

连接蛋白 43: 致盲性眼病治疗新靶点

程馨仪¹, 李 慧¹, 王 方^{1,2}

引用: 程馨仪, 李慧, 王方. 连接蛋白 43: 致盲性眼病治疗新靶点. 国际眼科杂志 2023; 23(3): 407-411

基金项目: 国家自然科学基金项目(面上项目)(No.82171077)
作者单位: ¹(200072) 中国上海市, 同济大学附属第十人民医院眼科; ²(200336) 中国上海市, 普瑞眼科集团上海普瑞眼科医院
作者简介: 程馨仪, 在读硕士研究生, 研究方向: 视网膜疾病。
通讯作者: 王方, 博士, 主任医师, 二级教授, 博士研究生导师, 研究方向: 增生性玻璃体视网膜膜病变. Fwang7527@163.com
收稿日期: 2022-05-15 修回日期: 2023-02-06

摘要

目前常见的主要致盲性眼病如角膜炎、白内障、青光眼、糖尿病视网膜病变等严重威胁人类健康并影响患者的生存质量。连接蛋白 43(Cx43) 作为脊椎动物体内最常见的缝隙连接蛋白, 广泛分布于眼组织中, 参与胚胎发育、代谢调节、组织稳态等生理过程及炎症、氧化应激、上皮-间充质样细胞转换、血管渗漏与新生血管形成等病理过程。Cx43 在各种致盲性眼病的发生发展中发挥重要作用, 本文将就其在上述主要致盲性眼病发病机制中的作用和靶向 Cx43 治疗进展作一综述。

关键词: 连接蛋白 43; 致盲性眼病; 分子靶向治疗

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2023.3.11

Connexin 43: A new therapeutic target against blinding eye diseases

Xin-Yi Cheng¹, Hui Li¹, Fang Wang^{1,2}

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (General Program) (No.82171077)

¹Department of Ophthalmology, Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China; ²Shanghai Bright Eye Hospital, Shanghai 200336, China

Correspondence to: Fang Wang. Department of Ophthalmology, Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China; Shanghai Bright Eye Hospital, Shanghai 200336, China. Fwang7527@163.com

Received: 2022-05-15 Accepted: 2023-02-06

Abstract

• The major blinding eye diseases, such as keratitis, cataract, glaucoma, diabetic retinopathy, seriously threaten human health and affect the quality of patients' life. Connexin 43 (Cx43), as the most common connexin in vertebrates, is widely distributed in eye tissues and is

involved in physiological processes such as embryonic development, metabolic regulation, tissue homeostasis, as well as pathological processes such as inflammation, oxidative stress, epithelial - mesenchymal transition, vascular leakage, and angiogenesis. Cx43 plays an important role in the occurrence and development of various blinding eye diseases. This article will review its role in the pathogenesis of the above-mentioned blinding eye diseases and the advances in targeting Cx43 therapy.

• KEYWORDS: connexin 43; blinding eye diseases; molecular targeted therapy

Citation: Cheng XY, Li H, Wang F. Connexin 43: A new therapeutic target against blinding eye diseases. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023; 23(3): 407-411

0 引言

缝隙连接(gap junctions, GJs) 又称缝隙连接斑块, 由数十个甚至数千个排列整齐且紧密相邻的通道组成。每一个完整的通道分别由相邻细胞膜上两个半通道(hemichannel) 对接而成。半通道是由 6 个连接蛋白(connexins, Cxs) 亚单位构成的六聚体中空结构, 其中心孔径为 1.5nm, 允许钙离子等可溶性离子和分子量小于 1.2kDa 的小分子包括营养素、氨基酸、核苷酸、多胺、第二信使或调节分子等直接通过。该通道具有亲水性、低选择性和低电阻等特点, 主要功能是介导细胞间电和化学信号的传递, 即缝隙连接通讯(gap junction intercellular communication, GJIC), 确保细胞代谢和电耦合, 从而维持组织和器官内环境平衡^[1-2]。

