

· 综 述 ·

间充质干细胞治疗年龄相关性黄斑变性研究现状及其局限性

王珊珊 综述 汪枫桦 审校

上海市第一人民医院 上海交通大学附属第一人民医院 上海市眼底病重点实验室 上海市眼视觉及光医学工程研究中心 200080

通信作者:汪枫桦, Email:shretina@sjtu.edu.cn

【摘要】 年龄相关性黄斑变性(AMD)是老年人群主要的致盲眼病,主要影响患者的视网膜色素上皮细胞(RPE)及光感受器,导致患者中心视力进行性丧失。AMD分为干性AMD和湿性AMD 2种类型,目前临床上对于AMD的治疗主要针对湿性AMD伴发的脉络膜新生血管(CNV),而对于干性AMD尚无有效的治疗方法。AMD常见的治疗方法主要包括光动力疗法(PDT)和玻璃体腔注射抗血管内皮生长因子(VEGF)药物治疗,此外还有激光治疗、放射疗法和手术治疗等,然而现阶段的临床治疗均无法根除病因,且部分患者对治疗反应差,因此人们开始探索新的AMD治疗方法。其中,间充质干细胞(MSCs)治疗具有自我更新和多向分化潜能、低免疫原性和取材方便、伦理道德方面约束较少的特点,展现出了广阔的治疗前景。目前,国内外相继开展了许多利用MSCs治疗AMD的研究,成果颇丰。本文阐述了AMD的分型和治疗现状及其局限性,并对近年来国内外针对MSCs治疗AMD的研究成果进行综述。

【关键词】 干细胞/治疗; 间充质干细胞; 年龄相关性黄斑变性; 旁分泌作用

基金项目: 国家自然科学基金项目(81970845)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.11.014

The research status and the limitations of mesenchymal stem cell-based therapies in age-related macular degeneration

Wang Shanshan, Wang Fenghua

Shanghai First People's Hospital, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University, School of Medicine, Shanghai Key Laboratory of Fundus Diseases, Shanghai Engineering Center for Visual Science and Photomedicine, Shanghai 200080, China

Corresponding author: Wang Fenghua, Email:shretina@sjtu.edu.cn

【Abstract】 Age-related macular degeneration (AMD) is the major cause of blindness in the elderly, which mainly affects the retinal pigment epithelial (RPE) cells and photoreceptors, and progressively leads to the loss of central vision. AMD can be divided into dry AMD and wet AMD. At present, the treatment of AMD mainly aims at choroidal neovascularization (CNV) associated with wet AMD. However, there is no effective treatment for dry AMD. The common treatment methods include photodynamic therapy (PDT) and intravitreal injection of anti-vascular endothelial growth factor (VEGF). Furthermore, there are also laser therapy, radiotherapy and surgical treatment. However, at this stage, the clinical treatment methods can not eradicate the causes, and some patients show poor response to treatments. So people began to explore new treatments. Mesenchymal stem cells (MSCs) therapy has the characteristics of self-renewal and multidirectional differentiation potential, lower immunogenicity, easier access to materials and less ethical constraints, showing a broad therapeutic prospect. At present, many studies on the treatment of AMD with MSCs have been carried out at home and abroad, with fruitful results. This article elaborated the classification and treatment status of AMD and their limitations and summarized the research results of MSCs in the treatment of AMD at home and abroad in recent years.

【Key words】 Stem cells, therapy; Mesenchymal stem cells; Age-related macular degeneration; Paracrine activity

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81970845)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.11.014

年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, AMD) 是一种退行性疾病, 主要影响视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞和光感受器细胞, 导致患者中心视力进行性丧失, 是发达国家老年人群不可逆盲的主要原因^[1]。全球约有 8.7% 的人口患有 AMD, 预计在 2020 年将增至约 1.96 亿, 在 2040 年将增至约 2.88 亿, 而世界范围内, 与 AMD 直接相关的医疗卫生成本预计高达 2 550 亿美元^[2]。1990—2015 年, 中国 AMD 的患病率约为 5.2%, 2015 年患病人数约有 2 665 万。到 2050 年, AMD 的患病率预计将增至 7.64%, 相应的患病人数将达 5 519 万^[3]。由于现阶段投入临床的治疗方式均无法根除病因, 且部分患者对治疗反应差, 因此人们开始探索新的治疗手段。其中间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 由于其生物学特性的优势, 有希望在修复与重建组织结构和功能的同时免于发生免疫排斥反应, 目前, 国内外已开展了多项 MSCs 治疗 AMD 的临床研究, 证实了 MSCs 治疗 AMD 的巨大潜力, 但 MSCs 治疗 AMD 作为一门尚不成熟的治疗手段, 仍存在诸多难关需要攻克。本文就 AMD 的分型及治疗现状, 及近年来国内外 MSCs 治疗 AMD 的研究成果进行综述。

