

青光眼和近视眼的分子机制及干预研究

葛 坚

(中山大学中山眼科中心//眼科学国家重点实验室, 广东 广州 510060)

作者简介: 中山大学中山眼科中心主任暨眼科学国家重点实验室主任、眼科医院院长, 国家 973 计划项目首席科学家。兼任中华眼科学会副主任委员, 香港理工大学荣誉教授, 广东省眼科学会主任委员, 中华眼科学会青光眼学组组长, 中国医师协会眼科分会副主任委员, 世界青光眼协会理事, 《中华眼科杂志》副总编, 《Journal of Glaucoma》、《中国实用眼科杂志》、《中国眼耳鼻喉杂志》、《眼科研究》、《中国视光学杂志》编委。

从事眼科临床、研究以及教学工作 25 年, 围绕青光防治、干细胞与神经保护、近视眼防治等领域中亟待解决的难点问题进行了深入的研究, 取得了一系列重要的研究成果, 显著加深了对相关疾病的认识, 并为相关疾病提供了有效防治思路。其所领导的团队先后获得了 973 计划、863 计划、卫生部临床重点学科项目、教育部科学技术研究重大项目、国家自然科学基金等多项基金的资助; 研究共发表论文 250 余篇, 其中包括 SCI 收录论文 50 余篇; 已培养出站博士后 8 名、毕业博士研究生 30 名, 其中 1 人为全国百篇优秀博士论文获得者, 1 人获得国家教委霍英东青年教师基金和入选教育部新世纪优秀人才基金, 9 人次获得国家自然科学基金, 获得教育部科技进步一等奖、广东省科技进步一等奖等成果奖共 12 次。



葛 坚

摘 要: 本文扼要报道青光眼和近视的病因、发病机理及干预研究的主要结果。通过对 GZ.1、PN.1 青光眼家系及散发性青光眼的研究, 发现 Myocilin 基因的 Pro370Leu 突变, 导致蛋白质错误折叠, 内质网应激。我们提出了青光眼属于“蛋白质构象病”、“线粒体病”的学说, 并研究了靶向 siRNA 术后抗疤痕、视神经保护药物、干细胞替代治疗及药物缓释系统在青光眼治疗中的应用, 为实现青光眼“分期靶点干预”奠定了基础。在近视的研究中, 从灵长类恒河猴自然动物模型的构建着手, 着重研究光学离焦与近距离负荷对青少年近视发生发展的影响, 并且深入探讨了近视的视网膜与中枢神经机制, 同时提出了光学干预近视的新策略。这些围绕青光眼和近视基本问题进行的系列研究, 将可能为其诊治提供新的模式。

关键词: 青光眼; 近视; 突变; 干细胞; 离焦

中图分类号: R77 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-3554(2010)02-0154-07

Molecular Mechanisms and Interference Strategies of Glaucoma and Myopia

GE Jian

(Zhongshan Ophthalmic Center//State Key Laboratory of Ophthalmology, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China)

Abstract: The paper briefly reports the preliminary research results, focusing on the pathogenesis, mechanisms and interference strategies of glaucoma and myopia. (1) The myocilin gene has been found a mutation in Pro370Leu in GZ.1 and PN.1 glaucoma pedigrees, and the theory of protein misfolding and mitochondria dysfunction in glaucoma was then firstly elucidated. We further explored the modulation of wound healing by siRNA, neuro-protection by targeting drugs with drug deliver

收稿日期: 2010-02-01

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划, 2007CB512207); 863 计划; 教育部科学研究重大项目; 国家自然科学基金(30672275, 30171001, 39770789, 30973266); 等

system and stem cells/iPS in glaucoma therapy, which offer a revolutionary strategy for glaucoma: differential treatment for specific stages. (2) Natural myopia model was successfully established in rhesus monkeys and retinal mechanisms and central nervous system were both found to play an important role during myopia development, and a variety of new optical interventions were therefore employed on human beings by series of randomized, controlled, double-masked prospective clinical trials. All these preliminary results offer a new insight into the new model for the diagnosis and treatment of glaucoma and myopia.

