



中国眼科干细胞再生医学领域现状及展望

赵宁, 金子兵*

首都医科大学附属北京同仁医院, 北京市眼科研究所, 北京 100730

* 联系人, E-mail: jinzb502@ccmu.edu.cn

收稿日期: 2022-03-16; 接受日期: 2022-04-25; 网络版发表日期: 2022-06-17

国家自然科学基金杰出青年科学基金(批准号: 82125007)、北京市自然科学基金重点专题(批准号: Z200014)和国家重点研发计划(批准号: 2017YFB0403700, 2017YFA0105300)资助

摘要 再生医学是当代生命科学的前沿和新医学革命的核心领域. 由于人类眼球结构与生理的独特性, 眼组织再生是再生医学研究最活跃的领域之一, 胚胎干细胞及诱导多能干细胞的临床试验均首先从眼科领域启幕, 深刻影响和带动其他领域的临床转化. 干细胞再生治疗正在革命性地改变、升级、更新眼科致盲性眼病的临床治疗, 包括角膜疾病、白内障、青光眼、视网膜色素变性和年龄相关性黄斑变性等. 本文对中国眼科干细胞再生医学的基础及临床研究现状进行总结, 讨论当前面临的挑战, 并展望了未来的发展方向.

关键词 再生医学, 眼科, 干细胞, 组织再生, 细胞治疗

作为光学和生物学意义上的“完美之作”, 人的眼球是一个精密、独特而复杂的视觉器官, 从角膜到晶状体和玻璃体, 再到视网膜和视神经, 任何一个部位的结构或功能损害都会影响视觉的形成, 甚至导致失明^[1]. 现阶段, 人工角膜移植术可挽救角膜盲患者的视功能; 手术人工晶体置换术能成功恢复白内障(cataract)患者清晰的视力; 人工玻璃体也在眼科手术中得到广泛应用; 同时, 抑制新生血管生成, 控制血管渗漏的药物也可以有效地稳定或改善湿性年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)患者的视觉. 然而截至目前, 视网膜及视神经的损伤仍是眼组织再生的瓶颈所在, 包括晚期青光眼(glaucoma)、黄斑变性(macular degeneration)、晚期糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy)、近视(myopia)、视网膜色素变

性(retinitis pigmentosa, RP)和Stargardts病(Stargardts disease, SD)在内的大多数累及视网膜及视神经的致盲性眼病尚缺乏有效的治疗方法, 仍有大量患者因此失明^[2](图1).

根据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)统计, 眼科疾病已成为继肿瘤、心血管疾病之后危害及影响人们生存质量的第三位疾患(图2). 据统计, 全球约有2.2亿视力障碍者. 中国是全世界盲人最多的国家之一, 我国视力障碍人数已达到1700多万人, 而由于盲道和导盲犬等基础设施的缺乏, 高达30%的视障人士选择不踏出家门, 大部分人因此丧失劳动和工作能力, 给社会 and 经济发展带来了不小的负担. 因此, 探索有效的致盲性眼病的治疗方法已成为目前眼科研究的重要方向.

引用格式: 赵宁, 金子兵. 中国眼科干细胞再生医学领域现状及展望. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 960–973

Zhao N, Jin Z B. Regenerative medicine in ophthalmology: current status and perspectives in China (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 960–973, doi: 10.1360/SSV-2021-0092

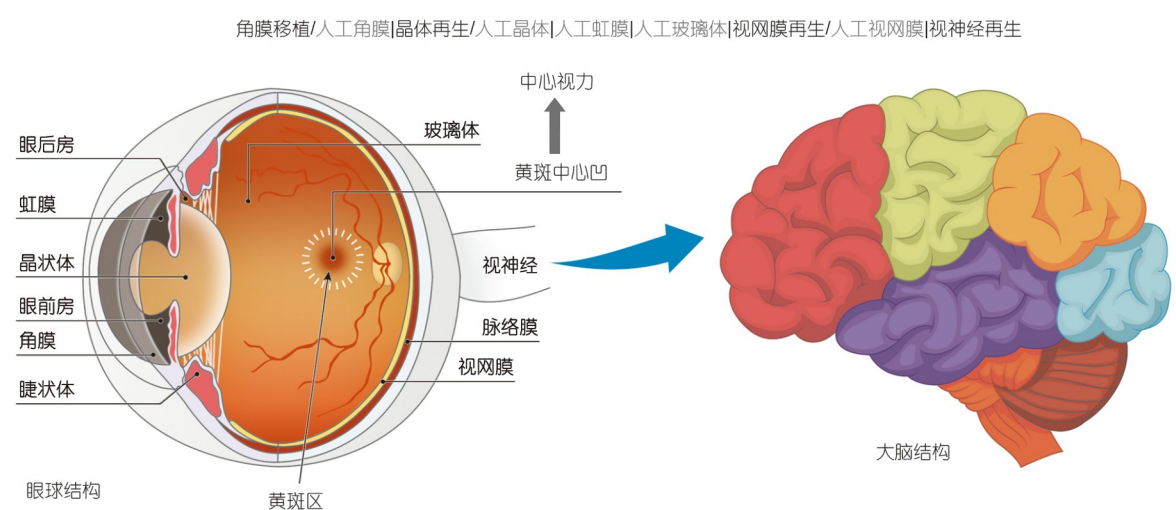


图 1 视觉器官组成结构模式图
Figure 1 Patterns of visual organ structures

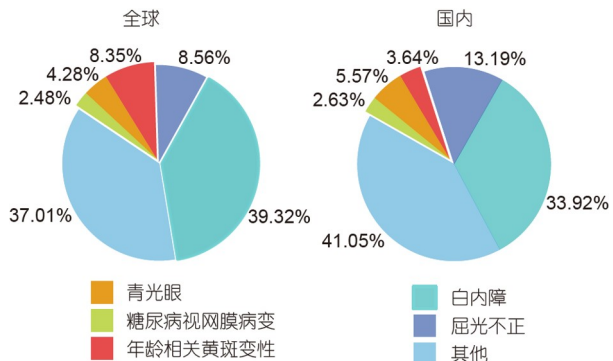


图 2 致盲病因疾病谱^[3,4]
Figure 2 Disease spectrum of global and domestic blindness^[3,4]

