

角膜内皮细胞 EndMT 发生机制的研究进展

柯红琴^{1,2}, 李 兰¹

引用: 柯红琴, 李兰. 角膜内皮细胞 EndMT 发生机制的研究进展. 国际眼科杂志, 2026, 26(1):35-38.

基金项目: 云南省科学技术厅——昆明医科大学联合专项项目 [No.2018FE001(-010)]; 云南省眼部疾病临床医学中心项目 (No.2024YNLCYXZX0335)

作者单位: ¹(650034) 中国云南省昆明市第一人民医院 昆明医科大学附属甘美医院; ²(650021) 中国云南省昆明市, 云南大学附属医院 云南省眼科疾病临床医学中心

作者简介: 柯红琴, 毕业于昆明医科大学, 博士, 主治医师, 研究方向: 眼表疾病、角膜病。

通讯作者: 李兰, 主任医师, 博士研究生导师. lilan@kmmu.edu.cn
收稿日期: 2025-02-16 修回日期: 2025-11-21

摘要

角膜内皮细胞(CECs)是位于角膜最内层的一层细胞结构, 它对于维持角膜透明和保持视觉功能发挥着非常重要的作用。然而, 一些疾病或损伤可能损坏角膜内皮细胞, 当角膜内皮细胞密度降低至阈值之下时即可能发生角膜内皮功能失代偿, 引起角膜水肿和视力下降。穿透性角膜移植技术和角膜内皮移植术是目前最主要的治疗方法, 但是全球范围内角膜供体匮乏, 角膜内皮再生医学成为世界研究的热点。角膜内皮细胞在体外培养过程中容易发生角膜内皮间充质转化(EndMT), 这是一个细胞表型转变的过程, 可导致内皮细胞失去其原有的功能并获得间充质细胞的特征。EndMT 严重制约着体外角膜内皮细胞的培养, 文章针对 EndMT 的诱发因素和相关信号通路进行综述, 为相关疾病的基础研究和临床治疗提供参考。

关键词: 角膜内皮细胞; 角膜内皮间充质转化(EndMT); 细胞因子; 信号通路

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2026.1.06

Advances in the mechanisms of endothelial-to-mesenchymal transition in corneal endothelial cell

Ke Hongqin^{1,2}, Li Lan¹

Foundation items: Joint Project of Applied Special Research of Kunming Medical University and Science and Technology Department of Yunnan Province [No.2018FE001(-010)]; Yunnan Provincial Clinical Medical Center for Ocular Diseases (No. 2024YNLCYXZX0335)

¹The First People's Hospital of Kunming; Affiliated Calmette Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650034, Yunnan Province, China; ²Affiliated Hospital of Yunnan University; Yunnan Provincial Clinical Medical Center for Ocular Diseases, Kunming 650021, Yunnan Province, China

Correspondence to: Li Lan. The First People's Hospital of Kunming; Affiliated Calmette Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650034, Yunnan Province, China. lilan@kmmu.edu.cn

Received: 2025-02-16 Accepted: 2025-11-21

Abstract

• Corneal endothelial cells (CECs), which form the innermost cellular layer of the cornea, play a pivotal role in sustaining corneal transparency and preserving visual acuity. However, CECs are vulnerable to damage induced by a spectrum of pathological conditions or traumatic injuries. Once the density of CECs declines below a critical threshold, corneal endothelial dysfunction is precipitated, ultimately leading to corneal edema and progressive visual impairment. Penetrating keratoplasty and corneal endothelial transplantation remain the first - line therapeutic strategies for managing advanced corneal endothelial dysfunction. Nevertheless, the global shortage of donor corneas severely limits the accessibility and scalability of these surgical interventions. Consequently, regenerative medicine approaches targeting corneal endothelial repair and regeneration have emerged as a major focus of international research in ophthalmology. A key challenge in the *in vitro* expansion of CECs is their propensity to undergo endothelial - to - mesenchymal transition (EndMT). EndMT is a process of cellular phenotypic transformation, through which endothelial cells lose their intrinsic functions and acquire the characteristic features of mesenchymal cells. The EndMT significantly impedes the clinical translation of *in vitro*-cultured CECs for regenerative applications. In this review, the risk factors and related signaling pathways involved in EndMT were summarized, aiming to provide references for the basic research and clinical treatment of relevant diseases.

• KEYWORDS: corneal endothelial cells; endothelial - to - mesenchymal transition (EndMT); cytokine; signaling pathway

Citation: Ke HQ, Li L. Advances in the mechanisms of endothelial-to-mesenchymal transition in corneal endothelial cell. Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci), 2026, 26(1):35-38.