Key words: glaucoma; myopia; mutation; stem cells; defocus

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2010, 31(2): 154-160; 165]

世界卫生组织已将心血管、肿瘤、眼病列为严重影响人类生活质量的三大疾病,其中,青光眼和近视眼是严重危害人类视觉功能的两大眼病^[1-8]。青光眼是世界第二位致盲性眼病,预计到 2020 年,全世界将有 7 960 万人患有青光眼,其中 1 120 万人最终可能发展为双眼盲。目前,青光眼的临床治疗主要采用药物或手术降压治疗。然而,由于青光眼病因未明,确切发病机制尚不清楚,术后瘢痕形成及视神经难以再生等原因使得单纯降压治疗难以取得令人满意的效果。针对这些问题,我们从不同角度进行了研究,以期能针对患者的不同病因、不同疾病阶段,实现青光眼的“分期靶点干预”。

近视眼作为一种社会群发性疾病,不仅给人类工作学习生活带来诸多不便,且较之于正常眼其合并视网膜玻璃体病变、青光眼和白内障等眼部疾病的发生率更高,严重损害患者的视功能,是广大青少年(儿童)视力低下的最主要原因。给他们带来巨大的身心损伤同时还为个人、国家带来沉重的经济负担;因此其发病机制及防治研究是眼科学以及视光学界亟待解决的问题。我课题组也围绕青少年近视眼的发病机制、干预手段等进行了一系列的研究,现概述如下:

1 青光眼分子发病机制和干预治疗系列研究

1.1 家族性青光眼致病基因及发病机理研究

应用 SNPs 芯片技术和 STR 连锁分析的方法,结合生物信息学和序列分析,在国内先后对广州地区一个五代共 58 人,其中 21 人发病的 GZ.1 青光眼家系和潮州地区一个三代共 21 人,其中 8 人发病的 PN.1 青光眼家系,进行了致病基因筛选、定位和鉴定,最终在这两个家系中发现了相同的致病相关基因-Myocilin,在其第 3 外显子第 1109 位核苷酸均呈现 C→T 杂合突变,导致氨基酸发生 Pro370Leu 突变^[9-11]。这是国内首次报道家族

性青光眼的分子病因,和首次利用基因检测对青光眼家族成员进行筛查。

为阐明家族性青光眼的分子发病机制,本课题组利用生物信息学分析证实 Pro370Leu 突变发生于 myocilin 基因的溴素同源区,该同源区为一个重要的转移暂停区(translocation pause),为分泌型蛋白的关键区域,该部位的突变可能导致溴素同源区空间构象发生改变,造成蛋白合成、加工、分泌过程严重障碍,在细胞内形成不溶性积聚体,从而造成细胞损伤。为了进一步证明生物信息学分析结果,我们将 Pro370Leu 突变的 Myocilin 基因导入人小梁细胞,并观察其病理改变,结果证实该突变可使小梁细胞内质网合成的 Myocilin 蛋白质错构折叠,以积聚体形式存在于胞浆内;骨架结构紊乱,细胞迁移能力下降,凋亡发生率增加^[12-13]。

据此我们在国内首次提出家族性青光眼属于一种“蛋白质构象病”,与常见的一些蛋白构象病帕金森病、老年痴呆、prion 病等疾病的发病机制相似,均与细胞内错误折叠蛋白的长期积聚有关。该结论为揭示家族性青光眼发病机制提供了线索,并将推动家族性青光眼的早期诊断手段、治疗预防以及药物研制等领域的发展。

1.2 原发性开角型青光眼发病机制及干预研究

临床上,近一半青光眼患者是原发性开角型青光眼(primary open angle glaucoma, POAG)。针对 POAG 发病过程中存在小梁细胞的凋亡坏死,我们采用蛋白质组学、膜电位分析及相关分子生物学技术,从以前几个方面进行了研究:①研究了线粒体氧化损伤在 POAG 发病中的作用,结果发现 POAG 患者的小梁细胞存在线粒体功能障碍,并导致氧化损伤,进一步研究发现,线粒体复合物 I 功能缺陷是导致氧化损伤的主要原因之一^[14];②研究发现,POAG 患者小梁细胞线粒体功能障碍还可导致其对钙离子应激极度易损,从而引起钙超载并影响其对眼压的调节^[15];③比较了 POAG 患者和

