

· 专家述评 ·

眼科干细胞研究的现状及进一步研究的问题

阴正勤 李世迎 蹇骞

【摘要】 干细胞具有自我更新能力和多向分化潜能,能通过非对称分裂的方式产生功能和类型更为局限的前体细胞及多种细胞系,进而再生新的细胞,参与损伤组织的修复和重建,是细胞移植研究和再生医学研究的主要对象。眼是一种由多种组织细胞和神经细胞组成的感觉器官,干细胞移植治疗眼科变性疾病具有易操作、可视性好、所需种子细胞量少和排斥反应轻的优点,在干细胞基础研究和临床研究中受到广泛关注。国内外研究团队正在进行干细胞移植治疗眼部不可逆疾病的 I、II 期临床试验,我国经 WHO 注册的 I 期临床试验也正处于病例招募阶段,以评估干细胞移植治疗眼部疾病的疗效和安全性。目前,关于干细胞移植治疗眼部疾病的研究仍存在很多尚需解决的问题。本文中评述眼科干细胞移植研究的进展以及进一步的研究方向。

【关键词】 干细胞/移植; 黄斑变性; 视网膜变性; 角膜疾病; 晶状体/再生; 临床试验; 人

The current study, challenges and application of stem cell transplantation in ophthalmology Yin Zhengqin, Li Shiyong, Jian Qian. Key Laboratory of Visual Damage and Repair of Chongqing, Department of Ophthalmology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China
Corresponding author: Yin Zhengqin, Email: qinzyin@aliyun.com

[Abstract] Stem cells are a group of undifferentiated cells with indefinite self-renewal and pluripotent differentiation ability. They are able to differentiate into precursor/progenitor cells and a variety of cell types and further regenerate new cells to be involved in the repair and rebuilding of injured tissue. Therefore, stem cells are becoming the major research objects in the study on tissue engineering therapy and regenerative medicine. As a sense organ composed of several kinds of neurons and other cells, eyes possess the dominant superiority in stem cell transplantation therapy because of its good operation controllability and visibility, less demand for seed cells and low rejection after transplantation. These advantages have aroused growing interest of the fundamental research and clinical trial in stem cell transplantation for irreversible eye diseases. Some exciting advances in the field of stem cell fundamental research, several phase I/II clinical trials are in progress. The patients with degenerative eye diseases for phase I clinical trials are in recruiting in China to evaluate future curative effect and security of stem cell-based therapies. Currently, several issues in stem cell-based eye disease therapies are still pending. We discuss the updated development of stem cell-based transplantation in ophthalmology and future researching direction in order to help ophthalmological researchers to understand the concepts and research strategies.

[Key words] Stem cells/transplantation; Macular degeneration; Retinal degeneration; Corneal diseases; Lens/regeneration; Clinical trials; Humans

干细胞指一类具有自我更新和多向分化潜能的未分化细胞,处于慢分裂周期,并能通过非对称分裂产生功能和类型更为局限的前体细胞或祖细胞及多种细胞系,从而再生新的细胞。根据其分化细胞的范围,干细胞可分为分化为胚胎和胚外组织的万能干细胞、只能

形成胚胎组织的干细胞、只能形成胚胎组织的多潜能干细胞、只能定向分化成有限数目的多能干细胞;根据其来源分为胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)和成体干细胞(adult stem cells, ASCs), ESCs 指从 5 日龄人囊胚内细胞团中分离的多潜能干细胞,包括诱导多潜能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs),即通过重编程和去分化,从已分化的间质细胞诱导获得的具有 ESCs 特性的细胞;ASCs 存在于成熟器官特定区域,能持续修复和再生相应组织,包括胎儿干细胞和间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)。MSCs

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.09.001

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划,2013CB967002)

国家重点基础研究发展计划(973 计划,2013CB967003)

作者单位:重庆 400038,第三军医大学西南医院眼科 重庆市视觉损伤与修复重点实验室

通信作者:阴正勤, Email: qinzyin@aliyun.com

可从自体中取材,临床应用中不涉及伦理问题,并可避免免疫排斥反应,具有广泛的应用前景。眼部组织具有手术创伤小、移植细胞的需求量少、排斥反应轻、术中可活体直视下操作、形态和功能评估方法简便、对侧眼是良好的对照等优势,已成为干细胞研究的主要器官,眼科相关的基础和临床研究进展非常迅速。

