

原发性开角型青光眼的诱导性多能干细胞治疗

朱玮

266021 青岛大学药学院

通信作者:朱玮,Email:wzhu@qdu.edu.cn

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.09.002

【摘要】 青光眼是视网膜神经节细胞凋亡而导致视觉功能损害的一类眼科疾病。开角型青光眼是青光眼的主要类型之一,其主要致病因素为小梁网细胞凋亡导致的高眼压。随着干细胞研究的迅速发展,利用干细胞治疗小梁网退行性病变成为目前的研究热点,为开角型青光眼的治疗提供了新的途径。其中诱导性多能干细胞(iPSCs)作为新型干细胞,根据其自体来源的特性,成为潜在的可用于临床治疗的细胞类型。目前,利用 iPSCs 治疗开角型青光眼仍然是极具挑战性的任务。本文从 iPSCs 的特性的角度揭示其临床应用的困难及策略,并根据目前 iPSCs 在原发性青光眼治疗方面的相关研究,概括其在不同物种、不同原因、不同病理进程的开角型青光眼模型中的治疗效果。此外,iPSCs 针对小梁网退行性病变的治疗仍存在其特有的问题,本文从相关治疗的安全性、时效性、特异靶向性方面进行阐述,并针对不同问题,结合目前研究热点提出针对性的解决策略,同时也旨在提供前沿的科学热点问题,及时对国内外的研究进展进行总结,期望在科研工作者的共同努力下,推动 iPSCs 在临床应用研究方面的进展,最终为青光眼患者带来光明。

【关键词】 原发性开角型青光眼;诱导性多能干细胞;小梁网;眼压

Therapeutic effects of induced pluripotent stem cells on primary open angle glaucoma Zhu Wei

School of Pharmacy, Qingdao University, Qingdao 266021, China

Corresponding author: Zhu Wei, Email: wzhu@qdu.edu.cn

【Abstract】 Glaucoma is a group of ocular disease associated with the degeneration of retinal ganglion cells and it finally causes vision loss. Primary open angle glaucoma (POAG) is a main type of glaucoma worldwide. The primary reason of POAG is elevated intraocular pressure (IOP) caused by the degeneration or dysfunction of the trabecular meshwork (TM). Recent studies showed that stem cell-based therapy becomes a promising approach to treat the degenerative diseases, including POAG. Among multiple types of stem cells, induced pluripotent stem cell (iPSC) is the one with the most clinical potential due to its autologous derivation and non-ethical issue. In this paper, we summarized the encouraging therapeutic effects of iPSCs on POAG from different species, different etiological factors and different pathological stages. Although these encouraging studies suggest that iPSC is a fabulous stem cell type to regenerate the damaged tissue, more efforts are required for clinical application. In addition, we discussed several solutions to improve the safety of iPSCs and provided potential approaches to improve the therapeutic efficiency and specific targeting. Answering these questions will help us to better understand the characteristics of iPSCs and promote the development of bench to bedside research.

【Key words】 Glaucoma, primary, open angle; Induced pluripotent stem cells; Trabecular meshwork; Intraocular pressure

青光眼是由视网膜神经节细胞,视盘以及视神经的凋亡导致视觉损失的一类眼科疾病,是仅次于白内障的第二位的致盲眼病^[1]。综合中国流行病学的报道,2010年中国开角型青光眼和闭角型青光眼患者分别为450万和390万。中国的快速老龄化以及后天性近视发生率的不提高或将导致原发性开角型青光眼

(primary open angle glaucoma, POAG)的发病率不断提高。预计到2020年,开角型青光眼和闭角型青光眼患者将分别达到590万和530万^[2-3],届时会给中国社会及患者家庭带来巨大的经济及精神负担。