Cxs 在人类和小鼠中分别存在 21 种和 20 种亚型。其中, 连接蛋白 43(connexin 43, Cx43) 是分布最广泛、研究最深入的一种亚型^[3]。Cx43 不仅参与细胞间通讯, 还参与细胞自噬、黏附、迁移、增殖分化等过程^[4], 它对维持正常眼组织的生理功能具有重要意义。研究发现, Cx43 在角膜炎、白内障、青光眼、糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR) 等常见致盲性眼病中发挥重要作用, 参与炎症、氧化应激、上皮-间充质样细胞转换(epithelial - mesenchymal transition, EMT)、血管渗漏与新生血管形成等病理过程。目前, 多项研究表明靶向 Cx43 治疗具有良好的临床应用前景, 比如以 Cx43 为靶点治疗角膜炎的药物已进入人类临床试验 II 期。本文将就 Cx43 在上述常见致盲性眼病发病机制中的作用和靶向 Cx43 治疗进展作一综述。

1 Cx43 的结构与功能

Cx43 基因 GJA1 (gap junction protein alpha1) 定位于 6q22.31, 其编码的蛋白质分子质量为 43kD, 故命名为

Cx43^[4]。Cx43 单体结构由 4 个跨膜结构域、2 个胞外环和 3 个胞内结构域组成,胞内结构域包括胞内环、氨基末端和羧基末端。Cx43 与其他 Cxs 亚型的主要区别在于胞内环和羧基末端氨基酸序列的差异^[5]。Cx43 羧基末端含有 150 个氨基酸,存在多种转录后修饰和蛋白质结合的位点,调控 Cx43 蛋白的内吞、降解及通道门控,还可以与 β -连环蛋白、周期蛋白 E、Src 蛋白激酶等相互作用,调节细胞的生长、分化和迁移等正常生理过程^[6]。在炎症、氧化应激、pH 值降低等病理条件下,Cx43 半通道开放并在细胞质和细胞外环境之间形成直接联系,允许 Na^+ 、 K^+ 自由通过,引起细胞内钙超载,促进小分子如 ATP、谷氨酸等逃逸,抑制细胞代谢和细胞膜去极化,导致细胞损伤^[7]。

2 Cx43 与常见致盲性眼病

眼组织中,Cx43 主要分布于角膜、晶状体和视网膜,涉及的种属广泛,包括人、鼠、兔、鸡、猪、斑马鱼等^[8]。Cx43 表达和分布异常,或 Cx43 介导的细胞间通讯功能异常与多种致盲性眼病密切相关。

2.1 Cx43 与角膜炎 Cx43 分布于角膜的上皮细胞层及基质层,形成角膜细胞间相互通讯的功能性网络^[9-10]。Chen 等^[11]通过选择性地损伤体外培养的原代人或小鼠角膜基质细胞中的单个靶细胞,引起靶细胞膜的短暂破裂,发现 Cx43 介导了靶细胞与其相邻细胞间的 Ca^{2+} 传导, Ca^{2+} 内流显著增加。研究发现,病毒的双链 RNA 类似物聚肌苷酸胞苷酸能够抑制人角膜成纤维细胞中 Cx43 表达和 GJIC 活性,提示病毒感染下调 GJIC 的活性可能导致角膜基质内稳态破坏^[10]。在离体培养的人角膜成纤维细胞中,Cx43 可以被肿瘤坏死因子 α 介导的泛素-蛋白酶体途径降解^[12]。而在化学烧伤或感染的人角膜临床样本中,Cx43 信使 RNA 和蛋白表达水平显著上调,与角膜炎症密切相关^[13]。Qin 等^[14]采用 shRNA-Cx43 腺病毒抑制真菌性角膜炎小鼠模型中 Cx43 的表达或通过 IL-17/Akt 信号通路抑制 Cx43,发现 Cx43 表达减少可以促进角膜缘血管内皮细胞激活,调节角膜早期炎症反应,利于抵抗真菌感染和角膜上皮损伤愈合。

