

角膜基质修复的机制和调控因素研究进展

程思敏, 杨燕宁

引用:程思敏, 杨燕宁. 角膜基质修复的机制和调控因素研究进展. 国际眼科杂志 2023;23(7):1114-1119

基金项目:国家自然科学基金项目(No.81770899)

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:程思敏,武汉大学在读硕士研究生,研究方向:眼表及角膜疾病。

通讯作者:杨燕宁,毕业于德国埃森大学,博士,主任医师,博士研究生导师,研究方向:眼表及角膜疾病. ophyyn@163.com

收稿日期:2022-10-17 修回日期:2023-05-26

摘要

角膜基质是维持角膜透明度的重要结构。外伤、感染、手术等可造成角膜基质损伤,引起修复的过程包括基质细胞表型改变、细胞外基质重塑、免疫细胞迁移。当基质严重受损,肌成纤维细胞增多和细胞外基质沉积发生基质纤维化反应,形成角膜瘢痕,是全球致盲的主要原因。目前治疗方式主要是角膜移植手术,因角膜供体资源短缺、手术技巧要求和术后移植排斥风险等治疗效果不佳。近年来,各种分子、细胞和组织对角膜基质损伤修复的调控机制取得一定研究进展。本文就角膜基质损伤修复的机制和角膜损伤原因、角膜结构、分子因素对角膜基质损伤修复的调控进行综述,为探索促进角膜基质修复和再生的途径提供新思路,希望帮助临床预防角膜瘢痕的发生。

关键词:角膜基质;损伤修复;基质纤维化;调控因素

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2023.7.10

Advances in mechanism and regulatory factors of corneal stromal repair

Si-Min Cheng, Yan-Ning Yang

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No.81770899)

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

Correspondence to: Yan-Ning Yang. Eye Center, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China. ophyyn@163.com

Received:2022-10-17 Accepted:2023-05-26

Abstract

• Corneal stromal is an important structure to maintain corneal transparency. The corneal stroma can be injured by trauma, infection and surgery. Therefore, corneal stromal wound starts repair with phenotype changes in stromal cell, extracellular matrix remodeling and immune cells migration. The corneal scar was the leading cause of

blindness worldwide, which can be caused by corneal stromal fibrosis from increased myofibroblasts and deposited extracellular matrix after sever damage. At present, corneal transplantation is the main treatment for corneal scar, which has limited therapeutic effect because of corneal donor shortage, surgical requirements and the risk of postoperative immune rejection. Recently, great progress has been made in the study of control mechanism of corneal stromal wound healing with various molecules, cells and tissues. This paper reviews the repair mechanism of corneal stromal injury and the regulation mechanism of cause of corneal injury, corneal structure and molecule factors towards corneal stromal injury. It aims at providing new ideas for exploring the mechanism of corneal stromal repair and regeneration, which is supposed to help prevent corneal scar clinically.

• KEYWORDS: corneal stroma; wound healing; stromal fibrosis; regulatory factors

Citation: Cheng SM, Yang YN. Advances in mechanism and regulatory factors of corneal stromal repair. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023;23(7):1114-1119

0 引言

角膜是透明、无血管、神经密集的重要屈光结构,分为上皮层、前弹力层、基质层、后弹力层、内皮层,其中基质层对角膜透明度的维持具有重要作用^[1]。外伤、感染、手术、遗传和全身疾病等因素导致基质结构改变,轻度损伤后出现角膜混浊通过基质修复可减退,严重损伤后发生角膜基质纤维化,形成角膜瘢痕会降低角膜透明度,影响视力^[2-3]。角膜混浊或角膜瘢痕引起的视力障碍是全球致盲的主要原因,影响超过1 000万人^[4]。目前,临床上角膜移植手术是角膜瘢痕患者恢复角膜功能和视力的主要治疗手段,但其效果因角膜供体资源短缺、手术技巧要求和术后移植排斥风险存在限制^[5]。角膜基质占角膜厚度的90%,由基质细胞和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)组成^[6]。角膜基质细胞可分泌胶原蛋白、蛋白多糖和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)等,具有合成、组装ECM和防御的功能^[7]。ECM由蛋白聚糖和胶原纤维组成,具有维持角膜形状、硬度和透明度的功能。蛋白聚糖调节胶原纤维形成和排列,胶原纤维规则排列产生最小的光散射从而维持透明度^[8]。角膜基质细胞及ECM结构和功能正常是维持角膜透明度的必要条件。因此,深入研究角膜基质损伤修复的机制对于维持角膜透明度具有重要意义,本文就角膜基质损伤修复的机制及其调控因素进行综述。

1 角膜基质损伤修复的机制

角膜基质修复是一个复杂而有序的过程,涉及细胞凋亡、增殖、分化和迁移,细胞因子分泌和分子信号传导等相

相互作用。角膜基质受损后,生长因子激活角膜肌成纤维细胞 (corneal myofibroblast, CMF) 形成,ECM 与胶原蛋白相互作用促进基质重塑,免疫细胞迁移至损失部位驱动角膜基质修复^[1]。严重角膜损伤后,角膜上皮基底膜 (epithelial basement membrane, EBM) 不完全再生,肌成纤维细胞持续存在引起基质纤维化,角膜透明度下降^[9]。

