

支架材料在视网膜细胞移植应用中的研究进展

阮佳莉 综述 钱韶红 姚静 审校

【摘要】 年龄相关性黄斑变性和色素性视网膜炎等视网膜变性疾病可造成光感受器丢失,从而导致永久性的视力损害。近年来诸多研究致力于研究支架材料在视网膜细胞移植中的应用。支架材料能靶向运输移植细胞,促进细胞的存活、整合和分化,为细胞移植提供良好的平台。移植细胞种类多样,不同的支架材料具有各自的优缺点,理想的支架材料应具备以下特性:薄、生物相容性好、可降解、一定的机械强度、柔韧性高、可结合性高。材料的表面修饰可帮助其更好地发挥功能。除了细胞,支架材料也可定向运输物质,如药物等。支架材料在视网膜细胞移植中具有良好的应用前景。本文总结了以输送细胞到视网膜下腔的不同支架材料为基础的移植技术的研究成果。

【关键词】 感光细胞; 祖细胞; 干细胞; 支架材料; 移植; 视网膜

Development of polymer scaffolds for retinal stem cell transplantation Ruan Jiali, Qian Shaohong, Yao Jing.
Department of Ophthalmology, Eye & ENT Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200031, China
Corresponding author: Qian Shaohong, Email: qsh2304@163.com

【Abstract】 Retinal degeneration, associated with loss of photoreceptors, is the primary cause of permanent vision impairment, impacting millions of people worldwide. Age-related macular degeneration and retinitis pigmentosa are two common retinal diseases resulting in photoreceptor loss. Recently, many studies were working on the application of polymer scaffolds in retinal stem cell transplantation. The results showed that polymer scaffolds can delivery transplanted cells to the correct site and promote cell survival, integration, differentiation, thereby providing a good platform for cell transplantation. There are different transplantation cell types. Moreover, different materials have different advantages and disadvantages. The ideal scaffold should have the following characteristics: thin, biocompatible, biodegradable, certain mechanical strength and flexibility, and easy to bind. Surface modification of materials can improve their functioning. In addition to the cells, the scaffold can directional transport substances, such as drugs. Polymer scaffolds have a good prospect in the application of retinal cell transplantation. This paper summarized the findings of different scaffolds for cell delivery to the sub-retinal space-based transplant technology.

【Key words】 Photoreceptor; Progenitor cell; Stem cell; Scaffold; Transplantation; Retina

与光感受器丢失相关的视网膜变性是永久性视力损伤的首要原因,影响全世界数百万人,而年龄相关性黄斑变性和色素性视网膜炎是导致光感受器丢失的 2 个常见病因。目前的临床治疗仅能延缓视网膜变性的进展,无法恢复受损的视力。如何将细胞移植到视网膜下腔以再生受损视网膜是目前研究的热点。既往采用的直接注射细胞法存在一定的弊端,主要表现为细胞生存能力、细胞整合和细胞分化等 3 个方面。利用支架材料为基础的输送系统将细胞移植至视网膜下腔,可克服以上缺陷,在各种视网膜变性模型中,该方法提高了细胞存活率,推动了细胞整合,也促进了细胞分化,由此视网膜组织工程在视网膜变性疾病的治疗中显示出了巨大的前景和潜力。

1 支架材料

支架作为细胞移植的载体,引导受损组织的再生和修复,以恢复其功能属性。支架不仅可以保持组织的三维架构,帮助细胞的信息传递,指导细胞的行为,如增生、分化和迁移,也可为移植细胞提供生物活性分子^[1]。支架可以来自天然或合成材料。

1.1 天然支架

天然聚合物,如胶原蛋白和纤维蛋白,具有固有的生物活性并广泛地应用于细胞传递研究。由于其天然材料的属性,它具有机械不稳定性、引起过敏反应和感染等风险。

1.2 合成多聚物支架

多聚物合成支架可对机械性能、三维结构、生物可降解性和生物分子分布特性进行控制,同时它具有较好的生物相容性。当然它也具有一些局限性,包括细胞黏附率低以及缺乏生

DOI:10.3760/ema.j.issn.2095-0160.2015.09.018

基金项目:国家自然科学基金项目(81401533)

