

TGF- β 参与黄斑前膜形成的研究进展

冯家桢, 贺涛, 邢怡桥

引用: 冯家桢, 贺涛, 邢怡桥. TGF- β 参与黄斑前膜形成的研究进展. 国际眼科杂志 2022;22(8):1298-1303

作者单位: (430060) 中国湖北省武汉市, 武汉大学人民医院眼科中心

作者简介: 冯家桢, 武汉大学在读硕士研究生, 研究方向: 玻璃体视网膜疾病。

通讯作者: 邢怡桥, 毕业于德国菲利浦大学, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 玻璃体切割术治疗复杂性视网膜脱离、黄斑部疾病及白内障诊治. yiqiao_xing57@whu.edu.cn

收稿日期: 2021-10-16 修回日期: 2022-06-30

摘要

黄斑前膜(ERM)是一种以发生于视网膜内表面的纤维细胞膜为特征的视网膜疾病。现有的临床指南及文献资料对 ERM 的诊断与治疗已基本达成共识, 但对其机制的阐述仍众说纷纭。转化生长因子- β (TGF- β)是一种高度多效性的细胞因子, 在伤口愈合、血管生成、免疫调节、癌症、炎症及纤维化疾病中起着重要作用, 越来越多的研究表明, ERM 是玻璃体后脱离(PVD)引起视网膜发生炎性损伤以及视网膜色素上皮层细胞等细胞经历上皮间质转化(EMT)所致纤维化的一类病理改变, 而多种细胞因子通过参与非经典的 TGF- β -Snail 途径与经典的 TGF- β -Smad 途径调控 TGF- β 介导的 EMT 进程。目前已有部分针对上述途径相关细胞因子的药物进入研发阶段, 对提供 ERM 临床治疗及预防新思路具有重要意义。本文就 TGF- β 在 ERM 形成中相关细胞因子的研究进展作一综述。

关键词: 黄斑前膜; 转化生长因子- β (TGF- β); 分子机制; 上皮-间质转化

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2022.8.12

Research progress of TGF - β in the formation of epiretinal membrane

Jia-Zhen Feng, Tao He, Yi-Qiao Xing

Eye Center, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Correspondence to: Yi-Qiao Xing. Eye Center, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China. yiqiao_xing57@whu.edu.cn

Received: 2021-10-16 Accepted: 2022-06-30

Abstract

• Epiretinal membrane (ERM) is a retinal disease characterized by a fibrocell membranes that can develop

on the inner surface of the retina. The existing clinical guidelines and literature have reached a consensus on the diagnosis and treatment of ERM, but the explanation of their mechanism is still controversial. Transforming growth factor- β (TGF- β) is a highly pleiotropic cytokine that plays an important role in wound healing, angiogenesis, immune regulation, cancer, inflammation and fibrosis diseases. Studies have increasingly shown that ERM is a kind of pathological changes in fibrosis that caused by the posterior vitreous detachment (PVD) and lead to the retinal inflammatory damage and epithelial to mesenchymal transition (EMT) of retinal pigment epithelial cells. A variety of cytokines regulate TGF- β -mediated EMT process by participating in the non-classical TGF- β -Snail pathway and the classical TGF- β -Smad pathway. At present, some drugs targeting cytokines related to the above pathway have entered the development stage, which is of great significance to provide new ideas for clinical treatment and prevention of ERM. This review reviews the progress of TGF- β related cytokines in ERM formation.

• **KEYWORDS:** epiretinal membrane; transforming growth factor - β (TGF - β); molecular mechanisms; epithelial to mesenchymal transition

Citation: Feng JZ, He T, Xing YQ. Research progress of TGF- β in the formation of epiretinal membrane. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2022;22(8):1298-1303

0 引言

黄斑前膜(epiretinal membrane, ERM)是一种以发生于视网膜内表面的纤维细胞膜为特征的视网膜疾病。ERM可分为不伴明显原发疾病的特发性黄斑前膜(idiopathic epiretinal membrane, iERM),及继发于眼外伤、眼内炎、视网膜血管疾病、或眼部手术等的继发性ERM^[1]。多数ERM是无症状且长期无进展的,少数ERM的整体病程是逐渐进展的^[2]。ERM的诊断依赖于裂隙灯下所见眼底及OCT检查^[3-4]。ERM在病理上表现为视网膜内表面上形成的病理性纤维细胞膜^[1],绝大多数ERM主要由两部分组成,即细胞与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)^[5-6]。在ERM的早期病理表现中可见神经胶质细胞明显增多,但此时期患者多无明显症状,仅在裂隙灯检查下可见黄斑玻璃纸样反射。而在ERM的晚期病理表现中肌成纤维细胞明显增多,膜表现收缩特性,OCT下表现为视网膜前黄斑纤维化,此时期患者多有严重视力下降及视物变形症^[7-8]。早期ERM通常无需随访。而晚期ERM患者由于持续性的视力下降及严重视物变形常需行玻璃体切割术剥离ERM^[9]。