1 AMD 的分型及治疗现状

1.1 AMD 的分型

AMD 分为干性 AMD 和湿性 AMD 2 种类型, 其共同特征是黄斑中脉络膜/RPE 层的玻璃疣和色素沉着, 其中, 干性 AMD 的晚期形式为黄斑区地图样萎缩 (geographic atrophy, GA), 其特征是明确的 RPE 缺失区域, 随后产生相应的光感受器退化和视网膜层厚度变薄。湿性 AMD 的特征是黄斑区脉络膜新生血管 (choroidal neovascularization, CNV) 形成, 继而产生脱离 RPE 及黄斑区出血、水肿。干性 AMD 和湿性 AMD 之间无排他性, 晚期 AMD 发生时两者可共存^[4]。

AMD 发生过程复杂, 在现阶段我们对其认识仍不足。在 AMD 的演变过程中, RPE 细胞首先受到损害, 细胞形态及功能退变甚至缺失, 进而使光感受器细胞 (视锥、视杆细胞) 和水平状细胞、双极细胞等发生退行性改变^[5]。AMD 的发病机制仍不明确, 一般被认为是多因素共同作用, 其中包括持续的氧化应激, 慢性炎症, RPE 细胞的衰老、遗传和环境因素。强烈的氧化代谢、持续的光暴露、高浓度多不饱和脂肪酸和光敏剂的存在增加了视网膜中活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 的产生。ROS 诱导的氧化应激可导致 RPE 细胞中程序性坏死的诱导和慢性炎症的产生, 从而引起 AMD 中的病理性免疫应答^[6]。敲除小鼠中的抗氧化基因 (*Sod1*^{-/-} 小鼠、*Sod2*^{-/-} 小鼠和 *Nrf2*^{-/-} 小鼠) 印证了这一机制^[7]。遗传方面, 许多基因的多态性, 包括补体途径的成员, 载脂蛋白 E、ARMS2、HTRA1、CX3CR1、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)-A 和 ABCA4 基因均与 AMD 相关, 这表明炎症、脂质代谢、RPE 功能障碍和血管生成均参与了 AMD 形成^[8]。

1.2 AMD 主要临床治疗方法及其局限性

现阶段, 临床上 AMD 的治疗主要针对湿性 AMD 伴发的

CNV, 而对于干性 AMD 尚无有效的治疗方法^[9]。AMD 常见的治疗方式包括光动力疗法 (photodynamic therapy, PDT) 及玻璃体腔注射抗 VEGF 药物治疗, 除此之外, 也存在激光治疗、放射疗法及手术治疗等^[10]。虽然 PDT 和抗 VEGF 药物治疗可以控制部分患者的 CNV 发展, 从而在一定程度上改善湿性 AMD 患者的视力预后, 但存在需多次治疗、部分患者对治疗反应差、反复玻璃体腔注射药物导致眼内炎等风险增加、抗 VEGF 药物价格高易加重患者经济负担等问题, 且现阶段投入临床的治疗方式均无法根除病因^[11]。

2 MSCs 治疗 AMD 研究

2.1 干细胞治疗 AMD

由于感光细胞及 RPE 细胞具有极小的再生潜能, 故而其退变与死亡难以逆转。1991 年 Peyman 等^[12]首次将 1 例晚期干性 AMD 患者的自体视网膜边缘带蒂的 RPE-脉络膜复合物移植于患者视网膜下腔, 术后患者视力从术前的数指提高至 20/400, 可见细胞移植治疗为根治 AMD 带来了希望。近年来, 随着再生医学的蓬勃发展, 细胞移植替代治疗, 特别是基于干细胞的治疗, 为退行性视网膜疾病患者的治疗提供了新的方向。干细胞移植有望替代或保护受损的 RPE 细胞, 从而延缓感光细胞变性, 这对于湿性和干性 AMD 都是很有前景的治疗方式。

干细胞主要来源于脐带血、骨髓、外周血及胚胎等, 是一类具有自我更新和多向分化潜能的细胞群体, 可以进一步分化为多种类型的细胞, 构成机体各种复杂的组织和器官。从发育阶段和获取途径分类, 干细胞可以分为胚胎干细胞 (embryonic stem cells, ESCs)、诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) 和成体干细胞, 分别在细胞来源、分化潜能、技术成熟度等方面具有各自的特点^[13]。

ESCs 来源于胚胎, 具有全能性。1981 年, 第一批源自小鼠的 ESCs 被分离并成功在培养基中生长^[14]。近 20 年后, Thomson 等^[15]报道了人类 ESCs 的成功分离, 并培养出 5 个人 ESCs 细胞系。人 ESCs 能在体外保持未分化状态增生, 从 1 个 ESCs 扩增为数百万个细胞, 并可分化为多种细胞谱系, 包括心肌细胞、胰岛细胞、神经细胞、色素细胞、巨噬细胞、上皮细胞和脂肪细胞等。但当将 ESCs 移植到免疫缺陷的裸鼠皮下或肾包囊后, 在宿主动物体内可分化为畸胎瘤, 瘤内包括混合的多种类型分化细胞^[16]。因此, ESCs 不宜直接给患者使用, 临床使用前需要进行定向诱导分化; 同时由于其具有伦理问题, 临床应用也备受争议。2006 年, Yamanaka 等^[17]利用病毒载体将 Oct4、Sox2、Klf4 和 c-Myc 转录因子的组合转入分化的体细胞中, 使其重编程而得到的类似 ESCs 和成体多能干细胞的一种细胞类型, 即 iPSCs。iPSCs 和 ESCs 之间存在高度的相似性, 减少了伦理问题, 并可能提高患者对治疗的特异性。