作者单位:200031 上海,复旦大学附属眼耳鼻喉科医院眼科

通信作者:钱韶红,Email:qsh2304@163.com

物信号分子或表位来帮助细胞附着。不同多聚物合成的支架各有其优缺点。

最初构造的可降解支架材料主要包括聚乳酸 (polylactic acid, PLA)、聚乳酸-乙醇酸共聚物 (poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA) 和聚己内酯二元醇 (polycaprolactone, PCL)^[2]。这些材料在体内和体外的降解与多聚物的相对分子质量和结晶度有关,在 PLGA 中降解率还与乳酸和乙醇酸亚基的比率有关,其中,PLGA 降解速率最快,PCL 最慢。聚甘油癸二酸酯 (poly glycerol sebacate, PGS) 是最近开发的支架材料,它在机械性能方面更接近天然组织。不同的支架材料在视网膜修复中有各自的优势。用于视网膜前体细胞 (retinal progenitor cells, RPCs) 移植的支架材料可根据表面拓扑结构 (纹理和形态) 大致分为模拟视网膜细胞垂直三维形态的微柱体支架、模拟细胞外基质的纤维支架和模拟视网膜机械性能的水凝胶支架 3 种类型。

1.2.1 模拟视网膜细胞垂直三维形态的微柱体支架 垂直柱体设计可通过在垂直方向上的整合力促进视网膜细胞之间的通信,在宿主视网膜可监测到许多视觉信号的表达。一些支架的垂直孔结构可引导支架内的细胞的生长以及减小细胞因植入时剪切力造成的伤害。

基于这种设计创建的第一个支架以 PLA 和 PLGA 为材料,使用固-液相分离或溶剂相转化技术,厚 100~200 μm ,表面有直径 50 μm 的孔^[3]。这些孔是垂直于表面的,它们并不连续,由此导致 RPCs 主要被限制在上部的 30 μm 中。移植后细胞存活率显著增加,但细胞不能从聚合物支架迁移到视网膜中。实验表明,类似的支架结构具有相同的缺点,其传输 RPCs 从聚合物支架向正常对照组小鼠的视网膜中迁移能力有限,而在视紫红质基因敲除 (Rho^{-/-}) 的小鼠视网膜中,甚至没有发生细胞迁移。此外,厚支架导致大量视网膜脱离并在植入过程中对视网膜造成损害^[4-7]。总之,PLA 和 PLGA 厚,其细胞迁移率低,视网膜损害大。

由此,较薄的含有圆柱形孔的支架应运而生。通过光刻和反应离子蚀刻技术,以聚甲基丙烯酸甲酯 (polymethyl methacrylate, PMMA) 创建的支架厚 6 μm ,含直径 11 μm 的孔,每孔间隔 63 μm ,表面涂覆有 PDL 和层黏连蛋白 (增加细胞与支架的结合率)。含孔支架所允许的移植到视网膜下腔的细胞数量比无孔支架增加 20 倍^[8];同时 6 μm 的厚度不会导致明显的视网膜变形。这种支架可增加细胞移植的总数,延长细胞与视网膜相互作用的时间,使细胞迁移到视网膜的数量增多,但 PMMA 不可降解,限制其广泛应用。总之,PMMA 材料较薄,含微孔,其细胞迁移率高,视网膜损害小,但不可降解。

PCL 支架材料厚 5~6 μm ,含直径 25 μm 的孔,可降解^[9]。与 PMMA 支架相同,PCL 含孔支架所允许的移植到视网膜下腔的细胞数量比无孔支架增加 20 倍,但由于该支架还未被植入到视网膜下腔,因此无法评估其对视网膜的影响。制备 2 个不同孔径直径的 PCL 支架,然后将其热黏结在一起,最终产生双层支架,总厚度 <30 μm ,上层孔径为 60 μm 或 200 μm ,下层孔径为 10 μm 。在该支架中,干细胞来源的光感受器将被接种到

较大孔径的上层支架,而在下层支架的孔促进光感受器外节与视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 层的相互作用。光感受器和神经胶质细胞能沿着孔的延伸方向定向生长。当双层支架被移植到 RPE 外植体时,光感受器外段形成并由 RPE 吞噬,但目前双层支架未被植入体内,其厚度造成的影响仍然未知。以上数据表明,厚度小于 50 μm 的支架可允许接种细胞与 RPE 的相互作用^[10],但目前尚不清楚当其植入到视网膜下腔时这种相互作用是否会持续以及移植细胞从生物可降解的支架到视网膜可发生何种程度的迁移。总之,PCL 材料薄,具有双层构架,可降解,上下层含孔直径不同,细胞迁移率高但未进行相关的体内实验。