1.1 角膜基质细胞表型转变 上皮-基质、基质-基质的相互作用促进基质细胞表型改变,对基质伤口愈合发挥关键作用。基质细胞凋亡是基质修复的始动环节。受损的角膜上皮细胞分泌白细胞介素 1 (interleukin 1, IL-1)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β) 等细胞因子进入角膜基质^[1]。损伤区 IL-1 水平升高,激活 Fas/Fas 配体系统引起基质细胞迅速凋亡,邻近基质细胞增殖、迁移并填补伤口^[10]。基质细胞活化标志基质进入修复阶段。TGF- β 、血小板衍生生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF) 刺激基质细胞活化形成成纤维细胞,并向受损区迁移、取代凋亡细胞和分泌 MMP 和胶原蛋白酶参与 ECM 合成和降解,细胞内角膜晶状体蛋白和硫酸角质素蛋白聚糖表达降低从而引起角膜混浊^[11]。角膜成纤维细胞分化为 CMF 是基质重塑的关键途径。TGF- β 刺激成纤维细胞分化形成 CMF,特异性表达平滑肌肌动蛋白 α (α -smooth muscle actin, α -SMA),收缩伤口、分泌 ECM、使周围基质具有黏附能力^[12]。CMF 大部分来源于成纤维细胞,部分由巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞等骨髓衍生细胞 (bone marrow derived cells, BMDC) 发育而来,IL-1 和 TNF- α 刺激 BMDC 从角膜缘血管进入角膜基质,TGF- β 诱导其转化为 CMF^[13]。随着角膜 EBM 再生,上皮细胞分泌的 TGF- β 进入基质减少,CMF 凋亡,基质完成修复和再生^[14]。当 CMF 过度发育,分泌大量无序的 ECM 沉积在基质中,基质纤维化形成角膜瘢痕^[15]。

1.2 ECM 重塑 ECM 重塑是恢复角膜透明度的重要过程。角膜基质细胞凋亡、炎症因子和纤维化因子分泌 (IL-1、TNF- α 、单核细胞趋化因子 1)、非基质成分的细胞暂时出现 (中性粒细胞、巨噬细胞、CMF) 和细胞活化产生 ECM 降解酶等共同参与 ECM 重塑^[16]。角膜基质损伤后,成纤维细胞分泌胶原蛋白酶,参与 ECM 降解;CMF 分泌纤维黏连蛋白、蛋白聚糖和透明质酸组成临时基质,参与 ECM 合成和组装^[1]。同时,蛋白聚糖调节胶原纤维生长并促进 ECM 组装^[17]。此外,ECM 合成和组装过程中可形成异常蛋白质,如 III、VIII、XIV 和 XVIII 型胶原蛋白、IV 型胶原蛋白角膜缘亚型、胚胎纤连蛋白亚型、血小板反应蛋白 1、肌腱蛋白 C 和原纤维蛋白 1 等,这些蛋白在正常成人角膜基质中很少或基本不存在^[16,18]。严重损伤后,由于 ECM 蛋白代谢和更新缓慢,异常蛋白长期沉积在基质中,形成角膜瘢痕、降低角膜透明度从而影响视力^[19]。

1.3 免疫细胞迁移 免疫细胞的迁移参与角膜基质修复。中性粒细胞是免疫反应发生的效应细胞,肥大细胞、巨噬细胞、 $\gamma\delta$ T 淋巴细胞、朗格汉斯细胞等免疫细胞发挥固有免疫的作用^[20]。上皮细胞释放细胞因子激活树突状细胞,吸引中性粒细胞和 $\gamma\delta$ T 淋巴细胞向伤口部位迁移^[21]。角膜损伤早期,角膜缘中的肥大细胞脱颗粒,分泌细胞因子、趋化因子和生长因子促进炎症,如趋化因子 2 引起中性粒细胞募集^[22-23]。角膜成纤维细胞分泌单核细胞趋化因子 1 刺激角膜缘或循环中免疫细胞迁向基质损伤区迁

移,清除凋亡的基质细胞^[24]。此外,巨噬细胞在角膜修复和再生发挥重要作用。基质修复早期,巨噬细胞激活分泌 IL-1 β 、TNF- α ,引起基质炎症。基质修复后期,中性粒细胞募集激活巨噬细胞迁移进入损伤区,分泌 MMP2 促进角膜修复^[25]。基质损伤刺激 BMDC 进入角膜基质转化成 CMF,当巨噬细胞的耗竭会引起 CMF 减少,影响基质伤口愈合^[13,26]。随着基质修复和伤口愈合,免疫炎症细胞逐渐减少,当免疫细胞持续浸润,角膜基质纤维化从而引起角膜混浊。

