·临床研究·

TGF-β1受体ALK1和ALK5在翼状胬肉和正常结膜组织中的差异表达

张 灿*,王 贺*,陈冬燕,赵 凯,李明新

引用:张灿,王贺,陈冬燕,等. TGF-β1受体ALK1和ALK5在翼状胬肉和正常结膜组织中的差异表达. 国际眼科杂志 2021;21(11):1962-1967

作者单位:(221000)中国江苏省徐州市,徐州医科大学附属医院眼科
*:张灿和王贺对本文贡献一致。
作者简介:张灿,在读硕士研究生,研究方向:玻璃体视网膜及眼表疾病;王贺,博士,主治医师,研究方向:眼表与角膜疾病。
通讯作者:李明新,毕业于北京大学,博士,主任医师,副教授,硕士研究生导师,眼科主任,研究方向:玻璃体及视网膜疾病. lmx216@vip.sina.com

收稿日期:2021-06-08 修回日期:2021-09-26

摘要

目的:研究不同种类的转化生长因子β-1(TGF-β1)激活素受体样激酶(ALK)在翼状胬肉和正常结膜组织中的表达及其意义。

方法:前瞻性研究。选取2020-06/12在徐州医科大学附属医院眼科就诊的40例手术中切除的翼状胬肉标本和40例白内障手术获取的正常结膜标本纳入本次研究。使用ALK1、ALK5免疫组织化学染色观察TGF-β1受体在胬肉和正常结膜组织中的表达定位,并统计染色阳性细胞比例;使用RT-PCR检测ALK1、ALK5 mRNA在胬肉和结膜组织中的表达;并以Western Blot检测ALK1、ALK5蛋白的表达。

结果:根据免疫组织化学染色结果,ALK1在翼状胬肉组中的表达水平较正常结膜组明显升高,并且在整个翼状胬肉上皮细胞中均有表达,而在正常结膜组织中仅在上皮细胞的基底层中有表达;两组上皮细胞基底层均检测到ALK5,而翼状胬肉组ALK5水平较正常结膜组下降。两组间ALK1、ALK5阳性细胞比例有显著的差异(均$P<0.05$)。RT-PCR结果显示,与结膜组织相比,ALK1 mRNA在翼状胬肉中的表达明显增强,ALK5的表达明显减弱,两组间有显著差异(均$P<0.05$),Western Blot结果显示ALK1、ALK5蛋白的表达差异与RT-PCR结果基本一致。

结论:翼状胬肉和正常结膜ALK的表达谱有明显的差异。与正常结膜组织相比,翼状胬肉组织的ALK1表达增强,ALK5表达减弱,表明TGF-β信号通路处于不同的活化状态,对于进一步研究翼状胬肉的发病机制提供实验依据。

关键词:翼状胬肉;转化生长因子β-1(TGF-β1);激活素受体样激酶(ALK);信号通路;发病机制
DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2021.11.26

Differential expression of TGF-β1 receptors ALK1/ALK5 in pterygium and normal conjunctiva tissues

Can Zhang*, He Wang*, Dong-Yan Chen, Kai Zhao, Ming-Xin Li

Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China
Co-first authors: Can Zhang and He Wang
Correspondence to: Ming-Xin Li. Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China. lmx216@vip.sina.com

Received: 2021-06-08 Accepted: 2021-09-26

Abstract

• AIM: To investigate the expression of different kinds of transforming growth factors beta-1 (TGF-β1) and changes of activin receptor-like kinase (ALK) in pterygium and normal conjunctiva tissues.

• METHODS: A total of 40 cases (40 eyes) of pterygium patients who underwent surgical treatment in our hospital were selected. In the same period, 40 cases (40 eyes) of normal conjunctiva tissues removed from the eye due to cataract surgery were selected. The expression of TGF-β1 receptors (ALK1/ALK5) in pterygium and normal conjunctiva tissues was detected by immunohistochemistry, with the proportion of positive staining cells counted. The expression of ALK1 and ALK5 mRNA and their proteins were quantified by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western Blot, respectively.

• RESULTS: According to immunohistochemistry results, the ALK1 expression level was increased more distinct in pterygium group, compared to the normal conjunctiva group, and it was detected throughout the full-thickness pterygium epithelial cells, while only in the basal layer of epithelial cells in normal conjunctiva tissues; the ALK5 was detected in the basal layer of epithelial cells in both groups, while its level was decreased in the pterygium group compared to normal conjunctiva group. There was significant difference in the proportion of ALK1 and ALK5 positive cells between the two groups (all $P<0.05$). The expression of the ALK1 mRNA and its protein in the pterygium tissues were significantly elevated, while the ALK5 mRNA level and its protein was significantly decreased, compared with the normal conjunctival group ($P<0.05$).