PGS 材料厚 45 μm ,含直径 50 μm 的小孔,孔间距为 175 μm ,可弯曲,机械性能更接近于视网膜^[11]。将细胞接种到这种支架前,必须在表面涂覆一层黏连蛋白,以支持 RPCs 的生长和增生^[12]。与 PLA、PLGA 相比,PGS 具有较高的弹性,利用 PGS 支架的可弯曲性将其插入 1 个 1 mm 内径的针内,再注入到视网膜下腔,可提高移植效率,减少移植手术带来的影响。将支架分别注入到对照组和 Rho^{-/-} 组小鼠的视网膜下腔,结果显示移植细胞具有显著的整合能力,与 Rho^{-/-} 组相比,对照组有近 2 倍的细胞能够迁移至视网膜;细胞能迁移到外核层、内核层、神经节细胞层和神经纤维层,与 Rho^{-/-} 组相比,对照组有近 2 倍的细胞迁移到外核层和内核层^[12]。因此,使用有弹性的 PGS 材料制成的微柱支架能减少侵入性操作造成的损伤,更能提高移植细胞迁移至视网膜的数量。总之,PCL 材料中等厚度,含中等大小孔径,细胞迁移率可,延展性好,机械性能优良。

综上所述,材料支架的理想厚度为 5~50 μm 以减轻对视网膜物理性的损害,使用多聚物合成材料以提供良好的生物相容性,具有可降解性以减少长期的生物不良反应,具有一定的机械性能和柔韧性以减轻手术操作带来的损伤,含有微柱体孔以增加移植细胞迁移率。

1.2.2 模拟细胞外基质的纤维支架 纤维支架在组织工程领域中的应用十分广泛。这些纤维支架表面积大,利于细胞附着;同时具有互连的孔道,利于养分的运输^[13-14]。目前有多种方法来创建微米或纳米尺度的纤维,最常见的有静电纺丝法。研究者将 PCL 和生物材料脱乙酰壳多糖共价结合制备成纤维支架,并将其与这 2 种材料各自制备成纤维支架进行比较,分析其性质和细胞效应的异同^[15]。不同材料制备的支架结构类似:纤维不规则排列,平均直径为 656~925 μm ,含孔率为 77%~89%,直径较小的纤维支架含孔率低^[16]。由于制备材料不同,支架的水接触角有显著差别:疏水 PCL 支架的接触角为 134°,亲水性高分子脱乙酰壳多糖支架的接触角为 0°。降低疏水性可提高 RPCs 在支架上的迁移能力,也可增加 RPCs 增生率。研究者设计了一种 PCL 纤维支架,不规则排列,平均纤维直径为 3 μm ,孔隙率为 52%,平均孔径为 24.4 μm ,涂覆有层黏连蛋白,观察到 RPCs 在这种支架表面以及孔内均有生长。将支架移植到视网膜外植体,移植细胞迁移到对照组和 Rho^{-/-} 组视网膜的速度差异无统计学意义,仍需进一步研究其对视网膜的作用。

1.2.3 模拟视网膜机械性能的水凝胶支架 水凝胶支架已被广泛地用于神经细胞的培养^[17-20],这些刚性支架可通过定制以匹配中枢神经系统中的组织。由于植入时产生的机械力,移植相对较软的水凝胶支架极其困难。为了克服这种限制,研究者已开始研究原位水凝胶,目前,已有 2 种新的原位水凝胶支架可能在视网膜下腔移植中发挥作用。

将透明质酸钠和甲基纤维素以 1:1 比例混合制备水凝胶,该水凝胶具有温度反应性,通过改变 2 种聚合物在溶液中的总浓度,控制其弹性系数和胶凝时间。该聚合物以胶囊的形式或以单细胞悬浮液形式支持 RPCs 生长,且可得到与在无聚合物的培养基中相同的存活细胞。注射至视网膜下腔后,接种在透明质酸钠和甲基纤维素制备的水凝胶上的 RPCs 形成一层连续膜状物,覆盖大于 90% 的 Bruch 膜和 RPE 基底膜,而接种在含盐成分水凝胶上的 RPCs 仅覆盖约 50%。采用这种材料支架, RPCs 主要迁移至 RPE 层,少数细胞迁移到外核层。这种整合模式可能是由于移植的 RPCs 形成单层结构,与 RPE 层之间相互作用,导致细胞之间紧密连接的形成,进一步影响细胞最终的分化和整合^[21-22]。因为支架的物理屏障作用,这种相互作用未在其他类型的支架中发现。

当胶原修饰的聚 N-异丙基丙烯酰胺溶液达到生理温度,该水凝胶支架发生变性。改变聚 N-异丙基丙烯酰胺链的数量和其聚合到胶原上的方式可以控制胶凝时间。在这种水凝胶支架上培养 14 d 后,超过 90% RPE 存活,但尚未进行体内实验^[23]。