再生医学是最近几十年来逐步发展起来的学科。作为一个前沿交叉领域，再生医学应用生命科学、材料科学、临床医学、工程学等学科的原理和方法，研究和开发用于替代、修复、重建或再生人体各种组织器官的理论和新技术^[5]。近年来，随着再生医学的发展，利用干细胞和生物材料治疗眼科疾病的基础和临床研究逐渐增多，各种新技术和新的治疗方法不断涌现。我国也有大量科学家投身到眼科再生医学的基础和临床研究中，取得了许多原创性的研究成果(表1和2)。本文将对这些研究进行整理、归纳，并对中国眼科领域再生医学的现状进行总结和展望。

表 1 中国眼科干细胞再生研究现状总结

Table 1 Regenerative medicine in ophthalmology in China

眼组织		参考文献
角膜	角膜上皮	[24~31]
	角膜基质	[34~42]
	角膜内皮	[43~46]
晶状体		[49,51]
视网膜	光感受器细胞	[62~76,79]
	色素上皮细胞	[12~15,17,18]
	神经节细胞	[83~89,91~100,105~107,109~120]

1 视网膜色素上皮细胞移植治疗研究

视网膜色素上皮 (retina pigment epithelium, RPE) 细胞是视网膜最外层的单层细胞，位于光感受器细胞外节与Bruch膜之间，是血视网膜屏障的重要组成部分。RPE功能的完整性对视觉的维持和视网膜神经的存活起至关重要的作用。其中最重要的功能是能吞噬并降解光感受器细胞脱落的外节，若RPE细胞吞噬功能受损，光感受器细胞外节便会在视网膜下腔大量堆积，从而引起光感受器细胞的凋亡。同时，RPE还参与视黄酸的再循环和分泌血管内皮生长因子VEGF，在光感受器细胞和脉络膜血管功能的维持中发挥重要的作用。临床上，AMD和SD引起的RPE萎缩主要累及黄斑

表 2 中国眼科领域干细胞治疗的临床研究

Table 2 Clinical trials using cell-based therapies for retinal degenerative disease in China

疾病类型	移植细胞	临床阶段	负责单位	例数	状态
湿性AMD和青少年型黄斑变性	hESC-RPE	1/2	西南医院, 重庆	15	完成
干性AMD	hESC-RPE	1/2	北京同仁医院, 北京	10	进行中
视网膜色素变性	hESC-RPE	1	北京同仁医院, 北京	10	进行中
湿性AMD	hESC-RPE	1/2	郑州大学第一附属医院, 河南	10	未知
AMD	hiPSC-RPE	1/2	北京同仁医院, 北京	3	正在启动

区, 会导致患者中心视力逐渐丧失, 并最终发展为失明。这两种疾病RPE细胞的退化均早于光感受器细胞的缺失, 特别适于进行RPE细胞移植治疗以替代功能损伤或凋亡的RPE细胞, 重新建立视觉信号通路(图3)。

目前, 研究人员已成功构建了多种由多能干细胞(pluripotent stem cells, PSCs)分化为RPE细胞的诱导方法^[6-8], 同时大量动物实验结果证明, 移植的RPE细胞可挽救视网膜退行性动物的视功能^[9-11]。我国科学家也在此基础上开展了多项临床前研究, 研究人员将人胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)和诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)来源的RPE细胞移植到视网膜退行性疾病RCS大鼠中, 观察到移植的细胞整合良好, 同时视网膜电生理检查提示, 移植后大鼠的视功能得到一定程度的恢复^[12-15]。这些临床前研究结果促使RPE细胞移植的临床试验在多个国家陆续开展, 现阶段的临床试验结果证实了ESCs来源的RPE细胞在AMD(NCT01344993)以及SD(NCT01469832)移植治疗中的安全性, 有效性也已得到初步验证。我国也有多项RPE移植临床试验正在进行, 包括利用ESCs来源的RPE治疗干性AMD(NCT03046407, NCT02755428), 利用ESCs来源的RPE治疗SD(NCT02749734), 以及利用ESCs来源的RPE治疗视网膜色素变性(NCT03944239), 相信在不久的将来会产出大量有价值的研究结果。

常见的RPE移植多以细胞悬液的形式进行, 但是这种移植方式与体内RPE细胞的单层、极性分布方式不一致, 会在一定程度上影响细胞整合效果。另一种方法是将干细胞衍生的RPE细胞接种到生物工程支架上再进行移植, 这可以明显提高移植的稳定性并维持细胞极性。临床试验结果也表明, 含RPE支架的细胞植入

具有良好的安全性^[16]。我国研究人员也开发了多款适用于RPE移植的细胞支架, 能有效改善细胞存活和整合效率, 增加细胞移植治疗的效果^[17,18]。

目前, 国内RPE细胞的基础和临床研究都取得了一定的进展, 后续临床试验的结果必将对各种视网膜退行性疾病的RPE细胞替代治疗带来深远的影响。

2 角膜再生

角膜是视觉系统的窗口, 作为屏障和透镜来聚焦进入眼睛的光线^[19]。眼角膜具有丰富的复杂性和功能。角膜疾病通常由炎症、创伤、全身性疾病以及邻近组织的病理变化引起, 最终可能导致视力受损, 甚至由于角膜血管化、角化、角膜瘢痕和混浊导致失明^[20]。在一些严重的情况下, 角膜重建是十分有必要的, 对提高角膜透明性和恢复视力具有积极的治疗作用。角膜病患率高、致盲性强, 位居全球致盲原因第二位。目前, 全球约有超过1000万的角膜盲患者; 同时, 角膜病也是我国第二大致盲性眼病, 调查显示, 我国现有角膜盲患者约100多万^[21]。角膜病的经济负担主要涵盖医疗保健支出、工作效率降低造成的损失以及对生活质量的影响。而且随着社会人口老龄化加剧, 角膜病的患病率呈快速增长状态。有关专家预计, 到2050年, 我国老龄人口将达到总人口数的1/3。由此可见, 我国角膜病的发病率还会呈现升高的趋势, 我国角膜病治疗的支出也将呈现明显增加趋势, 因而其总体对于社会经济和发展的影响不容忽视。