1 ERM

目前对 ERM 的研究多集中于病理及细胞水平。就 iERM 而言,随年龄增长逐渐进展的玻璃体液化所导致的玻璃体后脱离 (posterior vitreous detachment, PVD) 可能是其发生的始动因素^[10],这一观点已得到多数学者的认可。PVD 可导致内界膜 (internal limiting membrane, ILM) 损伤,并在其表面形成微渗漏孔,这使得视网膜色素上皮层 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞、Müller 细胞、小胶质细胞等细胞得以向 ILM 表面迁移。其次, PVD 所导致的玻璃体劈裂也使得玻璃体细胞可以迁移至 ILM 表面^[11]。在早期 iERM 的病理表现中,神经胶质细胞占据主导地位,其中以来源于星形胶质细胞、Müller 细胞等细胞的转分化的细胞为主^[12]。但在晚期 iERM 的病理表现中肌成纤维细胞占主导地位^[13],目前认为晚期 iERM 中的肌成纤维细胞来源于 Müller 细胞、玻璃体细胞、RPE 细胞的转分化,肌成纤维细胞分泌收缩蛋白并沉积胶原蛋白,使晚期 iERM 呈现收缩牵拉特性^[14]。继发性 ERM 同样可能与 PVD 有很大关联,但其与原发病的联系更为紧密,已有的研究表明继发性 ERM 本质上是一种愈合反应,这种反应可以经由缺氧,感染等病因通过激活转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 相关通路促进细胞增殖及细胞间质的合成从而导致 ERM 的形成^[15]。还有研究表明 IL-6、IL-8、单核细胞趋化蛋白-1 等炎症细胞因子的上调及巨噬细胞、T 细胞、B 细胞等免疫细胞的活化参与了部分继发性 ERM 的发生发展^[16]。

2 TGF- β

TGF- β 是高度多效细胞因子,其在哺乳动物中存在三种同工型 (TGF- β 1、TGF- β 2 和 TGF- β 3),它们包含高度保守的区域,仅在几个氨基酸区域中存在差异,且都通过相同的受体信号通路在伤口愈合、血管生成、免疫调节、癌症及纤维化疾病中扮演重要角色^[17]。TGF- β 同源二聚体与潜伏相关肽 (latency associated peptide, LAP) 相互作用,形成小潜伏复合物 (small latent complexes, SLC),随后与 TGF- β 结合蛋白 (latent transforming growth factor β binding proteins, LTBP) 结合,形成大型潜在复合物 (large latent complex, LLC)。LLC 以非活性形式分泌到细胞外基质中,阻止 TGF- β 与其受体结合。LLC 从基质中释放后, LAP 与整合素 α v β 6 等结合后释放活性 TGF- β ^[18]。TGF- β 有三种存在于胞膜的受体 (TGF β R I、TGF β R II 和 TGF β R III)。TGF β R I 和 TGF β R II 的细胞质结构域中都含有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,而 TGF β R III 没有激酶活性。TGF- β 与 TGF β R II 的结合以及与 TGF β R I 的异源四聚化通过下游 Smad 启动细胞内信号传导。TGF β R III 作为辅助受体发挥作用,以增加配体与 TGF β R II 的结合效率^[19]。活化的 TGF- β 经受体转运进入胞质后激活 Smad 信号通路,介导 Smad2/3 的磷酸化,磷酸化后的 Smad2/3 与 Smad4 结合后进入细胞核内调控相关基因表达^[20]。除上述经典 TGF- β -Snail 途径外, TGF- β 下游还存在着 Wnt/ β -catenin 通路、Snail 通路等其他信号途径,调控多种生理病理过程^[21]。

3 TGF- β 与 ERM

现阶段学术界多将 ERM 视为始动于 PVD 的视网膜内界膜层面的损伤愈合反应或纤维化疾病。近年来对

ERM 成分的多项免疫组化研究也表明了 TGF- β 及其相关通路在 ERM 发病中的重要地位。在 TGF- β 所参与的 ERM 的发病机制中,可分为非经典的 TGF- β -Snail 途径与经典的 TGF- β -Smad 途径。

3.1 TGF- β -Snail 途径与上皮-间质转化 上皮-间质转化 (epithelial to mesenchymal transition, EMT) 是 1960 年代由 Elizabeth Hay 首次提出的概念,指上皮细胞在胚胎发育时期及病理状态下基因表达谱及表型均发生改变,转化为具有间充质特点的具有迁移能力的间叶样细胞的过程^[22-23]。EMT 使细胞黏附分子的表达下调,角蛋白细胞骨架转变为波形蛋白,从而使上皮细胞失去极性与上皮表型,获得较高的迁移与侵袭、抗凋亡和降解细胞外基质等特性。EMT 在胚胎发育 (1 型 EMT), 组织修复及纤维化 (2 型 EMT) 及上皮性肿瘤的转移与侵袭 (3 型 EMT) 方面发挥重要作用^[24]。而继发性 ERM 本质上是一种损伤愈合及纤维化反应,2 型 EMT 在其发生及发展中起着重要作用。

研究表明 Snail、Slug、ZEB1、SIP1 和 Twist 等转录因子参与了 EMT 的调控,其中以 TGF- β -Snail 途径的作用最为关键^[25-26]。TGF- β 介导 Snail 与 E-钙黏着蛋白基因 (E-cadherin) 启动子中的特定 DNA 序列 E-boxs 结合并抑制 E-cadherin 的转录,下调细胞黏附蛋白 E-钙黏着蛋白表达,而 E-钙黏着蛋白的下调被视为 EMT 的标志^[27]。