总之,水凝胶可形成膜状物覆盖 Bruch 膜,其促进移植细胞迁移进入视网膜的能力有限,此外水凝胶能否促进 RPCs 最终分化为光感受器仍然未知^[12,24]。

2 支架对移植前体细胞分化和活性的影响

2.1 前体细胞种类

研究者通过对不同类型的前体细胞进行研究,以期获得一种理想的移植细胞,用于治疗视网膜变性,目前主要包括视网膜祖细胞 (retinal progenitor cells, RPCs)、光感受器前体细胞 (photoreceptor precursor cells, PPCs) 和 RPE 细胞^[25-26]。RPCs 和 PPCs 从发育中的视网膜分离或从多能干细胞诱导而来,已被广泛研究^[27-28]。RPCs 从小鼠、猪、猴和人视网膜中提取,具有体外分化成不同类型视网膜细胞,包括光感受器的能力。在视网膜变性的实验模型中,它们作为移植细胞显示出良好的特性^[29]。从视网膜中分离的晚期 PPCs 也可用于视网膜再生并实现最佳的功能,但其局限性在于无法在体外扩增^[27];多能干细胞来源的 PPCs 在细胞移植中具有良好的应用前景,但其缺点在于分化不良。RPE 在正常视网膜的维护中起着关键作用,特别是对光感受器而言。正常状态下,RPE 为 10 ~ 15 μm 的六边形结构,其复杂的结构可以帮助细胞执行各种特殊的功能,其结构和功能的改变可导致遗传性和退行性视网膜疾病^[30]。RPCs 和 RPE 具有多潜能性、体外增殖率高和分化能力强的特点,在视网膜再生过程中起重要作用。

2.2 细胞传递和存活

最早应用于视网膜组织修复的是胚胎视网膜全层移

植^[31],该方法利用了其成熟的细胞形态与细胞之间的接触,但由于其难以与宿主组织整合,无法在体外培养和扩增,没有充足的供体材料且与宿主受损视网膜形成的双层视网膜结构之间缺乏接触,具有很大的局限性^[32]。细针注射新细胞,如 RPCs 可以取代受损的光感受器,研究表明注入到视网膜下腔的 RPCs 可以整合入宿主视网膜并表达成熟视网膜细胞标志物^[31]。然而,大多数细胞注入后很快死亡,只有小于 1% 的细胞在移植后 2 ~ 4 周存活,推测可能是由于在注射和回流过程中产生的剪切力使悬浮液中的细胞存活率和植入率大大降低^[33]。目前研究的支架材料可以精确、有效地传输细胞到视网膜下腔,同时还能提供薄层结构和孔道结构以支持移植物生长。

2.3 细胞整合与分化

前体细胞的分化与生物和机械因素有关,包括移植时细胞的年龄、培养物质、移植环境等。此外,支架材料及其机械性能也可影响前体细胞的分化^[34-37]。采用免疫组织化学法分析相关物质的表达可以监测细胞在支架上的整合和分化。

支架可以促进细胞的分化。以 PLA 支架来说, RPCs 不成熟标志物巢蛋白、HES1 和 HES5 表达下调^[38];胶质细胞源性纤维酸性蛋白 (glia fibrillary acidic protein, GFAP) (星形胶质细胞)、微管相关蛋白-2 (microtubule-associated protein 2, MAP2) (神经元)、 α -蛋白激酶 (protein kinase C- α , PKC- α) (双极细胞)、恢复蛋白 (光感受器) 和视紫红质 (光感受器) 等成熟分化标志物表达上调^[1]。在一些情况下,分化的细胞可在支架表面形成膜状结构,此时将 Pax6 用于标记视网膜内层细胞, OTX2 用于标记光感受器。移植后 Pax6 阳性的细胞保持在支架最上层的 20 μm 范围内, OTX2 阳性的细胞保持在底部 10 μm 内,中间为 20 μm 宽的过渡区域,而 GFAP 阳性的细胞覆盖整层支架,类似 Müller 胶质细胞在体内视网膜的分布^[5]。