目前认为导致青光眼的主要原因包括高眼压、种族、年龄和遗传学因素等,其中,高眼压是青光眼最为

重要的致病原因^[4]。眼压产生于眼前节的房水循环。房水最初分泌于睫状体,通过位于虹膜与晶状体之间的狭小缝隙进入眼前节的房水循环中,随后通过房水外排途径排出眼。生理条件下,房水的产生与外排处于平衡状态,从而维持正常的眼压。POAG 患者的房水外排途径异常,从而导致高眼压的产生^[4-5]。房水外排的阻力主要来自于小梁网外排途径,该组织是定位于角膜基部、毗邻睫状体的筛板状组织,其正常功能的维持对房水循环的平衡以及眼压的维持具有至关重要的作用^[6]。然而,伴随着整个生命过程,位于小梁网的细胞会不断地凋亡^[7]。正常生理状况下,此现象普遍存在。在病理情况下,此类细胞的凋亡更为严重。随着干细胞技术的不断成熟,利用干细胞对已退行的小梁网组织进行重塑成为最有前景的生物治疗手段。目前,应用于小梁网退行性病变的干细胞主要包括小梁网成体细胞、间充质干细胞和诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)^[8-10]。由于成体小梁网细胞和间充质干细胞的临床取材较为困难且为创伤性手术, iPSCs 成为具有应用前景的干细胞类型。本文将从 iPSCs 的特性、治疗效果、临床应用面临的困难及相应对策等方面进行阐述,分析干细胞治疗小梁网退行性病变的本质,并对其应用前景进行探讨。

1 iPSCs 概述

iPSCs 是利用胚胎干细胞中高表达的 Oct4、Sox2、Klf4 和 c-Myc 4 个转录因子,将成纤维细胞重编码为具有多能性的一类干细胞^[11]。此类干细胞具有以下几方面的优势。这类干细胞的多能性与胚胎干细胞极为相似,可分化为多种细胞类型,包括神经细胞、肌肉细胞、心肌细胞及小梁网细胞等^[12-13],因此具备对多种疾病进行治疗的可能性;与胚胎干细胞相比,此类干细胞不会对胚胎产生危害,因此不涉及伦理问题; iPSCs 是自体来源的干细胞,与异体来源细胞相比,可有效避免移植后严重的免疫排斥反应^[11]。基于上述多种 iPSCs 的优点,为多种疾病的治疗带来了曙光。

此技术为治疗人类疾病带来希望的同时,也在临床应用的过程中遇到了多种困难。(1) 首当其冲的问题为染色体的稳定性。由此缺陷引发的 iPSCs 潜在致肿瘤性,是目前备受关注的问题。然而最近科学研究表明,拷贝数的变异以及染色体的稳定性是重编码前体细胞固有的现象,在重编码的过程中得以体现^[14]。与此同时,研究证明供体细胞类型及培养条件是影响染色体稳定性的关键因素^[15]。(2) 使用不插入基因组的重编码方法是未来的发展方向,可有效避免遗传突

变及致肿瘤的潜在风险^[16]。(3) 尽管 iPSCs 作为自体来源的干细胞,理论上不存在自体移植后的免疫排斥,然而,近年来科学研究证实表观遗传学的异常影响此类干细胞的分化能力以及自体移植后的免疫耐受性,其主要原因为细胞分化的程度及细胞类型^[17]。如来源于 iPSCs 的小梁网细胞以及视网膜色素上皮细胞并没有引起免疫排斥反应,而心肌细胞及平滑肌细胞的移植则产生了相应的免疫排斥反应^[10,18-19],也提示我们 iPSCs 在治疗眼科相关疾病方面具有独特的优势。

综上所述, iPSCs 是治疗眼科相关退行性病变非常有前景的干细胞类型,同时也对我们提出了更高的要求,需要我们全力以赴优化其优势,克服其缺陷,为青光眼患者提供临床应用级别的 iPSCs 类型。

2 iPSCs 与小梁网重塑

应用 iPSCs, 患者最为关心的问题即为其治疗效果。目前,针对此问题,已有了初步的答案。其研究模型为青光眼小鼠模型及人眼体外灌注模型,其作用效果的相关指标为眼压、房水流畅系数、视网膜神经节细胞数目以及小梁网组织结构等。此部分将综合国内外目前相关研究进展,详细阐述 iPSCs 对 POAG 的治疗效果。

