

外伤性视神经损伤及间充质干细胞治疗作用研究进展

袁湘玲 姚瑶 综述 伍子建 审校

汕头大学·香港中文大学联合汕头国际眼科中心, 汕头 515041

袁湘玲与姚瑶对本文有同等贡献

通信作者: 伍子建, Email: wzj@jsiec.org

【摘要】 外伤性视神经损伤引起的视网膜神经节细胞(RGC)继发性死亡和轴突丢失是导致不可逆性视功能损害的主要原因。视神经受损后 RGC 的快速死亡及复杂的死亡途径致使临床治疗效果收效甚微。近年来,干细胞的潜能成为神经退行性疾病组织修复再生的新治疗手段。成体干细胞,尤其是间充质干细胞(MSC),因其免疫调控特性和神经保护作用,在外伤性视神经损伤修复治疗上被广泛研究。MSC 以旁分泌神经营养因子、释放外泌体及细胞移植直接接触受损组织等方式发挥神经保护作用促进 RGC 存活及轴突再生,并经处理后可增强其干细胞特性;此外,MSC 可被诱导转分化为 RGC,发挥细胞替代治疗的修复作用。本文将总结 MSC 在外伤性视神经损伤治疗方面的动物实验和临床研究进展,以及其作用机制,同时归纳了增强 MSC 神经保护作用的方法,还探讨未来 MSC 在外伤性视神经损伤上的发展方向,这有利于今后制定更完善可靠的 MSC 应用于外伤性视神经损伤的治疗策略。

【关键词】 外伤性视神经损伤; 间充质干细胞; 视网膜神经节细胞; 神经保护作用; 细胞替代治疗

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金区域联合基金—青年基金(2019A1515110685); 广东省中医药建设专项资金面上项目(20202089)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20210717-00416

Mesenchymal stem cell therapies for traumatic optic nerve injury

Yuan Xiangling, Yao Yao, Ng Tsz Kin

Joint Shantou International Eye Center of Shantou University and The Chinese University of Hong Kong, Shantou 515041, China

Yuan Xiangling and Yao Yao contributed equally to this article

Corresponding author: Ng Tsz Kin, Email: wzj@jsiec.org

[Abstract] Optic nerve injury by trauma would lead to secondary retinal ganglion cell (RGC) death and axonal loss, which are the causes of irreversible visual impairment and even blindness. Currently, there is still no effective clinical treatment to cure optic nerve injury owing to limited regeneration or recovery and complex death mechanism in RGCs. Recently, stem cell therapy has been proposed as a viable treatment strategy for optic nerve injury. Adult stem cells, especially mesenchymal stem cells (MSCs) have been widely studied in animal models and tested in clinical trials for optic neuropathies. MSCs could promote RGC survival and axonal regeneration by their neuroprotective effects, including neurotrophic factor and exosome secretion, cell-cell contact and immunomodulation. The neuroprotective properties of MSCs could further be enhanced by preconditioning. In addition, MSCs are also able to be induced and transdifferentiate into RGC for potential cell replacement therapy. This article reviews the applications of MSCs in optic nerve injury treatment and their related mechanisms, summarizes the strategies to enhance the neuroprotective effects of human MSCs and discusses the future prospects of MSCs for optic nerve injury treatment to present the diversified function of MSCs, which will help formulate a more complete and reliable treatment strategy for MSC application in traumatic optic nerve injury in the future.

[Key words] Traumatic optic neuropathy; Mesenchymal stem cells; Retinal ganglion cells; Neuroprotection; Cell replacement therapy

Fund program: Joint Regional Basic Science and Applied Basic Science Research Fund of Guangdong Province (2019A1515110685); Special Fund for Chinese Medicine Development of Guangdong Province (20202089)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20210717-00416

外伤性视神经损伤是一种对视神经产生直接或间接性损伤继而引起视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cell, RGC) 继发性死亡和轴突丢失的疾病,根据病因可将其分为直接性外伤性视神经损伤和间接性外伤性视神经损伤。直接性外伤性视神经损伤主要是由于穿透性损伤造成的撕裂伤,以及因骨折或眼眶出血所造成的锐伤或顿挫伤。间接性外伤性视神经损伤大多是因为脑部受到撞击,冲击力通过颅骨传递至视神经和视网膜,导致眼压升高并损伤 RGC。视神经一旦受损将造成视力下降、视野缺损、色觉减退及视神经萎缩,最后导致不可逆性的视力受损或致盲,严重影响患者的生活质量^[1]。据统计,在闭合性头部创伤患者中有 0.5%~5% 伴有视神经损伤,且受累人群主要为青壮年^[2]。

目前临床上用于治疗外伤性视神经损伤的方法有限,主要有保守观察、激素疗法和手术治疗^[2]。尽管这些方法可一定程度上延缓视神经损伤的进程,但大部分患者的 RGC 数量仍在不断减少,视功能改善程度有限,治疗效果不佳,目前尚无一种临床治疗方式能有效修复受损的 RGC 及其轴突。近年来,大量研究探索有效的视神经损伤疾病的治疗方法,并在动物实验中有很大的进展^[3];但能在临床上进行应用的且能促进修复受损 RGC 的治疗措施依旧有限。因此,深入了解外伤性视神经损伤中 RGC 死亡机制有助于发现新药物靶点及制定治疗方案。

随着干细胞和再生医学技术的快速发展,将干细胞应用于外伤性视神经损伤修复治疗的研究日益增多。大部分研究仍处于动物实验阶段,但也有研究团队已开展干细胞治疗视神经损伤的临床试验。本文将集中梳理、归纳和总结间充质干细胞治疗修复外伤性视神经损伤的研究,并对目前应用于干细胞修复外伤性视神经损伤存在的问题和未来可能发展方向进行探讨。

1 视神经损伤机制

1.1 神经细胞的死亡途径

细胞死亡是一个规律的处于动态平衡的调控过程,在维持组织及器官的形态与功能中起着至关重要的作用。绝大部分细胞会定期进行自我更新,执行死亡调控过程,以维持组织器官的正常功能。但神经细胞是个例外,其需要以有丝分裂期后的状态长期抵抗各类有害物质和错误的传导信号。因此,神经细胞的程序性死亡调控就显得格外重要^[4]。神经细胞主要是通过清除异位迁移的细胞、消除错误的神经支配靶点以及这些靶点所产生的因子、竞争有限数量的促生存因子,以营造适宜神经细胞生长的环境^[5]。如果神经细胞的死亡调控出现紊乱,或是蛋白、脂质等因子激活了细胞死亡通路信号,就会引起神经细胞过度的死亡及神经传导支配功能受损,这也是导致各类急、慢性神经退行性病变的主要原因^[6]。

神经细胞信号传递通路复杂、传导通路长,神经细胞死亡机制复杂。目前发现有 12 种神经细胞死亡途径(表 1)^[5],包括细胞凋亡、程序性坏死、依赖性细胞死亡、铁死亡、细胞焦亡、溶解性死亡、线粒体膜通透性改变的死亡、自噬性死亡、吞噬性死亡、含有无菌 α 和 TIR 结构域 1 的蛋白 (sterile alpha and

Toll/interleukin-1 receptor motif-containing 1, SARM1) 相关死亡、类凋亡和细胞胀亡。

表 1 神经细胞死亡途径的形态学特征和关键调控因子

| 细胞死亡途径 | 细胞形态学变化 | 关键调控因子 |
|-------------|---------------|-------------------------|
| 内源性凋亡 | 细胞皱缩 | Bax、Caspase-3 |
| 外源性凋亡 | 细胞皱缩 | Caspase-8、Caspase-3 |
| 程序性坏死 | 细胞破裂 | RIP1、RIP3、MLKL |
| 依赖性细胞死亡 | —— | PARP-1 |
| 铁死亡 | 线粒体固缩 | Gpx4 |
| 线粒体通透性改变的死亡 | 细胞破裂 | Cyclophilin D |
| 细胞自溶 | 细胞破裂 | Cathepsin B、Cathepsin D |
| 细胞焦亡 | 细胞破裂 | NLRP3、Caspase-1 |
| 自噬性死亡 | 胞质内空泡形成 | Atg5、Beclin-1 |
| 吞噬性死亡 | —— | MFG-E8、VNR |
| SARM1 相关死亡 | —— | Sarm-1 |
| 类凋亡 | 胞质内空泡形成,线粒体肿胀 | 尚未明确 |
| 细胞胀亡 | 细胞破裂 | 尚未明确 |

注: Bax: Bcl-2 相关 X 蛋白; Caspase: 半胱天冬酶; RIP: 受体相互作用蛋白; MLKL: 混合谱系激酶结构域样蛋白; ——: 无; PARP: 聚 ADP 核糖聚合酶; Gpx4: 谷胱甘肽过氧化物酶 4; Cyclophilin D: 亲环蛋白 D; Cathepsin: 组织蛋白酶; NLRP3: 核苷酸结合寡聚化结构域样受体家族 3; Atg5: 自噬相关基因 5; Beclin-1: 自噬相关蛋白 1; MFG-E8: 乳脂球表皮生长因子-8; VNR: 乳脂球蛋白受体; Sarm-1: 含有无菌 α 和 TIR 结构域 1 的蛋白

1.1.1 细胞凋亡 细胞凋亡 (apoptosis) 广泛存在于细胞的生理与病理过程中,可分为外源性细胞凋亡和内源性细胞凋亡。外源性细胞凋亡主要由细胞表面肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 家族蛋白受体的激活而诱发。TNF 的联结会导致 Fas 相关死亡受体域的聚集,激活胱天蛋白酶 (Caspase)-8^[7]。Caspase-8 紧接着可激活下游的 Caspase-3, Caspase-3 可剪切超过 1 300 种细胞内物质,最终导致细胞死亡。内源性细胞凋亡最显著的特征是由 Bcl-2 家族蛋白介导的线粒体外膜通透性增加,因此又被称为线粒体性细胞凋亡。在神经元内,内源性细胞凋亡的启动依赖于 Bcl-2 家族中 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 表达水平的上调^[8]。Bax 激活后会在线粒体外膜形成 Bax 二聚体的环形结构,造成线粒体外膜通透性增加,细胞色素 C 由线粒体释放至胞质中^[9]。细胞色素 C 可与 Apaf-1 结合,形成一个七聚体结构,即凋亡小体,凋亡小体可进而激活 Caspase 家族,包括 Caspase-3,引发细胞凋亡^[10]。

1.1.2 可调控的细胞坏死 细胞坏死 (necrosis) 曾被认为是无序的细胞死亡过程,其最终的结局是细胞膜通透性改变,细胞肿胀破裂,然而随着程序性坏死、依赖性细胞死亡、铁死亡、细胞焦亡、线粒体膜通透性改变的死亡的揭露研究不断深入,人们研究者发现细胞坏死中存在着可调控的机制,并把上述死亡途径统称为可调控的细胞坏死 (programmed necrosis)。目前所发现参与神经细胞死亡的可调控细胞坏死途径有程序性坏死、依赖性细胞死亡、铁死亡、线粒体膜通透性改变的细胞死亡、细胞自溶和细胞焦亡。

