

提高移植光感受器功能性整合的策略

王俊¹ 综述 陈亦棋² 沈丽君² 审校

¹浙江大学医学院附属第二医院眼科, 杭州 310003; ²浙江省人民医院眼科, 杭州 310014

通信作者: 沈丽君, Email: slj@mail. eye. ac. cn

【摘要】 视网膜退行性疾病的最终结局是光感受器的大量丢失, 造成视力不可逆的损害, 目前基本上无有效治疗措施。光感受器移植为一种潜在的细胞治疗手段, 旨在通过替换丢失的光感受器, 重建视网膜回路, 在一定程度上帮助恢复视网膜功能。然而, 物质交换机制的发现揭示了既往研究结果中移植光感受器的整合比例低、外段形成不足及突触形成不够等问题, 显示了该疗法临床转化的难度。本文通过多个维度综述了提高移植光感受器功能性整合的策略, 探究相关内容的可行性, 具体包括选择最佳发育时间窗的移植细胞群, 增强与宿主视网膜间的相互作用; 破坏宿主外界膜, 减轻视网膜重塑, 提高移植细胞的迁移及整合; 利用免疫调节, 减少小胶质细胞活化, 改善宿主的移植微环境; 通过视网膜片或生物支架的移植形式, 提高移植光感受器的组织性; 合理地开发及使用生物材料, 优化移植细胞的生理微环境; 充分评估手术参数, 降低手术本身对移植细胞及宿主视网膜的影响。

【关键词】 视网膜退行性疾病; 干细胞移植; 细胞治疗; 光感受器; 再生医学

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFC2404305)

DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-20200512-00342

Strategies to improve functional integration of transplanted photoreceptors

Wang Jun¹, Chen Yiqi², Shen Lijun²

¹Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China; ²Department of Ophthalmology, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China

Corresponding author: Shen Lijun, Email: slj@mail. eye. ac. cn

【Abstract】 The final outcome of the retinal degenerative diseases is the massive loss of photoreceptors, resulting in irreversible visual impairment which lacks effective treatment at present. As a potential therapeutic approach, photoreceptor transplantation can be used to restore retinal function to a certain extent by replacing the lost photoreceptors and rebuilding the retinal circuits. However, the discovery of material exchange unveiled a number of problems in previous studies, including low cellular integration, insufficient outer segment and synapse formation, highlighting the challenges of clinical translation. To explore the possibility of increasing the functional integration of photoreceptors, this article reviewed a variety of strategies, including selection of the transplanted cells with optimal developmental stage to enhance the interaction with the host retina, disruption of the outer limiting membrane and alleviation of retinal remodeling to improve the migration and integration of the transplanted photoreceptors, regulation of immunity can be used to reduce microglial activation to create a better host microenvironment for transplantation, use of retinal sheets or biological scaffolds to improve photoreceptor organization, rational development and use of biomaterials to optimize the physiological microenvironment of the transplanted cells, adequate evaluation of surgical parameters to reduce the effect of surgery on the transplanted cells and the host retina.

【Key words】 Retinal degeneration; Stem cell transplantation; Cell therapy; Photoreceptor; Regenerative medicine

Fund program: National Key Research and Development Program of China (2022YFC2404305)

DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-20200512-00342

视网膜退行性疾病, 如年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, AMD) 和以视网膜色素变性为代表的遗传性视网膜疾病等, 通常是由光感受器功能的障碍和丧失导致

的^[1]。尽管不同疾病之间光感受器受损的机制不同, 但最终结局是相同的, 即大量光感受器丢失, 造成视力不可逆的损害^[2]。目前, 除了湿性 AMD 可以利用抗血管内皮生长因子得到一定

治疗外,大多数视网膜退行性疾病还无法得到有效的控制。

光感受器移植是一种颇有前景的再生策略,旨在替换已丢失的光感受器,并重新与内层视网膜剩余神经元建立连接^[3],在一定程度上恢复视网膜的光敏性。这一策略要求视网膜下间隙的移植细胞迁移入宿主外核层,与宿主双极细胞形成突触,同时发育出对光敏感的外段与宿主视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)层紧密接触,通过不断的膜盘脱落和更新,以及视色素再生来维持光感受器的结构和功能^[4-5]。

在 2016 年的 3 项研究中,研究人员通过分别标记细胞质和细胞核的实验方法发现,在光感受器移植后,主要发生物质交换——即移植细胞将细胞质所含蛋白质/RNA 等转移至宿主残余的光感受器内,实现对宿主细胞的治疗作用,而发生细胞整合的比例相对较低^[6-8]。这种物质交换的主要特点包括:宿主和移植细胞间的物质交换双向进行;以一种短暂但频繁的方式进行,不需要持续的相互作用;与细胞外蛋白、核酸的摄取以及细胞的融合无关;似乎仅限于光感受器间^[6-8]。虽然物质交换的发生机制尚不明确,但其功能发挥的前提是视网膜内有足够的剩余光感受器,因此这一机制更适合用于早期退行性疾病,在晚期显然需要细胞整合才可发挥作用。

