

组织工程角膜上皮种子细胞的研究进展

曹静洁 综述 张琛 赵少贞 审校

【摘要】 对于角膜缘干细胞(LSCs)缺乏导致的眼表疾病,角膜移植是较好的治疗方法,传统角膜移植术的开展受供体来源匮乏、术后排斥反应等因素的影响。构建组织工程角膜上皮进行移植很大程度上解决了供体来源和术后免疫排斥的问题,成为重要和有效的治疗方法,而种子细胞的选择是手术成功的关键。随着组织工程技术和细胞培养技术的不断发展,组织工程角膜种子细胞方面的研究越来越多,种子细胞的可选择性也越来越大,如胚胎干细胞(ESC)、LSCs等研究已经逐步展开。就目前体外重建组织工程角膜上皮研究中使用的种子细胞及其近年来的相关研究进展进行综述。

【关键词】 角膜上皮/移植; 组织工程/方法学; 干细胞/细胞学; 细胞分化; 细胞培养; 组织工程角膜上皮

Current researches of tissue engineering corneal epithelium seed cells Cao Jingjie, Zhang Chen, Zhao Shaozhen. Department of Refraction and Corneal, Tianjin Medical University Eye Hospital & Eye Institute, Tianjin 300384, China

Corresponding author: Zhao Shaozhen, Email: zhaoshaoz1997@sina.com

【Abstract】 Keratoplasty is a choice for the treatment of ocular surface diseases caused by corneal limbal stem cells (LSCs) deficiency. The application of traditional keratoplasty is limited by availability of donor corneas and allograft rejection. Construction of tissue engineering corneal epithelium provides an important and effective approach to the transplantation of cornea, because it can solve the lack of donor corneas and avoid allograft rejection following keratoplasty. However, the selection of the seed cells is crucial to corneal tissue engineering. What is more, the research of seed cells is becoming more and more widespread, just like embryonic stem cells (ESCs) and LSCs. This article summarized the selection of seed cells and the progress of tissue-engineered human corneal epithelium.

【Key words】 Epithelium, corneal/transplantation; Tissue engineering/methods; Stem cells/cytology; Cell differentiation; Cells, cultured; Tissue engineering corneal epithelium

角膜病是主要的致盲眼病之一,角膜移植是严重角膜病变的有效治疗方法,但目前角膜捐献数量不足,供体角膜匮乏,因此组织工程角膜成为相关研究的热点。构成组织工程角膜的三大要素包括支架材料、种子细胞和三维构架,由体外培养扩增的种子细胞种植于载体支架材料构建而成,该构建物具有正常角膜的结构特征及生物学功能^[1]。选择有效的种子细胞成为目前组织工程人工角膜研究的焦点和难点问题之一。角膜上皮由5~6层细胞组成,表层为2~3层无角化的鳞状细胞,中间2~3层为体积较大的翼状细胞,最底层为基底细胞层,通过半桥粒结构与基底膜紧密连接。相邻的上皮细胞间通过桥粒结构紧密连接,发挥上皮屏障作用,对维持角膜透明性起重要作用。角膜上皮再生能力强,角膜缘干细胞(limbal stem cells, LSCs)可通过移行来覆盖上皮损伤区,对损伤的角膜上皮进行修复。严重的感染、化学烧伤或热烧伤、长期配戴角膜接

触镜、眼部多次手术及Stevens-Johnson综合征等均可引起角膜缘干细胞的损伤,临床上表现为角膜上皮结膜化、角膜溃疡迁延不愈、慢性角膜炎等^[2-3]。本文就目前组织工程角膜上皮体外重建研究中种子细胞相关的研究进展进行综述。

1 干细胞

1.1 胚胎干细胞

胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)具有无限增生、分化和自我更新的特点,近年来的相关研究已经由单纯诱导 ESCs 分化为上皮样细胞的研究转为对其在动物模型上应用的在体观察。Zhu 等^[4]将 ESCs 诱导为 LSCs,从而构建组织工程角膜并移植于 LSCs 缺乏模型兔眼中,发现其能重建损伤的眼表并抑制角膜新生血管的生长。但是 ESCs 的诱导效率较低,有致瘤的可能且受伦理学等方面的制约,其临床应用受到限制。

