

# 自体骨髓间充质干细胞移植治疗增生性糖尿病视网膜病变的安全性

梁庆玲 李世迎 段平 刘勇 阴正勤

400038 重庆,陆军军医大学西南医院眼科医院 视觉损伤与修复重庆市重点实验室

通信作者:刘勇,Email:liuyy99@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2018.11.007

**【摘要】** **目的** 观察视网膜下间隙移植自体骨髓间充质干细胞(ABMSCs)治疗增生性糖尿病视网膜病变(PDR)的安全性。**方法** 采用系列病例观察研究方法。于2014年3月至2015年12月纳入在陆军军医大学西南医院就诊并行视网膜下间隙移植 ABMSCs 的 PDR 患者 4 例 4 眼,其中男 3 例,女 1 例;平均年龄 55 岁;平均糖尿病病程 10 年,治疗前血糖均控制良好。所有入组患者进行常规眼科检查,术后 1 周、1 个月、3 个月、6 个月、9 个月、12 个月进行视力、裂隙灯显微镜、彩色眼底照相、荧光素眼底血管造影(FFA)和光相干断层扫描(OCT)检查。**结果** 所有患者在成功接受移植手术后均未出现任何全身及眼部不适。彩色眼底照相及 OCT 观察到移植的细胞存在于视网膜下间隙,并持续至移植术后 1 个月。FFA 检查显示,后极部荧光素渗漏在术后 1~3 个月逐渐减轻,无灌注区范围无明显变化;1 例术前伴有黄斑水肿患者 FFA 及 OCT 检查显示水肿逐渐消退,疗效持续至术后 3 个月。2 例患者最佳矫正视力(BCVA)分别由术前的手动/眼前(0 ETDRS)和数指/50 cm(0 ETDRS)提高至术后的 20/20(84 ETDRS)和 20/200(38 ETDRS),2 例患者在移植前后视力稳定在 20/100。所有患者在术后第 3 个月行移植眼全视网膜光凝,后续按照常规玻璃体手术治疗 DR 处理,均无其他并发症发生。**结论** 视网膜下间隙移植 ABMSCs 治疗 PDR 是安全的,移植细胞发挥了局部抗炎的作用,未发现细胞的增生反应及循环改善效果。

**【关键词】** 糖尿病视网膜病变;自体骨髓间充质干细胞;视网膜下腔移植

**基金项目:** 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2013CB967002);国家重点研发计划项目(2016YFC1101103)

临床试验注册:chictr.org.cn;ChiCTR-ONC-16008055

**Safety of autologous bone marrow mesenchymal stem cells transplantation in proliferative diabetic retinopathy patients** Liang Qingling, Li Shiyong, Duan Ping, Liu Yong, Yin Zhengqin

Army Medical University, Southwest Eye Hospital, Key Laboratory of Visual Damage and Regeneration & Restoration of Chongqing, Chongqing 400038, China

Corresponding author: Liu Yong, Email: liuyy99@163.com

**【Abstract】** **Objective** To investigate the safety of autologous bone marrow mesenchymal stem cells (ABMSCs) transplantation into the subretinal space for the treatment of proliferative diabetic retinopathy (PDR).

**Methods** The clinical data of four PDR patients (four eyes) who received ABMSCs transplantation into the subretinal space were collected in Army Medical University, Southwest Eye Hospital from March 2014 to December 2015, including 3 males and 1 female; the average age was 55 years old; the average course of diabetes was 10 years, and the blood glucoses were all well controlled before treatment. All the patients underwent conventional ophthalmologic examination, and visual acuity, slit lamp microscope, color fundus photography, fluorescein angiography (FFA) and optical coherence tomography (OCT) examination were performed at 1 week, 1 month, 3 months, 6 months, 9 months and 12 months after surgery. This study protocol was approved by Ethic Committee of Army Medical University, Southwest Eye Hospital (No. 2013-34). **Results** Four patients diagnosed as PDR were enrolled in this study. All patients were performed ABMSC transplantation, and no one felt discomfort after treatment. FFA and OCT showed that the transplanted cells were present in the subretinal space until 1 month after transplantation. The macular edema of one patient diagnosed as macular edema preoperatively was relieved gradually after transplantation, and the effects lasted 3 months after transplantation. The preoperative best corrected visual acuity (BCVA) of the two patients were improved from hand movement and finger counting to 20/20 (84 ETDRS) and 20/200 (38 ETDRS) after transplantation, respectively, and the visual acuities of the other two eyes were both stable. All patients underwent panretinal photocoagulation 3 months after transplantation, and the follow-up treatment complied with the routine of post-vitreotomy for DR, no complications occurred during the follow-up period. **Conclusions** Subretinal transplantation of ABMSCs for PDR is safe. The transplanted cells show local anti-inflammatory effect, and no effect on

cell proliferation or circulatory improvement are observed.

**[Key words]** Diabetic retinopathy; Autologous bone marrow mesenchymal stem cell; Subretinal transplantation

**Fund program:** National Basic Research Program of China (973 Program) (2013CB967002); National Research Program of China (2016YFC1101103)