2018 年, Waldron 等^[9]将视锥前体细胞分别移植入视网膜结构紊乱且外界膜结构受到破坏的 $Nrl^{-/-}$ 小鼠和引入保护基因后结构紊乱较小的 $Nrl^{-/-}$ $RPE65^{R91W/R91W}$ 小鼠,结果显示结构紊乱的视网膜整合事件发生的比例达到 23%,而结构完整的视网膜中该比例仅为 6%。这证明了宿主环境影响 2 种机制的相对贡献,提示整合事件发生的比例可通过调控来提高^[9]。

而除了整合事件比例不足外,移植光感受器还存在其他问题,包括细胞在移植后表现出取向(即光感受器外段朝向 RPE 层,突触端朝向外核层)能力不完全,外段发育不成熟以及突触形成不足等。为了提高光感受器的功能性整合,可选择合适的移植细胞群、对宿主环境进行一定程度的干预、改变细胞移植的形式以及优化视网膜下注射等方式。下面分别从这些方面进行介绍。

1 移植细胞群的选择

有关移植细胞群选择的相关小鼠研究已取得较为一致的结果。基本的实验思路是通过观察不同视网膜发育阶段的特定细胞群移植至宿主小鼠的结果,来确定最佳的移植细胞群。对于小鼠视杆细胞的移植,产后第 4~7 天分离的视杆前体细胞群最适合移植,而对于视锥细胞的移植,胚胎第 15.5 天的细胞群最佳^[10-12]。上述时间段分离的细胞代表了有丝分裂后的光感受器前体细胞,与宿主视网膜的相互作用最强。虽然实验结果显示发生物质交换事件更多,但是证实了视网膜发育过程中确实存在着最适合的移植时间窗^[1,12]。在这期间,未成熟光感受器可能会再现与视网膜内层细胞突触形成的发育程序^[2]。

在人类胎儿视网膜中,视锥细胞和视杆细胞的发生分别从妊娠第 8 周和第 10 周开始^[13]。然而,由于获取胎儿视网膜的资源有限且不符合伦理要求,近几年的研究使用人诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cell, hiPSC)和人胚胎干细

胞(human embryonic stem cell, hESC)来源的视网膜类器官获得移植光感受器。通过转录组分析发现,视网膜类器官与胎儿视网膜发育的时程及细胞组成大体相似^[13-15]。近年来,人源性细胞移植的部分研究显示,供体细胞群主要来源于分化第 60~90 天的视网膜类器官,大多通过绿色荧光蛋白分离并富集^[4,16-19];也有研究选取分化第 120 天的类器官并通过细胞标志 CD73⁺ 来富集^[20];最新的一项研究显示,来源于视网膜类器官的光感受器仅在早期存在短的发育时间窗,能发生典型的轴突延伸,而到了类器官分化第 80 天,只有极少数细胞能够自主生长轴突^[21]。这些细胞的共同特征是均为光感受器前体细胞。移植结果显示,虽然迁移至外核层的细胞数量少,但以整合的形式为主,细胞表现出一定的取向,同时有突触蛋白的表达、原始膜盘的形成等,主要以组织学的改善为主^[4,17,18,20];也有研究显示视功能的恢复^[16]。使用比较成熟的细胞群移植,整合细胞的数量会减少,移植比较不成熟的细胞群,物质交换似乎更频繁^[22-24]。这些研究所选择的宿主不同,但宿主环境同样会影响移植结果,因此结果的解释需综合考虑。总之,无论是动物源性还是人源性移植细胞,与宿主的相互作用均受供体细胞发育阶段调节,人类最佳的移植细胞群还需要进一步研究证实。

与通过干细胞得到光感受器不同,最新的研究显示使用 5 种化合物:丙戊酸、CHIR99021、RepSox、Forskolin 以及 STR (Sonic hedgehog, taurine and retinoic acid),可绕过诱导生成多能干细胞的步骤,直接使小鼠成纤维细胞转化为化学诱导的光感受器样细胞^[25]。将上述细胞移植入视网膜退行性变小鼠(rd1)模型,显示出功能学及组织学的改善^[25]。该过程极大地缩短了获得移植光感受器所需时间,具有很大潜力,但是未来需要克服增生能力及转换效率低的缺点。

2 宿主环境的干预

影响供体光感受器在宿主环境中迁移的主要屏障包括外界膜,反应性胶质增生和细胞外基质蛋白。此外,对宿主环境进行免疫调节,也可提高整合的发生。

外界膜构成外核层与视网膜下间隙的天然屏障^[1,22]。有多项实验研究显示,动物模型中外界膜的破坏与移植光感受器整合提高相关^[9,12,26]。利用胶质毒素 α -氨基己二酸^[27-28]或靶向外界膜成分的小干扰 RNA^[29],可破坏外界膜。然而其在人体内使用需考虑毒性影响及脱靶效应^[1]。Ripolles-Garcia 等^[30]研究者将人光感受器前体细胞移植入遗传性视网膜疾病犬模型视网膜下,发现接受免疫抑制剂治疗突变犬的外界膜发生局部破坏,移植细胞轴突延长并形成类似于突触终端结构。因此外界膜可作为未来研究的一个靶点,以期提高移植效果。