迄今为止, 同种异体角膜移植是治疗不可逆性角膜盲最有效的方法。目前, 角膜移植主要以健康捐赠的角膜组织代替受损角膜。然而, 角膜供体的极度匮

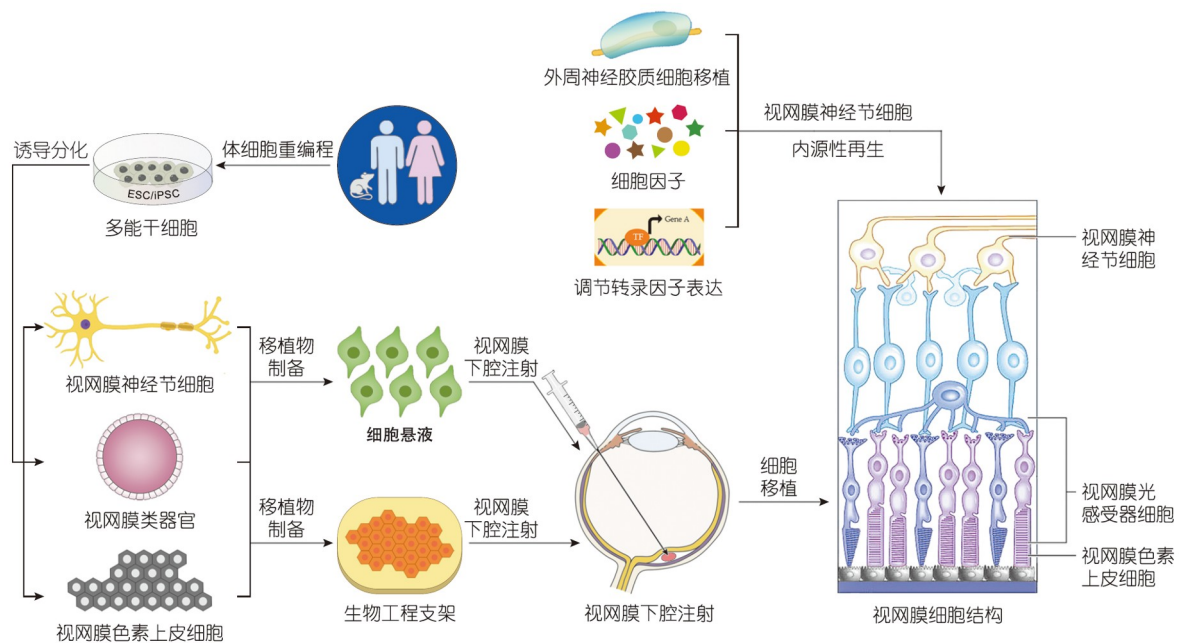


图 3 视网膜再生技术路径

Figure 3 Approaches to retinal regeneration

乏使其应用受到了限制, 远远满足不了角膜盲患者的需求: 我国每年约有30万患者需行角膜移植术, 但因供体角膜有限, 每年完成移植手术的患者尚不足5000例^[21]. 因此, 寻找有效的角膜替代物用于角膜移植一直是眼科界研究的热点. 随着组织工程和细胞工程技术的不断发展, 角膜再生研究也取得了一定的进展, 包括角膜上皮再生、角膜基质再生和角膜内皮再生三个方面.

角膜上皮是一种具有自我更新能力的组织, 由周边的角膜缘干细胞(limbal stem cells, LSCs)不断分化并向中心迁移再生上皮细胞. 先天或后天原因导致的角膜缘干细胞缺乏症(limbal stem cell deficiency, LSCD), 会影响角膜上皮的更新能力, 导致角膜进行性混浊、慢性溃疡、结膜化或新生血管, 影响患者视力甚至导致失明. 国外已有多项研究证实LSCs移植对于再生角膜上皮细胞的可行性和安全性^[22,23]. 国内科学家也针对LSCs基础及移植研究开展了部分工作. 其中, 谢立信教授团队^[24]通过移植异基因来源LSCs, 观察到患者角膜透明度得到明显改善, 证实了其在治疗LSCD中的有效性. 另一组研究人员对晚期严重化学或热烧伤患者进行自体角膜缘干细胞移植联合深板层

角膜成形术, 术后观察到85.9%的术眼的角膜, 特别是中央角膜区域完全恢复透明, 证明该手术方式可同时恢复正常稳定的眼表, 创造清晰的角膜, 并显著提高严重化学或热烧伤后的患者视力^[25].

目前, LSCs的体外培养已在国内多项研究中成功重现, 研究人员还结合组织工程技术将LSCs接种到多种生物载体上, 大大提高了移植后角膜损伤的修复效率^[26-30]. 随着干细胞技术的不断发展, 由PSCs直接分化为LSCs的方法逐渐出现. 国内研究人员成功将人胚胎干细胞分化为LSCs, 并以脱细胞猪角膜基质作为支架, 移植到兔LSCD模型中, 发现该移植片具有重建受损眼表和减轻角膜新生血管侵袭的潜力^[31]. 以上研究结果为LSCD提供了一种全新的治疗策略, 同时PSCs来源的LSCs能为临床移植治疗提供更安全、数量更充足的种子细胞, 有望克服目前限制LSCs广泛应用的瓶颈, 为更多LSCD患者提供治疗机会.