2.2 Cx43 与白内障 Cx43 主要分布于晶状体的上皮细胞,其表达随着晶状体上皮细胞分化为成熟的纤维细胞而下调^[15]。由于晶状体无血管,晶状体的大部分代谢物质通过晶状体上皮细胞间和晶状体纤维之间的缝隙连接通道进行运输^[16]。与正常透明晶状体相比,Cx43 在白内障患者的晶状体中表达上调近 50%^[17]。年龄相关性白内障的风险随着氧化应激和紫外线暴露增加^[18-19],采用过氧化氢或紫外线辐射处理人晶状体上皮细胞 HLE-B3 可以激活 Cx43 半通道,促进氧化还原代谢分子如过氧化氢、氧化型谷胱甘肽、还原型谷胱甘肽的内流或外流,进而保护晶状体免受氧化应激损伤^[20]。Liu 等^[21]通过表达泛素-K6W 的转基因小鼠发现,泛素化修饰的 Cx43 在小鼠晶状体上皮细胞中积累,导致 Ca^{2+} 浓度显著升高及钙蛋白酶过度激活,诱发白内障。此外,DeRosa 等^[22]报道 Cx43 可以与 Cx50-S50P 突变相互作用,抑制小鼠晶状体上皮细胞中 Cx43 介导的 GJIC,促进白内障形成。

2.3 Cx43 与青光眼 研究发现,Cx43 在青光眼患者视神经和视网膜组织中表达升高并与星形胶质细胞重塑和轴

突顺行运输有关^[23],星形胶质细胞重塑促进了视神经筛板区结构的改变,这一过程可促进青光眼进展^[24]。Liu 等^[25]降低大鼠的眼灌注压并向其玻璃体腔注射靶向 Cx43 基因的腺相关病毒载体以抑制胶质细胞中 Cx43 的表达,发现 Cx43 表达降低能够损害小动脉和小静脉的血管反应性,间接证明了 Cx43 介导的胶质细胞 GJIC 具有主动调节静息小静脉直径的生理功能。在单侧持续眼压升高的小鼠模型中,Cx43 介导星形胶质细胞间代谢物质的重新分布,缓解了高血压所致的视神经功能损伤^[26]。此外,Xu 等^[27]在慢性眼压升高的小鼠模型中发现,视网膜小胶质细胞大量增殖并迁移至神经纤维层和节细胞层,这与 Müller 细胞中 Cx43 半通道激活并释放 ATP 密切相关。

房水分泌和引流的平衡调节是控制青光眼的主要手段^[28]。缝隙连接介导的睫状体上皮跨细胞离子转运被认为是房水主动分泌的动力之一^[29]。研究发现,小鼠睫状体色素上皮细胞中 Cx43 表达受 Nectin 信号通路调控,Cx43 稳定表达可以促进房水分泌并维持眼内压^[30]。敲除 Cx43 基因使小鼠睫状体无色素上皮和虹膜中的 Cx43 部分失活后,色素上皮和无色素上皮之间出现扩张,眼压显著降低^[31]。Cx43 在正常小梁网组织中稳定表达,Yu 等^[32]在小鼠前房注射缝隙连接通道抑制剂甘珀酸或氟芬那酸,发现抑制 GJs 可以导致房水流出阻力增加和眼压升高。

2.4 Cx43 与 DR 正常条件下,Cx43 在视网膜血管内皮细胞、周细胞、星形胶质细胞、小胶质细胞、Müller 细胞和视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞中表达丰富^[33]。研究发现,Cx43 可以通过介导视网膜神经血管异常改变、炎症反应、氧化应激、EMT 等过程参与 DR。