1.2 LSCs

LSCs 是角膜上皮增生、分化和移行的来源。LSCs 具有其他干细胞所具有的生物学特性,并通过向心性移动和角膜上皮基底细胞的分裂、迁移来补充角膜表面脱落的上皮细胞,完成

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.09.020

作者单位:300384 天津医科大学眼科医院 眼科研究所 屈光与角膜科

通信作者:赵少贞, Email: zhaoshaoz1997@sina.com

上皮细胞更新过程的动态平衡。LSCs 在体外培养时可能会失去部分抗原性,故免疫排斥性低,是理想的组织工程角膜种子细胞。Prabhasawat 等^[1]将 LSCs 种植到羊膜上构建组织工程角膜上皮,并移植于 19 眼,其中 12 眼接受自体角膜缘上皮移植,7 眼接受异体角膜缘上皮移植,术后 14 眼视力改善;在接受组织工程角膜缘上皮移植的 19 眼中,14 眼在术后平均 26.1 个月后并未出现中央结膜化或严重炎症,5 眼在术后平均 20.4 个月角膜依然保持透明。Rendal-Vázquez 等^[5]评估移植到不同面羊膜上的 LSCs 生长情况,发现移植于羊膜上的 LSCs 可以表达 ATP 结合盒转运亚型 G-2 (ATP-binding cassette transporter subtype G-2, ABCG-2) 及 p63,表明 LSCs 有分化为角膜上皮样细胞的潜能。Meller 等^[6]取少量的 LSCs 来源细胞诱导成上皮细胞,移植于 LSCs 缺乏的患病眼后取得了一定的成功。Yin 等^[7]用 Venus 标记的 LSCs 在脱细胞人羊膜上培养 21 d,发现其形成角膜上皮细胞层,移植至 LSCs 缺乏症的羊膜型眼 3 个月后发现模型眼的眼表明显修复。皮裕琨等^[8]将 LSCs 作为种子细胞构建组织工程角膜上皮,对兔角膜碱烧伤模型眼行组织工程角膜缘上皮移植术,结果显示眼表恢复较快,证明 LSCs 作为种子细胞是可行的,认为对于 LSCs 缺乏患者用 LSCs 重建的组织工程角膜可有效修复眼表,降低免疫排斥反应,但是对于双眼 LSCs 缺乏患者,其材料来源受到自体提供的限制,因此应致力于寻找其他种子细胞。

1.3 间充质干细胞

间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 由于其多能性和增生活跃,在组织再生研究中受到广泛关注。姜廷帅等^[9]将分离提纯的鼠骨髓 MSCs 与角膜基质细胞共培养,并在体外对其进行诱导分化,通过免疫荧光技术可见角膜上皮细胞特异性标志物角蛋白 12 (keratin12, K12) 的表达,表明在角膜基质细胞诱导下体外培养的骨髓 MSCs 可横向分化成角膜上皮细胞。侯光辉等^[10]体外分离人骨髓 MSCs 并进行提纯和扩增培养,将传代的骨髓 MSCs 种植到猪角膜前弹力层,形成单层细胞后用 air-lifting 培养法进行培养,以形成多层细胞。诱导培养后 4 周可见部分骨髓 MSCs 表达细胞角蛋白 12 (cytokeratin12, CK12) 和 CK19,苏木精-伊红染色和免疫荧光染色显示其形成 1~2 层上皮样细胞,证实骨髓 MSCs 可分化成角膜上皮样细胞。徐舒怡等^[11]将人脐带 MSCs 接种至去上皮猪角膜基质,培养后 4 d 对实验组兔行板层角膜移植,对照组单纯移植去上皮猪角膜基质,术后在激光扫描共焦显微镜下可见新生的角膜上皮样细胞,说明人脐带 MSCs 构建的组织工程角膜上皮可以增生、分化为角膜上皮样细胞,可用于修复甚至重建损伤的角膜表层。Reinshagen 等^[12]将 21 只 LSCs 缺乏症兔模型分成 4 个组,其中对照组 6 只眼,羊膜移植组 5 只眼,羊膜和 LSCs 移植组 4 只眼,另 6 只眼在羊膜下注射大量自体骨髓 MSCs。骨髓 MSCs 移植后 280 d 检测到 ABCG-2、整合素 $\beta 1$ 和黏蛋白 43 的表达,证实其具有分化为角膜上皮样细胞的潜能。MSCs 可在特定的诱导条件下进行分化且增生能力强,大量研究证明骨髓 MSCs 在角膜组织工程方面应用上的前景,骨髓 MSCs 在未来可能成为组织工程角膜上皮种子细胞的一个选择,但分化的上皮细胞是否具有相应的功能仍有待研究。