角膜基质约占角膜厚度的90%, 由200~250层平行排列的纤维小板构成, 这些纤维小板主要为直径一致、排列规则的胶原纤维束, 保证基质的透明度. 然而, 在创伤和感染等损伤刺激下, 基质会形成不透明的瘢痕组织, 严重影响视力, 这种由于基质瘢痕引起

的角膜盲的发生率甚至比LSCD导致的角膜盲的发病率还要高^[32]。研究证明, 位于角膜缘的角膜基质干细胞(corneal stromal stem cells, CSSC)在体外可以产生规则分布的细胞外基质, 与体内角膜基质的典型组织结构类似^[33]。在此基础上, 国内研究人员发现, 自体脂肪干细胞移植也可形成与在体角膜基质组织学结构和胶原纤维分布相似的细胞外基质, 并能显著恢复角膜透明度^[34], 提示自体脂肪干细胞在角膜基质移植中具有一定的应用前景。

近年来, 我国组织工程角膜基质的研究一直位于眼科组织工程类产品的最前列。2015年, 我国自主研发的脱细胞角膜基质产品“艾欣瞳”正式获得国家食品药品监督管理总局颁发的医疗器械注册证书, 这也是世界上第一个完成临床试验的脱细胞角膜基质产品, 解决了我国角膜供体缺乏所导致的患者无法及时进行角膜移植手术的问题^[35]。随后国内有大量针对各种组织工程角膜基质的研究开展^[36-42], 临床应用的安全性和有效性得到了初步的验证。

角膜内皮为紧密排列的单层细胞, 其特有的离子泵功能是维持角膜相对脱水状态和透明度的关键。人角膜内皮细胞在体内不可再生, 年龄的增长、外伤、手术、眼内炎症及病理因素都会引起角膜内皮细胞的损伤和缺失, 当损伤超过一定限度时, 则导致角膜内皮细胞密度小于临界功能密度, 从而引起角膜内皮失代偿, 导致角膜持续水肿失去透明性。目前国外研究人员主要从优化成人角膜内皮细胞的体外扩增方法和诱导胚胎干细胞或其他成体干细胞分化为角膜内皮细胞两方面开展研究工作, 实现角膜内皮细胞再生。我国针对以上两个方面也开展了相应的研究工作^[43-45], 同时组织工程材料在内皮细胞移植过程中的应用研究也取得了一定的进展^[46]。

根据Clinical Trial网站上登记的数据, 目前国内已开展了多个基于角膜各层细胞和组织移植的临床试验。这些临床试验结果将指导未来角膜疾病的治疗方式, 为目前无法治愈的角膜疾病患者带来希望。

3 晶状体再生治疗

晶状体位于角膜后方, 能将光线准确聚焦于视网膜, 并能通过调节作用看清远、近物体, 然而这些都需要以晶状体保持高度透明作为基础, 任何因素引起

的晶状体光学质量下降, 都将导致白内障的发生。目前, 白内障是导致全球人口视力下降的主要原因, 由白内障导致失明的人数占全世界致盲性眼病的37%^[20], 而在中国这一比例为33%左右(图2)。白内障同样是我国的主要致盲病因, 并且随着人口老龄化, 白内障的患病人数还将持续增高。人工晶状体植入是现阶段治疗白内障的有效手段, 已广泛应用于临床。然而, 白内障术后, 部分患者由于残余晶状体上皮干细胞(lens epithelial stem/progenitor cells, LECs)的无序和不规则再生而引起晶状体再次混浊, 通常会导致视力受损, 同时术后不良光学现象、炎症反应以及高昂的价格等问题也促使人们不断探索新的白内障治疗方法。

既往研究显示, 低等动物显示出强大的再生晶状体的能力, 且再生的晶状体具有功能并可维持一定的透明度^[47,48], 这引起了研究人员的广泛关注。中山大学的刘奕志教授团队^[49]针对儿童先天性白内障开发了一种新型的微创手术方法, 该方法保留了晶状体囊的完整性, 随后刺激内源性LECs生长并形成了具有功能的新晶状体, 该研究结果提供了一种新的白内障治疗策略, 并为内源性干细胞再生组织提供了新的思路。目前研究者正尝试将该工作扩展至治疗老年性白内障, 然而增强老年人LECs的再生能力和加快晶状体再生速度是目前需要解决的关键问题。

除了利用内源性细胞进行晶状体再生, PSCs来源的晶状体也受到关注, 既往的研究已成功将非人灵长类ESCs分化为晶状体组织^[50]。近年来, 浙江大学姚克教授研究组^[51]诱导尿液来源的诱导多能干细胞(urinary induced pluripotent stem cells, UiPSCs)分化为具有光学特性的类晶状体, 该方法可用于研究人类晶状体发育和白内障发生过程, 同时也有助于进行药物筛选研究。

晶状体的原位再生是一种十分新颖的治疗白内障的方式, 再生的晶状体能通过调整自身形状很好地发挥“聚焦”功能。而人工晶状体由于缺乏变形能力, 往往无法提供优质的视觉体验, 并可引发眩光等不良光学现象。因此未来将在此基础上对成人晶状体的再生开展研究。

4 视网膜感光细胞移植再生

视网膜作为视觉感知的中心单元, 在视觉形成过

程中起着重要作用. 光感受器细胞是视网膜中主要的感光细胞, 位于神经视网膜最外层, 负责感受外界光和图像等信息, 通过光电转化向大脑输送视觉信号, 并最终在大脑视觉皮层形成清晰的图像. 在人类视网膜中, 光感受器细胞包括一种视杆细胞和三种视锥细胞, 视杆细胞负责暗视觉, 提供低光强环境下的视力, 视锥细胞负责明视觉, 负责分辨精细形态和色觉. 光感受器细胞是终末分化的神经元细胞, 一旦丢失则无再生能力. 临床上, 视网膜退行性疾病, 如AMD, RP, SD和Leber先天性黑矇(Leber congenital melanosis, LCA)等均会引起光感受器细胞的损伤和缺失, 影响患者视力并最终导致失明, 目前对于该类疾病的治疗尚缺乏有效的手段. 通过光感受器细胞移植进行替代治疗作为一种全新的策略, 在视网膜退行性疾病中有着广阔的临床应用前景^[52](图3).