正常人来源的小梁细胞膜蛋白的表达差异,发现钙相关蛋白-copine1 在 POAG 来源的小梁细胞膜上高表达,而在正常人小梁细胞膜上不表达, Ca(2+)内流可使 copine1 蛋白从胞浆转位到胞膜,提示 copine1 蛋白可能参与了 POAG 的发病过程^[16]。

综合上述研究,我们提出,POAG 是一种“线粒体病”:线粒体 Complex I 功能障碍导致氧化损伤,蛋白 Copine 1 在 POAG 患者中表达显著上调,内质网钙信号调节反馈功能下降,出现钙超载,导致细胞凋亡。

针对 POAG 患者的线粒体损伤靶点,我们研究了线粒体通透性转运体抑制剂、IP3R 抑制剂及 cyclophilin D 抑制剂对 POAG 患者小梁细胞的影响,结果发现均对小梁细胞有较好的保护作用,这说明保护线粒体可作为治疗 POAG 的有效靶点^[14]。

1.3 青光眼术后抗瘢痕研究

创伤愈合的过程分为炎症期、增生期及瘢痕形成期,其中核转录因子 KB(NF-KB)活化在成纤维细胞增殖、迁移中起重要作用。为了早期阻断瘢痕形成,我们利用 siRNA 技术抑制 NF-KB 活性,进而调控青光眼滤过手术术后伤口愈合。研究分三个阶段进行。

第一阶段,IKKB 是 NF-KB 活化途径中的重要基因,我们设计了针对 IKKB 的 siRNA,结果发现,该 siRNA 有抑制人 Tenon's 囊成纤维细胞增殖的作用,其机制与降低 NF-κB 活性,进而影响各种细胞因子表达有关。研究同时证明该 siRNA 在体外有良好的安全性^[17]。

第二阶段,用 siRNA 进行了恒河猴体内抗纤维化研究,实验发现,在猴眼小梁切除术中使用靶向 IKKB 的 SiRNA 干扰处理过后,术后滤过泡维持时间至少长达 6 周,滤过泡壁较厚,弥散苍白;相比之下,术中应用 MMC 处理组滤过泡明显壁较薄,较 RNA 干扰组稍局限。这说明该 siRNA 在体内也具有较好的抗纤维化效果。

第三阶段,为了提高 siRNA 作用的靶向性,我们研究了纳米微载体介导的 siRNA 调控 Tenon's 囊成纤维细胞增殖。结果证实阳离子纳米共聚物 CS-g-(PEI-g-PEG600)具有 siRNA 结合能力强、转染效率高以及细胞毒性小的优点;负载的 RNA 干扰具有特异、有效的基因沉默效应;对体外培养的人 Tenon's 囊成纤维细胞有明显的增殖抑制作用。同时,我们正在研究靶向性更高的低密度脂蛋白

(LDL)介导干预,相关体外、体内实验正在进行中^[18]。

2 视神经保护和药物缓释

视神经保护为治疗青光眼等视网膜损伤性疾病带来了新的希望,我们从 DNA 损伤修复、细胞因子、传统中药、免疫保护及药物缓释几个方面进行了研究。

2.1 氯化锂对视网膜神经元的保护作用

利用氯化锂处理体外培养的视网膜神经元,发现其对神经细胞的轴突生长具有显著促进及保护作用。基因组 DNA 电泳发现,锂处理后的细胞的 DNA 聚合体增加,进一步检测发现 Ligase IV (参与 DNA 的非同源末端结合 NHEJ 信号通路)的 mRNA 和蛋白水平均增加,同时检测到 Ligase IV 的伴侣分子 XRCC4、CREB 和 CTCF 也相应上调。据此我们提出氯化锂是通过促进 DNA 的非同源末端结合途径保护视网膜神经节细胞,这为进一步探索氯化锂在视神经保护中的应用奠定了基础^[19]。

2.2 凝血酶敏感蛋白-1 对视网膜神经元的保护作用

骨髓基质细胞(BMSC)可通过分泌多种细胞因子,对神经细胞起到保护作用,但发挥保护效应的因子尚不大清楚。我们通过 BMSC 与视网膜神经节细胞(RGC)共培养模型,利用 RD-PCR、RNA 干扰等分子生物学手段,从正反两个方面证明,BMSC 可分泌凝血酶敏感蛋白-1(thrombospondin-1),并通过信号传导,促进 RGC 存活和轴突生长^[20]。