视网膜发生退行性变后,进入视网膜重塑阶段。Müller 细胞首先发生反应性胶质增生,表现为胶质纤维酸性蛋白及波形蛋白的表达上调,细胞肥大及突起数量增加,形成可能会阻碍细胞迁移和整合的屏障^[22,25,31]。移植 $C-Ki^+$ 祖细胞群至退行性变视网膜中可观察到胶质增生受抑制,提示可选择或培养同时具有再生光感受器及改善移植微环境能力的供体细胞群^[24]。

此外,活化的星形胶质细胞和 Müller 细胞会上调细胞外基

质蛋白的分泌。硫酸软骨素蛋白多糖作为主要的分泌蛋白,其沉积可能会抑制宿主双极细胞树突再生以及供体细胞轴突延长^[32],与外核层中整合细胞数量呈负相关^[26]。利用软骨素酶 ABC 可切割硫酸软骨素蛋白多糖的糖胺聚糖侧链来提高整合结果^[33];此外,利用基质金属蛋白酶 2 也可通过消化细胞外基质提高细胞迁移^[34]。

Zhu 等^[16]指出退行性疾病环境中巨噬/小胶质细胞的浸润,可能影响组织修复。巨噬/小胶质细胞有 2 种激活形态:与导致组织损伤、炎症发生有关的 M1 型;与炎症消退及组织修复有关的 M2 型^[35]。因此,通过免疫调节,使 M1 型转化为 M2 型,则可能改善免疫微环境,促进细胞整合。中脑星形胶质细胞源性神经营养因子可促进巨噬/小胶质细胞转化为 M2 型,作用于退行性变视网膜后,改善了移植细胞的整合及视觉功能的恢复效果^[36]。此外,部分研究发现米诺环素、干扰素 β 、转位蛋白及合成孕酮^[35,37-39]等药物具有抑制视网膜内小胶质细胞迁移或激活的作用,然而目前尚无利用这些物质调节细胞移植的相关研究。最近有一项研究指出小胶质细胞在视网膜下间隙的浸润反而有利于延缓退行性疾病进展^[40]。因此,未来还需要进一步阐明调节小胶质细胞与改善宿主移植环境之间的关系。

3 视网膜片的移植

移植含光感受器的视网膜片,相较于细胞悬液的形式,具有以下优势:(1)改善了细胞的生理微环境^[2];(2)提高了移植细胞的组织性、存活率及整合效率^[1];(3)提高了视网膜片外段的成熟能力^[4]。然而,视网膜片移植后普遍形成“玫瑰花结”,影响光感受器的外段与 RPE 层接触^[41]。此外,移植片中其他视网膜细胞的存在可能会限制突触连接的形成。

随着视网膜类器官技术的不断成熟,利用人源性类器官进行视网膜片移植的研究开始逐渐增多。与细胞悬液移植不同,视网膜片大多数细胞为视网膜祖细胞时表现最佳^[23]。近年来,高桥政代团队将视网膜祖细胞时期的 hESC 源性视网膜片,移植至免疫缺陷 *rd1* 小鼠模型 (NOG-*rd1-2J*) 后,发现视网膜片表现出成熟的内、外段形成和突触接触的迹象,且记录到视网膜神经节细胞反应^[42]。此外,该团队将分化第 50~60 天 hiPSC 源性视网膜片移植到视网膜退行性变的免疫缺陷大鼠模型 [SD-Foxn1 Tg(S334ter)3LavRrrc] 和激光诱导退行性变、低剂量环孢素免疫抑制的猴模型内,结果显示移植在大鼠中存活 10 个月,在猴眼内存活超过 2 年。移植区的组织学显示,光感受器发育成熟,极性正确,突触形成;在功能方面观察到大鼠的视网膜神经节细胞反应改善,猴眼中与移植区相关的视野试验轻度恢复^[43]。类似地,McLelland 等^[44]将分化第 30~65 天 hESC 源性视网膜片移植至同种大鼠模型,观察到光感受器明显发育,宿主视网膜与移植片之间建立了活跃的突触,视动测试及上丘电生理记录显示出功能改善。

与利用类器官作为供体不同,Lorach 等^[45]将健康成年大鼠包括 RPE 层在内的全层视网膜作为供体,分别移植入 RCS 及 S334ter-3 大鼠视网膜下,结果显示移植区域光感受器的内外段保存完好,移植片与宿主间形成突触,同时 RPE 层互相融合。

因而该研究提出将患者周边视网膜移植入中央视网膜下,可治疗 AMD 等疾病。然而,视网膜不同区域细胞组成及结构存在较大的差异,且患者自身细胞可能存在缺陷,因此该研究治疗方案的有效性尚待证实。另一项视网膜外植体研究也显示活性 RPE 层可增强光感受器的有效整合,而受损的 RPE 层在一定程度上会限制整合^[46]。上述研究结果提示可发展光感受器与 RPE 层的共同移植,以及视网膜下手术时尽量避免损伤 RPE 层。