1.4 毛囊上皮干细胞

毛囊上皮干细胞取材较容易,增生能力强,已用于组织工程角膜上皮研究中。Blazejewska 等^[13]从鼠口角毛囊隆起区分离出上皮样细胞,体外扩增后加入不同培养基,研究毛囊干细胞在角膜或角膜缘微环境下是否能分化成角膜上皮样细胞,通过观察细胞的形态和分化情况,发现成年毛囊上皮干细胞在角膜缘特有的微环境下进行体外培养后有分化成角膜上皮样细胞的能力。

1.5 脂肪来源干细胞

成人脂肪来源干细胞 (adipose-derived stem cells, ADSCs) 容易获得,操作方便,组织损伤较小,并具有多能性,其分化为上皮样细胞方面的研究较多。Martínez-Conesa 等^[14]发现成人 ADSCs 可表达 CD90、ABCG2、P63、CK12 和 CK76,提示成人 ADSCs 有自我更新能力和内在可塑性,具备获得某些上皮样细胞的特性,认为成人 ADSCs 有分化成角膜上皮样细胞的能力。Li 等^[15]对三维培养体系中体外培养的兔 ADSCs 分化成上皮样细胞的能力进行研究,显示在上皮细胞特有的微环境下体外培养的兔 ADSCs 可诱导分化为上皮样细胞。Yan 等^[16]通过体外培养人 ADSCs 证实成人 ADSCs 可分化为上皮样细胞并仍能保持干细胞的大部分特性。上述研究均致力于证实 ADSCs 可以分化为上皮样细胞,但其能否发挥正常角膜上皮功能有待进一步研究证实。

2 诱导多能干细胞

诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cells, iPSCs) 通常是在培养基中添加合适的转录因子后将体细胞去分化成多能干细胞样。Oct3/4、Sox2、c-Myc 和 Klf4 在体细胞诱导成为 iPSCs 的过程中起关键作用。在角膜研究方面,Sakurai 等^[17]研究发现,iPSCs 可以成功地分化成上皮起源细胞,并表达 p63 及维持角膜再生的转录因子和 K14,证明鼠 iPSCs 可以诱导出上皮样细胞。Yoshida 等^[18]研究表明,由 iPSCs 分化成的 KRT14 和 p63 双阳性上皮样细胞可产生极化多层细胞层。

Hayashi 等^[19]将人真皮成纤维细胞来源的 iPSCs 和人角膜缘上皮细胞来源的 iPSCs 进行分化,培养后 12 周细胞分化成视网膜色素上皮样细胞和晶状体细胞,并开始分化成 Pax6⁺/K12⁺角膜上皮细胞群。Yu 等^[20]将鼠 iPSCs 与角膜缘基质组织共培养,同时添加碱性成纤维细胞生长因子、表皮生长因子和神经生长因子等,发现其能表达角膜上皮细胞的标志物 K12,显示鼠 iPSCs 可分化为角膜上皮样细胞。虽然 iPSCs 的产生效率低,但开辟了新的干细胞来源途径,且 iPSCs 不涉及伦理方面的问题,体细胞来源相对容易,可分化成多种细胞,为组织工程角膜上皮的构建提供更多选择。