1.1.2.1 程序性坏死 程序性坏死(necroptosis)是最具代表性的可调控性细胞坏死方式,其标志为坏死小体的形成。受体相互作用蛋白 1(receptor-interacting protein 1,RIP1)、RIP3 的磷酸化可激活混合谱系激酶结构域样蛋白(mixed lineage kinase domain-like protein,MLKL)的磷酸化,促进坏死小体的形成,造成核固缩、核碎裂、核溶解的典型细胞坏死形态学变化^[11]。比较特殊的是,在神经细胞中坏死小体的形成还需要 Akt/mTOR 通路的激活^[12]。

1.1.2.2 依赖性细胞死亡 依赖性细胞死亡(parthanatos)是一种依赖于多聚 ADP 核糖聚合酶[poly (ADP-ribose) polymerases,PARP]调控的细胞坏死方式,DNA 受损被认为是引发依赖性细胞死亡最主要的刺激源^[13]。PARP-1 的激活会导致其产物 PAR 数量增多,NAD⁺的消耗也随之增加。PARP-1 引起细胞凋亡诱导因子(apoptosis induce factor,AIF)由线粒体释出并与亲环蛋白 A 结合,形成 A-AIF 复合物,进入细胞核损伤 DNA,进而造成染色质固缩,细胞死亡^[14]。

1.1.2.3 铁死亡 近年来,铁死亡(ferroptosis)途径的发现为人们进一步了解细胞死亡机制提供新思路。不同于凋亡途径的细胞皱缩、细胞自噬中自噬小体的形成等现象,铁死亡中最显著的形态学特征为线粒体固缩^[15]。在神经元中,神经兴奋毒性被认为是铁死亡的主要诱因^[16]。造成铁死亡的原因是多元不饱和脂肪酸依赖于亚铁离子的脂质过氧化。谷胱甘肽过氧化物酶 4 可防止脂质的过氧化,因此若其被抑制,也会引发细胞铁死亡^[17]。现阶段脂质过氧化后的下游途径尚未明确,有观点认为 AIF 由线粒体释放进入细胞核造成 DNA 损伤是脂质过氧化后可能的机制^[18]。

1.1.2.4 线粒体膜通透性改变的细胞死亡 线粒体膜通透性改变的细胞死亡(mitochondrial permeability transition)指胞浆中钙离子浓度的升高可诱发线粒体膜通透性改变的死亡途径,钙离子浓度升高后会诱发以亲环蛋白 D 为关键组成成分的线粒体通透性转换孔的开放^[19];大量的金属离子,小分子物质(相对分子质量<10 000 000)可自由通过线粒体内膜进入基质,还会造成线粒体跨膜电位丧失、氧化磷酸化解耦联、细胞腺苷三磷酸(adenosine triphosphate,ATP)生成障碍、线粒体基质肿胀、线粒体外膜破裂、细胞色素 C 释放、呼吸链电子传递障碍,最后不可避免地引发细胞死亡^[20-21]。

1.1.2.5 细胞自溶 细胞自溶(autolysis)又称作溶酶体死亡途径,是由于溶酶体膜通透性改变导致大量的蛋白酶和水解酶释放入细胞质,溶解细胞所导致的细胞死亡。许多信号可引发细胞自溶,如溶酶体 p53、磷脂酶 A2、DRAM1、Lamp2 蛋白的切割^[22-23]。这些刺激源在溶酶体内造成的下游通路途径尚未明确,但在众多由溶酶体释放出的酶当中,蛋白酶 cathepsin B、cathepsin D 和 cathepsin L 被认为是主要起降解作用的酶,也是被用来评估细胞自溶的激活和抑制细胞自溶的关键因子^[24]。

1.1.2.6 细胞焦亡 细胞焦亡(pyroptosis)是另一种近年来新发现的可调控的细胞坏死方式,最先发现于巨噬细胞。炎症的刺激是诱发细胞焦亡途径最主要的诱发原因^[25],炎症的刺激

会募集 NOD 样受体家族蛋白 1(NLR family pyrin domain containing 1,NLRP1)、NLRP3、NLRP4,感应蛋白与衔接蛋白 ASC、胱天蛋白酶前体 1(pro-Caspase-1)结合,组成炎症小体(inflammasome)^[25-27]。炎症小体的一个重要作用是将 pro-Caspase-1 激活为 Caspase-1,Caspase-1 可切割 Gasdermin D 蛋白,在细胞膜和细胞器膜表面形成小孔,增加膜通透性,触发细胞坏死途径^[28]。Caspase-1 还能把白细胞介素(interleukin,IL)前体 1 β (pro-IL-1 β)切割激活为 IL-1 β ,炎性因子 IL-1 β 可通过 Gasdermin D 蛋白孔释放到细胞外,引发新炎症反应^[29]。

1.1.2.7 细胞自噬性死亡 自噬在细胞的生长发育以及维持细胞正常的生理活动中扮演着重要角色,可将细胞内损伤或老化细胞器、有害物质运输至溶酶体进行降解。这有助于减少细胞损伤,防止细胞死亡。然而,过度的自噬活动会导致细胞自噬性死亡(autophagic cell death)。细胞内物质会通过自噬小体运输至溶酶体,这是自噬形态学最特征性的改变,自噬小体的形成也是细胞自噬死亡途径的关键环节。自噬小体的形成主要受自噬相关基因(ATG)的调控,如 Atg5、Atg7、Atg14,还与 LC3B、Beclin-1(ATG6)的表达水平有关^[30-31]。Liu 等^[32]发现,细胞穿透自噬调控蛋白 Beclin-1 会导致过度的自噬活动,引发海马神经元细胞自噬性的死亡,并将其命名为“autosis”。

1.1.2.8 细胞吞噬性死亡 细胞吞噬性死亡(phagocytosis)指一个细胞吞噬另一个细胞,从而导致细胞死亡的过程。如果被吞噬的是已经死亡的或正在死亡的细胞,这一类的吞噬作用称为继发性吞噬作用。如果被吞噬的是仍有正常生理活动的细胞,则称为原发性吞噬作用。2 种类型吞噬作用间最大的区别,也是细胞吞噬性死亡最显著的特点是当吞噬作用被抑制后,可以防止细胞死亡。在继发性吞噬中,抑制吞噬作用并不能阻止细胞死亡,而是会造成死亡细胞的不断累积。吞噬作用主要分为 3 个阶段,吞噬细胞识别被吞噬细胞、对细胞进行吞噬以及消化^[33-34]。细胞表面较经典的吞噬识别信号是磷脂酰丝氨酸,乳脂球 EGF 因子 8^[35]可作为桥梁将吞噬信号和小胶质细胞表面玻连蛋白受体^[36]或 MER 原癌基因酪氨酸激酶^[37]连接,信号识别完毕后吞噬途径被激活,造成细胞死亡^[35-37]。

1.1.2.9 SARM1 相关死亡 SARM1 相关死亡(saroptosis)是以 SARM1 为关键因子所调控的一种死亡途径,由 Summers 等^[38]最先于线粒体功能受损后的神经细胞中发现^[38]。当神经细胞轴突受损或是轴突传输作用受抑制后,SARM1 被激活,导致 NAD⁺消耗增加,神经胞体和轴突因此产生退行性改变^[39]。Mukherjee 等^[40]也发现激活 SARM1 可直接参与神经细胞的死亡。

1.1.2.10 类凋亡 类凋亡(paraptosis)是一种以细胞质空泡形成,线粒体肿胀为形态学改变的细胞死亡方式,类细胞死亡途径被激活时,胰岛素样生长因子 1 受体表达水平显著升高^[41],并受 MAPK 家族和 AIP-1/Alix 通路的调控^[42]。

1.1.2.11 细胞胀亡 细胞胀亡(oncosis)指的是细胞因缺血而导致 ATP 产生减少,能量供应不足,从而造成钙泵、钠泵失活,细胞肿胀而死亡^[43]。有报导指出 ATP 耗竭导致神经元和星形胶质细胞释放谷氨酸,激活神经元 NMDA 受体,使神经元

胞内充满钙离子,钙离子从而激活磷脂酶,导致中风或阿尔茨海默病诱导的神经元死亡^[44]。

1.2 RGC 在外伤性视神经损伤后的死亡机制

RGC 是中枢神经系统的延伸,同时也是视神经的重要组成部分,负责视觉信息的传递,在视觉的形成中起重要作用。因此,外伤性视神经损伤后极易对 RGC 造成损伤,且 RGC 的自我修复和再生能力低,极大地影响了视觉功能恢复。

在小鼠视神经挤压模型中,视神经受损后 3 d RGC 开始出现急剧而大量的死亡,受损后 7 d, RGC 数量减少为 50%。视神经受损后第 14 天, RGC 数量不足原先的 20%^[45-46]。在大鼠视神经横断模型中,内源性凋亡调控因子 Bax 和外源性凋亡调控因子半胱天冬酶(Caspase)-8 的表达水平在视神经损伤后 3~4 d 上调^[47-48]。同样,在小鼠视神经挤压模型中,内、外源细胞凋亡的共同关键调控蛋白 Caspase-3 的表达水平于视神经损伤后 3~5 d 升高。但令人意外的是, Sánchez-Migallón 等^[45]发现小鼠玻璃体腔注射 Caspase-3 抑制剂并不能显著延缓 RGC 的死亡。在大鼠眼钝挫伤模型中,程序性坏死的关键调控蛋白 MLKL 于损伤后 24 h 表达上调^[49]。细胞自溶途径的标志物 Cathepsin-B、Cathepsin-C 表达水平在视神经损伤 48 h 后升高,并于损伤后 7 d 恢复至原先的表达水平^[50]。相似的是,依赖性细胞死亡的关键调控因子 PARP1 在视神经损伤后 3 d 表达水平上升,7 d 后下降至正常水平^[51]。视神经损伤后,除了在 RGC 内被激活的细胞死亡途径外,小胶质细胞的激活也可造成节细胞的死亡。视神经损伤后 3 d, 细胞焦亡的调控蛋白 Caspase-1 被发现在小胶质细胞中的表达上升,并维持至损伤后 3 周^[52]。在大鼠视神经横断的模型中,小胶质细胞还被发现参与了细胞吞噬作用,但抑制小胶质细胞的吞噬信号后并没有阻止 RGC 的死亡^[53-54]。推测小胶质细胞可能参与了清理损伤或已经死亡的 RGC 吞噬途径,即继发性吞噬。视神经损伤还会造成 SARM1 相关死亡标志物 Sarm-1 的表达水平升高,但在 Sarm-1 敲除的小鼠模型中,视神经挤压后 RGC 的数量并没有显著改变,而轴突退化得到改善^[55]。该研究表明 SARM1 相关死亡与外伤性视神经损伤后的轴突再生有关。并不是所有的细胞死亡途径都诱发了外伤性视神经损伤后 RGC 的死亡。在建立大鼠视神经横断模型后 3~5 d, RGC 中 Atg5、Atg7 表达水平上升, LC3B 蛋白水平升高,细胞内自噬小体聚集,表明自噬途径被激活;但采用 3-甲基腺嘌呤抑制 RGC-5 细胞自噬后,细胞活力显著下降,推测在视神经损伤后,自噬可能对 RGC 起保护作用^[56-57]。

