

肌成纤维细胞在青光眼滤过术后伤口愈合中的研究进展

李柯, 聂圣琼, 郑雅娟

基金项目: 吉林省科技发展计划项目 (No. 20160101139JC)
作者单位: (130000) 中国吉林省长春市, 吉林大学第二医院眼科中心青光眼科
作者简介: 李柯, 在读硕士研究生, 研究方向: 青光眼。
通讯作者: 郑雅娟, 毕业于日本秋田大学, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 青光眼. zhengyajuan124@126.com
收稿日期: 2018-06-04 **修回日期:** 2018-08-23

Research progress on pathobiology of myofibroblast in wound healing after glaucoma filtering surgery

Ke Li, Sheng-Qiong Nie, Ya-Juan Zheng

Foundation item: Science and Technology Development Project of Jilin Province (No. 20160101139JC)

Department of Glaucoma, the Second Hospital of Jilin University, Changchun 130000, Jilin Province, China

Correspondence to: Ya-Juan Zheng. Department of Glaucoma, the Second Hospital of Jilin University, Changchun 130000, Jilin Province, China. zhengyajuan124@126.com

Received: 2018-06-04 Accepted: 2018-08-23

Abstract

• Glaucoma filtering surgery is the main treatment for the glaucomatous patients. Typically, surgery failed many due to wound fibrosis and contracture at the post-surgical site. Myofibroblasts transdifferentiated from other cells via a process known as epithelial-mesenchymal transition (EMT) is a common feature of the fibrotic filtering channel, which can produce excessive amounts of the extracellular matrix (ECM), and then exert tractional forces, resulting in the disruption of tissue architecture and obstruction of filtering channel. In this review, we explain the pathological function of myofibroblast in the wound healing process after glaucoma filtering surgery.

• **KEYWORDS:** myofibroblast; glaucoma filtering surgery; wound healing; scar; transforming growth factor- β

Citation: Li K, Nie SQ, Zheng YJ. Research progress on pathobiology of myofibroblast in wound healing after glaucoma filtering surgery. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2018; 18 (10): 1806-1809

摘要

青光眼滤过手术是治疗青光眼的主要手术方式, 影响手术成功率的主要因素即为手术部位过度愈合、滤过道瘢痕化产生。滤过道瘢痕化的主要特点即为细胞通过上皮间充质转化过程转化为肌成纤维细胞。形成的肌成纤维细胞

迅速产生过量的细胞外基质, 并通过细胞外基质产生收缩力, 造成组织结构的异常, 妨碍滤过道引流。本文主要就肌成纤维细胞在青光眼滤过术后伤口愈合过程中的病理作用进行综述。

关键词: 肌成纤维细胞; 青光眼滤过术; 伤口愈合; 瘢痕; TGF- β

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2018.10.11

引用: 李柯, 聂圣琼, 郑雅娟. 肌成纤维细胞在青光眼滤过术后伤口愈合中的研究进展. 国际眼科杂志 2018; 18 (10): 1806-1809

0 引言

青光眼是全球第一位不可逆性致盲眼病, 可严重损害视神经和视功能。滤过性手术是治疗青光眼的主要手术方式。无论是小梁切除术, 还是结膜下引流物的植入, 都是新建一条沟通前房与结膜下区域的通道, 以便房水流出, 降低眼内压。流出眼内的房水在结膜下形成滤过泡, 最终被局部的脉管系统所吸收^[1]。功能性滤过道的形成是青光眼滤过手术成功的主要指标, 即要求手术部位伤口不完全性愈合^[2]。然而, 青光眼滤过术后 2a 失败率达 15%~30%^[3], 影响手术成功率的主要因素即为术后滤过道过度愈合。伤口愈合是组织产生新细胞、替代损伤细胞的基本生理过程, 然而长时间过度伤口愈合却会引起细胞外基质增多、非功能性瘢痕组织聚集、组织正常结构功能被破坏的纤维化病理过程^[4]。肌成纤维细胞转化是该病理组织修复过程的关键因素。