2.3 川芎嗪对视网膜神经元的保护作用

传统中药川芎嗪作为抗血小板聚集、改善微循环,已在临床广泛应用,但其神经保护作用研究甚少。我们研究发现川芎嗪可有效降低青光眼患者各种切变率下的全血黏度、明显抑制氧自由基、过氧化物歧化酶及钙离子通道、改善视网膜血管造影的臂-视网膜循环时间、降低自动视野平均缺损率并扩大 Goldman 动态视野 I4e 等视线面积、缩短 100'、25'、6'三种图形视觉诱发电位的潜伏期。体外研究发现,川芎嗪对氧化损失的神经细胞起保护作用,可显著减少神经节细胞线粒体反应性氧成分(ROS)的产生、稳定线粒体膜电位和细胞骨架蛋白(MAP-2,Rattin)的表达。该研究提高了青光眼临床治疗中应用中药进行神经保护的认知^[21]。

2.4 靶向淀粉样蛋白免疫治疗及其分子机制

淀粉样蛋白(amyloid beta, Abeta)被认为是高眼压致视网膜神经节损伤的重要蛋白,由于该分子同时在 Alzheimer 病的中枢神经系统损失中起关键作用,我们利用高表达 Abeta 的转基因小鼠探索 Abeta 的损伤机制及靶向 Abeta 的免疫治疗对于视网膜神经节细胞的保护作用。在 Tg2576 转基因小鼠动物模型中,发现神经节细胞层附近 Abeta 沉积可以导致视网膜神经节细胞的凋亡、神经纤维层变薄及炎症细胞激活,证实了多年来人们对于“青光眼是眼部的 Alzheimer 病”的设想。通过对 Tg2576 及 3XTg 转基因小鼠进行主动免疫治疗,发现可以在很大程度上减少 Abeta 导致的神经节细胞凋亡,但是在 Tg2576 视网膜中发现严重的胶质细胞过度激活,由于胶质细胞过度激活的结果在之前的被动免疫治疗实验中没有被发现,引起人们对于被动治疗的盲目乐观,直接导致了临床前研究的严重后果,我们被动免疫治疗在视网膜中,首次发现并报道了胶质细胞过度激活这一重要现象,对青光眼及 Alzheimer 病的免疫治疗均具有指导意义^[22]。

2.5 药物缓释治疗研究

长期以来,如何实现眼底的持续、缓慢靶点给药,一直是眼科治疗上的难题。为此,课题组设计发明了囊袋式人工玻璃体,其一方面可以作为玻璃体的替代填充物,同时也可以作为药物缓释系统,实验眼底的缓慢、持续给药。结合药物缓释和视神经保护药物,将为青光神经保护带来新的希望。目前,囊袋式人工玻璃体研究已经获得国家临床研究批文,进入多中心临床实验阶段^[23]。

3 干细胞在视神经保护的研究

干细胞是指具有自我更新、高度增殖和多向分化潜能的一类细胞。通过干细胞移植,分化并替代损伤坏死的细胞,在神经保护方面有着诱人的应用前景。这方面的研究主要从种子细胞获取、靶向分化及体内移植几方面展开^[24-27]。

3.1 胚胎干细胞相关研究

建立了小鼠胚胎干细胞系(embryonic stem cells, ESCs),及绿色荧光蛋白标记的 ES 细胞系,并在体外、体内诱导其向视网膜神经细胞、角膜上皮细胞等方向分化^[28]。

3.2 诱导骨髓间充质干细胞向神经细胞分化

利用 SHH 联合 RA 的方法,诱导 BMSC 分化为胆碱能神经元;通过共培养,诱导 BMSC 向视网膜神经细胞或角膜上皮细胞分化^[29]。

3.3 视网膜神经祖细胞(RPC)

RPC 是目前发现的、替代治疗视网膜损伤最有效的种子细胞之一,通过对比不同发育阶段 RPC 的基因表达和分化特征,我们提出了 RPC 移植时机必须适时(timing)的观点^[30]。