为了能有效地开展光感受器移植, 首先需要建立一个高效的能从可再生细胞中产生大量光感受器细胞的方法. 2011年, 日本科学家Sasai教授团队^[53]首次报道利用小鼠ESCs在体外成功分化出视网膜类器官, 该类器官具有包括光感受器细胞在内的多种神经视网膜细胞, 为视网膜移植治疗开辟了全新的途径. 随后大量研究人员在此基础上建立了各种高效的视网膜类器官的分化方法^[54-58], 能为光感受器移植治疗源源不断地提供供体细胞. 在过去的十几年里, 大量基于PSCs来源的光感受器细胞移植的临床前研究已在动物模型上开展^[52,54,56,59,60], 治疗的安全性和可行性等关键科学问题得到了初步验证. 2020年日本理化研究所的高桥政代教授宣布开启全球首个PSCs来源感光细胞移植的临床试验, 为光感受器细胞替代治疗走向临床迈出了关键的一步. 同时, 由Müller原位重编程为视网膜内层神经元方法的问世, 也为视网膜疾病的治疗提供了全新的思路^[61].

与此同时, 国内科研人员也在光感受器细胞再生领域开展了大量研究, 取得了一定的原创性成果. 本团队^[62,63]利用RP病人来源的UiPSCs分化为视网膜类器官, 该类器官分别成功在体外获得早发型和迟发型RP病人特异性的视网膜组织, 是研究疾病的发生过程, 进行药物筛选和开展个性化医疗良好的体外模型. 同时研究人员还利用基因编辑技术修复了早发型RP病人UiPSCs中的致病基因, 分化得到的视网膜细胞呈现出健康视网膜细胞的表型^[62], 该方法能为病人的移

植治疗提供健康的供体细胞, 在光感受器细胞移植治疗方面具有广阔的临床应用前景. 随后, 本团队^[64]通过在分化体系中添加WNT, TGF- β 和BMP信号通路联合拮抗剂构建了一种高效的视网膜类器官分化方法, 该方法能有效提高视锥细胞的获取效率, 为后续开展细胞替代治疗奠定基础. 同时, 中国科学技术大学薛天教授团队^[65]发现, 运用视网膜类器官和视网膜色素上皮细胞共培养的形式, 也可显著提高类器官的分化效率. 此外, 多项研究证实, 分别激活Shh信号通路, 增加Lin28b蛋白表达或降低P53基因的活性, 均可促进Müller细胞转分化为视网膜细胞^[66-69]. 该方法无需进行细胞移植手术, 只要刺激内源性Müller细胞即可产生新的自体光感受器细胞, 为视网膜细胞替代治疗提供了全新的研究方向.

在细胞移植方面, 上海同济大学徐国彤教授团队^[70]发现, 大鼠ESCs细胞分化得到的视网膜祖细胞可以在疾病模型大鼠的视网膜中存活, 并在移植后保护视网膜结构和功能. 第三军医大学阴正勤教授团队^[71,72]将人ESCs来源的视网膜祖细胞移植入退行性疾病模型小鼠的视网膜中, 成功观察到了移植的细胞在宿主视网膜中的细胞整合和视功能的改善. 除了感光细胞外, 间充质干细胞、神经干细胞以及嗅觉神经鞘细胞等非光感受器细胞的移植研究证明, 上述细胞具有一定的免疫调节和神经保护作用, 能改善移植部位的细胞生存环境, 提高光感受器细胞移植的成功率^[73-76]. 然而, 将非视网膜细胞注入到视网膜中也引起了人们对可能发生的并发症的担忧, 移植的安全性和有效性还需要进一步研究验证.

在过去的几年里, 研究人员发现, 以往在光感受器细胞移植实验中观察到的供体细胞整合现象可能是由于供体和宿主细胞之间RNA和蛋白质的交换引起的, 并且这种物质交换也可以在一定程度上改善宿主细胞的功能^[77,78]. 本团队^[79]发现, 特定干细胞能通过细胞间形成的细胞纳米微管隧道(tunneling nanotubes, TNT)向视网膜感光细胞转移线粒体和溶酶体, 并且转移后的线粒体能帮助受损的视网膜细胞修复线粒体功能, 有效减少细胞凋亡, 该研究提出了细胞移植治疗视网膜退行性疾病的全新机制.

我国在视网膜光感受器细胞再生的基础和应用基础研究领域取得了较多优秀的成果, 但临床前的研究仍面临许多问题, 临床试验方面与国际上还存在较大差距.

5 视神经的再生

视神经是指由视盘至视交叉的一段视觉神经, 主要由视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)的轴突组成, 负责将视觉信息从眼睛向大脑传递. 由创伤、青光眼或神经退行性疾病引起的视神经损伤往往会引起RGCs受损或缺失, 严重影响视觉功能甚至导致失明. 普遍的观点认为, 成年哺乳动物的中枢神经系统包括视网膜神经节细胞是终末分化的细胞, 神经元切断后将不可避免地引起神经元的死亡. 然而科学家发现, 周围神经胶质细胞(即Schwann细胞)具有促进中枢神经系统的神经细胞再生的能力, 通过将包含Schwann细胞的周围神经移植到哺乳动物的大脑、脊髓或者视神经内, 观察到中枢神经细胞的轴突能再生进入移植的周围神经内, 并可沿着移植组织进行延伸^[80]. 随后研究人员证明, 外周神经移植的这种促进神经再生作用主要通过Schwann细胞分泌的神经营养因子实现^[81,82](图3).