4 生物材料的支持

利用生物支架可将纯化的光感受器前体细胞有序地进行排列,保持细胞的正确取向及组织,同时支架更利于移植手术时精确定位于靶点,兼具细胞悬液及视网膜片的优势。

基于此,Jung 等^[47]通过微模塑技术,利用聚二甲基硅氧烷及聚(丙三醇-癸二酸)材料,得到大量“高脚杯”状支架紧密排列形成的高分子膜。“高脚杯”的“杯身”用于容纳 1~3 个光感受器的细胞体,“杯柄”用于延伸轴突,透射电镜显示内段富含线粒体。该研究团队进一步利用可生物降解的聚癸二酸甘油酯 (poly glycerol sebacate, PGS) 制作了“冰格状光感受器托盘”,将移植细胞种植密度提升了 3 倍,同时在底部设计了圆柱状的孔隙,以便与受体的视网膜组织相连并逐渐成熟,该生物支架能提供光感受器发育初期必要的机械强度,且能够实现移植后材料的代谢^[48]。在后续研究中,此团队开发了一款蜂窝状,可生物降解的 PGS 视网膜微支架,能有效地支持高密度的 RPE 和光感受器细胞层在支架上的生长,从而形成排列紧密且规则的双层视网膜细胞^[48]。然而,这些研究未将所开发的支架植入动物模型中,因此其有效性待进一步验证。

此外,利用双光子光刻技术可实现生物支架精细结构的 3D 打印,分辨率可达 50 nm^[49-50],完全满足光感受器植入的需要。该技术制作的支架可成功支持 hiPSC 源性视网膜祖细胞生长,将空支架置入 Pro23His 视紫红质突变猪模型后一个月,未引起炎症、感染或局部及全身毒性^[50]。除了利用生物支架提高移植光感受器的组织性外,也有研究通过模拟视网膜细胞外基质的支架促进视网膜祖细胞分化^[51],或是利用生物材料提高供体细胞的迁移能力^[52],或优化细胞移植的载体提高细胞的存活率及整合效率^[27,53]。最近一项关于视网膜下间隙注射的研究发现,将不同大小的微胶珠注射至视网膜下间隙,6 小时后 1 μm 微胶珠在此间隙内数量减少,而在巩膜外腔内增多;而 1~2 周后视网膜下间隙仍有较多 4 μm 微胶珠存在^[54]。该研究提示使用生物材料作为输送细胞的载体,除了某些成分本身可提高细胞存活率外,使用这些载体可能通过增加移植物体积来减少细胞被排出视网膜。

5 视网膜下注射的优化

既往研究中经视网膜下注射细胞或视网膜片多数采用经玻璃体入路,少数研究经脉络膜上腔入路。经玻璃体入路注射针头必须穿透视网膜,可能会导致视网膜局部胶质增生^[22],而且注射细胞容易反流至玻璃体,造成移植细胞的损失及潜在的

风险^[55]。而经脉络膜上腔入路注射后玻璃体内基本不会出现移植的细胞,但是技术相对复杂,容易损伤脉络膜及血管,可能导致免疫细胞进入视网膜^[22]。因此需要对手术入路选择进行权衡。此外可通过改良输送工具来保护移植细胞或视网膜片,借助术中眼底成像技术及手术机器人实现精确定位,减少注射相关损伤。

另外,Scruggs 等^[56]发现,注射前将细胞置于 37 °C 孵育,注射时使用尺寸较大的针头,可提高移植细胞的存活率。Wilson 等^[55]也发现使用尺寸较小的针头会导致细胞死亡增多,移植入无效的细胞碎片。Scruggs 等还发现注射时针头尺寸增大会导致 RPE 细胞异常的增加,主要表现为脱色素及 RPE65 标记表达丢失,而宿主 RPE 层损伤会减少光感受器的有效整合^[45,56]。增加移植粘滞度、控制注射速度在较低水平,可减少 RPE 异常的发生,这可能与湍流效应的减轻有关^[56]。评估及优化注射相关流体动力学的参数,将有助于减轻注射对宿主环境的影响;利用生物材料作为载体也可能通过增加移植粘滞度,来改善细胞整合。

6 总结与展望

光感受器移植作为治疗视网膜退行性疾病的有效方法,还面临着许多未解决的难题。本文就移植后功能性整合效率低下的问题总结了部分有助于改善该现象的策略。此外,Garita-Hernandez 等^[4]将干细胞移植与光遗传学的方法相结合,在供体光感受器内导入视蛋白,人为地赋予其光敏性,再移植入退行性小鼠视网膜内。在不形成外段及不依赖 RPE 的情况下,移植小鼠视网膜功能得到明显的提高。这种绕过对功能性外段生成以及视色素循环需求的研究方案也有巨大的潜力。