Cx43 在正常小鼠视网膜毛细血管和供血动脉之间沿着内皮细胞连接呈线状表达,参与血管内皮细胞与周细胞之间的功能性偶联^[34]。Tien 等^[35]通过研究糖尿病捐献眼的视网膜组织发现,Cx43 表达下调伴随周细胞丢失和新生血管形成。同样,链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠模型中,周细胞覆盖血管范围减小伴随 Cx43 表达下调^[36]。Tien 等^[37]报道,大鼠玻璃体腔注射 Cx43 小干扰 RNA 抑制 Cx43 的表达可以促进血管内皮细胞凋亡和新生血管形成,并引起血管渗漏和视网膜增厚。研究发现,高糖环境下培养的血管内皮细胞或共培养的周细胞和 Müller 细胞中,Cx43 表达下调并破坏了血管内皮细胞之间、周细胞和 Müller 细胞之间的 GJIC,从而影响细胞活性^[38-39]。此外,高糖还可以诱导大鼠视网膜血管内皮细胞中线粒体 Cx43 (mitochondria Cx43, mtCx43) 表达水平降低,促进了线粒体的断裂和血管内皮细胞凋亡,而维持 mtCx43 水平能够减少血管内皮细胞的丢失^[40]。

Mugisho 等^[41]研究发现,Cx43 在增殖性糖尿病视网膜病变 (proliferative diabetic retinopathy, PDR) 患者和 DR 动物模型 Akimba 小鼠的视网膜组织中表达增加,Liu 等^[42]也证实 Cx43 和星形胶质细胞标志物胶质纤维酸性蛋白在糖尿病小鼠视网膜和 PDR 患者纤维血管膜中表达显著增加。低氧状态下,小鼠视网膜星形胶质细胞中 Cx43 磷酸化增加导致细胞间偶联增加,促使细胞毒性分子从濒临死亡的星形胶质细胞中转移至其相邻的健康细胞,扩大了缺

氧诱导的细胞毒性损害,严重破坏了视网膜血管定向生成所需要的星形胶质细胞网络支架,进而促进异常血管生长^[43]。以上研究提示 Cx43 和星型胶质细胞在新生血管的形成中发挥重要作用。

炎症在 DR 病理过程中亦发挥重要作用。Mugisho 等^[44]采用高糖联合炎症因子白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 和 IL-18 处理人视网膜色素上皮细胞 ARPE-19,发现与单纯炎症因子处理组相比,联合处理组的 ARPE-19 细胞中的 IL-6、IL-8、单核细胞趋化蛋白 1、可溶性黏附分子、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 和 ATP 等因子的表达显著上调;而采用 Cx43 半通道阻滞剂 Peptide5 处理可明显减少炎症因子的表达和 ATP 释放,提示 Cx43 半通道开放扩大了 DR 病理过程中的炎症反应。Lyon 等^[45]研究发现高糖联合炎症因子 IL-1 β 、IL-18 处理可诱导 ARPE-19 细胞发生 EMT,表现为细胞形态发生改变、闭锁小带蛋白 1 表达下降和 α -平滑肌肌动蛋白表达上调,而应用 Cx43 半通道阻滞剂 Tonabersat 可阻遏 EMT 过程。研究发现,炎症因子和高糖可以促使 ARPE-19 细胞 Cx43 半通道开放并大量释放 ATP,ATP 促进炎症体复合物形成并增加 IL-1 β 和 VEGF 的释放,这些促炎因子的释放可以进一步激活 Cx43 半通道开放,从而形成一个永存的自分泌反馈环^[46]。

3 Cx43 靶向药物与眼部疾病治疗

Cx43 靶向药物主要包括三种,分别为 Cx43 模拟肽、Tonabersat 和反义寡核苷酸 (Antisense Oligodeoxynucleotides, AsODN)。