与此同时, 我国科学家对多种细胞营养因子在视神经再生中的作用开展了大量的研究. 通过将睫状神经细胞营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)注入视神经损伤大鼠模型的体内, 发现注射CNTF组RGCs的存活率和轴突的密度明显高于未注射组, 证明CNTF具有保护和促进RGCs轴突再生的能力^[83]. 同时, CNTF促进轴突再生的作用在其他动物模型中也得到了验证^[84-86]. 另外, 研究人员分别证明了神经胶质细胞源性神经营养因子(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)、成纤维细胞生长因子2(fibroblast growth factor 2, FGF2)和中脑星形胶质细胞源性神经营养因子(mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor, MANF)同样具有保护和促进损伤后的RGCs轴突再生的作用^[87-89]. 据报道, 晶状体损伤可以促进视网膜神经节细胞的存活, 并刺激轴突的再生^[90]. 因此, 研究人员将视网膜神经细胞培养在晶状体提取物中, 发现其能有效提高视网膜细胞的存活, 并在一定程度上促进视网膜神经细胞轴突的生长, 提示晶状体提取物对细胞具有直接的神经营养作用^[91]. 除了神经营养因子外, 研究人员还发现多种因子都可以促进RGCs的再生, 例如, 促红细胞生长素^[92,93]、小分子化合物Y-39983^[94]、肌苷^[95]、支链氨基酸(Branched-chain amino acids, BCAAs)^[96]、临床麻醉药依托咪

酯^[97,98]、7,8,3'-三羟基黄酮(7,8,3'-trihydroxyflavone, THF)^[99]、亚甲蓝^[100]等, 这些因子为临床上青光眼等视神经损伤的治疗提供了多样的候选药物.

在视网膜早期发育过程中, RGCs表现出强大的再生能力, 但是随后RGCs的再生能力随着发育过程逐渐丧失^[101], 这一过程主要由Klf-4, Klf9和PTEN等多种转录因子调控^[102,103]. 因此, 通过调节这些转录因子的表达理论上应该能调控RGCs的再生能力. 2008年, 哈佛大学研究人员首次报道通过敲除*Pten*基因可以显著促进小鼠RGCs轴突的再生^[104]. 我国科学家随后也证实, *Pten*基因的敲除可起到提高RGCs轴突再生能力的作用, 同时还发现*Lin28*基因表达上调也能显著增强RGCs轴突的再生能力^[105]. 随后, 借助腺相关病毒2(adeno-associated virus 2, AAV2)过表达*Nrn1*基因或沉默*RhoA*基因的表达也被证明可以促进RGCs轴突的再生^[106,107]. 以上研究结果证明, 通过AAV病毒介导的基因编辑技术能有效调节RGCs轴突的再生, 为视神经损伤的临床治疗提供一种全新的方法.

与此同时, 目前较成熟的细胞替代疗法在RGCs的研究中却遇到了诸多阻碍. 由于RGCs独特的分布特点, 为了在细胞移植治疗中恢复视觉功能, 干细胞首先必须正确地分化为RGCs, 与视网膜中的无长突细胞和双极细胞整合以接收视觉信息, 在受损或病变的视神经下生长延伸轴突, 并成功与外侧膝状体和大脑其他区域的位置形成正确的连接^[108]. 这其中的每一个过程都需要通过大量研究予以实现, 因此目前关于RGCs的细胞移植研究还处在起步阶段.

近年来, 基于干细胞的RGCs分化方法成功构建, 其中我国的研究人员通过在小鼠iPSCs中过表达RGCs特异性*Math5*基因, 成功分化得到RGC细胞^[109]. 随后, 该组研究人员通过过表达RGCs特异性*ATOH7*, 成功将人iPSCs诱导分化为RGCs, 提示该方法能为细胞替代治疗提供优质的供体细胞^[110]. 同时, 另一组研究人员利用Müller细胞重编程为iPS细胞, 并在该iPS细胞内过表达*Atoh7*基因, 同样成功得到RGC细胞^[111], 再一次证明iPS细胞向RGC细胞分化的可行性. 此外, 研究人员证明, 腺病毒介导的*Ascl1*, *Bmn3b*和*Ngn23*三个转录因子的过表达, 可成功构建小鼠成纤维细胞来源的RGCs样细胞^[112]. 并且, 通过逆转录病毒过表达*Ascl1*, *Bmn3b/3a*和*Isl1*这三个转录因子^[113], 也可以将人和鼠的成纤维细胞转分化为包含有RGCs的感觉神经节细胞, 并形成

具有多种神经联系的类器官, 可作为解读神经系统病发病机制的良好模型, 也可筛选有效药物并为替代治疗提供可靠细胞来源. 值得注意的是, 这种转分化方式获得的RGCs未经过细胞多能性阶段, 避免了应用PSCs可能出现的成瘤性风险, 为细胞替代治疗提供了一种全新的细胞来源. 然而, 这些研究仍面临很多争议^[114].

同时, 研究人员发现, 骨髓间充质干细胞^[115-117]、脐带来源间充质干细胞^[118]、脂肪干细胞^[119]以及嗅觉神经鞘细胞^[120]等通过向细胞外分泌多种营养因子, 具有促进视神经损伤修复和轴突再生等神经保护作用, 在改善视神经损伤程度和局部微环境, 保护现有细胞并防止进一步的细胞丢失方面具有积极作用. 在经过充分的安全性验证后, 这些细胞可以作为辅助成分增强细胞替代疗法的治疗效果.

近期的国外研究证明, 将RGCs移植到健康的大鼠视网膜中, 可观察到RGCs的局部整合、突触的形成、产生对光的反应, 并且有少量RGC轴突沿视神经延伸至大脑背外侧膝状体核和上丘脑^[121]. 这项研究结果在一定程度上证明RGCs替代疗法的可行性, 但是该方法在视神经损伤疾病模型中的效果尚未可知, 还需要大量的临床前实验进一步验证, 这将会是未来实现RGCs替代治疗的关键.

6 讨论与展望

所谓再生医学, 就是利用干细胞或生物工程等技术获得正常的细胞、组织或器官, 并将其替代、修复或重建人体病变或缺失的细胞、组织或器官的过程. 整个过程可以分为以下三个部分: 细胞、组织或器官的获得, 植入体内的方式, 整合入宿主体内并发挥功能. 其中任何一个部分出现问题都将影响整个再生的

效果.