肌成纤维细胞首次发现于愈合的皮肤伤口肉芽组织中, 是成纤维细胞的最终分化形式^[5], 但是现在发现肌成纤维细胞来源于多种前体细胞。在组织损伤修复过程中, 局部的上皮细胞、成纤维细胞, 以及迁移到损伤处的骨髓间充质干细胞会发生一种特征性表型转化, 转化后的病理间充质细胞被称为肌成纤维细胞^[6], 该细胞既有成纤维细胞的分泌功能, 同时具有类似于平滑肌细胞的收缩功能, 且 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 的生成是肌成纤维细胞形成的关键标志。在伤口愈合过程中, 肌成纤维细胞迅速产生并积聚大量的细胞外基质, 通过细胞外基质产生同步牵引力, 最终导致组织结构变形和瘢痕形成^[4,7]。可见, 肌成纤维细胞的激活是组织过度愈合、纤维化的重要过程。因此, 了解肌成纤维细胞的激活调控机制及其在伤口愈合中的作用, 将为青光眼术后抗瘢痕化治疗提供更有效的临床指导。

1 α -SMA 的生成

肌成纤维细胞形成的关键标志是 α -SMA 的生成, 该肌动蛋白通常表达于血管平滑肌。肌成纤维细胞内的微丝束组成应力纤维, 使细胞产生收缩力, 并促进临近细胞外基质的重塑^[8]。 α -SMA 可整合于肌成纤维细胞的应力纤维^[8], 大幅提高了细胞的收缩力。组成应力纤维的肌动

蛋白束终止于肌成纤维细胞的表面,促进了细胞与细胞外基质的沟通,形成了两者之间的机械传导系统,既可以将应力纤维产生的机械力传递到周围的细胞外基质,又可以将细胞外基质的机械信号转变为细胞内信号^[4]。 α -SMA的表达受到多种因素的调节,包括生长因子、细胞因子、细胞外基质蛋白和外周的机械微环境。

2 肌成纤维细胞的激活

通过对多种来源的肌成纤维细胞的研究发现,影响肌成纤维细胞激活的因素主要有两个,即转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和机械力^[9]。

2.1 TGF- β

TGF- β 是伤口愈合的重要调节因子,可促进细胞表型向肌成纤维细胞转变,表达 α -SMA,从而促进细胞外基质的分泌,导致多种纤维化疾病的发生。具有生物活性的TGF- β 的积聚是肌成纤维细胞转化激活的关键起始步骤^[4]。TGF- β 超家族调节多种重要的细胞反应,如增殖、转化和凋亡^[10]。现已发现TGF- β 超家族至少由30多种细胞因子组成,并通过作用于TGF- β I型受体(T β R I)和TGF- β II型受体(T β R II)发挥调节作用。TGF- β 最初以无生物活性的前体蛋白形式被分泌,在其氨基末端有一结构域,称为潜伏期相关肽(latency-associated peptide, LAP),羧基末端是成熟的TGF- β 。肌成纤维细胞可以释放TGF- β 前体蛋白,该蛋白与细胞外基质中的转化生长因子结合蛋白(latent TGF- β_1 binding protein, LTBP-1)相连接,构成TGF- β 的储存库^[4,9]。TGF- β 前体N端的LAP在细胞内离子浓度改变、pH降低或者蛋白酶水解作用下被切除后,其C端部分形成具有活性的TGF- β ,继而发挥其生物学功能^[11]。TGF- β 超家族成员受体分为TGF- β I型受体(T β R I)和TGF- β II型受体(T β R II)。激活后的TGF- β 与跨膜丝氨酸/苏氨酸激酶受体T β R II结合形成复合物,接着激活T β R I,继而活化下游信号转导通路。