由此可见,外伤性视神经损伤后 RGC 死亡速度快,所涉及的死亡途径多,死亡机制复杂(图 1)。因此,急需可保护 RGC、最大程度减少其死亡的有效方法,以挽救外伤性视神经损伤患者的视力,减轻患者的痛苦。

2 外伤性视神经损伤治疗研究

近年来,研究者们力图寻找对外伤性视神经损伤更安全有效的疗法,有研究发现对超声波诱导的创伤性视神经病变小鼠进行皮下注射 MTP-131(一种小型线粒体靶向四肽),可将 RGC

生存率提高 17%;皮下注射伊那西普(TNF 抑制剂)能提高 RGC 存活率 20%^[58]。富含 AT 相互作用域 1A(Arid1a)是 SWItch/Sucrose Non-Fermentable(SWI/SNF)染色质重塑复合体的亚基,对维持细胞稳态和组织再生发挥重要作用,视神经损伤会引起 Arid1a 表达的动力学改变,在视神经挤压小鼠模型上敲除 Arid1a 能有效促进 RGC 的存活^[59]。该研究提示 Arid1a 是外伤性视神经损伤后促 RGC 存活的潜在治疗位点。基因治疗如色素上皮衍生因子(pigment epithelium-derived factor, PEDF)基因通过玻璃体腔注射腺相关病毒 2 载体过表达后,在视神经损伤后 4 周能提高 RGC 存活率,并调节小胶质细胞和星形胶质细胞的激活^[60]。

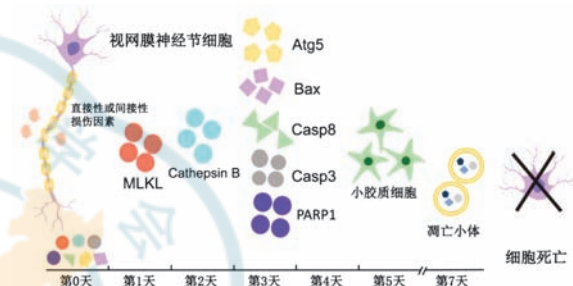


图 1 视神经损伤后 RGC 的死亡途径及机制 在视神经受到损伤后 1 d 内, RGC 内 MLKL 被激活;损伤后第 2 天, Cathepsin B 被激活;损伤后第 3 天, Atg5、Bax、Casp8、Casp3、PARP1 表达水平上升;损伤后第 5 天,大量小胶质细胞被激活;损伤后第 7 天, RGC 内出现凋亡小体。多种死亡途径参与了视神经损伤造成的 RGC 死亡 MLKL: 混合谱系激酶结构域样蛋白; Cathepsin B: 组织蛋白酶 B; Atg5: 自噬相关基因 5; Bax: Bcl-2 相关 X 蛋白; Casp: 半胱天冬酶; PARP1: 聚 ADP 核糖聚合酶 1

除此之外,一些天然细胞因子的应用也具有神经保护作用,并促进视神经再生。Fischer 等^[61]发现在视神经损伤后,由 IL-6 和可溶性 IL-6R 共价连接组成的细胞因子(Hyper-IL-6)的持续高表达能激活 JAK/STAT3 和 PI3K/AKT/mTOR 信号通路,促进轴突长距离再生^[62];体外实验中应用肝细胞生长因子能增强血清剥夺或生长因子剥夺的 RGC 存活并促进轴突再生,体内玻璃体腔注射肝细胞生长因子显著提高大鼠视神经横断后 RGC 的数量并促进视神经挤压大鼠中的轴突再生,这与 RGC 中肝生长因子受体 c-Met 表达的上调及 Akt 和 MAPK 信号通路的激活相关^[63]。Cen 等^[64]也发现通过玻璃体腔注射睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)并同时抑制 RhoA 基因表达可促进 RGC 存活及轴突再生;此外, Yang 等^[65]还发现在大鼠缺血再灌注损伤模型中,于损伤后多次给予绿茶提取物灌胃,可减少 RGC 凋亡、改善氧化应激和炎症反应。在视神经挤压损伤后,神经修复也受到炎症反应的调节,通过对酪蛋白激酶 2 进行抑制, RGC 的存活率和轴突的再生得到改善^[66]。还有研究发现了一些可作为治疗视神经损伤潜在靶点的分子物质,如晶状体蛋白、血小板反应蛋白^[67-68]。

目前,注射促红细胞生长素、亚精胺等治疗方法也逐渐应用于临床^[69-70]。该治疗方法较传统治疗方式能更有效减轻患者痛苦、挽救损伤的视神经,但其临床应用性仍有待进一步研究。

3 间充质干细胞治疗外伤性视神经损伤的研究

3.1 间充质干细胞概述

间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)是一类具有自我更新能力和多向分化潜能的成体干细胞,存在于多种发育成熟组织中,如骨髓、脂肪、脐带、脐带血和牙髓等^[71]。其主要通过细胞替代和组织再生维持组织稳态和组织特异性,也能调节宿主组织的微环境发挥神经保护作用保护细胞^[72]。研究表明 MSC 能运用其神经保护作用调节受损宿主组织的可塑性,分泌多种细胞因子,发挥免疫调节和营养支持作用,可恢复突触递质释放,整合到现存的神经元和突触网络系统,并重建功能性传入和传出性连接^[73]。此外, MSC 具有免疫抑制及抑制促炎症因子释放的特性,使得其在不需要免疫抑制剂的情况下就能进行自体或异体移植,且其干细胞特性不需要基因修饰或预处理,无引起畸胎瘤的风险。因此, MSC 的多向分化、抗炎、免疫调控和神经保护等功能特性使其具有极大的治疗潜力,且因其获取相对容易,同时具有自体细胞的优势,不易引起免疫排斥反应和伦理争议^[72],在细胞治疗和再生医学领域受到广泛关注。

3.2 MSC 在外伤性视神经损伤疾病中的研究进展

MSC 因其良好的治疗潜力,已广泛应用于视神经损伤的临床前研究,尤其是在外伤性视神经损伤疾病中,包括视神经挤压损伤或横断动物模型。许多研究表明, MSC 不仅能有效促进 RGC 的存活,还能促进轴突再生,为视神经损伤的修复提供了新的治疗途径。

3.2.1 MSC 对外伤性视神经损伤的保护作用 在本团队的前期研究中, Cen 等^[74] 向视神经挤压损伤大鼠进行玻璃体腔注射 3 μl (共 5×10^4 个) 人牙周膜韧带源性 MSC, 结果显示 MSC 可提高脑源性神经营养因子 (brain-derived neurotrophic factor, BDNF) 的分泌并促进 RGC 存活和轴突再生; 此外, 体外实验表明, 人牙周膜韧带源性 MSC 与视网膜外植体的共培养可增强 RGC 的存活和神经突再生。Mead 等^[75] 向接受视神经挤压手术的大鼠玻璃体腔注射牙髓或骨髓源性 MSC, 结果表明这 2 类 MSC 均能促进 β III-微管蛋白阳性视网膜细胞的存活和神经元突起的再生, 同时分泌 BDNF、神经生长因子和 NT-3。此外, Mesentier-Louro 等^[76] 和 Tan 等^[77] 分别通过玻璃体腔注射 5×10^6 个和 1×10^5 个骨髓源性 MSC 治疗视神经挤压损伤大鼠, 发现 RGC 数量增多或受损轴突再生, 且高剂量骨髓源性 MSC 表现出更显著的促进轴突再生效果。

除骨髓源性和牙周膜韧带源性 MSC 外, 还有其他来源的 MSC 也应用在外伤性视神经损伤的临床前研究中。Park 等^[78] 静脉注射 1×10^6 个细胞/0.5 ml 人胎盘源性 MSC 治疗外伤性视神经损伤及缺氧条件下的 R28 细胞, 发现视神经受损后体内残余轴突的数量增多, 体外 R28 细胞存活率也上升。经玻璃体腔注射 5 μl (5×10^5 个) 人脐带华通胶 MSC 治疗外伤性视神经损伤大鼠, 在注射后的 2 周、2 个月和 4 个月, RGC 的存活率显著提高, 并在损伤 4 个月后轴突沿着视神经再生, 重建轴突与视目标的连接^[79]。同样的, 通过玻璃体腔注射 1.5 μl (3×10^4 个) 脂肪源性 MSC 治疗外伤性视神经损伤大鼠, 研究结果显示

RGC 存活率升高, 同时视网膜细胞对抗凋亡的能力增强^[80]。此外, 经颈内动脉注射 0.5 ml 共 1×10^6 个细胞的人绒毛膜板来源的 MSC 提高了视神经挤压损伤大鼠视网膜内 GAP-43 和缺氧诱导因子 1 α 蛋白的表达水平^[81]。

部分研究在 MSC 移植前对其进行了一定的处理。Kwon 等^[82] 发现对人胎盘来源性的 MSC 进行缺氧预处理后再注射至视神经挤压损伤后大鼠视神经处 (2×10^6 个/0.06 ml), 能增加视网膜内 β III-微管蛋白的表达, 并明确 VEGF 在 MSC 发挥神经保护作用中起到重要的调节作用; 而 Nascimento-Dos-Santos 等^[60] 预先对 MSC 进行 PEDF 基因修饰转染, 然后以 5 μl (5×10^5 个) 注射于外伤性视神经损伤大鼠玻璃体内, 结果表明修饰后 MSC 促进了 RGC 存活和轴突再生, 同时调节了 FGF-2、IL-1 β 、IBA-1 和 GFAP 的表达。

许多研究还重点关注 MSC 的细胞外囊泡, 主要是外泌体, 在外伤性视神经损伤修复治疗上的应用。Pan 等^[83] 通过收集人脐带来源 MSC 的外泌体并应用于视神经挤压损伤的大鼠中, 发现外泌体可促进 RGC 存活和星形胶质细胞的激活。Mead 等^[84] 将从骨髓源性 MSC 分离出的外泌体经玻璃体腔注射治疗大鼠外伤性视神经损伤, 提高了 RGC 存活率和轴突再生能力。