成体干细胞来源于骨髓、血液、角膜、视网膜、脑和脊髓、骨骼肌和心肌、牙髓、肝脏、皮肤、胃肠道上皮、胰腺等。成体干细胞存在于全部 3 个胚层发育而来的组织中, 具有保持长期增生而不分化的能力, 即长时程自我复制特性, 还具有分化为源于

组织的所有特化类型细胞的潜能和分裂产生祖细胞的能力^[18]。成体干细胞分布广泛,已知成体干细胞对恶性转化不易感,并且能够避免免疫细胞识别,因此为同种异体和自体细胞移植提供了潜在的平台。同时,相比较于 ESCs 和 iPSCs,成体干细胞相关的伦理问题较少。从 2011 年开始,国际上已开展许多干细胞移植治疗 AMD 的临床研究,包括 ESCs 来源的 RPE 细胞、iPSCs 来源的 RPE 细胞和成体干细胞^[19]。

与 ESCs 和 iPSCs 不同,成体干细胞移植到体内后恶变可能性较小,有能力在微环境的作用下分化为特定谱系的细胞,修复特定组织^[20]。总体来说,成体干细胞已被广泛地应用于各种急性和慢性神经变性疾病,包括中央和外周神经病变、中风、脊髓损伤以及眼退行性疾病。

MSCs 是成体干细胞家族的重要成员,来源于中胚层,可向成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、心肌细胞等中胚层细胞分化,还可分化为内胚层及外胚层来源的细胞,如 MSCs 可定向分化为多种视网膜样细胞^[21]。

MSCs 由于其生物学特性的优势,在当今干细胞研究领域展现出广阔前景。

2.2 MSCs 的生物学特性

MSCs 最早在骨髓中发现,随后还发现存在于人体发育过程的多种组织中。目前,我们能够从骨髓、脂肪、滑膜、骨骼、肌肉、肺脏、肝脏、胰腺等组织和器官以及羊水、脐带血中分离和制备 MSCs。根据国际细胞疗法协会 MSCs 指南的定义,这些细胞能够进行体外三系分化为成骨、脂肪和软骨^[21]。

MSCs 表面抗原具有非专一性,它表达了间质细胞、内皮细胞和表皮细胞的表面标志。主要包括:(1)黏附分子,如 CD166、CD54、CD102、CD44、CD106 等。(2)生长因子和细胞因子受体,如白细胞介素 1 受体(interleukin-1 receptor, IL-1R)、IL-3R、IL-4R、IL-6R、IL-7R、C 干扰素受体、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 等;(3)整合素家族成员,包括 CD49a、CD49b、CD49c、CD29、CD104 等;(4)其他,如 CD90、CD105 等。不表达造血细胞的表面标志,如 CD34、CD45、CD14、CD3、CD4、CD8 等,也不表达与人白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)识别有关的共刺激分子及主要组织相容性复合物类分子,如 HLA-DR 抗原等^[22]。

由于 MSCs 自身的特点,在干细胞临床研究中受到重视:(1)在人体中广泛分布,来源丰富;(2)可操作性强;(3)具有多能性;(4)具有较低的免疫源性且不易恶化。MSCs 属于非终末分化细胞,具有保持未分化或低分化的能力,因此有较大分化潜力和增生能力^[23]。因 MSCs 缺乏特异性分化标记,拥有低免疫原性,不易发生免疫排斥。另外,MSCs 便于取材、不产生道德伦理冲突,故能够大量制备。因此,MSCs 有希望在修复与重建组织结构和功能的同时免于发生免疫排斥反应,具有广阔的前景。

通过 MSCs 介导的治疗机制,包括细胞分化和转分化过程取代损失或受损细胞、旁分泌作用,用于细胞修复和复苏、调节宿主在炎症发生部位的免疫反应和在某些眼部疾病中的抗血管生成作用。目前,国内外已开展了多项 MSCs 治疗 AMD 的临

床研究。

2.3 MSCs 治疗 AMD 的机制

2.3.1 分化 大量研究已报道了 MSCs 在体外和体内模型中的再生为内胚层和外胚层谱系,这种谱系转换现象被称为去分化或转分化过程^[24-25]。去分化是一种先天的再生活动,涉及将终末分化细胞逆转为相同谱系的未分化祖细胞。转分化是一个两步分化过程,涉及终末分化细胞的去分化和随后分化成不同谱系的特化细胞。