• CONCLUSION: Compared with the normal conjunctiva tissues, the expression of ALK1 and ALK5 in pterygium tissues was increased and decreased, respectively. This indicated different activation status of TGF-β signaling pathway, providing experimental evidence for further study on the pathogenesis of pterygium.

• KEYWORDS: pterygium; transforming growth factor beta-1 (TGF-β1); activin receptor-like kinase (ALK); signaling pathway; pathogenesis

Citation: Zhang C, Wang H, Chen DY, *et al*. Differential expression of TGF-β1 receptors ALK1/ALK5 in pterygium and normal conjunctiva tissues. *Guoji Yanke Zazhi* (*Int Eye Sci*) 2021; 21(11):1962-1967

0 引言

翼状胬肉是角膜表面一种良性进展性生长的纤维血管组织。翼状胬肉的主要症状为异物感、眼红和视力模糊,并可导致不规则散光,如果不加以治疗,最终会遮挡视轴区角膜引起视力丧失。研究显示翼状胬肉的流行病学在不同的国家和地区是不同的,澳大利亚的发病率最低,为3%[1],而中国白族地区的翼状胬肉发病率最高,为30%[2]。目前手术切除是治疗翼状胬肉的主要方法,单纯切除复发率较高,往往联合结膜瓣移植、羊膜移植或应用抗代谢药物。翼状胬肉的确切病因尚不清楚,据推测,角膜缘干细胞(limbal stem cells, LSCs)的损伤可能是主要的发病因素,上皮向基质的转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)可能在胬肉的生长调控中发挥关键作用[3]。

转化生长因子β-1(transforming growth factor beta-1, TGF-β1)是一种细胞因子,参与多种不同器官的疾病进程,如肾脏、肝脏、肺、皮肤、心脏或血管[4]。经典的TGF-β1信号通路需要与TGF-βⅡ型受体(TβRII)结合,随后招募具有丝氨酸/苏氨酸激酶活性的TGF-βⅠ型受体(TβRI),它磷酸化成为Smads蛋白(drosophila mothers against decapentaplegic protein),Smads作为转录因子进入细胞核激活或抑制特定基因的表达。在不同的TβRI中,起主要作用的是激活素受体样激酶1(activin receptor-like kinase 1, ALK1)和激活素受体样激酶5(activin receptor-like kinase 5, ALK5)。

TGF-β信号通路在肿瘤增殖迁移、癫痫、肝肾纤维化的进程中已经得到充分的研究,且有证据表明,ALK1与ALK5两种受体激活不同的信号通路,在组织器官的病理改变中互为拮抗、互相调节[5]。已有报道与正常结膜相比,胬肉组织高表达TGF-β1[6],然而TGF-β1相关受体的研究在国内外报道均较少。本研究采用免疫组织化学染色、RT-PCR和Western Blot来研究ALK1、ALK5在胬肉组织和正常结膜组织中的表达,旨在探讨TGF-β1相关信号通路在翼状胬肉发生、发展中的作用机制,为指导临床治疗提供理论依据。

1 对象和方法

1.1 对象 前瞻性研究。本研究选取2020-06/12在徐州医科大学附属医院眼科就诊的翼状胬肉患者进行研究,本研究遵循《赫尔辛基宣言》,经徐州医科大学附属医院伦理委员会批准(No.XYFY2020-KL033-01),并于中国临床试验注册中心注册(No.ChiCTR1900027108),所有患者签署知情同意书。试验组为40例(女23例,男17例,年龄39~82岁)经手术切除的翼状胬肉标本,试验组纳入标准:(1)原发性翼状胬肉;(2)胬肉头端侵入角膜缘内侧的长度≥2mm。排除标准:(1)其他眼表疾病;(2)眼部手术、外伤史;(3)近期持续局部或全身用药;(4)大翼状胬肉(超过角膜直径的1/3);(5)假性翼状胬肉。对照组为40例(女21例,男19例,年龄44~82岁)白内障手术中获取的正常球结膜标本,对照组纳入标准:(1)符合白内障摘除术手术指征;(2)首诊白内障;(3)年龄相关性白内障。排除标准:(1)眼部(内眼)手术史、外伤史;(2)眼表、青光眼、眼底疾病等其他眼部病史;(3)自身免疫性疾病史、结缔组织病史、内分泌疾病史。两组间性别、年龄的差异无统计学意义(均$P>0.05$)。在每组的40例标本中,随机数字表法选取30例用于ALK1、ALK5免疫组化染色,5例用于RT-PCR检测mRNA的表达,5例用于Western Blot检测蛋白的表达。