Cx43 模拟肽包含以 Cx43 胞外环为靶点的 Gap26、Gap27、Peptide 5 和以 Cx43 羧基末端为靶点的 α 羧基末端合成肽 (alpha carboxyl-terminal peptides, α CT1)^[47]。研究发现,Gap27 可以加速离体人角膜伤口中巨噬细胞的浸润并促进角膜伤口愈合,而在活体大鼠角膜缝合模型中却发现,Gap27 促进粒细胞浸润和炎症介质的释放,表明 Gap27 的促角膜愈合作用适用于浅表伤口,而不适用于深层角膜损伤^[48]。应用 Peptide 5 抑制 ARPE-19 细胞的 Cx43 半通道后,可以下调高糖和炎症因子诱导的乳酸脱氢酶和 ATP 的释放,并阻止 Cx43 的内吞和降解,从而保护视网膜色素上皮外屏障的完整性^[49]。在大鼠角膜创伤模型中, α CT1 可以竞争性抑制 Cx43 与闭锁小带蛋白 1 结合从而降低 Cx43 的活性,减轻炎症反应并加快伤口愈合^[50]。Obert 等^[51]采用激光光凝诱导小鼠脉络膜新生血管或强光暴露破坏小鼠视网膜外屏障后,给予 α CT1 滴眼液治疗,结果显示其不仅可以减少脉络膜新生血管的生成及渗漏,并且可以阻止强光损伤引起的 RPE 细胞形态紊乱,同时体外实验显示 α CT1 可以独立于 Cx43 稳定 RPE 细胞的紧密连接。Huang 等^[52]应用纳米颗粒来装载 Cx43 模拟肽并给予视网膜缺血大鼠模型玻璃体腔注射,持续释放的 Cx43 模拟肽可以抑制炎症反应,并防止缺血引起的视网膜变薄和视网膜血管破坏,有望应用于 DR、青光眼等与视网膜缺血相关的眼病治疗中。

Tonabersat 是一种新型苯并吡喃衍生物,其作用效果与 Peptide 5 类似。Tonabersat 的优势主要在于它能够通过血脑屏障,故可以采用口服途径给药^[46],多项研究证实

Tonabersat 在 DR 病理过程中具有保护视网膜的结构和功能的重要作用,其安全性验证正在进行 II 期临床试验^[53]。最新研究发现,Tonabersat 可以通过抑制炎症体途径减轻干性黄斑变性大鼠模型的炎症反应,并保护视网膜光感受器和双极细胞的功能^[54]。

AsODN 是由 13~25 个核苷酸组成的单链核酸,其碱基序列与目标基因 RNA 序列互补并特异性地结合形成双链结构,从而沉默靶基因^[55]。兔青光眼小梁切除术模型中,结膜下注射 Cx43 AsODN 可以抑制结膜瘢痕形成和纤维化^[56]。Grupcheva 等^[57]应用 Cx43AsODN 处理大鼠机械刮伤角膜模型,发现 AsODN 减轻了角膜基质的水肿和炎症反应,更完整地修复角膜上皮基底层,从而显著提高了伤口的闭合率。Ormonde 等^[58]首次报道了 5 例应用 Cx43 AsODN 治疗严重眼表烧伤患者的前瞻性临床研究,结果显示 Cx43 AsODN 治疗 1~2d 后炎症反应明显减轻,最终 5 例患者均获得了完整、稳定的角膜上皮再生。目前,应用天然寡核苷酸 Nexagon $\text{\textcircled{O}}$,CODA001 治疗角膜上皮缺损的人类 II 期临床试验研究正在进行中^[59]。

4 展望

Cx43 在维持眼组织正常结构和功能方面发挥多重关键作用,如参与角膜细胞稳态、晶状体代谢、眼内压维持、星型胶质细胞激活和视网膜血管调节等。Cx43 表达异常或其介导的缝隙连接通道异常与角膜炎、白内障、青光眼、DR 等常见致盲性眼病发生发展密切相关。探索以 Cx43 为靶点的药物有望为常见致盲性眼病的治疗提供崭新的方向。