0 引言

角膜内皮细胞(corneal endothelial cells, CECs)起源于眼周间充质的胚胎神经嵴细胞。胚胎发育后, 人CECs停滞在G1期, 无法分裂, 缺乏通过细胞分裂再生这一层的能力^[1]。人CECs出生后不能再生, 损伤、炎症和眼科手术等可导致细胞密度降低, 一旦CECs降低到临界密度

(500–1 000 cells/mm²) 以下, CECs 的泵功能和屏障功能即可能受损,发生角膜内皮功能失代偿^[2]。角膜移植手术是目前治疗角膜内皮失代偿行之有效的方法^[3],然而角膜移植供体匮乏仍然是目前角膜手术最大的限制因素,许多亟待治疗的患者没有获得这种治疗机会。角膜内皮再生医学的兴起和发展为这一困境带来了希望,但是 CECs 在体外培养过程中容易发生内皮间充质转化(endothelial-to-mesenchymal transition, EndMT),严重制约着体外 CECs 的培养。EndMT 是一个复杂的生物学过程,内皮细胞失去了它们的特异性标志物,如血管内皮钙黏蛋白(VE 钙黏蛋白),并获得间充质或肌成纤维细胞表型,表达特异性产物,如 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)和 I 型胶原。从组织学角度来看,在 EndMT 过程中,内皮的完整性被破坏,细胞迁移增加、胶原生成增多、收缩能力增强以及通过基质和其他物质侵入的能力增强^[4]。胶原类型表达的变化导致后弹力膜和角膜内皮之间形成角膜后纤维膜(retrocorneal fibrous membrane, RCFM),导致角膜混浊和视力下降^[5]。CECs 一旦发生 EndMT,将对角膜内皮的泵功能造成极大影响,并最终影响视力。在 CECs 体外培养过程中,EndMT 是普遍存在的现象,这极大制约了角膜内皮再生医学的发展。本文针对 EndMT 发生各种诱因和所涉及的信号通路进行综述。

1 EndMT 的诱发因素

1.1 炎症细胞因子 多种炎症细胞因子已被确定为 CECs 发生 EndMT 的诱导剂,它们可单独作用、协同作用或形成细胞间信号通路。最重要的 EndMT 诱发因子包括转化生长因子 β (TGF- β)、促炎细胞因子白细胞介素 1 β (IL-1 β) 和成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)。不管是在角膜内皮疾病,还是器官纤维化疾病(包括心脏纤维化、肾纤维化和肺纤维化等)中,TGF- β 均已被确定为驱动 EndMT 进展的核心角色。

TGF- β 超家族包括 TGF- β 、骨形态发生蛋白和激活素,它们参与细胞的增生、黏附、分化和凋亡等过程,还可以调节组织炎症、参与细胞修复。TGF- β 是一种参与多种细胞过程的生长因子,其表达受到转录后和翻译后修饰的调节,包括受体的可用性、其成熟形式的激活及其接头分子的结合。大量研究表明 TGF- β 广泛参与各组织器官中 EndMT 的发生。Zhu 等^[6]认为 EndMT 是由内皮细胞中 TGF- β 信号转导激活启动的过程,是许多慢性血管疾病和纤维化状态的基础。Zhang 等^[7]用 TGF- β 1 处理人脐静脉内皮细胞可以诱导内皮细胞发生 EndMT。Takahashi 等^[8]则在人口腔癌细胞异种移植小鼠模型中发现抑制 TGF- β 信号传导即可抑制 EndMT 的发生。Jacobs 等^[9]在肾纤维化的研究中发现 TGF- β 信号通过其下游经典 Smad 介导通路及非经典通路的激活驱动肾脏内皮细胞发生 EndMT。Aouimeur 等^[10]在研究人 CECs 的原代培养中发现,TGF- β 1、2 和 3 在没有胎牛血清的情况下可诱导人 CECs 发生 EndMT。人 TGF- β 有三种亚型,包括 TGF- β 1、TGF- β 2 和 TGF- β 3。CECs 在体内表达三种 TGF- β 受体^[11],房水中 TGF- β 浓度对 CECs 的增殖和分化有着重要影响。研究发现,许多炎症细胞因子,如 IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和 IL-6,可能通过核因子-B(NF- κ B) 触发 TGF- β 驱动 EndMT^[12]。