从眼科的再生医学领域分析, 目前再生的细胞一般都是从成体干细胞或多能干细胞分化而来, 但是成体干细胞获取的数量有限, 难以进行大规模的批量生产; 多能干细胞虽然可以无限利用, 但其在临床应用中仍然存在一定的致瘤风险. 而激活成纤维细胞或者原位的Müller细胞的重编程和转分化过程, 可以很好地解决上述问题, 但是其转分化的效率非常低, 将是临床转化的瓶颈所在. 同时, 引入对每次实验中细胞的纯度、活性和其所处的发育阶段进行了标准化处理的GMP(Good Manufacturing Practice)级别的细胞, 是进行临床试验所必需的.

对于移植方式的选择, 不同的组织有不同的最适移植方式. 常用的细胞移植多以悬液的形式进行, 但是由于眼内组织尤其是视网膜具有明显的极性分布特点, 这种细胞杂乱无序的悬液移植方式会在一定程度上影响整合效率. 目前, 细胞结合生物工程支架的移植方式可以明显提高移植的稳定性并维持细胞极性, 在临床试验中表现出良好的移植效果.

一亩高产的稻田, 需要优良的种子, 更需要肥沃的土壤. 供体细胞整合入宿主体内并发挥功能是移植治疗成功的关键一步. 除了供体细胞本身的状态外, 细胞的生存环境也十分重要, 它会直接影响到供体细胞的存活. 既往研究已证实, 间充质干细胞、神经干细胞等细胞可以通过分泌细胞因子的方式发挥免疫调节和神经保护作用. 因此, 在临床研究中可以采取间充质干细胞联合供体细胞移植的方式, 也可以通过直接添加各种细胞因子, 以提高移植的成功率.

眼科再生医学正处在蓬勃发展阶段, 各种新方法新技术不断涌现, 只要抓住机遇, 必定能为改变眼科临床重大治疗做出重要贡献.

参考文献

- 1 Jin Z B. Eyes on the future ophthalmology (in Chinese). *Ophthalmol China*, 2021, 30: 169–172 [金子兵. 从千年过去看眼科未来. *眼科*, 2021, 30: 169–172]
- 2 Jin Z B, Gao M L, Deng W L, et al. Stemming retinal regeneration with pluripotent stem cells. *Prog Retinal Eye Res*, 2018, 69: 38–56
- 3 Xu T, Wang B, Liu H, et al. Prevalence and causes of vision loss in China from 1990 to 2019: findings from the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Public Health*, 2020, 5: e682–e691
- 4 Steinmetz J D, Bourne R R A, Briant P S, et al. Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: the Right to Sight: an analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Glob Health*, 2021, 9: e144–e160

- 5 Li J Y, Han S F, Xiao Z F, et al. Clinical studies on neural regeneration in traumatic spinal cord injury (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2019, 49: 673–682 [李佳音, 韩素芳, 肖志峰, 等. 脊髓损伤再生修复的临床研究进展. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 673–682]
- 6 Osakada F, Jin Z B, Hirami Y, et al. *In vitro* differentiation of retinal cells from human pluripotent stem cells by small-molecule induction. *J Cell Sci*, 2009, 122: 3169–3179
- 7 Iwasaki Y, Sugita S, Mandai M, et al. Differentiation/purification protocol for retinal pigment epithelium from mouse induced pluripotent stem cells as a research tool. *PLoS ONE*, 2016, 11: e0158282
- 8 Ye K, Takemoto Y, Ito A, et al. Reproducible production and image-based quality evaluation of retinal pigment epithelium sheets from human induced pluripotent stem cells. *Sci Rep*, 2020, 10: 14387
- 9 Sugita S, Iwasaki Y, Makabe K, et al. Successful transplantation of retinal pigment epithelial cells from MHC homozygote iPSCs in MHC-matched models. *Stem Cell Rep*, 2016, 7: 635–648
- 10 Carr A J, Vugler A A, Hikita S T, et al. Protective effects of human iPSC-derived retinal pigment epithelium cell transplantation in the retinal dystrophic rat. *PLoS ONE*, 2009, 4: e8152
- 11 McGill T J, Bohana-Kashtan O, Stoddard J W, et al. Long-term efficacy of GMP grade Xeno-free hESC-derived RPE cells following transplantation. *Trans Vis Sci Tech*, 2017, 6: 17
- 12 Wu W, Zeng Y, Li Z, et al. Features specific to retinal pigment epithelium cells derived from three-dimensional human embryonic stem cell cultures—a new donor for cell therapy. *Oncotarget*, 2016, 7: 22819–22833
- 13 Li Q Y, Zou T, Gong Y, et al. Functional assessment of cryopreserved clinical grade hESC-RPE cells as a qualified cell source for stem cell therapy of retinal degenerative diseases. *Exp Eye Res*, 2021, 202: 108305
- 14 Zhang H, Su B, Jiao L, et al. Transplantation of GMP-grade human iPSC-derived retinal pigment epithelial cells in rodent model: the first pre-clinical study for safety and efficacy in China. *Ann Transl Med*, 2021, 9: 245
- 15 Li F, Zeng Y, Xu H, et al. Subretinal transplantation of retinal pigment epithelium overexpressing fibulin-5 inhibits laser-induced choroidal neovascularization in rats. *Exp Eye Res*, 2015, 136: 78–85
- 16 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. *Nat Biotechnol*, 2018, 36: 328–337
- 17 Xiang P, Wu K C, Zhu Y, et al. A novel Bruch's membrane-mimetic electrospun substrate scaffold for human retinal pigment epithelium cells. *Biomaterials*, 2014, 35: 9777–9788
- 18 Ru L, Wu N, Wei K, et al. Improving cell survival and engraftment *in vivo* via layer-by-layer nanocoating of hESC-derived RPE cells. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11: 495
- 19 Stern J H, Tian Y, Funderburgh J, et al. Regenerating eye tissues to preserve and restore vision. *Cell Stem Cell*, 2018, 22: 834–849
- 20 Flaxman S R, Bourne R R A, Resnikoff S, et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990–2020: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*, 2017, 5: e1221–e1234
- 21 Song X, Xie L, Tan X, et al. A multi-center, cross-sectional study on the burden of infectious keratitis in China. *PLoS ONE*, 2014, 9: e113843
- 22 Rama P, Matuska S, Paganoni G, et al. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *N Engl J Med*, 2010, 363: 147–155
- 23 Pellegrini G, Traverso C E, Franzi A T, et al. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet*, 1997, 349: 990–993
- 24 Chen P, Zhou Q, Wang J, et al. Characterization of the corneal surface in limbal stem cell deficiency and after transplantation of cultured allogeneic limbal epithelial cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2016, 254: 1765–1777
- 25 Yao Y F, Zhang B, Zhou P, et al. Autologous limbal grafting combined with deep lamellar keratoplasty in unilateral eye with severe chemical or thermal burn at late stage. *Ophthalmology*, 2002, 109: 2011–2017
- 26 Yin J Q, Liu W Q, Liu C, et al. Establishment of goat limbal stem cell strain expressing Venus fluorescent protein and construction of limbal epithelial sheets (in Chinese). *Chin J Biotechnol*, 2010, 26: 1636–1644 [殷吉庆, 刘文强, 刘超, 等. 山羊角膜缘干细胞荧光蛋白(Venus)细胞株的建立及角膜上皮植片构建. 生物工程学报, 2010, 26: 1636–1644]
- 27 Zhang J, Huang C, Feng Y, et al. Comparison of beneficial factors for corneal wound-healing of rat mesenchymal stem cells and corneal limbal stem cells on the xenogeneic acellular corneal matrix *in vitro*. *Mol Vis*, 2012, 18: 161–173
- 28 Du Y, Chen J, Funderburgh J L, et al. Functional reconstruction of rabbit corneal epithelium by human limbal cells cultured on amniotic membrane. *Mol Vis*, 2003, 9: 635–643