参考文献

- 1 Sovadinová I, Upham BL, Trosko JE, *et al.* Applicability of scrape loading-dye transfer assay for non-genotoxic carcinogen testing. *Int J Mol Sci* 2021;22(16):8977
- 2 Esseltine JL, Laird DW. Next-generation connexin and pannexin cell biology. *Trends Cell Biol* 2016;26(12):944-955
- 3 Zhu Y. Gap junction-dependent and -independent functions of Connexin43 in biology. *Biology* 2022;11(2):283
- 4 Martins-Marques T, Ribeiro-Rodrigues T, Batista-Almeida D, *et al.* Biological functions of Connexin43 beyond intercellular communication. *Trends Cell Biol* 2019;29(10):835-847
- 5 Aasen T, Mesnil M, Naus CC, *et al.* Gap junctions and cancer: communicating for 50 years. *Nat Rev Cancer* 2016;16(12):775-788
- 6 Leithe E, Mesnil M, Aasen T. The connexin 43 C-terminus: a tail of many tales. *Biochim Biophys Acta BBA Biomembr* 2018;1860(1):48-64
- 7 Leybaert L, Lampe PD, Dhein S, *et al.* Connexins in cardiovascular and neurovascular health and disease: pharmacological implications. *Pharmacol Rev* 2017;69(4):396-478
- 8 Janssen - Bienhold U, Dermietzel R, Weiler R. Distribution of connexin43 immunoreactivity in the retinas of different vertebrates. *J Comp Neurol* 1998;396(3):310-321
- 9 Yuan XY, Chen Z, Yang Z, *et al.* Expression pattern of connexins in the corneal and limbal epithelium of a primate. *Cornea* 2009;28(2):194-199
- 10 Zheng H, Liu Y, Xu D, *et al.* Inhibition of gap junction-mediated intercellular communication by poly (I: C) in cultured human corneal fibroblasts. *Curr Eye Res* 2020;45(9):1043-1050
- 11 Chen Z, Lu XW, McGee - Lawrence ME, *et al.* Transient cell membrane disruptions induce calcium waves in corneal keratocytes. *Sci*