成纤维细胞生长因子 2(FGF-2)是一种已知存在于角膜后弹力层内的生长因子,它是一种多功能调节因子,

参与多种中胚层和神经外胚层细胞的增殖、血管生成和分化。已鉴定出 FGF-2 有五种亚型,分子量为 18–34 kDa。在哺乳动物中,有四种具有酪氨酸激酶活性的跨膜 FGF 受体(FGFR),配体结合和受体二聚化后,激酶结构域相互转磷酸化,导致接头蛋白对接并激活 4 个关键下游途径:Ras-Raf-MAPK、PI3-激酶-Akt、信号转导器和转录激活剂。FGF-2 是在 CECs 中观察到的 EndMT 的直接介质^[13]。内皮细胞中 FGFR1 的表达受到某些炎症刺激的影响,包括 IFN- γ 、TNF- α 和 IL-1 β ,从而导致其表达显著降低^[14]。通过敲除关键的细胞内信号介质 FGF 受体底物 2 α 或内皮细胞中的主要 FGFR1,可减少内皮 FGF 介导的信号传导激活 TGF- β 信号传导,导致 EndMT。在分子水平上,炎症诱导的 TGF- β 受体激活和配体表达背后的机制是由于 FGFR 的表达下降而导致保护性 FGF 信号传导的丧失。FGF 信号传导的丧失反过来导致 let-7 miRNA 家族成员水平降低约 80–100 倍,Let-7 miRNA 家族成员通常会下调几种关键 TGF- β 级联蛋白的表达,包括 TGF- β R1 和 Smad-2^[15]。这种 FGF/TGF- β 串扰的存在及其与 EndMT 发育的相关性已在许多体外和体内实验中得到验证。

IL-1 β 是一种主要的促炎细胞因子,在角膜炎症和伤口愈合的调节中起着至关重要的作用。IL-1 α 和 IL-1 β 均显著刺激各种细胞中 FGF-2 的合成和释放。Lee 等^[16]研究发现 IL-1 β 通过 PI3-激酶的作用对 FGF-2 的诱导潜力参与 CECs 的 EndMT。Lee 等^[17]研究还发现 IL-1 β 与其受体在人类 CECs 中的结合导致 AP-1 和 NF- κ B 途径的平行激活,进而导致 FGF-2 的表达和细胞迁移增强。长期暴露于炎症细胞因子,例如 IL-1 β 、TNF- α 和 IFN- γ ,会导致 TGF- β 受体和配体显著表达,最显著的是 TGF- β 2,其浓度可增加 50–100 倍^[18]。当角膜受伤时,多形核白细胞(PMN)会渗入前房和角膜组织。PMN 释放的 IL-1 β 快速激活 PI3 激酶,进而极大地促进 FGF-2 的合成,作为 EndMT 的直接介质。FGF-2 通过 PI3 激酶途径改变三种主要表型,并导致 EndMT 和非生理性伤口愈合。

总之,促炎环境可维持内皮细胞持续转化为成纤维细胞和平滑肌细胞样细胞,导致新内膜和纤维化的形成,并最终影响视力。

1.2 细胞密度 CECs 表型的特征是单层多边形细胞的接触抑制,这些细胞停滞在细胞周期的 G1 期并表达细胞连接蛋白,如 ZO-1 和 N-钙黏蛋白。当失去细胞间的接触抑制后,细胞间连接分解,内皮细胞即会由紧密连接的六边形转化为不规则形,肌动蛋白细胞骨架重组,发生 EndMT,转化为具有成纤维细胞表型的细胞^[19]。CECs 呈密度依赖性生长,增加细胞接种密度已被证明可以减少人类 CECs 培养过程中成纤维细胞转化的发生。Peh 等^[20]发现从配对供体角膜中分离的人 CECs 呈密度依赖性生长,与较低的细胞密度(2 500–5 000 cells/cm²)相比,高 CECs 接种密度(20 000 cells/cm²)会导致更紧凑和接触抑制的 CECs,培养出形态更接近生理状态的内皮细胞,建议使用不小于 10 000 cells/cm² 的接种密度用于原代人 CECs 的常规传代。

1.3 高血糖 研究报道高糖可以诱导内皮细胞发生 EndMT。Feng 等^[21]研究了 Raf 激酶抑制剂蛋白(RKIP)在糖尿病视网膜病变毛细血管内皮细胞中葡萄糖诱导的 EndMT 中的作用,结果发现 RKIP 对葡萄糖诱导的人视网

