SMA 蛋白表达进

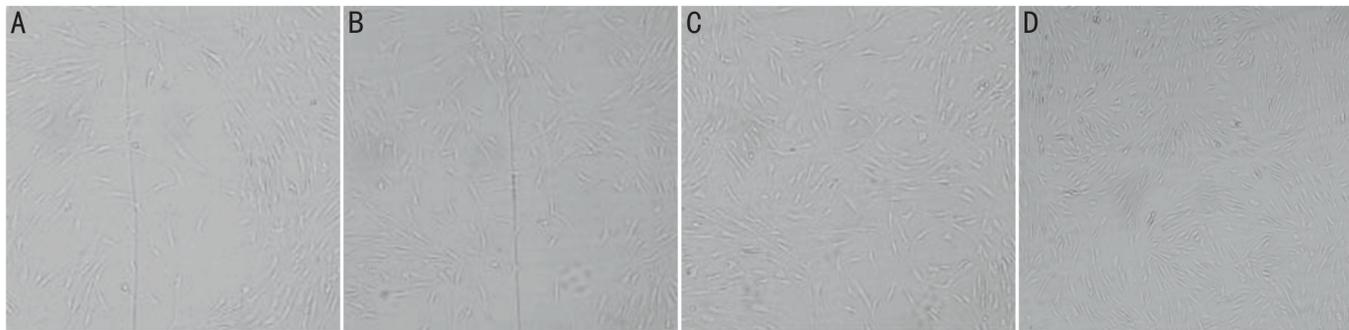


图3 不同浓度CTGF对POAG患者Tfb细胞移行的影响($\times 100$) A:对照组;B:1.0ng/mL CTGF组;C:10.0ng/mL CTGF组;D:100.0ng/mL CTGF组。

行图像分析。每张切片随机选取5个视野输入计算机,测量阳性细胞的平均光密度值。

统计学分析:采用SPSS15.0软件包处理数据,所有实验均独立重复3次,数据用均数 \pm 标准差表示,首先采用单因素方差分析进行多组间的比较,若存在差异,可进一步采用LSD-*t*检验进行组间两两比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度CTGF对POAG患者Tfb细胞增殖的影响

在实验条件下,MTT法测得1.0、10.0、100.0ng/mL CTGF处理组的A值分别是 0.436 ± 0.009 、 0.643 ± 0.009 、 0.679 ± 0.006 ,对照组为 0.423 ± 0.156 。四组间差异有统计学意义($F = 75.624$, $P = 0.010$),1.0ng/mL CTGF组与对照组间差异无统计学意义($t = 5.482$, $P = 0.297$),10.0、100.0ng/mL CTGF组与对照组间差异有统计学意义($t = 7.638$, $P = 0.005$; $t = 8.642$, $P = 0.010$),1.0ng/mL分别与10.0、100.0ng/mL CTGF组间差异有统计学意义($t = 9.183$, $P = 0.009$; $t = 8.326$, $P = 0.010$),10.0ng/mL与100.0ng/mL CTGF组间差异有统计学意义($t = 9.486$, $P = 0.016$)。

2.2 不同浓度CTGF对POAG患者Tfb细胞移行的影响

在划线后24h,可见对照组和处理组均有成纤维细胞向空白区移行生长,1.0、10.0、100.0ng/mL CTGF处理组的细胞移行数分别为 34.600 ± 3.507 、 70.400 ± 2.074 、 80.000 ± 2.915 个,对照组为 31.000 ± 3.536 个。四组间差异有统计学意义($F = 69.835$, $P = 0.010$),1.0ng/mL CTGF组与对照组差异无统计学意义($t = 4.586$, $P = 0.283$),10.0、100.0ng/mL CTGF组与对照组相比移行细胞数差异有统计学意义($t = 10.132$, $P = 0.005$; $t = 8.649$, $P = 0.010$)。1.0ng/mL分别与10.0、100.0ng/mL CTGF组间相比移行细胞数差异有统计学意义($t = 9.163$, $P = 0.008$; $t = 10.961$, $P = 0.012$),10.0ng/mL与100.0ng/mL CTGF组间相比移行细胞数差异有统计学意义($t = 10.364$, $P = 0.010$)。

2.3 不同浓度CTGF对POAG患者Tfb细胞 α -SMA mRNA表达的影响

RT-PCR产物电泳结果提示,细胞处理24h后,1.0、10.0、100.0ng/mL的浓度CTGF处理组 α -SMA/ β -actin条带吸光度比值分别为 0.873 ± 0.161 、 1.213 ± 0.312 、 1.352 ± 0.376 ,对照组是 0.851 ± 0.158 。四组间差异有统计学意义($F = 66.423$, $P = 0.002$),1.0ng/mL CTGF处理组 α -SMA/ β -actin条带吸光度比值与对照组相比,差异无统计学意义($t = 3.123$, $P = 0.243$),