1 角膜干细胞的基础和临床研究

1.1 角膜缘干细胞

角膜缘干细胞(limbal stem cells, LSCs)位于角膜缘上皮基底层,具有自我更新和高增生潜能,但尚未发现绝对特异的 LSCs 标志物,目前用于识别 LSCs 的候选共表达标志物包括 p63、ABCG2、CK19、 α 烯醇化酶、 $\alpha 9$ 整合素、SOD2、角蛋白 15、N 钙黏素和 Importin13,其中 Importin13 是由我国学者发现的。角膜受到损伤后 LSCs 可分化为角膜上皮细胞^[1-2]。

各种原因引起的 LSCs 损害可导致 LSCs 缺乏症(limbal stem cells deficiency, LSCD),传统的手术方式包括异体角膜缘板层移植、带 LSCs 的自体结膜移植和亲属结膜移植,但大面积移植时对供者存在一定风险。采用人 LSCs 或口腔黏膜上皮来源的干细胞体外培养和扩增,形成重组上皮膜片后进行眼表重建的方法所需的供体材料少。近年来 LSCs 的培养方法逐渐标准化,美国、日本、意大利和韩国已批准其用于临床治疗。我国谢立信团队^[3]以羊膜为载体行同种异体 LSCs 移植,在随访的 1 年中患者视力和角膜基质厚度无明显变化,影响术后角膜存活危险因素是慢性感染和新生血管,此外睫状神经营养因子可促进角膜上皮干细胞/祖细胞的扩增,促进角膜上皮愈合和神经再生,对于 LSCD 和糖尿病相关角膜病变有治疗作用^[4]。

目前对于 LSCs 的基础和临床研究仍面临以下挑战:(1) LSCs 的特异性标志物、诱导激活和分化的调控信号、抑制新生血管的调控机制等研究仍待继续研究。(2) 移植后供体 LSCs 的转归尚缺乏直接证据,需要进一步研究。(3) 双眼和伴有其他并发症的 LSCD 治疗方案需要优化,尤其是眼表重建和功能恢复的问题^[5]。

1.2 角膜内皮细胞干细胞

角膜内皮细胞(corneal endothelial cells, CECs)干细胞/祖细胞主要位于人角膜周边内皮与小梁网之间,这些细胞表达干细胞标志物 Lgr5、Oct-3/4、Wnt-1、PAX6 和 SOX2 等,能在体外扩增而形成克隆球,具有更长的端粒和更有活性的端粒酶以及更有活力的子代,可能参与内皮损伤的早期修复和正常生理状态下的内皮更新。然而,体外培养的 CECs 增生能力有限,

发挥促增生作用的生长因子还不明确,再生细胞的特性和功能与正常 CECs 仍有差距^[6]。

2 晶状体干细胞的基础和临床研究

哺乳动物晶状体的再生来源于囊袋内残留的晶状体上皮细胞(lens epithelial cells, LECs),故提出了晶状体干细胞假说。分离犬类、猪、兔、鼠、人的 LECs 或体外培养晶状体囊袋均可获得 LECs,病毒转染后的永生 LECs 细胞系也已建立,目前也对兔、猫、狗、鼠的后发性白内障进行了在体研究。谢立信研究团队建立了 BALB/c 小鼠及 SD 大鼠后发性白内障(即晶状体再生)的动物模型。不过,晶状体干细胞的自我更新和分化潜能还需要更进一步验证,其定位也存在争议,此外如何获得与人正常晶状体结构和功能上更为相似的拟晶状体也需要进一步研究^[7]。将灵长类猴或人的 ESCs 进行体外定向诱导分化可形成拟晶状体,其能表达晶状体特异性蛋白和结构基因,但其蛋白表达谱与人晶状体尚有差异^[8]。