膜毛细血管内皮细胞的细胞活力、迁移、血管生成和 EndMT 具有负调控作用。Zhang 等^[22]研究也发现高糖可以促使人视网膜微血管内皮细胞中 α -平滑肌肌动蛋白、成纤维细胞特异性蛋白 1(也称为 S100 钙结合蛋白 A4, S100A4)、纤连蛋白和 SNAI1 的表达水平增加, 诱发 EndMT。近期的临床研究也表明, 糖尿病病程越长, CECs 的结构和数量受到的影响就越大, 内眼手术后角膜水肿的风险就越高^[23]。

2 CECs 发生 EndMT 的相关信号通路

2.1 TGF- β /Smad 信号通路 TGF- β 激活经典的 Smad 通路和几个非经典通路, 导致 EndMT。TGF- β 有 3 个成员, 即 TGF- β 1、TGF- β 2 和 TGF- β 3, 它们通过与 TGF-I 型或 TGF-II 型受体结合形成多聚体复合物, 随后启动下游 Smad 依赖性和非 Smad 依赖性信号通路^[24]。经典途径通过 TGF- β 蛋白与 TGF-II 型受体(TbR II)的结合而激活, TbR II 是一种 Ser/Thr 激酶, 可磷酸化 I 型受体, 导致 Smads 磷酸化^[25]。Smad2 和 Smad3 由 TGF- β 信号激活, Smad1、Smad5 和 Smad8 响应骨形态发生蛋白 (BMP)。Smad 通路导致各种转录因子的激活, 包括 Snail 转录抑制因子、ZEB 转录因子和基本螺旋-环-螺旋 (bHLH) 因子。另外, Snail1 和 2 可抑制 E-钙黏蛋白的转录, 与上皮极性的破坏和细胞骨架的重塑以及细胞迁移和侵袭有关^[19]。Smads 直接控制许多与间充质表型相关的基因, 如纤连蛋白、波形蛋白和胶原蛋白^[26]。Toda 等^[27]研究表明, 在体外培养的 CECs 中加入选择性 TGF- β 受体抑制剂 SB431542 可有效维持 CECs 的形态和功能, 降低 I 型胶原和纤连蛋白的表达, 减少 EndMT 的发生。

TGF- β 蛋白家族的非经典信号也与 EndMT 相关, 包括细胞外信号相关激酶 (Erk) - MAPK、RhoGTP 酶和 PI3K/Akt 通路。这些途径的激活可以通过将 TGF- β 结合到酪氨酸激酶受体或通过磷酸化受体与 Smads 的相互作用来完成。Okumura 等^[28]研究证明特异性 ROCK 抑制剂 Y-27632 对 Rho/ROCK 信号的抑制促进了猴 CECs 的黏附, 抑制内皮细胞凋亡, 并有效促进了 CECs 的增殖。他们在使用兔角膜内皮功能障碍模型中, CECs 与 Y-27632 联合移植到前房中可成功地恢复角膜透明性。ROCK 抑制剂还可以促进角膜内皮的伤口愈合^[29]。Kinoshita 等^[30]在 11 例大泡性角膜病变的患者前房中注射添加 ROCK 抑制剂 Y-27632 培养的人 CECs 后发现, 11 只眼睛中记录到 CECs 密度超过 500(947-2 833) cells/mm², 其中 10 只眼睛的 CECs 密度超过 1 000 cells/mm², 角膜厚度小于 630(489-640) μ m, 有 9 眼的最佳矫正视力提高了 2 行或 2 行以上。TGF- β 抑制剂是目前世界上研究最多最有望应用于临床的角膜 EndMT 抑制剂。

2.2 Notch 信号通路 Notch 信号通路在进化上是保守的, 在胚胎发育中起着关键作用。Notch 信号也可以由组织损伤激活, 比如皮肤和 CECs 损伤。Zhang 等^[22]研究发现 miR-29a/b 在人视网膜微血管内皮细胞中负向调节 Notch2 表达并抑制高糖诱导的 EndMT。Li 等^[5]的研究首次证实 Notch 信号通路参与 CECs 的 EndMT, 并证实 Notch 抑制剂 N-[N-(3,5-二氟苯基乙酰基)-L-丙氨酸基]-S-苯基甘氨酸叔丁酯(DAPT) 可完全阻断大鼠 CECs 发生 EndMT, 并抑制了角膜后膜的形成。由上可见, Notch 信号通路也参与了 CECs EndMT 的发生过程。