这些研究均证实了 MSC 对外伤性视神经损伤的治疗作用, 也为 MSC 治疗外伤性视神经损伤的临床应用提供科学的支持依据。

3.2.2 MSC 在外伤性视神经损伤中的神经保护机制 研究表明, MSC 移植后可以在体内维持 2 周以上未分化状态, 同时保留干细胞特性, 分泌多种营养性因子主要为干细胞生长因子 β 、肝细胞生长因子和单核细胞趋化蛋白 1, 激活 JAK/STAT3 和 MAPK/ERK 信号通路, 减少 RGC 的丢失^[85]。有研究发现在 MSC 注射治疗视神经损伤后的第 60 天和 240 天依然可以看到存活 RGC 的数量增多, 部分轴突再生延长至外侧膝状体和上丘^[86], 说明 MSC 能发挥长期的神经保护作用, 其具体机制还有待进一步的研究。

在关于 MSC 的临床前研究中, 大部分的神经保护作用归功于 MSC 的旁分泌功能, 除上述细胞因子外, MSC 无需基因修饰便可产生 BDNF、CNTF、神经生长因子和胶质细胞源性神经营养因子 (glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF) 等神经营养因子, 被认为是一种可持续分泌神经营养因子的潜在储存库^[73, 87]。研究显示, MSC 分泌的 BDNF、CNTF、GDNF 和碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 神经营养因子可调节或改善受损组织的微环境从而发挥神经保护作用^[74]。一些研究在 MSC 移植前对其进行基因编辑以增强其旁分泌能力, 结果表明通过腺相关病毒转染 BDNF、GDNF33 和 PEDF 的 MSC 可产生更高浓度的相应细胞因子, 并发挥更显著的神经保护作用^[60]。该研究说明 MSC 旁分泌神经营养因子是 MSC 治疗视神经损伤的有效途径。Cen 等^[74] 通过体外人牙周膜韧带源性 MSC 和受损视网膜外植体共培养中首次发现损伤的视网膜可提高人牙周膜韧带源性 MSC 的 BDNF 分泌从而促进 RGC 存活和轴突再生。此外, MSC 在受损视网膜微环境下还可分泌免疫抑制因子, 包括前列腺素 E2、吲哚胺 2,3-双加氧化酶、

转化生长因子- β 1 和 IL-10,从而有利于对抗炎症反应,减轻视神经损伤^[88]。近年来,很多研究也认为 MSC 的神经保护作用与 MSC 细胞外囊泡的释放有关。外泌体是一种囊泡小体,直径为 30~150 nm,呈双层囊泡结构,内含信使 RNA、微小 RNA (microRNA, miRNA)、长链非编码 RNA、蛋白质和脂质等多种成分,外泌体可将这些成分在细胞间进行靶向运输,并参与调控细胞内的活动^[89]。研究发现,脂肪源性 MSC 的外泌体含有神经营养因子、成纤维细胞生长因子 1、BDNF、胰岛素样生长因子 1 和神经生长因子等,促进外周神经损伤后轴突再生和髓鞘形成^[90];抑制外泌体中 miRNA 的关键效应分子 Argonaute-2 后,降低了其促 RGC 存活和轴突再生的治疗效果,说明外泌体中的 miRNA 是 MSC 发挥神经保护作用的另一途径^[84]。MSC 来源外泌体还可激活损伤的神经细胞中 Akt、Erk 和 Stat3 等信号通路,介导多种生长因子促进神经再生^[91]。此外,MSC 来源的外泌体还可调控细胞增殖、凋亡过程,参与中枢神经系统的血管生成,提高神经损伤后的血管可塑性,促进内源性血管生成和神经生成,可为轴突再生建立良好的微环境^[92]。有研究通过对 MSC 培养基中 29 种细胞因子进行浓度检测,发现 11 种细胞因子对视网膜外植体中 RGC 发挥保护作用^[93],但包括外泌体内含物在内,起到神经保护作用的关键性具体物质仍不清楚,对此需要更深入的研究。

玻璃体腔注射的 MSC 可在眼内存活并迁移至 RGC 层和视神经处。Cen 等^[74]发现人牙周膜韧带来源干细胞和视网膜外植体共培养可显著提高 RGC 的存活率,说明细胞与细胞间的接触是 MSC 保护 RGC 的重要条件。MSC 除了直接作用于受损 RGC 外,与其他视网膜内细胞如星形胶质细胞的相互作用也不容忽视。有研究发现在 MSC 移植后,视网膜内 GFAP 的表达水平增加,这表明 MSC 可通过激活视网膜内星形胶质细胞发挥对视神经损伤的保护作用^[94]。此外,有研究发现视神经是一种粘弹性固体样的生物物质,其应力和蠕变特性使得视神经能够抵抗一定拉力和对抗损伤,通过玻璃体腔注射 BDNF 或 MSC 治疗外伤性视神经损伤可修复视神经的应力和蠕变能力从而促进受损视神经恢复^[95]。MSC 在外伤性视神经损伤修复中的作用具有广泛的前景,尤其在促进神经修复、减轻炎症反应及促进轴突再生方面表现出了显著的疗效。这些研究为 MSC 作为外伤性视神经损伤的潜在治疗方法提供了科学依据,并为其治疗视神经病变的临床应用奠定了基础。

3.3 MSC 在视神经病变中的临床试验研究

MSC 在治疗外伤性视神经损伤的实验研究中展现出其可作为新的治疗途径潜能,目前已有不同来源的 MSC 用于治疗多种视神经病变的临床试验研究(表 2),其中主要是骨髓源性和脂肪源性 MSC。

表 2 间充质干细胞治疗视神经病变的临床试验

| 编号 | 国家 | 状态 | 研究题目 | 临床试验分期 | 目标疾病 | 预估人数 | 完成日期(年) |
|--------------|-----|-----|--|--------|--|------|---------|
| NCT03173638 | 西班牙 | 未知 | 玻璃体腔内注射间充质干细胞治疗急性非动脉炎性前部缺血性视神经病变的安全性评估 | II 期 | 非动脉炎性缺血性视神经病变 | 5 | 2022 |
| NCT02144103 | 俄罗斯 | 未知 | 脂肪源性再生干细胞治疗青光眼性神经退行性变的有效性和安全性 | I/II 期 | 视网膜变性、原发性开角型青光眼 | 16 | 2019 |
| NCT02638714 | 约旦 | 未知 | 自体骨髓源性干细胞治疗视神经病变 | I/II 期 | 视神经病变 | 100 | 2021 |
| NCT01834079 | 印度 | 未知 | 骨髓源性自体干细胞治疗视神经疾病的安全性和有效性 | I/II 期 | 视神经萎缩 | 24 | 2016 |
| NCT01920867 | 美国 | 未知 | 干细胞眼科治疗研究 | 不适用* | 视网膜疾病、黄斑变性、遗传性视网膜营养不良、视神经疾病、青光眼 | 300 | 2020 |
| NCT03011541 | 美国 | 招募中 | 干细胞眼科治疗研究 II | 不适用* | 视神经病变、视网膜疾病 | 500 | 2026 |
| NCT01339455 | 加拿大 | 终止 | 自体造血干细胞移植治疗视神经脊髓炎 | I/II 期 | 视神经脊髓炎 | 3 | 2017 |
| NCT 05147701 | 墨西哥 | 招募中 | 培养的同种异体成体脐带源间充质干细胞治疗眼病的安全性 | I 期 | 色素性视网膜炎、青光眼、糖尿病视网膜病变、黄斑变性、创伤性视神经病变、视神经萎缩 | 20 | 2026 |
| NCT02330978 | 巴西 | 完成 | 玻璃体腔内移植间充质干细胞治疗晚期青光眼 | I 期 | 原发性开角型青光眼 | 10 | 2016 |
| NCT02249676 | 中国 | 完成 | 自体间充质干细胞治疗视神经脊髓炎谱系疾病 | II 期 | Devic 病、Devic 综合征 | 15 | 2014 |
| NCT01364246 | 中国 | 未知 | 脐带间充质干细胞治疗进行性多发性硬化和视神经脊髓炎的安全性和有效性 | I/II 期 | 进行性多发性硬化、视神经脊髓炎 | 20 | 2014 |
| NCT00787722 | 美国 | 完成 | 造血干细胞移植治疗 Devic 病 | I/II 期 | Devic 病、Devic 综合征 | 40 | 2018 |
| NCT00278486 | 美国 | 终止 | 造血干细胞移植治疗自身免疫性视网膜病变 | I 期 | 视网膜疾病 | 2 | 2012 |

注:数据来源于 clinicaltrial.gov。* 为非 FDA 定义阶段的试验,包括设备或行为干预试验

一项由 MD Stem Cells 公司资助的在美国进行的 Stem Cell Ophthalmology Treatment Study (SCOTS) 编号为 NCT01920867 的临床研究, 计划对 300 名参与者通过球后、后 Tenon 囊、玻璃体腔内或静脉进行骨髓源性 MSC 注射干预治疗视神经和视网膜疾病, 其中 Leber 遗传性视神经病变患者经 MSC 治疗后视力得到提高, 视野有所改善, 黄斑区和视神经乳头处的神经纤维层厚度也明显增厚; 另一项 SCOTS 2 编号为 NCT03011541 的临床研究目前正处于招募试验对象阶段, 预计招募 500 名参与者, 通过注射骨髓源性 MSC 对包括青光眼在内的视神经病变进行治疗, 并对试验对象从干预前到干预后的 12 月内的视力、视野和光学相干断层扫描图像进行跟踪观察及记录。一项人脐带来源 MSC 治疗眼病的安全性研究 (NCT 05147701) 也正在招募试验对象, 通过监测静脉注射和 Tenon 囊下注射 MSC 治疗包括创伤性视神经病变和青光眼等疾病后 48 个月的不良事件和并发症, 评估其安全性; 另外, 俄罗斯进行的另一项 I 期/II 期临床研究 (NCT02144103), 对应用自体脂肪来源的 MSC 治疗原发性开角型青光眼的有效性和安全性进行评估, 除了对眼视功能的观察, 还监测紧急严重不良反应事件以及患者治疗后的生活质量; 印度也开展了一项评估自体骨髓源性 MSC 治疗视神经萎缩安全性和有效性的研究 (NCT01834079), 该研究采用鞘内或静脉注射 MSC 进行治疗, 观测视力、视功能和特发性颅内压的改变, 但尚无发表的结果。但在一项已完成的应用骨髓源性 MSC 治疗原发性开角型青光眼的 I 期临床研究中 (NCT02330978), 2 例开角型青光眼患者接受玻璃体腔注射 1×10^6 个自体骨髓源性 MSC, 治疗后患者视力、视野及 ERG 均未出现改善, 其中 1 例患者出现了视网膜脱离伴增生性玻璃体视网膜病变, 而且该研究缺乏视功能改善结果, 说明应用 MSC 治疗青光眼在内的视神经疾病需要进一步的改良和研究。