**Trial Registration:** chictr.org.cn; ChiCTR-ONC-16008055

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是由糖尿病引起的一种常见而严重的眼部微血管并发症,严重影响患者身体健康和生活质量,是成年人低视力和致盲的主要原因之一<sup>[1-2]</sup>。目前尚缺少能够治愈 DR 的方法,只能通过各种手段进行预防和控制,延缓疾病的发展。在严格管理血糖、血压及血脂水平的前提下<sup>[3-4]</sup>,DR 常见的治疗方法包括激光治疗、玻璃体腔内注射抗新生血管药物以及玻璃体切割手术<sup>[5-9]</sup>,这些治疗方法有效地保护了患者残留的中心视力,但难以改善持续存在的眼内炎症微环境和修复受损的视网膜组织。近十年,随着干细胞再生医学的发展,利用干细胞修复受损组织,改善局部微环境成为可能。间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一类具有自我更新、多向分化潜能以及低免疫源性特点的成体干细胞,它能够发挥损伤修复、抗炎以及神经营养等功能<sup>[10-11]</sup>。目前,MSCs 已经在临床上用于治疗多种疾病,包括退行性病变、神经损伤、自身免疫性疾病、器官移植和血管性疾病等,并取得较为肯定的疗效<sup>[12-13]</sup>。同时,MSCs 用于治疗糖尿病及其并发症,如糖尿病神经病变、慢性肢体缺血及糖尿病足等的临床研究也正在进行中,并已取得较为可喜的成果<sup>[14-17]</sup>。已有研究报道,采用静脉输注自体骨髓间充质干细胞(autologous bone marrow mesenchymal stem cells, ABMSCs)可以有效改善糖尿病患者的血糖控制效果,减轻黄斑水肿,提高 DR 患者的视功能<sup>[18]</sup>,其主要机制可能是 MSCs 能在体内分泌多种生长因子,改善患者的免疫状态,控制炎症。相比其他来源的 MSCs, ABMSCs 获取更方便,免疫排斥风险低,是理想的移植细胞来源。相应的动物实验发现,静脉输注的 ABMSCs 难以移行到病变视网膜组织中发挥局部疗效。由于 DR 视网膜血管慢性炎症对循环系统中 ABMSCs 的趋化作用不及其他脏器,并且存在血-视网膜屏障,无法明确静脉输注后 ABMSCs 向视网膜的归巢以及对视网膜细胞的直接作用。因此,选择视网膜下间隙注射 ABMSCs 的局部移植方式直接作用于视网膜可能是一种更理想的移植方式。目前尚未见视网膜下间隙注射 ABMSCs 治疗增生性 DR (proliferative DR, PDR)的相关报道。本研究探讨视网膜下间隙移植 ABMSCs 治疗 DR 的安全性和有效性,探索 PDR 临床

治疗的新方法。

## 1 资料与方法

### 1.1 资料

**1.1.1 一般资料** 采用系列病例观察研究方法,纳入 2014 年 3 月至 2015 年 12 月于陆军军医大学西南医院就诊并行视网膜下间隙移植 ABMSCs 的 PDR 患者 4 例 4 眼,其中男 3 例,女 1 例;平均年龄 55 岁;平均糖尿病史 10 年;治疗前血糖水平控制在 5.9 mmol/L。所有患者无糖尿病肾病、糖尿病足、糖尿病周围神经病变等糖尿病慢性并发症。本研究通过陆军军医大学西南医院伦理委员会审批[批文号:2013 年科研第(34)号],并进行临床试验注册(No. ChiCTR-ONC-16008055; chictr.org.cn)。临床研究方案见图 1,受试者术前基本情况见表 1。

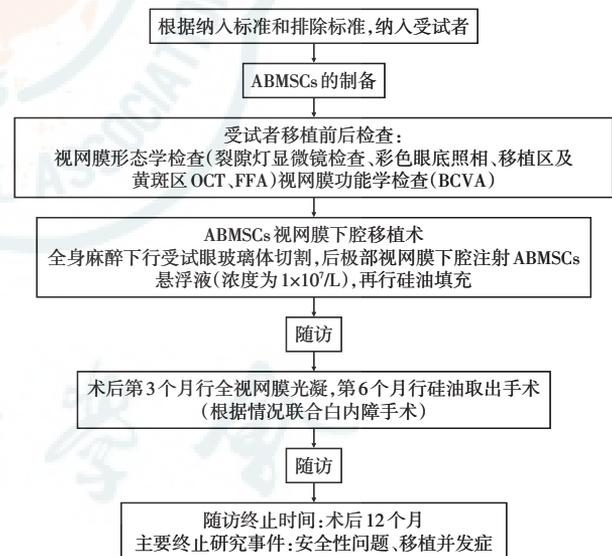


图 1 ABMSCs 视网膜下腔移植治疗增生期糖尿病视网膜病变的研究方案及流程 注: ABMSCs: 自体骨髓间充质干细胞; OCT: 光相断层扫描; FFA: 荧光素眼底血管造影; BCVA: 最佳矫正视力

**1.1.2 受试者纳入标准及排除标准** 纳入标准: 年龄 18 ~ 65 岁, 诊断为 PDR 不合并牵引性视网膜裂孔, 并签署知情同意书的患者; 受试眼最佳矫正视力 (best corrected visual acuity, BCVA)  $\leq 0.3$ , 采用糖尿病视网膜病变早期治疗研究 (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study, ETDRS) 视力检查  $\leq 55$  个字母; 受试眼行 B 型超声检查提示玻璃体积血, 或眼底检查提示

表 1 DR 患者 ABMSCs 移植前基线特征

患者	性别	年龄 (岁)	空腹血糖水平 (mmol/L)	糖尿病史 (年)	眼别	诊断*	受试眼眼底情况
1	男	56	5.50	2	左眼	左眼 PDR (Ⅳ期), 左眼玻璃体积血	玻璃体积血, 眼底窥不清
2	男	57	3.49	14	左眼	左眼 PDR (Ⅳ期), 左眼玻璃体积血	玻璃体积血, 眼底窥不清
3	男	57	9.11	20	右眼	左眼 PDR (Ⅳ期), 左眼玻璃体积血	隐约见视盘边界清楚、色淡, 视网膜平伏
4	女	49	5.71	4	右眼	左眼 PDR (Ⅳ期), 左眼玻璃体积血	隐约见视盘边界清楚、色淡, 视网膜散在黄白色渗出及点状出血, 玻璃体视网膜牵引

注: DR:糖尿病视网膜病变; ABMSCs:自体骨髓间充质干细胞; PDR:增生性糖尿病视网膜病变; \*:根据国际眼科学会 2002 年推荐的 DR 国际分期标准进行分期