2 角膜损伤因素对角膜基质损伤修复的调控

2.1 创伤 外伤、手术导致的创口的形态和损伤程度影响基质修复。外伤产生平行与角膜表面的伤口一般形成细小瘢痕,引起 CMF 的修复和基底膜的再生,经过 1a 或更多的时间可完全修复。而垂直与角膜表面的伤口或裂开的伤口会引起胶原蛋白和蛋白聚糖沉积,形成的瘢痕可能存在多年^[18]。角膜屈光手术包括准分子激光屈光性角膜切削术 (photorefractive keratectomy, PRK)、准分子激光角膜原位磨镶术 (laser *in situ* keratomileusis, LASIK)、飞秒激光小切口角膜基质透镜取出术 (small incision lenticule extraction, SMILE) 等,术后可出现不同程度的角膜混浊,这与手术对角膜损伤的程度有关。PRK 去除中央角膜上皮,术后角膜混浊的消退与 EBM 再生和上皮愈合有关^[27]。Marino 等^[28]研究发现随着 PRK 切口处 EBM 完全再生,角膜术后出现的雾状混浊逐渐消退。当角膜上皮持续性缺损可引起 CMF 持续发育导致角膜混浊,因此临床上 PRK 术后 10d 内应积极促进上皮愈合,防止角膜瘢痕形成^[29]。LASIK 对角膜基质的损伤相对 PRK 较小,术后出现的圆周角膜混浊主要由于皮瓣边缘创口相邻的基质细胞凋亡,成纤维细胞形成、迁移到切口处并进一步转化成 CMF 而形成的^[30]。SMILE 保留了上皮和 EBM 以避免对基质和 EBM 的损伤,从而减轻基质炎症更少,降低术后出现角膜混浊风险^[27]。Luft 等^[31]研究显示与 LASIK 相比,SMILE 术后角膜细胞凋亡和免疫细胞浸润的情况减轻。因此,创伤、手术通过改变角膜结构的程度不同影响角膜基质修复和再生。

2.2 眼化学伤 眼化学伤引起角膜混浊和瘢痕是常见的致盲原因。化学物质一定程度上影响基质重塑,主要与角膜的损伤和引起的炎症相关。化学物质毒性大,可造成角膜各层组织不同程度急性损伤,并引起炎症细胞浸润,IL-1、TNF- α 等炎症因子大量释放^[1,32]。上皮和基底膜缺损、基质水肿、ECM 破坏等因素可导致 CMF 持续存在,引起基质纤维化。酸性物质导致细胞和基质蛋白凝固限制进一步渗透,而碱性物质可造成蛋白水解,穿透性强,对全层组织均可破坏^[33]。眼化学伤后的预后取决于化学物质的性质、接触时间和早期治疗,临床上应积极控制炎症、促进角膜伤口愈合以预防角膜瘢痕等并发症的发生。

2.3 感染 角膜感染是发达国家和发展中国家主要致盲原因。细菌、真菌或病毒等病原体的感染可造成角膜溃疡,产生不同程度的角膜瘢痕影响视力。角膜结构的恢复和对病原体的免疫反应是影响基质损伤修复的主要因素。微生物感染时先天性免疫系统激活产生炎症,引起中性粒细胞、巨噬细胞等迁移,产生 IL-1、IL-6 和 TNF- α 等炎症因子,对抗入侵的病原体发挥防御作用^[21]。当炎症持续存在,角膜伤口愈合延迟、免疫细胞浸润、大量炎症因子释放可刺激 CMF 不断合成 ECM,导致角膜基质纤维化^[34]。

因此,及时有效的抗感染、抗炎和促进伤口愈合的治疗是角膜感染的主要原则,有助于减轻角膜混浊程度。

3 角膜结构因素对角膜基质损伤修复的调控

3.1 上皮层 角膜上皮位于角膜最外层,由表层细胞、翼状细胞和基底细胞组成。角膜上皮可以分泌细胞因子参与基质再生和修复。受损后,上皮细胞分泌 IL-1、TGF- β 和 MMP 等进入基质^[1]。分泌的 TGF- β 促进 CMF 发育和成熟,是调节基质修复的重要细胞因子。IL-1 可以激活 Fas/Fas 配体细胞引起基质细胞凋亡、驱动 BMDC 向损伤区迁移并进一步分化形成 CMF、促进中性粒细胞等分泌 MMP 作用于损伤,从而影响基质修复^[10,35]。Kobayashi 等^[36]将角膜上皮细胞与成纤维细胞共培养,发现角膜上皮细胞促进角膜成纤维细胞中生长因子表达增加。此外,角膜上皮缺损是影响 EBM 再生和基质修复的重要原因^[37-38]。角膜上皮缺损会引起 EBM 与上皮间锚定异常,从而影响 EBM 功能^[35]。层黏连蛋白是 EBM 的主要成分,持续性上皮缺损会引起上皮细胞分泌层黏连蛋白不足,引起 EBM 不完全再生^[39]。于睿等^[40]使用角膜准分子激光切除兔角膜上皮,术后 4wk 出现明显的角膜雾状混浊,术后使用雷帕霉素可通过促进自噬抑制角膜混浊的形成。因此,角膜上皮完整性的恢复是角膜基质创口愈合的重要影响因素。