1.2 方法

1.2.1 组织病理学和免疫组化评估 对翼状胬肉头部和正常结膜组织进行组织形态学和免疫组化检测。所有获得的组织置于4%多聚甲醛中4℃固定过夜,自动石蜡包埋机包埋,随后行组织切片。免疫组化染色方法如下:(1)将石蜡包埋过后的组织切片置60℃烘干箱3h,之后置二甲苯溶液脱蜡;(2)梯度酒精洗去二甲苯及水化;(3)用HRP阻断液室温孵育1h,去除内源性过氧化物酶活性;(4)滴加用1% BSA配制的一抗:兔抗人ALK1(浓度1∶400,ab68703,英国abcam公司)或兔抗人ALK5(浓度1∶400,ab31013,英国abcam公司),4℃摇床孵育过夜;(5)滴加过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(预配制,12-348,美国Sigma公司),4℃孵育2h;(6)使用DAB显色液加至标本上,显色6min;(7)Hoechst(1∶500)染细胞核,1∶1甘油/1×PBS封片;(8)显微镜下观察照相。以上已略去各步骤间PBS清洗过程。染色结果以细胞质内出现棕色颗粒作为阳性表达,切片在光镜下随机选择5个高倍视野,计算阳性率,即5个高倍视野下阳性细胞数占细胞总数的比率并取平均值。

1.2.2 RT-PCR法检测组织中ALK1、ALK5 mRNA的表达 使用TRIzol RNA提取液抽提胬肉或结膜组织总RNA,使用DNase试剂盒清除残留的DNA后逆转录成cDNA。应用ALK1、ALK5引物扩增相应基因,ALK1上游引物为5'-AATCGCACCAAGTAGAGCCC-3',下游引物为5'-GAGGGAAAGACCAGTGGACG-3',ALK5上游引物为5'-TGGGCTCTGCTTTGTCTCTG-3',下游引物为5'-TGTGAAGATGGGCAAGACCG-3';β-actin上游引物为5'-GAGAAGGCTGGGGCTCATTT-3',下游引物为5'-GTCAAAGGTGGAGGAGTGGG-3'。质量分数为2%的琼脂糖凝胶电泳扩增产物,EB染色,凝胶成像仪拍照。使用Image J软件分析其条带灰度值。以β-actin为内参,计算mRNA相对表达量。

