

视网膜内源性干细胞研究进展

朱瑞琳 综述 杨柳 审校

100034 北京大学第一医院眼科 视觉损伤与修复教育部重点实验室

通信作者:杨柳, Email:lucy02114@163.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.09.017

【摘要】 视网膜的神经细胞一旦损伤,便无法再生修复,利用干细胞疗法使神经细胞得到再生修复已成为当今研究的热点。视网膜中存在具有自我修复能力的内源性干细胞,激活视网膜中的内源性干细胞,利用其对损伤的视网膜神经元进行修复,具有重要的研究价值和应用前景,近年来受到世界神经生物学、眼科学等领域研究者的重视。鱼类、两栖类动物的视网膜具有较强的再生修复能力,而鸟类和哺乳类动物的视网膜的再生能力有限,且各类动物的视网膜再生存在各自的特征。睫状体边缘带、视网膜色素上皮细胞、Müller 细胞等细胞都是视网膜再生可能的细胞来源,如鱼类、鸟类和哺乳类动物新生成的视网膜细胞来自于视网膜 Müller 细胞,而两栖类动物再生的视网膜则来源于视网膜色素上皮细胞。各种视网膜内源性干细胞需要被活化后才能发挥干细胞特性对损伤的视网膜神经细胞进行修复,激活这些细胞的方法有多种,如利用兴奋性氨基酸、生长因子、转录因子、细胞内信号等。本文就不同物种,包括鱼类、两栖类、鸟类和哺乳类动物在内的视网膜的再生能力、睫状体边缘带、视网膜色素上皮细胞、Müller 细胞等不同的视网膜内源性神经干细胞的来源及各种能够活化视网膜内源性干细胞进行增生和分化的因素的相关研究进展进行综述。

【关键词】 视网膜再生; 神经干细胞; 内源性; Müller 细胞; 视网膜色素上皮细胞

基金项目: 国家自然科学基金项目(81170837、81470650); 北京大学第一医院归国人员启动基金项目(2015GG005)

Advances of research on endogenous retinal stem cells Zhu Ruilin, Yang Liu

Department of Ophthalmology, Peking University First Hospital, Key Laboratory of Vision Loss and Restoration, Ministry of Education, Beijing 100034, China

Corresponding author: Yang Liu, Email: lucy02114@163.com

[Abstract] The retinal neurons can not repair or regenerate once they are injured. Repairing the injured neurons by stem cell therapy is a hotspot in current study field. Endogenous stem cells exist in retina, which have the potential to restore retinal neural cells. Stimulating the endogenous retinal stem cells and using them to repair the injured retina has important research value and broad application prospects. It draws attention from neurobiology and ophthalmology researchers all over the world. The retinal regeneration ability of fish and amphibians is strong, while it is quite limited in birds and mammals. The retina regrowth character varies in different species. Ciliary marginal zone, retinal pigmented epithelial cells, and Müller cells are all potential cell sources for retinal regeneration. In fish, birds and mammals, the regenerated retinal neurons derived from Müller cells, while in amphibians they derived from RPE cells. The endogenous retinal stem cells need to be activated before they generated into retinal neurons. Researchers reported several methods to activate those cells, including using excitatory amino acid, growth factor, transcription factor, and intracellular signals. Here we reviewed the recent advances about retinal regeneration in different species including fish, amphibians, birds, and mammals; also the different source of endogenous retinal stem cells, including ciliary marginal zone, retinal pigmented epithelial cell, and Müller cell. Also, we reviewed the activation factors which could activate the endogenous retinal stem cells to proliferate and differentiate.

[Key words] Retinal regeneration; Neural stem cell; Endogenous; Müller cell; Retinal pigmented epithelial cell

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81170837, 81470650); Peking University First Hospital Scientific Research Starting Foundation for Returned Overseas Chinese Scholars (2015GG005)

视网膜是由多层不同神经细胞组成的复杂环路结构,可将光刺激信号转化为电信号传入大脑,形成视觉。很多疾病会导致视网膜神经细胞变性,如视网膜色素变性、年龄相关性黄斑变性、视网膜脱离、青光眼、糖尿病视网膜病变等,均会引起视网膜神经元发生退行性变,造成患者视力下降甚至致盲。

作为中枢神经系统的一部分,视网膜中的神经细胞一旦死亡便无法再生,因此视网膜变性所导致的视力损伤是不可逆的^[1]。目前临床上对各种视网膜变性疾病采取的治疗方法,例如补充神经营养因子、使用血管内皮生长因子抑制剂等,均不能挽救死亡的视网膜神经细胞^[2-3]。近年来干细胞研究取得了令人鼓舞的成绩,为视网膜疾病的修复带来了希望。