支架也可抑制细胞的分化,保持前体细胞的活性。当 RPCs 接种于 PGS 支架表面时,等细胞不成熟标志物 Ki67 和巢蛋白表达上调;当前体细胞接种于支架内部时,细胞仅表达 GFAP 和 NF200 等视网膜神经节细胞成熟标记物^[39],一旦将这些细胞移植到外植体或体内时,它们开始分化成若干种细胞,包括 NF200 阳性的视网膜神经节细胞、PKC 阳性的双极细胞、CRX 阳性及视紫红质阳性的光感受器和 GFAP 阳性的神经胶质细胞,因此支架与其被放置的环境共同影响前体细胞的分化。迄今为止,尚无法证明支架能直接决定细胞分化成单一的视网膜细胞类型。

3 支架材料的表面修饰

3.1 支架材料的表面化学

优良的支架材料不仅能传输足量的移植细胞,也能促进细胞的分化与整合。通过湿化学技术、等离子技术、细胞识别分子技术等表面修饰策略,可以调节细胞对支架材料的响应^[40]。

细胞外基质蛋白可以增加细胞对多聚物支架的黏附力:层黏连蛋白影响前体细胞向成熟视网膜细胞的分化^[41],与无层黏连蛋白被覆的纤维相比,在有层黏连蛋白被覆的纤维上,神经突触生长更长;其他蛋白,如纤维蛋白、胶原蛋白、多聚-L-赖

氨酸也被用于表面修饰^[42],胶原修饰的纳米纤维促进细胞的附着和整合,以 PLGA、PMMA 和 PGS 为材料的支架需要来自层黏连蛋白或聚-L-赖氨酸的表面修饰以增强 RPCs 的黏附。经过对比不同混合培养基上感光细胞生长能力,发现吸收了成纤维生长因子和光感受器内基质的聚-L-赖氨酸/硫酸软骨素最适宜感光细胞的生长^[43-44]。

3.2 支架材料的物质传递

大部分合成支架材料也可以用于物质的传递^[45],从而促进移植细胞向视网膜整合的作用。在支架的创建过程中,可通过一定的方式将所需传递的物质结合到支架结构中。影响物质释放的因素包括物质的亲水性、结合浓度和分布、材料降解速率和表面积等。许多生长因子和神经因子^[46-47],如维甲酸、牛磺酸、睫状神经营养因子,可通过该方式发挥促进移植细胞向光感受器转化的作用。

将基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)结合到位于纤维蛋白核心的亲水性结构域,可进一步提高已融合的 RPCs 迁移在视网膜上^[48-49]。随着视网膜的退化,抑制性的细胞外基质蛋白 CD44 和神经因子不断积累,导致瘢痕修复,锌依赖的 MMP-2 可以通过降解该类物质,促进移植细胞整合到退化的视网膜上^[50-51]。在 MMP-2 修饰的纤维支架作用下,迁移到视网膜的移植细胞数量是空白对照组的 3~4 倍,移植的 RPCs 分化成光感受器的数目也较对照组增加 10~15 倍^[52-53]。

通过对支架材料进行表面修饰,如细胞外基质蛋白被覆,可增加细胞黏附力、整合迁移力和生长活性。同时,支架材料可传递生长因子、神经因子等物质,利用其释放后的生物活性,可促进移植细胞向视网膜成体细胞整合分化的性能。

4 小结

目前的视网膜组织工程策略通过结合视网膜细胞和支架材料来探究不同材料上视网膜细胞的生长发育能力,支架材料的理化特性可以影响移植细胞的存活、整合和分化。视网膜组织工程在治疗由年龄相关性黄斑变性和视网膜色素上皮炎导致的视网膜变性疾病中显示出了良好的应用前景。