一般认为在继发性 ERM 中 EMT 的发生发展过程是由源于视网膜脱离 (retinal detachment, RD) 后经历增生性玻璃体视网膜病变 (proliferative vitreoretinopathy, PVR) 的 RPE 细胞^[28], RD 后由于视网膜的断裂与血-视网膜屏障的破坏导致 RPE 细胞直接暴露于 TGF- β , 导致细胞内 Snail 合成增多,作用增强进而导致 EMT,使得 RPE 细胞转变为成纤维细胞,分泌 ECM,从而形成 ERM^[29]。Li 等^[30]的一项研究发现在沉默 Snail 后间充质标志物——纤连蛋白及 α -肌动蛋白 (α -smooth muscle Actin, α -SMA) 减少,上皮标志物——E-cadherin 及 ZO-1 增加,这进一步证明在继发于 PVR 的 ERM 中 Snail 是 RPE 细胞在 TGF- β 介导下发生 EMT 的重要调控因子。

在晚期 iERM 中,其特征细胞成分肌成纤维细胞与 2 型 EMT 关系密切^[31-32],但 iERM 中转化为肌成纤维细胞的 Müller 细胞却并非上皮来源^[33-34], Kanda 等^[35]研究了 Müller 细胞-间质转化 (GMT) 作为 EMT 替代机制的可行性。通过实验, Atsuhiko Kanda 发现与 BMP-4、CTGF 等细胞因子相比, TGF- β 1 刺激下 2 型 EMT 标记物 (α -SMA, SM22, I 型胶原) 上调明显,故将 TGF- β 1 作为潜在的 2 型 EMT 诱导剂。进一步测定 TGF- β 1 刺激后 EMT 相关标记物水平,发现 Snail 表达明显上调,并且敲低 Snail mRNA 耗竭 Snail 抑制了 TGF- β 1 诱导的 EMT 相关基因转录的上调。后续实验进一步揭示了 Snail 在 Müller 细胞间质转化中赋予其迁移能力及丧失胶质表型的作用。综上所述, Müller 细胞可经历由 TGF- β -Snail 轴驱动的 2 型 EMT,并提出了 Müller 细胞 GMT 这一新概念,而其他可发生 ERM 的非上皮源性细胞如玻璃体细胞及其他胶质细胞是否也有类似的转化过程还需进一步研究。

3.2 TGF- β -Smad 途径 RPE 细胞除经 TGF- β -Snail 轴外还受到很多其他细胞因子及通路如 p38-MAPK 途径、

PKA、HSP90和MDM2等的调控经历2型EMT,而这些因子都通过对经典的TGF- β -Smad途径的影响进而促进RPE细胞迁移至ILM表面形成ERM。

3.2.1 p38-MAPK 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)由一组级联活化的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶蛋白组成,通过依级联反应将上游信号传递至下游应答分子。p38是MAPK家族的重要成员,参与炎症的调控及细胞增殖、分化、凋亡等过程^[36-37]。

在PVR导致的ERM中,经历EMT的活化RPE细胞可达95%^[38-39],已有研究表明多种细胞因子在诱导RPE细胞活化中起作用,其中以TGF- β 和TNF- α 的研究最为成熟^[40-41],Shirasawa等^[42]发现TNF- α 可通过p38-MAPK途径损伤RPE屏障功能进而导致其经历EMT,而在肺泡上皮细胞与小肠上皮细胞的EMT中TGF- β 与TNF- α 有协同作用^[43]。Schiff等^[44]通过对进行TGF- β 和TNF- α 共同处理(TNT)所形成的表现特殊收缩特性的体外成人RPE(adult human RPE, ahRPE)细胞聚集体进行研究,对比对照组、敲除p38基因组及使用p38抑制剂SB202190组收缩性物质的含量,结果表明敲除p38基因组及使用p38抑制剂SB202190组收缩性物质的含量下调甚至逆转,这证明了p38-MAPK途径是TGF- β 和TNF- α 下游信号通路的主要信号传导节点,并且他们将采集到的患者ERM样品进行转录组学分析,结果也呈现p38-MAPK途径的富集。2018年Chen等^[45]发现Plumbagin(PLB)可通过下调p38-MAPK信号通路相关分子表达来抑制PVR中RPE的增殖特性,展现了抑制p38-MAPK途径在ERM临床治疗方面的可观前景。

3.2.2 TGF- β 与HSP90 在iERM中,由于ECM中各型胶原及纤连蛋白等基质成分的存在,使其具有纤维化疾病的特点^[46-47],而TGF- β 介导了纤维化疾病的进展,免疫组化表明iERM中TGF- β 1及其受体的过表达^[48-49]。在TGF- β 通路中,TGF- β 与2型TGF- β 受体结合后激活1型TGF- β 受体^[50-51],进而激活下游Smad途径,Smad是TGF- β 通路的重要细胞质介质,Smad2/3磷酸化后与Smad4结合并转移至核内,调节多种基因表达,最终调控 α SMA和I型胶原等促进纤维化的蛋白的表达^[52-53]。上述通路中存在包括热休克蛋白90(HSP90)在内的多种调节剂。已有报道证明HSP90在其他纤维化疾病中的作用,即HSP90能够使2型TGF- β 受体免受降解进而维持其磷酸化后的活性,从而促进纤维化物质的表达^[54]。Sethi等^[55]研究了iERM中HSP90在TGF- β 通路中的调控机制。结果显示在表达2型TGF- β 受体的iERM细胞中发现较高表达的HSP90,同时观察到的Smad2/3、Smad4表达上调,表明Smad途径的激活得到了增强。目前对于ERM中HSP90的更多机制还需进一步研究,但可将其视为潜在的治疗靶标。