干细胞具有自我更新、高度增生和多向分化潜能。根据干细胞的来源不同可分为胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)和成体干细胞;根据其分化潜能不同可分为全能干细胞、多能干细胞和单能干细胞。干细胞除了直接替代损伤的细胞外,还可以分泌多种细胞因子和生长因子,发挥抗炎和神经保护作用,并诱导机体自我修复^[4-6]。Yoshida 等^[7]和 Davidson 等^[8]将骨髓间充质干细胞或诱导多能干细胞移植用于视网膜色素变性或年龄相关性黄斑变性的治疗,但如何选择适当的细胞类型,如何促进移植的干细胞迁移到视网膜内并整合到受体的视网膜细胞中是干细胞治疗中存在的主要问题。

研究发现,鱼类和两栖类等低等脊椎动物的视网膜受到损伤后视网膜自身可以再生并有效修复损伤,说明其视网膜中存在具有自我修复能力的内源性干细胞^[9,10],如果能够激活这些细胞,使其增生分化,从而对损伤的视网膜神经元进行修复,既避免了医学伦理上的争议,也减少了机体对外来细胞的排异,使新生成的神经元更容易整合到视网膜中发挥功能^[11]。因此,视网膜内源性神经干细胞的研究日益受到关注。就视网膜再生、视网膜内源性干细胞的相关研究进行综述。

1 视网膜再生

1.1 鱼类的视网膜再生

鱼类视网膜终生保持再生的能力,研究表明成年斑马鱼的视网膜不论受到药物、光照或激光损伤,视网膜的神经细胞均可以得到再生,视网膜的结构和功能可以得到完全恢复^[12-14]。DiCicco 等^[14]利用 OCT 对正常和受损的鱼视网膜组织交界区的细胞进行观察,发现在损伤后 3 周,视网膜结构基本得到修复。如果将鱼类的神经视网膜全部切除,只保留 RPE 细胞,则视网膜不会再生^[1],说明鱼类的视网膜再生只发生在神经视网膜细胞,其来源被证实为视网膜 Müller 细胞^[15]。若在视网膜损伤时同时保留 Müller 细胞和光感受器细胞,则可缩短视网膜再生的过程,并减少错构的发生^[16]。

1.2 两栖类动物的视网膜再生

蝾螈、蟾蜍等两栖类动物的肢体具有再生功能,曾经的研究认为,无尾目两栖动物只有在幼虫阶段才具有全部神经视网膜的再生能力,成年后在视网膜受到损伤时只有部分能够再生^[17]。然而,Yoshii 等^[18]研究发现,成年无尾目两栖动物的视网膜也具有再生能力,成年蟾蜍的视网膜被切除之后能够再

生。Beddaoui 等^[19]利用视网膜电图检测视网膜功能,发现蝾螈的视网膜在切除后 15 周,视网膜的功能可恢复至正常水平。但与鱼类不同的是,两栖类动物再生的视网膜由原有的 RPE 层生成,并非来自视网膜 Müller 细胞。

1.3 鸟类的视网膜再生

研究认为,鸟类的视网膜只有在胚胎早期才能再生^[17,20]。Fischer 等^[21]研究证实鸟类的视网膜在成年后仍可再生,在鸡视网膜边缘处存在与鱼类和两栖类相似的表达 *Pax6* 和 *Chx10* 等视网膜祖细胞基因的干细胞,在成年后仍能持续产生新的神经细胞。将 N-甲基-D-天门冬氨酸(N-methyl-D-aspartate, NMDA)注射到出生后 7 d 的鸡玻璃体腔中,2 d 后注射眼可见较多的增生细胞,可表达视网膜祖细胞标志物 *Chx10*、*Pax6* 和 *CASH-1*,这些细胞来自 Müller 细胞,随后它们迁移并可以分化成视网膜神经元^[20]。近期 Luz-Madriral 等^[22]研究表明,鸡胚视网膜损伤后 RPE 细胞会发生去分化,且在成纤维细胞生长因子 2(fibroblast growth factor-2, FGF-2)存在时可转分化为视网膜神经元。