受试眼有内眼手术史或视有增生膜形成, 需行玻璃体切割术。排除标准:任一眼存在可能影响研究结果解释的疾病, 如严重白内障、青光眼和视网膜血管阻塞等; 网膜激光光凝及抗血管内皮细胞生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 治疗; 合并脑卒中、心绞痛、肾功能不全等, 以及不适合参加临床试验的其他全身慢性疾病; 空腹血糖 > 8 mmol/L, 或药物未能控制的高血压 (收缩压 > 140 mmHg 或舒张压 > 90 mmHg) (1 mmHg = 0.133 kPa)。

1.2 方法

1.2.1 ABMSCs 的制备 采集受试者的骨髓送至陆军军医大学西南医院生物治疗中心 GMP 实验室进行 ABMSCs 制备。用于临床试验的 ABMSCs 符合以下标准: (1) 细胞安全性检测标准 无菌, 未检测到内毒素、支原体、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒和梅毒螺旋体。 (2) 细胞质量的检测标准 细胞活力不小于 95%, CD11b、CD19、CD34、CD45 和人类白细胞抗原 (human lymphocyte antigen, HLA)-DR 阳性率均小于 0.5%, CD44、CD73、CD90 和 CD105 阳性率均大于 95% [18-19]。

1.2.2 治疗方法 纳入患者在完善术前相关检查并排除手术禁忌证后, 在全身麻醉下进行受试眼玻璃体切割+视网膜下 ABMSCs 移植+硅油填充术。术中建立标准的 25G 玻璃体切割手术三通道, 行受试眼玻璃体切割及增生膜剥离。采用 39G 视网膜微注射针, 在后极部 (避开黄斑区及视盘) 行微创视网膜下注射, 将 1 × 10<sup>7</sup>/L ABMSC 悬浮液缓慢注入视网膜下腔, 产生视网膜小泡, 再行硅油填充 (见文后二维码)。所有患者在术后 3 个月行全视网膜激光治疗, 按照 DR 手术常规行后期硅油取出, 部分患者适时行白内障手术。

1.2.3 治疗安全性及有效性评估 随访时间节点为术前和术后 1 周、1 个月、3 个月、6 个月、9 个月和 12

个月, 主要检查项目包括: 视力检查 (snellen 视力及 ETDRS 视力)、TOPCON SL-2G 裂隙灯显微镜观察受试眼前后节情况、彩色眼底照相 (nonmydα-D 眼底照相系统, 日本 Kowa 公司)、荧光素眼底血管造影 (fundus fluorescein angiography, FFA) (HRA 眼底荧光造影系统, 德国海德堡公司)、黄斑区及移植区光相干断层扫描 (optical coherence tomography, OCT) (3D OCT-1000, 日本 Topcon 公司)。

2 结果

4 例患者 4 眼术前检查 BCVA 分别为手动/眼前至 20/100 (0 ~ 49 ETDRS)。受试者移植术前检查无代谢性白内障, B 型超声检查提示玻璃体积血和玻璃体视网膜牵引, 有明确的手术适应证。

移植后 1 周, 患者日常生活无不适, 未出现发热、头痛、头晕、恶心、呕吐和过敏等不良反应。受试眼未出现感染、局部疼痛、高眼压等手术相关并发症。裂隙灯显微镜检查受试眼前节无出血及感染体征, 玻璃体清亮, 未见明显浮游细胞, 未见眼底出血。术后 1 周, 彩色眼底照相可以清晰观察到移植区呈黄白色局限性隆起, OCT 检查提示移植区视网膜下间隙可以观察到

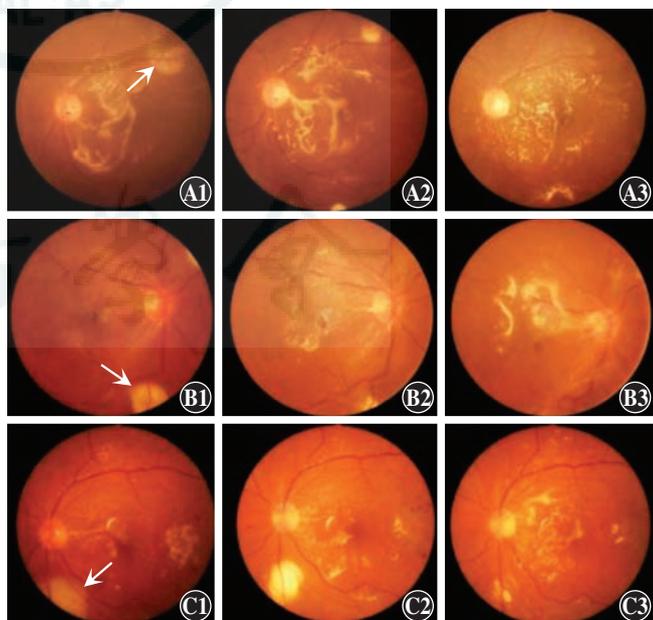


图 2 彩色眼底照相观察 1、2、3 号患者 ABMSCs 视网膜下间隙移植后眼底情况 移植后 1 d 可见移植区呈黄白色隆起 (白箭), 移植后 1 周彩色眼底照相可见移植区呈黄白色局限性隆起, 移植后 1 个月移植区未见明显黄白色隆起 A1:1 号患者移植后 1 d A2:1 号患者移植后 1 周 A3:1 号患者移植后 1 个月 B1:2 号患者移植后 1 d B2:2 号患者移植后 1 周 B3:2 号患者移植后 1 个月 C1:3 号患者移植后 1 d C2:3 号患者移植后 1 周 C3:3 号患者移植后 1 个月

移植的细胞团块,局限在移植点视网膜小泡下。术后 1 个月,彩色眼底照相移植细胞团块逐渐播散,移植区附近未发现视网膜下和视网膜表面增生膜(图 2),OCT 检查提示相应移植区无明显移植细胞,未见增生膜形成(图 3)。因 1、2、3 号患者受试眼合并玻璃体积血,本研究中采用术后 1~3 个月的 FFA 检查,观察受试眼的循环状态。术后 3 个月,3 眼受试眼后极部在