- Rep 2020;10(1):2840
- 12 Kimura K, Nishida T. Role of the ubiquitin-proteasome pathway in downregulation of the gap-junction protein Connexin43 by TNF- α in human corneal fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(4):1943-1947
- 13 Zhai JJ, Wang Q, Tao L. Connexin expression patterns in diseased human corneas. *Exp Ther Med* 2014;7(4):791-798
- 14 Qin XH, Ma X, Fang SF, et al. IL-17 produced by Th17 cells alleviates the severity of fungal keratitis by suppressing CX43 expression in corneal peripheral vascular endothelial cells. *Cell Cycle* 2019;18(3):274-287
- 15 Berthoud VM, Ngezahayo A. Focus on lens connexins. *BMC Cell Biol* 2017;18(Suppl 1):6
- 16 Quan YM, Du Y, Tong YX, et al. Connexin gap junctions and hemichannels in modulating lens redox homeostasis and oxidative stress in cataractogenesis. *Antioxidants (Basel)* 2021;10(9):1374
- 17 Gong XD, Wang Y, Hu XB, et al. Aging-dependent loss of GAP junction proteins Cx46 and Cx50 in the fiber cells of human and mouse lenses accounts for the diminished coupling conductance. *Aging* 2021;13(13):17568-17591
- 18 Selin JZ, Lindblad BE, Rautiainen S, et al. Are increased levels of systemic oxidative stress and inflammation associated with age-related cataract? *Antioxid Redox Signal* 2014;21(5):700-704
- 19 Li XC, Cao XG, Yu YY, et al. Correlation of sunlight exposure and different morphological types of age-related cataract. *Biomed Res Int* 2021;2021:8748463
- 20 Quan YM, Du Y, Wu CR, et al. Connexin hemichannels regulate redox potential via metabolite exchange and protect lens against cellular oxidative damage. *Redox Biol* 2021;46:102102
- 21 Liu K, Lyu L, Chin D, et al. Altered ubiquitin causes perturbed calcium homeostasis, hyperactivation of calpain, dysregulated differentiation, and cataract. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112(4):1071-1076
- 22 DeRosa AM, Meşe G, Li LP, et al. The cataract causing Cx50-S50P mutant inhibits Cx43 and intercellular communication in the lens epithelium. *Exp Cell Res* 2009;315(6):1063-1075
- 23 Cooper ML, Collyer JW, Calkins DJ. Astrocyte remodeling without gliosis precedes optic nerve Axonopathy. *Acta Neuropathol Commun* 2018;6(1):38
- 24 Yazdankhah M, Shang P, Ghosh S, et al. Role of glia in optic nerve. *Prog Retin Eye Res* 2021;81:100886
- 25 Liu GD, Li H, Cull G, et al. Downregulation of retinal connexin 43 in GFAP-expressing cells modifies vasoreactivity induced by perfusion ocular pressure changes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2021;62(1):26
- 26 Cooper ML, Pasini S, Lambert WS, et al. Redistribution of metabolic resources through astrocyte networks mitigates neurodegenerative stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2020;117(31):18810-18821
- 27 Xu MX, Zhao GL, Hu X, et al. P2X7/P2X4 receptors mediate proliferation and migration of retinal microglia in experimental glaucoma in mice. *Neurosci Bull* 2022;38(8):901-915
- 28 Jonas JB, Aung T, Bourne RR, et al. Glaucoma - authors' reply. *Lancet* 2018;391(10122):740
- 29 McLaughlin CW, Zellhuber-McMillan S, MacKnight ADC, et al. Electron microprobe analysis of ouabain-exposed ciliary epithelium: PE-NPE cell couplets form the functional units. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004;286(6):C1376-C1389
- 30 Pang J, Le L, Zhou Y, et al. NOTCH signaling controls ciliary body morphogenesis and secretion by directly regulating nectin protein expression. *Cell Rep* 2021;34(2):108603
- 31 Calera MR, Wang Z, Sanchez-Olea R, et al. Depression of intraocular pressure following inactivation of connexin43 in the nonpigmented epithelium of the ciliary body. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(5):2185-2193
- 32 Yu HX, Miao YZ, Chen WS, et al. Expressional and functional involvement of gap junctions in aqueous humor outflow into the ocular trabecular meshwork of the anterior chamber. *Mol Vis* 2019;25:255-265
- 33 Danesh-Meyer HV, Zhang J, Acosta ML, et al. Connexin43 in retinal injury and disease. *Prog Retin Eye Res* 2016;51:41-68
- 34 Ivanova E, Kovacs-Oller T, Sagdullaev BT. Domain-specific distribution of gap junctions defines cellular coupling to establish a vascular relay in the retina. *J Comp Neurol* 2019;527(16):2675-2693
- 35 Tien T, Muto T, Zhang J, et al. Association of reduced Connexin 43 expression with retinal vascular lesions in human diabetic retinopathy. *Exp Eye Res* 2016;146:103-106
- 36 Ivanova E, Kovacs-Oller T, Sagdullaev BT. Vascular pericyte impairment and Connexin 43 gap junction deficit contribute to vasomotor decline in diabetic retinopathy. *J Neurosci* 2017;37(32):7580-7594
- 37 Tien T, Muto T, Barrette K, et al. Downregulation of Connexin 43 promotes vascular cell loss and excess permeability associated with the development of vascular lesions in the diabetic retina. *Mol Vis* 2014;20:732-741
- 38 Li AF, Roy S. High glucose-induced downregulation of connexin 43 expression promotes apoptosis in microvascular endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(3):1400-1407
- 39 Muto T, Tien T, Kim D, et al. High glucose alters Cx43 expression and gap junction intercellular communication in retinal Müller cells; promotes Müller cell and pericyte apoptosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(7):4327-4337
- 40 Sankaramoorthy A, Roy S. High glucose-induced apoptosis is linked to mitochondrial connexin 43 level in RRECs; implications for diabetic retinopathy. *Cells* 2021;10(11):3102
- 41 Mugisho OO, Green CR, Zhang J, et al. Immunohistochemical characterization of Connexin43 expression in a mouse model of diabetic retinopathy and in human donor retinas. *Int J Mol Sci* 2017;18(12):2567
- 42 Liu GD, Wang YL, Keyal K, et al. Identification of connexin43 in diabetic retinopathy and its downregulation by O-GlcNAcylation to inhibit the activation of glial cells. *Biochim Biophys Acta BBA Gen Subj* 2021;1865(10):129955
- 43 Slavi N, Toychiev AH, Kosmidis S, et al. Suppression of connexin 43 phosphorylation promotes astrocyte survival and vascular regeneration in proliferative retinopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2018;115(26):E5934-E5943
- 44 Mugisho OO, Green CR, Kho DT, et al. The inflammasome pathway is amplified and perpetuated in an autocrine manner through connexin43 hemichannel mediated ATP release. *Biochim Biophys Acta BBA Gen Subj* 2018;1862(3):385-393
- 45 Lyon H, Yin NB, Rupenthal ID, et al. Blocking connexin43 hemichannels prevents TGF- β 2 upregulation and epithelial-mesenchymal transition in retinal pigment epithelial cells. *Cell Biol Int* 2022;46(2):323-330
- 46 Lyon H, Shome A, Rupenthal ID, et al. Tonabersat inhibits Connexin43 hemichannel opening and inflammasome activation in an *in vitro* retinal epithelial cell model of diabetic retinopathy. *Int J Mol Sci* 2020;22(1):298
- 47 Delvaeye T, Vandenabeele P, Bultynck G, et al. Therapeutic