3 视网膜干细胞的基础和临床研究

3.1 ESCs 和 iPSCs

3.1.1 ESCs ESCs 具有无限增生能力和向三胚层分化的潜能。ESCs 诱导分化为视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)样细胞的方法包括自然分化法、基质细胞诱导法、无血清拟胚体悬浮培养法、小分子诱导法、视网膜决定法、神经球团分选法和 3D 视网膜诱导法等,用于年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)和 Stargardt 病的移植疗法^[9],美国加利福尼亚大学、洛杉矶 Stein 眼科学院、Wills 眼科医院、Bascorn Palmer 眼科学院展开的 hESC-RPE 细胞悬液移植多中心 I/II 期临床试验采用 ACT 公司提供的 hESC-RPE 对干性 AMD 和 Stargardt 病患者进行玻璃体切割-视网膜下腔注射,术后未发现黄斑皱褶、肿瘤形成、排斥反应等并发症,偶见的全身性并发症可能与口服免疫抑制剂有关。接受治疗的 18 例患者中,13 例视网膜下出现色素斑,占 72%;10 例视力改善,占 56%,视力不变者 7 眼,占 39%,视力降低者 1 眼,占 5%。该临床试验对移植细胞的长期存活率、安全性及其可能的生物学活性提供了强有力的证据^[10]。韩国首次报道了亚裔人种的 hESC-RPE 临床移植研究,该研究组将 hESC-RPE 移植到 2 例干性 AMD 和 2 例 Stargardt 患者眼内,1 年的随访期间 3 眼视力提高 9~19 行,1 眼视力保持稳定,无 RPE 细胞异常增生、成瘤、异常组织形成以及其他移植相关的安全

问题^[11]。除用 hESC-RPE 细胞悬液进行临床研究外, hESC-RPE 细胞植片移植的临床试验也在进行中, 美国南加利福尼亚大学眼科学院采用再生膜片技术, 以超薄高分子膜(聚对二甲苯)为载体制成 hESC-RPE 单层细胞植片, 用于中心凹萎缩的干性 AMD 和 Stargardt 者的临床 I/IIa 期试验, 对移植后安全性和耐受性进行评估^[12]。同期, 受伦敦盲人治愈计划(London Project to Cure Blindness, LPCB)资助的英国伦敦大学也自行建立了 hESC-RPE 细胞植片并培养在薄的聚酯膜上, 其 I 期临床试验于 2015 年开始实施^[13]。然而, 无论是用 hESC-RPE 细胞悬液还是细胞植片, 仍需解决以下问题: 如何通过 ESCs 获得数量多、具有多向分化潜能而且安全的种子干细胞; 移植后的细胞如何整合到视网膜中并有效发挥相应的功能; 不同疾病所需的移植细胞的种类、分化程度、移植量、移植方式等。

3.1.2 iPSCs iPSCs 具有与 ESCs 类似的形态和分化能力, 来源广泛, 无免疫排斥且不存在伦理问题。人成纤维细胞来源的 iPSCs 能够在体外诱导分化为感光细胞、RPE 细胞、视网膜神经节细胞等, 移植后能够整合到小鼠视网膜中, 并具有吞噬感光细胞外节盘膜及改善视网膜功能的作用^[9,14]。2013 年 7 月, 日本批准了首例 iPSC-RPE 细胞植片移植治疗干性 AMD 的临床试验, 将患者自体皮肤细胞诱导为 iPSCs, 并进一步诱导为 iPSC-RPE 单层细胞, 培养于凝胶支架上, 于 2014 年 9 月首次将其移植到 70 岁女性 AMD 患者, 但术后 6 个月患眼视力再次下降。目前 iPSCs 诱导中的基因突变问题尚未解决, 该研究已暂时中止^[15]。另一项受 LPCB 资助的 iPSC-RPE 细胞植片移植研究项目也在进行中。研究者将 iPSC-RPE 单层细胞植片培养于聚酯支架上并用于干性 AMD 患者的临床治疗, 对远期疗效及安全性进行评估^[16]。

但是, 由于 iPSCs 潜在的致癌风险, 其长期的安全性有待于进一步观察; 而且 iPSCs 的分化效率还不高, 导致其应用的成本高昂。

3.2 ASCs

3.2.1 MSCs MSCs 包括骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived stem cells, BMSCs)、脂肪间充质干细胞(adipose-derived stem cells, ADSCs)和脐带血间充质干细胞(umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells, UCMSCs)。MSCs 可避免免疫排斥反应, 能够在体外大量扩增, 还具有免疫调节和旁分泌效应, 在视网膜疾病的治疗中得到了广泛的应用^[9,14]。通过静脉注射 MSCs 的方式可对 RCS 大鼠进行治疗, 术后视网膜感光细胞层厚度较对照组增加, 视力改善, 异常血管复合