1.4 哺乳类动物的视网膜再生

哺乳动物机体的再生能力极为有限但研究显示,在某些情况下哺乳动物的视网膜也具有一定的再生潜能^[17]。Ooto 等^[23]将 NMDA 注射到出生 6~7 周的大鼠玻璃体腔中,发现注射后第 2 天大鼠视网膜中可见增生细胞,多分布于内核层。这些细胞随后被证实为 Müller 细胞,它们迁移到外核层,可以分化为双极细胞和视杆细胞。视网膜在受到激光损伤、营养因子刺激、改变基因表达等情况下,都可以发生细胞增生,一些增生细胞可以转分化为视网膜神经元^[24-27]。Cicero 等^[28]发现,人和小鼠的睫状体色素上皮细胞在体外培养时能够形成细胞团,且在促进分化的培养液中可向神经细胞分化。对于人类视网膜再生的研究,目前仅有的几项临床研究集中于胚胎干细胞或诱导多能干细胞在视网膜疾病治疗中的应用,尚未见关于利用人类内源性视网膜干细胞对人类视网膜疾病进行治疗的相关研究。近期发表的一项研究将人胚胎干细胞移植到患者视网膜下治疗 Stargardt 病和年龄相关性黄斑变性,患者的视功能得到一定提高^[29],但仍存在伦理问题和安全性的争论。

可见,不仅鱼类、两栖类等低等动物的视网膜在损伤后能够再生,近年来的研究证据也表明,包括人类在内的哺乳动物的视网膜也同样具有再生能力,成年哺乳动物的视网膜中也存在着可以增生分化的视网膜干细胞。尽管目前研究中哺乳动物视网膜再生的能力非常局限,尚不足以利用其对视网膜变性类疾病进行治疗,但关于视网膜内源性干细胞的研究仍然为视网膜神经细胞的再生和修复提供了新的希望。

2 视网膜内源性干细胞的来源

2.1 睫状体边缘带

睫状体边缘带(ciliary marginal zone, CMZ)位于睫状体上皮和视网膜的连接区,CMZ 细胞表达视网膜祖细胞基因 *Pax6*、*Chx10*、*Sox2*、*Six3* 和 *Notch1* 等,有增生能力并在周边视网膜产生新神经元,分化并整合到视网膜神经结构中^[30]。Bhatia

等^[38]发现,人眼也存在类似于 CMZ 的区域。蛙类和鱼类 CMZ 在视网膜发育过程中持续增生,鸡 CMZ 细胞在表皮细胞生长因子(epidermal growth factor, EGF)、胰岛素样生长因子 1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)、胰岛素等外源性生长因子的刺激下生长速度加快,但只能生成双极细胞和无长突细胞^[21]。鱼和两栖类动物的视网膜损伤后,CMZ 可生成破坏的细胞类型,但鸡 CMZ 细胞在视网膜受到急性损伤时不能增生^[30,32]。成熟脊椎动物的视网膜 CMZ 的再生能力极有限^[1,9]。

2.2 RPE 细胞

蝶螈、蟾蜍等两栖类动物的视网膜全部去除后仍然能够再生,其来源就是 RPE 细胞,RPE 细胞增生并形成 2 层新的上皮层——色素层和无色素层,无色素层视网膜表达视网膜祖细胞基因,增生并生成适当类型和数量的视网膜细胞^[9]。体外培养蟾蜍的 RPE 细胞可以形成较长的突触并表达神经元标志物,转分化成为视网膜神经细胞^[18]。

与蝶螈等类似,鸡 RPE 细胞在胚胎发育到 4.5 d 之前可以转分化,再生成其他类型的细胞,而发育 4.5 d 后这种能力降低,但鸡 RPE 细胞转分化需存留部分神经视网膜^[17]。近期研究显示,改变 RPE 细胞的基因表达可使人 RPE 细胞系、猪和小鼠原代 RPE 细胞转化为类光感受器细胞^[33]。Salero 等^[34]的研究表明,成年人 RPE 细胞在体外可被活化为多能干细胞。

2.3 Müller 细胞

Müller 细胞是脊椎动物视网膜中主要的胶质细胞,呈放射状分布于视网膜全层,在调节视网膜细胞外环境、维持血-视网膜屏障、调节神经递质和突触活性、支持视网膜神经元存活、维持视网膜形态稳定等方面均具有重要作用^[35],可表达 Pax6、Car2、Dkk3 和 Chx10 等多种多能祖细胞标志物^[15,35]。