3 成体细胞

3.1 人羊膜上皮细胞

人羊膜上皮细胞 (amniotic epithelial cells, AECs) 具有某些干细胞特性且无致瘤性,同种异体移植后无免疫排斥反应,有作为组织工程角膜上皮种子细胞的潜能。金玲等^[21]研究发现,用增强型绿色荧光蛋白 (enhanced green fluorescence

protein, EGFP) 基因修饰的人 AECs 构建的组织工程角膜上皮可以较好地重建 LSCs 缺损的兔眼角膜表层, 人 AECs 可能成为组织工程角膜上皮新的种子细胞。卢建民等^[22] 研究发现, 移植至兔 LSCs 缺损模型的兔 BMSCs 和人羊膜上皮细胞均能分化为角膜上皮样细胞, 但羊膜细胞是否可分化成有功能的各种细胞还需进一步研究, 这也限制了其在组织工程角膜方面的应用。

3.2 口腔黏膜上皮细胞

口腔黏膜上皮细胞分化程度较低, 细胞周期短, 体外培养时能够保持非角质化状态, 在种子细胞研究方面具有优势。近年针对口腔黏膜上皮的研究逐渐增加, 已有研究利用口腔黏膜上皮细胞来构建组织工程角膜上皮并移植到兔眼模型上, 探讨其作为组织工程角膜构建的种子细胞的可能性。Nakamura 等^[23] 选取成年白化病兔进行板层角膜切除术来构建角膜损伤模型, 取白化病兔和人口腔黏膜上皮细胞层在脱细胞羊膜支架上培养 2~3 周, 构建组织工程角膜上皮, 通过组织学观察发现培养的口黏膜上皮细胞外观与体外正常角膜上皮细胞相似, 免疫组织化学分析证实可表达 K4、K13 和 K3, 将构建的组织工程角膜上皮移植至兔眼损伤模型后可达到角膜上皮化并且保持角膜的透明性。Kinoshita 等^[24] 将培养的口黏膜上皮细胞移植至兔眼模型, 结果表明口黏膜上皮细胞作为种子细胞有很好的研究前景。

临床研究方面, Nishida 等^[25] 在 3T3 支架细胞上培养口腔黏膜上皮细胞 2 周, 并添加丝裂霉素 C, 构建组织工程角膜上皮, 对双侧 LSCs 缺乏症患者行眼表结膜化的维管组织移除后行角膜移植术, 术后 1 周术眼均有上皮再生, 角膜透明, 术后视力提高, 随访 14 个月后所有术眼仍保持透明且无并发症。Satake 等^[26] 将培养的自体口腔黏膜上皮细胞层移植至 36 例 LSCs 缺乏症患者的眼表, 6 个月后移植的口黏膜上皮稳定性下降, 之后保持相对稳定, 重建的眼表无上皮缺损和眼表新生血管, 因此认为移植口黏膜上皮在重建稳定的眼表方面是可行且安全的。此外, Burillon 等^[27] 用 Upcell-Insert 技术培养自体口腔黏膜上皮细胞, 然后移植至 23 例 LSCs 缺乏症患者角膜基质并配戴软性角膜接触镜进行保护, 观察 360 d 后 22 例角膜未发生溃疡, 19 例角膜点状上皮损害的严重程度减轻; 23 例患者中有 16 例移植后疗效较好。Hirayama 等^[28] 对无基底的口黏膜上皮细胞层移植和以羊膜为支架的口黏膜上皮细胞层移植的临床效果进行比较, 发现术后 12 个月无基底移植的成功率为 62.5%, 羊膜为支架移植的成功率为 43.8%, 前者的移植成功率和术后最佳矫正视力均明显优于后者。Sotozono 等^[29] 对 46 例 LSCs 缺乏症患者进行口黏膜上皮板层移植, 包括 Stevens-Johnson 综合征 21 例, 眼表瘢痕性类天疱疮 10 例, 热烧伤和化学烧伤 7 例及其他疾病 8 例, 发现 Stevens-Johnson 综合征患者术后 24 周最佳矫正视力显著提高, 而眼表瘢痕性类天疱疮患者术后 4 周视力有所提高, 术后有 16 眼存在角膜上皮缺损, 2 例有轻或中度角膜感染, 但无角膜穿孔。口黏膜上皮移植可有效改善晚期严重的眼表疾病伴严重泪液缺乏患者的视力。口黏膜膜血液供应丰富, 将其移植至角膜可导致角膜新生血管形成, 存在不同程度的免疫排斥反应, 因此限制了其临床应用。

