

· 综 述 ·

组织工程视网膜的研究进展

刘文璐 吴畏 王丽强

解放军总医院第三医学中心眼科医学部, 北京 100853

刘文璐为南开大学医学院全职硕士研究生, 天津 300071

通信作者: 王丽强, Email: liqiangw301@163.com

【摘要】 组织工程视网膜是在体外将视网膜细胞与生物材料结合以构建类似于体内视网膜结构和功能的组织, 其主要包括视网膜种子细胞、支架材料及生长因子 3 个组成部分, 在视网膜疾病模型构建以及视网膜疾病移植治疗领域具有广泛的应用前景。近年来, 围绕组织工程视网膜色素上皮、组织工程神经视网膜及多种组织工程视网膜复合体的构建, 3D 生物打印、微加工及视网膜类器官培养等体外构建技术不断发展, 在细胞来源筛选、空间结构构建及组织层次整合等方面取得了一定进展, 为构建更高仿生度的组织工程视网膜提供了新的研究思路。本文就组织工程视网膜的研究进展、临床应用前景及技术难点进行综述。

【关键词】 组织工程; 视网膜; 视网膜色素上皮细胞; 光感受器

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20240826-00242

Research progress in tissue engineering retina

Liu Wenlu, Wu Wei, Wang Liqiang

Department of Ophthalmology, The Third Medical Center of Chinese People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100853, China

Liu Wenlu is a full-time master's student at Nankai University School of Medicine, Tianjin 300071, China

Corresponding author: Wang Liqiang, Email: liqiangw301@163.com

【Abstract】 Tissue engineering retina is the combination of retinal cells and biomaterials *in vitro* to construct tissues similar to the structure and function of the retina *in vivo*, which has broad application prospects for the construction of retinal disease models and transplantation for the treatment of retinal diseases. In recent years, focusing on the construction of tissue-engineered retinal pigment epithelium, tissue-engineered neural retina, and various tissue-engineered retinal complexes, *in vitro* fabrication technologies such as 3D bioprinting, microfabrication, and retinal organoids have been continuously advancing. These technologies have made certain progress in cell source selection, spatial structure construction, and tissue layer integration, thereby providing novel research ideas for the development of tissue-engineered retinas with higher bionic fidelity. The research progress, application and technical difficulties of tissue engineering retina are reviewed in this paper.

【Key words】 Tissue engineering; Retina; Retinal pigment epithelium; Photoreceptors

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20240826-00242

视网膜是由视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞、多种神经元和神经胶质细胞分层排列形成的精细结构, 负责将光信号转化为视觉电信号并进行传导, 对于视觉形成十分重要。组织工程视网膜是体外结合视网膜细胞与生物材料构建而成的与在体视网膜结构和功能相似的组织^[1], 其对于疾病模型的构建及视网膜疾病的治疗均具有重要意义, 受到了广泛关注。随着干细胞、类器官等技术的发展, 目前可将多能干细胞诱导分化为各种视网膜细胞, 为构建组织工程视网膜提供了丰富的种子细胞来源。另一方面, 随着静电纺丝、旋涂、喷涂、3D 生物打印等技术的兴起, 已制备出多种可用于构建组织工程视网膜的生物支架^[2]。组织工程视网膜研究已取得一定进展, 目前研究多集中于组织工程 RPE 和视网膜类器

官, 可初步在体外模拟视网膜组织结构, 但尚未构建出可反映真实视网膜结构层次的成熟组织模型。本文就组织工程视网膜的研究进展作一综述。

1 组织工程视网膜的组成

由于视网膜生理位置的特殊性, 很难获取人体视网膜组织用于研究及治疗, 因此视网膜模型的构建意义重大。动物模型是经典实验模型, 但与人体存在解剖及种属差异^[3], 难以实现临床转化。近年来, 随着组织工程技术的蓬勃发展, 组织工程视网膜的体外构建方法层出不穷, 为疾病建模及治疗提供了新思路; 其主要包括 3 个组成部分: 视网膜种子细胞、支架材料及生长因子。

1.1 种子细胞

理想的种子细胞应具备低成瘤性、高安全性、强再生力、无伦理争议及易实现标准化生产等特性。干细胞因其可无限增殖及多向分化的特征,已成为理想的细胞来源。目前研究多使用人胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs)和人诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cells, hiPSCs)^[4-5]作为视网膜细胞的种子库。

视网膜祖细胞(retinal progenitor cells, RPCs)是视网膜发育的起点,其可发育为视网膜神经前体细胞,进而分化成各类视网膜神经元细胞^[6]。其中,来源于胎儿神经视网膜的 RPCs 免疫原性和致瘤率相对较低^[7],而 hESCs 或 iPSCs 源性 RPCs 需经长时间、多步骤体外诱导获得。临床前研究及临床试验(NCT02464436)均发现,视网膜下腔移植的人 RPCs 可部分分化为功能性光感受器(photoreceptor, PR),并整合至视网膜组织,且不会对视网膜结构或视觉功能产生不利影响^[8]。

hESCs 来自人早期胚胎组织。研究已证实,在视网膜变性动物模型的视网膜下腔移植 ESCs 或其衍生的视网膜细胞,可一定程度上改善视觉功能^[9-10]。I/II 期临床试验(NCT01345006 和 NCT01344993)及 2023 年欧洲视网膜专家学会年会上所报道的中国首个 hESCs-RPE 细胞治疗干性年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)的临床研究结果,均证实了 hESCs-RPE 细胞移植作为该类疾病治疗策略的安全性和有效性。然而, hESCs 的使用仍存在伦理争议、免疫排斥及成瘤风险高等问题,需要进一步研究来解决。