近年来应用绿色荧光蛋白表达于 Müller 细胞中的转基因动物研究显示,Müller 细胞是鱼类视网膜中神经元再生的主要来源。在未损伤的鱼类视网膜中发现 Müller 细胞缓慢分裂,生成视杆细胞^[15],在视网膜神经元受到损伤后,它们重新进入细胞周期,并去分化成视网膜祖细胞^[12]。鸟类的视网膜受到 NMDA 损伤后,Müller 细胞再次进入细胞周期,表达胚胎期视网膜祖细胞的标志物 Pax6 和 Chx10 等,新生成的细胞分布在视网膜的内核层和外核层,部分分化为视网膜神经元^[20]。哺乳动物在视网膜受到损伤后 Müller 细胞活化,在某些损伤因素和生长因子的刺激下 Sox2、Chx10 等祖细胞基因表达上调^[31],Müller 细胞再进入细胞周期^[36]并分化为神经元^[23]。Jayaram 等^[37]在体外将人的 Müller 细胞诱导分化为光感受器细胞,并将其移植到视网膜变性大鼠的视网膜下,这些细胞可以整合到大鼠的视网膜中,并改善大鼠的视功能,可见人类 Müller 细胞可作为视网膜光感受器细胞修复的重要细胞来源。

不同种动物体内再生的视网膜来源不同,鱼类、鸟类和哺乳类动物再生的视网膜细胞来自于 Müller 细胞,而两栖类动物则来源于 RPE 细胞,因此细胞表达的基因、发生增生和分化所需要的条件都存在差异,可能是揭开视网膜神经细胞再生的关键问题,如何激活内源性干细胞以修复对损伤的视网膜神经细胞是研究者重点关注的问题。

3 视网膜内源性干细胞活化的因素

3.1 兴奋性氨基酸

NMDA 是一种兴奋性氨基酸,眼内注射 NMDA 可以造成视网膜神经节细胞和内核层细胞损伤^[38],鸟类视网膜再生研究就是利用该机制开展的^[20]。NMDA 注射引起损伤后 2 d, Müller 细胞再进入细胞周期,并去分化为视网膜祖细胞^[39]。Ooto 等^[30]用 NMDA 诱导大鼠视网膜损伤,发现部分 Müller 细胞发生增生,并表达双极细胞和光感受器细胞标志物。

谷氨酸盐对视网膜神经细胞的毒性作用在青光眼、缺血性视网膜病变、糖尿病视网膜病变等病理过程中均已得到证实^[40-42]。视网膜下注射 50 μg 谷氨酸盐会引起视网膜细胞凋亡,而 10 μg 的谷氨酸盐则可以刺激视网膜细胞增生^[43]。Takeda 等^[43]将特异性作用于星状细胞和 Müller 细胞的谷氨酸盐类似物 α-氨基乙二酸(α-amino adipate, α-AA)注射到视网膜下,24 h 后可见视网膜外核层有较多的增生细胞,并进一步证实这些增生细胞来源于 Müller 细胞,可分化为光感受器细胞。

3.2 生长因子

研究显示,体外培养蝶螈视网膜 RPE 细胞时需有脉络膜组织存在才能分化为神经元,FGF-2 和 IGF-1 共同作用于体外培养的 RPE 细胞可以获得和脉络膜组织共培养时类似的效果^[44]。鸡的玻璃体腔内单独注射胰岛素或 FGF-2 并不能引起 Müller 细胞增生,但二者联合应用却可以使 Müller 细胞表达视网膜祖细胞标志物 Pax6 和 Chx10,并使视网膜边缘区的 Müller 细胞增生,少部分增生的细胞可分化为新神经元^[45]。将睫状神经营养因子或 EGF 注射到斑马鱼的眼内能够刺激视网膜中的 Müller 细胞增生,生成神经祖细胞^[46,25]。Karl 等^[47]研究显示,当神经毒性药物与生长因子共同作用时,小鼠 Müller 细胞可增生,NMDA 损伤的小鼠眼内注射 EGF 后大量 Müller 细胞进入有丝分裂周期,损伤后 72 h 约 1% 的表达 SOX2 标志物的 Müller 细胞增生。

3.3 转录因子

Ascl1 是视网膜祖细胞标志物,通常情况下鱼类视网膜 Müller 细胞中不表达 Ascl1,损伤发生 4 h 内,增生的 Müller 细胞中 Ascl1 表达上调,抑制 Ascl1 可阻止 Müller 细胞去分化并进入有丝分裂周期^[48]。哺乳动物的视网膜损伤后,Müller 细胞的 Ascl1 的表达却未上调^[26]。Pollak 等^[26]将体外培养的小鼠 Müller 细胞和视网膜植片中 Ascl1 过表达,发现 Müller 细胞中的祖细胞基因 Hes5、Insm1 和 Dll1 等表达升高而胶质细胞基因 Rbpl、Slc1a3 等表达降低,Müller 细胞来源的祖细胞可分化为视网膜神经元,说明单一转录因子 Ascl1 可诱导成熟 Müller 细胞成为视网膜神经祖细胞^[26]。

