

角膜基质混浊的预防和治疗研究进展

刘忆南 洪晶

北京大学第三医院眼科 眼部神经损伤的重建保护与康复北京市重点实验室, 北京 100191

通信作者: 洪晶; Email: hongjing196401@163.com

【摘要】 角膜瘢痕和基质混浊可造成患者视力显著下降, 甚至角膜盲, 是亟需解决的医疗和社会问题。目前, 预防和治疗角膜基质混浊的方法主要分为非细胞疗法和细胞疗法两大类, 非细胞疗法包括(1)临床常用药物, 如皮质类固醇、丝裂霉素 C 和维生素 C 等药物, 但疗效有限, 还存在角膜溶解、眼表毒性等不良反应; (2)阻滞转化生长因子- β /Smad 信号通路的新药, 如罗格列酮、羊膜提取物、核心蛋白聚糖和肝细胞生长因子等新药, 均取得了一定疗效; (3)基因治疗, 如针对骨形态发生蛋白和核心蛋白聚糖基因的治疗已取得初步疗效, 基因转染的方式已从病毒载体向微小 RNA 和纳米材料载体转变。另外, 以间充质干细胞及其衍生物为主导的细胞疗法正在成为领域研究热点。间充质干细胞来源广泛、体外存活率高且性质稳定, 在角膜损伤修复中产生强大的抗炎、防止过度纤维化和促进角膜基质再生的作用, 相关研究已进入临床试验阶段, 具备广阔的临床应用前景。

【关键词】 角膜基质; 角膜混浊; 细胞和组织疗法; 间充质干细胞; 综述

基金项目: 北京市自然科学基金 (7222210)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20240131-00029

Current research status and progress in the prevention and treatment of corneal stromal opacity

Liu Yanan, Hong Jing

Department of Ophthalmology, Peking University Third Hospital, Beijing Key Laboratory of Restoration of Damaged Ocular Nerve, Beijing 100191, China

Corresponding author: Hong Jing, Email: hongjing196401@163.com

【Abstract】 The significant decline in vision and even corneal blindness caused by corneal scars and stromal opacity is an urgent medical and social problem that needs to be addressed. At present, the prevention and treatment methods of corneal stromal opacity consist of non-cell therapy and cell therapy. Non-cell therapy includes (1) commonly used drugs in clinical practice, such as corticosteroids, mitomycin C, and vitamin C, which has limited efficacy and side effects such as corneal dissolution and ocular toxicity, (2) new drugs that block the transforming growth factor- β /Smad signaling pathway, such as rosiglitazone, amniotic membrane extract, decorin and hepatocyte growth factor, have achieved certain therapeutic effects, (3) gene therapy, which targets bone morphogenetic protein gene and decorin gene, has achieved preliminary effects. Moreover, the methods of gene transfection have shifted from viral vectors to microRNA and nanomaterial carriers. In addition, cell therapy dominated by mesenchymal stem cells and their derivatives is becoming a hot research topic. Mesenchymal stem cells have a wide range of sources, a high *in vitro* survival rate, and stable properties. They exhibit strong anti-inflammatory, anti-fibrotic, and corneal stromal regenerative effects in corneal injury repair. Mesenchymal stem cells-related research in curing corneal opacity has entered the clinical trial stage and shows a broad clinical application prospect.

【Key words】 Corneal stroma; Corneal opacity; Cell- and tissue-based therapy; Mesenchymal stem cell; Review

Fund program: Beijing Natural Science Foundation (7222210)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20240131-00029

角膜位于眼球最前端, 具有高透明度, 是眼球屈光力的主要来源, 亦是重要的屈光介质。角膜极易受到外界理化环境的影响, 深达角膜基质层的感染和外伤, 若不加干预, 可导致角膜

基质混浊和瘢痕形成, 严重者甚至致盲, 即角膜盲^[1]。有文献统计, 2010 年世界角膜盲患者约达 3 900 万人, 其中中国角膜盲患者约 400 万人, 且每年新增病例约 20 万人^[2-3]。目前, 角

膜移植手术是角膜盲患者恢复视力的唯一有效手段,但存在角膜移植供体严重短缺的问题。因此,探索角膜基质混浊的早期预防和治疗方法具有重要意义。目前,预防和治疗角膜基质混浊的方法主要分为非细胞疗法和细胞疗法两大类,前者包括以皮质类固醇为代表的抗炎药、阻滞转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)/果蝇母本抗生存因子蛋白家族(small mother against decapentaplegic, Smad)信号通路的药物以及基因疗法,而后者主要指向间充质干细胞疗法。间充质干细胞疗法以其细胞来源广泛易于制备和其较高的稳定性为角膜基质混浊的预防和治疗带来新的契机。本文将就角膜基质混浊的预防和治疗研究进展进行综述。

1 角膜基质损伤后的修复过程

在角膜基质损伤愈合过程中,明确角膜基质细胞的表型变化对于理解基质损伤后的愈合过程非常重要。在损伤修复的早期阶段,损伤边缘静息的角膜基质细胞被激活,重新进入细胞周期,向成纤维细胞分化。体外实验证实,这种分化过程由成纤维细胞生长因子 2、血小板衍生生长因子 AB、TGF- β 等生长因子介导^[4-5]。这些向成纤维细胞分化的角膜基质细胞会重塑自身肌动蛋白细胞骨架,并将形态从星形改变为细长梭形以更好地适应细胞运动需求。在到达损伤区域后,成纤维细胞开始表达 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA),并上调波形蛋白表达,其进一步分化成具有收缩能力的肌成纤维细胞,以重建损伤的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)并促进伤口愈合。其中, α -SMA 的表达与角膜伤口的收缩闭合直接相关。

角膜基质损伤除可介导角膜基质细胞分化外,还可启动免疫细胞的级联反应。参与级联反应的免疫细胞包括单核巨噬细胞、T 淋巴细胞、多形核白细胞和自然杀伤细胞。这些免疫细胞可从角膜缘或循环系统中募集,并通过 CD11b 染色来识别。募集这类细胞的主要信号分子可能是单核细胞趋化蛋白 1,这种细胞因子可由激活的成纤维细胞分泌。另一种能募集中性粒细胞的趋化因子可能是角膜基质蛋白多糖中的基膜蛋白多糖^[6]。免疫细胞浸润受损的角膜可以清除凋亡的成纤维细胞,并保护角膜免受潜在感染的威胁^[7]。此外,其中一些免疫细胞可能分化为肌成纤维细胞^[8],进而参与伤口的收缩和闭合。上述研究均强调了局部和系统免疫在角膜基质伤口愈合中的重要性。

角膜基质损伤的修复涉及几个可能导致该部位 ECM 变化的过程,如角膜基质细胞分化、促炎和促纤维化细胞因子分泌[包括白细胞介素 1(interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和单核细胞趋化蛋白 1]、角膜基质中不常见细胞(中性粒细胞、巨噬细胞、肌成纤维细胞)的瞬时大量出现以及激活的角膜基质细胞开始分泌 ECM 降解酶等,上述因素均有助于 ECM 重塑。然而,在角膜基质损伤愈合过程中,新形成的 ECM 往往会在组成和结构上积累某些异常蛋白,从而导致局部瘢痕形成^[9]。由于 ECM 的代谢通常非常缓慢,所以瘢痕成分可能会在角膜伤口周围存在数年。这些异