3.4 肿瘤干细胞相关研究

从 RB 肿瘤中分离出了具有无限增殖和多向分化潜能的 RB 肿瘤干细胞,这不但为 RB 肿瘤的治疗提供了新的靶点,更为获取视网膜干细胞提供了新的选择^[31]。

3.5 构建异种嵌合体动物

在确立了 GZ.1 家族性青光眼的致病基因后,我们拟结合干细胞、基因打靶及显微注射等方法,构建 Myocilin 基因突变的动物模型,以模拟青光眼自然发病过程。在前期的研究中,我们已经将恒河猴的表皮干细胞注射入小鼠囊胚中,获得存活的猴鼠异种嵌合体,为下一步构建青光眼自然动物模型奠定了基础^[32]。

3.6 体细胞重编程

体细胞重编程是近年来生命科学领域的研究热点。重编程(Reprogramming)是指通过核移植、转基因等手段,使终末分化的细胞核或细胞重新获得类似胚胎干细胞的全能性的过程。2006年,日本科学家 Yamanaka S 通过转基因手段,将小鼠成纤维细胞重编程为具有多向潜能的 iPS 细胞(induced pluripotent stem cells),由此点燃了重编程研究的浪潮。

鉴于干细胞应用中存在种子细胞来源有限、免疫排斥等难以逾越的障碍,我们从 2007 年起,即已启动重编程相关研究。我们在无饲养层的条件下,通过转入 Oct3/4, Sox2, c-Myc 和 Klf4 基因,建立了几株小鼠多潜能干细胞(iPS),并正通过 math5 基因转染、神经因子诱导、视网膜下腔移植等方法,序贯诱导 iPS 向视网膜神经节细胞分化,该研究使通过自体干细胞移植,替代治疗青光神经节细胞凋亡成为可能^[33]。

尽管上述研究,特别是重编程研究,为干细胞替代治疗提供了可能的解决方案,但在临床应用前,还有很多问题亟待解决,包括如何实现无病毒

介导的重编程, iPS 靶向分化, 成瘤性及功能重建等, 这些也是我们今后研究的重点。

4 近视眼发病机制及防治系列研究

青少年单纯性近视眼的患病率呈逐年递增趋势。流行病学调查的病因学分析显示青少年近视眼发生发展与生活习惯、生存环境因素、过量近距离工作有密切的相关性; 分析其主要机制可能与光学离焦、双眼调节辐辏功能异常相关。另有研究表明张力性调节在近视眼患者内移、近视眼易发者 AC/A 增高、近视眼患者调节反应降低等, 同时近距离阅读强度增加将使上述参数增高。这些研究结果提示对上述因素进行干预, 可能有助于近视眼的预防治疗。

4.1 恒河猴离焦性近视眼动物模型及发病机制研究

动物模型是研究近视眼发病机制的重要手段, 建立合适的近视眼动物模型不但有助于阐明近视眼的自然发病机制, 而且还能为日后探讨近视眼的有效防治手段构建可靠的理论和实践平台。自 1988 年给小鸡双眼分别佩戴不同度数镜片造成屈光参差首次建立光学离焦的近视眼动物模型以来, 众多的研究者尝试并成功建立了包括鸡、兔、狗、猫、小鼠、树鼠、豚鼠、恒河猴等在内的多种近视眼动物模型, 而灵长类动物在人类近视眼研究中有不可替代的作用, 因此近年来我们采用多种方法建立模拟青少年近视眼发病过程的灵长类动物的近视眼模型, 并对其机制进行了深入研究。我们于 2004 年成功建立了幼年恒河猴的单眼离焦性近视眼动物模型, 成为日后制作离焦性近视的便利的实验平台, 并发现幼猴的正视化过程与人类相似呈视觉依赖性, 其眼轴及玻璃体腔长度对远视性光学离焦呈代偿性生长^[34-36]。为更好的模拟青少年单纯性近视眼的发病环境, 近两年我课题组致力于青少年恒河猴视近诱导性近视眼模型的建立, 采用行为学训练和小空间饲养的方法尝试建立高度模拟人类青少年近视眼发病过程的双眼行为学近视眼动物模型, 结果显示长时间近距离注视(非强制性/强制性)可促使双眼玻璃体腔的生长加速, 其增长速度与近距离活动时间呈正相关; 同时可促使其屈光状态不同程度向近视眼化方向发展, 是一种潜在的自然近视眼动物