2.1 针对不同物种 POAG 模型的治疗效果

目前 iPSCs 治疗不同物种 POAG 的研究已有相关报道。首先,不同物种的 iPSCs 分化为小梁网类似细胞的过程在物种间存在差异。我们团队研究证实,小鼠或人 iPSCs 均可在人小梁网细胞系 NTM5 及人原代小梁网细胞 PTM 的条件培养基诱导下,定向分化为小鼠或人小梁网类似细胞,并根据小梁网细胞相关特征对诱导分化的细胞进行鉴定^[20]。小鼠 iPSCs 在短时间内(数周)即可分化为小鼠小梁网类似细胞,而人的 iPSCs 分化过程相对漫长(数月)^[21],分化的细胞方可展现与小梁网细胞相似的转录水平。此外, Abu-Hassan 等^[22]利用小梁网细胞的条件培养基对人 iPSCs 进行诱导分化 1 个月,展现出与小梁网细胞相类似的特性。上述报道提示我们不同物种的 iPSCs 需不同的诱导分化时间得到所需的目的细胞。其次,不同物种 iPSCs 治疗 POAG 的有效性被不同科研团队证实。目前,小鼠 iPSCs 的治疗工作主要针对不同的小鼠 POAG 模型开展。鉴于伦理问题,人的相关研究则集中在人眼体外灌注模型的使用,通过 saponin 致使小梁网细胞凋亡而诱发的青光眼模型。Zhu 等^[10]研究证明,源自小鼠 iPSCs 的小梁网类似细胞可有效降低眼压、提高房水流畅系数、保护视网膜神经节细胞,且此移植工作

对小梁网的结构并无明显影响。同时, Abu-Hassan 等^[22]研究发现, 源自人 iPSCs 的小梁网类似细胞可有效提高人青光眼灌注模型的房水流畅率, 而其他细胞类型并不具备此功能。以上数据证明源自 iPSCs 的小梁网类似细胞在不同物种的青光眼模型中发挥着相似的重要功能, 对治疗青光眼提供了崭新的思路。

在探索 iPSCs 治疗机制的过程中, 有一重要发现引发了目前此领域科学家们的讨论。Zhu 等^[10]发现源自 iPSCs 的小梁网细胞可有效促进原代小梁网细胞或内源性小梁网细胞的增生, 说明“年轻”的小梁网细胞可使“年老”的小梁网细胞重新具备再次分裂的能力。此重要现象更新了人们对成体小梁网细胞的认知。一直以来, 人们认为随着小梁网组织发育并趋于成熟, 小梁网细胞逐渐丧失了分裂能力, 并在病理状态下出现严重凋亡, 从而引发房水外排的不畅^[7]。直至发现小梁成形术或生长因子可再次刺激小梁网细胞的增生, 人们才意识到成人体内的小梁网细胞具备增生能力, 可在某些因素的刺激下被捕获出来^[23-24]。根据目前报道, 潜在的增生能力在不同物种的小梁网细胞内均有存在。上述实验证据提示我们利用关键因子刺激成体小梁网细胞再次增生或将成为下一步治疗 POAG 的有效手段。

2.2 针对不同原因导致 POAG 的治疗效果

目前, iPSCs 治疗 POAG 的模型包括 Saponin 处理的人眼灌注模型、Myocilin^{Y437H} 转基因小鼠模型以及 sGCalpha1 敲除鼠模型。尽管 Saponin 模拟青光眼模型发病时间快且效果明显, 但其发病过程并不符合病理条件下的细胞动力学变化, 提示我们此模型需谨慎使用^[25]。相较于 Saponin 模型, 遗传突变 POAG 小鼠模型与 POAG 患者的发病机制极为类似。Myocilin^{Y437H} 转基因小鼠通过转入人的 Tyr437His Myocilin 突变蛋白, 使此蛋白无法在内质网中正常折叠而导致内质网胁迫, 从而造成小梁网细胞的凋亡, 最终导致眼压升高^[26-27]。sGCalpha1 敲除鼠则敲除一氧化氮信号通路中重要的酶类蛋白亚基, 从而使小梁网丧失对一氧化氮的响应, 而导致高眼压的形成^[28]。我们团队利用源自 iPSCs 小梁网类似细胞对上述 2 种小鼠进行治疗, 结果发现此治疗方案均可降低上述 2 种 POAG 小鼠的高眼压, 使眼压在长时间内维持在正常水平^[29]。上述报道提示此类干细胞治疗方案具有广谱性, 针对不同原因导致的 POAG 均有明显的治疗效果, 也提示我们此类治疗方案是符合目前中国国情的治疗方案。