3.2.3 TGF- β 与蛋白激酶A 蛋白激酶A(cAMP-dependent protein kinase, PKA)是一类依赖于cAMP的蛋白激酶,激活后可导致多种蛋白质磷酸化,在细胞生长、分化、凋亡及ECM分泌等过程中发挥重要作用^[56-57]。RPE细胞的EMT已被认为是PVR后ERM形成的主要原因,其中TGF- β 是EMT的一种重要调节剂^[58-59]。TGF- β 诱

导的EMT受到多种信号通路及分子的串扰调节,PKA是串扰的重要组成部分。早先的研究已经证实在肾小球系膜细胞及胰腺腺泡细胞等细胞中PKA能够调节TGF- β 诱导的EMT^[60-61],Lyu等^[62]研究了PKA在PVR后RPE细胞EMT中的作用,实验中通过对PVR患者ERM的PKA C亚基(PRKACa)表达的检测发现PRKACa在ERM样品中表达量明显上升,且与EMT标记物 α -SMA和上皮标记物CK8强烈共定位,结果表明PKA在经历EMT的RPE细胞中被激活。随后,实验者向PVR模型大鼠玻璃体腔内注射选择性PKA抑制剂H89,可观察到PVR进展的延缓及眼底结构的改善,并且视网膜电图(electroretinogram, ERG) b波波幅也得到了改善这表明H89对大鼠的视觉功能有一定的保护作用。在后续实验中,Lyu等^[62]又进一步验证了H89对TGF- β 途径中有重要作用的Smad2/3没有影响,不会引起其磷酸化或核移位,但阻断了TGF- β 1对抑制性信号Smad6的下调作用,说明H89增强了Smad6的抑制作用。这一结果揭示了PKA抑制剂在治疗ERM方面的潜在可能。

3.2.4 TGF- β 与小鼠双微体2 小鼠双微体2(mouse double minute 2, MDM2)是一种致癌基因所编码的蛋白,它可以作为P53-E3-泛素的连接酶促进抑癌基因编码的P53蛋白通过泛素途径降解,MDM2在p53依赖或非依赖途径的肿瘤EMT中占有重要地位^[63-64]。MDM2基因中有两个启动子,启动子1(P1)是管家启动子,而位于内含子1的启动子2(P2)则可被Smad或特异性蛋白1(Sp1)激活,进而响应包括TGF- β 在内的各种刺激调控^[65-66]。Sp1与P2的亲合力增加可上调MDM2的表达,进而诱导RPE的EMT进程,最终导致罹患包括ERM在内的PVR的风险增高^[67]。因此,抑制P2驱动的MDM2表达在预防ERM的发生发展中有着巨大的潜力。成簇的规则间隔短回文序列相关蛋白9(Cas9)是一种特异性极高的遗传编辑工具,可通过阻断转录延伸、阻止RNA聚合酶或转录因子与真核生物DNA结合靶向干扰真核生物基因组^[68-71]。Liu等^[72]用含有两个突变的靶向MDM2 P2 dCas9(dCas9)的慢病毒转染已受TGF- β 2诱导而发生EMT的人RPE(ARPE-19),发现dCas9阻断了TGF- β 2诱导的MDM2表达进一步的研究发现,dCas9也可抑制MDM2在非刺激条件下的基础表达,暗示了高选择性的dCas9疗法在治疗继发于PVR的ERM方面的潜在价值^[73-74]。

4 总结与展望

TGF- β 自1981年在转化大鼠肾成纤维细胞的培养物中被发现后,对其功能及上下游信号通路的研究一直是医学生物领域的热点。经过多年的研究,TGF- β 在纤维化、肿瘤、炎症、免疫调节等生理病理过程中的作用机制被逐一揭示。而ERM作为PVD后视网膜各细胞经历EMT而形成的纤维细胞膜,TGF- β 通路及其相关串扰因子在其中扮演重要角色(图1)。

当然,ERM的形成不仅依靠TGF- β 的调节,越来越多的分子及通路被发现:如在增殖期糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)患者的ERM中,肿瘤坏死因子超家族成员15(TNFSF15)与成纤维细胞生长因子诱导分子14(FN14)结合后可在多种细胞(血管内皮细胞,单核细胞、巨噬细胞和成肌纤维细胞)内激活核因