TGF- β /Smad (drosophila mothers against decapentaplegic)信号通路:Smad蛋白在TGF- β 信号转导的作用下分为3类:(1)膜受体激活的Smad (receptor-activated Smad, R-Smad),包括Smad1、2、3、5、8,其中Smad2、3是TGF- β 活化的主要信号途径;(2)通用Smad即Smad4,具有转录激活、核定位功能;(3)抑制性Smad,包括Smad6、7,发挥抑制性作用^[12]。活化后的T β R I磷酸化Smad2、Smad3,随后Smad2、Smad3与Smad4形成异源三聚体入核,调控靶基因的表达。Smad蛋白通过Smad结合元件(Smad binding element, SBE)识别DNA的回文序列(CAGAC),但是其与DNA的亲和力较低,因此需要协同某些细胞特异性的辅助因子与DNA结合,从而保证TGF- β 介导的转录反应的发生^[4,13]。Smad7是一种抑制性Smad蛋白,可与活化后的T β R I结合,通过竞争性抑制Smad2/3的磷酸化,且Smad7可促进T β R I降解,从而抑制TGF- β 信号通路的传导^[4]。

TGF- β 非Smad信号通路:Smad通路是TGF- β 信号传递的经典通路,而细胞内一些非Smad信号级联通路也用以传递TGF- β 信号。应激激活激酶p38和c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)可被TGF- β 诱导,并与Smad信号通路协同作用导致上皮间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)和细胞凋亡的发生^[13]。TGF- β 也可通过激活细胞外信号调节蛋白激酶

(extracellular signal-regulated kinase 1/2, Erk1/2)激活丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)信号通路,从而诱导EMT发生。Rho GTP酶可以通过激活小GTP酶RhoA、Cdc42、Rac1和酪氨酸激酶Src传递TGF- β 信号,导致细胞骨架重构,促进细胞活动和侵袭^[4]。TGF- β 也通过mTOR (mammalian or mechanistic target of rapamycin)和PI3K/Akt (phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B)信号通路调节细胞生长和EMT的激活^[13]。

2.2 机械力

整合素和黏着斑不仅可以由细胞产生的收缩力传递到细胞外基质,还可以通过感受细胞外的机械力以促进肌成纤维细胞激活^[9]。由肌成纤维细胞参与产生的机械环境,如刚性的细胞外基质,可以反馈性刺激肌成纤维细胞,使其保持持续的促纤维化活性^[14]。组织器官的刚度可用一定的工具来测量,并间接通过杨氏模量E (Young's modulus)表示。E值越大,表示使组织发生弹性变形的应力也越大,即组织刚度越大。通过测量发现修复或纤维化状态下的瘢痕组织的E值比正常组织大^[15]。有研究发现,改变培养基的刚度可以有效控制体外培养的肌成纤维细胞的激活^[9]。在同纤维化瘢痕组织刚度一致的培养基中,多种不同的前体细胞被激活,转化成为肌成纤维细胞。而培养于正常组织刚度的培养基中的上皮细胞、成纤维细胞,则可以抑制其纤维化改变。同样,刚度较小培养基将进一步降低成纤维细胞向肌成纤维细胞的转化。

相比于细胞培养模型,改变内源性纤维化组织控制肌成纤维细胞的激活也是十分重要的。既然细胞在刚性的环境中产生应激,那么降低细胞内压力就可以降低细胞对外部机械因素的敏感性。例如,可以通过抑制整合素、黏着斑,或阻断细胞机械敏感性膜受体,或干扰细胞内压力传输通路以降低组织刚度。有研究发现,Rho激酶抑制剂可用以抑制小梁网细胞塑性变形、纤维化活性和肌成纤维细胞的激活^[16]。MRTF-A (myocardin-related transcription factor-A)参与TGF- β_1 和机械力介导的晶状体上皮细胞的EMT过程和肌成纤维细胞激活^[17]。Boris就该方面对于抑制肌成纤维细胞激活的方法进行了综述:(1)特异性干扰细胞收缩纤维束上的 α -SMA;(2)抑制影响肌球蛋白活性的Rho/Rho相关性激酶通路;(3)干扰巨核细胞白血病因子1 (megakaryoblastic leukemia factor 1, MKL1),即心肌素转录因子(myocardin-related transcription factor, MRTF),因为该因子可以通过肌动蛋白的高分子聚合状态,将机械力与各种肌成纤维细胞前体中的肌细胞基因转录活性相联系;(4)干扰介导机械反应、正性调节肌成纤维细胞激活的YAP/TAZ (Yes-associated protein/transcriptional co-activator with PDZ-binding motif)转录因子^[9]。