常的 ECM 瘢痕成分包括 III 型、VIII 型、XIV 型、XVII 型胶原和 IV 型胶原的同分异构体、胚胎纤维连接蛋白异构体、血小板反应蛋白 1(thrombospondin-1, TSP-1)、骨桥蛋白及纤维蛋白 1 等。尽管研究者普遍认为,角膜瘢痕中的异常 ECM 成分主要用于角膜结构的强化,然而,基因敲除实验证明,这些成分中的某些物质可能具有更深层次的调控作用。骨桥蛋白是角膜基质瘢痕中的成分之一,同时也是一种调节细胞增殖和巨噬细胞活动的细胞因子。有研究显示,骨桥蛋白基因敲除小鼠的角膜中,肌成纤维细胞和巨噬细胞均有所减少,促纤维化因子 TGF- β 1 的表达水平同样降低,最终导致角膜损伤愈合延迟^[10]。与之类似,TSP-1 基因敲除小鼠的角膜中也观察到了肌成纤维细胞大量减少以及角膜伤口的水肿和愈合延迟^[11-12]。

2 预防和治疗角膜基质混浊的非细胞疗法

2.1 临床常用方法

外用皮质类固醇,如泼尼松滴眼液,通过下调 TGF- β 介导的炎症和纤维化反应来减少角膜基质纤维化的形成。在受损角膜组织中,皮质类固醇的应用可阻止巨噬细胞和淋巴细胞聚集,并减少成纤维细胞分泌胶原纤维。除此之外,皮质类固醇还起到免疫抑制作用,可阻止炎症介质释放,抑制细胞因子产生。然而,在与细菌感染相关的角膜纤维化疾病治疗中是否应该使用皮质类固醇一直存在争议。在感染性疾病早期应用类固醇可能会导致感染失控和角膜病变持续恶化。因此,采用皮质类固醇治疗前必须充分控制感染。此外,皮质类固醇的不良反应也不可忽视,频繁滥用或误用会造成严重的局部和全身不良反应,比如皮质类固醇性青光眼、白内障和角膜伤口愈合延迟。因此,进行皮质类固醇治疗前需对患者局部和全身情况进行充分、细致的评估。

丝裂霉素 C(mitomycin C, MMC)是一种经典的 DNA 损伤剂,其与 DNA 形成共价键,抑制 DNA 复制、转录和目的蛋白合成,导致细胞发生不可逆转的衰老。多年来,MMC 因具有高效抑制细胞分裂的作用一直被用作抗癌药物。在眼科,MMC 常被用于抑制术后角膜或结膜瘢痕形成,例如预防准分子激光屈光性角膜切削术(photorefractive keratectomy, PRK)术后角膜上皮混浊、翼状胬肉切除术后复发、青光眼小梁切除术后滤过泡瘢痕化,以及治疗眼表肿瘤。

众所周知,维生素 C 可促进成纤维细胞分泌胶原纤维,形成平行排列的 ECM 纤维。此外,其抗氧化特性还能减少角膜新生血管形成。在感染性角膜炎患者的临床试验中,静脉注射维生素 C 可以促进角膜上皮损伤的愈合,并缩小角膜瘢痕的范围,降低其厚度^[13]。然而,Yulish 等^[14]在一项针对 PRK 术后角膜瘢痕化的临床试验中发现,维生素 C 对预防角膜瘢痕并无显著作用。这提示维生素 C 对角膜基质混浊的预防和治疗效果可能取决于疾病的病因。维生素 C 在不同疾病条件下预防和治疗角膜基质混浊的潜在机制有待进一步研究。

2.2 阻滞 TGF- β /Smad 信号通路的药物治疗

目前,关于角膜基质瘢痕化的主要信号通路研究集中在 TGF- β /Smad 信号通路,在包括角膜在内的不同组织中,TGF- β

家族成员可以通过 TGF- β /Smad 和非 Smad 途径来激活或抑制纤维化。其中, TGF- β 1 和 β 2 亚型促进纤维化和瘢痕形成, 而 TGF- β 3 亚型抑制瘢痕形成并促进无瘢痕愈合机制的启动。在研究早期, 针对上述信号通路进行药物阻滞的实验研究较多。罗格列酮是一种过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (peroxisome proliferators activated receptors- γ , PPAR- γ) 的小分子激动剂, 在体外培养的角膜成纤维细胞中应用罗格列酮, 能通过抑制 TGF- β 信号通路, 抑制角膜基质细胞向肌成纤维细胞的分化^[15], 进而减少基质纤维化的发生。然而, 由于罗格列酮同时也是治疗 2 型糖尿病的胰岛素致敏剂, 因此其应用可能存在全身不良影响的风险, 例如诱发充血性心力衰竭和膀胱癌等。目前, 严重角膜化学伤的标准抗纤维化疗法是羊膜移植术, 因为人的胚胎羊膜含有天然的抗纤维化成分——核心蛋白聚糖。体外细胞研究表明, 人羊膜基质及其可溶性蛋白提取物能够抑制 TGF- β 1 和 β 2 信号通路的传导^[16]。除此之外, 羊膜提取物还可抑制细胞凋亡、新生血管形成和微生物生长, 并促进有利于组织再生的免疫反应^[17]。使用羊膜提取物滴眼液的临床试验结果表明, 其在促进角膜伤口愈合、缓解眼部疼痛和抑制瘢痕形成等方面疗效良好^[18]。此外, 肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 是一种具有抗纤维化作用的分子, 通过激活 Smad 7 来预防 Smad 2 的磷酸化, 从而阻滞了 TGF- β /Smad 信号通路的传导。HGF 在全身诸多器官的抗纤维化治疗中效果显著。在眼部, HGF 受体在角膜上皮、角膜基质、角膜内皮及泪腺中均有广泛表达。Mittal 等^[19] 研究表明, 眼局部补充外源性 HGF 有助于预防小鼠角膜基质损伤模型中角膜瘢痕的形成。

2.3 基因治疗

基因治疗是指将外源基因导入靶细胞, 纠正或补偿基因缺陷或异常基因引起的疾病, 以达到治疗目的。从广义上讲, 基因治疗还包括以遗传物质为干预切入点, 用于治疗某些疾病的措施和新技术。基因治疗是现代医学领域的重要治疗手段, 可以在特定环境中调控单个或一组基因的表达水平, 从而达到根本性的治疗效果。角膜位于体表, 对角膜的操作均可以在直视下完成, 这为基因治疗提供了极大的便利。