4 建立角膜上皮细胞系

随着体外诱导技术的不断提高, 诱导干细胞分化的方法也越来越多, 细胞因子诱导法最为常用, 即在培养液中添加各种生长因子以诱导细胞分化, 有模拟角膜上皮细胞生长的微环境在体外进行细胞诱导分化者。近年来基因培养技术的发展也非常迅速, 目前的研究多集中于对细胞的形态和结构观察方面, 而对细胞是否可保持正常角膜上皮功能的研究较少, 因此与 MSCs 和 ADSCs 等一样, 其应用受到限制。干细胞具备增生、分化能力强的优点, 但均有自身的限制, 与其他干细胞相比, LSCs 的免疫排斥性较低, 但双眼 LSCs 缺乏患者的取材是自体移植的主要问题。ESCs 能无限增生, 具有成瘤性, 此外也受到伦理学方面的制约, 是 ESCs 临床应用中的难题。MSCs 等成体细胞取材较容易, 对于其能否发挥正常角膜上皮的功能尚待进一步研究证实。因此除了干细胞的诱导外, 建立非转染的人角膜上皮细胞系为解决种子细胞的来源问题提供了新思路。

建立未转染的角膜上皮细胞系可以减轻干细胞移植带来的免疫排斥反应, 又能解决诱导的细胞长期保持角膜上皮细胞正常功能的问题。Fan 等^[30] 和 Xu 等^[31] 通过体外培养人角膜上皮细胞建立了未转染的角膜上皮细胞系, 命名为 utHCEPC01, 作为种子细胞, 用于组织工程角膜上皮的体外重建, 通过鉴定其上皮的形态和结构, 证实 HCEP 来源于原上皮细胞, HCEP 细胞系无致癌性, 可以和 dAM 形成细胞间连接, 因此认为重建的组织工程角膜上皮与体内的角膜上皮细胞在形态和结构上基本相似^[30-31]。

5 小结

组织工程角膜的关键问题之一是选择合适的种子细胞。随着细胞培养和体外诱导技术的不断提高和完善, 许多细胞均可体外诱导分化成角膜上皮样细胞, 但这些技术也存在一定的问题, 如干细胞移植至体内后能否长期保持上皮细胞形态及其是否存在致癌问题等。在未来对于种子细胞的研究中应致力于其长期疗效的评估及对研究方法的改进。

参考文献

- [1] Prabhasawat P, Ekpo P, Uiprasertkul M, et al. Efficacy of cultivated corneal epithelial stem cells for ocular surface reconstruction [J]. Clin Ophthalmol, 2012, 6: 1483-1492. doi:10.2147/OPHT.S33951.
- [2] Stepp MA, Zieske JD. The corneal epithelial stem cell niche [J]. Ocul Surf, 2005, 3(1): 15-26.
- [3] Dua HS, Saini JS, Azuara-Blanco A, et al. Limbal stem cell deficiency: concept, aetiology, clinical presentation, diagnosis and management [J]. Indian J Ophthalmol, 2000, 48(2): 83-92.
- [4] Zhu J, Zhang K, Sun Y, et al. Reconstruction of functional ocular surface by acellular porcine cornea matrix scaffold and limbal stem cells derived from human embryonic stem cells [J]. Tissue Eng Part A, 2013, 19(21-22): 2412-2425. doi:10.1089/ten.TEA.2013.0097.
- [5] Rendal-Vázquez ME, San-Luis-Verdes A, Yebra-Pimentel-Vilar MT, et al. Culture of limbal stem cells on human amniotic membrane [J]. Cell Tissue Bank, 2012, 13(3): 513-519. doi:10.1007/s10561-012-9300-x.
- [6] Meller D, Thomassen H, Steuhl KP. Ocular surface reconstruction in limbal stem cell deficiency: transplantation of cultivated limbal epithelium [J]. Ophthalmologie, 2012, 109(9): 863-868. doi:10.1007/s00347-011-2510-y.