MSC 对视神经炎、视神经脊髓炎和非动脉炎性前部缺血性视神经病变的治疗也有相关的临床研究进行。中国一项评估脐带来源 MSC 治疗进展性多发性硬化和视神经脊髓炎的安全性和有效性临床研究 (NCT01364246) 正在进行; 约旦展开的应用自体骨髓源性 MSC 治疗视神经病变的 I 期/II 期临床试验 (NCT02638714) 正在招募参与者。另外 2 项分别在中国 (NCT02249676) 和美国 (NCT00787722) 进行的应用干细胞治疗视神经脊髓炎疾病的临床试验研究已完成。其中美国 NCT00787722 研究结果显示 12 例患有视神经脊髓炎谱系疾病不伴其他活动性共存的自身免疫性疾病患者中, 有 11 例患者 MSC 移植后生存时间超过 5 年, 且这 5 年内的扩展残疾状况量表评分 (EDSS) 基线平均值从 4.4 降至 3.3。此外, 临床研究结果显示, 一例 54 岁自身免疫性视神经炎女性患者在移植自体骨髓源性 MSC 后, 视力、视野和 OCT 检查均有所改善^[96]; 另有研究显示, 5 例患有视神经脊髓炎的中国患者在接受人脐带源性 MSC 移植后, 有 4 例患者的症状和体征得到明显改善, 且复发率降低, 核磁共振成像中观察到病变程度也有所缓解^[97]。干细胞对其他视神经、视网膜疾病治疗也有进行临床试验, 如造血干细胞治疗自身免疫性视网膜病变 (NCT00278486) 和自体干细胞治疗高级别胶质瘤 (NCT02976441); 另外, 评估玻璃

体腔注射 MSC 治疗急性非动脉炎性前部缺血性视神经病变的安全性的 II 期临床试验 (NCT03173638) 也在西班牙开始招募参与者。虽然这些注册的临床试验研究大部分仍处于 I 期或 II 期阶段, 但充分表明 MSC 应用于临床治疗视神经疾病指日可待。

4 MSC 在外伤性视神经损伤修复中潜在的治疗策略

4.1 增强人 MSC 特性

虽然人 MSC 已被证明在不同 RGC 退行性变疾病模型中能促 RGC 存活和轴突再生, 但是 MSC 的神经保护作用发挥有限。MSC 的特性受到内源性和外源性因子的影响, 如年龄、性别和吸烟^[98-100]等。研究者, 发现经过预处理后的 MSC 移植和迁移能力、宿主内存活率以及旁分泌功能均得到提升, 对视神经病变的治疗效果也有所增强, 因此采用一定的预处理方法可增强 MSC 的特性及旁分泌能力, 有助于充分发挥 MSC 对视神经疾病的治疗作用 (图 2)。研究表明, 在低氧条件下, 脂肪来源 MSC 的增殖速率加快, 干细胞特性增强, 激活的缺氧诱导因子 1 α 通过激活巨噬细胞抑制因子并抑制 p53 介导的细胞信号通路延缓细胞衰老^[101-102]; 同时, 在低氧模拟试剂去铁敏的作用下, 脂肪来源 MSC 可增加抗炎因子的分泌^[103]。除了低氧处理, 采用化学药物和细胞因子如过氧化氢、IL-1 β 、 γ 干扰素和褪黑素等对 MSC 进行预处理, 也能增强其增殖、移植、迁移、免疫调控和抗氧化能力^[104-106]。其他研究表明, BDNF 和 CNTF 也可增强骨髓源性 MSC 在动脉炎性缺血性视神经病变小鼠视网膜中向神经胶质细胞的分化^[107]。此外, 通过姜黄素、当归补血汤和独活寄生汤等中草药制剂的预处理, MSC 的分化、免疫调控和细胞特性也发生了改变^[108-110]。目前增强 MSC 特性的预处理措施还包括一些物理性刺激, 如激光^[111], 但这些预处理措施引起干细胞特性改变的具体机制尚不清晰。随着再生医学技术的不断发展及 MSC 在神经损伤修复的应用, 寻找更多增强 MSC 干细胞特性的方法, 将有望进一步促进 MSC 在临床治疗上发挥作用。

4.2 MSC 向 RGC 分化

研究发现, 一些成体干细胞可表达胚胎干细胞的特异性细胞标志物, 如 OCT4、SOX2 和 NANOG 等, 也具有向异源细胞类型分化的潜能^[112]。这些研究揭示了成体干细胞同样拥有多能性, 可从中分离纯化出多能成体干细胞, 从而为多能干细胞的研究应用提供新的来源, 促进以多能成体干细胞分化为视网膜细胞的组织工程学新途径的发展, 加速再生医学在临床治疗上的应用。

因 MSC 同样具有多能性, 通过施加特定的外界刺激或采用条件培养基可诱导其分化为其他胚层的细胞类型, 进而拓宽了 MSC 治疗疾病的应用范围 (图 2)。本团队以往的研究已证实, 经 noggin、Dkk-1、IGF-1 和 bFGF 处理的人牙周膜韧带来源干细胞, 可向能表达光感受器标志物和具有谷氨酸诱发电钙反应的视网膜谱系分化^[113]; 在 noggin、Dkk-1、IGF-1 和 bFGF 处理的基础上, 添加 BDNF、CNTF、神经生长因子和 Shh 进行 24 d 的诱导培养后, 这些干细胞可直接被诱导分化为能表达神经元和

RGC 标志物的 RGC 谱系细胞,能形成突触,并具有谷氨酸诱发钙反应和自发电活动能力^[114]。此诱导分化同样可通过 miRNA-132 进行调控。除了人牙周膜韧带来源干细胞,人脂肪源性 MSC 也同样能被诱导分化为视网膜谱系细胞,在 Notch 信号通路激活剂 JAG1 的刺激下,还能促进 RGC 和视网膜祖细胞标志物的表达^[115]。精原干细胞在三维细胞器培养中也表现出向 RGC 谱系分化的能力^[116]。虽然这些由 MSC 经体外诱导分化的视网膜细胞能否真正整合至宿主视网膜内并发挥作用尚不清楚,但以上研究表明,MSC 衍生的视网膜细胞移植有望成为未来治疗视网膜疾病的一种可行且可控的策略。

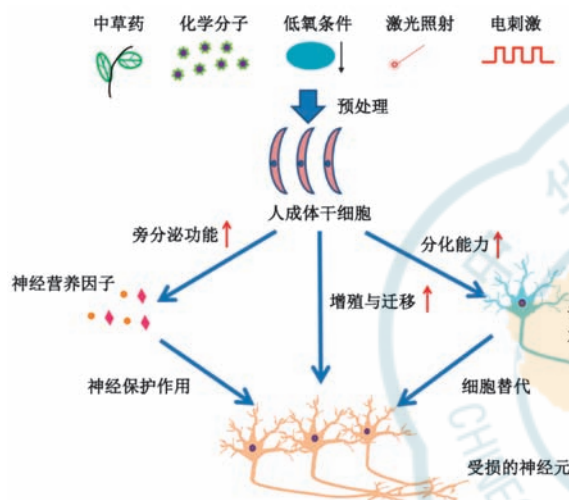


图2 MSC在视神经损伤修复治疗应用上的多种治疗策略 MSC在中草药、化学分子、低氧环境、激光照射和电刺激的预处理下,其旁分泌功能增强进而产生更多的神经营养因子发挥神经保护作用;MSC增殖与迁移能力提高,可向受损组织进行迁移;同时MSC也向神经元分化以替代受损的神经细胞

5 困难与挑战

虽然 MSC 的神经保护作用备受科研人员及临床医师的重视,而且关于 MSC 治疗修复视神经损伤疾病的临床试验研究数量也与日俱增,但将 MSC 广泛应用于临床治疗尚有一些关键性问题亟待解决。在移植 MSC 后,研究者虽然并未观察到严重不良反应的发生,但部分患者出现了短暂性皮疹、自限性细菌感染或发热^[117]。此外,有研究报道,3 例年龄相关性黄斑变性患者接受玻璃体腔注射自体脂肪来源 MSC 治疗后出现了严重的双侧视力丧失^[118]。鉴于 MSC 来源众多,不同研究选择了不同来源的 MSC 进行治疗,因此制定标准化的指南来规范移植治疗 MSC 的来源、特性、剂量和纯度极其重要。同时,MSC 治疗的长期效果及是否存在其他严重不良反应,也需要通过更多的临床研究进行验证。此外,采用何种 MSC 移植途径,如玻璃体腔注射、静脉注射等,以实现最佳临床治疗效果也是关键性的问题。因外伤性视神经损伤后 RGC 死亡及轴突退行性变化的机制尚不明确,适合接受 MSC 移植治疗的时期也有待明确。预处理有望成为增强 MSC 神经保护作用的有效策略,但其研究尚且有限,各种预处理方式提高 MSC 神经保护作用的

深层机制及技术策略值得进一步探索和优化。另一方面,MSC 虽表现出向 RGC 分化的潜能,但实现其诱导分化方案的标准化,促进移植后 MSC 衍生的视网膜细胞与宿主视网膜神经网络的整合及连接依然任重道远;MSC 能否用于构建人类视网膜遗传疾病模型,以观察疾病发生和发展过程并探索相应干预治疗措施,这些问题都仍有待未来研究的证实。