由人成体细胞重编程产生的 hiPSCs 因其来源广泛、成瘤性低、无伦理争议等优点,成为视网膜疾病治疗的理想种子细胞之一。动物实验证实, iPSCs 可在体外诱导分化得到 PR,并表现出与天然 PR 相同的生理特性,在移植至动物模型眼内后可部分表达 PR 标志物,并改善视网膜电生理功能^[11-12]。但由于 hiPSCs 制备过程的特殊性,存在基因突变的潜在风险,限制了其临床应用。另一种具有应用潜能的种子细胞是间充质干细胞,其可分化为各类视网膜细胞,并能分泌生长因子作用于受损 RPE 细胞或 PR,但研究发现其存在分化率较低等问题^[13]。

1.2 支架材料

作为组织工程视网膜的另一要素,理想的支架材料应具备:(1)良好的生物相容性;(2)与视网膜组织相当的机械性能,以耐受手术操作;(3)可模拟 Bruch 膜的生物特性,以促进视网膜细胞附着、生长和增殖;(4)合适的尺寸及孔径等。关于材料降解性能对移植细胞存活及组织整合的影响则存在一定争议^[14]。现有支架材料主要分为天然生物材料、合成聚合物和复合支架材料。

天然生物材料获取简单,含多种细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分,有利于细胞黏附生长,在研究早期得到广泛应用。体外实验发现脱细胞组织材料,如晶状体囊膜、视网膜内界膜、角膜后弹力层等可支持 RPE 细胞生长及增殖,其中 RPE-羊膜复合体可增强 RPE 细胞的形态及功能特征,体内移植后可存活并保持 RPE 细胞单层状态^[15]。天然聚合物如透明

质酸、胶原蛋白、纤维蛋白等多被制备为水凝胶和薄膜,促进视网膜细胞附着、提高细胞活力^[2],且相较于脱细胞组织材料,其机械性能和降解能力相对可调控。但二者均存在供体限制、疾病传播、变态反应等潜在问题^[16],同时手术操作难度大,限制了其临床应用。

与天然材料相比,合成聚合物材料的物理性能可控性强、化学性质稳定、更易于实现批量生产^[17],在近年来的研究中广泛应用。目前应用于组织工程视网膜支架制备的合成聚合物材料包括聚对苯二甲酸乙二醇酯(polyethylene terephthalate, PET)、聚己内酯(polycaprolactone, PCL)、聚乳酸-羟基乙酸[poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]、聚癸二酸甘油酯[poly(glycerol sebacate), PGS]等^[18]。已有研究将这些材料制成人工 Bruch 膜,并证实其对视网膜细胞生长和增殖及结构功能的支持作用^[2]。其中 PCL 多孔支架孔径大,可改善 RPE 细胞的形态功能及基因表达^[19],但降解速率缓慢。PGS 降解性能良好,可促进 RPCs 向功能性视网膜神经元分化,更适用于 RPCs 的培养^[20]。

复合支架材料则是通过整合天然与合成材料,并根据需求调整成分及比例,应用前景更加广阔。Majidnia 等^[21]利用静电纺丝技术制得人羊膜/PCL 超薄多孔纤维膜支架,弥补了羊膜力学性能稳定性差、手术难度大等不足,并可维持人视网膜色素上皮细胞系 ARPE-19 细胞较高的生长及增殖速率。

1.3 生长因子

研究者采用结合生长因子的生物材料制备支架,通过生长因子的缓释以改善种子细胞的存活及功能^[22]。近年来,随着 3D 生物打印技术及水凝胶等新型生物材料在该领域的应用,所构建的组织工程视网膜的结构及生长微环境更接近生理状态,进一步促进了细胞生长因子的内源性产生和释放。

2 组织工程视网膜的体外构建

2.1 组织工程 RPE

RPE 是位于神经视网膜层与 Bruch 膜之间、呈铺路石样排列的单层色素细胞层,对视网膜生理结构及功能维持至关重要。RPE 细胞悬液移植作为 RPE 层损伤修复的方式之一,其操作简单、组织创伤小,但由于缺乏组织特异 ECM 及正常 Bruch 膜支持,存在移植细胞聚集成团、存活率及整合率低等问题,易引发免疫排斥反应、增生性玻璃体视网膜病变等并发症^[23]。为保留 ECM 以提供适宜的生长微环境,研究人员将关注点转向组织工程 RPE 的构建。

2.1.1 无支架组织工程 RPE 细胞片 无支架组织工程细胞片技术在 2004 年首次被提出^[24],是通过调整外界条件(如温度、光照、pH 等),使在敏感性基底材料上培养的细胞单层自然脱附,从而获取完整细胞片层的技术。这一技术保留了完整的 ECM,避免了支架植入所引起的免疫排斥或组织纤维化等问题,可在一定程度上提高细胞移植的治疗效果。