静脉期荧光素渗漏较术后 1 个月明显减轻(图 4),同时,本研究选取每例患眼 4 个象限的无灌注区进行跟踪观察,发现术后 3 个月无灌注区面积较术后 1 个月无明显增大或减轻(图 5)。4 号患者在移植前受试眼合并黄斑水肿,移植术后 1~3 个月,OCT 检查显示受试眼黄斑水肿逐渐减轻,FFA 检查显示后极部渗漏较术前减轻,以黄斑区表现更为明显(图 6)。

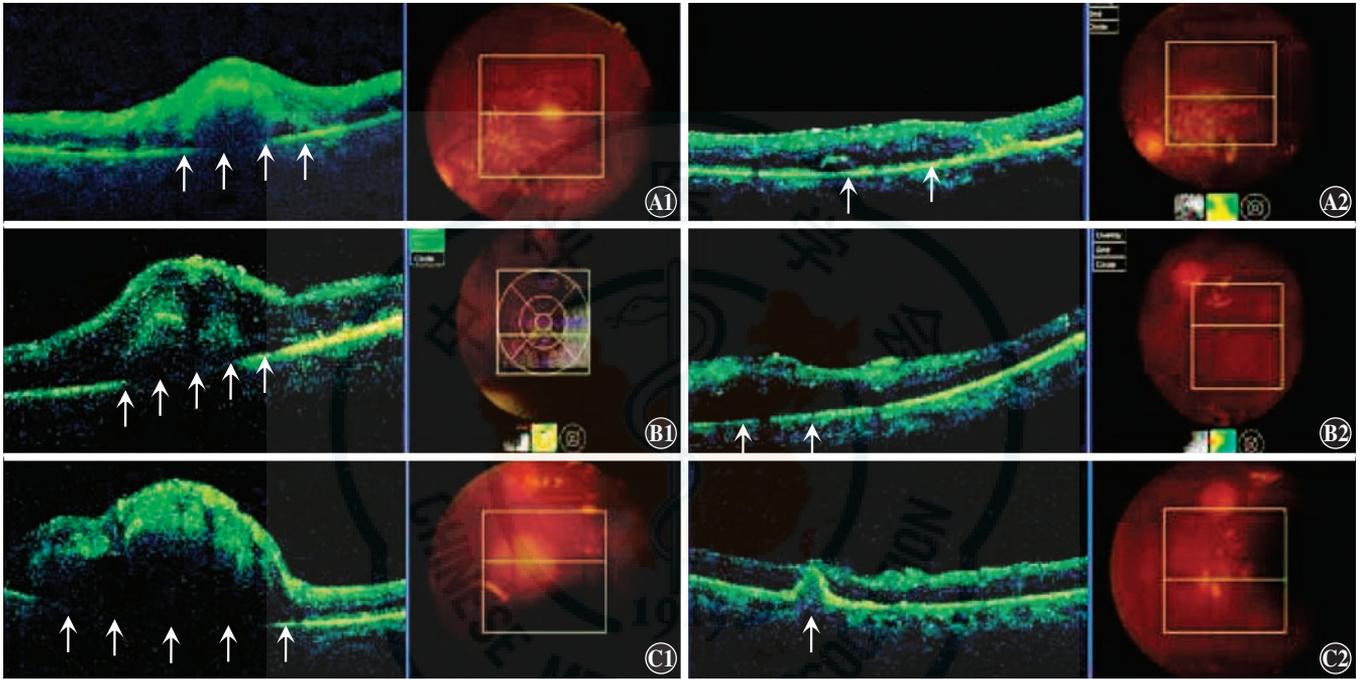


图 3 OCT 扫描示踪 1、2、3 号患者 ABMSCs 视网膜下间隙移植的细胞分布 术后 1 d 可见细胞团块局限在移植点视网膜小泡下(白箭),移植后 1 个月相应区域见到极少移植细胞,内界膜前无明显增强发射带(白箭) A1:1 号患者移植后 1 d A2:1 号患者移植后 1 个月 B1:2 号患者移植后 1 d B2:2 号患者移植后 1 个月 C1:3 号患者移植后 1 d C2:3 号患者移植后 1 个月