1.2.3 Western Blot检测组织中ALK1、ALK5蛋白的表达 手术中获取的胬肉和结膜样本置于细胞裂解液中,匀浆

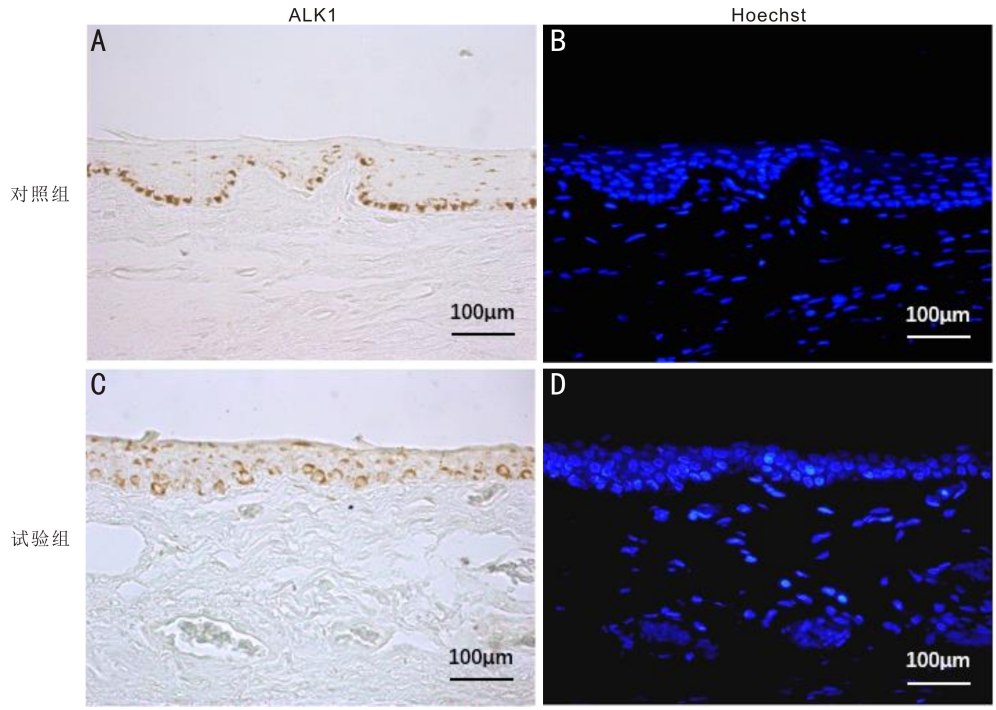


图 1　使用免疫组化检测 ALK1 在正常结膜组织和翼状胬肉组织中的表达　A、B：ALK1 表达于正常结膜组织的上皮细胞基底层，以细胞核深染为主，少量细胞表现为胞浆着染；C、D：翼状胬肉组织标本可见几乎所有的上皮细胞均为 ALK1 表达阳性，且主要为胞浆着染。

机打碎使其充分裂解，离心取上清，用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白总量。取胬肉和正常结膜样本各 15μg，按 4∶1 加入上样缓冲液，100℃变性 3min。在 4℃、非还原状态下行质量分数 10% SDS-PAGE 120V 电泳 2h，将蛋白质转移至硝酸纤维素滤膜上 110mA 作用 2h，封闭液（1×TBS 50.00mL，Tween 0.25mL，脱脂奶粉 2.5g）室温下封闭硝酸纤维素滤膜的非特异性免疫球蛋白结合位点 1h，将滤膜与兔抗人 ALK1 或 ALK5 单克隆抗体一抗（1∶800 稀释于封闭液）孵育，4℃振摇过夜，TBST 缓冲液（10×TBS 15.00mL，蒸馏水 135.00mL，Tween 0.15mL）冲洗滤膜 3 次，将滤膜转移至 HRP 标记山羊抗兔 IgG 二抗（1∶800 稀释于封闭液）中室温孵育 1h。TBST 缓冲液再次冲洗滤膜，用 ECL 发光试剂与硝酸纤维素膜作用 3min，在暗室内曝光，X 射线显影。所得条带经凝胶成像分析系统分析得到的灰度值，以 β-actin 为内参，计算蛋白相对表达量。

统计学分析：使用 Image-Pro Plus 6.0 软件对图像进行整理。本研究检测指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验证实呈正态分布，以 $\bar{x}\pm s$ 表示，经 Levene 检验证实各组间样本均数方差齐。使用 SPSS 26.0 统计学软件对组间比较进行独立样本 t 检验，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

ALK1 免疫组化结果显示（图 1）：在所有检测的标本中，正常结膜组 ALK1 阳性的细胞主要位于结膜上皮基底层，以细胞核深染为主，少量细胞表现为胞浆着染，浅表上皮亦有少量 ALK1 染色阳性的细胞，结膜基质层未见 AKL1 表达，在所有层次中，ALK1 阳性细胞比率为（5.35±1.75）%。翼状胬肉组织标本可见几乎所有的上皮细胞均为 ALK1 表达阳性，且主要表现为胞浆着染，基质层亦未见 ALK1 表达，ALK1 阳性细胞比率为（12.42±4.64）%，与对照组相比，两者之间差异有统计学意义（$t=-11.244$，$P<0.05$）。

ALK5 免疫组化结果显示（图 2）：正常结膜组 ALK5 主要表达于结膜上皮基底层，与 ALK1 的表达模式相似，但未见胞浆着染，浅表上皮细胞和基质层细胞未见 ALK5 表达阳性细胞，ALK5 阳性细胞比率为（4.27±1.35）%。与对照组相比，翼状胬肉上皮基底层仅见少量细胞表达 ALK5，阳性细胞比率为（1.55±0.86）%，与对照组相比明显下降，差异有统计学意义（$t=11.159$，$P<0.05$）。

RT-PCR 及 Western Blot 结果显示（图 3）：正常结膜组 ALK1 mRNA 的相对表达量为 0.2±0.1，翼状胬肉组 ALK1 mRNA 的表达明显增加，相对表达量为 1.3±0.2，差异有统计学意义（$t=7.186$，$P<0.05$）；与之相比，翼状胬肉组 ALK5 mRNA 的相对表达量（0.15±0.08）显著低于正常结膜组（0.6±0.17），差异有统计学意义（$t=4.833$，$P<0.05$）。Western Blot 检测结果与 RT-PCR 基本一致，ALK1 在正常结膜组和翼状胬肉组的相对表达量分别为 0.4±0.1 和 0.8±0.25，差异有统计学意义（$t=3.327$，$P<0.05$）；ALK5 的蛋白相对表达量由正常结膜组的 0.35±0.13下降为 0.05±0.02，差异有统计学意义（$t=4.722$，$P<0.05$）。