Kubota 等^[25]采用聚(N-异丙基丙烯酸酰胺)制备的温度敏感性培养皿以制备 RPE 细胞片,发现在培养基中添加转化生长因子- β 2 时,可获得完整且连续的无支架 RPE 细胞薄片。

Kamao 等^[26]利用 I 型胶原酶消化,研发了一种获取无支架 hiPSCs-RPE 单层细胞片的方案,该细胞片结构及功能特性与天然 RPE 细胞相似,且在移植后未出现肿瘤及免疫排斥反应。在前期研究基础上,该团队开展了世界首例无支架 iPSCs-RPE 细胞片视网膜下移植治疗黄斑变性的临床试验(UMIN000011929),术后随访未发现疾病进展及不良反应的发生,同时研究人员还观察到移植面积呈先增加后稳定的变化趋势^[27]。

尽管研究显示无支架组织工程 RPE 细胞片具有一定优势,但由于缺乏支架支持、机械强度欠佳等局限性,增大了眼内移植的操作难度,植片存在折叠或断裂的可能,影响移植治疗效果。为解决该问题,Al-Ani 等^[28]将细胞悬液的易递送性与细胞片的优越性能相结合,在微孔中构建出一种尺寸可控、可表达关键分子标志物的无支架 RPE 微组织,以提高 RPE 细胞移植的存活率和整合率。

2.1.2 有支架组织工程 RPE 细胞片 研究发现,生物材料支架可模拟生理 Bruch 膜特性,为 RPE 细胞的附着、生长和增殖提供机械支持和物理空间^[29]。同时,有支架 RPE 细胞片可更好地整合于宿主视网膜,对促进细胞存活有重要意义。

天然生物材料可作为人造 Bruch 膜支架材料,为 RPE 细胞提供具有良好生物相容性的支架,有利于 RPE 细胞的黏附生长,并为其增殖、分化提供营养,但均匀性和机械强度难以控制,限制了其广泛应用^[30]。相较于天然材料,合成聚合物材料的理化性质可调节,并可实现批量生产,在当前研究中应用更加广泛。基于 PET 膜的组织工程 hESC-RPE 复合体移植治疗 AMD 已完成 I 期临床试验^[31],2 例接受该复合体视网膜下腔移植的湿性 AMD 患者,在仅局部使用免疫抑制剂的情况下,视力分别提高 29 和 21 个字母,且此疗效稳定维持了 12 个月,证明该方法具有可行性及安全性。Kashani 等^[32]开展了基于超薄聚对二甲苯膜 hESC-RPE 复合体治疗 AMD 的 1/2a 期临床试验(NCT02590692),结果显示,在 4 例 AMD 受试者中,随访 1 年内移植眼均未出现进行性视力下降,其中 1 例受试者移植眼视力有所提升,为该复合体的有效性及安全性提供了临床数据支持。2020 年,美国国家眼科研究所开展了一项临床试验(NCT04339764),旨在评估基于 PLGA 支架的 hiPSCs-RPE 细胞片体内移植的可行性及安全性,截至目前,该项临床试验仍处于进行阶段。

2.2 组织工程神经视网膜

神经视网膜是光信号的加工及运输站,光信号在 PR 内转换为电信号,并通过双极细胞、视网膜神经节细胞等多种细胞将动作电位传输至大脑视觉中枢形成视觉,是视网膜生理功能发挥的重要基础,其病变可导致多种致盲性眼病。因此,组织工程神经视网膜的体外构建已成为目前的研究热点之一。

神经元细胞存活和再生能力十分有限,细胞疗法可作为补充或替代受损细胞的直接方法。间充质干细胞、iPSCs 可在体外诱导分化为各类视网膜神经元细胞,并表现出与在体细胞相同的生理特性及功能,提供了种子细胞库。已有研究开发出促进 PR 生长、分化及成熟的生物材料薄膜支架,如丝素蛋白联合

聚 L-丙交酯-己内酯^[33]、PCL^[34]等均可作为组织工程 PR 的支架材料,但此类支架存在细胞极性差、无法定向垂直生长等问题。为解决上述问题,构建更接近体内生理结构的组织工程 PR,马振强教授团队分别于 2018、2021 和 2023 年利用聚二甲硅氧烷开发了“酒杯状”、“冰格样”、“蜂窝状”可生物降解聚合物支架^[35-37],促进 PR 的有效捕获及精准递送,同时定向引导轴突延伸,进而在体外实现 PR 的垂直生长及极性形成。该团队通过不断优化支架形状,提高其有效细胞载荷量,支持多种细胞空间结合,为视网膜多层结构的体外构建提供可能。

Lorber 等^[38]创新性采用喷墨打印技术,成功打印了大鼠视网膜神经节细胞和神经胶质细胞,且细胞增殖及活力未受到明显影响,并保留了神经胶质细胞促进神经节细胞神经突生长的作用。有研究发现,神经营养因子可促进神经节细胞轴突的生长及再生^[39];基于此,Kador 等^[40]采用热喷墨打印技术,在可降解支架上打印大鼠视网膜神经节细胞,并在培养基中添加相关神经营养因子,结果显示神经节细胞活性及电生理功能良好,并在支架引导下呈现轴突的径向延伸。该研究将 3D 打印精准定位与生物支架定向诱导功能相结合,为组织工程神经视网膜结构的体外重建提供了新思路。