3 肌成纤维细胞在青光眼滤过术后伤口愈合中的作用

青光眼滤过手术不可避免地会引起组织损伤,从而导致组织脉管系统的破坏,随后激活炎性细胞,释放相关细胞因子、蛋白和激素。组织伤口愈合包括四个阶段:止血、炎症、增殖、重塑。而肌成纤维细胞主要在增殖和重塑阶段发挥作用。

在止血阶段,血小板活化,除了参与凝血,还可释放多种生长因子和细胞因子,如血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)、血管内皮生长因子(vascular

endothelial growth factor, VEGF)、TGF- β 和白介素(interleukin, IL)等^[7]。这些因子不仅促进伤口愈合进入炎症阶段,使中性粒细胞、单核细胞及其他炎症细胞聚集^[7],也为接下来肌成纤维细胞的激活提供物质条件。

在术后1~3d,随着局部和外来的成纤维细胞增殖,伤口愈合进入增殖阶段。该阶段细胞数量增多、成纤维细胞活性增加,上皮开始形成肉芽组织。增殖阶段主要包括血管生成和纤维化产生,肌成纤维细胞便于该阶段发挥重要作用。TGF- β 是伤口愈合的关键因素,促进成纤维细胞向肌纤维细胞转化^[1]。PDGF 促进炎症细胞和成纤维细胞释放 TGF- β ,同时 TGF- β 反过来以自分泌的方式促进成纤维细胞的增生、迁移,并诱导其转化为具有收缩表型、表达 α -SMA 的肌成纤维细胞。转化后的肌成纤维细胞具有更强的增殖性和收缩性,同时可以增强纤连蛋白和胶原蛋白等细胞外基质的生成^[1,7],从而促进伤口愈合。

重塑阶段即纤维血管组织转变为成熟的瘢痕组织。该阶段以成纤维细胞、巨噬细胞和中性粒细胞生成基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs),选择性降解细胞外基质为特点^[7,18]。正常情况下,当组织修复完成,肌成纤维细胞便凋亡消失,但是持续存在的肌成纤维细胞会导致过度瘢痕形成和纤维化。而炎症、增加的机械力和不同的生长因子可以通过延长、加强肌成纤维细胞的活性诱导瘢痕形成和纤维化产生^[1]。尽管有提议表示由于组织机械应力的降低导致了肌成纤维细胞的凋亡,但是关于触发凋亡的确切因素尚不清楚^[18],仍需要进一步研究。