参考文献

- [1] Tomita M, Lavik E, Klassen H, et al. Biodegradable polymer composite grafts promote the survival and differentiation of retinal progenitor cells [J]. *Stem Cells*, 2005, 23 (10) : 1579-1588. doi: 10.1634/stemcells.2005-0111.
- [2] McUsic AC, Lamba DA, Reh TA. Guiding the morphogenesis of dissociated newborn mouse retinal cells and hES cell-derived retinal cells by soft lithography-patterned microchannel PLGA scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2012, 33 (5) : 1396-1405. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.10.083.
- [3] Thomson HA, Treharne AJ, Backholer LS, et al. Biodegradable poly(α -hydroxy ester) blended microspheres as suitable carriers for retinal pigment epithelium cell transplantation [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2010, 95 (4) : 1233-1243. doi: 10.1002/jbm.a.32940.
- [4] Christiansen AT, Kiilgaard JF, Smith M, et al. The influence of brightness on functional assessment by mferg: a study on scaffolds used in retinal cell transplantation in pigs [J/OL]. *Stem Cells Int*, 2012, 2012 : 263264 [2015-02-19]. <http://www.hindawi.com/journals/sci/2012/263264>. doi: 10.1155/2012/263264.
- [5] McUsic AC, Lamba DA, Reh TA. Guiding the morphogenesis of dissociated newborn mouse retinal cells and hES cell-derived retinal cells by soft lithography-patterned microchannel PLGA scaffolds [J]. *Biomaterials*, 2012, 33 (5) : 1396-1405. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.10.083.
- [6] Rong X, Yang S, Miao H, et al. Effects of erythropoietin-dextran microparticle-based PLGA/PLA microspheres on RGCs [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53 (10) : 6025-6034. doi: 10.1167/iov.12-9898.
- [7] Du J, Shi QS, Sun Y, et al. Enhanced delivery of monomethoxy poly (ethylene glycol)-poly (lactic-co-glycolic acid)-poly L-lysine nanoparticles loading platelet-derived growth factor BB small interfering RNA by ultrasound and/or microbubbles to rat retinal pigment epithelium cells [J]. *J Gene Med*, 2011, 13 (6) : 312-323. doi: 10.1002/jgm.1574.
- [8] Tao S, Young C, Redenti S, et al. Survival, migration and differentiation of retinal progenitor cells transplanted on micro-machined poly (methyl methacrylate) scaffolds to the subretinal space [J]. *Lab Chip*, 2007, 7 (6) : 695-701. doi: 10.1039/B618583E.
- [9] Christiansen AT, Tao SL, Smith M, et al. Subretinal implantation of electrospon, short nanowire, and smooth poly (ϵ -caprolactone) scaffolds to the subretinal space of porcine eyes [J/OL]. *Stem Cells Int*, 2012, 2012 : 454295 [2015-02-24]. <http://www.hindawi.com/journals/sci/2012/454295>. doi: 10.1155/2012/454295.
- [10] McHugh KJ, Tao SL, Saint-Geniez M. Porous poly (ϵ -caprolactone) scaffolds for retinal pigment epithelium transplantation [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55 (3) : 1754-1762. doi: 10.1167/iov.13-12833.
- [11] Redenti S, Neeley WL, Rompani S, et al. Engineering retinal progenitor cell and scrollable poly (glycerol-sebacate) composites for expansion and subretinal transplantation [J]. *Biomaterials*, 2009, 30 (20) : 3405-3414. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.02.046.
- [12] Ballios BG, Cooke MJ, van der Kooy D, et al. A hydrogel-based stem cell delivery system to treat retinal degenerative diseases [J]. *Biomaterials*, 2010, 31 (9) : 2555-2564. doi: 10.1016/j.biomaterials.2009.12.004.
- [13] Liu Z, Yu N, Holz FG, et al. Enhancement of retinal pigment epithelial culture characteristics and subretinal space tolerance of scaffolds with 200 nm fiber topography [J]. *Biomaterials*, 2014, 35 (9) : 2837-2850. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.12.069.
- [14] Warnke PH, Alamein M, Skabo S, et al. Primordium of an artificial Bruch's membrane made of nanofibers for engineering of retinal pigment epithelium cell monolayers [J]. *Acta Biomater*, 2013, 9 (12) : 9414-9422. doi: 10.1016/j.actbio.2013.07.029.
- [15] Chen H, Fan X, Xia J, et al. Electrospun chitosan-graft-poly (varepsilon-caprolactone)/poly (varepsilon-caprolactone) nanofibrous scaffolds for retinal tissue engineering [J]. *Int J Nanomedicine*, 2011, 6 : 453-461. doi: 10.2147/IJN.S17057.
- [16] Nadri S, Kazemi B, Eslaminejad MB, et al. High yield of cells committed to the photoreceptor-like cells from conjunctiva mesenchymal stem cells on nanofibrous scaffolds [J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40 (6) : 3883-3890. doi: 10.1007/s11033-012-2360-y.
- [17] Albani D, Gloria A, Giordano C, et al. Hydrogel-based nanocomposites and mesenchymal stem cells: a promising synergistic strategy for neurodegenerative disorders therapy [J/OL]. *Scientific World Journal*, 2013, 2013 : 270260 [2015-02-23]. <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2013/270260>. doi: 10.1155/2013/270260.
- [18] Elliott Donaghue I, Tam R, Sefton MV, et al. Cell and biomolecule delivery for tissue repair and regeneration in the central nervous system [J]. *J Control Release*, 2014, 190 : 219-227. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.05.040.
- [19] Pandey M, Mohd Amin MC. CNS neurotoxicity of bacterial cellulose-poly (acrylamide-sodium acrylate) hydrogel: a future therapeutic carrier [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2014, 20 (4) : 377-378. doi: 10.1111/cns.12237.
- [20] Zustiak SP, Pubill S, Ribeiro A, et al. Hydrolytically degradable poly (ethylene glycol) hydrogel scaffolds as a cell delivery vehicle: characterization of PC12 cell response [J]. *Biotechnol Prog*, 2013, 29 (5) : 1255-1264. doi: 10.1111/cns.12237.