2.3 Wnt/ β -Catenin 信号通路 Wnt/ β -catenin 信号通路

调节胚胎和成人的细胞增殖、存活、细胞分化和凋亡^[31]。 β -catenin 是 Wnt/ β -catenin 通路的下游效应子, 可通过 β -catenin 磷酸化被糖原合酶激酶 3 β (GSK-3 β) 抑制^[32]。几项研究表明 Wnt/ β -catenin 通路在 EndMT 中起重要作用, Wnt/ β -catenin 依赖性信号的激活调节 EndMT 相关基因的表达。富含亮氨酸重复序列的 G 蛋白偶联受体 5(LGR5) 是 Wnt 信号传导通路的靶点, LGR5 配体 R-spondin-1 可显著加速 CECs 增殖, 并通过 Wnt 通路抑制 EndMT^[33]。还有研究发现使用胰蛋白酶(EDTA) 破坏细胞间连接来分离人 CECs 的传统方法可能会导致 HCEC 表型改变为成纤维细胞样形状, 这种表型的变化已被证明是由于在表皮生长因子和/或碱性成纤维细胞生长因子存在的情况下经典 Wnt 信号传导的激活而引起的^[34]。

3 小结

CECs 的再生一直以来都是眼科学研究的热点, 但是 EndMT 的存在一直制约着它的发展。EndMT 的发生机制错综复杂, 目前仍未完全清楚, 仍然有很多值得进一步研究。阻断 TGF- β 信号传导可能是治疗 EndMT 相关疾病的有前途的方法。

利益冲突声明: 本文不存在利益冲突。

作者贡献声明: 柯红琴论文选题与修改, 文献检索, 初稿撰写; 李兰选题指导, 论文修改及审阅。所有作者阅读并同意最终的文本。

参考文献

- [1] Català P, Thuret G, Skottman H, et al. Approaches for corneal endothelium regenerative medicine. *Prog Retin Eye Res*, 2022, 87:100987.
- [2] 孙浩源, 王姝丹, 张弘. Rho 相关激酶抑制剂治疗 Fuchs 角膜内皮营养不良新进展. *国际眼科杂志*, 2025, 25(5):739-742.
- [3] Tsao YT, Wu WC, Chen KJ, et al. Analysis of aqueous humor total antioxidant capacity and its correlation with corneal endothelial health. *Bioeng Transl Med*, 2021, 6(2):e10199.
- [4] Xu Y, Kovacic JC. Endothelial to mesenchymal transition in health and disease. *Annu Rev Physiol*, 2023, 85(1):245-267.
- [5] Li C, Dong F, Jia YN, et al. Notch signal regulates corneal endothelial-to-mesenchymal transition. *Am J Pathol*, 2013, 183(3):786-795.
- [6] Zhu XL, Wang YY, Soaita I, et al. Acetate controls endothelial-to-mesenchymal transition. *Cell Metab*, 2023, 35(7):1163-1178.e10.
- [7] Zhang WC, Li X, Li M, et al. Empagliflozin inhibits neointimal hyperplasia through attenuating endothelial-to-mesenchymal transition via TAK-1/NF- κ B pathway. *Eur J Pharmacol*, 2023, 954:175826.
- [8] Takahashi K, Kobayashi M, Katsumata H, et al. CD40 is expressed in the subsets of endothelial cells undergoing partial endothelial-mesenchymal transition in tumor microenvironment. *Cancer Sci*, 2024, 115(2):490-506.
- [9] Jacobs ME, de Vries DK, Engelse MA, et al. Endothelial to mesenchymal transition in kidney fibrosis. *Nephrol Dial Transplant*, 2024, 39(5):752-760.
- [10] Aouimeur I, Sagnial T, Coulomb L, et al. Investigating the role of TGF- β signaling pathways in human corneal endothelial cell primary culture. *Cells*, 2023, 12(12):1624.
- [11] Yan J, Lim B, Dhupar N, et al. TGF- β promotes endothelial-to-mesenchymal transition and alters corneal endothelial cell migration in fuchs endothelial corneal dystrophy. *Int J Mol Sci*, 2025, 26(14):6685.
- [12] Yu M, Wu XC, Wang JJ, et al. Paeoniflorin attenuates monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension in rats by suppressing TAK1-MAPK/NF- κ B pathways. *Int J Med Sci*, 2022,

19(4):681-694.

[13] Lee JG, Jung E, Heur M. Fibroblast growth factor 2 induces proliferation and fibrosis via SNAI1-mediated activation of CDK2 and ZEB1 in corneal endothelium. *J Biol Chem*, 2018, 293(10):3758-3769.