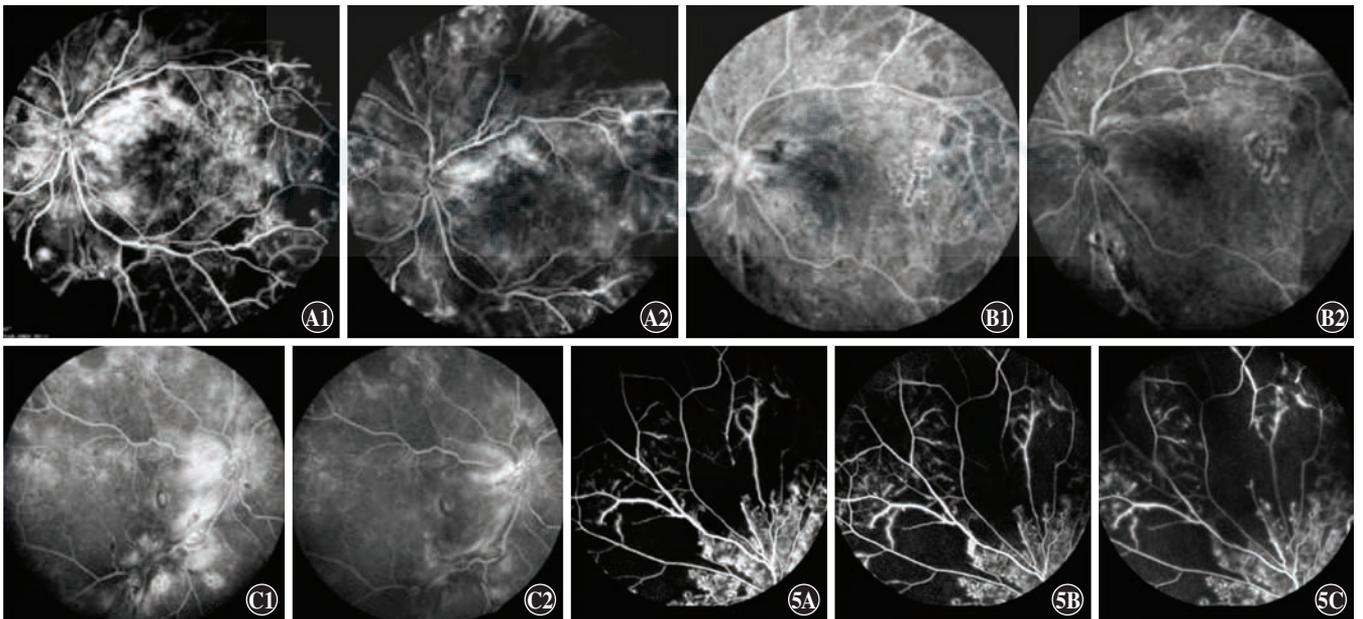


图 4 FFA 检查 1、2、3 号患者 ABMSCs 视网膜下间隙移植后眼底荧光素渗漏情况 术后 3 个月,受试眼后极部在静脉期荧光素渗漏较术后 1 个月明显减轻 A1:1 号患者移植后 1 d A2:1 号患者移植后 3 个月 B1:2 号患者移植后 1 d B2:2 号患者移植后 3 个月 C1:3 号患者移植后 1 d C2:3 号患者移植后 3 个月 图 5 FFA 检查 1、2、3 号患者 ABMSCs 视网膜下间隙移植后眼底无灌注区情况 术后 3 个月,无灌注区面积与术后 1 个月、2 个月相比无明显变化 A:术后 1 个月 B:术后 2 个月 C:术后 3 个月

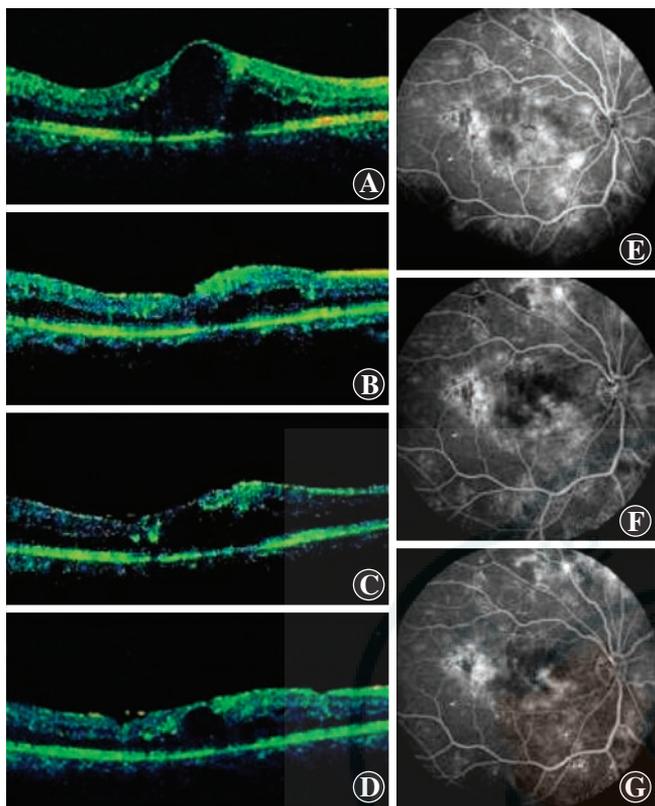


图 6 4 号患者在 ABMSCs 移植前后黄斑中心凹形态变化 A: 移植前黄斑 OCT 检查示中心凹正常形态消失, 黄斑区神经上皮层组织反射疏松增厚, 诊断黄斑水肿 B、C、D: 移植后 1、2、3 个月 OCT 检查示黄斑区神经上皮层组织反射增厚程度较移植前减轻 E: 移植前 FFA 检查示黄斑中心凹晚期弥漫高荧光 F、G: 移植后 1 个月、3 个月 FFA 检查示黄斑中心凹高荧光较移植前减轻

随访至术后第 3 个月, 所有受试者行移植眼全视网膜光凝治疗。术后 6 个月, 按照 DR 手术常规, 所有受试者行移植眼硅油取出手术, 1 号患者行白内障联合手术。术后 12 个月, 所有患者完成随访, 随访过程中均未出现视网膜表面或视网膜下异常细胞增生、新生血管性青光眼及严重的 PDR 表现。

1 号患者术前视力手动/眼前, 术后 1 个月提高至 20/50 (69 ETDRS), 随访至 12 个月, 视力 20/100 (50 ETDRS), 该例患者在延长随访期进行了白内障手术, 至术后 18 个月, BCVA 提高至 20/20 (84 ETDRS), 较治疗前提高。2 号患者术前视力数指/50 cm (0 ETDRS), 移植术后 1 个月提高至 20/200 (50 ETDRS), 至术后 12 个月, BCVA 稳定在 20/200 (38 ETDRS), 较治疗前提高。3 号患者术前视力 20/100 (51 ETDRS), 术后 2 个月提高至

20/100 (56 ETDRS), 术后 12 个月 BCVA 为 20/100 (50 ETDRS), 与术前比较无明显变化。4 号患者术前视力 20/100 (49 ETDRS), 移植术后视力相对稳定, 稍有波动, 术后 12 个月 BCVA 为 20/100 (47 ETDRS), 与术前比较无明显变化 (表 2)。

