

# Rho/ROCK 信号通路在眼科疾病发生发展中的作用研究进展

郝一宪<sup>1</sup>, 魏慧霞<sup>1</sup>, 郭大东<sup>2</sup>, 毕宏生<sup>2,3</sup>

引用: 郝一宪, 魏慧霞, 郭大东, 等. Rho/ROCK 信号通路在眼科疾病发生发展中的作用研究进展. 国际眼科杂志 2021; 21(4): 640-643

基金项目: 国家重点研发计划 (No.2019YFC1710200); 山东省重点研发计划 (No.2019GSF108252, 2017CXGC1211)

作者单位: <sup>1</sup>(250355) 中国山东省济南市, 山东中医药大学; <sup>2</sup>(250002) 中国山东省济南市, 山东省中西医结合眼病防治重点实验室 山东省高校中西医结合眼病防治技术(强化)重点实验室 山东中医药大学眼科研究所; <sup>3</sup>(250002) 中国山东省济南市, 山东中医药大学附属眼科医院

作者简介: 郝一宪, 在读硕士研究生, 研究方向: 白内障、眼视光学。

通讯作者: 郭大东, 博士, 教授, 实验室中心主任, 研究方向: 眼科疾病分子诊断研究及纳米生物技术在临床检验诊断中的应用研究. dadonggene@163.com; 毕宏生, 博士, 主任医师, 教授, 山东中医药大学眼科研究所所长, 山东中医药大学附属眼科医院院长, 研究方向: 眼科疾病临床与基础研究. hongshengbi@163.com

收稿日期: 2020-04-13 修回日期: 2021-02-26

## 摘要

眼科疾病的发生发展与细胞生理功能和眼组织功能异常密切相关, 其中相关信号通路的调控发挥了重要作用。Rho/ROCK 信号通路可参与多种细胞事件, 包括诱导细胞骨架重组、细胞黏附、细胞增殖和血管生成, 并可在细胞周期进展、细胞分化和细胞凋亡中发挥显著作用。研究表明, Rho/ROCK 信号通路在眼组织中分布广泛, 其异常活化可影响眼组织的正常生理功能, 与眼病的发生发展关系紧密。本文对 Rho/ROCK 信号通路在眼科疾病发生发展中的作用简要综述, 为临床治疗眼病提供思路。

关键词: Rho/ROCK 信号通路; 眼病; 作用机制; 调控

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2021.4.14

## Research progress of the role of Rho/ROCK signaling pathway in the occurrence and development of ophthalmic diseases

Yi-Xian Hao<sup>1</sup>, Hui-Xia Wei<sup>1</sup>, Da-Dong Guo<sup>2</sup>, Hong-Sheng Bi<sup>2,3</sup>

Foundation items: The State Key Project of R&D of China (No. 2019YFC1710200); The Key R&D Project of Shandong Province (No.2019GSF108252, 2017CXGC1211)

<sup>1</sup>Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, Shandong Province, China; <sup>2</sup>Shandong Provincial Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases; Key Laboratory of

Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases in Universities of Shandong; Eye Institute of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, Shandong Province, China; <sup>3</sup>Ophthalmic Hospital Affiliated to Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, Shandong Province, China

Correspondence to: Da-Dong Guo. Shandong Provincial Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases; Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases in Universities of Shandong; Eye Institute of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, Shandong Province, China. dadonggene@163.com; Hong-Sheng Bi. Shandong Provincial Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases; Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Diseases in Universities of Shandong; Eye Institute of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, Shandong Province, China; Ophthalmic Hospital Affiliated to Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, Shandong Province, China. hongshengbi1@163.com  
Received: 2020-04-13 Accepted: 2021-02-26

## Abstract

• The occurrence and development of ophthalmic diseases are closely related to the abnormality of cellular regulation and ocular tissue function, in which the relevant signaling pathways play an important role in the regulation of physiological functions. The Rho/ROCK signaling pathway is involved in a variety of cellular events, including cytoskeletal reorganization, cell adhesion, cell proliferation and angiogenesis, and also plays a significant role in cell cycle progression, cell differentiation and apoptosis. Studies have shown that the Rho/ROCK signaling pathway is widely distributed in ocular tissues, and its aberrant activation can affect the normal physiological function of ocular tissues, demonstrating it is closely related to the occurrence and development of ophthalmic diseases. This paper briefly reviews the role of Rho/ROCK signaling pathway in the occurrence and development of ophthalmic diseases, providing new insights into the clinical treatment of ophthalmic diseases.