2.3 对不同病理阶段 POAG 的治疗效果

来源于 iPSCs 的小梁网类似细胞对疾病早期的 Myocilin^{Y437H} 转基因小鼠^[10]、疾病中期的 Myocilin^{Y437H} 转基因小鼠^[30] 以及疾病晚期的 sGCalpha1 敲除鼠 3 种不同病理学进程的青光眼小鼠进行了治疗。在疾病早期, 干细胞移植治疗可在短时间内对高眼压进行有效调节, 保护视网膜神经节细胞; 疾病中期或晚期, 干细胞的治疗需要相对较长的时间对眼压进行调控, 对此阶段 POAG 小鼠视网膜神经节细胞的保护作用, 目前尚不明确^[10, 28, 30]。上述研究提示我们针对不同病理学进程的 POAG 患者, 干细胞治疗效果可能存在差异, 提示我们及时发现青光眼症状并尽早治疗是干细胞有效治疗的必要前提。

3 iPSCs 尚存在的问题及解决策略

iPSCs 针对退行性的小梁网病变治疗效果明显, 然而从实验阶段到临床应用, 尚有一段距离。期间需要我们对 iPSCs 的安全性、时效性以及特异靶向等问题进行全面的分析, 提高 iPSCs 安全性, 延迟其有效期并减少其不良反应。上述问题极具挑战性, 本部分将分别阐述上述问题及相应对策, 促进 iPSCs 的临床应用。

3.1 安全性分析及策略

为了提供临床应用级别的小梁网类似细胞, 最大程度地降低安全隐患, 对 iPSCs 有以下几点要求: (1) 使用不插入染色体的重编码方法获取 iPSCs, 例如仙台病毒及 mod RNA 等^[16]; (2) 使用层粘连蛋白代替细胞饲养层, 避免异种细胞的污染^[29]; (3) 使用血清替代物^[29]; (4) 移植细胞的高纯度, 避免 iPSCs 的残留而导致畸胎瘤^[10]。小梁网细胞作为重塑的对象, 上述第 4 点要求需要我们特别注意。由于小梁网细胞缺乏特异表达的蛋白, 为了得到 100% 的小梁网类似细胞, 目前利用 iPSCs 特异性蛋白的免疫反应, 经过多轮阴性筛选, 尽可能地排除分化细胞群体中的 iPSCs。经此方法纯化后, 小梁网细胞的纯度可达到 100%, 而此筛选手段不可避免地造成了大量目的细胞损失, 且需要我们谨慎测定纯化后细胞的纯度。为了降低此筛选方法带来的安全隐患, 寻找小梁网细胞的特异表达蛋白并应用其对分化细胞群体进行阳性筛选, 成为下一步的研究方向, 届时此纯化手段可有效提高纯化率且降低损失率, 降低 iPSCs 残存率, 提高其应用的安全性。

3.2 时效分析及策略

尽管目前的研究证明, 源自 iPSCs 的小梁网细胞针对不同病理进程的小鼠存在不同的治疗效果, 经过一定时间后, POAG 小鼠的高眼压最终可得到有效降

低并维持在正常水平。然而小梁网的重塑主要因为内源性小梁网细胞增生,因此重塑后的小梁网仍为“问题”小梁网,可能在一定时间后小梁网细胞再次出现凋亡并影响小梁网的排水功能。针对此问题,我们需要根据造成小梁网细胞凋亡原因进行精准分析,并利用 CRISPR-cas9 技术对遗传突变基因进行纠正^[31],或使用相关因子促进移植细胞在体内的存活率,或进行多次治疗,最终提高重塑组织的有效性,长期对 POAG 患者的房水外排发挥有效功能。