### 3 讨论

本研究中成功地 4 例 PDR 患者 4 眼进行了视网膜下间隙 ABMSCs 移植。研究发现, 移植手术未引起全身及局部排斥反应及变态反应, 彩色眼底照相和 OCT 观察到移植细胞位于视网膜下间隙并逐渐播散, 未发现过度增生或成瘤反应, 患者局部荧光素渗漏在术后 3 个月逐渐减轻, 1 例患者黄斑水肿逐渐减轻, 所有患者的无灌注区手术前后未见明显变化; 2 例患者术后视力改善, 2 例维持不变。本研究结果表明, ABMSCs 视网膜下间隙注射是安全的, 对视网膜局部微环境发挥了抗炎及免疫调控作用, 但对视网膜循环无改善效果。

目前诸多临床试验证明, 静脉输注 MSCs 对血液系统或免疫系统疾病是安全、有效的, 已逐步向临床转化<sup>[20-21]</sup>, 但 MSCs 局部移植到病变组织是否安全、有效, 尚未有共识。由于同种异体 MSCs 局部移植可能诱发排斥反应, 本研究中采用 ABMSCs 移植, 证实该细胞在 DR 组织中有较好的组织相容性, 未导致严重的增生及炎症反应。Kuriyan 等<sup>[22]</sup>报道玻璃体腔注射自体 MSCs 治疗视网膜色素变性 (retinitis pigmentosa, RP) 可导致严重的并发症, 包括高眼压、白内障、视网膜出血, 甚至增生性玻璃体视网膜病变、视网膜脱离等, 严重影响患者的视功能。该警示性报道指出, 在未对移植细胞的成分做出严格鉴定的前提下直接将 MSCs 注入到玻璃体腔是危险的。导致严重并发症的可能原因在于: 移植的细胞在玻璃体纤维支架下移行播散, 并在玻璃体的胶原纤维及酸性黏多糖微环境下

表 2 PDR 患者 ABMSCs 移植前后 BCVA 的变化 [ETDRS 视力 (Snellen 视力)]

时间	1 号患者		2 号患者		3 号患者		4 号患者	
	移植眼	对侧眼	移植眼	对侧眼	移植眼	对侧眼	移植眼	对侧眼
移植前	0 (手动)	82 (20/22)	0 (数指)	69 (20/40)	51 (20/100)	77 (20/22)	49 (20/100)	80 (20/25)
移植后 1 个月	69 (20/50)	79 (20/25)	50 (20/200)	73 (20/33)	55 (20/66)	77 (20/22)	45 (20/100)	83 (20/20)
移植后 2 个月	69 (20/50)	80 (20/22)	35 (20/400)	73 (20/50)	56 (20/100)	82 (20/22)	48 (20/100)	82 (20/20)
移植后 3 个月	68 (20/66)	88 (20/22)	34 (20/200)	75 (20/40)	47 (20/100)	81 (20/22)	42 (20/100)	84 (20/20)
移植后 6 个月	65 (20/66)	85 (20/22)	31 (20/250)	72 (20/40)	46 (20/100)	81 (20/20)	46 (20/100)	82 (20/20)
移植后 9 个月	62 (20/50)	76 (20/33)	38 (20/200)	70 (20/40)	43 (20/200)	77 (20/33)	47 (20/100)	82 (20/20)
移植后 12 个月	50 (20/100)	73 (20/33)	38 (20/200)	70 (20/40)	50 (20/100)	80 (20/22)	46 (20/100)	79 (20/25)

注: PDR: 增生性糖尿病视网膜病变; ABMSCs: 自体骨髓间充质干细胞; BCVA: 最佳矫正视力

增生和分化为成纤维样细胞,同时 RP 患者慢性炎症微环境,进一步招募巨噬细胞发挥吞噬作用,引起更为严重的炎症及纤维增生反应<sup>[23]</sup>。我们前期进行了同种异体视网膜祖细胞视网膜下间隙移植治疗 RP 的研究,采用  $1 \times 10^6$  细胞量移植,未观察到严重增生及炎症反应<sup>[24]</sup>。本研究在严格鉴定 ABMSCs 成分的基础上,采用 39G 视网膜微注射针行微创视网膜下注射,创口小,ABMSCs 存在于视网膜神经上皮与色素上皮之间的固有间隙,避免了对视网膜各层结构的扰动,处于相对安静的环境中。同时,移植后的玻璃体腔硅油内填充,发挥了对炎症反应的抑制作用,并将细胞局限在移植区视网膜小泡下,防止细胞向玻璃体腔播散,避免了纤维增生反应及视网膜牵拉的发生。因此,本研究中认为,一定剂量的 ABMSCs 视网膜下间隙注射是安全的。

糖尿病患者长期高血糖导致血管内细胞受损,释放众多炎症因子,包括肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、趋化因子 MCP-1、白细胞介素 (interleukin, IL)-1 $\beta$ 、VEGF 等在体内水平升高,视网膜因血液循环丰富,成为主要受损的靶器官,这些细胞因子的上调导致视网膜小胶质细胞的激活<sup>[25-27]</sup>,进一步使视网膜处于炎症反应及缺血缺氧状态,损害血-视网膜屏障,导致微血管瘤、黄斑水肿和新生血管等病理改变<sup>[28-29]</sup>。因此,在 DR 发病过程中,炎症因子发挥了重要作用。已有研究表明,ABMSCs 作为一类具有损伤修复、抗炎及营养神经等功能的成体干细胞,可下调 IL-6、IL-8 等促炎症因子水平<sup>[30]</sup>,同时分泌多种介质调节 T 细胞及 B 细胞的增生和激活<sup>[31]</sup>,改善视网膜局部微环境,发挥抗炎作用。本研究在 4 例患者中均观察到 ABMSCs 局部移植后相应移植区的荧光素渗漏减轻,1 例患者黄斑水肿逐渐改善,表明 ABMSCs 在视网膜下间隙能长期存活,并发挥一定的免疫调节作用,改善 DR 患者眼底慢性炎症环境。