• KEYWORDS: Rho/ROCK signaling pathway; eye disease; action mechanism; regulation

Citation: Hao YX, Wei HX, Guo DD, et al. Research progress of the role of Rho/ROCK signaling pathway in the occurrence and development of ophthalmic diseases. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2021; 21(4): 640-643

## 0 引言

大量研究发现,Rho/ROCK 信号通路具有一系列重要的生物学功能,可以在细胞调控过程中起“开关”作用,并参与调控细胞增殖与分化、诱导细胞骨架重组、影响血管和组织通透性和应力纤维形成等。越来越多的研究表明,Rho/ROCK 信号通路可调控多种眼组织细胞的生理功能,包括通过调控细胞增殖、上皮分化、细胞迁移和细胞黏附来影响角膜各层功能;控制细胞骨架重塑来调节晶状体上皮细胞的迁移和增殖;调节小梁网收缩来控制房水流通;调控肌动蛋白和肌球蛋白,导致血管平滑肌收缩,影响眼内血流;诱导肌成纤维细胞的形成影响巩膜重塑等(图1)。因此,Rho/ROCK 信号通路在眼科疾病的发生发展中起重要的调控作用,本文就 Rho/Rock 信号通路在眼科疾病发生发展中的作用做简要综述,为临床治疗眼病提供思路。

## 1 Rho-GTP 酶和 Rho

Rho-GTP 酶是控制所有真核细胞多种信号转导途径的重要分子开关,为 20~30kD 单体 GTP 结合蛋白,与 Ras 超家族蛋白有 25% 的同源性<sup>[1-2]</sup>。哺乳动物 Rho-GTP 酶主要包括 Rho(三种亚型:A,B,C)、Rac(1,2,3)、Cdc42、TC10、TCL、Chp(1,2)、RhoG、Rnd(1,2,3)、RhoBTB(1,2)、RhoD、Rif、和 TTF<sup>[1]</sup>等类型。Rho 蛋白受三类蛋白质的高度调控,即鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factor,GEF),GTP 酶激活蛋白(GTPase-activating protein,GAP)和鸟嘌呤核苷酸交换抑制剂(guanine nucleotide exchange inhibitor,GDI)。在 GEF 的作用下,Rho 蛋白由无活性的 Rho-GDP 状态转变为有活性的 Rho-GTP 状态,并且 GAP 可以通过 GTP 的水解使 Rho 蛋白失活,而 Rho-GDI 可保护 Rho 蛋白免受泛素化<sup>[3]</sup>。

## 2 ROCK

Rho 相关蛋白激酶(Rho-associated coiled-protein kinase,ROCK)属于丝氨酸/苏氨酸激酶家族,包括两种类型 ROCK1 和 ROCK2。其中,ROCK1 在肝、肺、肾、脾、睾丸和循环炎症细胞中大量表达,而 ROCK2 主要存在于心脏、肌肉(包括平滑肌)和大脑中<sup>[4]</sup>。ROCK 的结构包括三部分:位于分子结构氨基端的催化区,位于分子结构羧基端的 PH 结构域,以及包含 Rho-GTP 结合结构域的螺旋区。ROCK 受到 Rho-GTP 酶的调控,参与控制多种生理功能,包括细胞收缩、迁移、增殖和黏附。ROCK 可以使多种细胞内底物磷酸化,包括肌球蛋白轻链(myosin light chain,MLC)、LIM 激酶(LIM kinases,LIMK)、肌球蛋白磷酸酶靶蛋白(myosin phosphatase target protein,MYPT-1)等,并通过与这些底物的相互作用调控肌球蛋白的收缩、细胞形态变化、细胞黏附、膜通透性等。

## 3 Rho/ROCK 信号通路在眼科疾病中的相关研究

**3.1 白内障** 白内障是有用视力丧失的最常见原因之一,全世界大约有 1600 万人受到影响<sup>[5]</sup>。转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor,TGF- $\beta$ )诱导的上皮-间质转化可导致眼部纤维化病变,在白内障发生发展过程中起促进作用。Korol 等<sup>[6]</sup>证实 TGF- $\beta$  诱导的上皮-间质转化(最终表达  $\alpha$ -SMA)受肌动蛋白动力学的调节,其发生途径是 RhoA-ROCK-MRTF-A。Imaizumi 等<sup>[7]</sup>发现,ROCK 抑制剂 Y27632 抑制了 TGF- $\beta$ 2 依赖性诱导的小鼠晶状体上皮细胞(lens epithelial cells,LECs) I 型胶原表达和 UV-B 照射诱导的前囊下白内障(anterior subcapsular cataracts,