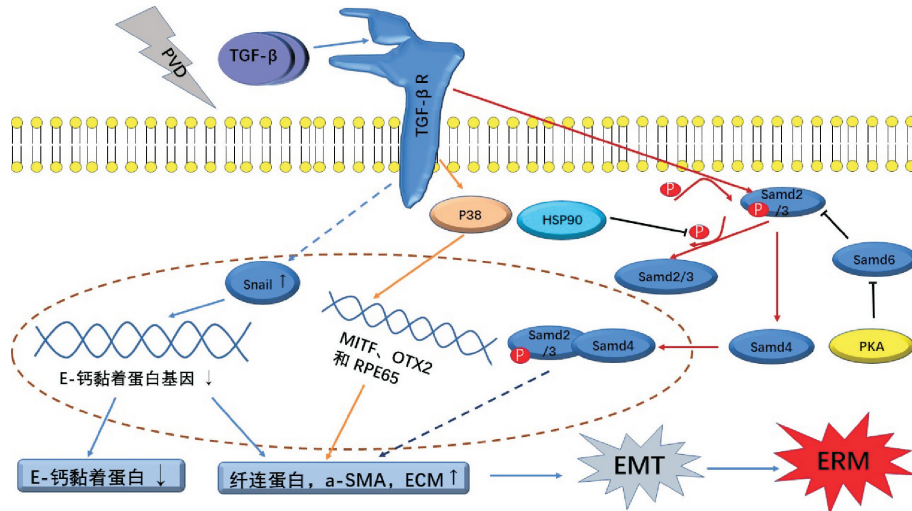


图 1 TGF-β 通路参与 ERM 形成的示意图 TGF-β 诱导 Snail 合成上调,下调 E-钙黏着基因表达,介导 EMT。TGF-β 激活 P38 通路,增强 MITF、OTX2 和 RPE65 等基因效应,上调纤连蛋白、α-SMA、ECM。活化的 TGF-β 经受体转运进入胞质后激活 Smad 信号通路,介导 Smad2/3 的磷酸化,磷酸化 Smad2/3 与 Smad4 结合后进入细胞核内调控相关基因表达。HSP90 抑制 Smad2/3 去磷酸化,增强 Smad2/3 途径效应。PKA 通过阻断 Smad6 对 Smad2/3 的抑制作用增强经典 Smad 通路效应。

子 NF-κB 信号转导途径^[75],上调包括基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、E-选择素、IL-6、IL-8 等多种促炎因子的表达,促进炎症反应并诱导胶质细胞增生,形成纤维细胞膜,值得一提的是,PDR 中以 NF-κB 为核心的炎症信号通路上 Wip1 等相关分子在不断地被发现完善^[76],而 NF-κB 在介导 PDR 患者继发性 ERM 形成过程中是否与 TGF-β 通路有串扰有待进一步的研究证实;Zhang 等^[76]研究中发现,ROCK 信号通路在 DR 缺氧和氧化应激诱导的 Müller 细胞损伤中起着关键作用,ROCK 途径的激活可以导致 Müller 细胞形态改变,增加迁移率并刺激细胞活性氧(reactive oxygen species, ROS)的生成^[77-78],进而促进 Müller 细胞在 ILM 上形成 ERM。

如今 ERM 的发病率逐渐提高,已经成为老年人视力损害的一大病因^[79]。虽然玻璃体切除术合并 ILM 剥离这一一线治疗方案已成为有症状 ERM 的首选治疗,但手术具体入路选择的争议,染料的安全性不高,术后并发症较多及 ERM 复发风险较高等问题仍有待解决^[80-82]。现阶段学术界尚未就 ERM 的发病的分子机制达成一致,对其分子机制的进一步研究不仅能够增进我们对 ERM 的理解,发现发病机制中重要的分子靶点也能为临床选择新治疗手段提供思路。众所周知,抗 VEGF 治疗自 2004 年进入眼科范畴以来,通过对相关疾病分子机制的不断完善,新型药物层出不穷,已成为玻璃体切除术外治疗 DR 等疾病的重要手段,且相较玻璃体切除术,玻璃体腔注射给患者带来的不适也大大减少^[83]。而 TGF-β 在两型 ERM 的发生发展中虽占据重要地位,但由于 TGF-β 作为一种多功能的分子,单纯抗 TGF-β 治疗虽然能抑制 ERM,但同样阻碍了细胞其他生理活动。因此,进一步对整个 TGF-β 通路相关分子的完善,精准抑制特异性高的分子,如 Yoshida 等^[84]发现通过 Smad4 的去乙酰化诱导 RPE 细胞下调 α-SMA 并抑制 TGF-β2 诱导 EMT 的白藜芦醇等新靶点药物的将为 ERM 非玻璃体切除治疗及预防带来巨大的变革。