骨形态发生蛋白 (bone morphogenetic protein, BMP) 是具有多种功能的细胞因子, 通过调节角膜基质细胞的增殖、分化和凋亡来调控整个角膜伤口的愈合过程。Tandon 等^[20] 使用金纳米颗粒成功向角膜基质细胞中转染了 BMP 7 基因, 后者能有效阻断 TGF- β 信号通路, 从而显著减轻 PRK 术后的角膜基质混浊。除了 BMP 之外, 核心蛋白聚糖基因也是角膜瘢痕化基因治疗的重要靶点。核心蛋白聚糖是 TGF- β 和血管内皮细胞生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的有效抑制剂, 其在抑制体内角膜基质纤维化和新生血管形成方面起重要作用, 所以针对核心蛋白聚糖的基因治疗在角膜基质纤维化治疗方面取得了较好疗效^[21-22]。

在基因治疗的遗传路径选择方面, 微小 RNA (microRNA, miRNA) 疗法正在成为新的研究热点。miRNA 是一类小的非编码 RNA, 长度为 20~24 个核苷酸。它们通过与靶 mRNA 的 5' 或 3' 端未翻译区域的互补结合来抑制靶基因表达。值得注意

的是, 1 个 miRNA 可对应数个 mRNA, 而 1 个 mRNA 又对应不止 1 个 miRNA, 也就是说 miRNA 具有生物多效性。这种特点使得它们在应对多因素起源且缺少针对性有效治疗方法的疾病时具有潜在优势。与角膜瘢痕化及角膜基质混浊形成相关的 miRNA 有 miR-29、miR-107、miR-155 等^[23-25]。由于基因治疗需要将外源性核酸, 如 DNA、小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA)、miRNA 等转移到细胞内, 但是外源性核酸存在细胞内和细胞外的降解过程, 因此很难将未受保护的单体核酸递送到靶细胞中^[26]。传统的方法是采用病毒载体进行基因转染, 但具有诸多潜在风险。纳米技术的出现为基因疗法提供了许多便利, 如纳米颗粒能够高效率地装载基因药物, 同时具有靶向性和低毒性, 已被广泛用于角膜疾病的基因治疗中。目前研究使用的纳米材料包括各种天然和合成的聚合物, 如壳聚糖、白蛋白、丝素蛋白、鱼精蛋白、聚乙二醇及聚乙烯胺等, 纳米载体在角膜纤维化的治疗方面已取得显著成效。以上研究均表明, 基因疗法在治疗角膜伤口的过度愈合以及屈光手术后角膜基质混浊等并发症中具有巨大的前景。

3 预防和治疗角膜基质混浊的间充质干细胞疗法

Du 等^[27] 从人角膜缘中成功分离出表达 PAX6、ABCG2 等干细胞标志物的角膜缘基质干细胞, 并使用成纤维细胞生长因子促进其分化成角膜基质细胞。该团队后续的研究发现, 将正常的角膜缘基质干细胞注射到小鼠混浊的角膜基质中, 随着基膜蛋白多糖产生的增加, 角膜基质几乎完全恢复了透明性^[28]。此外, Basu 等^[29] 通过角膜缘活检获取人角膜缘基质干细胞, 体外诱导分化成角膜基质细胞并注射到角膜损伤模型中, 注射的细胞显著抑制了角膜瘢痕的形成并且促进了富含胶原的 ECM 再生。然而, 角膜基质细胞或角膜缘基质干细胞的来源依赖角膜供体, 角膜供体不足依然是限制其大规模应用的重要因素, 因此, 寻找能替代角膜来源的细胞作为治疗方案势在必行。

间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 移植治疗角膜损伤和预防角膜基质混浊是目前的研究热点。间充质干细胞属于成体干细胞, 可以从许多人体组织中获得, 包括脂肪组织、骨髓、脐带、牙髓、牙龈、毛囊、角膜和胎盘等。鉴于 MSCs 有不同的组织来源, 国际细胞治疗学会建议按照以下标准来鉴定 MSCs: 特定表面标志物的表达以及向成骨细胞、成软骨细胞和成脂肪细胞 3 个主要谱系细胞的分化潜能^[30]。在机体损伤后的愈合反应中, MSCs 起着“首席反应者”的作用。这种能力是通过调控损伤组织诱导释放的黏附分子、生长因子、ECM 蛋白和细胞因子之间一系列复杂的相互作用而实现的。MSCs 能对这些因子做出反应, 进而启动自身的旁分泌功能, 以促进损伤加速愈合^[31]。除此之外, MSCs 因其表达片段式不完整的主要组织相容性复合体 II (major histocompatibility complex II, MHC II) 抗原, 同时 MSCs 中的 MHC I 抗原的表达也较少, 以及其缺乏某些细胞表面免疫表型标志物, 如分化簇 (cluster of differentiation, CD) 40、CD71 和 CD72 等, 使得 MSCs 可以轻易逃避宿主体内的部分免疫应答^[32], 具备一定的免疫豁免能力。因此, MSCs 有望在细胞治疗和再生医学中发挥重要作用。

许多研究已证实, MSCs 对角膜基质混浊和纤维化有预防和治疗作用。Call 等^[33]发现,采用脐带 MSCs 进行角膜基质间注射或者与纤维蛋白凝胶混合后进行眼表移植均可使小鼠混浊的角膜恢复部分透明性,原因可能是 MSCs 产生了 V 型胶原,后者能够对角膜内胶原纤维的规则排列起到调控作用。Almaliotis 等^[34]采用脂肪组织来源的 MSCs 对碱烧伤的兔角膜进行角膜基质间注射和结膜下注射,结果发现兔角膜基本恢复透明、角膜血管化程度减轻、角膜中的血清谷丙转氨酶和 VEGF 水平更低;同时,免疫荧光染色发现,角膜中的 α -SMA 水平更低,而 Ki 67 水平更高。Yun 等^[35]发现,对于乙醇烧伤的小鼠角膜模型,静脉注射诱导多功能干细胞和 MSCs 对预防角膜混浊均有效且效果相似,其部分机制是通过上调 TNF- α 激活基因 6(TNF- α stimulating gene 6, TSG-6) 的表达从而抑制炎症反应而实现的。另外, Roddy 等^[36]发现腹腔注射和静脉注射

MSCs 可以减轻化学烧伤小鼠角膜的炎症反应和角膜基质混浊程度。该研究还发现,注射 MSCs 后 10 h 内即可产生角膜的抗炎效应,但是角膜内并未检出 MSCs。同时,腹腔和静脉注射 TSG-6 蛋白可以起到相同效果,再次证实 MSCs 的抗角膜纤维化作用部分是通过远距离分泌 TSG-6 蛋白实现的。与 MSCs 修复角膜损伤以治疗角膜基质混浊的其他研究见表 1。

上述动物研究表明, MSCs 在治疗角膜基质混浊方面取得了显著成效,其也逐步走向临床研究阶段。目前的临床研究包括使用羊膜搭载 MSCs^[37]、Tenon 囊下注射(NCT04224207)或结膜下注射 MSCs(NCT02325843、NCT01808378、NCT04484402、NCT03967275 和 NCT03237442),来防治角膜基质混浊和角膜上皮化障碍。一项 I 期临床试验表明,脂肪来源的 MSCs 可通过角膜基质注射方式用于晚期圆锥角膜的治疗^[38]。植入的 MSCs 不仅能够治疗角膜基质混浊,还可以分化成角膜基质细