尽管 MSC 尚未应用于临床治疗,但其对外伤性视神经损伤修复中展现的神经保护作用具有良好的应用前景。未来,MSC 有望成为一种实用的外伤性视神经损伤治疗修复策略。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Biousse V, Newman NJ. Diagnosis and clinical features of common optic neuropathies[J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(13): 1355-1367. DOI:10.1016/S1474-4422(16)30237-X.
- [2] Bastakis GG, Ktena N, Karageorgos D, et al. Models and treatments for traumatic optic neuropathy and demyelinating optic neuritis[J]. *Dev Neurobiol*, 2019, 79(8): 819-836. DOI:10.1002/dneu.22710.
- [3] Li HJ, Sun ZL, Yang XT, et al. Exploring optic nerve axon regeneration[J]. *Curr Neuropharmacol*, 2017, 15(6): 861-873. DOI:10.2174/1570159X14666161227150250.
- [4] Wong FK, Marin O. Developmental cell death in the cerebral cortex[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2019, 35: 523-542. DOI:10.1146/annurev-cellbio-100818-125204.
- [5] Fricker M, Tolkovsky AM, Borutaite V, et al. Neuronal cell death[J]. *Physiol Rev*, 2018, 98(2): 813-880. DOI:10.1152/physrev.00011.2017.
- [6] Buss RR, Gould TW, Ma J, et al. Neuromuscular development in the absence of programmed cell death: phenotypic alteration of motoneurons and muscle[J/OL]. *J Neurosci*, 2006, 26(52): 13413-13427 [2024-03-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17192424>. DOI:10.1523/JNEUROSCI.3528-06.2006.
- [7] Zhang H, Zhou X, McQuade T, et al. Functional complementation between FADD and RIP1 in embryos and lymphocytes[J]. *Nature*, 2011, 471(7338): 373-376. DOI:10.1038/nature09878.
- [8] Hollville E, Romero SE, Deshmukh M. Apoptotic cell death regulation in neurons[J]. *FEBS J*, 2019, 286(17): 3276-3298. DOI:10.1111/febs.14970.
- [9] Große L, Wurm CA, Brüser C, et al. Bax assembles into large ring-like structures remodeling the mitochondrial outer membrane in apoptosis[J]. *EMBO J*, 2016, 35(4): 402-413. DOI:10.15252/embj.201592789.
- [10] Bratton SB, Salvesen GS. Regulation of the Apaf-1-caspase-9 apoptosome[J]. *J Cell Sci*, 2010, 123(Pt 19): 3209-3214. DOI:10.1242/jcs.073643.
- [11] Conrad M, Angeli JP, Vandenabeele P, et al. Regulated necrosis: disease relevance and therapeutic opportunities[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2016, 15(5): 348-366. DOI:10.1038/nrd.2015.6.
- [12] Liu Q, Qiu J, Liang M, et al. Akt and mTOR mediate programmed necrosis in neurons[J/OL]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(2): e1084 [2024-03-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24577082>. DOI:10.1038/cddis.2014.69.
- [13] Fatokun AA, Dawson VL, Dawson TM. Parthanatos: mitochondrial-linked mechanisms and therapeutic opportunities[J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(8): 2000-2016. DOI:10.1111/bph.12416.
- [14] Name P, Pandey V, Simhadri PK, et al. Poly (ADP-ribose) polymerase-1 hyperactivation in neurodegenerative diseases: The death knell tolls for neurons[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2017, 63: 154-166. DOI:10.1016/j.semedb.2016.11.007.
- [15] Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072. DOI:10.1016/j.cell.2012.03.042.
- [16] Weiland A, Wang Y, Wu W, et al. Ferroptosis and its role in diverse brain diseases[J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(7): 4880-4893. DOI:10.1007/s12035-018-1403-3.
- [17] Liu P, Feng Y, Li H, et al. Ferrostatin-1 alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via inhibiting ferroptosis[J/OL]. *Cell Mol*

- Biol Lett, 2020, 25 : 10 [2024-03-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32161620>. DOI: 10. 1186/s11658-020-00205-0.
- [18] Yang WS, Kim KJ, Gaschler MM, et al. Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis [J/OL]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113 (34) : E4966-E4975 [2024 - 03 - 12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27506793>. DOI: 10. 1073/pnas. 1603244113.
- [19] Haworth RA, Hunter DR. The Ca²⁺-induced membrane transition in mitochondria. II. Nature of the Ca²⁺ trigger site [J]. Arch Biochem Biophys, 1979, 195 (2) : 460-467. DOI: 10. 1016/0003-9861 (79) 90372-2.
- [20] Porter GA Jr, Beutner G. Cyclophilin D, somehow a master regulator of mitochondrial function [J/OL]. Biomolecules, 2018, 8 (4) : 176 [2024 - 03 - 13]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30558250>. DOI: 10. 3390/biom8040176.
- [21] Kim SY, Shim MS, Kim KY, et al. Inhibition of cyclophilin D by cyclosporin A promotes retinal ganglion cell survival by preventing mitochondrial alteration in ischemic injury [J/OL]. Cell Death Dis, 2014, 5 (3) : e1105 [2024 - 03 - 13]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24603333>. DOI: 10. 1038/cddis. 2014. 80.
- [22] Guan JJ, Zhang XD, Sun W, et al. DRAM1 regulates apoptosis through increasing protein levels and lysosomal localization of BAX [J/OL]. Cell Death Dis, 2015, 6 (1) : e1624 [2024 - 03 - 13]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25633293>. DOI: 10. 1038/cddis. 2014. 546.
- [23] Fogarty MP, McCormack RM, Noonan J, et al. A role for p53 in the beta-amyloid-mediated regulation of the lysosomal system [J]. Neurobiol Aging, 2010, 31 (10) : 1774 - 1786. DOI: 10. 1016/j.neurobiolaging. 2008. 09. 018.
- [24] Foghsgaard L, Wissing D, Mauch D, et al. Cathepsin B acts as a dominant execution protease in tumor cell apoptosis induced by tumor necrosis factor [J]. J Cell Biol, 2001, 153 (5) : 999-1010. DOI: 10. 1083/jcb. 153. 5. 999.
- [25] McKenzie BA, Dixit VM, Power C. Fiery cell death: pyroptosis in the central nervous system [J]. Trends Neurosci, 2020, 43 (1) : 55 - 73. DOI: 10. 1016/j.tins. 2019. 11. 005.
- [26] Voet S, Srinivasan S, Lamkanfi M, et al. Inflammasomes in neuroinflammatory and neurodegenerative diseases [J/OL]. EMBO Mol Med, 2019, 11 (6) : e10248 [2024-03-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31015277>. DOI: 10. 15252/emmm. 201810248.
- [27] Tsuchiya K, Nakajima S, Hosojima S, et al. Caspase-1 initiates apoptosis in the absence of gasdermin D [J/OL]. Nat Commun, 2019, 10 (1) : 2091 [2024 - 03 - 16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31064994>. DOI: 10. 1038/s41467-019-09753-2.
- [28] He WT, Wan H, Hu L, et al. Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 β secretion [J]. Cell Res, 2015, 25 (12) : 1285-1298. DOI: 10. 1038/cr. 2015. 139.
- [29] Liu X, Zhang Z, Ruan J, et al. Inflammasome-activated gasdermin D causes pyroptosis by forming membrane pores [J]. Nature, 2016, 535 (7610) : 153-158. DOI: 10. 1038/nature18629.
- [30] Stavoe A, Holzbaur E. Autophagy in neurons [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2019, 35 : 477 - 500. DOI: 10. 1146/annurev-cellbio-100818-125242.
- [31] Pickford F, Masliah E, Britschgi M, et al. The autophagy-related protein beclin 1 shows reduced expression in early Alzheimer disease and regulates amyloid beta accumulation in mice [J]. J Clin Invest, 2008, 118 (6) : 2190-2199. DOI: 10. 1172/JCI33585.
- [32] Liu Y, Shoji-Kawata S, Sumpter RM Jr, et al. Autosis is a Na⁺, K⁺-ATPase-regulated form of cell death triggered by autophagy-inducing peptides, starvation, and hypoxia-ischemia [J/OL]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110 (51) : 20364-20371 [2024 - 03 - 18]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24277826>. DOI: 10. 1073/pnas. 1319661110.
- [33] Segawa K, Nagata S. An apoptotic 'eat me' signal: phosphatidylserine exposure [J]. Trends Cell Biol, 2015, 25 (11) : 639-650. DOI: 10. 1016/j.tcb. 2015. 08. 003.
- [34] Neher JJ, Emmrich JV, Fricker M, et al. Phagocytosis executes delayed neuronal death after focal brain ischemia [J/OL]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110 (43) : E4098-E4107 [2024-03-18]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24101459>. DOI: 10. 1073/pnas. 1308679110.
- [35] Fricker M, Neher JJ, Zhao JW, et al. MFG-E8 mediates primary phagocytosis of viable neurons during neuroinflammation [J]. J Neurosci, 2012, 32 (8) : 2657 - 2666. DOI: 10. 1523/JNEUROSCI. 4837-11. 2012.
- [36] Welser-Alves JV, Boroujerdi A, Tigges U, et al. Microglia use multiple mechanisms to mediate interactions with vitronectin; non-essential roles for the highly-expressed $\alpha v \beta 3$ and $\alpha v \beta 5$ integrins [J/OL]. J Neuroinflammation, 2011, 8 : 157 [2024 - 03 - 18]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22074485>. DOI: 10. 1186/1742-2094-8-157.
- [37] Neher JJ, Neniskyte U, Zhao JW, et al. Inhibition of microglial phagocytosis is sufficient to prevent inflammatory neuronal death [J]. J Immunol, 2011, 186 (8) : 4973 - 4983. DOI: 10. 4049/jimmunol. 1003600.
- [38] Summers DW, DiAntonio A, Milbrandt J. Mitochondrial dysfunction induces Sarm1-dependent cell death in sensory neurons [J]. J Neurosci, 2014, 34 (28) : 9338 - 9350. DOI: 10. 1523/JNEUROSCI. 0877-14. 2014.
- [39] Summers DW, Gibson DA, DiAntonio A, et al. SARM1-specific motifs in the TIR domain enable NAD⁺ loss and regulate injury-induced SARM1 activation [J/OL]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113 (41) : E6271-E6280 [2024 - 03 - 18]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27671644>. DOI: 10. 1073/pnas. 1601506113.
- [40] Mukherjee P, Woods TA, Moore RA, et al. Activation of the innate signaling molecule MAVS by bunyavirus infection upregulates the adaptor protein SARM1, leading to neuronal death [J]. Immunity, 2013, 38 (4) : 705-716. DOI: 10. 1016/j.immuni. 2013. 02. 013.
- [41] Sperandio S, de Belle I, Bredesen DE. An alternative, nonapoptotic form of programmed cell death [J/OL]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97 (26) : 14376 - 14381 [2024 - 03 - 18]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11121041>. DOI: 10. 1073/pnas. 97. 26. 14376.
- [42] Sperandio S, Poksay K, de Belle I, et al. Paraptosis: mediation by MAP kinases and inhibition by AIP-1/Alix [J]. Cell Death Differ, 2004, 11 (10) : 1066-1075. DOI: 10. 1038/sj.cdd. 4401465.
- [43] Weerasinghe P, Buja LM. Oncosis: an important non-apoptotic mode of cell death [J]. Exp Mol Pathol, 2012, 93 (3) : 302 - 308. DOI: 10. 1016/j.yexmp. 2012. 09. 018.
- [44] Schaeffer EL, da Silva ER, Novaes Bde A, et al. Differential roles of phospholipases A2 in neuronal death and neurogenesis: implications for Alzheimer disease [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2010, 34 (8) : 1381-1389. DOI: 10. 1016/j.pnpbp. 2010. 08. 019.
- [45] Sánchez-Migallón MC, Valiente-Soriano FJ, Nadal-Nicolás FM, et al. Apoptotic retinal ganglion cell death after optic nerve transection or crush in mice: delayed RGC loss with BDNF or a caspase 3 inhibitor [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2016, 57 (1) : 81-93. DOI: 10. 1167/iovs. 15-17841.
- [46] Yao Y, Xu Y, Liang JJ, et al. Longitudinal and simultaneous profiling of 11 modes of cell death in mouse retina post-optic nerve injury [J/OL]. Exp Eye Res, 2022, 222 : 109159 [2024 - 03 - 22]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35753433>. DOI: 10. 1016/j.exer. 2022. 109159.
- [47] Weishaupt JH, Diem R, Kermer P, et al. Contribution of caspase-8 to apoptosis of axotomized rat retinal ganglion cells in vivo [J]. Neurobiol Dis, 2003, 13 (2) : 124-135. DOI: 10. 1016/s0969-9961 (03) 00032-9.
- [48] Levkovitch-Verbin H, Makarovskiy D, Vander S. Comparison between axonal and retinal ganglion cell gene expression in various optic nerve injuries including glaucoma [J]. Mol Vis, 2013, 19 : 2526-2541.
- [49] Thomas CN, Thompson AM, Ahmed Z, et al. Retinal ganglion cells die by necroptotic mechanisms in a site-specific manner in a rat blunt ocular injury model [J/OL]. Cells, 2019, 8 (12) : 1517 [2024 - 03 - 22]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31779177>. DOI: 10. 3390/cells8121517.
- [50] Agudo M, Pérez-Marín MC, Sobrado-Calvo P, et al. Immediate upregulation of proteins belonging to different branches of the apoptotic cascade in the retina after optic nerve transection and optic nerve crush [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50 (1) : 424-431. DOI: 10. 1167/iovs. 08-2404.
- [51] Weise J, Isenmann S, Bähr M. Increased expression and activation of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) contribute to retinal ganglion cell death following rat optic nerve transection [J]. Cell Death Differ, 2001, 8 (8) : 801-807. DOI: 10. 1038/sj.cdd. 4400872.
- [52] Puyang Z, Feng L, Chen H, et al. Retinal ganglion cell loss is delayed following optic nerve crush in NLRP3 knockout mice [J/OL]. Sci Rep, 2016, 6 : 20998 [2024 - 03 - 22]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26893104>. DOI: 10. 1038/srep20998.