3.2 基底膜 基底膜是细胞与基质之间高度特化的 ECM,角膜中存在 EBM 和后弹力层 (descemet's basement membrane, DBM) 两种基底膜。基底膜的完整性是影响基质伤口愈合的重要因素。基底膜由层黏连蛋白、IV 型胶原蛋白、硫酸乙酰肝素蛋白多糖 (heparin sulfate proteoglycans, HSPG) 和巢蛋白组成,EBM 分隔上皮与基质,DBM 分隔基质与内皮。基底膜可以结合 TGF- β 、PDGF 等生长因子,调节其生物利用度^[41-42]。物理或化学因素引起角膜 EBM 或 DBM 受损,TGF- β 进入基质刺激 CMF 形成^[42]。Wilson 等研究发现小鼠角膜屈光切除术后 1mo EBM 开始再生,角膜混浊减轻,术后 4mo EBM 完全再生,角膜透明度恢复^[28]。DBM 再生速度较 EBM 慢一些,DBM 内皮切除术后 6mo 才完全再生,中央角膜恢复透明^[43]。EBM 完全再生限制 TGF- β 进入基质,CMF 凋亡,正常基质细胞填补损伤区,角膜基质愈合。当 EBM 或 DBM 缺陷或不完全再生,CMF 持续存在引起角膜基质纤维化^[44]。基底膜蛋白多糖是 EBM 中主要的 HSPG。de Oliveira 等^[45]研究发现严重损伤后再生的 EBM 中缺乏基底膜多糖,CMF 数量增多,角膜混浊消退的时间延长。因此,促进 EBM 和 DBM 再生是恢复角膜基质透明度的重要途径。

3.3 基质层 角膜基质层有基质细胞和 ECM 组成。各种损伤刺激角膜基质中 TGF- β 、PDGF 上调,促进角膜基质细胞或 BMDC 转化形成 CMF^[13]。CMF 是影响角膜基质修复的关键因素。CMF 是特殊的成纤维细胞,具有平滑肌的结构和特征,细胞内存在应力纤维,可对外界刺激产生收缩反应^[46]。CMF 具有收缩性,细胞内 α -SMA 表达增加,收缩伤口,促进基质愈合。同时,CMF 可分泌 ECM 成分。当 CMF 持续存在,大量、无序的 ECM 过度沉积,导致角膜透明度下降^[47-48]。既往研究显示角膜屈光手术术后应用 0.02% 丝裂霉素 C,抑制角膜基质细胞、成纤维细胞和 BMDC 增殖,从而减少 CMF 的生成,有助于治疗角膜混浊^[49-50]。氯沙坦是一种抗纤维化药物,最近研究发现碱

烧伤小鼠角膜局部应用氯沙坦,浅基质中 TGF- β 和 IV 型胶原蛋白减少,CMF 数量减少^[51]。因此,抑制基质层中 CMF 数量的研究有助于发现更多抑制角膜基质纤维化,从而预防角膜瘢痕的调节剂。

基质层中还存在少量角膜基质干细胞 (corneal stromal stem cells, CSSCs),是促进基质修复和再生的潜在治疗工具。CSSCs 是位于角膜缘处,靠近 EBM 的基质中具有分化为基质细胞潜能的间充质干细胞,具有干细胞分化潜能、调节角膜基质炎症和纤维化的功能^[52]。Hertsenberg 等^[53]对小鼠混浊的角膜注射 CSSCs,发现 CSSCs 抑制中性粒细胞向基质损伤区迁移,纤维化相关蛋白 α -SMA、III 型胶原蛋白和肌腱蛋白 C 减少。Jhanji 等^[54]研究显示与单一注射 CSSCs 治疗相比,CSSCs 和角膜基质细胞联合治疗更有效促进基质再生,减轻角膜瘢痕。CSSCs 具有免疫赦免的作用,Bray 等^[55]发现人和兔的 CSSCs 共培养可通过抑制 T 细胞增殖抑制免疫反应。因此,CSSCs 可通过向基质细胞分化和抑制炎症反应来促进角膜基质修复,有希望替代传统角膜移植成为治疗角膜瘢痕、预防移植术后免疫排斥的细胞疗法。

3.4 内皮层 角膜内皮由一层内皮细胞组成,位于角膜的最内层,通过钠钾泵将基质中的水分移到内皮从而调节基质的透明度。内皮细胞数量或功能异常可引起角膜基质水肿增厚从而降低角膜透明度。此外,TGF- β 促进内皮细胞发生内皮间质转化引起内皮纤维化从而降低角膜透明度^[56]。当内皮细胞受到损伤后,内皮细胞 Fas 配体激活,扩散到基质层中与基质细胞膜表面 Fas 结合引起基质细胞凋亡。损伤的内皮细胞可释放 IL-1 进入基质。Medeiros 等^[57]研究显示内皮细胞机械损伤可促进基质层中基质细胞凋亡。既往研究显示内皮细胞可调节基质的透明度和细胞凋亡,但是否调控 CMF 的发生和发展与炎症反应尚不清楚,有待研究者进一步研究。

4 分子因素对角膜基质损伤修复的调控

4.1 小分子亮氨酸重复蛋白聚糖 小分子亮氨酸重复蛋白聚糖 (small leucine rich proteoglycans, SLRPs) 是角膜基质中核心蛋白由富含亮氨酸重复序列组成的蛋白聚糖,分为 I 型 SLRPs (decorin, biglycan)、II 型 SLRPs (lumican, keratan 和 fibromodulin)、III 型 SLRPs (osteolectin)^[58]。SLRPs 调节胶原纤维的直径和间距,从而调控胶原纤维形成、组装和排列,参与 ECM 组装^[59]。此外,损伤角膜中 SLRPs 结合生长因子、趋化因子、细胞因子,从而调节基质重塑、炎症和免疫反应,参与角膜基质修复^[60]。既往研究表明 decorin 基因过表达可调节胶原纤维形成、抑制 TGF- β 介导的 CMF 形成,促进角膜基质愈合和减轻纤维化^[61]。Hayashi 等^[62]研究发现 lumican 基因敲除小鼠角膜基质损伤区中性粒细胞浸润减少,胶原纤维结构紊乱,角膜透明度下降。近年来,Chouhan 等^[63]开发了一种含有 decorin 的凝胶滴眼液,可持续释放 decorin 发挥抗角膜瘢痕作用。SLRPs 通过影响 ECM 的形成调节角膜基质修复,是抑制角膜基质纤维化的潜在分子靶点。