表 1 MSCs 治疗角膜基质混浊的实验研究

文献	动物模型	细胞来源	细胞量 ($\times 10^6$)	给药方式	给药时机	周期 (d)	实验结果	作用机制
Mittal 等 ^[19]	小鼠角膜上皮/前基质切除	IL-1-mBM-MSCs	0.5	静脉注射	造模后 1 h	5	角膜上皮加速愈合, 角膜基质混浊度降低	MSCs 分泌 HGF, 产生抗炎作用和 TGF- β 信号通路阻滞
Yun 等 ^[35]	小鼠角膜上皮/前基质切除	mBM-MSCs	1	静脉注射	造模后即刻	7	角膜基质混浊减轻	TSG-6 介导的中性粒细胞浸润减轻
Roddy 等 ^[36]	小鼠角膜上皮/前基质切除	hBM-MSCs	1-10	腹腔/静脉注药	造模后即刻	3	角膜基质混浊度下降	TSG-6 介导的中性粒细胞浸润减轻
Demirayak 等 ^[39]	大鼠角膜上皮/前基质切除	rBM-MSCs	0.2	前房注药	造模后即刻	60	角膜基质再生	抗炎, 促进角膜基质细胞增殖
Lan 等 ^[40]	小鼠角膜上皮/前基质切除	mBM-MSCs	1	静脉注射	造模后 1 h	50	角膜上皮加速愈合	未解释
Cejka 等 ^[41]	新西兰大白兔角膜碱烧伤 0.25 mol/L NaOH	rbBM-MSCs	0.3	纳米纤维支架搭载	造模后即刻	15	角膜基质混浊减轻, 血管化减轻, 水肿减轻	与 SOD 相关的炎症控制
Javorkova 等 ^[42]	小鼠角膜碱烧伤 1 mol/L NaOH	IFN- γ -mBM-MSCs	0.5	静脉注射	造模 24 h	3	眼表炎症减轻	抗炎, 减轻免疫细胞浸润
Yao 等 ^[43]	大鼠角膜碱烧伤 1 mol/L NaOH	rBM-MSCs	2	结膜下注射	造模后即刻	7	角膜上皮加速愈合, 血管化减轻	减轻巨噬细胞浸润
Zajicova 等 ^[44]	小鼠角膜上皮/角膜缘切除	mBM-MSCs	0.04	纳米纤维支架	造模后即刻	14	局部炎症减轻	抗炎
Oh 等 ^[45]	大鼠角膜上皮/前基质切除	rMSCs	2	PBS 搭载	造模后即刻	21	角膜基质混浊度下降, 血管化减轻	减轻免疫细胞浸润, 减少炎症因子释放
Lee 等 ^[46]	小鼠角膜碱烧伤后上皮/前基质切除 0.5 mol/L NaOH	rBM-MSCs	0.5	腹腔注药	造模后即刻	21	炎症反应减轻	抗炎, 减轻免疫细胞浸润
Holan 等 ^[47]	新西兰大白兔角膜碱烧伤 0.25 mol/L NaOH	rbBM-MSCs	0.3	纳米纤维支架搭载	造模后即刻	3	角膜基质混浊减轻, 血管化减轻, 角膜水肿减轻	抗炎, 减轻免疫细胞浸润
Cejkova 等 ^[48]	新西兰大白兔角膜碱烧伤 0.15 mol/L NaOH	rbBM-MSCs	1	纳米纤维支架搭载	造模后即刻	15	角膜基质混浊减轻, 血管化减轻	抗炎
Jiang 等 ^[49]	大鼠角膜缘碱烧伤 0.5 mol/L NaOH	角膜基质细胞共培养的 rBM-MSCs	1	羊膜搭载	造模后即刻	44	角膜基质混浊减轻, 血管化减轻, 角膜上皮愈合加速	MSCs 向角膜上皮细胞分化, 未和角膜基质细胞共培养的 MSCs 显示出优于羊膜单独移植的效果

注: IL: 白细胞介素; mBM-MSCs: 小鼠骨髓间充质干细胞; MSCs: 间充质干细胞; HGF: 肝细胞生长因子; TGF: 转化生长因子; TSG: 肿瘤坏死因子- α 激活基因; hBM-MSCs: 人骨髓间充质干细胞; rBM-MSCs: 大鼠骨髓间充质干细胞; NaOH: 氢氧化钠; rbBM-MSCs: 兔骨髓间充质干细胞; SOD: 超氧化物歧化酶; IFN: 干扰素; rMSCs: 兔间充质干细胞; PBS: 磷酸盐缓冲液

胞并形成新的胶原纤维以增加角膜基质厚度, 这为 MSCs 移植用于角膜基质再生提供了新方向。

3.1 MSCs 的给药途径

MSCs 的给药途径研究是实现干细胞治疗最佳疗效需要解决的主要问题之一。有研究通过静脉注射或腹腔注射 MSCs 的方法观察到干细胞向受损角膜迁移^[19], 但另有研究未观察到该迁移现象, 却发现 MSCs 对角膜损伤具有治疗作用, 如加速上皮缺损修复、减少新生血管形成和减轻角膜混浊^[36], 这表明 MSCs 全身应用时, 其治疗效果与 MSCs 的衍生物有关。

除静脉全身给药外, 利用细胞载体进行 MSCs 眼表移植是常用的技术。在动物模型和人体中, 以羊膜为载体将 MSCs 移植至眼表均可显著缓解眼部症状^[37,50]。然而, 由于羊膜移植通常为单层细胞移植, 因此羊膜移植的细胞数量通常也低于其他方法。此外, 羊膜属于人体组织产品, 不仅可获得性有限、存在疾病传播的风险, 而且经济成本较高, 这些因素均限制了羊膜作为 MSCs 移植载体的大规模应用。除羊膜外, 另一种天然的干细胞移植载体是纤维蛋白凝胶, 研究发现, 无论是否搭载 MSCs, 其都能帮助修复眼表损伤^[51]。此外, 研究者还探索了人工合成的移植载体, 如绷带镜^[52]、聚 L-乳酸^[47] 和聚酰胺^[44] 等, 当这些人工合成材料搭载 MSCs 进行移植时, 有利于细胞的黏附和增殖。然而, 与羊膜类似, 这些载体递送的干细胞数量也是有限的。此外, 大多数细胞载体材料需要缝合于眼表以长期固定, 这一额外的手术步骤和后续的拆线过程使整个移植操作更加繁琐, 并增加了手术风险与治疗成本。