- targeting of connexin channels: new views and challenges. *Trends Mol Med* 2018;24(12):1036–1053
- 48 Elbadawy HM, Mirabelli P, Xeroudaki M, *et al.* Effect of connexin 43 inhibition by the mimetic peptide Gap27 on corneal wound healing, inflammation and neovascularization. *Br J Pharmacol* 2016;173(19):2880–2893
- 49 Kuo C, Green CR, Rupenthal ID, *et al.* Connexin43 hemichannel block protects against retinal pigment epithelial cell barrier breakdown. *Acta Diabetol* 2020;57(1):13–22
- 50 Moore K, Bryant ZJ, Ghatnekar G, *et al.* A synthetic connexin 43 mimetic peptide augments corneal wound healing. *Exp Eye Res* 2013;115:178–188
- 51 Obert E, Strauss R, Brandon C, *et al.* Targeting the tight junction protein, zonula occludens - 1, with the connexin43 mimetic peptide, α CT1, reduces VEGF - dependent RPE pathophysiology. *J Mol Med* 2017;95(5):535–552
- 52 Huang D, Chen YS, Green CR, *et al.* Hyaluronic acid coated albumin nanoparticles for targeted peptide delivery in the treatment of retinal ischaemia. *Biomaterials* 2018;168:10–23
- 53 Mugisho OO, Rupenthal ID, Paquet - Durand F, *et al.* Targeting connexin hemichannels to control the inflammasome: the correlation between connexin43 and NLRP3 expression in chronic eye disease. *Expert Opin Ther Targets* 2019;23(10):855–863
- 54 Nor MNM, Rupenthal ID, Green CR, *et al.* Connexin hemichannel block using orally delivered tonabersat improves outcomes in animal models of retinal disease. *Neurotherapeutics* 2020;17(1):371–387
- 55 Dias N, Stein CA. Antisense oligonucleotides: basic concepts and mechanisms. *Mol Cancer Ther* 2002;1(5):347–355
- 56 Deva NC, Zhang J, Green CR, *et al.* Connexin43 modulation inhibits scarring in a rabbit eye glaucoma trabeculectomy model. *Inflammation* 2012;35(4):1276–1286
- 57 Grupcheva CN, Laux WT, Rupenthal ID, *et al.* Improved corneal wound healing through modulation of gap junction communication using connexin43 - specific antisense oligodeoxynucleotides. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(3):1130–1138
- 58 Ormonde S, Chou CY, Goold L, *et al.* Regulation of Connexin43 gap junction protein triggers vascular recovery and healing in human ocular persistent epithelial defect wounds. *J Membrane Biol* 2012;245(7):381–388
- 59 Guerra M, Marques S, Gil JQ, *et al.* Neurotrophic keratopathy: therapeutic approach using a novel matrix regenerating agent. *J Ocul Pharmacol Ther* 2017;33(9):662–669