4.2 TGF- β TGF- β 是一种调节角膜基质再生和纤维化过程的细胞因子,通常存在健康的角膜上皮和泪液中,可分为 TGF- β 1、2、3 三种同工型。TGF- β 1、2 是调节角膜基质修复和纤维化的主要介质^[64],TGF- β 1、2 水平升高诱导 CMF 发育和成熟,促进基质伤口收缩,过度表达时可引起角膜基质纤维化的发生和发展^[65]。同时,TGF- β 可促进

角膜成纤维细胞产生IV型胶原纤维,而生成胶原纤维可竞争性结合TGF- β 受体,负反馈调节TGF- β 水平^[66]。TGF β -3主要发挥抗纤维化作用,Weng等^[67]发现CSSCs中TGF- β 3水平上调,将CSSCs移植到小鼠损伤的角膜上可抑制角膜瘢痕形成。此外,基质内TGF- β 可通过激活TGF- β /Smad信号通路调节细胞增殖、迁移和分化。Gupta等^[68]通过基因治疗降低PRK术后兔子角膜Smad7水平,抑制TGF- β /Smad7信号通路,角膜纤维化水平显著减轻。TGF- β 影响CMF形成和角膜成纤维细胞,抑制其表达及其信号传导可作为治疗角膜瘢痕和促进角膜基质再生的有效策略。

4.3 离子通道 角膜受到外界刺激可引起特定离子通道激活,调节TGF- β 的信号通路及细胞内信号传导影响角膜基质修复。瞬时受体电位通道(transient receptor potential channel, TRP)是一类对温度、机械、化学等刺激敏感的膜离子通道,其亚型TRPV1和TRPV4可调节角膜基质炎症和纤维化^[69]。Okada等^[70]研究发现TRPV1基因敲除小鼠碱烧伤角膜通过下调IL-6、单核细胞趋化因子1和TGF- β 1,抑制中性粒细胞、巨噬细胞的浸润和角膜基质纤维化。TRPV1参与TGF- β 诱导基质纤维化,既往研究认为TGF- β 刺激活性氧生成,促进成纤维细胞内TRPV1的表达,TRPV1进一步通过增加细胞Ca²⁺内流、激活p38/MAPK/Smad信号通路,促进CMF形成^[71]。此外,TRPV4的激活也参与角膜基质纤维化,TRPV4基因敲除和使用TRPV4拮抗剂可减少小鼠碱烧伤角膜基质内中性粒细胞、巨噬细胞和CMF的数量^[72]。KCa3.1是Ca²⁺激活离子通道,Fuchs等^[73]使用一种含有KCa3.1拮抗剂TRAM-34和抗坏血酸的新型滴眼液,发现可抑制碱烧伤角膜中TGF- β 诱导的基质纤维化反应。离子通道的激活可通过细胞内信号传导调节基质纤维化和炎症反应,TRPV1、TRPV4和KCa3.1离子通道是治疗角膜瘢痕的潜在药物靶点。

4.4 细胞外囊泡 细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)是由细胞分泌的囊泡,细胞膜内陷选择性包含蛋白质、脂质、核酸和转录因子等多种生物分子形成EVs,通过细胞间通讯调控信号通路和基因表达^[74]。角膜上皮和基质通过EVs相互作用,调节基质修复和纤维化过程^[75-76]。McKay等^[77]从角膜上皮细胞分离出EVs与角膜成纤维细胞共培养,发现 α -SMA表达增加,EVs中纤连蛋白、血小板反应蛋白和层黏连蛋白促进CMF形成。CSSCs促进角膜基质再生,其修复作用可能与CSSCs分泌EVs传递miRNA相关。既往研究从CSSCs中提取出EVs应用于小鼠碱烧伤角膜,中性粒细胞浸润减少,III型胶原蛋白和 α -SMA表达下调,体内实验表明EVs中miRNA 29a和miRNA 381抑制脂多糖诱导巨噬细胞的炎症和TGF- β 诱导的纤维化反应^[78-79]。姚克团队开发了一种含有间充质干细胞分泌EVs的水凝胶,EVs内miRNA 432-5p抑制胶原蛋白表达,减少ECM沉积,促进基质修复^[80]。EVs具有脂质双层结构,直径小、易穿过血脑屏障,可作为药物运输载体或联合干细胞治疗促进角膜修复,在角膜再生医学中具有研究前景。