物和血管渗漏减少。RT-PCR 和免疫组织化学检测提示眼内生长因子和神经营养因子表达量增加, 该方法操作简便, 患者耐受性好, 可以反复治疗, 是一种理想的治疗研究方向^[17]。临床试验中应用较多的是 BMSCs, 虽然 BMSCs 来源于中胚层, 但它具有向其他胚层以及中枢神经元和视网膜细胞分化的能力, 已用于心肌梗塞、肝硬化、脑梗塞、AMD、糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)、视网膜静脉阻塞(retinal vein occlusion, RVO)、RP、遗传性黄斑变性、遗传性视网膜营养不良、视神经疾病、青光眼等的临床研究。Jonas^[18]等对 1 例 DR 玻璃体切割术后的患者进行自体 BMSCs 玻璃体腔注射, 术后安全性好, 但视力没有改善。目前多采用 BMSCs 悬液视网膜下腔或玻璃体腔注射(10×10^6 cells/0.1 ml)的方式, 前者手术创伤较大, 重复治疗受限; 后者有潜在的玻璃体腔内细胞增生的风险。美国的一个研究小组用巩膜脉络膜插入微管的方式将人脐带组织来源干细胞(human umbilical tissue-derived stem cells, hUTSCs)悬液移植到干性 AMD 患者视网膜下腔, 目前还没有 I/II 期临床试验的研究报道^[19]。

迄今为止, 关于 MSCs 能分化为视网膜细胞的证据尚不充分。大多数研究表明, BMSCs 在体内难以向神经元和视网膜细胞分化, 其改善视网膜功能的作用可能是通过其抗炎、免疫调节、神经营养来实现的^[16]。

3.2.2 其他来源的 ASCs 其他多种 ASCs 研究包括视网膜前体细胞(retinal progenitor cells, RPCs)、神经前体细胞(neuronal progenitor cells, NPCs)、胎儿视网膜神经上皮层及 RPE 层移植片。(1)RPCs 人 RPCs 体外分离扩增并移植到 RCS 大鼠视网膜下腔后 12 周, 大鼠眼动反应和视力较伪手术组显著改善, 视网膜外核层厚度和细胞数量增加, 提示人 RPCs 移植可延缓疾病进展, 可能与宿主感光细胞得到保护有关。人 RPCs 移植后大鼠耐受较好, 未见肿瘤形成^[20]。我们实验室将胚胎组织来源的人 RPCs 移植到 RP 患者视网膜下, 术后随访 1 年, 患者术后耐受较好, 无免疫排斥反应, 手术操作安全, 患者视力得到一定程度改善。(2)近年来研究发现, 与中枢海马来源的 NPCs 相比, 大脑皮质来源的神经前体细胞(cortical neural progenitor cells, CNPCs)具有更好的向 RPE 细胞分化的能力, 其移植到 RCS 大鼠视网膜下腔后大鼠视网膜功能明显改善, 并可持续 270 d。正常猕猴行 CNPCs 移植后在视网膜下腔可形成单细胞层, 对视功能没有影响, 也没有出现严重并发症^[14]。StemCells 公司正在进行人胎儿神经干细胞(human fetal central neuron stem

cells, HuCNS-SCs) 悬液移植治疗干性 AMD 的 I/II 期临床试验, 评估其初步疗效及长期安全性^[21]。(3) 胎儿视网膜神经上皮层及 RPE 层移植片 Aramant 团队将 9~16 周的流产人胎儿视网膜神经上皮层及 RPE 层联合移植片植入到干性 AMD 或 RP 患者视网膜下腔, 随访 1 年后发现, 4 例干性 AMD 患者的视力均提高, 6 例 RP 患者中 3 例视力提高, 1 例视力稳定, 2 例视力下降; 微视野检查示视功能改善, 未观察到免疫排斥反应^[22]。