3.3 特异性靶向治疗及策略

尽管 iPSCs 针对退行小梁网的治疗效果明显,但我们也希望 iPSCs 不会对其他组织产生影响。因此特异性的靶向成为本研究的另一目标。根据目前报道,体外培养的成体小梁网干细胞靶向小梁网组织具有很好的特异性,而来自于 iPSCs 的小梁网类似细胞仅具有一定针对小梁网组织的靶向性,同时,移植细胞在眼前节的其他组织中(角膜及虹膜)也有检出。近年来,随着 3D 打印技术的不断成熟,3D 产品不断地被应用于临床。3D 生物打印是在数字三维模型程序的驱动下,按照生理状态下组织的组成成分,将其生物材料及细胞单元组装在一起,打造出具有生物功能的模拟组织^[32]。在 iPSCs 治疗青光眼过程中,在逐步理解小梁网组织 3D 图谱的基础上,可利用目前相对成熟的 3D 打印技术,与 iPSCs 生物治疗技术相结合,特异性地针对小梁网组织进行治疗,有效解决特异性靶向的难题^[33]。应用此策略前需解决以下几个问题,包括源自 iPSCs 的小梁网类似细胞附着于细胞外基质组织的比例、此类细胞被打印后的存活率、正常或病理状态下此人工模拟组织的功能、适合的手术移植方式以及移植后此组织对眼前节其他组织的影响。二者结合的联合治疗手段是非常有前景的治疗方案,然而目前未知问题对我们提出了更大的挑战,需要更大的努力理解上述问题后,付诸实践。

4 展望

综合目前研究进展,iPSCs 治疗成为未来治疗 POAG 的重要方向。此治疗方式可成功解决目前多个难题,对已退行的小梁网组织进行重塑,并调节功能异常的小梁网,使其重新具备高效的房水外排能力。此次过程中,很多重要的实验数据也更新了人们对小梁网细胞的认识,如成体小梁网细胞在某些刺激下可再次增生,完成房水外排所需的使命。此外,iPSCs 治疗是符合目前中国国情的一种生物治疗手段,可针对退行性的小梁网病变进行广谱性的治疗。未来 10 年,伴

随着中国经济的快速发展,此治疗方案或将过渡为精准治疗的有效手段,根据患者病情进行个体化治疗。

参考文献

- [1] Kwon YH, Fingert JH, Kuehn MH, et al. Primary open-angle glaucoma [J]. *New England J Med*, 2009, 360(11): 1113-1124.
- [2] Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020 [J]. *Br J Ophthalmol*, 2006, 90(3): 262-267. DOI:10.1136/bjo.2005.081224.
- [3] Foster PJ, Johnson GJ. Glaucoma in China: how big is the problem? [J]. *Br J Ophthalmol*, 2001, 85(11): 1277-1282.
- [4] Kass MA, Hart WM, Gordon M, et al. Risk factors favoring the development of glaucomatous visual field loss in ocular hypertension [J]. *Surv Ophthalmol*, 1980, 25(3): 155-162.
- [5] Goel M, Picciani RG, Lee RK, et al. Aqueous humor dynamics: a review [J]. *Open Ophthalmol J*, 2010, 4: 52-59. DOI:10.2174/1874364101004010052.
- [6] Stamer WD, Clark AF. The many faces of the trabecular meshwork cell [J]. *Exp Eye Res*, 2017, 158: 112-123. DOI:10.1016/j.exer.2016.07.009.
- [7] Alvarado J, Murphy C, Juster R. Trabecular meshwork cellularity in primary open-angle glaucoma and nonglaucomatous normals [J]. *Ophthalmology*, 1984, 91(6): 564-579.
- [8] Du Y, Roh DS, Mann MM, et al. Multipotent stem cells from trabecular meshwork become phagocytic TM cells [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(3): 1566-1575. DOI:10.1167/iovs.11-9134.
- [9] Roubeix C, Godefroy D, Mias C, et al. Intraocular pressure reduction and neuroprotection conferred by bone marrow-derived mesenchymal stem cells in an animal model of glaucoma [J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2015, 6: 177 [2017-05-02]. <http://www.docin.com/p-1400137415.html>. DOI:10.1186/s13287-015-0168-0.
- [10] Zhu W, Gramlich OW, Laboissonniere L, et al. Transplantation of iPSC-derived TM cells rescues glaucoma phenotypes *in vivo* [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(25): 3492-3500. DOI:10.1073/pnas.1604153113.
- [11] Shi Y, Inoue H, Wu JC, et al. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(2): 115-130. DOI:10.1038/nrd.2016.245.
- [12] Lowry WE, Richter L, Yachechko R, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells from dermal fibroblasts [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(8): 2883-2888. DOI:10.1073/pnas.0711983105.
- [13] Medvedev SP, Shevchenko AI, Zakian SM. Induced pluripotent stem cells: problems and advantages when applying them in regenerative medicine [J]. *Acta Naturae*, 2010, 2(2): 18-28.
- [14] Young MA, Larson DE, Sun CW, et al. Background mutations in parental cells account for most of the genetic heterogeneity of induced pluripotent stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(5): 570-582. DOI:10.1016/j.stem.2012.03.002.
- [15] Taapken SM, Nisler BS, Newton MA, et al. Karyotypic abnormalities in human induced pluripotent stem cells and embryonic stem cells [J]. *Nat Biotechnol*, 2011, 29(4): 313-314. DOI:10.1038/nbt.1835.
- [16] Sommer CA, Mostoslavsky G. Experimental approaches for the generation of induced pluripotent stem cells [J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2010, 1(3): 26 [2017-05-02]. <http://www.doc88.com/p-1106692628567.html>. DOI:10.1186/sert26.
- [17] Okita K, Nagata N, Yamanaka S. Immunogenicity of induced pluripotent stem cells [J]. *Circ Res*, 2011, 109: 720-721.
- [18] Tang C, Drukker M. Potential barriers to therapeutics utilizing pluripotent cell derivatives: intrinsic immunogenicity of *in vitro* maintained and matured populations [J]. *Semin Immunopathol*, 2011, 33(6): 563-572. DOI:10.1007/s00281-011-0269-5.
- [19] Zhao T, Zhang ZN, Westenskow PD, et al. Humanized mice reveal differential immunogenicity of cells derived from autologous induced pluripotent stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 17(3): 353-359. DOI:10.1016/j.stem.2015.07.021.