5 小结

角膜基质是影响角膜透明度的重要结构,受到各种疾病和创伤损伤后形成的角膜瘢痕是全球范围内主要致盲原因。角膜基质修复的病理生理过程包括基质细胞表型

转变、ECM重塑和免疫细胞迁移,其过程可受到角膜损伤因素、角膜结构因素和分子因素的调控。外伤、手术、眼化学伤和感染等损伤因素主要改变角膜的结构和引起炎症影响角膜基质再生。角膜上皮细胞、基底膜、基质细胞、基质干细胞和内皮细胞等角膜结构参与角膜基质修复的发生和发展过程。SLRPs、TGF- β 、离子通道和EVs等分子因素通过信号传导和细胞通讯调控角膜基质伤口愈合。研究角膜基质修复的机制及其调控因素对促进角膜基质再生和治疗角膜瘢痕具有重要意义。临床上可根据角膜损伤因素不同,针对性促进角膜伤口愈合和抑制炎症反应治疗疾病,从而预防晚期角膜瘢痕的发生。探究角膜结构和分子因素对角膜基质的调控作用可为促进角膜基质再生和抑制角膜基质纤维化提供新途径,帮助发现潜在治疗药物。角膜基质修复是一个复杂的级联反应,是否存在其他潜在的促进基质修复和抗纤维化的细胞和分子靶点,以及如何基于调控机制开发新型药物应用于临床有待进一步研究。

参考文献

- 1 Mohan RR, Kempuraj D, D'Souza S, et al. Corneal stromal repair and regeneration. *Prog Retin Eye Res* 2022;91:101090
- 2 Barrientes B, Nicholas SE, Whelchel A, et al. Corneal injury: clinical and molecular aspects. *Exp Eye Res* 2019;186:107709
- 3 Wilson SE, Sampaio LP, Shiju TM, et al. Corneal opacity: cell biological determinants of the transition from transparency to transient haze to scarring fibrosis, and resolution, after injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2022;63(1):22
- 4 Flaxman SR, Bourne RRA, Resnikoff S, et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990-2020; a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health* 2017;5(12):e1221-e1234
- 5 Mathews PM, Lindsley K, Aldave AJ, et al. Etiology of global corneal blindness and current practices of corneal transplantation: a focused review. *Cornea* 2018;37(9):1198-1203
- 6 Espana EM, Birk DE. Composition, structure and function of the corneal stroma. *Exp Eye Res* 2020;198:108137
- 7 Yam GHF, Riau AK, Funderburgh ML, et al. Keratocyte biology. *Exp Eye Res* 2020;196:108062
- 8 Chen SJ, Mienaltowski MJ, Birk DE. Regulation of corneal stroma extracellular matrix assembly. *Exp Eye Res* 2015;133:69-80
- 9 Medeiros CS, Marino GK, Santhiago MR, et al. The corneal basement membranes and stromal fibrosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59(10):4044-4053
- 10 Wilson SE. Interleukin - 1 and transforming growth factor beta: commonly opposing, but sometimes supporting, master regulators of the corneal wound healing response to injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2021;62(4):8
- 11 Wilson SE. Corneal wound healing. *Exp Eye Res* 2020;197:108089
- 12 West-Mays JA, Dwivedi DJ. The keratocyte: corneal stromal cell with variable repair phenotypes. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;38(10):1625-1631
- 13 Wilson SE, Sampaio LP, Shiju TM, et al. Fibroblastic and bone marrow-derived cellularity in the corneal stroma. *Exp Eye Res* 2021;202:108303
- 14 吴金玲. 角膜基底膜调控基质纤维化研究进展. *中华实验眼科杂志* 2020;38(10):895-899
- 15 Wilson SE. Corneal myofibroblasts and fibrosis. *Exp Eye Res* 2020;201:108272
- 16 Ljubimov AV, Saghizadeh M. Progress in corneal wound healing. *Prog Retin Eye Res* 2015;49:17-45
- 17 Mutoji KN, Sun MX, Elliott G, et al. Extracellular matrix deposition

and remodeling after corneal alkali burn in mice. *Int J Mol Sci* 2021;22(11):5708

18 袁检宝, 李霞. 角膜损伤修复与基质重塑的研究进展. *中华实验眼科杂志* 2018;36(4):317-320

19 Torricelli AAM, Wilson SE. Cellular and extracellular matrix modulation of corneal stromal opacity. *Exp Eye Res* 2014;129:151-160

20 Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2013;13(3):159-175

21 Stepp MA, Menko AS. Immune responses to injury and their links to eye disease. *Transl Res* 2021;236:52-71

22 Sahu SK, Mittal SK, Foulsham W, et al. Mast cells initiate the recruitment of neutrophils following ocular surface injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59(5):1732-1740

23 Liu J, Li ZJ. Resident innate immune cells in the cornea. *Front Immunol* 2021;12:620284

24 Wilson SE, Mohan RR, Mohan RR, et al. The corneal wound healing response: cytokine-mediated interaction of the epithelium, stroma, and inflammatory cells. *Prog Retin Eye Res* 2001;20(5):625-637

25 Lamy R, Wolf M, Bispo C, et al. Characterization of recruited mononuclear phagocytes following corneal chemical injury. *Int J Mol Sci* 2022;23(5):2574

26 Li SX, Li B, Jiang HR, et al. Macrophage depletion impairs corneal wound healing after autologous transplantation in mice. *PLoS One* 2013;8(4):e61799

27 Wilson SE. Biology of keratorefractive surgery-PRK, PTK, LASIK, SMILE, inlays and other refractive procedures. *Exp Eye Res* 2020;198:108136

28 Marino GK, Santhiago MR, Santhanam A, et al. Regeneration of defective epithelial basement membrane and restoration of corneal transparency after photorefractive keratectomy. *J Refract Surg* 2017;33(5):337-346