3.3 视网膜内源性干细胞

3.3.1 睫状缘干细胞

视网膜周边与睫状体相连处具有原始干细胞/祖细胞存在的部位称为睫状缘 (ciliary margin zone, CMZ)。研究发现, 鱼和两栖类动物 CMZ 干细胞分裂增生非常活跃, 不断产生新的神经元整合到视网膜中, 而鸡、鼠、人的 CMZ 干细胞处于休眠状态, 仅在病理情况下才活化, 但分化能力有限, 不能完成视功能的自我修复。将大鼠和小鼠的 CMZ 干细胞分离培养均能在体外形成克隆球, 证实其具有自我更新的能力。胰岛素、成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF)-1、FGF-2、Shh (Sonic Hedgehog) 等一定程度上支持 CMZ 干细胞的神经再生潜能, 并诱导产生具有极性和吞噬功能的 RPE 样细胞。但是, 如何在哺乳动物中在体激活这些细胞并对其增生和分化进行调控目前仍是挑战^[9,14,23]。

3.3.2 视网膜 Müller 细胞

Müller 细胞成熟较晚, 具有一定的 RSCs 祖细胞特征。Müller 细胞是鱼类视网膜损伤后修复的主要来源, 可完全再生视网膜神经元。哺乳动物 Müller 细胞也具有 RSCs 潜能, 能在 FGF-2 存在下体外增

生形成克隆球, 并向神经元分化, 在视网膜损伤情况下也能大量增生, 产生新的视网膜神经元, 替代缺失的细胞。移植的外源性干细胞, 如 RSCs、BMSCs 以及一些生长因子, 如表皮生长因子和神经生长因子等能激活 Müller 细胞的神经再生潜能。根据损伤神经元和微环境的变化, Müller 细胞能分化和表达多种视网膜神经细胞标志物, 改善宿主视功能。但如何在哺乳动物中

表 1 已在 WHO 和 NIH 注册的干细胞治疗眼底疾病的临床试验

注册号	时间	主要发起人/单位	受试人数	细胞来源	疾病	移植方式	试验阶段
NCT01344993	2011/04-2015/09	Ocata Therapeutics, Inc. (美国)	16	hESC-RPE (MA09-hRPE)	干性 AMD	SR-I	I/II
NCT01345006	2011/04-2015/09	Ocata Therapeutics, Inc. (美国)	16	hESC-RPE (MA09-hRPE)	Stargardt 黄斑变性	SR-I	I/II
NCT02122159	2014/04-2015/09	Ocata Therapeutics, Inc. (美国)	N/A	hESC-RPE (MA09-hRPE)	Myopic 性黄斑变性	SR-I	I/II
JPRN-UMIN000011929	2013/02/10-移植后 4 年	RIKEN Institute (日本)	6	IPSC-RPE 植片	渗出性 AMD	细胞植片视网膜下腔移植	N/A
NCT01691261	2015/02-2017/11	Pfizer (英国)	10	hESC-RPE (PF-05206388)	湿性 AMD	单层细胞支架视网膜下腔移植	I
NCT01674829	2012/09-2016/04	CHABiotechCO., Ltd (韩国)	12	hESC-RPE (MA09-hRPE)	干性 AMD	SR-I	I/II
NCT01632527	2012/06-2015/06	StemCells, Inc (美国)	15	HuCNS-SC	干性 AMD	SR-I	I/II
NCT00345917	2006/06-2012/06	Radtke, Norman D., M. D (美国)	10	人胚胎神经视网膜组织和 RPE	RP	视网膜下腔移植	II
NCT00346060	2006/06-2012/03	Radtke, Norman D., M. D (美国)	10	人胚胎神经视网膜组织和 RPE	干性 AMD	组织片视网膜下腔移植	II
NCT01226628	2010/09-2019/11	Janssen Research & Development, LLC (美国)	24	hUTCs (CNTO 2476)	干性 AMD	SR-I	I
NCT01920867	2013/08-2017/08	Retina Associates of South Florida (美国)	300	hBMSCs	AMD、RP、RVO、视神经萎缩等	SR-I、细胞悬液玻璃体腔、球后注射、腾氏囊下注射、静脉注射	N/A
NCT01736059	2012/07-2015/12	University of California, Davis (美国)	15	BMSCs (CD34+)	干性 AMD、DR、RVO、RP、遗传性黄斑变性	玻璃体腔注射	I
NCT01518127	2011/11-2015/12	University of Sao Paulo (巴西)	10	自体 BMSCs	Stargardt 黄斑变性、AMD	玻璃体腔注射	I/II
CTRI/2010/091/00639	2010/05/-(入组中)	Indian Council Of Medical Research, India (印度)	50	BMSCs	干性 AMD、RP	玻璃体腔注射	I
ChiCTR-TNRC-08000193	2008/05/-(入组中)	第三军医大学西南眼科医院 (中国)	10	人视网膜祖细胞	RP	SR-I	I
ChiCTR-TNRC-14004694	2014/05/-(入组中)	第三军医大学西南眼科医院 (中国)	20	人 BMSCs	RP	静脉注射	I
ChiCTR-TNRC-14005060	2014/07/-(入组中)	第三军医大学西南眼科医院 (中国)	20	人 UC-MSCs	RP	静脉注射	I
ChiCTR-OCB-15006423	2015/05/-(入组中)	第三军医大学西南眼科医院 (中国)	10	hESC-RPE	Stargardt 黄斑变性、AMD	SR-I	I