2.3 组织工程 RPE-感光细胞复合体

视网膜再生过程中功能的恢复离不开各类型视网膜细胞的定向排列与相互作用,其中 RPE-感光细胞复合体结构对视功能的维持至关重要。在视网膜退行性疾病早期,存在 RPE 细胞体内移植以改善视力的可能;而在 PR 广泛受损的疾病晚期,通过联合 PR 移植填补视网膜损伤区域,以期重建视网膜功能。研究也表明,在视网膜退行性疾病晚期,移植处于早期有丝分裂阶段的 RPE-感光细胞的治疗效果最好^[41]。因此,构建组织工程 RPE-感光细胞复合体或对损伤视网膜功能的恢复有重要意义。

研究者在前期通过细胞接种共培养的方式构建 RPE-感光细胞复合体模型^[42],并验证了其在建立视网膜空间结构中起重要作用。Mitrousis 等^[43]通过水凝胶实现了 hESC-RPE 细胞和小鼠光感受器祖细胞的联合移植,验证了 2 种细胞共同移植对视功能的改善效果优于其中任一细胞的单独移植。随后有研究发现,视网膜类器官可作为感光前体细胞的种子库,但其中并未观察到成熟的 RPE 单层^[44]。鉴于此,Thomas 等^[45]利用海藻酸钠作为生物黏合剂,将视网膜类器官感光祖细胞片与基于超薄聚对二甲苯膜的 RPE 细胞片相黏合,构成视网膜贴片,并在移植后观察到移植物的长期存活和视功能改善。但也有研究指出,视网膜类器官移植后玫瑰花结的形成会影响其长期存活及层状结构的维持、视觉功能的稳定^[46]。

为优化上述设计,研究者将研究方向转向精度高度可控的 3D 打印技术。Shi 等^[47-48]利用基于微阀的 3D 生物打印技术,先后在玻璃基板和 PCL 薄膜上打印并构建出 ARPE-19 细胞单层;随后在其上方再次打印负载 Y79 细胞的海藻酸盐/pluronic 水凝胶,发现 3D 生物打印可支持高质量、均匀 ARPE-19 细胞单层的构建,且该水凝胶层中的 Y79 细胞可维持良好形态并实现有效增殖。Masacli 等^[49]采用喷墨生物打印技术,在模拟

Bruch 膜的甲基丙烯酸酯明胶薄膜表面,先后分层打印 RPE 细胞和原代 PR,以构建视网膜双细胞片模型,结果表明,这 2 种细胞在层状结构中定位良好,且细胞形态、活性及相关蛋白表达未受明显影响,并能稳定发挥生理功能。

2.4 组织工程 RPE-脉络膜复合体

随着对 AMD 病理机制研究的深入,研究者关注到为外层视网膜提供血供的脉络膜。由 RPE 紧密连接、Bruch 膜和脉络膜毛细血管网所组成的外血-视网膜屏障(outer blood-retinal barrier, oBRB)可维持视网膜稳态,该屏障功能破坏会促使 RPE 细胞异常分泌血管内皮生长因子,进而导致脉络膜新生血管形成,这是此类退行性疾病的共同病理基础,因此构建包含脉络膜层的组织工程视网膜模型具有良好的研究价值。

Djigo 等^[50]在脉络膜基质成纤维细胞片叠加形成的无支架组织工程脉络膜基质表面接种 RPE 细胞、血管内皮细胞和脉络膜黑色素细胞,以建立与生理结构相似的模型;同时该模型的成功构建验证了功能性 RPE 单层及与体内脉管系统相似的管腔样组织的形成,为脉络膜-视网膜疾病病理生理机制的研究提供了可靠模型。也有研究采用高分子合成材料或生物薄膜来构建 RPE-脉络膜复合体 3D 模型,Dujardin 等^[51]通过冷冻干燥技术制备了双面微结构多糖膜,以同时支持 RPE 单层及脉络膜血管网络的形成,为 oBRB 组织建模提供了一种具有良好生理相关性的生物材料;Song 等^[52]利用 3D 生物打印技术在 PLGA 静电纺丝可降解支架底部打印内皮细胞、周细胞和成纤维细胞以形成毛细血管床,在支架顶部接种 iPSCs-RPE 细胞,验证了极化 RPE 单层、Bruch 膜样结构及功能管腔化脉络膜毛细血管的形成,成功在体外构建了功能性 3D-oBRB 复合体模型,为更全面了解 AMD 病理、构建相关疾病及药物筛选模型提供研究基础。

为进一步模拟生理微环境,研究者将目光转向器官芯片技术,该技术将微流控技术与组织工程相结合,在电子芯片载体上构建组织工程器官模型,并通过建立连续灌流系统模拟生理微环境^[53]。Chung 等^[54]将人脐静脉内皮细胞与纤维蛋白水凝胶混合后注入中心通道,并在侧通道接种成纤维细胞,以模拟具有灌注功能的三维脉络膜血管网络结构,同时将 RPE 细胞接种于水凝胶侧壁形成细胞单层,在体外成功构建了 RPE-脉络膜复合体模型。Achberger 等^[55]在此基础上,进一步将视网膜神经元细胞或其他主要视网膜细胞类型与 oBRB 芯片相整合,进一步优化了体外组织工程视网膜的结构。