29 Wilson SE, Medeiros CS, Santhiago MR. Pathophysiology of corneal scarring in persistent epithelial defects after PRK and other corneal injuries. *J Refract Surg* 2018;34(1):59-64

30 Marino GK, Santhiago MR, Torricelli AA, et al. Corneal molecular and cellular biology for the refractive surgeon: the critical role of the epithelial basement membrane. *J Refract Surg* 2016;32(2):118-125

31 Luft N, Schumann RG, Dirisamer M, et al. Wound healing, inflammation, and corneal ultrastructure after SMILE and femtosecond laser-assisted LASIK: a human *ex vivo* study. *J Refract Surg* 2018;34(6):393-399

32 Dua HS, Ting DSJ, AlSaadi A, et al. Chemical eye injury: pathophysiology, assessment and management. *Eye* 2020;34(11):2001-2019

33 McNutt PM, Mohan RR. The need for improved therapeutic approaches to protect the cornea against chemotoxic injuries. *Trans Vis Sci Tech* 2020;9(12):2

34 Fortingo N, Melnyk S, Sutton SH, et al. Innate immune system activation, inflammation and corneal wound healing. *Int J Mol Sci* 2022;23(23):14933

35 罗煜青, 李霞. 角膜上皮和基质对角膜上皮基底膜再生的影响. *中华实验眼科杂志* 2022;40(2):173-177

36 Kobayashi T, Shiraishi A, Hara Y, et al. Stromal-epithelial interaction study: the effect of corneal epithelial cells on growth factor expression in stromal cells using organotypic culture model. *Exp Eye Res* 2015;135:109-117

37 梁荣斌, 吴世楠, 邵毅. 持续性角膜上皮缺损的治疗进展. *国际眼科杂志* 2020;20(10):1726-1729

38 Lavker RM, Kaplan N, Wang JY, et al. Corneal epithelial biology: lessons stemming from old to new. *Exp Eye Res* 2020;198:108094

39 曲景灏, 孙旭光. 角膜上皮层基底细胞及其基底膜的研究进展. *中华眼科杂志* 2016;52(9):703-707

40 于睿, 高洪莲, 李欣蒙, 等. 雷帕霉素对兔眼准分子激光角膜切削术后 haze 的影响. *国际眼科杂志* 2022;22(3):366-372

41 Wilson SE. Defective perlecan-associated basement membrane regeneration and altered modulation of transforming growth factor beta in corneal fibrosis. *Cell Mol Life Sci* 2022;79(3):144

42 Wilson SE. Coordinated Modulation of Corneal Scarring by the Epithelial Basement Membrane and Descemet's Basement Membrane. *J Refract Surg* 2019;35(8):506-516

43 Sampaio LP, Shiju TM, Hilgert GSL, et al. Descemet's membrane injury and regeneration, and posterior corneal fibrosis, in rabbits. *Exp Eye Res* 2021;213:108803

44 Wilson SE. Fibrosis is a basement membrane-related disease in the cornea: injury and defective regeneration of basement membranes may underlie fibrosis in other organs. *Cells* 2022;11(2):309

45 de Oliveira RC, Sampaio LP, Shiju TM, et al. Epithelial basement membrane regeneration after PRK-induced epithelial-stromal injury in rabbits: fibrotic versus non-fibrotic corneal healing. *J Refract Surg* 2022;38(1):50-60

46 Wilson SE. Corneal myofibroblast biology and pathobiology: generation, persistence, and transparency. *Exp Eye Res* 2012;99:78-88

47 de Oliveira RC, Wilson SE. Fibrocytes, wound healing, and corneal fibrosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2020;61(2):28

48 Rocher M, Robert PY, Desmoulière A. The myofibroblast, biological activities and roles in eye repair and fibrosis. A focus on healing mechanisms in avascular cornea. *Eye* 2020;34(2):232-240

49 de Oliveira RC, Wilson SE. Biological effects of mitomycin C on late corneal haze stromal fibrosis following PRK. *Exp Eye Res* 2020;200:108218

50 Chang YM, Liang CM, Weng TH, et al. Mitomycin C for the prevention of corneal haze in photorefractive keratectomy: a meta-analysis and trial sequential analysis. *Acta Ophthalmol* 2021;99(6):652-662

51 Sampaio LP, Hilgert GSL, Shiju TM, et al. Topical losartan inhibits corneal scarring fibrosis and collagen type IV deposition after Descemet's membrane-endothelial excision in rabbits. *Exp Eye Res* 2022;216:108940

52 Basu SY, Hertsensberg AJ, Funderburgh ML, et al. Human limbal biopsy-derived stromal stem cells prevent corneal scarring. *Sci Transl Med* 2014;6(266):266ra172

53 Hertsensberg AJ, Shojaati G, Funderburgh ML, et al. Corneal stromal stem cells reduce corneal scarring by mediating neutrophil infiltration after wounding. *PLoS One* 2017;12(3):e0171712

54 Jhanji V, Santra M, Riau AK, et al. Combined therapy using human corneal stromal stem cells and quiescent keratocytes to prevent corneal scarring after injury. *Int J Mol Sci* 2022;23(13):6980

55 Bray LJ, Heazlewood CF, Munster DJ, et al. Immunosuppressive properties of mesenchymal stromal cell cultures derived from the limbus of human and rabbit corneas. *Cytotherapy* 2014;16(1):64-73