- [53] Hilla AM, Diekmann H, Fischer D. Microglia are irrelevant for neuronal degeneration and axon regeneration after acute injury [J]. *J Neurosci*, 2017, 37 (25) : 6113–6124. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0584-17.2017.
- [54] Nadal-Nicolás FM, Jiménez-López M, Salinas-Navarro M, et al. Microglial dynamics after axotomy-induced retinal ganglion cell death [J/OL]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14 (1) : 218 [2024-03-22]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29121969>. DOI: 10.1186/s12974-017-0982-7.
- [55] Fernandes KA, Mitchell KL, Patel A, et al. Role of SARM1 and DR6 in retinal ganglion cell axonal and somal degeneration following axonal injury [J]. *Exp Eye Res*, 2018, 171 : 54–61. DOI: 10.1016/j.exer.2018.03.007.
- [56] Kang LH, Zhang S, Jiang S, et al. Activation of autophagy in the retina after optic nerve crush injury in rats [J]. *Int J Ophthalmol*, 2019, 12 (9) : 1395–1401. DOI: 10.18240/ijo.2019.09.04.
- [57] Rodríguez-Muela N, Germain F, Mariño G, et al. Autophagy promotes survival of retinal ganglion cells after optic nerve axotomy in mice [J]. *Cell Death Differ*, 2012, 19 (1) : 162–169. DOI: 10.1038/cdd.2011.88.
- [58] Tse BC, Dvorianchikova G, Tao W, et al. Mitochondrial targeted therapy with elamipretide (MTP-131) as an adjunct to tumor necrosis factor inhibition for traumatic optic neuropathy in the acute setting [J/OL]. *Exp Eye Res*, 2020, 199 : 108178 [2024-03-24]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32758490>. DOI: 10.1016/j.exer.2020.108178.
- [59] Peng XQ, Dai SK, Li CP, et al. Loss of Arid1a promotes neuronal survival following optic nerve injury [J/OL]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14 : 131 [2024-03-24]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32670021>. DOI: 10.3389/fncel.2020.00131.
- [60] Nascimento-Dos-Santos G, Teixeira-Pinheiro LC, da Silva-Júnior AJ, et al. Effects of a combinatorial treatment with gene and cell therapy on retinal ganglion cell survival and axonal outgrowth after optic nerve injury [J]. *Gene Ther*, 2020, 27 (1–2) : 27–39. DOI: 10.1038/s41434-019-0089-0.
- [61] Fischer D. Hyper-IL-6: a potent and efficacious stimulator of RGC regeneration [J]. *Eye (Lond)*, 2017, 31 (2) : 173–178. DOI: 10.1038/eye.2016.234.
- [62] Leibinger M, Andreadaki A, Gobrecht P, et al. Boosting central nervous system axon regeneration by circumventing limitations of natural cytokine signaling [J]. *Mol Ther*, 2016, 24 (10) : 1712–1725. DOI: 10.1038/mt.2016.102.
- [63] Tönges L, Ostendorf T, Lamballe F, et al. Hepatocyte growth factor protects retinal ganglion cells by increasing neuronal survival and axonal regeneration in vitro and in vivo [J]. *J Neurochem*, 2011, 117 (5) : 892–903. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2011.07257.x.
- [64] Cen LP, Liang JJ, Chen JH, et al. AAV-mediated transfer of RhoA shRNA and CNTF promotes retinal ganglion cell survival and axon regeneration [J]. *Neuroscience*, 2017, 343 : 472–482. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2016.12.027.
- [65] Yang Y, Xu C, Chen Y, et al. Green tea extract ameliorates ischemia-induced retinal ganglion cell degeneration in rats [J/OL]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019 : 8407206 [2024-03-24]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31379990>. DOI: 10.1155/2019/8407206.
- [66] Cen LP, Liu YF, Ng TK, et al. Casein kinase-II inhibition promotes retinal ganglion cell survival and axonal regeneration [J]. *Exp Eye Res*, 2018, 177 : 153–159. DOI: 10.1016/j.exer.2018.08.010.
- [67] Piri N, Kwong JM, Gu L, et al. Heat shock proteins in the retina: focus on HSP70 and alpha crystallins in ganglion cell survival [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2016, 52 : 22–46. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2016.03.001.
- [68] Bray ER, Yungheer BJ, Levay K, et al. Thrombospondin-1 mediates axon regeneration in retinal ganglion cells [J]. *Neuron*, 2019, 103 (4) : 642–657. DOI: 10.1016/j.neuron.2019.05.044.
- [69] Noro T, Namekata K, Kimura A, et al. Spermidine promotes retinal ganglion cell survival and optic nerve regeneration in adult mice following optic nerve injury [J/OL]. *Cell Death Dis*, 2015, 6 (4) : e1720 [2024-03-24]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25880087>. DOI: 10.1038/cddis.2015.93.
- [70] Kashkouli MB, Yousefi S, Nojomi M, et al. Traumatic optic neuropathy treatment trial (TONTT) : open label, phase 3, multicenter, semi-experimental trial [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2018, 256 (1) : 209–218. DOI: 10.1007/s00417-017-3816-5.
- [71] Young HE, Mancini ML, Wright RP, et al. Mesenchymal stem cells reside within the connective tissues of many organs [J]. *Dev Dyn*, 1995, 202 (2) : 137–144. DOI: 10.1002/aja.1002020205.
- [72] Wagers AJ, Weissman IL. Plasticity of adult stem cells [J]. *Cell*, 2004, 116 (5) : 639–648. DOI: 10.1016/s0092-8674(04)00208-9.
- [73] Ng TK, Lam DS, Cheung HS. Prospects of stem cells for retinal diseases [J]. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*, 2013, 2 (1) : 57–63. DOI: 10.1097/APO.0b013e31827e3e5d.
- [74] Cen LP, Ng TK, Liang JJ, et al. Human periodontal ligament-derived stem cells promote retinal ganglion cell survival and axon regeneration after optic nerve injury [J]. *Stem Cells*, 2018, 36 (6) : 844–855. DOI: 10.1002/stem.2812.
- [75] Mead B, Logan A, Berry M, et al. Intravitreally transplanted dental pulp stem cells promote neuroprotection and axon regeneration of retinal ganglion cells after optic nerve injury [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54 (12) : 7544–7556. DOI: 10.1167/iovs.13-13045.
- [76] Mesentier-Louro LA, Zaverucha-do-Valle C, da Silva-Junior AJ, et al. Distribution of mesenchymal stem cells and effects on neuronal survival and axon regeneration after optic nerve crush and cell therapy [J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9 (10) : e110722 [2024-03-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25347773>. DOI: 10.1371/journal.pone.0110722.
- [77] Tan H, Kang X, Lu S, et al. The therapeutic effects of bone marrow mesenchymal stem cells after optic nerve damage in the adult rat [J]. *Clin Interv Aging*, 2015, 10 : 487–490. DOI: 10.2147/CIA.S75319.
- [78] Park M, Kim HC, Kim O, et al. Human placenta mesenchymal stem cells promote axon survival following optic nerve compression through activation of NF- κ B pathway [J/OL]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2018, 12 (3) : e1441–e1449 [2024-03-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28857477>. DOI: 10.1002/term.2561.
- [79] da Silva-Junior AJ, Mesentier-Louro LA, Nascimento-Dos-Santos G, et al. Human mesenchymal stem cell therapy promotes retinal ganglion cell survival and target reconnection after optic nerve crush in adult rats [J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12 (1) : 69 [2024-03-26]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33468246>. DOI: 10.1186/s13287-020-02130-7.
- [80] Li X, Zhao S, Wang L. Therapeutic effect of adipose-derived stem cell transplantation on optic nerve injury in rats [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17 (2) : 2529–2534. DOI: 10.3892/mmr.2017.8103.
- [81] 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.
- [82] Kwon H, Park M, Nepali S, et al. Hypoxia-preconditioned placenta-derived mesenchymal stem cells rescue optic nerve axons via differential roles of vascular endothelial growth factor in an optic nerve compression animal model [J]. *Mol Neurobiol*, 2020, 57 (8) : 3362–3375. DOI: 10.1007/s12035-020-01965-8.
- [83] Pan D, Chang X, Xu M, et al. UMSC-derived exosomes promote retinal ganglion cells survival in a rat model of optic nerve crush [J]. *J Chem Neuroanat*, 2019, 96 : 134–139. DOI: 10.1016/j.jchemneu.2019.01.006.
- [84] Mead B, Tomarev S. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells-derived exosomes promote survival of retinal ganglion cells through miRNA-dependent mechanisms [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6 (4) : 1273–1285. DOI: 10.1002/setm.16-0428.
- [85] Huang W, Wang C, Xie L, et al. Traditional two-dimensional mesenchymal stem cells (MSCs) are better than spheroid MSCs on promoting retinal ganglion cells survival and axon regeneration [J/OL]. *Exp Eye Res*, 2019, 185 : 107699 [2024-03-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31202832>. DOI: 10.1016/j.exer.2019.107699.
- [86] Mesentier-Louro LA, Teixeira-Pinheiro LC, Gubert F, et al. Long-term neuronal survival, regeneration, and transient target reconnection after optic nerve crush and mesenchymal stem cell transplantation [J/OL]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10 (1) : 121 [2024-03-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30995945>. DOI: 10.1186/s13287-019-1226-9.
- [87] 王姝婧, 邵正波. 骨髓间充质干细胞移植治疗青光眼视神经损伤研究进展 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2020, 38 (10) : 881–884. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200302-00131.
- Wang SJ, Shao ZB. Advances in bone marrow mesenchymal stem cell transplantation for treatment of glaucomatous optic neuropathy [J].