模型的建立方法^[37]。

4.2 近视眼发病机制的分子生物学研究

在进行近视眼动物模型研究的同时, 我们也一直在致力于近视眼分子生物学发病机制方面的研究^[38-42]。研究表明腺苷受体(ADOR)抑制剂 7-甲基黄嘌呤可部分抑制豚鼠剥夺性近视眼的发展, 控制近视眼引起的后极部巩膜变薄和胶原纤维直径的变细。为进一步研究其作用机理, 我们用免疫荧光及免疫印迹的方法对豚鼠近视眼球壁的 ADOR 各亚型进行了系统的分析发现, ADORA1 在豚鼠近视眼视网膜及巩膜中表达降低, 而 ADORA2B 的表达则明显升高。原代培养人巩膜成纤维细胞和视网膜色素上皮细胞, 发现 ADOR 各亚型在这两种细胞中均有表达, 但不同亚型在不同细胞内的分布不同, 因此 ADOR 不同亚型在近视眼的发生及发展中可能起了不同的作用。对离焦性恒河猴近视眼动物模型视网膜的研究发现远视性光学离焦视网膜上 Egr-1 的表达降低, 而近视眼性光学离焦 Egr-1 表达增高; 对恒河猴视皮质的研究亦显示: 与对照眼相比 -3.00D 离焦的视皮质区 Egr-1、C-fos、PKCa、CAD65 的表达均有不同程度下调。分析其主要原因可能为中央远视性光学离焦信号刺激双极细胞与无长突细胞, 调控视皮层 V1 区 PKCa, GAD65 和 Egr-1 基因, 再反馈影响视网膜 Egr-1 相关信号通路, 促进眼球生长, 导致近视眼发生^[43]。

4.3 青少年近视眼干预的临床研究

在积极进行近视眼动物模型及发病机制方面研究的同时, 我课题组还进行了大量青少年近视眼的临床防治方面的研究^[44-45]。早期研究发现双眼近视眼发展速度不一致, 针对“近视眼发展速度”的评价问题我中心进行了两年的随访研究, 首次明确主视眼与近视眼发展速度无明显相关, 建议按照以下原则评价个体的近视眼发展速度: 1. 双眼近视眼改变量相关系数 > 0.85, 取双眼平均值; 2. 双眼近视眼改变量相关系数 < 0.85, 取加深较快眼。这一研究成果为青少年近视眼发展的评价提供了临床依据。在近视眼的防治方面, 基于我们前期发现的近视离焦学说, 本课题组进行了针对中央离焦的渐进镜对青少年近视眼控制的随机对照临床研究, 随访两年结果显示多焦点渐进镜能明显减缓内隐斜近视眼人群近视眼发展速度达 47%, 但对渐进镜对一般近视眼人群的控制则无

明显效果。随着对离焦性近视眼研究的深入,周边视网膜离焦与近视眼发生发展的关系越来越引起人们的注视,有研究表明恒河猴网膜周边部的远视性离焦可能是诱发近视眼进一步加深的重要原因。最近,本课题组与澳大利亚新南威尔士大学、美国休斯顿大学共同开展的周边离焦与青少年近视发生、发展的研究中发现:传统的单光眼镜虽然能很好地矫正近视(矫正中央离焦),但却会造成佩戴者周边部远视性离焦,并且这种现象随着佩戴者近视度数的升高而越发显著。基于目前公认的近视离焦学说,这一重要发现提示,使用近一百年的传统单光镜片可能会进一步加剧近视的发展。目前,我们已与国际团队合作研发出能矫正周边离焦的新型眼镜产品,并开展大规模、多中心、随机对照临床研究进行验证。如果证实有效,那将将是近视防治史上的一次里程碑事件。

5 小 结

我们对青光眼和近视眼的发病机制及干预靶点的深入研究既发表了 50 余篇 SCI 收录的论文,显著提高了我国眼科基础研究的学术水平与国际声誉;同时,系统坚实的研究积累也使我们作为首席科学家单位获得了眼科学领域的第一个 973 研究项目:我国重要神经性致盲眼病的发病机制和防治研究。