在未来,可继续寻求改善移植的不同策略:利用转录组学等技术确立最佳的人源性细胞群;研究改善退行性变视网膜环境的干预方法及临床转化;评估及优化视网膜下手术相关的不同参数;探究含移植细胞的生物支架在不同动物模型内的治疗作用;发展更有竞争力的生物材料;将光遗传学改造的光感受器植入生物支架进行移植研究。总之,提高移植光感受器与宿主视网膜间功能性整合具有广阔的前景,却也是再生医学领域的技术难点,多种学科之间的合作将有助于推动其发展。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- Gasparini SJ, Llonch S, Borsch O, et al. Transplantation of photoreceptors into the degenerative retina: current state and future perspectives [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2019, 69 : 1–37. DOI: 10. 1016/j. preteyeres. 2018. 11. 001.
- Singh MS, Park SS, Albini TA, et al. Retinal stem cell transplantation: balancing safety and potential [J/OL]. *Prog Retin Eye Res*, 2020, 75 : 100779 [2022–12–16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31494256>. DOI: 10. 1016/j. preteyeres. 2019. 100779.
- Léveillard T, Klipfel L. Mechanisms underlying the visual benefit of cell transplantation for the treatment of retinal degenerations [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (3) : 557 [2022–12–16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30696106>. DOI: 10. 3390/ijms20030557.
- Garita-Hernandez M, Lampic M, Chaffiol A, et al. Restoration of visual function by transplantation of optogenetically engineered photoreceptors [J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10 (1) : 4524 [2022–12–16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31586094>. DOI: 10. 1038/s41467-019-12330-2.
- Gagliardi G, Ben M'Barek K, Goureau O. Photoreceptor cell replacement in macular degeneration and retinitis pigmentosa: a pluripotent stem cell-based approach [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2019, 71 : 1–25. DOI: 10. 1016/j. preteyeres. 2019. 03. 001.
- Pearson RA, Gonzalez-Cordero A, West EL, et al. Donor and host photoreceptors engage in material transfer following transplantation of post-mitotic photoreceptor precursors [J/OL]. *Nat Commun*, 2016, 7 : 13029 [2022–12–16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27701378>. DOI: 10. 1038/ncomms13029.
- Singh MS, Balmer J, Barnard AR, et al. Transplanted photoreceptor precursors transfer proteins to host photoreceptors by a mechanism of cytoplasmic fusion [J/OL]. *Nat Commun*, 2016, 7 : 13537 [2022–12–16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27901042>. DOI: 10. 1038/ncomms13537.
- Santos-Ferreira T, Llonch S, Borsch O, et al. Retinal transplantation of photoreceptors results in donor-host cytoplasmic exchange [J/OL]. *Nat Commun*, 2016, 7 : 13028 [2022–12–16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27701381>. DOI: 10. 1038/ncomms13028.
- Waldron PV, Di Marco F, Kruczek K, et al. Transplanted donor- or stem cell-derived cone photoreceptors can both integrate and undergo material transfer in an environment-dependent manner [J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 10 (2) : 406–421. DOI: 10. 1016/j. stemcr. 2017. 12. 008.
- Bartsch U, Oriyakhel W, Kenna PF, et al. Retinal cells integrate into the outer nuclear layer and differentiate into mature photoreceptors after subretinal transplantation into adult mice [J]. *Exp Eye Res*, 2008, 86 (4) : 691–700. DOI: 10. 1016/j. exer. 2008. 01. 018.
- 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.
- Decembrini S, Martin C, Sennlaub F, et al. Cone genesis tracing by the Chrn4-EGFP mouse line: evidences of cellular material fusion after cone precursor transplantation [J]. *Mol Ther*, 2017, 25 (3) : 634–653. DOI: 10. 1016/j. ymthe. 2016. 12. 015.
- Quinn P, Wijnholds J. Retinogenesis of the human fetal retina: an apical polarity perspective [J/OL]. *Genes (Basel)*, 2019, 10 (12) : 987 [2022–12–18]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31795518>. DOI: 10. 3390/genes10120987.
- Sridhar A, Hoshino A, Finkbeiner CR, et al. Single-cell transcriptomic comparison of human fetal retina, hPSC-derived retinal organoids, and long-term retinal cultures [J]. *Cell Rep*, 2020, 30 (5) : 1644–1659. DOI: 10. 1016/j. celrep. 2020. 01. 007.
- Welby E, Lakowski J, Di Foggia V, et al. Isolation and comparative transcriptome analysis of human fetal and iPSC-derived cone photoreceptor cells [J]. *Stem Cell Reports*, 2017, 9 (6) : 1898–1915. DOI: 10. 1016/j. stemcr. 2017. 10. 018.
- Zhu J, Cifuentes H, Reynolds J, et al. Immunosuppression via loss of IL2 γ enhances long-term functional integration of hESC-derived photoreceptors in the mouse retina [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20 (3) : 374–384. DOI: 10. 1016/j. stem. 2016. 11. 019.
- Collin J, Zerti D, Queen R, et al. CRX expression in pluripotent stem cell-derived photoreceptors marks a transplantable subpopulation of early cones [J]. *Stem Cells*, 2019, 37 (5) : 609–622. DOI: 10. 1002/stem. 2974.
- Zhu J, Reynolds J, Garcia T, et al. Generation of transplantable retinal photoreceptors from a current good manufacturing practice-manufactured human induced pluripotent stem cell line [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2018, 7 (2) : 210–219. DOI: 10. 1002/sctm. 17-0205.
- Gasparini SJ, Tessmer K, Reh M, et al. Transplanted human cones incorporate into the retina and function in a murine cone degeneration model [J/OL]. *J Clin Invest*, 2022, 132 (12) : e154619 [2022–12–18]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35482419>. DOI: 10. 1172/JCI154619.
- Gagliardi G, Ben M'Barek K, Chaffiol A, et al. Characterization and transplantation of CD73-positive photoreceptors isolated from human iPSC-derived retinal organoids [J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 11 (3) :