除了上述天然和人工合成的膜片状支架材料外, MSCs 向角膜表面局部移植的方式还包括以滴眼液或低流动性凝胶为载体进行移植。以滴眼液为载体进行 MSCs 局部给药已被广泛用于角膜缘干细胞衰竭的实验模型研究^[48]。虽然这种给药方法简单, 但存在明显缺点, 即会导致 MSCs 在眼表停留的时间过短、MSCs 被泪液冲洗流失的概率较高, 往往需要反复多次给药才能达到治疗效果。除滴眼液外, 以凝胶为载体进行的 MSCs 眼表移植则会明显增加 MSCs 在眼表停留的时间。但成品凝胶的黏稠度较高, 不利于与 MSCs 充分混匀, 凝胶中容易存在大量未混匀的 MSCs 细胞团块, 影响细胞和外界的物质交换, 从而影响 MSCs 的存活率和细胞功能的发挥。另外, 传统凝胶虽然较滴眼液在眼表停留的时间更长, 但因其与角膜的黏附力有限, 仍存在眼表清除率较高的问题。

MSCs 的其他传统给药方式还包括角膜基质内注射给药和结膜下注射给药。注射给药的优点在于 MSCs 可以长期存留, 增加了药物利用率。有研究比较了上述 2 种注射给药方式对小鼠角膜上皮刮除模型的治疗效果^[53], 发现二者均可促进角膜上皮的愈合, 但角膜基质内注射给药与可以显著减轻角膜基质混浊和角膜新生血管形成。上述研究中结膜下注射给药的 MSCs 无法穿越角膜缘屏障到达角膜内部, 所以对角膜愈合的影响仅为旁分泌作用, 而角膜基质内注射给药的 MSCs 除了旁分泌作用外, 还可以直接分化为角膜基质细胞, 可能对角膜损伤的修复同样发挥作用。但是角膜基质内注射对术者技术要求较高, 操作失误可能导致角膜穿孔等严重并发症。

3.2 MSCs 的衍生物疗法

MSCs 通过旁分泌细胞外衍生物与周围微环境积极交流并相互作用^[54]。MSCs 分泌的多种衍生物包裹在细胞外囊泡中, 能够广泛地调节细胞微环境中的功能反应^[55]。MSCs 分泌的细胞外囊泡是一组由可溶性蛋白、生长因子、细胞因子、趋化因子、miRNA、生物活性脂质等组成且大小为 40~1 000 nm, 包括外泌体 (40~150 nm) 和微囊泡 (150~600 nm)^[55]。MSCs 分泌的细胞外衍生物对于组织再生的潜力已被广泛报道, 包括逆转神经系统疾病、心血管系统疾病以及肺部疾病等。MSCs 外泌体用于眼部组织再生的研究也有报道, 例如用于视网膜疾病^[55] 和角膜损伤修复^[56] 等。

有研究在小鼠角膜碱烧伤模型的动物实验中观察到, 注射 MSCs 外泌体可以通过减轻炎症反应、减少与纤维化 (α -SMA) 和血管化 (CD31) 相关的蛋白合成来促进角膜损伤的愈合^[57]。Saccu 等^[58] 通过局部应用包裹于甲基纤维素中的 MSCs 外泌体, 也观察到外泌体可调节受损组织中的细胞死亡、炎症反应和血管生成, 并促进角膜基质再生。同样, 有研究观察到 MSCs 外泌体可以减轻角膜损伤后的炎症反应和细胞死亡, 这与 TNF- α 、IL-1 β 、IL-8、NF- κ B 等炎症因子以及促凋亡蛋白 Cas-8 的表达降低有关^[59]。此外, 这些外泌体通过抑制血管生长因子和血管生成相关基因基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 2、MMP-9 的表达来减少角膜异常血管化^[59]。

与直接应用 MSCs 治疗相比, MSCs 衍生物可以从大量干细胞中分离并浓缩以获得足够的治疗浓度。然而, 作为一个较新的领域, 其也存在一些局限性, 如移植后 ECM 衍生物的效应时间仍有待探究。

3.3 MSCs 的作用机制分析

MSCs 预防和治疗角膜损伤及基质混浊的作用机制主要在于其抗炎和免疫调节作用。当角膜发生损伤时, 炎症因子的释放促进免疫细胞浸润, 导致角膜处于促炎状态。当角膜的炎症水平不受控制时, 角膜上皮化会被抑制、新生血管大量形成, 角膜基质内的成纤维细胞被大范围激活, 进而产生不规则排列的 ECM, 最终导致角膜基质混浊。而 MSCs 通过旁分泌多种免疫调节因子, 可有效控制角膜内发生的过度炎症反应, 预防角膜基质混浊的发生。虽然临床上也通常会用皮质类固醇控制炎症, 但糖皮质激素通常会抑制上皮化和必要的胶原纤维合成, 增加角膜穿孔风险, 同时过量使用糖皮质激素还可能引发青光眼、白内障等一系列并发症。因此, 糖皮质激素并非角膜损伤后进行抗炎治疗的完美选择。而 MSCs 在拮抗炎症风暴的同时, 既不会抑制角膜上皮化进程和胶原纤维的产生, 也不会引发激素疗法的并发症, 有望替代激素疗法。

在 MSCs 产生的诸多免疫调节因子中, TSG-6 报道较多, 其亦可由 MSCs 之外的其他多种细胞分泌。越来越多的研究报道了 MSCs 衍生的 TSG-6 在角膜损伤后具有调节中性粒细胞活性的能力。有研究发现, 当 MSCs 中 TSG-6 基因的表达被抑制时, MSCs 对角膜损伤的抗炎作用会被显著削弱^[60], 这表明分泌 TSG-6 因子是 MSCs 拮抗炎症的关键步骤。在机械刮除角膜和角膜缘上皮后, 将重组 TSG-6 注射至大鼠眼球前房中, 结果发

表 2 预防和治疗角膜基质混浊不同方法的优缺点和应用前景

治疗方法	优点	缺点	应用前景
皮质类固醇	抗炎作用较强	延迟角膜上皮愈合;有角膜穿孔风险;不良反应较多	常规疗法,前景受限
丝裂霉素 C	抗纤维化作用强	用药浓度和时间的个体化较难;潜在毒性反应	常规疗法,前景受限
维生素 C	抗氧化作用较强;价格低廉	生物利用度较低;抗纤维化作用有限	常规疗法,前景受限
阻滞 TGF- β /Smad 通路药物	从源头上防治角膜纤维化;作用机理明确	交叉反应较多,可能存在全身不良反应的风险	治疗碱烧伤等严重的角膜瘢痕反应
基因治疗	作用机理明确;已找到多个与疾病相关的基因	未找到最关键的致病基因;载体易降解,其生物安全性有待进一步验证,价格昂贵	治疗角膜伤口的过度愈合和角膜屈光术后瘢痕形成
MSCs	容易获取,细胞来源广泛;增殖速率快,分化方向多;体外易培养;免疫相关问题少;在多种病理生理环境中都具备较高稳定性	伦理问题;有潜在的基因整合风险和感染风险;移植的细胞数量较少;移植后成瘤风险较高	治疗角膜基质损伤后导致的角膜瘢痕化和角膜生物力学稳定性下降,有促进角膜基质再生的潜力
MSCs 衍生物	可以穿越多种自然生理屏障,如血脑屏障;无免疫相关问题,无细胞毒性;和细胞相比,在冻融条件下更加稳定;可以在细胞间通过胞吞作用交换物质	无标准化的分离提纯方案;无大规模量化生产方案;和外泌体相关的理论研究相对较少且不成熟;在体内研究中,血清清除率较高;分离提纯外泌体较难	有潜力制备成商品化的滴眼液用于治疗角膜过度瘢痕形成