- [7] Yin JQ, Liu WQ, Liu C, et al. Reconstruction of damaged corneal epithelium using Venus-labeled limbal epithelial stem cells and tracking of surviving donor cells [J]. *Exp Eye Res*, 2013, 115 : 246–254. doi: 10.1016/j.exer.2013.07.024.
- [8] 皮裕琮, 陆江阳, 唐维强, 等. 组织工程角膜上皮移植治疗兔角膜碱烧伤的形态学观察 [J]. *国际眼科杂志*, 2008, 8(11) : 2210–2213.
- [9] 姜廷帅, 蔡莉, 惠延年, 等. 大鼠骨髓间充质干细胞体外可诱导分化为角膜上皮细胞 [J]. *国际眼科杂志*, 2007, 7(2) : 339–341. doi: 10.3969/j.issn.1672-5123.2007.02.015.
- [10] 侯光辉, 叶楠, 吴静, 等. 人骨髓间充质干细胞分化为上皮样细胞的初步研究 [J]. *中华眼科杂志*, 2010, 46(8) : 719–724. doi: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2010.08.010.
- [11] 徐舒怡, 侯光辉, 吴静, 等. 诱导人脐带间充质干细胞分化为角膜上皮样细胞的研究 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2012, 30(10) : 882–887. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2012.10.005.
- [12] Reinshagen H, Auw-Haendrich C, Sorg RV, et al. Corneal surface reconstruction using adult mesenchymal stem cells in experimental limbal stem cell deficiency in rabbits [J]. *Acta Ophthalmol*, 2011, 89(8) : 741–748. doi: 10.1111/j.1755-3768.2009.01812.x.
- [13] Blazejewski EA, Schlötzer-Schrehardt U, Zenkel M, et al. Corneal limbal microenvironment can induce transdifferentiation of hair follicle stem cells into corneal epithelial-like cells [J]. *Stem Cells*, 2009, 27(3) : 642–652. doi: 10.1634/stemcells.2008-0721.
- [14] Martínez-Conesa EM, Espel E, Reina M, et al. Characterization of ocular surface epithelial and progenitor cell markers in human adipose stromal cells derived from lipoaspirates [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(1) : 513–520. doi: 10.1167/iovs.11-7550.
- [15] Li H, Xu Y, Fu Q, et al. Effects of multiple agents on epithelial differentiation of rabbit adipose-derived stem cells in 3D culture [J]. *Tissue Eng Part A*, 2012, 18(17–18) : 1760–1770. doi: 10.1089/ten.TEA.2011.0424.
- [16] Yan Y, Liu Y, Liu D, et al. Differentiation of adipose-derived adult stem cells into epithelial-like stem cells [J]. *Ann Anat*, 2013, 195(3) : 212–218. doi: 10.1016/j.aanat.2012.10.009.
- [17] Sakurai M, Hayashi R, Kageyama T, et al. Induction of putative stratified epithelial progenitor cells in vitro from mouse-induced pluripotent stem cells [J]. *Artif Organs*, 2011, 14(1) : 58–66. doi: 10.1007/s10047-010-0547-3.
- [18] Yoshida S, Yasuda M, Miyashita H, et al. Generation of stratified squamous epithelial progenitor cells from mouse induced pluripotent stem cells [J/OL]. *PLoS One*, 2011, 6(12) : e28856 [2015-01-23]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0028856>. doi: 10.1371/journal.pone.0028856.
- [19] Hayashi R, Ishikawa Y, Ito M, et al. Generation of corneal epithelial cells from induced pluripotent stem cells derived from human dermal fibroblast and corneal limbal epithelium [J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7(9) : e45435 [2015-01-25]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0045435>. doi: 10.1371/journal.pone.0045435.
- [20] Yu D, Chen M, Sun X, et al. Differentiation of mouse induced pluripotent stem cells into corneal epithelial-like cells [J]. *Cell Biol Int*, 2013, 37(1) : 87–94. doi: 10.1002/cbin.10007.
- [21] 金玲, 陈剑, 吴静, 等. 慢病毒介导 EGFP 基因修饰的人羊膜上皮细胞重建角膜表层的实验研究 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2011, 29(8) : 685–689. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2011.08.004.
- [22] 卢建民, 吕秀丽, 马翔. 兔骨髓间充质干细胞及人羊膜上皮细胞移植治疗兔角膜缘干细胞缺损的研究 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2011, 29(9) : 786–792. doi: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2011.09.004.
- [23] Nakamura T, Kinoshita S. New hopes and strategies for the treatment of severe ocular surface disease [J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2011, 22(4) : 274–278. doi: 10.1097/ICU.0b013e3283477d4d.
- [24] Kinoshita S, Koizumi N, Nakamura T. Transplantable cultivated mucosal epithelial sheet for ocular surface reconstruction [J]. *Exp Eye Res*, 2004, 78(3) : 483–491.
- [25] Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, et al. Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium [J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(12) : 1187–1196.
- [26] Satake Y, Higa K, Tsubota K, et al. Long-term outcome of cultivated oral mucosal epithelial sheet transplantation in treatment of total limbal stem cell deficiency [J]. *Ophthalmology*, 2011, 118(8) : 1524–1530.
- [27] Burillon C, Huot L, Justin V, et al. Cultured autologous oral mucosal epithelial cell sheet (CAOMECS) transplantation for the treatment of corneal limbal epithelial stem cell deficiency [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(3) : 1325–1331. doi: 10.1167/iovs.11-7744.
- [28] Hirayama M, Satake Y, Higa K, et al. Transplantation of cultivated oral mucosal epithelium prepared in fibrin-coated culture dishes [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(3) : 1602–1609. doi: 10.1167/iovs.11-7847.
- [29] Sotozono C, Inatomi T, Nakamura T, et al. Visual improvement after cultivated oral mucosal epithelial transplantation [J]. *Ophthalmology*, 2013, 120(1) : 193–200. doi: 10.1016/j.ophtha.2012.07.053.
- [30] Fan TJ, Hu XZ, Zhao J, et al. Establishment of an untransfected human corneal stromal cell line and its biocompatibility to acellular porcine corneal stroma [J]. *Int J Ophthalmol*, 2012, 5(3) : 286–292. doi: 10.3980/j.issn.2222-3959.2012.03.07.
- [31] Xu B, Fan TJ, Yang HS, et al. In vitro reconstruction and characterization of tissue-engineered human corneal epithelium with seeder cells from an untransfected human corneal epithelial cell line [J]. *Int J Ophthalmol*, 2012, 5(3) : 281–285. doi: 10.3980/j.issn.2222-3959.2012.03.06.