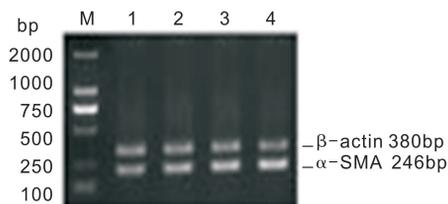


图4 POAG患者Tfb细胞 α -SMA和 β -actin RT-PR凝胶电泳结果 M:Marker;1:对照组;2:1.0ng/mL CTGF组;3:10.0ng/mL CTGF组;4:100.0ng/mL CTGF组。

10.0、100.0ng/mL CTGF处理组与对照组 α -SMA/ β -actin比值相比,差异有统计学意义($t = 6.543$, $P = 0.001$; $t = 7.616$, $P = 0.001$)。1.0ng/mL分别与10.0、100.0ng/mL CTGF处理组 α -SMA/ β -actin比值相比,差异有统计学意义($t = 7.165$, $P = 0.003$; $t = 8.642$, $P = 0.010$),10.0ng/mL与100.0ng/mL CTGF处理组 α -SMA/ β -actin比值相比,差异有统计学意义($t = 8.165$, $P = 0.001$)。

2.4 不同浓度CTGF对POAG患者Tfb细胞 α -SMA蛋白表达的影响

α -SMA阳性成纤维细胞表现为胞浆呈棕黄色染色,CTGF诱导Tfb细胞24h后,1.0、10.0、100.0ng/mL CTGF处理组阳性细胞的平均光密度值分别是 0.110 ± 0.026 、 0.141 ± 0.017 、 0.175 ± 0.027 ,对照组是 0.108 ± 0.020 。四组间差异有统计学意义($F = 61.397$, $P = 0.002$),1.0ng/mL CTGF组与对照组间差异无统计学意义($t = 4.412$, $P = 0.136$),10.0、100.0ng/mL CTGF实验组阳性细胞的平均光密度值与对照组间差异有统计学意义($t = 5.136$, $P = 0.000$; $t = 4.954$, $P = 0.001$)。1.0ng/mL分别与10.0、100.0ng/mL CTGF实验组阳性细胞的平均光密度值相比差异有统计学意义($t = 7.613$, $P = 0.004$; $t = 6.108$, $P = 0.006$),10.0ng/mL与100.0ng/mL CTGF实验组相比差异有统计学意义($t = 6.489$, $P = 0.005$)。

3 讨论

POAG是我国主要致盲眼病之一,滤过手术是目前抗青光眼手术的主要方式。滤过泡瘢痕形成是抗青光眼滤过术失败的主要原因,主要是由于Tfb在多种细胞因子(如TGF- β 家族)的作用下增殖、移行和发生表型转化,转化为肌成纤维细胞^[1-3],免疫组化研究显示,肌成纤维细胞含有肌动蛋白和肌球蛋白,尤其是高表达 α -SMA, α -SMA是目前公认的肌成纤维细胞标志物。肌成纤维细胞分泌的细胞外基质和多种生物活性因子参与组织修复,若肌成纤维细胞持续存在则可形成组织纤维化,并发生瘢痕收缩,最终导致滤过区瘢痕化^[5]。