3 讨论

翼状胬肉是一种常见的眼表疾病，病变首先是角膜缘上皮细胞的向心性生长，随后出现以成纤维细胞活化为特征的鳞状上皮化生，伴有新生血管生长、炎症细胞浸润和细胞外基质重塑。翼状胬肉的发病机制尚未明确，炎症反应、氧化应激、细胞增殖和凋亡、EMT 都可能参与了翼状胬肉的发生发展过程[7]。根据翼状胬肉的生长倾向，有研

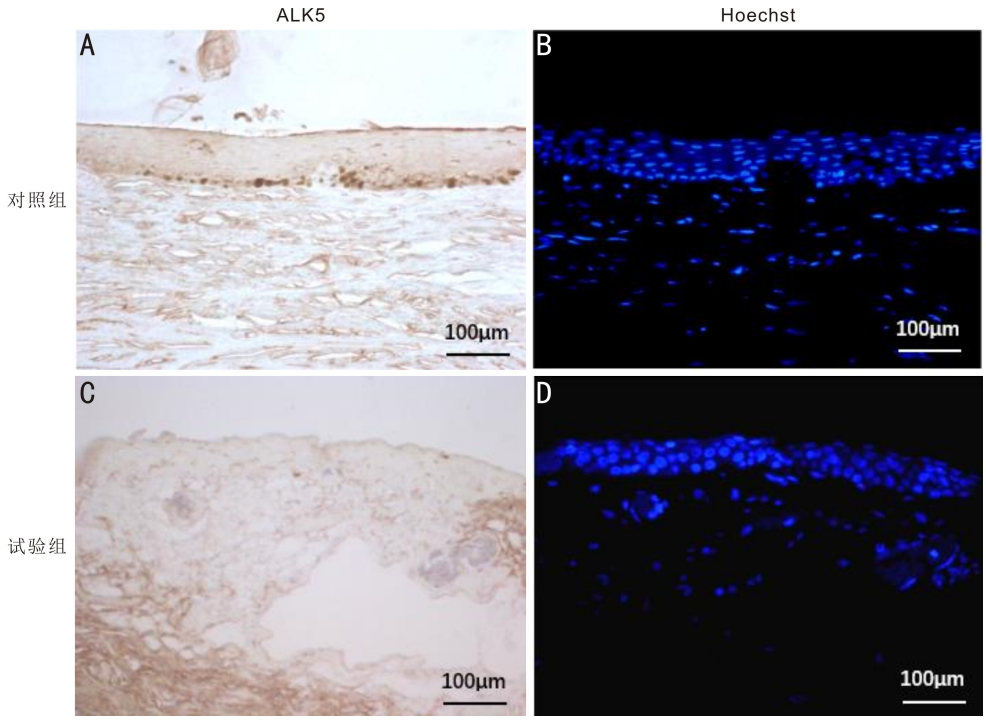


图 2 使用免疫组化检测 ALK5 在正常结膜组织和翼状胬肉组织中的表达 A、B: ALK5 主要表达于正常结膜组织的上皮细胞基底层,以细胞核深染为主;C、D:翼状胬肉上皮基底层仅见少量细胞表达 ALK5。