注: WHO 国际临床实验注册平台 (<http://ctri.nic.in/Clinicaltrials/login.php>); 美国国立卫生研究院 (NIH) 临床实验注册平台 (<https://clinicaltrials.gov/>); HuCNS-SCs: 人中枢神经系统干细胞; hUTCs: 人脐源性细胞; hESC-RPE: 人胚胎干细胞源性视网膜色素上皮; BMSCs: 骨髓源性间充质干细胞; UC-MSCs: 脐带源性间充质干细胞; AMD: 年龄相关性黄斑变性; RP: 视网膜色素上皮变性; DR: 糖尿病视网膜病变; RVO: 视网膜静脉阻塞; SR-I: 细胞悬液视网膜下腔注射; N/A: 未填写

激活 Müller 细胞并对其增生和分化进行调控仍不清楚, Müller 细胞的胶质化仍是影响其发挥干细胞/祖细胞特性的主要原因^[14]。

4 研究者应当继续关注的相关问题

眼科干细胞研究因其独有的优势,已成为目前干细胞基础研究和再生医学研究中备受关注的领域,目前已在 WHO 国际临床试验注册平台(International Clinical Trials Registry Platform, ICTRP)及美国国立卫生研究院(NIH)的 ClinicalTrials.gov 上注册的多项临床试验证实眼科干细胞移植安全性好,但其远期疗效是需解决的瓶颈问题,一些临床试验处于病例招募阶段(表 1)。随着干细胞研究技术的进展和政府对相关研究支持力度的加大,干细胞移植治疗不可逆眼病的临床试验工作相继展开,我国眼科干细胞移植的临床研究也进入了新的阶段,眼科研究者应密切关注眼科干细胞移植研究的进展。目前要进一步改进的研究包括:(1)临床级低成本的稳定干细胞来源的种子细胞开发;(2)微创、可重复的临床移植方法优化;(3)干细胞移植后细胞的长期存活及免疫排斥反应的临床监测;(4)移植细胞与宿主细胞的功能联系。同时,眼科干细胞移植与其他领域研究进展的交叉融合,如干细胞与基因治疗的联合、干细胞与组织工程支架研究的联合以及动员高等哺乳动物的内源性干细胞的方法研究,也将为干细胞移植技术的临床应用打开新的思路。