[14] Chen PY, Qin LF, Barnes C, et al. FGF Regulates TGF- β Signaling and Endothelial-to-Mesenchymal Transition via Control of let-7 miRNA Expression. *Cell Rep*, 2012, 2(6):1684-1696.

[15] Simons M. Fibroblast growth factors: the keepers of endothelial normalcy. *J Clin Investig*, 2021, 131(17):e152716.

[16] Lee HT, Lee JG, Na M, et al. FGF-2 induced by interleukin-1 β through the action of phosphatidylinositol 3-kinase mediates endothelial mesenchymal transformation in corneal endothelial cells. *J Biol Chem*, 2004, 279(31):32325-32332.

[17] Lee JG, Heur M. Interleukin-1 β enhances cell migration through AP-1 and NF- κ B pathway-dependent FGF2 expression in human corneal endothelial cells. *Biol Cell*, 2013, 105(4):175-189.

[18] Chen PY, Qin LF, Baeyens N, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition drives atherosclerosis progression. *J Clin Investig*, 2015, 125(12):4514-4528.

[19] Roy O, Beaulieu Leclerc V, Bourget JM, et al. Understanding the process of corneal endothelial morphological change *in vitro*. *Investig Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(2):1228-1237.

[20] Peh GS, Toh KP, Ang HP, et al. Optimization of human corneal endothelial cell culture: density dependency of successful cultures *in vitro*. *BMC Res Notes*, 2013, 6(1):176.

[21] Feng L, Zhang CH, Liu GD, et al. RKIP negatively regulates the glucose induced angiogenesis and endothelial-mesenchymal transition in retinal endothelial cells. *Exp Eye Res*, 2019, 189:107851.

[22] Zhang JY, Zeng Y, Chen JW, et al. miR-29a/b cluster suppresses high glucose-induced endothelial-mesenchymal transition in human retinal microvascular endothelial cells by targeting Notch2. *Exp Ther Med*, 2019, 17(4):3108-3116.

[23] 田靖, 兰长骏, 廖萱, 等. 糖尿病性白内障患者术后发生角膜水肿的预测模型. *国际眼科杂志*, 2020, 20(11):1876-1881.

[24] Gaikwad AV, Eapen MS, Dey S, et al. TGF- β 1, pSmad-2/3,

smad-7, and β -catenin are augmented in the pulmonary arteries from patients with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF): role in driving endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT). *J Clin Med*, 2024, 13(4):1160.

[25] Terauchi A, Yee P, Johnson-Venkatesh EM, et al. The projection-specific signals that establish functionally segregated dopaminergic synapses. *Cell*, 2023, 186(18):3845-3861.e24.

[26] Wang YQ, Liu QY, Zheng ZL, et al. Finerenone alleviates the high glucose-induced fibrosis in HK-2 cells by inhibiting EMT via the TGF- β 1/Smads signaling. *Biomed Res*, 2025, 46(3):83-92.

[27] Toda M, Ueno M, Hiraga A, et al. Production of homogeneous cultured human corneal endothelial cells indispensable for innovative cell therapy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(4):2011-2020.

[28] Okumura N, Sakamoto Y, Fujii K, et al. Rho kinase inhibitor enables cell-based therapy for corneal endothelial dysfunction. *Sci Rep*, 2016, 6(1):26113.

[29] Koizumi N, Kinoshita S, Okumura N. The role of rho kinase inhibitors in corneal endothelial dysfunction. *Curr Pharm Des*, 2017, 23(4):660-666.

[30] Kinoshita S, Koizumi N, Ueno M, et al. Injection of cultured cells with a ROCK inhibitor for bullous keratopathy. *N Engl J Med*, 2018, 378(11):995-1003.

[31] Liu JY, Wen Y, Luo W, et al. Human amniotic epithelial cells promote the proliferation of human corneal endothelial cells by regulating telomerase activity via the Wnt/ β -catenin pathway. *Curr Eye Res*, 2021, 46(2):159-167.

[32] Gough NR. Science's signal transduction knowledge environment: the connections maps database. *Ann N Y Acad Sci*, 2002, 971(1):585-587.

[33] Hirata-Tominaga K, Nakamura T, Okumura N, et al. Corneal endothelial cell fate is maintained by LGR5 through the regulation of hedgehog and Wnt pathway. *Stem Cells*, 2013, 31(7):1396-1407.

[34] Liu YS, Sun H, Hu M, et al. Human corneal endothelial cells expanded *in vitro* are a powerful resource for tissue engineering. *Int J Med Sci*, 2017, 14(2):128-135.