56 Vercammen H, Miron A, Oellerich S, et al. Corneal endothelial wound healing: understanding the regenerative capacity of the innermost layer of the cornea. *Transl Res* 2022;248:111-127

57 Medeiros CS, Lassance L, Saikia P, et al. Posterior stromal cell apoptosis triggered by mechanical endothelial injury and basement membrane component nidogen-1 production in the cornea. *Exp Eye Res* 2018;172:30-35

58 韩涵, 何宇茜, 张妍. 小分子亮氨酸重复蛋白聚糖家族在维持角膜透明性中的作用. *中华实验眼科杂志* 2022;40(3):266-270

59 Chen SJ, Young MF, Chakravarti S, et al. Interclass small leucine-rich repeat proteoglycan interactions regulate collagen fibrillogenesis and corneal stromal assembly. *Matrix Biol* 2014;35:103-111

- 60 Frikeche J, Maiti G, Chakravarti S. Small leucine - rich repeat proteoglycans in corneal inflammation and wound healing. *Exp Eye Res* 2016;151:142-149
- 61 Gupta S, Buyank F, Sinha NR, *et al.* Decorin regulates collagen fibrillogenesis during corneal wound healing in mouse *in vivo*. *Exp Eye Res* 2022;216:108933
- 62 Hayashi Y, Call MK, Chikama T, *et al.* Lumican is required for neutrophil extravasation following corneal injury and wound healing. *J Cell Sci* 2010;123(Pt 17):2987-2995
- 63 Chouhan G, Moakes RJA, Esmaeili M, *et al.* A self-healing hydrogel eye drop for the sustained delivery of decorin to prevent corneal scarring. *Biomaterials* 2019;210:41-50
- 64 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
- 65 de Oliveira RC, Tye G, Sampaio LP, *et al.* TGFβ1 and TGFβ2 proteins in corneas with and without stromal fibrosis: delayed regeneration of apical epithelial growth factor barrier and the epithelial basement membrane in corneas with stromal fibrosis. *Exp Eye Res* 2021;202:108325
- 66 Wilson SE, Shiju TM, Sampaio LP, *et al.* Corneal fibroblast collagen type IV negative feedback modulation of TGF beta: a fibrosis modulating system likely active in other organs. *Matrix Biol* 2022;109:162-172
- 67 Weng L, Funderburgh JL, Khandaker I, *et al.* The anti - scarring effect of corneal stromal stem cell therapy is mediated by transforming growth factor β3. *Eye Vis(Lond)* 2020;7(1):52
- 68 Gupta S, Rodier JT, Sharma A, *et al.* Targeted AAV5-Smad7 gene therapy inhibits corneal scarring *in vivo*. *PLoS One* 2017; 12(3):e0172928
- 69 Okada Y, Sumioka T, Reinach PS, *et al.* Roles of epithelial and mesenchymal TRP channels in mediating inflammatory fibrosis. *Front Immunol* 2021;12:731674
- 70 Okada Y, Reinach PS, Shirai K, *et al.* TRPV1 involvement in inflammatory tissue fibrosis in mice. *Am J Pathol* 2011; 178(6):2654-2664
- 71 Yang YQ, Wang Z, Yang H, *et al.* TRPV1 potentiates TGFβ - induction of corneal myofibroblast development through an oxidative stress-mediated p38-SMAD2 signaling loop. *PLoS One* 2013; 8(10):e77300
- 72 Okada Y, Shirai K, Miyajima M, *et al.* Loss of TRPV4 function suppresses inflammatory fibrosis induced by alkali - burning mouse corneas. *PLoS One* 2016;11(12):e0167200
- 73 Fuchs AA, Balne PK, Giuliano EA, *et al.* Evaluation of a novel combination of TRAM-34 and ascorbic acid for the treatment of corneal fibrosis *in vivo*. *PLoS One* 2022;17(1):e0262046
- 74 McKay TB, Hutcheon AEK, Zieske JD. Biology of corneal fibrosis: soluble mediators, integrins, and extracellular vesicles. *Eye* 2020; 34(2):271-278
- 75 Deng SX, Dos Santos A, Gee S. Therapeutic potential of extracellular vesicles for the treatment of corneal injuries and scars. *Trans Vis Sci Tech* 2020;9(12):1
- 76 Yeung V, Boychev N, Farhat W, *et al.* Extracellular vesicles in corneal fibrosis/scarring. *Int J Mol Sci* 2022;23(11):5921
- 77 McKay TB, Hutcheon AEK, Zieske JD, *et al.* Extracellular vesicles secreted by corneal epithelial cells promote myofibroblast differentiation. *Cells* 2020;9(5):1080
- 78 Shojaati G, Khandaker I, Funderburgh ML, *et al.* Mesenchymal stem cells reduce corneal fibrosis and inflammation via extracellular vesicle-mediated delivery of miRNA. *Stem Cells Transl Med* 2019; 8(11):1192-1201
- 79 Yam GH, Yang TB, Geary ML, *et al.* Human corneal stromal stem cells express anti-fibrotic microRNA - 29a and 381 - 5p - A robust cell selection tool for stem cell therapy of corneal scarring. *J Adv Res* 2023; 45:141-155
- 80 Tang QM, Lu B, He J, *et al.* Exosomes - loaded thermosensitive hydrogels for corneal epithelium and stroma regeneration. *Biomaterials* 2022;280:121320