众所周知,TGF- β 被认为是促进纤维化发展最重要

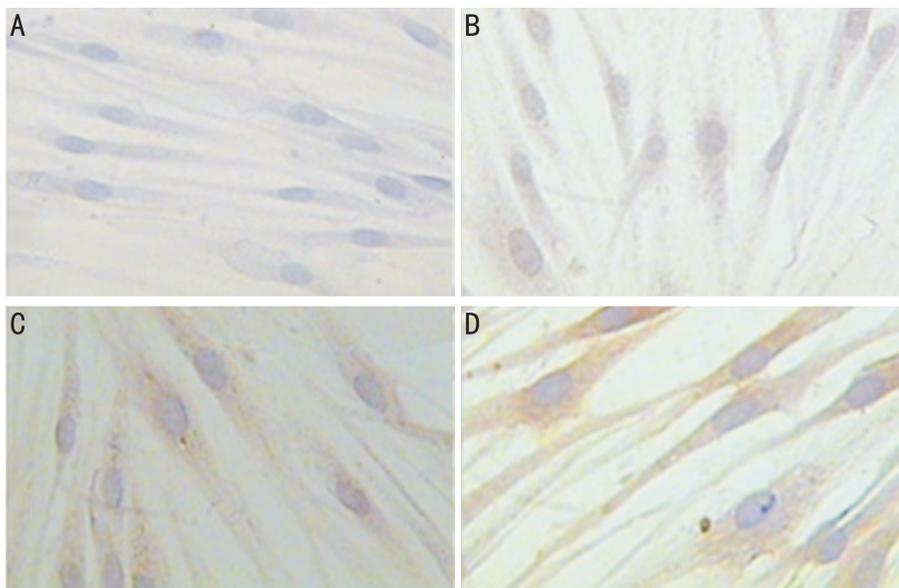


图5 不同浓度CTGF作用POAG患者Tfb中 α -SMA染色情况(SABC \times 400) A:对照组;B:1.0ng/mL CTGF组;C:10.0ng/mL CTGF组;D:100.0ng/mL CTGF组。

的生长因子,在青光眼滤过泡瘢痕化形成中亦起着重要作用。朱晓燕等^[6]发现TGF- β 可诱导成纤维细胞分化,一定程度上其作用呈质量浓度依赖性和时间依赖性,且细胞收缩力随质量浓度的增加而增强,可能是青光眼滤过术后滤过通道建立失败的重要机制。动物实验研究显示,TGF- β 抗体(CAT-152)能够提高青光眼术后功能滤过泡的形成率、延长滤泡存在时间^[7]。

TGF- β 除了诱导如成纤维细胞等的间质细胞增生与分化,促进细胞外基质(ECM)的形成、加快伤口愈合;还能够抑制包括上皮细胞、内皮细胞及淋巴细胞等的增殖与分化;抑制免疫反应、防止肿瘤的发生和恶变。为了避免因抑制TGF- β 可能引起的不良反应,需要寻求特异性更强的抗纤维化性治疗靶点。

CTGF是一种36~38kD的富含半胱氨酸的分泌型糖基化蛋白,由349个氨基酸组成。人的CTGF是1991年Bradham等^[8]从培养的人脐静脉内皮细胞的基质中发现的,CTGF是高度保守的即刻早期基因CCN家族的成员之一,其生物学效应包括刺激细胞增生、迁移,细胞外基质的生成、新生血管形成、细胞黏附、细胞凋亡、细胞表型转化等^[8-10]。作为TGF- β 的下游信号分子,CTGF的作用比较单一,并且介导TGF- β 的促纤维化作用时,作用范围往往局限在结缔组织的间质细胞中,对CTGF表达的靶向性阻断可能会成为组织和器官抗纤维化治疗的关键。

Hao等^[11]采用CTGF siRNA重组慢病毒抑制CTGF在肝星状细胞和CCl4诱导的肝纤维化大鼠的表达后发现:可明显地抑制肝星状细胞的活化和增殖,降低细胞外基质合成。而且CTGF shRNA重组体能明显抑制肝星状细胞的增殖和黏附能力^[12]。表明CTGF在肝纤维化发病中起关键作用,抑制CTGF可能是治疗肝纤维化的有效方法。张树华等^[13]应用腹腔注射链脲佐菌素的方法诱导糖尿病大鼠模型,相应时间点采用免疫组织化学法检测肾脏CTGF含量,同时进行肾脏病理检测并进行组间比较来探讨糖尿病大鼠肾脏纤维化与CTGF表达的关系得出,糖尿病大鼠CTGF的高表达,可能与肾脏纤维化有关,检测肾脏CTGF含量可考虑作为评价肾脏纤维化的方法。

在眼组织纤维化研究方面,CTGF被发现可以促进体外培养兔的角膜成纤维细胞增殖、向成肌纤维细胞转化和合成细胞外基质^[14]。也可以促进人晶状体上皮细胞 α -SMA基因和蛋白的表达,并且随浓度的增加作用增强。可促进晶状体上皮细胞细胞外基质的合成^[15]。CTGF也能够促进人视网膜色素上皮细胞ARPE-19细胞增生,而CTGF RNAi不但能够显著抑制其增生,还可显著抑制由划痕实验引发的ARPE-19细胞的迁移。此外,CTGF可通过上调 α -SMA表达水平而增强ARPE-19细胞对于TGF- β 1的反应,CTGF RNAi可使TGF- β 1诱导的上皮细胞-间充质细胞转变(EMT)减弱^[16]。TGF- β 能够明显地促进Tfb细胞增殖,并增强其下游介质CTGF的表达和合成细胞外基质-纤维连接蛋白^[17]。