Sox2 在胚胎和成年动物的祖细胞维持中具有重要作用^[49]。小鼠出生后 4 d 视网膜外核层中 Sox2 表达降低,7 d 后 Sox2 只在内核层的 Müller 细胞中表达。敲除 Sox2 基因后,Müller 细胞的结构发生异常,且不再维持静止状态,发生异常分裂^[27]。

3.4 细胞内信号

Wnt 信号可以促进睫状体上皮的发育。Fang 等^[50]发现, 敲除 *ephrin-A3* 基因可促进睫状体上皮细胞来源的干细胞增殖分化, 这种作用是通过移植 Wnt3a/ β -catenin 信号通路而产生的。用 Wnt3a 处理体外培养的视网膜组织能够显著增加内核层中增殖细胞的数量^[51]。将神经毒性药物和 Wnt2b 一起注射到小鼠玻璃体腔使具有干细胞特征的细胞数量增加 3 倍^[52]。Notch1 在成年小鼠的视网膜内也只表达于 Müller 细胞^[27], 视网膜损伤后 Notch 和 Wnt 通路的基因表达均上调, 应用 Wnt 或 Notch 通路抑制剂后使视网膜损伤后具有干细胞特征的细胞数量减少^[52]。另外, Del Debbio 等^[53]的研究也显示, Wnt 和 Notch 信号参与调节成年小鼠视网膜中视杆细胞的再生。

Shh 是胚胎阶段视网膜祖细胞重要的有丝分裂因子, 在鸡胚胎后期表达于视网膜边缘部位, 鸡眼球内注射 Shh 可促进 CMZ 区域增生, Shh 通路抑制剂则抑制 CMZ 细胞增生^[65]。*Ptc* 基因缺陷小鼠 Shh 信号通路过表达, 视网膜边缘存在持续的细胞增生区^[55]。Shh 可引起 Müller 细胞去分化并表达神经祖细胞标志物, 光感受器细胞损伤大鼠眼内注射 Shh 可激活 Müller 细胞, 生成表达视紫红质的光感受器细胞^[56]。

激活视网膜内源性干细胞的因素很多, 上述各种方法能促进视网膜细胞的增生和分化, 促进视网膜神经细胞再生。但何种方法效果最佳, 还有待进一步研究。

4 小结

包括人类在内的哺乳动物视网膜神经元损伤后不能再生, 可造成不可逆性视力损伤。近年的研究显示, 一些方法可以激活视网膜内具有干细胞潜能的细胞的增殖分化, 为视网膜损伤的自我修复提供了良好的基础。虽然视网膜内源性干细胞与其他干细胞相比具有不存在伦理学争议、避免了机体的排异等优势, 也更容易整合到视网膜中, 但目前的方法激活内源性干细胞后所分化的视网膜神经细胞数量有限, 能否获得足够的细胞以挽救已受损的视功能尚不明确对于如何有效地激活视网膜的内源性干细胞, 增加机体自身增殖细胞的数量和存活等都有待进一步研究, 相信随着研究的不断深入, 相关的研究将取得快速发展。