MSCs 对视网膜细胞的巨大分化潜力包括光感受器、无长突细胞、视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)和 RPE 样细胞,需要添加特定细胞因子、生长因子或抑制肽。分化因子包括了牛磺酸、激活素 A、碱性成纤维细胞生长因子、 β -巯基乙醇、Dickkopf Wnt 信号通路抑制剂-1、头蛋白、胰岛素生长因子 1、人血小板裂解液和血管活性肠肽等^[26]。洪玉等^[27]研究表明,用含成纤维细胞生长因子、表皮细胞生长因子及脑源性神经营养因子的条件培养基与 RPE 细胞培养液体外共培养后,骨髓间充质干细胞(bone marrow derived mesenchymal stem cells, BMSCs)能够诱导分化成光感受器样细胞。郭凯等^[28]研究表明,人脂肪 MSCs 体外诱导后可分化为 RPE 样细胞,对其进行细胞示踪后,发现在玻璃体腔注射分化的细胞后未发现视网膜存在不良反应。Vossmerbaeumer 等^[29]通过体外实验发现脂肪来源的 MSCs 在血管活性肠肽的诱导下可分化为 RPE 样细胞。2013 年, Nadri 等^[25]利用牛磺酸对于小梁网细胞的作用诱导分化出了视网膜感光细胞样细胞;2014 年, Sabapathy 等^[30]通过人血小板裂解液、 β -巯基乙醇和牛磺酸,在脐带 Wharton jelly 细胞中成功分化出感光细胞样细胞;2016 年, Choi 等^[26]通过活化素 A 和烟酰胺诱导脐带血 MSCs,成功得到 RPE 样细胞;同年, Choi 等^[31]证实 Wnt 信号通路抑制剂 Dickkopf -1、碱性成纤维细胞生长因子、胰岛素生长因子 1 和头蛋白可以将脐带 MSCs 分化为视杆细胞样细胞。综上,源自不同组织来源的 MSCs 能成功分化成视网膜样谱系,包括光感受器细胞和 RPE 细胞。

关于 MSCs 中部分谱系较弱的转换潜力问题也引发了争论,并且只观察到部分 MSCs 的边缘群体成功分化成所需细胞。一种可能的解释提出,存在称为多谱系分化应力持久细胞(multilineage-differentiating stress-enduring cells, MUSE 细胞),它们成功地分化为所需的 MSCs 亚群^[32]。MUSE 细胞是多能性体细胞干细胞,与所有组织或器官的成纤维细胞和 MSCs 密切相关,它们显示 ESCs、iPSCs 和 MSCs 的表型标志物,如阶段特异性胚胎抗原-3、肿瘤耐药性抗原 1-60、NANOG、OCT3/4 和 SOX2 等。这些细胞在细胞分化为中胚层、内胚层和外胚层的多重谱系中表现出与 ESCs 相当的效率,并且没有形成畸胎瘤的倾向。由于 MUSE 细胞通常以稀少的数量存在,纯 MUSE 细胞群的选择性分离和扩增将提高直接分化成视网膜神经元或 RPE 细胞的概率,并进一步提高基于干细胞的治疗在各种人眼退行性疾病中的效率。

共同培养是分化 MSCs 的另一种方法,是将 MSCs 与目标细胞共同培养,从而使其转化为目标细胞。研究表明,将

BMSCs 与 RGCs 共同培养对 RGCs 轴突生长有促进作用,从而使分化所得的神经节样细胞存活率升高^[33]。国内也有实验发现,当在培养基中加入光感受器细胞外段会使大鼠 BMSCs 产生更多的色素颗粒,且增加表达 RPE 细胞标志物的细胞含量,由此 Huang 等^[34]认为加入培养基的光感受器细胞外段所释放的可溶性因子对 BMSCs 向 RPE 细胞的分化过程存在促进作用。另外,Duan 等^[35]研究发现,与 RPE 细胞共培养后的 MSCs 能表达 RPE 细胞标志物,然而这种细胞相比 RPE 细胞,分泌的功能性因子较少。

分化作用是 MSCs 治疗视网膜退行性疾病,如 AMD 的一大难点,虽然现有大量研究得到了 MSCs 向 RPE 细胞与感光细胞分化的潜能,但我们仍需进一步的研究,并对其安全性长期观察。

2.3.2 旁分泌作用 MSCs 能分泌多种细胞因子、生长因子及外泌体。MSCs 的旁分泌活性有助于视网膜细胞的修复和复苏。

最近的一项研究提供了支持 MSCs 旁分泌作用的一个代表性论据,Bakondi 等^[36]研究表明在 RCS 大鼠中,MSCs 的归巢作用有助于提高深层视网膜中感光细胞的存活率,从而提高视功能。研究结果归因于 MSCs 释放的营养肽刺激 RPE 对光感受器累积残留物的吞噬活性。此外,MSCs 移植被发现能减少眼后部的实质性损伤,并通过旁分泌作用释放缺氧诱导因子-1 α 和轴突生长相关蛋白-43 促进细胞再生^[37]。