ASCs)形成,对 ASCs 的发生起抑制作用。因此,ROCK 抑制剂可能是预防 ASCs 的候选药物。在白内障术后,最常见的并发症是由 LECs 的迁移和增殖引起的后囊混浊(posterior capsule opacification,PCO)。Lin 等<sup>[8]</sup>发现,ROCK 通路可以通过 cofilin 激活、CAPZA1 和 ERM 蛋白家族表达来调节细胞骨架重塑,其中 cofilin 可以通过磷酸化调节 LECs 的迁移和增殖;经 ROCK 抑制剂 Y27632-PLGA 改良后的人工晶状体可明显抑制 PCO 的发展。因此,改良人工晶状体可明显阻止 PCO 的形成,有望成为临床预防 PCO 的有效途径。

**3.2 青光眼** 青光眼是一组不可逆的进行性视神经疾病,可导致严重的视野丧失和失明<sup>[9]</sup>,表现为房水流通受阻或流速下降而导致的眼压升高。在青光眼房水中可以观察到多种细胞因子浓度的改变,其中包括 TGF- $\beta$  水平的增加<sup>[10]</sup>。Rho 蛋白可以通过刺激分泌的生物活性分子受体(如内皮素-1、凝血酶、血管紧张素 II、溶血磷脂酸、TGF- $\beta$  和细胞因子)被激活,也可以通过与细胞外基质结合后由整合素激活<sup>[11]</sup>。Pattabiraman 等<sup>[12]</sup>利用慢病毒作为基因载体,研究大鼠房水流出通道中 RhoA-GTP 酶(RhoAV14)持续表达对眼压的影响,发现在小梁房水通路中,因 RhoAV14 失活可导致成纤维细胞活性增加,并以 ROCK 依赖的方式升高大鼠的眼压。Montecchi-Palmer 等<sup>[13]</sup>发现 TGF- $\beta$ 2 通过 Smad 和非 Smad 依赖性途径诱导小梁细胞内交联肌动蛋白网络的形成,且 ROCK 抑制剂对肌动蛋白应力纤维具有破坏性,因此房水流出受阻和眼压升高可能是由于 Rho/ROCK 信号传导途径的激活,使用 Rho/ROCK 信号通路抑制剂可能在青光眼治疗中发挥作用。

## 3.3 视神经相关病变

**3.3.1 视神经损伤** 常见的视神经病变包括青光眼性视神经病变和外伤性视神经损伤。视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells,RGCs)的逐渐丧失和相关的视野缺损是青光眼性视神经病变的典型标志,而 RGCs 的凋亡会导致视力损害和失明<sup>[14-15]</sup>。Yu 等<sup>[16]</sup>发现视网膜 RhoA/ROCK 信号在外伤性视神经病变中被激活;同时,中枢神经损伤后,RGCs 上调表达 Nogo-髓鞘相关糖蛋白(Nogo myelin-associated glycoprotein,Nogo-A),这是一种富含髓鞘的中枢神经系统轴突生长和再生抑制蛋白<sup>[17]</sup>。Nogo-A 与细胞膜上的受体结合后将信号传入细胞内,激活 RhoA-ROCK-LIMK-Cofilin 信号通路,调控肌动蛋白和肌球蛋白从而引起细胞生长锥的塌陷,抑制神经轴突的生长<sup>[18-19]</sup>;Yu 等<sup>[16]</sup>研究证实,ROCK 抑制剂法舒地尔(Fasudil)可通过作用于 Rho/ROCK 信号通路减轻 RGCs 的损伤,降低 Nogo-A 和 ROCK-2 基因的表达,从而减轻视神经损伤。