参考文献

- [1] Karl MO, Reh TA. Regenerative medicine for retinal diseases: activating endogenous repair mechanisms [J]. Trends Mol Med, 2010, 16 (4) : 193-202. DOI:10.1016/j.molmed.2010.02.003.
- [2] Kolomeyer AM, Zarbin MA. Trophic factors in the pathogenesis and therapy for retinal degenerative diseases [J]. Surv Ophthalmol, 2014, 59 (2) : 134-165. DOI:10.1016/j.survophthal.2013.09.004.
- [3] Schmid MK, Bachmann LM, Fas L, et al. Efficacy and adverse events of aflibercept, ranibizumab and bevacizumab in age-related macular degeneration; a trade-off analysis [J]. Br J Ophthalmol, 2015, 99 (2) : 141-146. DOI:10.1136/bjophthalmol-2014-305149.
- [4] Tamama K, Kerpedjieva SS. Acceleration of wound healing by multiple growth factors and cytokines secreted from multipotential stromal cells/mesenchymal stem cells [J]. Adv Wound Care (New Rochelle), 2012, 1 (4) : 177-182. DOI:10.1089/wound.2011.0296.
- [5] Ennis WJ, Sui A, Bartholomew A. Stem cells and healing: impact on inflammation [J]. Adv Wound Care (New Rochelle), 2013, 2 (7) : 369-378. DOI:10.1089/wound.2013.0449.
- [6] Johnson TV, DeKorver NW, Levasseur VA, et al. Identification of retinal ganglion cell neuroprotection conferred by platelet-derived growth factor through analysis of the mesenchymal stem cell secretome [J]. Brain, 2014, 137 (2) : 503-519. DOI:10.1093/brain/awt292.
- [7] Yoshida T, Ozawa Y, Suzuki K, et al. The use of induced pluripotent stem cells to reveal pathogenic gene mutations and explore treatments for retinitis pigmentosa [J]. Mol Brain, 2014, 7 : 45. DOI:10.1186/1756-6606-7-45.
- [8] Davidson KC, Guymer RH, Pera MF, et al. Human pluripotent stem cell strategies for age-related macular degeneration [J]. Optom Vis Sci, 2014, 91 (8) : 887-893. DOI:10.1097/OPX.0000000000000282.
- [9] Lamba D, Karl M, Reh T. Neural regeneration and cell replacement: a view from the eye [J]. Cell Stem Cell, 2008, 2 (6) : 538-549. DOI:10.1016/j.stem.2008.05.002.
- [10] Goldman D. Müller glial cell reprogramming and retina regeneration [J]. Nat Rev Neurosci, 2014, 15 (7) : 431-442. DOI:10.1038/nrn3723.
- [11] Yu H, Vu TH, Cho KS, et al. Mobilizing endogenous stem cells for retinal repair [J]. Transl Res, 2014, 163 (4) : 387-398. DOI:10.1016/j.trsl.2013.11.011.
- [12] Fimbel SM, Montgomery JE, Burket CT, et al. Regeneration of inner retinal neurons after intravitreal injection of ouabain in zebrafish [J]. J Neurosci, 2007, 27 (7) : 1712-1724. DOI:10.1523/JNEUROSCI.5317-06.2007.
- [13] Vihtelic TS, Hyde DR. Light-induced rod and cone cell death and regeneration in the adult albino zebrafish (*Danio rerio*) retina [J]. J Neurobiol, 2000, 44 (3) : 289-307.
- [14] DiCicco RM, Bell BA, Kaul C, et al. Retinal regeneration following OCT-guided laser injury in zebrafish [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55 (10) : 6281-6288. DOI:10.1167/iovs.14-14724.
- [15] Bernardos RL, Barthel LK, Meyers JR, et al. Late-stage neuronal progenitors in the retina are radial Müller glia that function as retinal stem cells [J]. J Neurosci, 2007, 27 (26) : 7028-7040. DOI:10.1523/JNEUROSCI.1624-07.2007.
- [16] Sherpa T, Lankford T, McGinn TE, et al. Retinal regeneration is facilitated by the presence of surviving neurons [J]. Dev Neurobiol, 2014, 74 (9) : 851-876. DOI:10.1002/dneu.22167.
- [17] Fischer AJ, Bongini R. Turning Müller glia into neural progenitors in the retina [J]. Mol Neurobiol, 2010, 42 (3) : 199-209. DOI:10.1007/s12035-010-8152-2.
- [18] Yoshii C, Ueda Y, Okamoto M, et al. Neural retinal regeneration in the anuran amphibian *Xenopus laevis* post-metamorphosis: transdifferentiation of retinal pigmented epithelium regenerates the neural retina [J]. Dev Biol, 2007, 303 (1) : 45-56. DOI:10.1016/j.ydbio.2006.11.024.
- [19] Beddaoui M, Coupland SG, Tsilfidis C, et al. Recovery of function following regeneration of the damaged retina in the adult newt, *Notophthalmus viridescens* [J]. Doc Ophthalmol, 2012, 125 (2) : 91-100. DOI:10.1007/s10633-012-9338-x.
- [20] Fischer AJ, Reh TA. Müller glia are a potential source of neural regeneration in the postnatal chicken retina [J]. Nat Neurosci, 2001, 4 (3) : 247-252. DOI:10.1038/85090.
- [21] Fischer AJ, Reh TA. Identification of a proliferating marginal zone of retinal progenitors in postnatal chickens [J]. Dev Biol, 2000, 220 (2) : 197-210. DOI:10.1006/dbio.2000.9640.
- [22] Luz-Madrigal A, Grajales-Esquivel E, McCorkle A, et al. Reprogramming of the chick retinal pigmented epithelium after retinal injury [J/OL]. BMC Biol, 2014, 12 : 28 [2015-10-21]. http://bmcbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1741-7007-12-28. DOI:10.1186/1741-7007-12-28.
- [23] Ooto S, Akagi T, Kageyama R, et al. Potential for neural regeneration after neurotoxic injury in the adult mammalian retina [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004, 101 (37) : 13654-13659. DOI:10.1073/pnas.0402129101.