4 抑制肌成纤维细胞活性和抗瘢痕化治疗

肌成纤维细胞是组织修复的核心因素,那么通过抑制肌成纤维细胞的活性、促进其凋亡也可以达到抑制术后结膜瘢痕愈合的目的。

4.1 TGF- β 相关的抗瘢痕化治疗

4.1.1 T β R II 和抗瘢痕化 TGF- β 是伤口愈合的关键因素,可激活成纤维细胞转化为具有收缩性,且促进细胞外基质(the extracellular matrix, ECM)产生的肌成纤维细胞。那么通过抑制 TGF- β 相关活性有可能抑制肌成纤维细胞激活。Nakamura 等^[19]使用 siRNA (small interfering RNA) 敲除 TGF- β II 型受体基因,从而抑制了 TGF- β 诱导的基质沉积和炎症反应。而且他们还发现 TGF- β II 型受体特异性 siRNA 可以阻碍体外培养的人角膜成纤维细胞的迁移和纤连蛋白的聚集。亦有一项体外实验发现了一种靶向于 TGF- β II 型受体的新型适配子 S58,其可能减弱 TGF- β_2 诱导的成纤维细胞转化为肌成纤维细胞^[20]。且行青光眼滤过术(glaucoma filtering surgery, GFS)的动物模型实验表明, aptamer S58 蛋白可以减少结膜下瘢痕组织成分,使纤维变薄,组织间质变疏松, I 型胶原蛋白和 α -SMA 的着色减少^[21]。尽管抑制 TGF- β 受体的活性可以达到抗瘢痕化的目的,但是广泛的抑制可能会危及正常的眼部创伤愈合。因此我们需要特异性地阻滞涉及肌成纤维细胞转化的 TGF- β 信号通路,而保留那些与上皮稳定、正常伤口愈合有关的通路。

4.1.2 结缔组织生长因子和抗瘢痕化 TGF- β 也可促进结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)的表达,而 CTGF 是成纤维细胞活动的重要介质。有研究表明,CTGF 可促进 Tenon 囊成纤维细胞的增殖和转化,上

调 I 型胶原蛋白和纤连蛋白的表达^[22]。同样,也有学者通过阻滞 CTGF 观察成纤维细胞的变化,发现锤头状核糖酶通过靶向减少 CTGF 的表达,可以抑制 TGF- β_1 介导的成纤维细胞的增殖^[23]。反义 CTGF 通过阻断内源性 CTGF 表达,可以抑制 TGF- β 介导的 I 型胶原和纤连蛋白的分泌,以及结膜下成纤维细胞的增殖和迁移^[24]。因此, TGF- β 在结膜伤口愈合中的作用可能需要 CTGF 参与, CTGF 可作为一个抑制肌成纤维细胞活性的靶点。

4.1.3 富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白和抗瘢痕化 富含半胱氨酸的酸性分泌蛋白(secreted protein acidic and rich in cysteine, SPARC)是一种与 ECM 组成、细胞迁移密切相关的蛋白。体外实验表明,SPARC 可促进 Tenon 囊成纤维细胞增殖和胶原收缩,该作用可能是由 TGF- β 调节的^[25]。且多项研究验证了 SPARC 抑制后产生的效应。SPARC 敲除的 GFS 动物模型显示了不良的 ECM 沉积与构成^[26]。SPARC 敲除后的成纤维细胞,细胞增殖和坏死不受影响,但是细胞迁移和胶原收缩会受到限制。而且, SPARC 敲除减弱了 TGF- β_2 介导的 I 型胶原和纤连蛋白的上调作用^[27]。因此,SPARC 可能在 TGF- β 介导的某些功能中起作用,但尚无可用的临床数据。

4.1.4 其他 TGF- β 介导的肌成纤维细胞转化也依赖于黏着斑和热休克蛋白 47 的作用,因为利用 siRNA 敲除黏着斑和热休克蛋白 47 基因可以降低 Tenon 囊成纤维细胞的转化^[28-29]。氯离子通道 CLC-2 可能与 TGF- β_1 信号通路有关,利用 siRNA 敲除氯离子通道 CLC-2 可以降低 TGF- β_1 在结膜成纤维细胞的多种效应^[30]。

4.2 肌成纤维细胞凋亡相关的抗瘢痕化治疗 除了抑制 TGF- β 相关活性,成纤维细胞与肌成纤维细胞的凋亡也可作为调节伤口愈合、避免结膜过度瘢痕化的调控点。羟喜树碱是一种抗肿瘤药,有研究表明其可促进 Tenon 囊成纤维细胞凋亡^[31]。神经生长因子是一种用于青光视网膜神经保护的药物,之前研究表明其具有促增殖性,可促进结膜成纤维细胞的迁移、转化,并增加胶原基质的收缩性^[32]。现有研究表明,将肌成纤维细胞暴露于神经生长因子可诱导其凋亡^[33]。因此它可以促进伤口愈合,同时平衡组织修复。成纤维细胞和肌成纤维细胞凋亡是调节结膜伤口愈合的有效途径,而关于该途径的研究仍需要进一步完善。