参考文献

- 1 Fung AT, Calvin J, Tran T. Epiretinal membrane: a review. *Clin Exp Ophthalmol* 2021;49(3):289-308
- 2 Hecht I, Yeshurun I, Bartov E, et al. Retinal layers thickness changes following epiretinal membrane surgery. *Eye* 2018;32(3):555-562
- 3 Ferris FL 3rd, Bird A, et al. Clinical classification of age-related macular degeneration. *Ophthalmology* 2013;120(4):844-851
- 4 Stevenson W, Prospero Ponce CM, Agarwal DR, et al. Epiretinal membrane: optical coherence tomography - based diagnosis and classification. *Clin Ophthalmol* 2016;10:527-534
- 5 Ponomareva EN, Kazaryan AA. Idiopathic epiretinal membranes: visual function impairment, morphological and functional features of retinal involvement. *Vestn Oftalmol* 2016;132(3):90
- 6 Bu SC, Kuijer R, Li XR, et al. Idiopathic epiretinal membrane. *Retina* 2014;34(12):2317-2335
- 7 Frisina R, Tassarolo F, Marchesoni I, et al. Microscopic observation of proliferative membranes in fibrocontractive retinal disorders. *J Ophthalmol* 2019;2019:9647947
- 8 Coppe AM, Lapucci G, Ripandelli G, et al. Inner macular changes in fellow eye of patients with unilateral idiopathic epiretinal membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2021;62(10):29
- 9 Chang WC, Lin C, Lee CH, et al. Vitrectomy with or without internal limiting membrane peeling for idiopathic epiretinal membrane: a meta-analysis. *PLoS One* 2017;12(6):e0179105
- 10 Marie-Louise J, Philippakis E, Darugar A, et al. Occurrence rate of retinal detachment after small gauge vitrectomy for idiopathic epiretinal membrane. *Eye (Lond)* 2017;31(9):1259-1265
- 11 Altera A, Tosi GM, Regoli M, et al. The extracellular matrix complexity of idiopathic epiretinal membranes and the bilaminar arrangement of the associated internal limiting membrane in the posterior Retina. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2021;259(9):2559-2571
- 12 Chitchevlova LA, Ohlmann A, Boytsov D, et al. Nanoscopic approach to study the early stages of epithelial to mesenchymal transition (EMT) of human retinal pigment epithelial (RPE) cells *in vitro*. *Life (Basel)* 2020;10(8):128
- 13 Michels RG. A clinical and histopathologic study of epiretinal membranes affecting the macula and removed by vitreous surgery. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1982;80:580-656
- 14 Kritzenberger M, Junglas B, Framme C, et al. Different collagen