在氧化诱导的 RGCs 培养物中,MSCs 分泌的睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)和脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)的神经营养作用也可以改善 MSCs 的治疗效果,并导致促炎细胞因子的下调,如 TNF- α 和 IL-1 β 的释放。在 Mead 等^[38]的研究中,MSCs 通过旁分泌作用释放前列腺素 E2 受体和 IL-6 介导的生长因子,如血小板衍生生长因子和神经生长因子(nerve growth factor, NGF),在轴突切断的大鼠 RGCs 中发挥保护作用并促进神经突形成。另外,从脂肪组织衍生的 MSCs 释放的神经营养因子(如 NGF)和胶质细胞系衍生的神经营养因子可以维持 RGCs 的生存能力并减少氧化应激对视网膜的损伤。

除此之外,近年来有许多报道证实了 MSCs 可通过分泌胞外囊泡实现对 AMD 的治疗潜能。基于不同的生物组分,MSCs 分泌的胞外囊泡可分为微泡、微粒和外泌体,能发挥调节细胞-细胞通信的关键作用。其中,针对外泌体的研究得到了更多的重视,这是因为外泌体富含酶,能在眼部退行性疾病中发挥保护作用。有研究报道,移植的外泌体可抑制炎症介导的细胞因子浸润,包括单核细胞趋化蛋白-1、TNF- α 和细胞间黏附分子-1,抑制巨噬细胞和 T 细胞所介导的免疫反应^[39]。

2.3.3 调控免疫炎症反应 眼内免疫系统的失调是一种常见于 AMD、青光眼、糖尿病视网膜病变和葡萄膜炎的病理状态^[40],其表现为促炎细胞因子、趋化因子、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)的深度释放,逐渐导致内皮细胞紧密连接蛋白的丧失、破坏和渗漏,从而促进免疫细胞浸润。在 AMD 的发生和发展中,视网膜出现慢性持续性免疫炎症反

应,因其可造成玻璃膜疣的形成^[41],所以调控眼底炎症反应逐渐成为治疗 AMD 的热点。

近来,多项实验表明 MSCs 可以调控眼底免疫炎症反应,包括对自身与获得性免疫 2 方面的调控作用。这种作用可以归因于来自 HLA-I 和 HLA-II 的共刺激分子(包括 CD40、CD80 和 CD86)造成的活化的 T 细胞相关配体的缺失,这些分子负责触发通过 T 细胞活化的移植排斥反应。此外,这些细胞能够下调同种异体淋巴细胞增生和刺激调节性 T 细胞表达^[42]。另外, Lee 等^[43]研究显示, MSCs 可下调促炎细胞因子活性和 CD4 T 细胞浸润,从而对视网膜细胞产生一定的保护与修复作用。另外,通过氧化诱导的 RGCs 培养物中 MSCs 分泌的 CNTF 和 BDNF 的神经营养作用证实了 MSCs 潜在的治疗效果,并可导致促炎细胞因子的下调,如 TNF- α 和 IL-1 β 释放减少^[44]。

2.3.4 抗新生血管生成 大量的临床前研究和临床研究同样证实了 BMSCs 在抗新生血管生成治疗中的潜力。

在最近的研究中,结膜下注射 BMSCs 在化学诱导的大鼠角膜上通过抑制 VEGF、MMP-9 和 Toll 样受体,下调促炎细胞因子的产生,有助于角膜伤口愈合并减少新生血管生成^[45]。在氧诱导视网膜病变小鼠模型中,人胎盘羊膜 MSCs 释放转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1),而上调 TGF- β 1 水平能显著降低血管内皮细胞的增生,从而减少新生血管的形成^[46]。

研究发现, MSCs 能通过抑制炎症反应促进抗血管生成因子,如血小板反应蛋白-1(thrombospondin-1, TSP-1)的释放。Chu 等^[47]观察到 MSCs 能通过旁分泌作用抑制 VEGF 的活性,其归因于 TSP-1 对 VEGF 受体的间接抑制,通过结合 CD36 并随后将蛋白酪氨酸磷酸酶 1 结合到 VEGF 靶点上。

2.4 MSCs 治疗 AMD 的现有问题

尽管 MSCs 在近年来的研究中展现出了治疗 AMD 与其他视网膜退行性疾病的巨大潜力,其中存在的问题依然不容忽视。

研究表明,玻璃体腔注射了诱导的 MSCs 后可产生大量的反应性胶质细胞增生和硫酸软骨素沉积,影响细胞移植^[48]。另外,如何有效地诱导分化 MSCs 以获得足够的 RPE 细胞和感光细胞,并使其有效地替代衰老死亡的视网膜细胞从而发挥治疗作用依旧是 MSCs 治疗 AMD 的技术难点。