注:TGF:转化生长因子;Smad:果蝇母本抗生存因子蛋白家族;MSCs:间充质干细胞

现中性粒细胞浸润、炎症反应、角膜基质混浊和角膜血管化均减轻^[61]。因此有研究者认为,注射纯化的 TSG-6 蛋白可能是治疗角膜损伤的更直接途径,但是这种观点也有一定局限性。尽管已有大量研究证实了 TSG-6 的重要性,但 MSCs 分泌的炎症拮抗因子的成分和配比却并不唯一。有研究显示,MSCs 会依据特定的环境来生成不同配比的抗炎因子,以实现最佳的治疗效果,这种智能化的反应是其他任何药物无法比拟的^[62]。除了 TSG-6 蛋白之外,MSCs 通过旁分泌产生的其他蛋白质可能具有附加或补偿作用。例如,研究表明 MSCs 旁分泌产生的 HGF 对于抑制炎症反应和减少随后的瘢痕形成至关重要^[19]。虽然,在动物模型中单独给药 HGF 已被证实可以抑制炎症,减少角膜基质混浊的形成^[19],但外源性 HGF 非常不稳定,半衰期仅为 3~5 min,这给药物的贮存和实际使用带来巨大的挑战。因此,与单独使用 MSCs 衍生物相比,MSCs 本身具备敏锐的环境反应性,从而能为宿主提供更合适和精准的治疗。

除了能够分泌抗炎因子之外,MSCs 还可分泌抗血管生成的细胞因子,如 TSP-1。TSP-1 能够抑制 VEGF 和 MMP-2 的表达,因此在角膜损伤后可以积极调节促血管生成的状态,防止过度血管化和继发的角膜基质混浊。另外,其他一些研究表明,MSCs 不仅通过旁分泌机制对角膜基质混浊起治疗作用,最终还可以完成和宿主角膜的整合^[60]。干细胞治疗角膜损伤的研究认为,促进角膜创面愈合的主要机制是 MSCs 在角膜基质内移植并分化为角膜基质细胞,进而对角膜损伤进行修复^[60]。然而,也有研究将 MSCs 发挥修复作用的主要机制归因于植入的 MSCs 产生了免疫调节因子^[39]。值得注意的是,MSCs 向宿主角膜基质的整合和分化虽然不是主流认为的 MSCs 修复角膜损伤的主要机制,但有一项 I 期临床试验表明,脂肪来源的 MSCs 可被用于晚期圆锥角膜的临床治疗^[38]。植入的 MSCs 可以分化成角膜基质细胞并形成新的胶原纤维以增加角膜基质的厚度,这为 MSCs 移植用于角膜基质再生提供了新的可能。

4 展望

角膜基质混浊的预防和治疗手段已从激素、丝裂霉素、维生素的临床常用药逐渐向阻滞 TGF- β /Smad 信号通路的新药治疗、基因治疗、MSCs 及其衍生物疗法转变,各种治疗方法的利弊与应用前景见表 2。

在以上新疗法中,MSCs 研究在角膜损伤修复治疗领域的发展非常迅速。然而,在治疗角膜损伤的不同研究中,尽管使用了相同类型的干细胞,结果却不尽相同。导致这一现象的首要原因是干细胞具有细胞异质性,即不同组织来源的 MSCs 可能导致实验结果出现差异。此外,用于获取、分离和培养干细胞的各种技术差异也可能导致实验结果的差异。MSCs 治疗的另一个关键问题是其在体外扩增过程中有分化为不同谱系的倾向。因此,必须控制和记录 MSCs 的整个扩增过程,以确保细胞制备过程的可重复性。所以,加强 MSCs 提取和培养环节中的质量控制,以及规范实验设计和操作流程对提高 MSCs 疗法的成功率十分必要。

除此之外,将 MSCs 疗法和生物材料相结合,可以为干细胞提供更符合生理状态的细胞外微环境,这同时可以改善其与角膜的整合方式,最大限度地降低细胞死亡率,提高治疗效果。除了干细胞本身之外,干细胞的衍生物如外泌体也应当得到关注,其可以规避干细胞存活率低和基因变异的问题,能够为角膜疾病的治疗提供更具标准化和可重复化的治疗方案。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Pascolini D, Mariotti SP. Global estimates of visual impairment: 2010 [J]. Br J Ophthalmol, 2012, 96 (5) : 614-618. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2011-300539.
- [2] Wong KH, Kam KW, Chen LJ, et al. Corneal blindness and current major treatment concern-graft scarcity [J]. Int J Ophthalmol, 2017,