(收稿日期: 2015-05-19)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)

消 息

河南省第二十一眼科学学术年会征文通知

为了进一步推动河南省眼科事业的发展, 加强各地区之间的学术交流, 展示河南省眼科领域的新进展、新动态和新成果, 河南省医学会定于 2015 年 10 月在郑州召开河南省第二十一眼科学学术年会。本次会议将邀请多位中国知名眼科专家进行专题学术讲座, 设有大会论文发言、病例讨论专场、学科风采展示、眼科管理论坛等诸多环节。本次会议为国家级继续医学教育项目, 授予国家级 I 类学分 10 分, 诚邀广大眼科医师和相关人员积极参会。

征文内容: 眼科领域相关基础研究、临床研究, 临床诊断治疗新技术的开展, 特殊病例报道等。

征文要求: 提供 3 000 字以内全文或约 600 字摘要均可, 摘要包括目的、材料、结果和结论。论文要求具有科学性、实用性, 论据充分、文字精练、重点突出,

且未在省级以上学术会议或杂志上公开发表。

投稿方式: 论文请发送至电子邮箱: fhm0410@163.com, 主题请注明“河南省第 21 次眼科学学术年会”。

截稿日期: 2015 年 9 月 20 日

联系人: 河南省医学会 范惠敏 联系电话: 0371-65525271 会议召开的具体时间、地点届时将另行通知。

(河南省医学会)