Kuriyan 等^[49]美国佛罗里达州 3 例 AMD 患者,在接受玻璃体腔注射自体脂肪来源 MSCs 后产生了严重的不良反应,包括严重的视力下降、玻璃体积血、视网膜脱离和出血性视网膜病变。这 3 例患者在术前最佳矫正视力为 20/30~20/200,然而经过干细胞治疗后 1 年视力降至 20/200,甚至无光感。研究者认为这很可能是由于相关机构注射过程的不规范,以及现阶段部分针对干细胞的研究缺少临床及临床前期的数据支持。因此,尽管近年来国内外针对干细胞治疗 AMD 的临床研究蓬勃发展,其安全性依旧需要得到重视, MSCs 治疗 AMD 作为一门尚不成熟的治疗手段,虽然具有巨大的研究潜力,但仍旧存在诸多技术难关需要攻克,以及其中可能存在的伦理学问题也需要得到重视。

3 小结及展望

AMD 作为老年人首要的致盲疾病,其发病率逐年攀升。另外,由于计算机、手机的普及,AMD 的发病也有着年轻化的趋势。然而传统治疗方法对于干性 AMD 以及难治性湿性 AMD 尚无明确疗效。MSCs 由于其取材方便,免疫原性相对 ESCs、iPSCs 较小,是同源移植并修复 AMD 损伤下视网膜细胞的理想干细胞来源。然而,虽然许多国内外研究证实了 MSCs 治疗 AMD 的巨大潜力和美好前景,对于如何更有效地诱导 MSCs 向 RPE 细胞和视网膜感光细胞分化、如何使分化后的 MSCs 在体内正确迁徙和定植、以及是否存在更多其对于 AMD 中受损视网膜细胞修复作用的证据,MSCs 治疗 AMD 以及其他视网膜退变性疾病的长期安全性仍需进一步长期观察。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wong WL, Su X, Li X, et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis [J/OL]. *Lancet Glob Health*, 2014, 2(2): e106–116 [2018-12-06]. [https://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X\(13\)70145-1/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/langlo/article/PIIS2214-109X(13)70145-1/fulltext). DOI: 10.1016/S2214-109X(13)70145-1.
- [2] Gordo A, Cutler H, Pezzullo L, et al. An estimation of the worldwide economic and health burden of visual impairment [J]. *Glob Public Health*, 2012, 7(5): 465–481. DOI: 10.1080/17441692.2011.634815.
- [3] Song P, Du Y, Chan KY, et al. The national and subnational prevalence and burden of age-related macular degeneration in China [J/OL]. *J Glob Health*, 2017, 7(2): 020703 [2018-10-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5735777/>. DOI: 10.7189/jogh.07.020703.
- [4] Ferrington DA, Sinha D, Kaarniranta K. Defects in retinal pigment epithelial cell proteolysis and the pathology associated with age-related macular degeneration [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2016, 51: 69–89. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2015.09.002.
- [5] Holz FG, Pauleikhoff D, Spaide RF, et al. Age related macular degeneration [M]. 2nd ed. Berlin: Springer, 2013: 3–7.
- [6] Hanus J, Zhang H, Wang Z, et al. Induction of necrotic cell death by oxidative stress in retinal pigment epithelial cells [J/OL]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e965 [2018-07-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3877549/>. DOI: 10.1038/cddis.2013.478.
- [7] Zhao Z, Chen Y, Wang J, et al. Age-related retinopathy in NRF2-deficient mice [J/OL]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e19456 [2018-11-02]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3084871/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0019456.
- [8] Ding X, Patel M, Chan CC. Molecular pathology of age-related macular degeneration [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2009, 28(1): 1–18. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2008.10.001.
- [9] 王静, 陈有信. 干性年龄相关性黄斑变性的治疗进展 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2013, 31(6): 608–612. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.06.020.
Wang J, Chen YX. Progress in the therapy of dry age-related macular degeneration [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2013, 31(6): 608–612. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.06.020.
- [10] Yonekawa Y, Miller JW, Kim IK. Age-related macular degeneration: advances in management and diagnosis [J]. *J Clin Med*, 2015, 4(2): 343–359. DOI: 10.3390/jcm4020343.
- [11] Ba J, Peng RS, Xu D, et al. Intravitreal anti-VEGF injections for treating wet age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 5397–5405. DOI: 10.2147/DDDT.S86269.
- [12] Peyman GA, Blinder KJ, Paris CL, et al. A technique for retinal pigment epithelium transplantation for age related macular degeneration secondary to extensive subfoveal scarring [J]. *Ophthalmic Surg*, 1991, 22(2): 102–108.
- [13] Trounson A, McDonald C. Stem cell therapies in clinical trials: progress and challenges [J]. *Cell Stem Cell*, 2015, 17(1): 11–22. DOI: 10.1016/j.stem.2015.06.007.
- [14] Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos [J]. *Nature*, 1981, 292(5819): 154–156. DOI: 10.1038/292154a0.
- [15] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts [J]. *Science*, 1998, 282(5391): 1145–1147. DOI: 10.1126/science.282.5391.1145.
- [16] Lodi D, Iannitti T, Palmieri B. Stem cells in clinical practice: applications and warnings [J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2011, 30: 9 [2018-11-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3033847/>. DOI: 10.1186/1756-9966-30-9.
- [17] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [J]. *Cell*, 2006, 126(4): 663–676. DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.024.
- [18] Khan WS, Hardingham TE. Mesenchymal stem cells, sources of cells and differentiation potential [J]. *J Stem Cells*, 2012, 7(2): 75–85.
- [19] Alexander P, Thomson HA, Luff AJ, et al. Retinal pigment epithelium transplantation: concepts, challenges, and future prospects [J]. *Eye (Lond)*, 2015, 29(8): 992–1002. DOI: 10.1038/eye.2015.89.
- [20] Jones MK, Lu B, Girman S, et al. Cell-based therapeutic strategies for replacement and preservation in retinal degenerative diseases [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2017, 58: 1–27. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2017.01.004.
- [21] Mok PL, Leong CF, Cheong SK. Cellular mechanisms of emerging applications of mesenchymal stem cells [J]. *Malays J Pathol*, 2013, 35(1): 17–32.
- [22] Roobrouck VD, Clavel C, Jacobs SA, et al. Differentiation potential of human postnatal mesenchymal stem cells, mesoangioblasts, and multipotent adult progenitor cells reflected in their transcriptome and partially influenced by the culture conditions [J]. *Stem Cells*, 2011, 29(5): 871–882. DOI: 10.1002/stem.633.
- [23] Machalińska A, Baumert B, Kuprianowicz L, et al. Potential application of adult stem cells in retinal repair—challenge for regenerative medicine [J]. *Curr Eye Res*, 2009, 34(9): 748–760. DOI: 10.1080/02713680903050592.
- [24] Katagiri H, Kushida Y, Nojima M, et al. A distinct subpopulation of bone marrow mesenchymal stem cells, muse cells, directly commit to the replacement of liver components [J]. *Am J Transplant*, 2016, 16(2): 468–483. DOI: 10.1111/ajt.13537.
- [25] Nadri S, Yazdani S, Arefian E, et al. Mesenchymal stem cells from trabecular meshwork become photoreceptor-like cells on amniotic membrane [J]. *Neurosci Lett*, 2013, 541: 43–48. DOI: 10.1016/j.neulet.2012.12.055.
- [26] Choi SW, Shin JH, Kim JJ, et al. Direct cell fate conversion of human somatic stem cells into cone and rod photoreceptor-like cells by inhibition of microRNA-203 [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(27): 42139–42149. DOI: 10.18632/oncotarget.9882.
- [27] 洪玉, 徐国兴. 骨髓间充质干细胞分化为光感受器样细胞的体外诱导和微环境研究 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2013, 31(7): 659–663. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.07.010.
Hong Y, Xu GX. Induce and differentiation of marrow mesenchymal stem cell into photoreceptor-like cell *in vitro* and microenvironment [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2013, 31(7): 659–663. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2013.07.010.
- [28] 郭凯, 罗燕, 李涛, 等. 人脂肪间充质干细胞向视网膜色素上皮样细胞的诱导分化及其在体应用研究 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2015, 33(9): 794–797. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.09.006.
Guo K, Luo Y, Li T, et al. Study on human adipose mesenchymal stem cells differentiating into retinal pigment epithelial-like cells and its *in vivo* application [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2015, 33(9): 794–797. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.09.006.
- [29] Vossmerbaeumer U, Ohnesorge S, Kuehl S, et al. Retinal pigment epithelial phenotype induced in human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells [J]. *Cytherapy*, 2009, 11(2): 177–188.