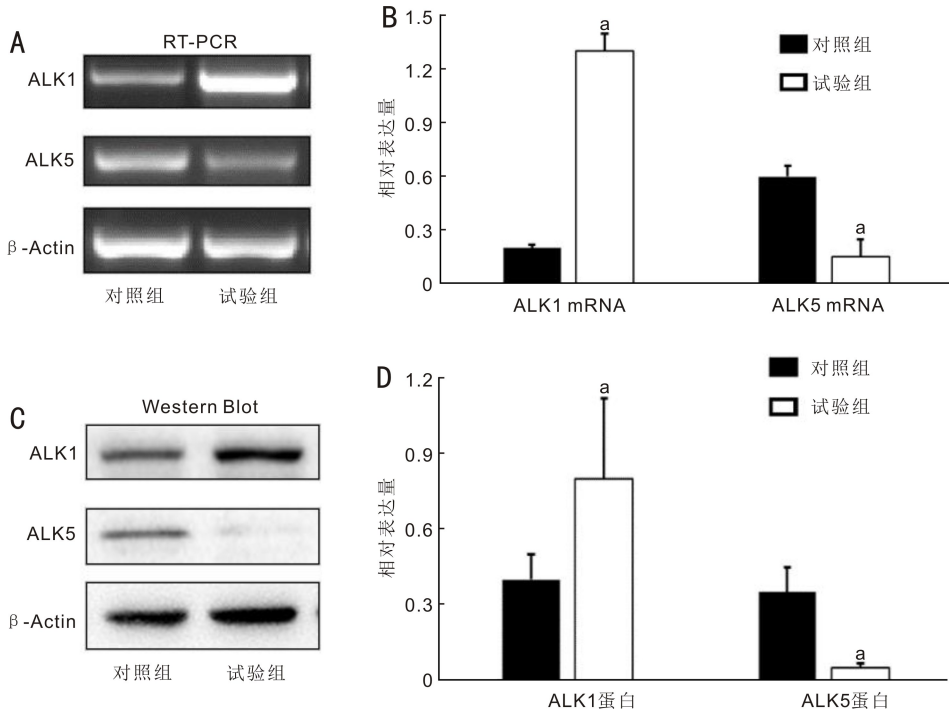


图 3 RT-PCR 及 Western Blot 检测 ALK1、ALK5mRNA、蛋白在结膜和胬肉组织中的表达(*n*=5) A:两组 ALK1、ALK5 mRNA 表达电泳图;B:两组间 ALK1、ALK5 mRNA 的相对表达量比较;C:两组 ALK1、ALK5 蛋白表达检测结果;D:两组间 ALK1、ALK5 蛋白的相对表达量差异。[a]$P<0.05$ *vs* 对照组。

究表明翼状胬肉可能是一种增生性疾病,不过这种增生受到机体精确的调控,使其不能像肿瘤组织一样无限制的生长[8]。在这种调控过程中,TGF-β1 信号通路诱导的 EMT、肌成纤维细胞的激活可能起到关键作用。TGF-β1 可以通过其受体控制一系列转录因子来促进 EMT,这些转录因子抑制上皮细胞表型(细胞连接和极性复合物成分)的表达,并增强间充质细胞表型(基质金属蛋白酶,纤维黏连蛋白、波形蛋白)的表达[9]。

TGF-β1 信号通路在眼部的发育、损伤修复和新生血管形成中发挥着重要的作用,李晓文等[10]发现 TGF-β1 可促进视网膜色素上皮层细胞的增殖、迁移和向成纤维细胞转化,并能激活细胞内的 ALK5、VEGF 等信号分子;而在角膜感染或外伤的病理改变中,TGF-β1 信号通路也参与调控着炎症细胞浸润、成纤维细胞活化、角膜瘢痕形成等各个过程[11]。Wilson 等[12]观察到 TGF-β 信号通路相关分子在翼状胬肉中的表达,在角膜缘基质中有TGF-β1

的表达,在中央和周围角膜中TGF-β2和β3的表达。正常结膜组织TGF-β的表达比翼状胬肉组织弱得多,在三种TGF-β亚型中,TGF-β1在体外培养的翼状胬肉成纤维细胞中过表达[9],羊膜可抑制TGF-β受体以及培养的成纤维细胞中TGF-β mRNA的表达[13],尽管这些研究表明TGF-β本身在翼状胬肉的纤维血管生长中很重要,但三种TGF-β及其受体在翼状胬肉中的表达和作用模式尚未完全确定。

ALK是一类丝氨酸-苏氨酸激酶,作为TGF-β/骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins,BMPs)超家族配体的Ⅰ型细胞表面受体,ALK主要表达于血管内皮细胞,在血管生成和内皮细胞增生迁移中发挥关键作用,但在其它类型的细胞中也有表达[14]。TGF-β1与ALK结合后,活化的ALK与不同类型的Smad蛋白形成复合体,激活胞内Smad蛋白磷酸化,磷酸化的Smad离开原复合体,在DNA结合辅助因子的帮助下进入胞核内,与DNA上的Smad结合元件结合,在转录因子协同下启动靶基因的转录,以此来调节机体的生理和病理过程[15]。ALK1和ALK5是研究最多的ALK,ALK1下游Smad信号分子主要是Smad1/5/8,ALK5下游主要是Smad2/3。在细胞因子调控网络中,ALK1/ALK5可能发挥完全不同的作用,比如在脑组织受损时,ALK1-p-Smad1发挥神经保护作用,而ALK5-p-Smad2/3则起到促癫痫发生作用[16];在培养的人软骨细胞中,ALK5促进细胞外基质(胶原蛋白、纤维黏连蛋白等)的合成,而ALK1抑制了这一过程,内皮糖蛋白可能参与调控ALK1/ALK5的表达平衡[17];在培养的大动脉内皮细胞中,ALK5诱导其成为富含肌动蛋白的足体细胞,以促进血管新生,而ALK1抑制这一过程[18];在硬皮病成纤维细胞中,已有研究表明,ALK1-p-Smad1途径促进细胞外基质的合成,但在肾成纤维细胞中,高表达Smad2/3反而促进细胞表达更多的Ⅰ型胶原和纤维连接蛋白[19]。