- [24] Tackenberg MA, Tucker BA, Swift JS, et al. Müller cell activation, proliferation and migration following laser injury [J]. *Mol Vis*, 2009, 15: 1886–1896.
- [25] Wan J, Ramachandran R, Goldman D, et al. HB-EGF is necessary and sufficient for Müller glia dedifferentiation and retina regeneration [J]. *Dev Cell*, 2012, 22(2): 334–347. DOI: 10.1016/j.devcel.2011.11.020.
- [26] Pollak J, Wilken MS, Ueki Y, et al. ASCL1 reprograms mouse Müller glia into neurogenic retinal progenitors [J]. *Development*, 2013, 140(12): 2619–2631. DOI: 10.1242/dev.091355.
- [27] Surzenko N, Crowl T, Bachleda A, et al. SOX2 maintains the quiescent progenitor cell state of postnatal retinal Müller glia [J]. *Development*, 2013, 140(7): 1445–1456. DOI: 10.1242/dev.071878.
- [28] Cicero SA, Johnson D, Reyntjens S, et al. Cells previously identified as retinal stem cells are pigmented ciliary epithelial cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(16): 6685–6690. DOI: 10.1073/pnas.0901596106.
- [29] Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL, et al. Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies [J]. *Lancet*, 2015, 385(9967): 509–516. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61376-3.
- [30] Fischer AJ, Bosse JL, El-Hodiri HM. The ciliary marginal zone (CMZ) in development and regeneration of the vertebrate eye [J]. *Exp Eye Res*, 2013, 116: 199–204. DOI: 10.1016/j.exer.2013.08.018.
- [31] Bhatia B, Singhal S, Lawrence JM, et al. Distribution of Müller stem cells within the neural retina: evidence for the existence of a ciliary margin-like zone in the adult human eye [J]. *Exp Eye Res*, 2009, 89(3): 373–382. DOI: 10.1016/j.exer.2009.04.005.
- [32] Miyake A, Araki M. Retinal stem/progenitor cells in the ciliary marginal zone complete retinal regeneration: a study of retinal regeneration in a novel animal model [J]. *Dev Neurobiol*, 2014, 74(7): 739–756. DOI: 10.1002/dneu.22169.
- [33] Yan RT, Li X, Huang J, et al. Photoreceptor-like cells from reprogramming cultured mammalian RPE cells [J]. *Mol Vis*, 2013, 19: 1178–1187.
- [34] Salero E, Blenkinsop TA, Corneo B, et al. Adult human RPE can be activated into a multipotent stem cell that produces mesenchymal derivatives [J]. *Cell Stem Cell*, 2012, 10(1): 88–95. DOI: 10.1016/j.stem.2011.11.018.
- [35] Ahmad I, Del Debbio CB, Das AV, et al. Müller glia: a promising target for therapeutic regeneration [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(8): 5758–5764. DOI: 10.1167/iovs.11-7308.
- [36] Romo P, Madigan MC, Provis JM, et al. Differential effects of TGF-beta and FGF-2 on *in vitro* proliferation and migration of primate retinal endothelial and Müller cells [J/OL]. *Acta Ophthalmol*, 2011, 89(3): e263–268 [2015-12-02]. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1755-3768.2010.01968.x>. DOI: 10.1111/j.1755-3768.2010.01968.x.
- [37] Jayaram H, Jones MF, Eastlake K, et al. Transplantation of photoreceptors derived from human Müller glia restore rod function in the P23H rat [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2014, 3(3): 323–333. DOI: 10.5966/sctm.2013-0112.
- [38] Onder HI, Aktan G, Yuksel H, et al. Neuroprotective effects of olanzapine in N-methyl-D-aspartate-induced retinal injury [J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2013, 29(4): 427–430. DOI: 10.1089/jop.2012.0075.
- [39] Hayes S, Nelson BR, Buckingham B, et al. Notch signaling regulates regeneration in the avian retina [J]. *Dev Biol*, 2007, 312(1): 300–311. DOI: 10.1016/j.ydbio.2007.09.046.
- [40] Fu CT, Sretavan DW. Ectopic vesicular glutamate release at the optic nerve head and axon loss in mouse experimental glaucoma [J]. *J Neurosci*, 2012, 32(45): 15859–15876. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0038-12.2012.