临床基础与转化研究将是我们课题组孜孜以求的目标,我们今后将加大实验研究向临床转化的力度,切实降低我国常见致盲眼病的发病率与致盲率。

参考文献:

- [1] He M, Foster PJ, Ge J, et al. Prevalence and clinical characteristics of glaucoma in adult Chinese: a population-based study in Liwan District, Guangzhou [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(7): 2782-2788.
- [2] He M, Foster PJ, Ge J, et al. Gonioscopy in adult Chinese: the Liwan Eye Study [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(11): 4772-4779.
- [3] He M, Ge J, Zheng Y, et al. The Guangzhou Twin Project [J]. *Twin Res Hum Genet*, 2006, 9(6): 753-757.
- [4] He M, Friedman DS, Ge J, et al. Laser peripheral iridotomy in primary angle-closure suspects: biometric and gonioscopic outcomes: the Liwan Eye Study [J]. *Ophthalmology*, 2007, 114(3): 494-500.
- [5] He M, Friedman DS, Ge J, et al. Laser peripheral iridotomy in eyes with narrow drainage angles: ultrasound biomicroscopy outcomes. the liwan eye study [J]. *Ophthalmology*, 2007, 114(8): 1513-1519.
- [6] He M, Ge J, Wang D, et al. Heritability of the iridotrabecular angle width measured by optical coherence tomography in Chinese children: the Guangzhou twin eye study [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(4): 1356-1361.
- [7] He M, Liu B, Huang W, et al. Heritability of optic disc and cup measured by the Heidelberg Retinal Tomography in Chinese: the Guangzhou twin eye study [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(4): 1350-1355.
- [8] Yang Z, Lan W, Liu W, et al. Association of ocular dominance and myopia development: a 2-year longitudinal study [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(11): 4779-4783.
- [9] Zhuo YH, Wang M, Wei YT, et al. Analysis of MYOC gene mutation in a Chinese glaucoma family with primary open-angle glaucoma and primary congenital glaucoma [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2006, 119(14): 1210-1214.
- [10] Ge J. What should be done in glaucoma research in China [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2007, 120(4): 267-268.
- [11] Zhuo YH, Wei YT, Bai YJ, et al. Pro370Leu MYOC gene mutation in a large Chinese family with juvenile-onset open angle glaucoma: correlation between genotype and phenotype [J]. *Mol Vis*, 2008, 14(8): 1533-1539.
- [12] Zhuo YH, Huang YL, Wei YT, et al. Glucocorticoids upregulate transepithelial electrical resistance and expression of tight junction-related protein in human trabecular meshwork cells [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2005, 118(20): 1742-1745.
- [13] Wang L, Zhuo Y, Liu B, et al. Pro370Leu mutant myocilin disturbs the endoplasmic reticulum stress response and mitochondrial membrane potential in human trabecular meshwork cells [J]. *Mol Vis*, 2007, 13(8): 618-625.
- [14] He Y, Leung KW, Zhang YH, et al. Mitochondrial complex I defect induces ROS release and degeneration in trabecular meshwork cells of POAG patients: protection by antioxidants [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*