同时,本研究在随访过程中未观察到视网膜无灌注区循环改善。目前,ABMSCs 局部移植治疗其他疾病的探索也正在进行。研究表明,ABMSCs 可以改善心脏冠状动脉缺血导致的心肌梗死,促进循环再通,增加心输出量<sup>[32]</sup>。然而,本研究表明,DR 患者进行视网膜下间隙移植 ABMSCs 后,视网膜血管无灌注区范围并无实质性改善,也未观察到血管再通现象,提示 ABMSCs 很难在视网膜层间移行并分化为血管内皮细胞。在视网膜下注射 ABMSCs 的动物实验研究中,发现少量 ABMSCs 可以在体内分化为视网膜感光细胞或神经节样细胞<sup>[18,33]</sup>,发挥神经再生功能,尚未有明确依据证明 ABMSCs 可以在视网膜分化为血管内皮细胞

或周细胞。同时本研究中选择移植的靶点在视网膜下间隙,细胞分布在视网膜神经层与色素上皮层之间,移植的细胞难以移行到神经视网膜层间。由于视网膜血管内或视网膜层间注射在技术上难以实现,因此可能对 DR 微循环的改善无显著作用。另外,本研究中,1 号患者在延长的随访期进行了白内障手术,术后视力提高至 20/20,其余 3 例患者视力维持在 20/200 ~ 20/100,未见明显的视力持续改善。因此本研究在开展 4 例临床试验后,未再继续进行。同时,本研究中在术后 3 个月的随访期内未见无灌注区循环改善。为充分保障患者的治疗权,我们对 4 例患者进行了全视网膜光凝治疗,这一干预措施也可能会干扰我们继续观察视网膜循环及炎症改善情况。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] 王芳,王春芳,闫建林. 45 岁以上糖尿病患者中糖尿病视网膜病变的患病率调查及相关危险因素分析[J]. 中华实验眼科杂志, 2013, 31(8): 783-787. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2013. 08. 018.  
Wang F, Wang CF, Yan JL. Survey of diabetic retinopathy of the diabetic population over 45 years old [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2013, 31(8): 783-787. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2013. 08. 018.
- [2] Klein BE. Overview of epidemiologic studies of diabetic retinopathy [J]. Ophthalmic Epidemiol, 2007, 14(4): 179-183. DOI: 10. 1080/09286580701396720.
- [3] 金佩瑶,彭金娟,邹海东,等. 上海市新泾社区 2 型糖尿病居民 5 年随访的前瞻性调查研究 1. 糖尿病视网膜病变和糖尿病黄斑水肿的发病率及危险因素[J]. 中华实验眼科杂志, 2016, 34(4): 363-367. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 04. 016.  
Jin PY, Peng JJ, Zou HD, et al. A 5-year prospective study of type 2 diabetes patients in Shanghai Xinjing Community 1. The incidence and risk factors of diabetic retinopathy and diabetic macular edema in Chinese type 2 diabetes residents [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2016, 34(4): 363-367. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 04. 016.
- [4] Frank RN. Diabetic retinopathy and systemic factors [J]. Middle East Afr J Ophthalmol, 2015, 22(2): 151-156. DOI: 10. 4103/0974-9233. 154388.
- [5] Ferris F. Early photocoagulation in patients with either type I or type II diabetes [J]. Trans Am Ophthalmol Soc, 1996, 94: 505-537.
- [6] Chew EY, Ferris FL, Csaky KG, et al. The long-term effects of laser photocoagulation treatment in patients with diabetic retinopathy: the early treatment diabetic retinopathy follow-up study [J]. Ophthalmology, 2003, 110(9): 1683-1689. DOI: 10. 1016/S0161-6420(03)00579-7.
- [7] Banaee T, Ashraf M, Conti FF, et al. Switching anti-VEGF drugs in the treatment of diabetic macular edema [J]. Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina, 2017, 48(9): 748-754. DOI: 10. 3928/23258160-20170829-10.
- [8] Jampol LM, Glassman AR, Bressler NM, et al. Anti-vascular endothelial growth factor comparative effectiveness trial for diabetic macular edema: additional efficacy post hoc analyses of a randomized clinical trial [J]. JAMA Ophthalmol, 2016, 134(12): 1429-1434. DOI: 10. 1001/jamaophthalmol. 2016. 3698.
- [9] Someya H, Muraoka T, Kanda T, et al. Results and prognostic factors for visual outcome following micro incision vitrectomy surgery in proliferative diabetic retinopathy [J]. Nippon Ganka Gakkai Zasshi, 2016, 120(10): 682-688.
- [10] Li X, Bai J, Ji X, et al. Comprehensive characterization of four different