- [41] Russo R, Cavaliere F, Varano GP, et al. Impairment of neuronal glutamate uptake and modulation of the glutamate transporter GLT-1 induced by retinal ischemia [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e69250 [2015-12-05]. <http://journals.plos.org/plosone/article>. DOI: 10.1371/journal.pone.0069250.
- [42] Ola MS, Nawaz MI, Khan HA, et al. Neurodegeneration and neuroprotection in diabetic retinopathy [J]. *Int J Mol Sci*, 2013, 14(2): 2559–2572. DOI: 10.3390/ijms14022559.
- [43] Takeda M, Takamiya A, Jiao JW, et al. alpha-Aminoadipate induces progenitor cell properties of Müller glia in adult mice [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(3): 1142–1150. DOI: 10.1167/iovs.07-0434.
- [44] Mitsuda S, Yoshii C, Ikegami Y, et al. Tissue interaction between the retinal pigment epithelium and the choroid triggers retinal regeneration of the newt *Cynops pyrrhogaster* [J]. *Dev Biol*, 2005, 280(1): 122–132. DOI: 10.1016/j.ydbio.2005.01.009.
- [45] Fischer AJ, McGuire CR, Dierks BD, et al. Insulin and fibroblast growth factor 2 activate a neurogenic program in Müller glia of the chicken retina [J]. *J Neurosci*, 2002, 22(21): 9387–9398.
- [46] Kassen SC, Thummel R, Campochiaro LA, et al. CNTF induces photoreceptor neuroprotection and Müller glial cell proliferation through two different signaling pathways in the adult zebrafish retina [J]. *Exp Eye Res*, 2009, 88(6): 1051–1064. DOI: 10.1016/j.exer.2009.01.007.
- [47] Karl MO, Hayes S, Nelson BR, et al. Stimulation of neural regeneration in the mouse retina [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(49): 19508–19513. DOI: 10.1073/pnas.0807453105.
- [48] Fausett BV, Gumerson JD, Goldman D. The proneural basic helix-loop-helix gene *ascl1a* is required for retina regeneration [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(5): 1109–1117. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4853-07.2008.
- [49] Favaro R, Valotta M, Ferri AL, et al. Hippocampal development and neural stem cell maintenance require Sox2-dependent regulation of Shh [J]. *Nat Neurosci*, 2009, 12(10): 1248–1256. DOI: 10.1038/nn.2397.
- [50] Fang Y, Cho KS, Techedre K, et al. Ephrin-A3 suppresses Wnt signaling to control retinal stem cell potency [J]. *Stem Cells*, 2013, 31(2): 349–359. DOI: 10.1002/stem.1283.
- [51] Osakada F, Ooto S, Akagi T, et al. Wnt signaling promotes regeneration in the retina of adult mammals [J]. *J Neurosci*, 2007, 27(15): 4210–4219. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4193-06.2007.
- [52] Das AV, Mallya KB, Zhao X, et al. Neural stem cell properties of Müller glia in the mammalian retina: regulation by Notch and Wnt signaling [J]. *Dev Biol*, 2006, 299(1): 283–302. DOI: 10.1016/j.ydbio.2006.07.029.
- [53] Del Debbio CB, Balasubramanian S, Parameswaran S, et al. Notch and Wnt signaling mediated rod photoreceptor regeneration by Müller cells in adult mammalian retina [J/OL]. *PLoS One*, 2010, 5(8): e12425 [2016-01-23]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0012425>. DOI: 10.1371/journal.pone.0012425.
- [54] Moshiri A, McGuire CR, Reh TA, et al. Sonic hedgehog regulates proliferation of the retinal ciliary marginal zone in posthatch chicks [J]. *Dev Dyn*, 2005, 233(1): 66–75. DOI: 10.1002/dvdy.20299.
- [55] Moshiri A, Reh TA. Persistent progenitors at the retinal margin of *pte+/-mice* [J]. *J Neurosci*, 2004, 24(1): 229–237. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2980-03.2004.
- [56] Wan J, Zheng H, Xiao HL, et al. Sonic hedgehog promotes stem-cell potential of Müller glia in the mammalian retina [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 363(2): 347–354. DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.08.178.

(收稿日期: 2016-03-11)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)