参考文献

- [1] 马建民,王宁利.组织工程在视网膜退行性疾病中的应用进展[J].中华实验眼科杂志,2011,29(7):665-668. doi:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2011.07.022.
- [2] 谢立信.我国角膜基础和临床研究的现状及发展[J].中华眼科杂志,2010,46(10):883-887. doi:10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2010.10.003.
- [3] Qi X, Wang J, Sun D, et al. Postoperative changes in amniotic membrane as a carrier for allogeneic cultured limbal epithelial transplantation[J]. Am J Ophthalmol, 2014, 158(6):1192-1198. doi:10.1016/j.ajo.2014.08.019.
- [4] Zhou Q, Chen P, Di G, et al. Ciliary neurotrophic factor promotes the activation of corneal epithelial stem/progenitor cells and accelerates corneal epithelial wound healing[J]. Stem Cells, 2015, 33(5):1566-1576. doi:10.1002/stem.1942.
- [5] 谢立信,周庆军.干细胞移植与角膜功能重建的研究进展及其存在的问题[J].中华实验眼科杂志,2011,29(5):385-388. doi:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2011.05.001.
- [6] 朱梦玉,邵春益,傅瑶.角膜内皮细胞再生研究新进展[J].中华细胞与干细胞杂志:电子版,2014,4(2):35-40. doi:10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2014.02.007.
- [7] 谢立信,张辉.关注哺乳动物晶状体再生及“晶状体干细胞”的研究[J].中华实验眼科杂志,2012,30(4):481-484. doi:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2012.06.001.
- [8] 刘奕志,董夏.干细胞与晶状体再生[J].中华细胞与干细胞杂志:电子版,2014,4(1):48-52. doi:10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2014.01.009.
- [9] 党亚龙,徐永胜,张纯.干性年龄相关性黄斑变性的干细胞治疗——现状及展望[J].中华细胞与干细胞杂志:电子版,2014,4(2):41-48. doi:10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2014.02.008.
- [10] 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]. The Lancet, 2015, 385(9967):509-516. doi:10.1016/S0140-6736(14)61376-3.
- [11] Song WK, Park KM, Kim HJ, et al. Treatment of macular degeneration using embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium: preliminary results in Asian patients[J]. Stem Cell Reports, 2015, 4(5):860-872. doi:10.1016/j.stemcr.2015.04.005.
- [12] Lu B, Zhu D, Hinton D, et al. Mesh-supported submicron parylene-C membranes for culturing retinal pigment epithelial cells[J]. Biomed Microdevices, 2012, 14(4):659-667. doi:10.1007/s10544-012-9645-8.
- [13] Carr AJ, Smart MJ, Ramsden CM, et al. Development of human embryonic stem cell therapies for age-related macular degeneration[J]. Trends Neurosci, 2013, 36(7):385-395. doi:10.1016/j.tins.2013.03.006.
- [14] 杨琨,董方田.视网膜干细胞的研究进展[J].中华实验眼科杂志,2011,29(9):852-856. doi:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2011.09.021.
- [15] Kamao H, Mandai M, Okamoto S, et al. Characterization of human induced pluripotent stem cell-derived retinal pigment epithelium cell sheets aiming for clinical application[J]. Stem Cell Reports, 2014, 2(2):205-218. doi:10.1016/j.stemcr.2013.12.007.
- [16] Nazari H, Zhang L, Zhu D, et al. Stem cell based therapies for age-related macular degeneration: The promises and the challenges[J]. Prog Retin Eye Res, 2015, 48:1-39. doi:10.1016/j.preteyeres.2015.06.004.
- [17] Wang S, Lu B, Girman S, et al. Non-invasive stem cell therapy in a rat model for retinal degeneration and vascular pathology[J/OL]. PLoS One, 2010, 5(2):e9200 [2015-08-18]. http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0009200. doi:10.1371/journal.pone.0009200.
- [18] Jonas JB, Witzens-Harig M, Arseniev L, et al. Intravitreal autologous bone marrow-derived mononuclear cell transplantation: a feasibility report[J]. Acta Ophthalmol, 2008, 86(2):225-226. doi:10.1111/j.1600-0420.2007.00987.x.
- [19] Ramsden CM, Powner MB, Carr AJ, et al. Stem cells in retinal regeneration: past, present and future[J]. Development, 2013, 140(12):2576-2585. doi:10.1242/dev.092270.
- [20] Luo J, Baranov P, Patel S, et al. Human retinal progenitor cell transplantation preserves vision[J]. J Biol Chem, 2014, 289(10):6362-6371. doi:10.1074/jbc.M113.513713.
- [21] McGill TJ, Cottam B, Lu B, et al. Transplantation of human central nervous system stem cells-neuroprotection in retinal degeneration[J]. Eur J Neurosci, 2012, 35(3):468-477. doi:10.1111/j.1460-9568.2011.07970.x.
- [22] 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.preteyeres.2012.06.003.
- [23] Bi YY, Feng DF, Pan DC. Stem/progenitor cells: a potential source of retina-specific cells for retinal repair[J]. Neurosci Res, 2009, 65(3):215-221. doi:10.1016/j.neures.2009.07.008.

(收稿日期:2015-08-20)

(本文编辑:尹卫靖)