- Chin J Exp Ophthalmol, 2020, 38 (10) : 881 - 884. DOI: 10. 3760/ cma. j. cn115989-20200302-00131.
- [88] Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease [J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8 (9) : 726 - 736. DOI: 10. 1038/ nri2395.
- [89] Ching RC, Wiberg M, Kingham PJ. Schwann cell-like differentiated adipose stem cells promote neurite outgrowth via secreted exosomes and RNA transfer [J/OL]. Stem Cell Res Ther, 2018, 9 (1) : 266 [2024 - 03 - 28]. [http://www. ncbi. nlm. nih. gov/pubmed/ 30309388](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30309388). DOI: 10. 1186/s13287-018-1017-8.
- [90] Bucan V, Vaslaitis D, Peck CT, et al. Effect of exosomes from rat adipose-derived mesenchymal stem cells on neurite outgrowth and sciatic nerve regeneration after crush injury [J]. Mol Neurobiol, 2019, 56 (3) : 1812 - 1824. DOI: 10. 1007/s12035-018-1172-z.
- [91] Sharma P, Mesci P, Carroumeu C, et al. Exosomes regulate neurogenesis and circuit assembly [J/OL]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2019, 116 (32) : 16086 - 16094 [2024 - 03 - 28]. [http://www. ncbi. nlm. nih. gov/pubmed/ 31320591](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31320591). DOI: 10. 1073/pnas. 1902513116.
- [92] Zhang Y, Chopp M, Meng Y, et al. Effect of exosomes derived from multipotent mesenchymal stromal cells on functional recovery and neurovascular plasticity in rats after traumatic brain injury [J]. J Neurosurg, 2015, 122 (4) : 856 - 867. DOI: 10. 3171/2014. 11. JNS14770.
- [93] Johnson TV, DeKorver NW, Levasseur VA, et al. Identification of retinal ganglion cell neuroprotection conferred by platelet-derived growth factor through analysis of the mesenchymal stem cell secretome [J]. Brain, 2014, 137 (Pt 2) : 503 - 519. DOI: 10. 1093/brain/ awt292.
- [94] Tassoni A, Gutteridge A, Barber AC, et al. Molecular mechanisms mediating retinal reactive gliosis following bone marrow mesenchymal stem cell transplantation [J]. Stem Cells, 2015, 33 (10) : 3006 - 3016. DOI: 10. 1002/stem. 2095.
- [95] Lv XM, Liu Y, Wu F, et al. Human umbilical cord blood-derived stem cells and brain-derived neurotrophic factor protect injured optic nerve: viscoelasticity characterization [J]. Neural Regen Res, 2016, 11 (4) : 652 - 656. DOI: 10. 4103/1673-5374. 180753.
- [96] Weiss JN, Levy S, Benes SC. Stem cell ophthalmology treatment study (SCOTS) for retinal and optic nerve diseases: a case report of improvement in relapsing auto-immune optic neuropathy [J]. Neural Regen Res, 2015, 10 (9) : 1507 - 1515. DOI: 10. 4103/1673-5374. 165525.
- [97] Lu Z, Ye D, Qian L, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cell therapy on neuromyelitis optica [J]. Curr Neurovasc Res, 2012, 9 (4) : 250 - 255. DOI: 10. 2174/156720212803530708.
- [98] Ng TK, Chen CB, Xu C, et al. Attenuated regenerative properties in human periodontal ligament-derived stem cells of older donor ages with shorter telomere length and lower SSEA4 expression [J]. Cell Tissue Res, 2020, 381 (1) : 71 - 81. DOI: 10. 1007/s00441-020-03176-y.
- [99] Yuan J, Yu JX. Gender difference in the neuroprotective effect of rat bone marrow mesenchymal cells against hypoxia-induced apoptosis of retinal ganglion cells [J]. Neural Regen Res, 2016, 11 (5) : 846 - 853. DOI: 10. 4103/1673-5374. 182764.
- [100] Ng TK, Carballosa CM, Pelaez D, et al. Nicotine alters microRNA expression and hinders human adult stem cell regenerative potential [J]. Stem Cells Dev, 2013, 22 (5) : 781 - 790. DOI: 10. 1089/scd. 2012. 0434.
- [101] Choi JR, Pingguan-Murphy B, Wan Abas WA, et al. Impact of low oxygen tension on stemness, proliferation and differentiation potential of human adipose-derived stem cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 448 (2) : 218 - 224. DOI: 10. 1016/j. bbr. 2014. 04. 096.
- [102] Welford SM, Bedogni B, Gradin K, et al. HIF1alpha delays premature senescence through the activation of MIF [J]. Genes Dev, 2006, 20 (24) : 3366 - 3371. DOI: 10. 1101/gad. 1471106.
- [103] Park SM, Li Q, Ryu MO, et al. Preconditioning of canine adipose tissue-derived mesenchymal stem cells with deferroxamine potentiates anti-inflammatory effects by directing/reprogramming M2 macrophage polarization [J/OL]. Vet Immunol Immunopathol, 2020, 219 : 109973 [2024 - 03 - 30]. [http://www. ncbi. nlm. nih. gov/pubmed/ 317658 82](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31765882). DOI: 10. 1016/j. vetimm. 2019. 109973.
- [104] Zhang F, Peng W, Zhang J, et al. New strategy of bone marrow mesenchymal stem cells against oxidative stress injury via Nrf2 pathway: oxidative stress preconditioning [J/OL]. J Cell Biochem, 2019, 120 (12) : 19902 - 19914 [2024 - 03 - 30]. [http://www. ncbi. nlm. nih. gov/pubmed/ 31347718](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31347718). DOI: 10. 1002/jcb. 29298.
- [105] Yu Y, Yoo SM, Park HH, et al. Preconditioning with interleukin-1 beta and interferon-gamma enhances the efficacy of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells-based therapy via enhancing prostaglandin E2 secretion and indoleamine 2, 3-dioxygenase activity in dextran sulfate sodium-induced colitis [J]. J Tissue Eng Regen Med, 2019, 13 (10) : 1792 - 1804. DOI: 10. 1002/term. 2930.
- [106] Mortezaee K, Khanlarkhani N, Sabbaghzarian F, et al. Preconditioning with melatonin improves therapeutic outcomes of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in targeting liver fibrosis induced by CCl4 [J]. Cell Tissue Res, 2017, 369 (2) : 303 - 312. DOI: 10. 1007/ s00441-017-2604-1.
- [107] Goldenberg-Cohen N, Avraham-Lubin BC, Sadikov T, et al. Effect of coadministration of neuronal growth factors on neuroglial differentiation of bone marrow-derived stem cells in the ischemic retina [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55 (1) : 502 - 512. DOI: 10. 1167/iov. 13- 12223.
- [108] Yang Q, Leong SA, Chan KP, et al. Complex effect of continuous curcumin exposure on human bone marrow-derived mesenchymal stem cell regenerative properties through matrix metalloproteinase regulation [J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2021, 128 (1) : 141 - 153. DOI: 10. 1111/bcpt. 13477.
- [109] Bo H, He J, Wang X, et al. Danggui Buxue Tang promotes the adhesion and migration of bone marrow stromal cells via the focal adhesion pathway in vitro [J]. J Ethnopharmacol, 2019, 231 : 90 - 97. DOI: 10. 1016/j. jep. 2018. 11. 018.
- [110] Wang JY, Chen WM, Wen CS, et al. Du-Huo-Ji-Sheng-Tang and its active component Ligusticum chuanxiong promote osteogenic differentiation and decrease the aging process of human mesenchymal stem cells [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 198 : 64 - 72. DOI: 10. 1016/ j. jep. 2016. 12. 011.
- [111] Liao X, Li SH, Xie GH, et al. Preconditioning with low-level laser irradiation enhances the therapeutic potential of human adipose-derived stem cells in a mouse model of photoaged skin [J]. Photochem Photobiol, 2018, 94 (4) : 780 - 790. DOI: 10. 1111/php. 12912.
- [112] Anjos-Afonso F, Bonnet D. Nonhematopoietic/endothelial SSEA-1 + cells define the most primitive progenitors in the adult murine bone marrow mesenchymal compartment [J]. Blood, 2007, 109 (3) : 1298 - 1306. DOI: 10. 1182/blood-2006-06-030551.
- [113] Huang L, Liang J, Geng Y, et al. Directing adult human periodontal ligament-derived stem cells to retinal fate [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54 (6) : 3965 - 3974. DOI: 10. 1167/iov. 13-11910.
- [114] Ng TK, Yung JS, Choy KW, et al. Transdifferentiation of periodontal ligament-derived stem cells into retinal ganglion-like cells and its microRNA signature [J/OL]. Sci Rep, 2015, 5 : 16429 [2024 - 03 - 30]. [http://www. ncbi. nlm. nih. gov/pubmed/ 26549845](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26549845). DOI: 10. 1038/srep16429.
- [115] Huang Y, Ng TK, Chen CB, et al. Notch signaling activation enhances human adipose-derived stem cell retinal differentiation [J/OL]. Stem Cells Int, 2018, 2018 : 9201374 [2024 - 03 - 30]. [http://www. ncbi. nlm. nih. gov/pubmed/ 30410544](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30410544). DOI: 10. 1155/2018/9201374.
- [116] Suen HC, Qian Y, Liao J, et al. Transplantation of retinal ganglion cells derived from male germline stem cell as a potential treatment to glaucoma [J]. Stem Cells Dev, 2019, 28 (20) : 1365 - 1375. DOI: 10. 1089/scd. 2019. 0060.
- [117] Connick P, Kolappan M, Crawley C, et al. Autologous mesenchymal stem cells for the treatment of secondary progressive multiple sclerosis: an open-label phase 2a proof-of-concept study [J]. Lancet Neurol, 2012, 11 (2) : 150 - 156. DOI: 10. 1016/S1474-4422 (11) 70305-2.
- [118] 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:2024-05-19 修回日期:2024-11-24)

(本文编辑:张宇 骆世平)