在已有的研究中,并未报道过TGF-β1受体ALK1和ALK5在翼状胬肉中的差异表达。我们通过免疫组织化学染色和RT-PCR、Western Blot的方法评估了TGF-β1受体ALK1和ALK5在翼状胬肉中的表达,结果显示,与正常结膜相比,翼状胬肉ALK1的表达明显增强,而ALK5的表达减弱。ALK1和ALK5主要表达于上皮细胞基底层,这与前述报道中TGF-β信号通路通过诱导EMT促进胬肉的发展相一致。一般认为,翼状胬肉来源于结膜,与正常结膜的主要区别在于胬肉处于精确调控的增殖状态,而结膜的新陈代谢处于动态平衡。由于信号通路调控网络的复杂性,ALK1在胬肉组织,尤其是胬肉上皮细胞的表达增强,或许是胬肉中细胞增殖活化、细胞外基质合成增加、血管新生的原因,亦或是结果。ALK1在胬肉组织中的活化抑制了ALK5的表达,可能是负反馈调节的一种方式,降低了ALK5下游信号分子的激活,具体的调控过程有待于进一步研究。

本研究的不足之处在于:(1)没有对ALK的上下游信号分子,比如不同类型的Smad在翼状胬肉与正常结膜中的表达差异进行阐述;(2)本研究在获取胬肉标本时并未区分胬肉的生长状态,ALK的表达强度在进展期的胬肉与静止期的胬肉中或许会有所差别,这代表着胬肉不同活动期在分子生物学层面的精确调控,这或许可以推断免疫组化结果中ALK在翼状胬肉中的染色阳性细胞比例有较大的差异的原因,该推论需要进一步实验加以验证。

细胞外基质的不同组分体现了成纤维细胞的功能,研究显示,结膜和胬肉组织的细胞外基质表达是有差异的,主要表现为胬肉组织高表达Ⅰ型胶原蛋白,而正常结膜组织高表达Ⅳ型胶原蛋白,除此之外,胬肉组织中基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase,MMP)的表达比结膜组织要高得多[20-21],这种表达差异或许可以通过TGF-β在结膜和胬肉中结合不同的ALK受体,进而激活不同的信号转导通路进行解释。有研究表明使用TGF-β受体的抑制剂可以降低翼状胬肉成纤维细胞中MMP-1的表达,但文中并没有区分是哪一种类型的TGF-β受体[22]。进一步的研究,比如使用ALK1抑制剂能否抑制胬肉成纤维细胞的激活,甚至诱导其向结膜成纤维细胞转化,将会是一个有趣的课题。鉴于单纯翼状胬肉切除术后复发率偏高的问题,在翼状胬肉切除术后,或许可以局部使用ALK1抑制剂以减少成纤维细胞的激活,从而降低复发率,当然由于TGF-β信号通路的复杂性和双向调节性,有必要进行更深入的分子生物学研究,以期从根本上揭示翼状胬肉的发病机制,为翼状胬肉的预防和治疗提供新的思路。

参考文献

1 McCarty CA, Fu CL, Taylor HR. Epidemiology of pterygium inVictoria, Australia. *Br J Ophthalmol* 2000;84(3):289-292

2 Zhong H, Cha X, Wei T, *et al*. Prevalence of and risk factors for pterygium in rural adult Chinese populations of the Bai nationality in Dali: the Yunnan Minority Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(10):6617-6621

3 Meshkani SE, Kooshan N, Moghadam AB, *et al*. Signaling roadmap to epithelial-mesenchymal transition in pterygium, TWIST1 centralized. *J Cell Physiol* 2019;234(10):18146-18155

4 Derynck R, Budi EH. Specificity, versatility, and control of TGF-β family signaling. *Sci Signal* 2019;12(570):eaav5183

5 Muñoz-Félix JM, González-Núñez M, López-Novoa JM. ALK1-Smad1/5 signaling pathway in fibrosis development: friend or foe? *Cytokine Growth Factor Rev* 2013;24(6):523-537

6 石一宁, 张纯涛. TGF-β1、TGF-βRⅡ及Smad4蛋白在原发性翼状胬肉中的表达. 眼科新进展 2010;30(5):430-433

7 Malozhen SA, Trufanov SV, Krakhmaleva DA. Pterygium: etiology, pathogenesis, treatment. *Vestn Oftalmol* 2017;133(5):76-83