- populations of human mesenchymal stem cells as regards their immune properties, proliferation and differentiation [J]. *Int J Mol Med*, 2014, 34(3): 695-704. DOI:10.3892/ijmm.2014.1821.
- [11] 吴利安, 王从毅, 杨文, 等. 自体骨髓间充质干细胞移植对兔角膜碱烧伤炎症反应的抑制作用[J]. *中华实验眼科杂志*, 2015, 33(9): 798-804. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.09.007.  
Wu LA, Wang CY, Yang W, et al. Inhibition of bone marrow mesenchymal stem cell autologous transplantation on inflammation following rabbit corneal alkali burn[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2015, 33(9): 798-804. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.09.007.
- [12] Kharaziha P, Hellström PM, Noorinayer B, et al. Improvement of liver function in liver cirrhosis patients after autologous mesenchymal stem cell injection: a phase I-II clinical trial [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2009, 21(10): 1199-1205. DOI: 10.1097/MEG.0b013e32832a1f6c.
- [13] Xue HL, Zeng WZ, Wu XL, et al. Clinical therapeutic effects of human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells transplantation in the treatment of end-stage liver disease[J]. *Transplant Proc*, 2015, 47(2): 412-418. DOI:10.1016/j.transproceed.2014.10.048.
- [14] 陈莉, 陈松. 间充质干细胞治疗早期糖尿病视网膜病变研究进展[J]. *中华实验眼科杂志*, 2016, 34(7): 667-671. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.07.020.  
Chen L, Chen S. Research progress of mesenchymal stem cells for the treatment of diabetic retinopathy [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2016, 34(7): 667-671. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.07.020.
- [15] Park SS. Cell therapy applications for retinal vascular diseases: diabetic retinopathy and retinal vein occlusion [J/OL]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57(5): ORSFj1-1ORSFj10 [2018-07-10]. <https://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2518376>. DOI: 10.1167/iovs.15-17594.
- [16] Davey GC, Patil SB, O'Loughlin A, et al. Mesenchymal stem cell-based treatment for microvascular and secondary complications of diabetes mellitus [J/OL]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2014, 5: 86 [2018-08-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4047679/>. DOI:10.3389/fendo.2014.00086.
- [17] Griffin TP, Martin WP, Islam N, et al. The promise of mesenchymal stem cell therapy for diabetic kidney disease [J/OL]. *Curr Diab Rep*, 2016, 16(5): 42 [2018-08-16]. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11892-016-0734-6>. DOI:10.1007/s11892-016-0734-6.
- [18] Gu X, Yu X, Zhao C, et al. Efficacy and safety of autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with diabetic retinopathy [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(1): 40-52. DOI:10.1159/000492838.
- [19] Makhloogh A, Shekarchian S, Moghadasali R, et al. Safety and tolerability of autologous bone marrow mesenchymal stromal cells in ADPKD patients [J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 116 [2018-08-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC28535817/>. DOI:10.1186/s13287-017-0557-7.
- [20] Castello LM, Leone M, Adamini A, et al. Analysis of mesenchymal stromal cell engraftment after allogeneic hset in pediatric patients; a Large Multicenter Study [J/OL]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2018 [2018-09-16]. <https://insights.ovid.com/crossref?an=00043426-900000000-97764>. DOI:10.1097/MPH.0000000000001305.
- [21] Riordan NH, Morales I, Fernández G, et al. Clinical feasibility of umbilical cord tissue-derived mesenchymal stem cells in the treatment of multiple sclerosis [J/OL]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 57 [2018-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5845260/>. DOI:10.1186/s12967-018-1433-7.
- [22] Kuriyan AE, Albini TA, Townsend JH, et al. Vision loss after intravitreal injection of autologous "Stem Cells" for AMD [J]. *N Engl J Med*, 2017, 376(11): 1047-1053. DOI:10.1056/NEJMoal609583.
- [23] Zhang X, Liu J, Yu B, et al. Effects of mesenchymal stem cells and their exosomes on the healing of large and refractory macular holes [J/OL]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2018 [2018-09-21]. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00417-018-4097-3>. DOI:10.1007/s00417-018-4097-3.
- [24] Liu Y, Chen SJ, Li SY, et al. Long-term safety of human retinal progenitor cell transplantation in retinitis pigmentosa patients [J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 209 [2018-09-03]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5622579/>. DOI: 10.1186/s13287-017-0661-8.
- [25] Huang H, Gandhi JK, Zhong X, et al. TNFalpha is required for late BRB breakdown in diabetic retinopathy, and its inhibition prevents leukostasis and protects vessels and neurons from apoptosis [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(3): 1336-1344. DOI:10.1167/iovs.10-5768.
- [26] Zhou J, Wang S, Xia X. Role of intravitreal inflammatory cytokines and angiogenic factors in proliferative diabetic retinopathy [J]. *Curr Eye Res*, 2012, 37(5): 416-420. DOI:10.3109/02713683.2012.661114.
- [27] Hernández C, Segura RM, Fonollosa A, et al. Interleukin-8, monocyte chemoattractant protein-1 and IL-10 in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy [J]. *Diabet Med*, 2005, 22(6): 719-722. DOI:10.1111/j.1464-5491.2005.01538.x.
- [28] Takagi H. Molecular mechanisms of retinal neovascularization in diabetic retinopathy [J]. *Intern Med*, 2003, 42(3): 299-301.
- [29] Stem MS, Gardner TW. Neurodegeneration in the pathogenesis of diabetic retinopathy: molecular mechanisms and therapeutic implications [J]. *Curr Med Chem*, 2013, 20(26): 3241-3250.
- [30] Kim DH, Yoo KH, Choi KS, et al. Gene expression profile of cytokine and growth factor during differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cell [J]. *Cytokine*, 2005, 31(2): 119-126. DOI: 10.1016/j.cyto.2005.04.004.
- [31] Prasanna SJ, Gopalakrishnan D, Shankar SR, et al. Pro-inflammatory cytokines, IFNgamma and TNFalpha, influence immune properties of human bone marrow and Wharton jelly mesenchymal stem cells differentially [J/OL]. *PLoS One*, 2010, 5(2): e9016 [2018-09-20]. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0009016>. DOI:10.1371/journal.pone.0009016.
- [32] Kim SH, Cho JH, Lee YH, et al. Improvement in left ventricular function with intracoronary mesenchymal stem cell therapy in a patient with anterior wall st-segment elevation myocardial infarction [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2018, 32(4): 329-338. DOI: 10.1007/s10557-018-6804-z.
- [33] Dong QY, Chen L, Gao GQ, et al. Allogeneic diabetic mesenchymal stem cells transplantation in streptozotocin-induced diabetic rat [J/OL]. *Clin Invest Med*, 2008, 31(6): E328-337 [2018-08-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19032902>.



(欲观视频  
即刻扫码)

(收稿日期:2018-09-27)

(本文编辑:刘艳)

读者·作者·编者

## 本刊对来稿中组织病理学彩色图片及电子显微镜图片中标尺的要求

如果作者稿件中包含有组织病理图、免疫荧光染色图、免疫组织化学图、电子显微镜图片,为了反映组织标本大小的最精确尺度,请在电子版图片的左下方附注标尺。

(本刊编辑部)