2.5 视网膜类器官

视网膜类器官是指在 3D 培养条件下,干细胞或祖细胞经程序诱导后所获得的具有功能视网膜样结构的层状囊泡,并以类似于体内发育的时空过程进行自我组织^[56]。Eiraku 等^[57]发现小鼠 ESCs 可在体外 3D 培养条件下自主形成视杯结构,并从 hESCs 衍生得到包含视网膜神经元细胞、神经胶质细胞和 PR 等的多层视网膜组织^[58];Zhong 等^[59]发现从 hiPSCs 源性视网膜类器官中分离的 PR 能够形成类似于体内成熟 PR 的外节结构,并对不同波长及强度的光产生反应。多项研究也通过构建患者来源及基因编辑的视网膜类器官,以建立相关疾病模型用

于药物筛选及基因疗法等应用研究^[60]。

视网膜类器官中神经元间突触连接网络的形成是其用于疾病治疗的关键。Ludwig 等^[61]观察到加入的狂犬病毒可在 iPSCs 源性视网膜类器官分离培养的各层细胞间迁徙,表明从视网膜类器官分离的细胞可形成功能性突触并表现出正常功能。与此同时,Hirami 等^[62]也在 2023 年报告了世界首例视网膜类器官人体移植的试验结果,研究者将异基因 iPSCs 源性视网膜类器官片移植到 2 例晚期视网膜色素变性患者的视网膜下腔,结果显示移植片在 2 年随访期稳定存活,未发生严重不良事件,且治疗眼较未治疗眼的视觉功能恶化进展更慢,该研究为视网膜类器官的临床治疗应用提供了实践基础。

综上所述,视网膜类器官因其细胞来源广泛、伦理争议较少等优点,在组织工程视网膜领域中有较大发展潜力。但其仍存在以下问题:首先,视网膜类器官的诱导程序繁琐、耗时较长,难以实现大规模生产;其次,视网膜类器官缺少脉管系统,在长期培养过程中内层细胞会逐渐退化,难以维持其发挥正常功能;最重要的是,诱导方案、细胞来源等均会影响视网膜类器官大小、各类细胞占比及 3D 结构^[63],导致其在分化过程中存在变异性、低重复性。为提高视网膜类器官的适用性,可将视网膜类器官与血管内皮细胞、RPE 细胞等共培养,或采用生物材料支架、器官芯片、生物打印等技术手段,缩小类器官与正常视网膜之间的差距,以期能够替代视网膜用于体内外研究^[64]。

3 存在的问题及未来研究方向

近年来,组织工程视网膜领域备受关注,纵观其发展,是一个从二维培养体系到三维培养体系,从单层细胞种植到多层细胞叠加,逐步构建视网膜多层生理结构的过程。hESCs 和 hiPSCs 已成为当前研究常用的视网膜种子细胞库;支架材料方面,将具有良好生物相容性及降解性的天然生物材料,与机械性能可调控的合成聚合物相结合,可进一步推动高性能支架的创新研发;3D 生物打印、视网膜类器官、器官芯片等技术均可作为构建组织工程视网膜提供重要的研究平台和工具,成为当前的研究热点。

同时,组织工程视网膜研究领域也仍存在许多挑战,例如构建与在体视网膜多层结构及生理功能高度相似的人工视网膜、实现体内移植后不发生免疫排斥反应、促进与宿主组织有效融合且发挥正常功能等。随着生物医学工程技术的不断创新及与多学科合作的推进,载体支架材料的研究日益深入,不仅能进一步提高种子细胞在体内的活性及功能,诱导视网膜细胞间微观生理结构的形成,还能促进组织工程视网膜的临床转化进程。未来,组织工程视网膜的发展方向将集中于制备技术的改进、体内移植效果和长期稳定性的提高等方面,同时探索神经连接机制和信号传导机制,推动该技术广泛应用于基础研究及临床治疗,进而为视网膜疾病机制研究、靶向治疗研发等方面提供支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Hunsberger J, Harrysson O, Shirwaiker R, et al. Manufacturing road