综上所述,青光眼滤过术后手术部位组织过度愈合阻碍滤过道形成,导致手术失败,而肌成纤维细胞在滤过道瘢痕化中扮演了重要角色,且多种因子参与了肌成纤维细胞的转化。无论是抑制肌成纤维细胞激活,还是促进其凋亡,都是抗瘢痕化治疗的重要方向。虽然大量新型媒介和化学信号被证明参与肌成纤维细胞的转化,可作为抗瘢痕化治疗的新型靶点,但这些方法大多尚处于动物实验阶段,缺乏有效的临床研究。因此接下来我们既需要寻求更多的抗瘢痕化治疗靶点,也需要将这些实验创新转化为临床实践。

参考文献

- Schlunck G, Meyer-Ter-Vehn T, Klink T, et al. Conjunctival fibrosis following filtering glaucomasurgery. *Exp Eye Res* 2016; 142: 76-82
- Masoumpour MB, Nowroozzadeh MH, Razeghinejad MR. Current and Future Techniques in Wound Healing Modulation after Glaucoma Filtering Surgeries. *Open Ophthalmol J* 2016; 10:68-85
- 姜成功,苏颖,曲艺欣,等. 青光眼术后抗滤过泡瘢痕化药物进展.

现代生物医学进展 2015;15(4):765-767

4 Shu DY, Lovicu FJ. Myfibroblast transdifferentiation: The dark force in ocular wound healing and fibrosis. *Prog Retin Eye Res* 2017; 60:44-65

5 Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, et al. Myfibroblasts and mechano-differentiation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3(5):349-363

6 Xiao X, Huang C, Zhao C, et al. Regulation of myofibroblast differentiation by miR-424 during epithelial-to-mesenchymal transition. *Arch Biochem Biophys* 2015;566:49-57

7 Zada M, Pattamatta U, White A. Modulation of Fibroblasts in Conjunctival Wound Healing. *Ophthalmology* 2018;125(2):179-192

8 Darby IA, Laverdet B, Bonté F, et al. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 2014;7:301-311

9 Hinz B. Myofibroblasts. *Exp Eye Res* 2016;142:56-70

10 Mei Q, Saiz L. Literature - based automated reconstruction, expansion, and refinement of the TGF- β superfamily ligand-receptor network. *J Membr Biol* 2014;247(5):381-386

11 左魁阳,陈梦茜,孟娜娜,等. TGF- β 与器官纤维化的研究进展. *中国当代医药* 2017;24(17):12-16

12 周钱辉,彭红,颜又新,等. TGF- β 1 及其信号通路对话在肺纤维化中的研究进展. *国际呼吸杂志* 2018;2018(4):315-320

13 Jean-Jacques L. The Dual Role of TGF β in Human Cancer: From Tumor Suppression to Cancer Metastasis. *ISRN Mol Biol* 2012;2012(3-4):375-390

14 Duscher D, Maan ZN, Wong VW, et al. Mechanotransduction and fibrosis. *J Biomech* 2014;47(9):1997-2005

15 Hinz B. The extracellular matrix and transforming growth factor- β 1: Tale of a strained relationship. *Matrix Biol* 2015;47:54-65

16 Pattabiraman PP, Maddala R, Rao PV. Regulation of Plasticity and Fibrogenic Activity of Trabecular Meshwork Cells by Rho GTPase Signaling. *J Cell Physiol* 2014;229(7):927-942