我们以体外培养POAG患者的Tfb作为研究对象,观察了CTGF对其增殖和表型转化的影响,并首次报道了CTGF对Tfb移行的影响。结果显示细胞作用24h后,1.0ng/mL CTGF对Tfb的增殖、移行无明显作用,而10.0、100.0ng/mL CTGF能明显促进成纤维细胞的增殖、移行。细胞作用48h后,10.0、100.0ng/mL CTGF能够上调 α -SMA mRNA的水平,10.0、100.0ng/mL CTGF刺激后Tfb α -SMA蛋白表达呈强阳性。本研究发现CTGF组能促进POAG患者Tfb的增殖、移行,并促进其向肌成纤维细胞转化,推测CTGF可能在滤过道和滤过泡的创伤修复和纤维化过程中扮演重要作用。针对CTGF的靶向治疗有可能开辟一条仅特异作用于TGF- β 引起的纤维化作用,而不影响其它免疫活性作用发挥的新途径,为青光眼滤过术后瘢痕形成的防治提供新的方向。

参考文献

- Cordeiro MF. Role of transforming growth factor beta in conjunctival scarring. *Clin Sci(Lond)* 2003;104(2):181-187
- Meyer-ter-Vehn T, Sieprath S, Katzenberger B, et al. Contractility as a prerequisite for TGF-beta-induced myofibroblast transdifferentiation in human tenon fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47(11): 4895-4904

3 Kottler UB, Junemann AG, Aigner T, *et al.* Comparative effects of TGF- β 1 and TGF- β 2 on extracellular matrix production, proliferation, migration, and collagen contraction of human Tenon's capsule fibroblasts in pseudoexfoliation and primary open-angle glaucoma. *Exp Eye Res* 2005;80(1):121-134

4 Esson DW, Neelakantan A, Iyer SA, *et al.* Expression of connective tissue growth factor after glaucoma filtration surgery in a rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(2):485-491

5 Serini G, Bochaton-Piallat ML, Ropraz P, *et al.* The fibronectin domain ED-A is crucial for myofibroblastic phenotype induction by transforming growth factor- β 1. *J Cell Biol* 1998;142(3):873-881

6 朱晓燕, 李磊, 鲜光军. 转化生长因子- β 2 诱导人 Tenon 囊成纤维细胞转化及其在瘢痕形成中的作用. *中华实验眼科杂志* 2013;31(3):215-219

7 CAT-152 0102 Trabeculectomy Study Group, Khaw P, Grehn F, *et al.* A Phase III study of subconjunctival human anti-transforming growth factor β (2) monoclonal antibody (CAT-152) to prevent scarring after first-time trabeculectomy. *Ophthalmology* 2007;114(10):1822-1830

8 Bradham DM, Igarashi A, Potter RL, *et al.* Connective tissue growth factor: a cysteine-rich mitogen secreted by human vascular endothelial cells is related to the SRC-induced immediate early gene product CEF-10. *J Cell Biol* 1991;114(6):1285-1294

9 王侃, 严文华. 转化生长因子- β 与结缔组织生长因子在纤维化中的作用机制. *浙江实用医学* 2004;9(3):208-210

10 刘剑毅, 纪淑兴, 李世荣. 结缔组织生长因子及其生物学作用. *中国实用美容整形外科* 2004;15(1):44-46

11 Hao C, Xie Y, Peng M, *et al.* Inhibition of connective tissue growth factor suppresses hepatic stellate cell activation *in vitro* and prevents liver fibrosis *in vivo*. *Clin Exp Med* 2014;14(2):141-150

12 余琴, 王乾华, 毕昊等. CTGF 在肝纤维化过程中的表达变化及其对大鼠肝星状细胞功能的影响. *华中科技大学学报(医学)* 2016;45(3):284-287

13 张树华, 孙冬梅, 马琳. 糖尿病大鼠肾脏纤维化与 CTGF 表达的相关性. *中国循证心血管医学杂志* 2013;5(2):190-193

14 黄琼, 胡燕华, 李琦, 等. CTGF 对角膜成纤维细胞生物学功能的影响. *眼科研究* 2004;22(6):569-572

15 马波, 裴澄, 康前雁. 结缔组织生长因子在晶状体上皮细胞转分化和细胞外基质合成中的作用. *西安交通大学学报(医学版)* 2013;34(6):773-778

16 田蓉, 于颖, 陈有信. 结缔组织生长因子在人视网膜色素上皮细胞的增生、迁移和上皮细胞-间充质细胞转变中的作用. *眼科新进展* 2014;34(12):1105-1109

17 王育红, 胡义珍, 曹阳. 转化生长因子- β 2 刺激人 Tenon 囊成纤维细胞增殖, 表达 CTGF 和合成 Fn. *国际眼科杂志* 2006;6(4):796-798