- 665–680. DOI: 10.1016/j.stemcr.2018.07.005.
- [21] Rempel SK, Welch MJ, Ludwig AL, et al. Human photoreceptors switch from autonomous axon extension to cell-mediated process pulling during synaptic marker redistribution [J/OL]. *Cell Rep*, 2022, 39(7): 110827 [2022-12-18]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35584680>. DOI: 10.1016/j.celrep.2022.110827.
- [22] Santos-Ferreira TF, Borsch O, Ader M. Rebuilding the missing part-A review on photoreceptor transplantation [J/OL]. *Front Syst Neurosci*, 2016, 10: 105 [2022-12-18]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28105007>. DOI: 10.3389/fnsys.2016.00105.
- [23] Gonzalez-Cordero A, Kruczek K, Naeem A, et al. Recapitulation of human retinal development from human pluripotent stem cells generates transplantable populations of cone photoreceptors [J]. *Stem Cell Reports*, 2017, 9(3): 820–837. DOI: 10.1016/j.stemcr.2017.07.022.
- [24] Zou T, Gao L, Zeng Y, et al. Organoid-derived C-Kit⁺/SSEA4⁻ human retinal progenitor cells promote a protective retinal microenvironment during transplantation in rodents [J/OL]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 1205 [2022-12-18]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30872578>. DOI: 10.1038/s41467-019-08961-0.
- [25] Mahato B, Kaya KD, Fan Y, et al. Pharmacologic fibroblast reprogramming into photoreceptors restores vision [J]. *Nature*, 2020, 581(7806): 83–88. DOI: 10.1038/s41586-020-2201-4.
- [26] Barber AC, Hippert C, Duran Y, et al. Repair of the degenerate retina by photoreceptor transplantation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(1): 354–359. DOI: 10.1073/pnas.1212677110.
- [27] Ballios BG, Cooke MJ, Donaldson L, et al. A hyaluronan-based injectable hydrogel improves the survival and integration of stem cell progeny following transplantation [J]. *Stem Cell Reports*, 2015, 4(6): 1031–1045. DOI: 10.1016/j.stemcr.2015.04.008.
- [28] Zarbin M. Cell-based therapy for retinal disease; the new frontier [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 1834: 367–381. DOI: 10.1007/978-1-4939-8669-9_23.
- [29] Pearson RA, Barber AC, West EL, et al. Targeted disruption of outer limiting membrane junctional proteins (Crb1 and ZO-1) increases integration of transplanted photoreceptor precursors into the adult wild-type and degenerating retina [J]. *Cell Transplant*, 2010, 19(4): 487–503. DOI: 10.3727/096368909X486057.
- [30] Ripolles-Garcia A, Dolgova N, Phillips MJ, et al. Systemic immunosuppression promotes survival and integration of subretinally implanted human ESC-derived photoreceptor precursors in dogs [J]. *Stem Cell Reports*, 2022, 17(8): 1824–1841. DOI: 10.1016/j.stemcr.2022.06.009.
- [31] Pfeiffer RL, Marc RE, Jones BW. Persistent remodeling and neurodegeneration in late-stage retinal degeneration [J/OL]. *Prog Retin Eye Res*, 2020, 74: 100771 [2022-12-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31356876>. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2019.07.004.
- [32] Hippert C, Graca AB, Barber AC, et al. Müller glia activation in response to inherited retinal degeneration is highly varied and disease-specific [J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0120415 [2022-12-20]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25793273>. DOI: 10.1371/journal.pone.0120415.
- [33] Ma J, Kabieli M, Tucker BA, et al. Combining chondroitinase ABC and growth factors promotes the integration of murine retinal progenitor cells transplanted into Rho^{-/-} mice [J]. *Mol Vis*, 2011, 17: 1759–1770.
- [34] 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.
- [35] Kramer J, Chirco KR, Lamba DA. Immunological considerations for retinal stem cell therapy [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1186: 99–119. DOI: 10.1007/978-3-030-28471-8_4.
- [36] Neves J, Zhu J, Sousa-Victor P, et al. Immune modulation by MANF promotes tissue repair and regenerative success in the retina [J/OL]. *Science*, 2016, 353(6294): aaf3646 [2022-12-22]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27365452>. DOI: 10.1126/science.aaf3646.
- [37] Rashid K, Akhtar-Schaefer I, Langmann T. Microglia in retinal degeneration [J/OL]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1975 [2022-12-22]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31481963>. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01975.