- [21] Hwang YS, Chiang PR, Hong WH, et al. Study in vivo intraocular biocompatibility of in situ gelation hydrogels: poly (2-ethyl oxazoline)-block-poly (epsilon-caprolactone)-block-poly (2-ethyl oxazoline) copolymer, matrigel and pluronic F127 [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(7) : e67495 [2015-02-27]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0067495>. doi: 10.1371/journal.pone.0067495.
- [22] Stanzel BV, Liu Z, Brinken R, et al. Subretinal delivery of ultrathin rigid-elastic cell carriers using a metallic shooter instrument and biodegradable hydrogel encapsulation [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(1) : 490-500. doi:10.1167/iov.11-8260.
- [23] Turturro SB, Guthrie MJ, Appel AA, et al. The effects of cross-linked thermo-responsive PNIPAAm-based hydrogel injection on retinal function [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(14) : 3620-3626. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.01.058.
- [24] Hertz J, Robinson R, Valenzuela DA, et al. A tunable synthetic hydrogel system for culture of retinal ganglion cells and amacrine cells [J]. *Acta Biomater*, 2013, 9(8) : 7622-7629. doi: 10.1016/j.actbio.2013.04.048.
- [25] Gualdoni S, Baron M, Lakowski J, et al. Adult ciliary epithelial cells, previously identified as retinal stem cells with potential for retinal repair, fail to differentiate into new rod photoreceptors [J]. *Stem Cell*, 2010, 28 : 1048-1059. doi:10.1002/stem.423.
- [26] Stern J, Temple S. Stem cells for retinal repair [J]. *Dev Ophthalmol*, 2014, 53 : 70-80. doi: 10.1159/000357328.
- [27] Tucker BA, Park IH, Qi SD, et al. Transplantation of adult mouse iPS cell-derived photoreceptor precursors restores retinal structure and function in degenerative mice [J/OL]. *PLoS One*, 2011, 6(4) : e18992 [2015-02-16]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0018992>. doi: 10.1371/journal.pone.0018992.
- [28] Klassen HJ, Ng TF, Kurimoto Y, et al. Multipotent retinal progenitors express developmental markers, differentiate into retinal neurons, and preserve light-mediated behavior [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004, 45(11) : 4167-4173. doi:10.1167/iov.04-0511.
- [29] Pearson RA, Barber AC, Rizzi M, et al. Restoration of vision after transplantation of photoreceptors [J]. *Nature*, 2012, 485(7396) : 99-103. doi:10.1038/nature10997.
- [30] Lu L, Yaszemski MJ, Mikos AG. Retinal pigment epithelium engineering using synthetic biodegradable polymers [J]. *Biomaterials*, 2001, 22(24) : 3345-3355.
- [31] Seiler MJ, Aramant RB. Cell replacement and visual restoration by retinal sheet transplants [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2012, 31(6) : 661-687. doi:10.1016/j.preteyres.2012.06.003.
- [32] del Cerro M, Notter MF, Grover DA, et al. Retinal transplants for cell replacement in phototoxic retinal degeneration [J]. *Prog Clin Biol Res*, 1989, 314 : 673-686.
- [33] Lee E, MacLaren RE. Sources of retinal pigment epithelium (RPE) for replacement therapy [J]. *Br J Ophthalmol*, 2011, 95(4) : 445-449. doi:10.1136/bjo.2009.171918.
- [34] Livesey FJ, Cepko CL. Vertebrate neural cell-fate determination: lessons from the retina [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2001, 2(2) : 109-118.
- [35] Okano H, Temple S. Cell types to order: temporal specification of CNS stem cells [J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2009, 19(2) : 112-119. doi:10.1016/j.conb.2009.04.003.
- [36] Osakada F, Jin ZB, Hirami Y, et al. In vitro differentiation of retinal cells from human pluripotent stem cells by small-molecule induction [J]. *J Cell Sci*, 2009, 122(Pt 17) : 3169-3179. doi:10.1242/jcs.050393.
- [37] Bhang SH, Lim JS, Choi CY, et al. The behavior of neural stem cells on biodegradable synthetic polymers [J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2007, 18(2) : 223-239.
- [38] Lavik EB, Klassen H, Warfvinge K, et al. Fabrication of degradable polymer scaffolds to direct the integration and differentiation of retinal progenitors [J]. *Biomaterials*, 2005, 26(16) : 3187-3196. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.08.022.