8 Young AL, Cao D, Chu WK, *et al*. The Evolving Story of Pterygium. *Cornea* 2018;37 Suppl 1:S55-S57

9 Kim KW, Park SH, Kim JC. Fibroblast biology inpterygia. *Exp Eye Res* 2016;142:32-39

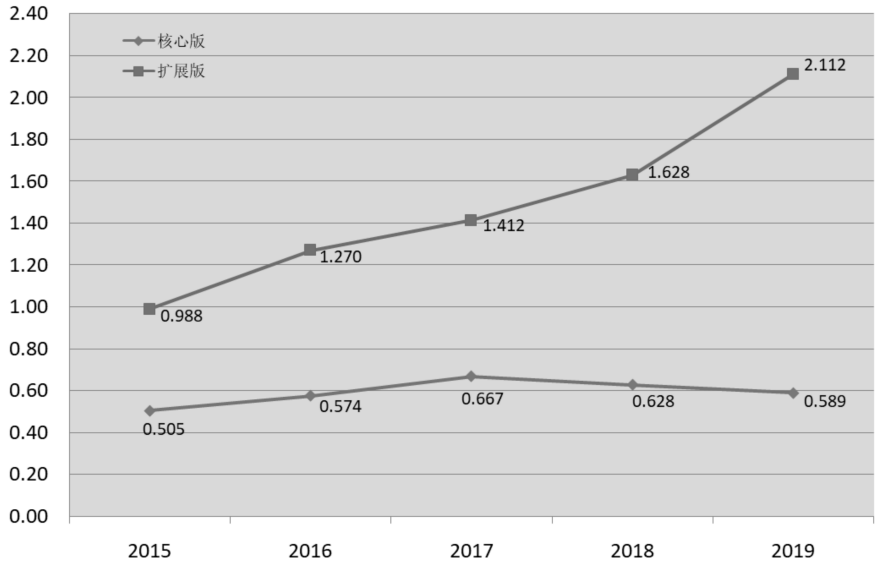
10 李晓文,宋立果, 李冠晓, 等. ALK5抑制剂对转化生长因子-β1(TGF-β1)致视网膜色素上皮细胞纤维化的干预作用. 眼科新进展 2019;39(6):523-528

11 Wilson SE. Corneal wound healing. *Exp Eye Res* 2020;197:108089

12 Wilson SE. TGF beta -1, -2 and -3 in the modulation of fibrosis in the cornea and other organs. *Exp Eye Res* 2021;207:108594

13 Noureddin GS, Yeung SN. The use of dry amniotic membrane in pterygium surgery. *Clin Ophthalmol Auckl N Z* 2016;10:705-712

14 Roman BL, Hinck AP. ALK1 signaling in development and disease: new paradigms. *Cell Mol Life Sci* 2017;74(24):4539-4560

15 Hata A, Chen YG. TGF-β signaling from receptors to smads. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2016;8(9):a022061
16 Friedman A,Kaufer D, Heinemann U. Blood-brain barrier breakdown-inducing astrocytic transformation: novel targets for the prevention of epilepsy. *Epilepsy Res* 2009;85(2-3):142-149
17 Finnson KW, Parker WL, Chi Y, *et al*. Endoglin differentially regulates TGF-β-induced Smad2/3 and Smad1/5 signalling and its expression correlates with extracellular matrix production and cellular differentiation state in human chondrocytes. *Osteoarthr Cartil* 2010;18(11):1518-1527
18 Curado F, Spuul P, Egaña I, *et al*. ALK5 and ALK1 play antagonistic roles in transforming growth factor β-induced podosome formation in aortic endothelial cells. *Mol Cell Biol* 2014;34(24):4389-4403
19 Muñoz-Félix JM, López-Novoa JM, Martínez-Salgado C. Heterozygous disruption of activin receptor-like kinase 1 is associated with increased renal fibrosis in a mouse model of obstructive nephropathy. *Kidney Int* 2014;85(2):319-332
20 Tao Y, Chen Q, Zhao C, *et al*. The in vitro anti-fibrotic effect of Pirfenidone on human pterygium fibroblasts is associated with down-regulation of autocrine TGF-β and MMP-1. *Int J Med Sci* 2020;17(6):734-744
21 Feng YF, Yuan F. Proteomics: a new perspective for the understanding ofpterygia. *Prot Clin Appl* 2017;11(7-8):1600184
22 Cui YH, Feng QY, Liu Q, *et al*. Posttranscriptional regulation of MMP-9 by HuR contributes to IL-1β-induced pterygium fibroblast migration and invasion. *J Cell Physiol* 2020;235(6):5130-5140

国际眼科杂志中文版(IES)近5年影响因子趋势图