- [38] Di Pierdomenico J, Scholz R, Valiente-Soriano FJ, et al. Neuroprotective effects of FGF2 and minocycline in two animal models of inherited retinal degeneration [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59(11): 4392–4403. DOI: 10.1167/iovs.18-24621.
- [39] Di Pierdomenico J, García-Ayuso D, Agudo-Barriuso M, et al. Role of microglial cells in photoreceptor degeneration [J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(7): 1186–1190. DOI: 10.4103/1673-5374.251204.
- [40] O’Koren EG, Yu C, Klingeborn M, et al. Microglial function is distinct in different anatomical locations during retinal homeostasis and degeneration [J]. *Immunity*, 2019, 50(3): 723–737. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.02.007.
- [41] Mandai M, Fujii M, Hashiguchi T, et al. iPSC-derived retina transplants improve vision in rd1 end-stage retinal-degeneration mice [J]. *Stem Cell Reports*, 2017, 8(1): 69–83. DOI: 10.1016/j.stemcr.2016.12.008.
- [42] Iwaha S, Tu HY, Yamasaki S, et al. Establishment of immunodeficient retinal degeneration model mice and functional maturation of human ESC-derived retinal sheets after transplantation [J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 10(3): 1059–1074. DOI: 10.1016/j.stemcr.2018.01.032.
- [43] Tu HY, Watanabe T, Shirai H, et al. Medium- to long-term survival and functional examination of human iPSC-derived retinas in rat and primate models of retinal degeneration [J]. *EBioMedicine*, 2019, 39: 562–574. DOI: 10.1016/j.ebiom.2018.11.028.
- [44] McLelland BT, Lin B, Mathur A, et al. Transplanted hESC-derived retina organoid sheets differentiate, integrate, and improve visual function in retinal degenerate rats [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59(6): 2586–2603. DOI: 10.1167/iovs.17-23646.
- [45] Lorach H, Kang S, Bhuckory MB, et al. Transplantation of mature photoreceptors in rodents with retinal degeneration [J/OL]. *Transl Vis Sci Technol*, 2019, 8(3): 30 [2022-12-22]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31171997>. DOI: 10.1167/tvst.8.3.30.
- [46] Yanai A, Laver CR, Gregory-Evans CY, et al. Enhanced functional integration of human photoreceptor precursors into human and rodent retina in an ex vivo retinal explant model system [J]. *Tissue Eng Part A*, 2015, 21(11–12): 1763–1771. DOI: 10.1089/ten.tea.2014.0669.
- [47] Jung YH, Phillips MJ, Lee J, et al. 3D microstructured scaffolds to support photoreceptor polarization and maturation [J/OL]. *Adv Mater*, 2018, 30(39): e1803550 [2022-12-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30109736>. DOI: 10.1002/adma.201803550.
- [48] Lee IK, Xie R, Luz-Madrugal A, et al. Micromolded honeycomb scaffold design to support the generation of a bilayered RPE and photoreceptor cell construct [J]. *Bioact Mater*, 2023, 30: 142–153. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2023.07.019.
- [49] Shrestha A, Allen BN, Wiley LA, et al. Development of high-resolution three-dimensional-printed extracellular matrix scaffolds and their compatibility with pluripotent stem cells and early retinal cells [J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2020, 36(1): 42–55. DOI: 10.1089/jop.2018.0146.
- [50] Thompson JR, Worthington KS, Green BJ, et al. Two-photon polymerized poly (caprolactone) retinal cell delivery scaffolds and their systemic and retinal biocompatibility [J]. *Acta Biomater*, 2019, 94: 204–218. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.04.057.
- [51] Singh D, Wang SB, Xia T, et al. A biodegradable scaffold enhances differentiation of embryonic stem cells into a thick sheet of retinal cells [J]. *Biomaterials*, 2018, 154: 158–168. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.052.
- [52] Thakur A, Mishra S, Pena J, et al. Collective adhesion and displacement of retinal progenitor cells upon extracellular matrix substrates of transplantable biomaterials [J/OL]. *J Tissue Eng*, 2018, 9: 2041731417751286 [2022-12-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29344334>. DOI: 10.1177/2041731417751286.
- [53] Park J, Baranov P, Aydin A, et al. In situ cross-linking hydrogel as a vehicle for retinal progenitor cell transplantation [J]. *Cell Transplant*, 2019, 28(5): 596–606. DOI: 10.1177/0963689719825614.