- types define two types of idiopathic epiretinal membranes. *Histopathology* 2011;58(6):953-965
- 15 Asato R, Yoshida S, Ogura A, et al. Comparison of gene expression profile of epiretinal membranes obtained from eyes with proliferative vitreoretinopathy to that of secondary epiretinal membranes. *PLoS One* 2013;8(1):e54191
- 16 Yoshimura T, Sonoda KH, Sugahara M, et al. Comprehensive analysis of inflammatory immune mediators in vitreoretinal diseases. *PLoS One* 2009;4(12):e8158
- 17 Hao Y, Baker D, Ten Dijke P. TGF- β -mediated epithelial-mesenchymal transition and cancer metastasis. *Int J Mol Sci* 2019;20(11):2767
- 18 Hu HH, Chen DQ, Wang YN, et al. New insights into TGF- β /Smad signaling in tissue fibrosis. *Chem Biol Interact* 2018;292:76-83
- 19 VanderArk A, Cao JC, Li XH. TGF- β receptors: in and beyond TGF- β signaling. *Cell Signal* 2018;52:112-120
- 20 Tzavlaki K, Moustakas A. TGF- β Signaling. *Biomolecules* 2020;10(3):487
- 21 Ma TT, Meng XM. TGF- β /smad and renal fibrosis. *Adv Exp Med Biol* 2019;1165:347-364
- 22 Chen T, You YN, Jiang H, et al. Epithelial-mesenchymal transition (EMT): a biological process in the development, stem cell differentiation, and tumorigenesis. *J Cell Physiol* 2017;232(12):3261-3272
- 23 Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014;15(3):178-196
- 24 Saxena K, Jolly MK, Balamurugan K. Hypoxia, partial EMT and collective migration: emerging culprits in metastasis. *Transl Oncol* 2020;13(11):100845
- 25 Peinado H, Olmeda D, Cano A. Snail, Zeb and bHLH factors in tumour progression: an alliance against the epithelial phenotype? *Nat Rev Cancer* 2007;7(6):415-428
- 26 Shu DY, Lovicu FJ. Myofibroblast transdifferentiation: the dark force in ocular wound healing and fibrosis. *Prog Retin Eye Res* 2017;60:44-65
- 27 Batlle E, Sancho E, Francé C, et al. The transcription factor snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumour cells. *Nat Cell Biol* 2000;2(2):84-89
- 28 Kanukollu VM, Agarwal P. Epiretinal Membrane. 2020 Aug 10. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing 2020
- 29 Wang L, Tian Y, Shang ZQ, et al. Metformin attenuates the epithelial-mesenchymal transition of lens epithelial cells through the AMPK/TGF- β /Smad2/3 signalling pathway. *Exp Eye Res* 2021;212:108763
- 30 Li H, Wang HW, Wang F, et al. Snail involves in the transforming growth factor β 1-mediated epithelial-mesenchymal transition of retinal pigment epithelial cells. *PLoS One* 2011;6(8):e23322
- 31 da Silva RA, Roda V, Matsuda M, et al. Cellular components of the idiopathic epiretinal membrane. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2022;260(5):1435-1444
- 32 Dong Y, Kanda A, Noda K, et al. Pathologic roles of receptor-associated prerenin system in idiopathic epiretinal membrane. *Sci Rep* 2017;7:44266
- 33 Bringmann A, Wiedemann P. Involvement of Müller glial cells in epiretinal membrane formation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009;247(7):865-883
- 34 Tian J, An XJ, Niu L. Myocardial fibrosis in congenital and pediatric heart disease. *Exp Ther Med* 2017;13(5):1660-1664
- 35 Kanda A, Noda K, Hirose I, et al. TGF- β -SNAIL axis induces Müller glial-mesenchymal transition in the pathogenesis of idiopathic epiretinal membrane. *Sci Rep* 2019;9(1):673
- 36 Liu Y, Zheng WK, Gao WS/et al. Function of TGF- β and p38 MAPK signaling pathway in osteoblast differentiation from rat adipose-derived stem cells. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013;17(12):1611-1619
- 37 Blenkinsop TA, Saini JS, Maminishkis A, et al. Human adult retinal pigment epithelial stem cell-derived RPE monolayers exhibit key physiological characteristics of native tissue. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(12):7085-7099
- 38 Jin Y, Chen HJ, Xu XJ, et al. Traumatic proliferative vitreoretinopathy: clinical and histopathological observations. *Retina* 2017;37(7):1236-1245
- 39 Salero E, Blenkinsop TA, Corneo B, et al. Adult human RPE can be activated into a multipotent stem cell that produces mesenchymal derivatives. *Cell Stem Cell* 2012;10(1):88-95
- 40 Matoba R, Morizane Y, Shiode Y, et al. Suppressive effect of AMP-activated protein kinase on the epithelial-mesenchymal transition in retinal pigment epithelial cells. *PLoS One* 2017;12(7):e0181481
- 41 Pastor JC, Rojas J, Pastor-Idoate S, et al. Proliferative vitreoretinopathy: a new concept of disease pathogenesis and practical consequences. *Prog Retin Eye Res* 2016;51:125-155
- 42 Shirasawa M, Sonoda S, Terasaki H, et al. TNF- α disrupts morphologic and functional barrier properties of polarized retinal pigment epithelium. *Exp Eye Res* 2013;110:59-69
- 43 Al-Shabrawey M, Hussein K, Wang F, et al. Bone morphogenetic protein-2 induces non-canonical inflammatory and oxidative pathways in human retinal endothelial cells. *Front Immunol* 2021;11:568795
- 44 Schiff L, Boles NC, Fernandes M, et al. P38 inhibition reverses TGF β 1 and TNF α -induced contraction in a model of proliferative vitreoretinopathy. *Commun Biol* 2019;2:162
- 45 Chen HT, Wang HF, An JB, et al. Plumbagin induces RPE cell cycle arrest and apoptosis via p38 MARK and PI3K/AKT/mTOR signaling pathways in PVR. *BMC Complement Altern Med* 2018;18(1):89
- 46 Regoli M, Tosi GM, Neri G, et al. The peculiar pattern of type IV collagen deposition in epiretinal membranes. *J Histochem Cytochem* 2020;68(2):149-162
- 47 Schumann RG, Gandorfer A, Ziada J, et al. Hyalocytes in idiopathic epiretinal membranes: a correlative light and electron microscopic study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2014;252(12):1887-1894
- 48 Friedman SL, Sheppard D, Duffield JS, et al. Therapy for fibrotic diseases: nearing the starting line. *Sci Transl Med* 2013;5(167):167sr1
- 49 Bu SC, Kuijper R, van der Worp RJ, et al. Immunohistochemical evaluation of idiopathic epiretinal membranes and *in vitro* studies on the effect of TGF β on Müller cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(11):6506-6514
- 50 Bochaton-Piallat ML, Kapetanios AD, Donati G, et al. TGF β 1, TGF β receptor II and ED-A fibronectin expression in myofibroblast of vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(8):2336-2342
- 51 Szeto SG, Narimatsu M, Lu ML, et al. YAP/TAZ are mechanoregulators of TGF- β -smad signaling and renal fibrogenesis. *J Am Soc Nephrol* 2016;27(10):3117-3128
- 52 Hu HH, Chen DQ, Wang YN, et al. New insights into TGF- β /Smad signaling in tissue fibrosis. *Chem Biol Interact* 2018;292:76-83
- 53 Lee J, An YS, Kim MR, et al. Heat shock protein 90 regulates subcellular localization of smads in Mv1Lu cells. *J Cell Biochem* 2016;117(1):230-238
- 54 Kavsak P, Rasmussen RK, Causing CG, et al. Smad7 binds to Smurf2 to form an E3 ubiquitin ligase that targets the TGF beta receptor for degradation. *Mol Cell* 2000;6(6):1365-1375