- DOI:10.1080/14653240802714819.
- [30] Sabapathy V, Sundaram B, V MS, et al. Human Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells plasticity augments scar-free skin wound healing with hair growth [J/OL]. PLoS One, 2014, 9(4): e93726 [2018-11-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3988008/>. DOI:10.1371/journal.pone.0093726.
- [31] Choi SW, Kim JJ, Seo MS, et al. Inhibition by miR-410 facilitates direct retinal pigment epithelium differentiation of umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells[J]. J Vet Sci, 2017, 18(1): 59-65. DOI:10.4142/jvs.2017.18.1.59.
- [32] Dezawa M. Muse cells provide the pluripotency of mesenchymal stem cells; direct contribution of muse cells to tissue regeneration [J]. Cell Transplant, 2016, 25(5): 849-861. DOI:10.3727/096368916X690881.
- [33] 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/OL]. PLoS One, 2008, 3(6): e2470 [2018-11-27]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2430538/>. DOI:10.1371/journal.pone.0002470.
- [34] Huang C, Zhang J, Ao M, et al. Combination of retinal pigment epithelium cell-conditioned medium and photoreceptor outer segments stimulate mesenchymal stem cell differentiation toward a functional retinal pigment epithelium cell phenotype [J]. J Cell Biochem, 2012, 113(2): 590-598. DOI:10.1002/jcb.23383.
- [35] Duan P, Xu H, Zeng Y, et al. Human bone marrow stromal cells can differentiate to a retinal pigment epithelial phenotype when co-cultured with pig retinal pigment epithelium using a transwell system [J]. Cell Physiol Biochem, 2013, 31(4-5): 601-613. DOI:10.1159/000350080.
- [36] Bakondi B, Girman S, Lu B, et al. Multimodal delivery of isogenic mesenchymal stem cells yields synergistic protection from retinal degeneration and vision loss [J]. Stem Cells Transl Med, 2017, 6(2): 444-457. DOI:10.5966/sctm.2016-0181.
- [37] Chung S, Rho S, Kim G, et al. Human umbilical cord blood mononuclear cells and chorionic plate-derived mesenchymal stem cells promote axon survival in a rat model of optic nerve crush injury [J]. Int J Mol Med, 2016, 37(5): 1170-1180. DOI:10.3892/ijmm.2016.2532.
- [38] Mead B, Logan A, Berry M, et al. Paracrine-mediated neuroprotection and neuritogenesis of axotomized retinal ganglion cells by human dental pulp stem cells: comparison with human bone marrow and adipose-derived mesenchymal stem cells [J/OL]. PLoS One, 2014, 9(10): e109305 [2018-12-01]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4188599/>. DOI:10.1371/journal.pone.0109305.
- [39] Wyse RD, Dunbar GL, Rossignol J. Use of genetically modified mesenchymal stem cells to treat neurodegenerative diseases [J]. Int J Mol Sci, 2014, 15(2): 1719-1745. DOI:10.3390/ijms15021719.
- [40] Perez VL, Caspi RR. Immune mechanisms in inflammatory and degenerative eye disease [J]. Trends Immunol, 2015, 36(6): 354-363. DOI:10.1016/j.it.2015.04.003.
- [41] Nussenblatt RB, Ferris F. Age-related macular degeneration and the immune response: implications for therapy [J]. Am J Ophthalmol, 2007, 144(4): 618-626. DOI:10.1016/j.ajo.2007.06.025.
- [42] Gao F, Chiu SM, Motan DA, et al. Mesenchymal stem cells and immunomodulation: current status and future prospects [J/OL]. Cell Death Dis, 2016, 7: e2062 [2018-12-04]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4816164/>. DOI:10.1038/cddis.2015.327.
- [43] Lee MJ, Ko AY, Ko JH, et al. Mesenchymal stem/stromal cells protect the ocular surface by suppressing inflammation in an experimental dry eye [J]. Mol Ther, 2015, 23(1): 139-146. DOI:10.1038/mt.2014.159.
- [44] Cui Y, Xu N, Xu W, et al. Mesenchymal stem cells attenuate hydrogen peroxide-induced oxidative stress and enhance neuroprotective effects in retinal ganglion cells [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2017, 53(4): 328-335. DOI:10.1007/s11626-016-0115-0.
- [45] Ghazaryan E, Zhang Y, He Y, et al. Mesenchymal stem cells in corneal neovascularization: comparison of different application routes [J]. Mol Med Rep, 2016, 14(4): 3104-3112. DOI:10.3892/mmr.2016.5621.
- [46] Kim KS, Park JM, Kong T, et al. Retinal angiogenesis effects of TGF- β 1 and paracrine factors secreted from human placental stem cells in response to a pathological environment [J]. Cell Transplant, 2016, 25(6): 1145-1157. DOI:10.3727/096368915X688263.
- [47] Chu LY, Ramakrishnan DP, Silverstein RL. Thrombospondin-1 modulates VEGF signaling via CD36 by recruiting SHP-1 to VEGFR2 complex in microvascular endothelial cells [J]. Blood, 2013, 122(10): 1822-1832. DOI:10.1182/blood-2013-01-482315.
- [48] Johnson TV, Bull ND, Hunt DP, et al. Neuroprotective effects of intravitreal mesenchymal stem cell transplantation in experimental glaucoma [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51(4): 2051-2059. DOI:10.1167/iov.09-4509.
- [49] Kuriyan AE, Albin 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/NEJMoa1609583.