**3.3.2 缺血性视神经病变** 缺血性视神经病变根据视神经乳头(optic nerve head,ONH)的肿胀部位分为前部和后部两种类型<sup>[20]</sup>。青光眼眼压升高可增加 ONH 筛板上的机械力,使 RGCs 轴突功能受损,同时,随着 ONH 中 RhoA 蛋白水平显著增加,Rho/ROCK 信号通路调控肌动蛋白和肌球蛋白作用增强,导致血管平滑肌过度收缩,最终导致 ONH 缺血<sup>[21-23]</sup>。Sugiyama 等<sup>[24]</sup>研究发现,局部或全身注射 ROCK 抑制剂法舒地尔抑制 L-NAME 或内皮素-1 诱导的 ONH 血流量减少以及 ONH 功能和形态的损害。Chihara 等<sup>[25]</sup>研究表明,外用 ROCK 抑制剂利帕舒地尔(Ripasudil)增加了原发性开角型青光眼和高眼压的 ONH



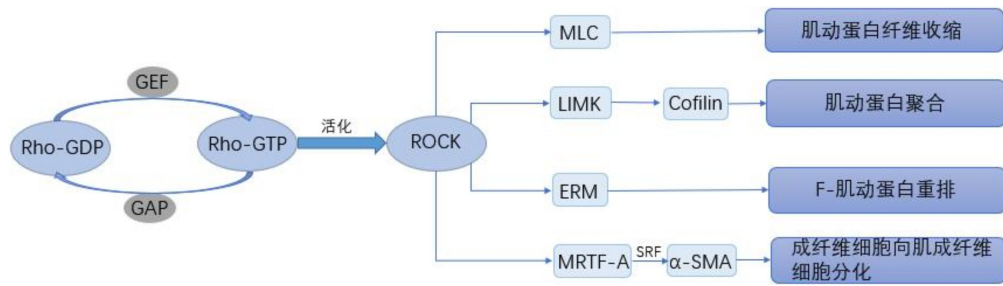


图1 Rho/ROCK 信号通路活化作用简图 GEF:鸟嘌呤核苷酸交换因子;GAP:GTP 酶激活蛋白;MLC:肌球蛋白轻链;LIMK:LIM 激酶;ERM:(Ezrin/Radixin/Moesin) 蛋白家族;MRTF-A:心肌相关转录因子-A;SRF:血清反应因子。

浅周血管密度,扩张毛细血管周围血管。因此,ROCK 抑制剂可作为缺血性视神经病变的治疗方法。

### 3.4 视网膜相关病变

**3.4.1 糖尿病性视网膜病变** 对糖尿病患者而言,糖尿病视网膜病变是致其失明的主要原因<sup>[26]</sup>。Arita 等<sup>[27-28]</sup>在糖尿病大鼠的视网膜微血管系统中观察到显著的 Rho/ROCK 活化,应用 ROCK 抑制剂法舒地尔,使糖尿病大鼠视网膜内皮型一氧化氮合酶的磷酸化水平显著增加,并且降低 MYPT-1 磷酸化和细胞间黏连分子-1 表达,通过抑制白细胞黏附并减少白细胞诱导的内皮损伤来保护血管内皮。事实上,抑制 Rho/ROCK 通路可调节血管内皮细胞从而抑制血管内皮生长因子诱导的血管生成<sup>[29]</sup>。Hollanders 等<sup>[30]</sup>用 ROCK 抑制剂 AMA0428 靶向 Rho/ROCK 通路可有效减少早期糖尿病视网膜病变改变。Rothschild 等<sup>[31]</sup>发现在 2 型糖尿病视网膜中,视网膜内皮细胞和视网膜色素上皮细胞中的 ROCK-1 信号激活,可诱导细胞骨架重塑,进而导致微血管闭塞和视网膜缺氧,并破坏视网膜色素上皮屏障和渗漏,而眼内注射法舒地尔能有效逆转该损害。

**3.4.2 年龄相关性黄斑变性** 年龄相关性黄斑变性是视网膜色素上皮和神经感觉性视网膜的退行性病变,其特征是视网膜色素上皮丧失、脉络膜新生血管、色素上皮脱离和黄斑纤维瘢痕形成<sup>[32-33]</sup>。Hollanders 等<sup>[34]</sup>发现在体外琼脂糖迁移实验中,ROCK 抑制剂 AMA0428 可减少人脑微血管周细胞中肌球蛋白磷酸化,并诱导应力纤维和局灶性黏连的丢失,从而促进该细胞的迁移和招募,促进血管的成熟,且 AMA0428 在激光诱导的脉络膜新生血管小鼠模型中具有抗炎、抗血管生成和抗纤维化作用。