- Sci, 2008, 49(4): 1447-1458.
- [15] He Y, Ge J, Tombran-Tink J. Mitochondrial defects and dysfunction in calcium regulation in glaucomatous trabecular meshwork cells [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(11): 4912-4922.
- [16] Zhang Y, Gao Q, Duan S, et al. Upregulation of Copine1 in trabecular meshwork cells of POAG patients: a membrane proteomics approach [J]. *Mol Vis*, 2008, 14: 1028-1036.
- [17] Duan Y, Guan X, Ge J, et al. Cationic nanopolymers mediated IKKbeta targeting siRNA inhibit the proliferation of human Tenon's capsule fibroblasts in vitro [J]. *Mol Vis*, 2008, 14(9): 2616-2628.
- [18] Xiong C, Chen D, Liu J, et al. A rabbit dry eye model induced by topical medication of a preservative benzalkonium chloride [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(5): 1850-6185.
- [19] Yu K, Ma P, Ge J, et al. Expression of protein kinase C isoforms in cultured human retinal pigment epithelial cells [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2007, 245(7): 993-999.
- [20] Yu K, Ge J, Summers JB, et al. TSP-1 secreted by bone marrow stromal cells contributes to retinal ganglion cell neurite outgrowth and survival [J]. *PLoS ONE*, 2008, 3(6): e2470.
- [21] Yang ZK, Tan ZQ, Ge J. Protective effects of tetramethylpyrazine on rat retinal cell cultures [J]. *Neurochemistry International*, 2008, 52(6): 1176-1187.
- [22] Liu B, Rasool S, Yang Z, et al. Amyloid-peptide vaccinations reduce β -amyloid plaques but exacerbate vascular deposition and inflammation in the retina of Alzheimer's transgenic mice [J]. *Am J Pathol*, 2009, 175(5): 2099-20110.
- [23] Gao Q, Mou S, Ge J, et al. A new strategy to replace the natural vitreous by a novel capsular artificial vitreous body with pressure-control valve [J]. *Eye*, 2008, 22(3): 461-468.
- [24] Jian G, Jingbo L. The stem cell and tissue engineering research in Chinese ophthalmology [J]. *Front Med China*, 2007, 1(1): 6-10.
- [25] Liu J, Song G, Wang Z, et al. Establishment of a corneal epithelial cell line spontaneously derived from human limbal cells [J]. *Exp Eye Res*, 2007, 84(3): 599-609.
- [26] Gao N, Wang Z, Huang B, et al. Putative epidermal stem cell convert into corneal epithelium-like cell under corneal tissue in vitro [J]. *Sci China C Life Sci*, 2007, 50(1): 101-110.
- [27] Liu BQ, Wang ZC, Liu LM, et al. Sutureless fixation of amniotic membrane patch as a therapeutic contact lens using a polymethyl methacrylate ring and fibrin sealant in a rabbit model [J]. *Cornea*, 2008, 27(1): 74-79.
- [28] Wang Z, Ge J, Huang B, et al. Differentiation of embryonic stem cells into corneal epithelium [J]. *Sci China C Life Sci*, 2005, 48(5): 471-480.
- [29] Yuan J, Yu JX, Huang B, et al. Induction of corneal epithelial progenitors from bone-marrow mesenchymal stem cells of rhesus monkeys in vitro [J]. *Chin Sci Bul*, 2007, 52 (16): 2216-2225.
- [30] Sun XR, Jiang RZ, Zhang YH, et al. Gene expression and differentiation characteristics in mice E13.5 and E17.5 neural retinal progenitors [J]. *Molecular Vision*, 2009, 15(8): 2503-2514.
- [31] Zhong X, Li Y, Peng F, et al. Identification of tumorigenic retinal stem-like cells in human solid retinoblastomas [J]. *Int J Cancer*, 2007, 121(10): 2125-2131.
- [32] Jiang R, Huang B, Jin C, et al. A potential model for studying the plasticity and reprogramming of human epidermal stem cells through preimplantation blastocyst microinjection [J]. *Cell Biol Int*, 2008, 32(12): 1567-1573.
- [33] Chen M, Sun X, Jiang R, et al. Role of MEF feeder cells in direct reprogramming of mousetail-tip fibroblasts [J]. *Cell Biol Int*, 2009, 33(9): 1268-1273.
- [34] Zhong XW, Ge J, Smith EL 3rd, et al. Image defocus modulates activity of bipolar and amacrine cells in macaque retina [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45(7): 2065-2074.
- [35] Zhong XW, Ge J, Nie H, et al. Compensation for experimentally induced hyperopic anisometropia in adolescent monkeys [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45(10): 3373-3379.
- [36] Zhong XW, Ge J, Nie H, Chen X, et al. Effects of photorefractive keratectomy-induced defocus on emmetropization of infant rhesus monkeys [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45(10): 3806-3811.
- [37] Lan WZ, Yang ZK, Liu W, et al. A longitudinal study on the relationship between myopia development and near accommodation lag in myopic children [J]. *Ophthalm Physiol Opt*, 2008, 28(9): 57-61.
- [38] Liu Q, Gong XM, Chen JQ, et al. Laser in situ keratomileusis induced corneal perforation and recurrent corneal epithelial ingrowth [J]. *J Cataract Refract Surg*, (下转第 165 页 to page 165)