- [20] Ding QJ, Zhu W, Cook AC, et al. Induction of trabecular meshwork cells from induced pluripotent stem cells [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55(11): 7065-7072. DOI: 10.1167/iovs.14-14800.
- [21] Zhu W, Ding QJ, Anfinson K, et al. Induction of trabecular meshwork cells from human iPSCs by human primary trabecular meshwork cell conditioned media [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55(13).
- [22] Abu-Hassan DW, Li X, Ryan EI, et al. Induced pluripotent stem cells restore function in a human cell loss model of open-angle glaucoma [J]. Stem Cells, 2015, 33(3): 751-761. DOI: 10.1002/stem.1885.
- [23] Acott TS, Samples JR, Bradley JM, et al. Trabecular repopulation by anterior trabecular meshwork cells after laser trabeculoplasty [J]. Am J Ophthalmol, 1989, 107(1): 1-6.
- [24] Wordinger RJ, Clark AF, Agarwal R, et al. Cultured human trabecular meshwork cells express functional growth factor receptors [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1998, 39(9): 1575-1589.
- [25] McKinnon SJ, Schlamp CL, Nickells RW. Mouse models of retinal ganglion cell death and glaucoma [J]. Exp Eye Res, 2009, 88(4): 816-824. DOI: 10.1016/j.exer.2008.12.002.
- [26] Zode GS, Kuehn MH, Nishimura DY, et al. Reduction of ER stress via a chemical chaperone prevents disease phenotypes in a mouse model of primary open angle glaucoma [J]. J Clin Invest, 2011, 121(9): 3542-3553. DOI: 10.1172/JCI58183.
- [27] Buys ES, Ko YC, Alt C, et al. Soluble guanylate cyclase $\alpha 1$ -deficient mice: a novel murine model for primary open angle glaucoma [J/OL]. PLoS One, 2013, 8(3): e60156 [2017-05-04]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3603933/. DOI: 10.1371/journal.pone.0060156.
- [28] Buys ES, Ko YC, Alt C, et al. Soluble guanylate cyclase $\alpha 1$ -deficient mice: a novel murine model for primary open angle glaucoma [J/OL]. PLoS One, 2013, 8(3): e60156 [2017-05-20]. http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0060156. DOI: 10.1371/journal.pone.0060156.
- [29] Tucker BA, Anfinson KR, Mullins RF, et al. Use of a synthetic xeno-free culture substrate for induced pluripotent stem cell induction and retinal differentiation [J]. Stem Cells Transl Med, 2013, 2(1): 16-24. DOI: 10.5966/sctm.2012-0040.
- [30] Zhu W, Jain A, Gramlich OW, et al. Restoration of aqueous humor outflow following transplantation of iPSC-derived trabecular meshwork cells in a transgenic mouse model of glaucoma [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2017, 58(4): 2054-2062. DOI: 10.1167/iovs.16-20672.
- [31] Ran FA, Hsu PD, Wright J, et al. Genome engineering using the CRISPR-Cas9 system [J]. Nat Protocols, 2013, 8(11): 2281-2308.
- [32] Murphy SV, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs [J]. Nat Biotechnol, 2014, 32(8): 773-785. DOI: 10.1038/nbt.2958.
- [33] Reid JA, Mollica PA, Johnson GD, et al. Accessible bioprinting: adaptation of a low-cost 3D-printer for precise cell placement and stem cell differentiation [J/OL]. Biofabrication, 2016, 8(2): 025017 [2017-02-21]. https://www.researchgate.net/profile/Patrick_Sachs. DOI: 10.1088/1758-5090/8/2/025017.