**3.4.3 视网膜脱离** 视网膜脱离最明显的特征是杆状细胞轴突及其末端从外突触层向细胞本体的回缩<sup>[35]</sup>。RhoA/ROCK 信号通路在受伤后可迅速活化,促进轴突回缩<sup>[36]</sup>。Wang 等<sup>[37]</sup>发现视网膜脱离后,通过 RhoA-ROCK-LIMK 通路,使 cofilin 磷酸化增加,促进了视杆感光细胞肌动蛋白纤维的解聚,从而有助于视杆轴突损伤后的收缩。

**3.5 角膜内皮疾病** 角膜内皮层为角膜最内层,灵长类角膜内皮细胞(corneal endothelial cell,CEC)是不可再生的,因此 CEC 的任何损伤都只能通过代偿性迁移和残余 CEC 的扩散来修复,以覆盖受伤区域,从而导致 CEC 密度下降,当低于临界水平(通常小于 500~1000cell/mm<sup>2</sup>)时,可能导致角膜混浊<sup>[38]</sup>。研究发现,ROCK 抑制剂可加速角膜内皮伤口愈合,从而导致具有高内皮细胞密度的角膜内皮单层细胞再生<sup>[39]</sup>。Okumura 等<sup>[40]</sup>证实 ROCK 抑制剂 Y-27632 通过抑制 Rho/ROCK 信号通路,促进 CEC 的黏附,抑制细胞凋亡,来增加 CEC 细胞的数量。在角膜受损

的伤口愈合过程中,新生血管的生成以及纤维化可损害视力,ROCK 抑制剂 AMA0526 在体外能有效抑制血管生成,并可减轻炎症反应和Ⅲ型胶原沉积,从而有效控制创面愈合的全过程<sup>[41]</sup>。

**3.6 近视** 近视作为一种青少年常见的眼部疾病,其特征在于眼轴的过度增长。大量实验和临床证据表明,与近视相关的眼球后段过度延长是巩膜细胞外基质重塑改变的结果,该结果已被人近视眼巩膜的结构和生物力学的变化所证实<sup>[42]</sup>。Yuan 等<sup>[43]</sup>研究发现巩膜成纤维细胞受到机械应力后可激活 RhoA,通过 RhoA/ROCK2-MRTF-A/SRF 途径,使得心肌相关转录因子-A(MRTF-A)核转移, $\alpha$ -SMA 表达增加,诱导其分化为肌成纤维细胞。另外,MDIA 和 ROCK 在 Rho 引起的应力纤维形成过程中同时被激活,MDIA 通过成核和聚合产生肌动蛋白细丝,而 ROCK 激活肌球蛋白使其交联,从而诱导肌球蛋白束的收缩<sup>[44]</sup>。因此,Rho 可能通过 mDia1 和 ROCK 途径同时介导肌动蛋白组装,从而影响近视的发生发展。

**3.7 葡萄膜炎** 特发性前葡萄膜炎是人类最常见的眼内炎性疾病,以虹膜和/或球囊的炎症为特征<sup>[45]</sup>。Uchida 等<sup>[46]</sup>研究发现,在内毒素诱导的大鼠葡萄膜炎中,ROCK 抑制剂利帕舒地尔通过抑制细胞间黏连分子-1 和 MYPT-1 的表达,以及通过抑制 TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B 来发挥抗炎作用,从而抑制白细胞黏附和炎性细胞浸润。Yamada 等<sup>[47]</sup>研究发现利帕舒地尔滴眼液对前葡萄膜炎患者的炎症作用有很好的抑制作用,可能与 ROCK 信号通路抑制剂重新构建血-房水屏障有关。

### 4 小结

综上所述,Rho/ROCK 信号通路参与了多种眼病的发生发展,深入探讨 Rho/ROCK 信号通路在眼病发生发展中的作用对治疗眼病有很好的帮助和促进作用,相关的 Rho 酶抑制剂和 ROCK 抑制剂的开发也在相关眼病的治疗过程中显示出越来越大的潜力,并为治疗眼病提供了更多的选择和帮助。

#### 参考文献

- 1 Etienne-Manneville S, Hall A. Rho GTPases in cell biology. *Nature* 2002;420(6916):629-635
- 2 Bishop AL, Hall A. Rho GTPases and their effector proteins. *Biochem J* 2000;348(Pt 2):241-255
- 3 Doye A, Mettouchi A, Lemichez E. Assessing ubiquitylation of Rho GTPases in mammalian cells. *Methods Mol Biol* 2012;827:77-86
- 4 Loirand G. Rho Kinases in Health and Disease: From Basic Science to Translational Research. *Pharmacol Rev* 2015;67(4):1074-1095
- 5 Asbell PA, Dualan I, Mindel J, et al. Age-related cataract. *Lancet* 2005;365(9459):599-609
- 6 Korol A, Taiyab A, West-Mays JA. RhoA/ROCK signaling regulates