- map for tissue engineering and regenerative medicine technologies[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(2): 130–135. DOI: 10.5966/sctm.2014-0254.
- [2] Hunt NC, Hallam D, Chichagova V, et al. The application of biomaterials to tissue engineering neural retina and retinal pigment epithelium[J/OL]. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7(23): e1800226 [2025-03-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30175520/>. DOI: 10.1002/adhm.201800226.
- [3] Yu J, Yin Y, Leng Y, et al. Emerging strategies of engineering retinal organoids and organoid-on-a-chip in modeling intraocular drug delivery: current progress and future perspectives[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2023, 197: 114842. DOI: 10.1016/j.addr.2023.114842.
- [4] Huang SS. Future vision 2020 and beyond-5 critical trends in eye research[J]. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila)*, 2020, 9(3): 180–185. DOI: 10.1097/APO.0000000000000299.
- [5] Kannabiran C, Mariappan I. Therapeutic avenues for hereditary forms of retinal blindness[J]. *J Genet*, 2018, 97(1): 341–352.
- [6] Lu Y, Shiau F, Yi W, et al. Single-cell analysis of human retina identifies evolutionarily conserved and species-specific mechanisms controlling development[J]. *Dev Cell*, 2020, 53(4): 473–491. e9. DOI: 10.1016/j.devcel.2020.04.009.
- [7] Lin C, Ekblad-Nordberg Å, Michaëlsson J, et al. *In vitro* study of human immune responses to hyaluronic acid hydrogels, recombinant spidroids and human neural progenitor cells of relevance to spinal cord injury repair[J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1713. DOI: 10.3390/cells10071713.
- [8] Liu Y, Chen SJ, Li SY, et al. Long-term safety of human retinal progenitor cell transplantation in retinitis pigmentosa patients[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 209. DOI: 10.1186/s13287-017-0661-8.
- [9] Klymenko V, González Martínez OG, Zarbin MA. Recent progress in photoreceptor cell-based therapy for degenerative retinal disease[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2024, 13(4): 332–345. DOI: 10.1093/stcltm/szae005.
- [10] Yang YP, Hsiao YJ, Chang KJ, et al. Pluripotent stem cells in clinical cell transplantation: focusing on induced pluripotent stem cell-derived RPE cell therapy in age-related macular degeneration[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(22): 13794. DOI: 10.3390/ijms232213794.
- [11] Singh R, Cuzzani O, Binette F, et al. Pluripotent stem cells for retinal tissue engineering: current status and future prospects[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2018, 14(4): 463–483. DOI: 10.1007/s12015-018-9802-4.
- [12] Salas A, Duarri A, Fontrodona L, et al. Cell therapy with hiPSC-derived RPE cells and RPCs prevents visual function loss in a rat model of retinal degeneration[J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2021, 20: 688–702. DOI: 10.1016/j.omtm.2021.02.006.
- [13] Tuekprakhon A, Sangkitporn S, Trinavarat A, et al. Intravitreal autologous mesenchymal stem cell transplantation: a non-randomized phase I clinical trial in patients with retinitis pigmentosa[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 52. DOI: 10.1186/s13287-020-02122-7.
- [14] Sasseville S, Karami S, Tchatchouang A, et al. Biomaterials used for tissue engineering of barrier-forming cell monolayers in the eye[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2023, 11: 1269385. DOI: 10.3389/fbioe.2023.1269385.
- [15] Zhang S, Ye K, Gao G, et al. Amniotic membrane enhances the characteristics and function of stem cell-derived retinal pigment epithelium sheets by inhibiting the epithelial-mesenchymal transition[J]. *Acta Biomater*, 2022, 151: 183–196. DOI: 10.1016/j.actbio.2022.07.064.
- [16] Fénelon M, Catros S, Meyer C, et al. Applications of human amniotic membrane for tissue engineering[J]. *Membranes (Basel)*, 2021, 11(6): 387. DOI: 10.3390/membranes11060387.
- [17] Oleksy M, Dynarowicz K, Aebischer D. Advances in biodegradable polymers and biomaterials for medical applications-a review[J]. *Molecules*, 2023, 28(17): 6213. DOI: 10.3390/molecules28176213.