(收稿日期: 2017-06-19)

(本文编辑: 杜娟)

读者·作者·编者

本刊投稿方式

投稿请登录中华医学会网站 (<http://www.cma.org.cn>), 登录后点击“业务中心”, 经中华医学会远程稿件处理系统 (<http://www.cma.org.cn/ywzx/index.html>) 或中华医学会杂志社网站 (<http://www.medline.org.cn/>), 根据提示进行注册后投稿。投稿时请使用 Word 格式 (.doc 文件类型), 投稿后请注意自留原稿, 并保留论文相关的原始资料, 以备稿件修改补充所用。投稿后请从“业务中心”下载“中华医学会系列杂志论文投送介绍信及授权书(中文版)”, 填写有关项目并请每位作者亲笔签字, 加盖单位公章后寄 2 份至本刊编辑部, 其中作者签名顺序和作者单位著录名称应与投稿时文章中著录的相一致, 如有变更应由每位作者同意并请通信作者告知编辑部。投稿请注意: (1) 在非公开刊物发表的稿件、学术会议交流的文章、已用非中文文字期刊发表的文稿不属于一稿两投, 但投稿时应向编辑部说明, 非中文文字期刊已发表的文稿须征得首次发表期刊的同意。(2) 作者须告知与该研究有关的利益冲突, 如该研究被某机构资金资助的声明或与审稿人的利益关系。(3) 如涉及保密问题, 需附有关部门审查同意发表的证明。

本刊稿件处理流程

本刊实行以同行审稿为基础的三级审理制度(编辑初审、专家外审、编委会终审)稿件评审。编辑部在稿件审理过程中坚持客观、公平、公正的原则, 郑重承诺审稿过程中尊重和保护审稿专家、作者及稿件的私密权。专家审理认为不宜刊用的稿件, 编辑部将告知作者专家的审理意见, 对稿件处理有不同看法的作者有权向编辑部申请复议, 但请写出申请理由和意见。

稿件审理过程中作者可通过“中华医学会杂志社远程稿件管理系统”查询稿件的审理结果。作者如需要采用通知或退稿通知可与编辑部联系。编辑部发给作者修改再审稿的稿件, 如 2 个月没有修回, 视为作者自行撤稿。编辑部的各种通知将通过 Email 发出, 投稿后和稿件审理期间请作者留意自己的电子信箱。作者自收到采用通知之日起, 即视为双方建立合约关系, 作者如撤稿必须向编辑部申诉理由并征得编辑部同意。一旦稿件进入编排阶段, 作者不应提出自撤稿件, 在此期间因一稿两投或强行撤稿而给本刊造成不良影响和/或经济损失者, 编辑部有权给以公开曝光、通报并实施经济赔偿, 作者自行承担一切责任和后果。

根据《中华人民共和国著作权法》的相关条文, 本刊编辑可对待发表的来稿按照编辑规范和专业知 识进行文字加工、修改和删减, 修改后的稿件作者须认真校对核实, 修改涉及文章的核心内容时双方应进行沟通并征得作者同意。除了编辑方面的技术加工以外, 作者对已经发表论文的全部内容文责自负。稿件编辑流程中编辑退回作者修改的稿件逾期 2 个月不修回者, 视作自行撤稿。

(本刊编辑部)