- [54] Sørensen NB. Subretinal surgery: functional and histological consequences of entry into the subretinal space [J]. Acta Ophthalmol, 2019, 97 Suppl A114: 1-23. DOI: 10. 1111/aos. 14249.
- [55] Wilson DJ, Neuringer M, Stoddard J, et al. Subretinal cell-based therapy: an analysis of surgical variables to increase cell survival [J]. Retina, 2017, 37(11): 2162-2166. DOI: 10. 1097/IAE. 0000000000001462.
- [56] Scruggs BA, Jiao C, Cranston CM, et al. Optimizing donor cellular

dissociation and subretinal injection parameters for stem cell-based treatments [J]. Stem Cells Transl Med, 2019, 8(8): 797-809. DOI: 10. 1002/sctm. 18-0210.

(收稿日期: 2023-03-18 修回日期: 2023-10-08)

(本文编辑: 张宇 骆世平)

· 病例报告 ·

眼眶侵袭性纤维瘤病诊疗一例

王楠 柳睿 栾福晓 葛心 马建民

首都医科大学附属北京同仁医院眼肿瘤科 北京同仁眼科中心 北京市眼科学与视觉科学重点实验室, 北京 100730

通信作者: 马建民, Email: jmma@sina.com

基金项目: 北京市自然科学基金项目(7222025); 北京市医院管理中心“登峰”计划专项经费项目(DFL20190201); 北京市科技新星计划交叉合作课题(20220484218)

Diagnosis and treatment of orbital invasive fibromatosis: a case report

Wang Nan, Liu Rui, Luan Fuxiao, Ge Xin, Ma Jianmin

Ophthalmological Oncology Department, Beijing Tongren Eye Center, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing Ophthalmology and Visual Sciences Key Laboratory, Beijing 100730, China

Corresponding author: Ma Jianmin, Email: jmma@sina.com

Fund program: Natural Science Foundation of Beijing (7222025); Beijing Hospitals Authority Ascent Plan (DFL20190201); Beijing Science and Technology Rising Star Program-Cross-Cooperation Project (20220484218)

DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-20200718-00511

患者男性, 47 岁。因“左眼眼眶缘肿物 3 个月余”就诊于首都医科大学附属北京同仁医院。患者左眼眼眶缘肿物生长缓慢, 无皮肤红肿、疼痛、复视、无视物下降等症。患者于外院行眼眶 CT 检查, 示左颧骨眶突区占位, 伴骨质破坏现象(图 1)。患者身体一般情况良好, 既往高血压病史 8 年, 自服降压药物(具体不详)控制良好; 否认眼病史、手术史、外伤史及变态反应史。全身查体各系统检查均未见明显异常。眼科检查: 双眼视力, 右眼 0.6, 左眼 1.0; 双眼眼压均 16 mmHg (1 mmHg=0.133 kPa); 双眼上睑无下垂, 左眼眶外缘可触及一肿物, 大小约 10 mm×15 mm, 质硬、边界不清、活动度差; 双眼结膜无充血, 角膜清亮, 双侧瞳孔等大等圆, 对光反射灵敏, 眼底未见异常, 双眼眼位正, 眼球运动正常。全麻下对患者行左眼眶肿物切除术, 术中可见肿物大小约 10 mm×10 mm×15 mm, 呈灰白色椭圆形, 质韧, 边界欠清, 向周围骨质浸润。术中肿物完全切除, 并对破坏的骨质进行清创, 对创腔进行烧灼处理。术后组织病理学检查示左眼眶梭形细胞软组织肿瘤, 无包膜(图 2); 免疫组织化学检查示 FN (+)、Ki-67 index (约 10%)、

Vimentin (+)、Bcl-2 (-)、CD34 (-)、CD56 (-)、CD99 (-)、Desmin (-)、S-100 (-)、STAT6 (-)(图 3)。病理学诊断: 侵袭性纤维瘤病 (aggressive fibromatosis, AF)。术后患者恢复好, 未进行其他治疗, 定期随访 1 年余, 未见肿瘤复发。

讨论: AF 也称为硬纤维瘤、韧带样瘤, 由间充质干细胞单克隆增生形成, 无远处转移, 其病理学检查未见病理性核分裂象^[1]。AF 为纤维母细胞/肌纤维母细胞肿瘤来源的交界性肿瘤, 发病率较低, 约 2~4/百万人^[2]。检索国际 2010 年~2020 年的 AF 病例共计 101 例; 其中发生于头颈部者 24 例 (23.77%), 而发生于眼眶者仅 1 例 (0.99%), 较为罕见^[3]。

AF 病因尚不明确, 可能与基因突变、激素水平、家族性腺瘤性息肉病、发病部位的手术与外伤史、AF 家族史等有关^[4]。AF 的复发率可高达 25%~77%^[5-6]。眼眶 AF 累及眼睑及前眶可以表现为局部质硬的肿物, 累及眶内者可伴有斜视、眼球活动受限、眼球突出、视力下降、上睑下垂等^[7]。本例患者为中年男性, 无家族性腺瘤性息肉病家族史, 无眼局部手术及外伤史等 AF 发生的危险因素, 无其他临床表现, 初诊时难以考虑到

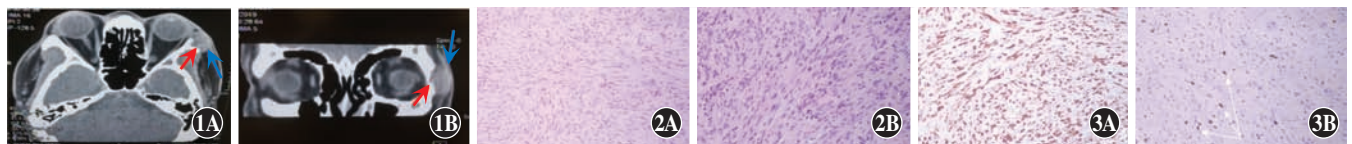


图 1 患者术前眼眶 CT 影像 实性肿物位于左眶外侧壁(蓝箭头), 呈椭圆形, 相应眶外侧壁有骨质破坏现象(红箭头) A: 水平位 B: 冠状位 图 2 肿物组织病理学染色(HE) A: 瘤细胞呈梭形, 交错排列(×100, 标尺=100 μm) B: 瘤细胞未见病理性核分裂像, 视野中可见大量胶原纤维(×200, 标尺=50 μm) 图 3 肿物免疫组织化学染色(DAB ×200) A: Vimentin 染色阳性 B: Ki-67 染色阳性(白箭头), 约 10%