- [18] Chee PL, Hao M, Liu G, et al. Functional scaffolds design strategies for retinal repair and regeneration[J]. *Mater Today Bio*, 2025, 35: 102283. DOI: 10.1016/j.mtbio.2025.102283.
- [19] McHugh KJ, Tao SL, Saint-Geniez M. Porous poly(ϵ -caprolactone) scaffolds for retinal pigment epithelium transplantation[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(3): 1754–1762. DOI: 10.1167/iov.13-12833.
- [20] Wang M, Lei D, Liu Z, et al. A poly(glycerol sebacate) based photo/thermo dual curable biodegradable and biocompatible polymer for biomedical applications[J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2017, 28(15): 1728–1739. DOI: 10.1080/09205063.2017.1348927.
- [21] Majidnia E, Ahmadian M, Salehi H, et al. Development of an electrospun poly(ϵ -caprolactone)/collagen-based human amniotic membrane powder scaffold for culturing retinal pigment epithelial cells[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 6469. DOI: 10.1038/s41598-022-09957-5.
- [22] Ma F, Zhu T, Xu F, et al. Neural stem/progenitor cells on collagen with anchored basic fibroblast growth factor as potential natural nerve conduits for facial nerve regeneration[J]. *Acta Biomater*, 2017, 50: 188–197. DOI: 10.1016/j.actbio.2016.11.064.
- [23] Guo Q, Zeng YX, Huang SD, et al. Organoid-derived human retinal progenitor cells promote early dedifferentiation of Müller glia in Royal College of Surgeons rats[J]. *Int J Ophthalmol*, 2023, 16(4): 483–498. DOI: 10.18240/ijo.2023.04.01.
- [24] Yamato M, Okano T. Cell sheet engineering[J]. *Mater Today*, 2004, 7(5): 42–47. DOI: 10.1016/S1369-7021(04)00234-2.
- [25] Kubota A, Nishida K, Yamato M, et al. Transplantable retinal pigment epithelial cell sheets for tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(19): 3639–3644. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.02.018.
- [26] Kamao H, Mandai M, Okamoto S, et al. Characterization of human induced pluripotent stem cell-derived retinal pigment epithelium cell sheets aiming for clinical application[J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 2(2): 205–218. DOI: 10.1016/j.stemcr.2013.12.007.
- [27] Souied E, Pulido J, Staurengi G. Autologous induced stem-cell-derived retinal cells for macular degeneration[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(8): 792. DOI: 10.1056/NEJMc1706274.
- [28] Al-Ani A, Toms D, Sunba S, et al. Scaffold-free retinal pigment epithelium microtissues exhibit increased release of PEDF[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 11317. DOI: 10.3390/ijms222111317.
- [29] Li J, Chen M, Fan X, et al. Recent advances in bioprinting techniques: approaches, applications and future prospects[J]. *J Transl Med*, 2016, 14: 271. DOI: 10.1186/s12967-016-1028-0.
- [30] 魏莺, 马翔. RPE 组织工程复合体中人造 Bruch 膜的生物材料研究进展[J]. *中华实验眼科杂志*, 2025, 43(3): 276–282. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20220510-00204.
- Wei Y, Ma X. Progress in biomaterials of artificial Bruch membrane in RPE tissue engineering complex[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2025, 43(3): 276–282. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20220510-00204.
- [31] da Cruz L, Fynes K, Georgiadis O, et al. Phase I clinical study of an embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium patch in age-related macular degeneration[J]. *Nat Biotechnol*, 2018, 36(4): 328–337. DOI: 10.1038/nbt.4114.
- [32] Kashani AH, Lebkowski JS, Rahhal FM, et al. A bioengineered retinal pigment epithelial monolayer for advanced, dry age-related macular degeneration[J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(435): eaao4097. DOI: 10.1126/scitranslmed.aao4097.
- [33] Zhang D, Ni N, Chen J, et al. Electrospun SF/PLCL nanofibrous membrane: a potential scaffold for retinal progenitor cell proliferation and differentiation[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 14326. DOI: 10.1038/srep14326.
- [34] Lawley E, Baranov P, Young M. Hybrid vitronection-mimicking polycaprolactone scaffolds for human retinal progenitor cell differentiation and transplantation[J]. *J Biomater Appl*, 2015, 29(6): 894–902. DOI: 10.1177/0885328214547751.
- [35] 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 [2025-03-26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30175520/>.