- 10(7): 1154–1162. DOI: 10.18240/ijo.2017.07.21.
- [3] Flaxman SR, Bourne RRA, Resnikoff S, et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990–2020: a systematic review and meta-analysis[J/OL]. *Lancet Glob Health*, 2017, 5(12): e1221–e1234 [2025–06–19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29032195/>. DOI: 10.1016/S2214-109X(17)30393-5.
- [4] Chen J, Guerriero E, Sado Y, et al. Rho-mediated regulation of TGF-beta1- and FGF-2-induced activation of corneal stromal keratocytes[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(8): 3662–3670. DOI: 10.1167/iovs.08-3276.
- [5] Jester JV, Ho-Chang J. Modulation of cultured corneal keratocyte phenotype by growth factors/cytokines control *in vitro* contractility and extracellular matrix contraction[J]. *Exp Eye Res*, 2003, 77(5): 581–592. DOI: 10.1016/S0014-4835(03)00188-x.
- [6] Hayashi Y, Call MK, Chikama T, et al. Lumican is required for neutrophil extravasation following corneal injury and wound healing[J]. *J Cell Sci*, 2010, 123(Pt 17): 2987–2995. DOI: 10.1242/jcs.068221.
- [7] Wilson SE, Mohan RR, Mohan RR, et al. The corneal wound healing response: cytokine-mediated interaction of the epithelium, stroma, and inflammatory cells[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2001, 20(5): 625–637. DOI: 10.1016/S1350-9462(01)00008-8.
- [8] Barbosa FL, Chaurasia SS, Cutler A, et al. Corneal myofibroblast generation from bone marrow-derived cells[J]. *Exp Eye Res*, 2010, 91(1): 92–96. DOI: 10.1016/j.exer.2010.04.007.
- [9] Torricelli AAM, Wilson SE. Cellular and extracellular matrix modulation of corneal stromal opacity[J]. *Exp Eye Res*, 2014, 129: 151–160. DOI: 10.1016/j.exer.2014.09.013.
- [10] Saika S, Sumioka T, Okada Y, et al. Wakayama symposium: modulation of wound healing response in the corneal stroma by osteopontin and tenascin-C[J]. *Ocul Surf*, 2013, 11(1): 12–15. DOI: 10.1016/j.jtos.2012.09.002.
- [11] Blanco-Mezquita T, Martinez-Garcia C, Proença R, et al. Nerve growth factor promotes corneal epithelial migration by enhancing expression of matrix metalloprotease-9[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(6): 3880–3890. DOI: 10.1167/iovs.12-10816.
- [12] Blanco-Mezquita JT, Hutcheon AEK, Zieske JD. Role of thrombospondin-1 in repair of penetrating corneal wounds[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(9): 6262–6268. DOI: 10.1167/iovs.13-11710.
- [13] Cho Y, Yoo W, Kim S, et al. Efficacy of systemic vitamin C supplementation in reducing corneal opacity resulting from infectious keratitis[J/OL]. *Medicine (Baltimore)*, 2014, 93(23): e125 [2025–06–19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25415664/>. DOI: 10.1097/MD.000000000000125.
- [14] Yulish M, Beiran I, Miller B, et al. Ascorbate prophylaxis with mitomycin-C for corneal haze after laser-assisted sub-epithelial keratectomy[J]. *Isr Med Assoc J*, 2012, 14(6): 382–385.
- [15] Huxlin KR, Hindman HB, Jeon KI, et al. Topical rosiglitazone is an effective anti-scarring agent in the cornea[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e70785 [2025–06–19]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23940641/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0070785.
- [16] Fenner BJ, Yusoff NZBM, Fuest M, et al. A cellular and proteomic approach to assess proteins extracted from cryopreserved human amnion in the cultivation of corneal stromal keratocytes for stromal cell therapy[J]. *Eye Vis (Lond)*, 2019, 6: 30. DOI: 10.1186/s40662-019-0155-0.
- [17] Shay E, He H, Sakurai S, et al. Inhibition of angiogenesis by HC-HA, a complex of hyaluronan and the heavy chain of inter- α -inhibitor, purified from human amniotic membrane[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(5): 2669–2678. DOI: 10.1167/iovs.10-5888.
- [18] Murri MS, Moshirfar M, Birdsong OC, et al. Amniotic membrane extract and eye drops: a review of literature and clinical application[J]. *Clin Ophthalmol*, 2018, 12: 1105–1112. DOI: 10.2147/OPHT.S165553.
- [19] Mittal SK, Omoto M, Amouzegar A, et al. Restoration of corneal transparency by mesenchymal stem cells[J]. *Stem Cell Reports*, 2016, 7(4): 583–590. DOI: 10.1016/j.stemcr.2016.09.001.
- [20] Tandon A, Sharma A, Rodier JT, et al. BMP7 gene transfer via gold nanoparticles into stroma inhibits corneal fibrosis *in vivo*[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66434 [2025–06–21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23799103/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0066434.
- [21] Donnelly KS, Giuliano EA, Sharma A, et al. Decorin-PEI nanoconstruct attenuates equine corneal fibroblast differentiation[J]. *Vet Ophthalmol*, 2014, 17(3): 162–169. DOI: 10.1111/vop.12060.
- [22] Mohan RR, Tripathi R, Sharma A, et al. Decorin antagonizes corneal fibroblast migration via caveolae-mediated endocytosis of epidermal growth factor receptor[J]. *Exp Eye Res*, 2019, 180: 200–207. DOI: 10.1016/j.exer.2019.01.001.
- [23] Toyono T, Usui T, Villarreal G, et al. MicroRNA-29b overexpression decreases extracellular matrix mRNA and protein production in human corneal endothelial cells[J]. *Cornea*, 2016, 35(11): 1466–1470. DOI: 10.1097/ICO.0000000000000954.
- [24] Park JK, Yang W, Katsnelson J, et al. MicroRNAs enhance keratinocyte proliferative capacity in a stem cell-enriched epithelium[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0134853 [2025–06–21]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26248284/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0134853.
- [25] Bhela S, Mulik S, Gimenez F, et al. Role of miR-155 in the pathogenesis of herpetic stromal keratitis[J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(4): 1073–1084. DOI: 10.1016/j.ajpath.2014.12.021.
- [26] Mitra RN, Zheng M, Han Z. Nanoparticle-motivated gene delivery for ophthalmic application[J]. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2016, 8(1): 160–174. DOI: 10.1002/wnan.1356.
- [27] Du Y, Funderburgh ML, Mann MM, et al. Multipotent stem cells in human corneal stroma[J]. *Stem Cells*, 2005, 23(9): 1266–1275. DOI: 10.1634/stemcells.2004-0256.
- [28] Du Y, Carlson EC, Funderburgh ML, et al. Stem cell therapy restores transparency to defective murine corneas[J]. *Stem Cells*, 2009, 27(7): 1635–1642. DOI: 10.1002/stem.91.
- [29] Basu S, Hertsberg AJ, Funderburgh ML, et al. Human limbal biopsy-derived stromal stem cells prevent corneal scarring[J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(266): 266ra172. DOI: 10.1126/scitranslmed.3009644.
- [30] Dominici M, Blanc KL, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy Position Statement[J]. *Cytotherapy*, 2006, 8(4): 315–317. DOI: 10.1080/14653240600855905.
- [31] Wang J, Liao L, Tan J. Mesenchymal-stem-cell-based experimental and clinical trials: current status and open questions[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2011, 11(7): 893–909. DOI: 10.1517/14712598.2011.574119.
- [32] Ryan JM, Barry FP, Murphy JM, et al. Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection[J]. *J Inflamm (Lond)*, 2005, 2: 8. DOI: 10.1186/1476-9255-2-8.
- [33] Call M, Elzarka M, Kunesh M, et al. Therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells for the treatment of congenital and acquired corneal opacity[J]. *Mol Vis*, 2019, 25: 415–426.
- [34] Almaliotis D, Koliakos G, Papakonstantinou E, et al. Mesenchymal stem cells improve healing of the cornea after alkali injury[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2015, 253(7): 1121–1135. DOI: 10.1007/s00417-015-3042-y.