- TGFβ-induced epithelial-mesenchymal transition of lens epithelial cells through MRTF-A. *Mol Med* 2016;22:713-723
- 7 Imaizumi T, Kurosaka D, Tanaka U, et al. Topical administration of a ROCK inhibitor prevents anterior subcapsular cataract induced by UV-B irradiation. *Exp Eye Res* 2019;181:145-149
- 8 Lin L, Lin Q, Li J, et al. ROCK inhibitor modified intraocular lens as an approach for inhibiting the proliferation and migration of lens epithelial cells and posterior capsule opacification. *Biomater Sci* 2019;7(10):4208-4217
- 9 Gupta D, Chen PP. Glaucoma. *Am Fam Physician* 2016;93(8):668-674
- 10 张勇. 青光眼患者房水中细胞因子的研究进展. 国际眼科杂志 2017;17(10):1864-1866
- 11 Honjo M, Tanihara H. Impact of the clinical use of ROCK inhibitor on the pathogenesis and treatment of glaucoma. *Jpn J Ophthalmol* 2018;62(2):109-126
- 12 Pattabiraman PP, Rinkoski T, Poeschla E, et al. RhoA GTPase-induced ocular hypertension in a rodent model is associated with increased fibrogenic activity in the trabecular meshwork. *Am J Pathol* 2015;185(2):496-512
- 13 Montecchi-Palmer M, Bermudez JY, Webber HC, et al. TGFβ2 Induces the Formation of Cross-Linked Actin Networks (CLANs) in Human Trabecular Meshwork Cells Through the Smad and Non-Smad Dependent Pathways. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58(2):1288-1295
- 14 Vidal-Sanz M, Galindo-Romero C, Valiente-Soriano FJ, et al. Shared and Differential Retinal Responses against Optic Nerve Injury and Ocular Hypertension. *Front Neurosci* 2017;11:235
- 15 Cui Y, Xu N, Xu W, et al. Mesenchymal stem cells attenuate hydrogen peroxide-induced oxidative stress and enhance neuroprotective effects in retinal ganglion cells [published correction appears in *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2017 Apr;53(4):336]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2017;53(4):328-335
- 16 Yu J, Luan X, Lan S, et al. Fasudil, a Rho-Associated Protein Kinase Inhibitor, Attenuates Traumatic Retinal Nerve Injury in Rabbits. *J Mol Neurosci* 2016;58(1):74-82
- 17 Vajda F, Jordi N, Dalkara D, et al. Cell type-specific Nogo-A gene ablation promotes axonal regeneration in the injured adult optic nerve. *Cell Death Differ* 2015;22(2):323-335
- 18 Schwab ME. Nogo and axon regeneration. *Curr Opin Neurobiol* 2004;14(1):118-124
- 19 Liu J, Wang Y, Fu W. Axon regeneration impediment; the role of paired immunoglobulin-like receptor B. *Neural Regen Res* 2015;10(8):1338-1342
- 20 Patel HR, Margo CE. Pathology of Ischemic Optic Neuropathy. *Arch Pathol Lab Med* 2017;141(1):162-166
- 21 Morgan JE. Optic nerve head structure in glaucoma: astrocytes as mediators of axonal damage. *Eye (Lond)* 2000;14(Pt 3B):437-444
- 22 Goldhagen B, Proia AD, Epstein DL, et al. Elevated levels of RhoA in the optic nerve head of human eyes with glaucoma. *J Glaucoma* 2012;21(8):530-538
- 23 Masumoto A, Mohri M, Shimokawa H, et al. Suppression of coronary artery spasm by the Rho-kinase inhibitor fasudil in patients with vasospastic angina. *Circulation* 2002;105(13):1545-1547
- 24 Sugiyama T, Shibata M, Kajjura S, et al. Effects of fasudil, a Rho-associated protein kinase inhibitor, on optic nerve head blood flow in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(1):64-69
- 25 Chihara E, Dimitrova G, Chihara T. Increase in the OCT angiographic peripapillary vessel density by ROCK inhibitor ripasudil instillation; a comparison with brimonidine. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2018;256(7):1257-1264
- 26 Pelikánová T. Diabetic retinopathy: pathogenesis and therapeutic implications. *Vnitr Lek* 2016;62(7-8):620-628
- 27 Arita R, Hata Y, Nakao S, et al. Rho kinase inhibition by fasudil ameliorates diabetes-induced microvascular damage. *Diabetes* 2009;58(1):215-226