(收稿日期:2018-12-10 修回日期:2019-09-20)

(本文编辑:刘艳)

读者·作者·编者

本期英文缩略语名词解释

FS-LASIK: 飞秒激光辅助的准分子激光角膜原位磨镶术 (femtosecond laser-assisted in situ keratomileusis)

本刊对来稿中电子版图片的要求

自我刊开通网上投稿以来,作者均采用将 Word 文档从网上在线投稿的方式,但部分来稿中所包含的图片像素较低,这些图片便于网上审稿,并不能用于制版印刷。因为显示器与彩印纸品的色彩形成截然不同,显示器应用红、绿、蓝的三原色原理发射光线形成图像,这种色彩形成的原理被称为 RGB 模式;而彩色印刷品是蓝、红、黄、黑四色油墨印制在纸制品上来形成彩色图像,这种原理被称为 CMYK 模式。那些在显示器上看起来比较清晰但分辨率较低的图片在实际印刷时不能转换为高质量 CMYK 模式的图片。为了保证论文的刊出质量及本刊的印刷出版质量,如果作者的来稿中附有组织病理图、免疫荧光染色图、免疫组织化学图、细胞图,请作者将原图保存为 TIFF 格式或 JPG 格式,图片的分辨率至少 300 dpi。

(本刊编辑部)