- [35] Yun YI, Park SY, Lee HJ, et al. Comparison of the anti-inflammatory effects of induced pluripotent stem cell-derived and bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in a murine model of corneal injury [J]. *Cytotherapy*, 2017, 19(1): 28–35. DOI: 10.1016/j.jcyt.2016.10.007.
- [36] Roddy GW, Oh JY, Lee RH, et al. Action at a distance: systemically administered adult stem/progenitor cells (MSCs) reduce inflammatory damage to the cornea without engraftment and primarily by secretion of TNF- α stimulated gene/protein 6 [J]. *Stem Cells*, 2011, 29(10): 1572–1579. DOI: 10.1002/stem.708.
- [37] Calonge M, Pérez I, Galindo S, et al. A proof-of-concept clinical trial using mesenchymal stem cells for the treatment of corneal epithelial stem cell deficiency [J]. *Transl Res*, 2019, 206: 18–40. DOI: 10.1016/j.trsl.2018.11.003.
- [38] Barrio JLAD, Zarif ME, de Miguel MP, et al. Cellular therapy with human autologous adipose-derived adult stem cells for advanced keratoconus [J]. *Cornea*, 2017, 36(8): 952–960. DOI: 10.1097/ICO.0000000000001228.
- [39] Demirayak B, Yüksel N, Çelik OS, et al. Effect of bone marrow and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells on the natural course of corneal scarring after penetrating injury [J]. *Exp Eye Res*, 2016, 151: 227–235. DOI: 10.1016/j.exer.2016.08.011.
- [40] Lan Y, Kodati S, Lee HS, et al. Kinetics and function of mesenchymal stem cells in corneal injury [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(7): 3638–3644. DOI: 10.1167/iovs.11-9311.
- [41] Cejka C, Cejkova J, Trosan P, et al. Transfer of mesenchymal stem cells and cyclosporine A on alkali-injured rabbit cornea using nanofiber scaffolds strongly reduces corneal neovascularization and scar formation [J]. *Histol Histopathol*, 2016, 31(9): 969–980. DOI: 10.14670/HH-11-724.
- [42] Javorkova E, Trosan P, Zajicova A, et al. Modulation of the early inflammatory microenvironment in the alkali-burned eye by systemically administered interferon- γ -treated mesenchymal stromal cells [J]. *Stem Cells Dev*, 2014, 23(20): 2490–2500. DOI: 10.1089/scd.2013.0568.
- [43] Yao L, Li ZR, Su WR, et al. Role of mesenchymal stem cells on cornea wound healing induced by acute alkali burn [J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30842 [2025-06-23]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22363499/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0030842.
- [44] Zajicova A, Pokorna K, Lencova A, et al. Treatment of ocular surface injuries by limbal and mesenchymal stem cells growing on nanofiber scaffolds [J]. *Cell Transplant*, 2010, 19(10): 1281–1290. DOI: 10.3727/096368910X509040.
- [45] Oh JY, Kim MK, Shin MS, et al. The anti-inflammatory and anti-angiogenic role of mesenchymal stem cells in corneal wound healing following chemical injury [J]. *Stem Cells*, 2008, 26(4): 1047–1055. DOI: 10.1634/stemcells.2007-0737.
- [46] Lee JY, Jeong HJ, Kim MK, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells affect immunologic profiling of interleukin-17-secreting cells in a chemical burn mouse model [J]. *Korean J Ophthalmol*, 2014, 28(3): 246–256. DOI: 10.3341/kjo.2014.28.3.246.
- [47] Holan V, Trosan P, Cejka C, et al. A comparative study of the therapeutic potential of mesenchymal stem cells and limbal epithelial stem cells for ocular surface reconstruction [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(9): 1052–1063. DOI: 10.5966/sctm.2015-0039.
- [48] Cejkova J, Trosan P, Cejka C, et al. Suppression of alkali-induced oxidative injury in the cornea by mesenchymal stem cells growing on nanofiber scaffolds and transferred onto the damaged corneal surface [J]. *Exp Eye Res*, 2013, 116: 312–323. DOI: 10.1016/j.exer.2013.10.002.
- [49] Jiang T, Cai L, Ji W, et al. Reconstruction of the corneal epithelium with induced marrow mesenchymal stem cells in rats [J]. *Mol Vis*, 2010, 16: 1304–1316.
- [50] Galindo S, Herreras JM, López-Paniagua M, et al. Therapeutic effect of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in experimental corneal failure due to limbal stem cell niche damage [J]. *Stem Cells*, 2017, 35(10): 2160–2174. DOI: 10.1002/stem.2672.
- [51] Gu S, Xing C, Han J, et al. Differentiation of rabbit bone marrow mesenchymal stem cells into corneal epithelial cells *in vivo* and *ex vivo* [J]. *Mol Vis*, 2009, 15: 99–107.
- [52] Espandar L, Caldwell D, Watson R, et al. Application of adipose-derived stem cells on scleral contact lens carrier in an animal model of severe acute alkaline burn [J]. *Eye Contact Lens*, 2014, 40(4): 243–247. DOI: 10.1097/ICL.000000000000045.
- [53] Soleimani M, Mirshahi R, Cheraqpour K, et al. Intrastromal versus subconjunctival injection of mesenchymal stem/stromal cells for promoting corneal repair [J]. *Ocul Surf*, 2023, 30: 187–195. DOI: 10.1016/j.jtos.2023.09.008.
- [54] Mitchell R, Mellows B, Sheard J, et al. Secretome of adipose-derived mesenchymal stem cells promotes skeletal muscle regeneration through synergistic action of extracellular vesicle cargo and soluble proteins [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 116. DOI: 10.1186/s13287-019-1213-1.
- [55] Willis CM, Nicaise AM, Hamel R, et al. Harnessing the neural stem cell secretome for regenerative neuroimmunology [J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 590960. DOI: 10.3389/fncel.2020.590960.
- [56] Shojaati G, Khandaker I, Funderburgh ML, et al. Mesenchymal stem cells reduce corneal fibrosis and inflammation via extracellular vesicle-mediated delivery of miRNA [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2019, 8(11): 1192–1201. DOI: 10.1002/sctm.18-0297.
- [57] Zhou J, Ding Y, Zhang Y, et al. Exosomes from bone marrow-derived mesenchymal stem cells facilitate corneal wound healing via regulating the p44/42 MAPK pathway [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2023, 261(3): 723–734. DOI: 10.1007/s00417-022-05956-4.
- [58] Saccu G, Menchise V, Gai C, et al. Bone marrow mesenchymal stromal/stem cell-derived extracellular vesicles promote corneal wound repair by regulating inflammation and angiogenesis [J]. *Cells*, 2022, 11(23): 3892. DOI: 10.3390/cells11233892.
- [59] Tao H, Chen X, Cao H, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for corneal wound repair [J]. *Stem Cells Int*, 2019, 2019: 5738510. DOI: 10.1155/2019/5738510.
- [60] Hertsensberg AJ, Shojaati G, Funderburgh ML, et al. Corneal stromal stem cells reduce corneal scarring by mediating neutrophil infiltration after wounding [J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0171712 [2025-06-23]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28257425/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0171712.
- [61] Oh JY, Roddy GW, Choi H, et al. Anti-inflammatory protein TSG-6 reduces inflammatory damage to the cornea following chemical and mechanical injury [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(39): 16875–16880. DOI: 10.1073/pnas.1012451107.
- [62] Swioklo S, Connon CJ. Keeping cells in their place: the future of stem cell encapsulation [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2016, 16(10): 1181–1183. DOI: 10.1080/14712598.2016.1213811.

(收稿日期:2025-07-19 修回日期:2026-01-07)

(本文编辑:骆世平 施晓萌)