17 Gupta M, Korol A, West-Mays JA. Nuclear translocation of myocardin-related transcription factor-A during transforming growth factor beta-induced epithelial to mesenchymal transition of lens epithelial cells. *Mol Vis* 2013;19:1017-1028

18 Seibold LK, Sherwood MB, Kahook MY. Wound modulation after filtration surgery. *Surv Ophthalmol* 2012;57(6):530-550

19 Nakamura H, Siddiqui SS, Shen X, et al. RNA interference targeting transforming growth factor - beta type II receptor suppresses ocular inflammation and fibrosis. *Mol Vis* 2004;10(85):703-711

20 Zhu X, Li L, Zou L, et al. A novel aptamer targeting TGF- β receptor II inhibits transdifferentiation of human tenon's fibroblasts into myofibroblast. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(11):6897-6903

21 Zhu X, Xu D, Zhu X, et al. Evaluation of Chitosan/Aptamer Targeting TGF- β Receptor II Thermo-Sensitive Gel for Scarring in Rat Glaucoma Filtration Surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(9):5465-5476

22 Zhang JY, Gao P, Ye W, et al. Functional Characteristics of Connective Tissue Growth Factor on Human Tenon's Capsule Fibroblast. *Curr Eye Res* 2014;39(1):53-61

23 Blalock TD, Yuan R, Lewin AS, et al. Hammerhead ribozyme targeting connective tissue growth factor mRNA blocks transforming growth factor-beta mediated cell proliferation. *Exp Eye Res* 2004;78(6):1127-1136

24 Yamanaka O, Saika S, Ikeda K, et al. Connective tissue growth factor modulates extracellular matrix production in human subconjunctival fibroblasts and their proliferation and migration *in vitro*. *Jpn J Ophthalmol* 2008;52(1):8-15

25 Fuchshofer R, Kottler UB, Ohlmann AV, et al. SPARC is expressed in scars of the Tenon's capsule and mediates scarring properties of human Tenon's fibroblasts *in vitro*. *Mol Vis* 2011;17(22-24):177-185

26 Seet LF, Su R, Barathi VA, et al. SPARC deficiency results in improved surgical survival in a novel mouse model of glaucoma filtration surgery. *PLoS One* 2010;5(2):e9415

27 Seet LF, Su R, Toh LZ, et al. *In vitro* analyses of the anti-fibrotic effect of SPARC silencing in human Tenon's fibroblasts: comparisons with mitomycin C. *J Cell Mol Med* 2012;16(6):1245-1259

28 Hong S, Lee JB, Iizuka Y, et al. The Role of Focal Adhesion Kinase in the TGF- β -Induced Myofibroblast Transdifferentiation of Human Tenon's Fibroblasts. *Korean J Ophthalmol* 2012;26(1):45-48

29 Hong S, Park K, Jin HK, et al. Role of Heat Shock Protein 47 in Transdifferentiation of Human Tenon's Fibroblasts to Myofibroblasts. *BMC Ophthalmol* 2012;12(1):49

30 Sun L, Dong Y, Zhao J, et al. The CLC-2 Chloride Channel Modulates ECM Synthesis, Differentiation, and Migration of Human Conjunctival Fibroblasts via the PI3K/Akt Signaling Pathway. *Int J Mol Sci* 2016;17(6):910

31 Tang W, Zhang Y, Zhang Q, et al. Hydroxycamptothecin-induced apoptotic gene expression profiling by PCR array in human Tenon's capsule fibroblasts. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8(3):2649-2659

32 Micera A, Puxeddu I, Lambiase A, et al. The pro-fibrogenic effect of nerve growth factor on conjunctival fibroblasts is mediated by transforming growth factor- β . *Clin Exp Allergy* 2005;35(5):650-656

33 Micera A, Puxeddu I, Balzamino BO, et al. Chronic nerve growth factor exposure increases apoptosis in a model of *in vitro* induced conjunctival myofibroblasts. *PLoS One* 2012;7(10):e47316