- [39] Neeley WL, Redenti S, Klassen H, et al. A microfabricated scaffold for retinal progenitor cell grafting [J]. *Biomaterials*, 2008, 29(4) : 418-426. doi:10.1016/j.biomaterials.2007.10.007.
- [40] Treharne AJ, Gossel MC, Lotery AJ, et al. The chemistry of retinal transplantation: the influence of polymer scaffold properties on retinal cell adhesion and control [J]. *Br J Ophthalmol*, 2011, 95(6) : 768-773. doi:10.1136/bjo.2010.184002.
- [41] Steiner-Champliand MF, Sahel J, Hicks D. Retinoschisin forms a multi-molecular complex with extracellular matrix and cytoplasmic proteins: interactions with beta2 laminin and alphaB-crystallin [J]. *Mol Vis*, 2006, 12 : 892-901.
- [42] Rowland TJ, Blaschke AJ, Buchholz DE, et al. Differentiation of human pluripotent stem cells to retinal pigmented epithelium in defined conditions using purified extracellular matrix proteins [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2013, 7(8) : 642-653. doi:10.1002/term.1458.
- [43] Aizawa Y, Shoichet MS. The role of endothelial cells in the retinal stem and progenitor cell niche within a 3D engineered hydrogel matrix [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(21) : 5198-5205. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.03.062.
- [44] Redenti S, Tao S, Yang J, et al. Retinal tissue engineering using mouse retinal progenitor cells and a novel biodegradable, thin-film poly (epsilon-caprolactone) nanowire scaffold [J]. *J Ocul Biol Dis Infor*, 2008, 1(1) : 19-29. doi:10.1007/s12177-008-9005-3.
- [45] Garg T, Singh O, Arora S, et al. Scaffold: a novel carrier for cell and drug delivery. [J]. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 2012, 29 : 1-63. doi:10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.v29.i1.10.
- [46] Mazumder MA, Fitzpatrick SD, Muirhead B, et al. Cell-adhesive thermogelling PNIPAAm/hyaluronic acid cell delivery hydrogels for potential application as minimally invasive retinal therapeutics [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2012, 100(7) : 1877-1887. doi:10.1002/jbma.34021.
- [47] Tezcaner A, Hicks D. In vitro characterization of micropatterned PLGA-PHBV8 blend films as temporary scaffolds for photoreceptor cells [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2008, 86(1) : 170-181. doi:10.1002/jbma.34021.
- [48] Tucker BA, Redenti SM, Jiang C, et al. The use of progenitor cell/biodegradable MMP2-PLGA polymer constructs to enhance cellular integration and retinal repopulation [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(1) : 9-19. doi:10.1016/j.biomaterials.2009.09.015.
- [49] Yao J, Tucker BA, Zhang X, et al. Robust cell integration from co-transplantation of biodegradable MMP2-PLGA microspheres with retinal progenitor cells [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(4) : 1041-1050. doi:10.1016/j.biomaterials.2010.09.063.
- [50] Cao L, Wang H, Wang F. Amyloid-beta-induced matrix metalloproteinase-9 secretion is associated with retinal pigment epithelial barrier disruption [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 31(5) : 1105-1112. doi:10.3892/ijmm.2013.1310.
- [51] Fernandez-Robredo P, Sadaba LM, Salinas-Alaman A, et al. Effect of lutein and antioxidant supplementation on VEGF expression, MMP-2 activity, and ultrastructural alterations in apolipoprotein E-deficient mouse [J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, 2013 : 213505 [2015-03-05]. <http://www.hindawi.com/journals/omcl/2013/213505>. doi:10.1155/2013/213505.
- [52] Ma J, Zhu TP, Moe MC, et al. Opticin production is reduced by hypoxia and VEGF in human retinal pigment epithelium via MMP-2 activation [J]. *Cytokine*, 2012, 59(1) : 100-107. doi:10.1016/j.cyt.2012.03.025.
- [53] Wang J, Cui J, Zhu H. Suppression of type I collagen in human scleral fibroblasts treated with extremely low-frequency electromagnetic fields [J]. *Mol Vis*, 2013, 19 : 885-893.

(收稿日期:2015-04-08)

(本文编辑:尹卫靖 杜娟)