- 55 Sethi G, Sung B, Aggarwal BB. Therapeutic potential of VEGF/TL1A in autoimmunity and cancer. *Adv Exp Med Biol* 2009;647:207–215
- 56 Ould Amer Y, Hebert – Chatelain E. Mitochondrial cAMP – PKA signaling: what do we really know? *Biochim Biophys Acta Bioenerg* 2018; 1859(9):868–877
- 57 Hedrick E, Mohankumar K, Safe S. TGFβ–induced lung cancer cell migration is NR4A1 – dependent. *Mol Cancer Res* 2018; 16 (12) : 1991–2002
- 58 Kreisberg JJ, Radnik RA, Kreisberg SH. Phosphorylation of cAMP responsive element binding protein after treatment of mesangial cells with high glucose plus TGF beta or PMA. *Kidney Int* 1996;50(3):805–810
- 59 Du Y, Chen Q, Huang L, et al. VEGFR2 and VEGF–C suppresses the epithelial – mesenchymal transition via YAP in retinal pigment epithelial cells. *Curr Mol Med* 2018;18(5):273–286
- 60 Liu C, Ke P, Zhang JJ, et al. Protein kinase inhibitor peptide as a tool to specifically inhibit protein kinase A. *Front Physiol* 2020; 11:574030
- 61 Yang HB, Lee CJ, Zhang LZ, et al. Regulation of transforming growth factor beta–induced responses by protein kinase A in pancreatic acinar cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008;295(1):G170–G178
- 62 Lyu YL, Xu W, Zhang JP, et al. Protein kinase A inhibitor H89 attenuates experimental proliferative vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2020;61(2):1
- 63 Wu J, Hu D, Mu M, et al. Dependence of artesunate on long noncoding RNA – RP11 to inhibit epithelial – mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma. *J Cell Biochem* 2019;120(4):6026–6034
- 64 Oliner JD, Kinzler KW, Meltzer PS, et al. Amplification of a gene encoding a p53–associated protein in human sarcomas. *Nature* 1992;358 (6381) :80–83
- 65 Araki S, Eitel JA, Batuello CN, et al. TGF – beta1 – induced expression of human Mdm2 correlates with late – stage metastatic breast cancer. *J Clin Invest* 2010;120(1):290–302
- 66 Herok M, Wawrzynow B, Maluszek MJ, et al. Chemotherapy of HER2– and MDM2 – Enriched Breast Cancer Subtypes Induces Homologous Recombination DNA Repair and Chemoresistance. *Cancers (Basel)* 2021;13(18):4501
- 67 Pastor–Idoate S, Rodriguez–Hernandez I, Rojas J, et al. Genetics on PVRSG: the T309G MDM2 gene polymorphism is a novel risk factor for proliferative vitreoretinopathy. *PLoS One* 2013;8: e82283
- 68 Doudna JA, Charpentier E. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR – Cas9. *Science* 2014; 346 (6213) :1258096
- 69 Swiech L, Heidenreich M, Banerjee A, et al. In vivo interrogation of gene function in the mammalian brain using CRISPR – Cas9. *Nat Biotechnol* 2015;33(1):102–106
- 70 Fernandes LGV, Guaman LP, Vasconcellos SA, et al. Gene silencing based on RNA–guided catalytically inactive Cas9 (dCas9) : a new tool for genetic engineering in leptospira. *Sci Rep* 2019;9(1):1839
- 71 Peddle CF, Fry LE, McClements ME, et al. CRISPR Interference – Potential Application in Retinal Disease. *Int J Mol Sci* 2020;21(7):2329
- 72 Liu B, Song JY, Han HT, et al. Blockade of MDM2 with inactive Cas9 prevents epithelial to mesenchymal transition in retinal pigment epithelial cells. *Lab Invest* 2019;99(12):1874–1886
- 73 Thakore PI, D’Ippolito AM, Song LY, et al. Highly specific epigenome editing by CRISPR – Cas9 repressors for silencing of distal regulatory elements. *Nat Methods* 2015;12(12):1143–1149
- 74 Pennock S, Kim LA, Kazlauskas A. Vascular endothelial cell growth factor A acts via platelet – derived growth factor receptor α to promote viability of cells enduring hypoxia. *Mol Cell Biol* 2016; 36 (18) : 2314–2327
- 75 Wang AX, Zhang F, Xu H, et al. TWEAK/Fn14 promotes pro – inflammatory cytokine secretion in hepatic stellate cells via NF – κB/ STAT3 pathways. *Mol Immunol* 2017;87:67–75
- 76 Zhang XH, Feng ZH, Wang XY. The ROCK pathway inhibitor Y – 27632 mitigates hypoxia and oxidative stress – induced injury to retinal Müller cells. *Neural Regen Res* 2018;13(3):549–555
- 77 Liu B, Song JY, Han HT, et al. Blockade of MDM2 with inactive Cas9 prevents epithelial to mesenchymal transition in retinal pigment epithelial cells. *Lab Invest* 2019;99(12):1874–1886
- 78 Tan SM, Deliyanti D, Figgitt WA, et al. Ebselen by modulating oxidative stress improves hypoxia – induced macroglial Müller cell and vascular injury in the retina. *Exp Eye Res* 2015;136:1–8
- 79 Xiao W, Chen XY, Yan W, et al. Prevalence and risk factors of epiretinal membranes: a systematic review and meta – analysis of population – based studies. *BMJ Open* 2017;7(9):e014644
- 80 Chua PY, Sandinha MT, Steel DH. Idiopathic epiretinal membrane: progression and timing of surgery. *Eye* 2022;36(3):495–503
- 81 Vingopoulos F, Koulouri I, Miller JB, et al. Anatomical and Functional Recovery Kinetics After Epiretinal Membrane Removal. *Clin Ophthalmol* 2021;15:175–181
- 82 Shi X, Zhao H, Wei W. Analysis of post – operative endophthalmitis after pars plana vitrectomy: a 10 – year experience at a single center. *Chin Med J (Engl)* 2013;126(15):2890–2893
- 83 Mettu PS, Allingham MJ, Cousins SW. Incompleteresponse to Anti – VEGF therapy in neovascular AMD: exploring disease mechanisms and therapeutic opportunities. *Prog Retin Eye Res* 2021;82:100906
- 84 Yoshida S, Nakama T, Ishikawa K, et al. Periostin in vitreoretinal diseases. *Cell Mol Life Sci* 2017;74(23):4329–4337