- 28 Arita R. Mechanism of diabetes-induced microvascular damage and therapeutic potential of ROCK inhibition. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 2011;115(11):985-997
- 29 Van Nieuw Amerongen GP, Van Hinsbergh VW. Role of ROCK I/II in vascular branching. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;296(4):903-905
- 30 Hollanders K, Hove IV, Sergeys J, et al. AMA0428, A Potent Rock Inhibitor, Attenuates Early and Late Experimental Diabetic Retinopathy. *Curr Eye Res* 2017;42(2):260-272
- 31 Rothschild PR, Salah S, Berdugo M, et al. ROCK-1 mediates diabetes-induced retinal pigment epithelial and endothelial cell blebbing: Contribution to diabetic retinopathy. *Sci Rep* 2017;7(1):8834
- 32 Gheorghe A, Mahdi L, Musat O. Age-related macular degeneration. *Rom J Ophthalmol* 2015;59(2):74-77
- 33 Gottlieb JL. Age-related macular degeneration. *JAMA* 2002;288(18):2233-2236
- 34 Hollanders K, Van Bergen T, Kindt N, et al. The effect of AMA0428, a novel and potent ROCK inhibitor, in a model of neovascular age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(2):1335-1348
- 35 Fountainhas AM, Townes-Anderson E. RhoA inactivation prevents photoreceptor axon retraction in an *in vitro* model of acute retinal detachment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(1):579-587
- 36 Wang J, Zarbin M, Sugino I, et al. RhoA Signaling and Synaptic Damage Occur Within Hours in a Live Pig Model of CNS Injury, Retinal Detachment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57(8):3892-3906
- 37 Wang W, Halasz E, Townes-Anderson E. Actin Dynamics, Regulated by RhoA - LIMK - Cofilin Signaling, Mediates Rod Photoreceptor Axonal Retraction After Retinal Injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2019;60(6):2274-2285
- 38 Okumura N, Kinoshita S, Koizumi N. Application of Rho Kinase Inhibitors for the Treatment of Corneal Endothelial Diseases. *J Ophthalmol* 2017;2017:2646904
- 39 Koizumi N, Okumura N, Ueno M, et al. New therapeutic modality for corneal endothelial disease using Rho-associated kinase inhibitor eye drops. *Cornea* 2014;33 Suppl 11:S25-S31
- 40 Okumura N, Ueno M, Koizumi N, et al. Enhancement on primate corneal endothelial cell survival in vitro by a ROCK inhibitor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(8):3680-3687
- 41 Sijnave D, Van Bergen T, Castermans K, et al. Inhibition of Rho-Associated Kinase Prevents Pathological Wound Healing and Neovascularization After Corneal Trauma. *Cornea* 2015;34(9):1120-1129
- 42 Metlappally R, Wildsoet CF. Scleral Mechanisms Underlying Ocular Growth and Myopia. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2015;134:241-248
- 43 Yuan Y, Li M, To CH, et al. The Role of the RhoA/ROCK Signaling Pathway in Mechanical Strain-Induced Scleral Myofibroblast Differentiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59(8):3619-3629
- 44 Narumiya S, Tanji M, Ishizaki T. Rho signaling, ROCK and mDia1, in transformation, metastasis and invasion. *Cancer Metastasis Rev* 2009;28(1-2):65-76
- 45 Matta B, Bora PS, Neuhouser AJ, et al. Inhibitory role of transforming growth factor β2 in experimental autoimmune anterior uveitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2019;257(5):953-960
- 46 Uchida T, Honjo M, Yamagishi R, et al. The Anti-Inflammatory Effect of Ripasudil (K-115), a Rho Kinase (ROCK) Inhibitor, on Endotoxin-Induced Uveitis in Rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58(12):5584-5593
- 47 Yamada H, Yoneda M, Inaguma S, et al. A Rho-Associated Kinase Inhibitor Protects Permeability in a Cell Culture Model of Ocular Disease, and Reduces Aqueous Flare in Anterior Uveitis. *J Ocul Pharmacol Ther* 2017;33(3):176-185