- nih.gov/30109736/. DOI: 10.1002/adma.201803550.
- [36] Lee IK, Ludwig AL, Phillips MJ, et al. Ultrathin micromolded 3D scaffolds for high-density photoreceptor layer reconstruction [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(17): eabf0344. DOI: 10.1126/sciadv.abf0344.
- [37] Lee IK, Xie R, Luz-Madrigal 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.
- [38] Lorber B, Hsiao WK, Hutchings IM, et al. Adult rat retinal ganglion cells and glia can be printed by piezoelectric inkjet printing [J]. *Biofabrication*, 2014, 6(1): 015001. DOI: 10.1088/1758-5082/6/1/015001.
- [39] Leibinger M, Müller A, Andreadaki A, et al. Neuroprotective and axon growth-promoting effects following inflammatory stimulation on mature retinal ganglion cells in mice depend on ciliary neurotrophic factor and leukemia inhibitory factor [J]. *J Neurosci*, 2009, 29(45): 14334–14341. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2770-09.2009.
- [40] Kador KE, Grogan SP, Dorthé EW, et al. Control of retinal ganglion cell positioning and neurite growth: combining 3D printing with radial electrospun scaffolds [J]. *Tissue Eng Part A*, 2016, 22(3–4): 286–294. DOI: 10.1089/ten.TEA.2015.0373.
- [41] Reh TA. Photoreceptor transplantation in late stage retinal degeneration [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57(5): ORSFg1–7. DOI: 10.1167/iops.15-17659.
- [42] German OL, Buzzi E, Rotstein NP, et al. Retinal pigment epithelial cells promote spatial reorganization and differentiation of retina photoreceptors [J]. *J Neurosci Res*, 2008, 86(16): 3503–3514. DOI: 10.1002/jnr.21813.
- [43] Mitrousis N, Hacibekiroglu S, Ho MT, et al. Hydrogel-mediated co-transplantation of retinal pigmented epithelium and photoreceptors restores vision in an animal model of advanced retinal degeneration [J]. *Biomaterials*, 2020, 257: 120233. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2020.120233.
- [44] Singh RK, Nasonkin IO. Limitations and promise of retinal tissue from human pluripotent stem cells for developing therapies of blindness [J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 179. DOI: 10.3389/fncel.2020.00179.
- [45] Thomas BB, Lin B, Martinez-Camarillo JC, et al. Co-grafts of human embryonic stem cell derived retina organoids and retinal pigment epithelium for retinal reconstruction in immunodeficient retinal degenerate royal college of surgeons rats [J]. *Front Neurosci*, 2021, 15: 752958. DOI: 10.3389/fnins.2021.752958.
- [46] Assawachananont J, Mandai M, Okamoto S, et al. Transplantation of embryonic and induced pluripotent stem cell-derived 3D retinal sheets into retinal degenerative mice [J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 2(5): 662–674. DOI: 10.1016/j.stemcr.2014.03.011.
- [47] Shi P, Edgar T, Yeong WY, et al. Hybrid three-dimensional (3D) bioprinting of retina equivalent for ocular research [J]. *Int J Bioprint*, 2017, 3(2): 008. DOI: 10.18063/IJB.2017.02.008.
- [48] Shi P, Tan Y, Yeong WY, et al. A bilayer photoreceptor-retinal tissue model with gradient cell density design: a study of microvalve-based bioprinting [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2018, 12(5): 1297–1306. DOI: 10.1002/term.2661.
- [49] Masaeli E, Forster V, Picaud S, et al. Tissue engineering of retina through high resolution 3-dimensional inkjet bioprinting [J]. *Biofabrication*, 2020, 12(2): 025006. DOI: 10.1088/1758-5090/ab4a20.
- [50] Djigo AD, Bérubé J, Landreville S, et al. Characterization of a tissue-engineered choroid [J]. *Acta Biomater*, 2019, 84: 305–316. DOI: 10.1016/j.actbio.2018.11.033.
- [51] Dujardin C, Habeler W, Aprile P, et al. Engineered micro-structured biomimetic material for modelling the outer blood-retinal barrier [J]. *Biomaterials*, 2025, 322: 123357. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2025.123357.
- [52] Song MJ, Quinn R, Nguyen E, et al. Bioprinted 3D outer retina barrier uncovers RPE-dependent choroidal phenotype in advanced macular degeneration [J]. *Nat Methods*, 2023, 20(1): 149–161. DOI: 10.1038/s41592-022-01701-1.
- [53] Gensheimer T, Veerman D, van Oosten EM, et al. Retina-on-chip: engineering functional *in vitro* models of the human retina using organ-on-chip technology [J]. *Lab Chip*, 2025, 25(5): 996–1014. DOI: 10.1039/d4lc00823e.
- [54] Chung M, Lee S, Lee BJ, et al. Wet-AMD on a chip: modeling outer blood-retinal barrier *in vitro* [J]. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7(2): 1700028. DOI: 10.1002/adhm.201700028.
- [55] Achberger K, Probst C, Haderspeck J, et al. Merging organoid and organ-on-a-chip technology to generate complex multi-layer tissue models in a human retina-on-a-chip platform [J/OL]. *Elife*, 2019, 8: e46188 [2025–03–11]. <https://elifesciences.org/articles/46188>. DOI: 10.7554/eLife.46188.
- [56] Yao Q, Cheng S, Pan Q, et al. Organoids: development and applications in disease models, drug discovery, precision medicine, and regenerative medicine [J/OL]. *MedComm* (2020), 2024, 5(10): e735 [2025–03–26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39309690/>. DOI: 10.1002/mco2.735.
- [57] Eiraku M, Takata N, Ishibashi H, et al. Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture [J]. *Nature*, 2011, 472(7341): 51–56. DOI: 10.1038/nature09941.
- [58] Okuda S, Takata N, Hasegawa Y, et al. Strain-triggered mechanical feedback in self-organizing optic-cup morphogenesis [J]. *Sci Adv*, 2018, 4(11): eaau1354. DOI: 10.1126/sciadv.aau1354.
- [59] Zhong X, Gutierrez C, Xue T, et al. Generation of three-dimensional retinal tissue with functional photoreceptors from human iPSCs [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4047. DOI: 10.1038/ncomms5047.
- [60] 谢林瑶, 陈建苏, 郭永龙. 基于类器官的视网膜色素变性疾病模型构建及研究进展 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2024, 42(5): 473–477. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20230808-00061.
- Xie LY, Chen JS, Guo YL. Construction and research progress of organoid models for retinitis pigmentosa [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2024, 42(5): 473–477. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20230808-00061. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20230808-00061.
- [61] Ludwig AL, Mayerl SJ, Gao Y, et al. Re-formation of synaptic connectivity in dissociated human stem cell-derived retinal organoid cultures [J/OL]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2023, 120(2): e2213418120 [2025–03–26]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36598946/>. DOI: 10.1073/pnas.2213418120.
- [62] Hirami Y, Mandai M, Sugita S, et al. Safety and stable survival of stem-cell-derived retinal organoid for 2 years in patients with retinitis pigmentosa [J]. *Cell Stem Cell*, 2023, 30(12): 1585–1596. e6. DOI: 10.1016/j.stem.2023.11.004.
- [63] Llonch S, Carido M, Ader M. Organoid technology for retinal repair [J]. *Dev Biol*, 2018, 433(2): 132–143. DOI: 10.1016/j.ydbio.2017.09.028.
- [64] Wang Y, Jiang D, Wang Q, et al. Three-dimensional tissue engineering and organoid technologies for retinal regeneration and therapy [J]. *Bioeng Transl Med*, 2025, 10(6): e70051. DOI: 10.1002/btm2.70051.

(收稿日期: 2025-05-25 修回日期: 2025-12-28)

(本文编辑: 张宇 骆世平)