- 29 Li G, Zhang Y, Cai S, et al. Human limbal niche cells are a powerful regenerative source for the prevention of limbal stem cell deficiency in a rabbit model. *Sci Rep*, 2018, 8: 6566
- 30 Li Y, Yang Y, Yang L, et al. Poly(ethylene glycol)-modified silk fibroin membrane as a carrier for limbal epithelial stem cell transplantation in a rabbit LSCD model. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8: 256
- 31 Zhu J, Zhang K, Sun Y, et al. Reconstruction of functional ocular surface by acellular porcine cornea matrix scaffold and limbal stem cells derived from human embryonic stem cells. *Tissue Eng Part A*, 2013, 19: 2412–2425
- 32 Oliva M S, Schottman T, Gulati M. Turning the tide of corneal blindness. *Ind J Ophthalmol*, 2012, 60: 423–427
- 33 Du Y, Sundarraj N, Funderburgh M L, et al. Secretion and organization of a cornea-like tissue *in vitro* by stem cells from human corneal stroma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48: 5038–5045
- 34 Ma X Y, Bao H J, Cui L, et al. The graft of autologous adipose-derived stem cells in the corneal stroma after mechanic damage. *PLoS ONE*, 2013, 8: e76103
- 35 Zhang M C, Liu X, Jin Y, et al. Lamellar keratoplasty treatment of fungal corneal ulcers with acellular porcine corneal stroma. *Am J Transplant*, 2015, 15: 1068–1075
- 36 Lin X C, Hui Y N, Wang Y S, et al. Lamellar keratoplasty with a graft of lyophilized acellular porcine corneal stroma in the rabbit. *Vet Ophthalmol*, 2008, 11: 61–66
- 37 Xiao J, Duan H, Liu Z, et al. Construction of the recellularized corneal stroma using porous acellular corneal scaffold. *Biomaterials*, 2011, 32: 6962–6971
- 38 Ma X Y, Zhang Y, Zhu D, et al. Corneal stroma regeneration with acellular corneal stroma sheets and keratocytes in a rabbit model. *PLoS ONE*, 2015, 10: e0132705
- 39 Cui Z, Zeng Q, Liu S, et al. Cell-laden and orthogonal-multilayer tissue-engineered corneal stroma induced by a mechanical collagen microenvironment and transplantation in a rabbit model. *Acta Biomater*, 2018, 75: 183–199
- 40 Jiang X, Wang Y, Qiu W, et al. Corneal stromal transplantation with human-derived acellular dermal matrix for pellucid marginal corneal degeneration: a nonrandomized clinical trial. *Transplantation*, 2019, 103: e172–e179
- 41 Li S, Deng Y, Tian B, et al. Healing characteristics of acellular porcine corneal stroma following therapeutic keratoplasty. *Xenotransplantation*, 2020, 27
- 42 Sun X, Yang X, Song W, et al. Construction and evaluation of collagen-based corneal grafts using polycaprolactone to improve tension stress. *ACS Omega*, 2020, 5: 674–682
- 43 Chen J, Shao C, Lu W, et al. Adenosine triphosphate-induced rabbit corneal endothelial cell proliferation *in vitro* via the P2Y2-PI3K/Akt signaling axis. *Cells Tissues Organs*, 2014, 199: 131–139
- 44 Shao C, Chen J, Chen P, et al. Targeted transplantation of human umbilical cord blood endothelial progenitor cells with immunomagnetic nanoparticles to repair corneal endothelium defect. *Stem Cells Dev*, 2015, 24: 756–767
- 45 Shao C, Fu Y, Lu W, et al. Bone marrow-derived endothelial progenitor cells: a promising therapeutic alternative for corneal endothelial dysfunction. *Cells Tissues Organs*, 2011, 193: 253–263
- 46 Chen J, Yan C, Zhu M, et al. Electrospun nanofibrous SF/P(LLA-CL) membrane: a potential substratum for endothelial keratoplasty. *IJN*, 2015, 10: 3337–3350
- 47 Eguchi G, Abe S I, Watanabe K. Differentiation of lens-like structures from newt iris epithelial cells *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, 71: 5052–5056
- 48 Stewart D S, 'Espinasse P G. Regeneration of the lens of the eye in the rabbit. *Nature*, 1959, 183: 1815
- 49 Lin H, Ouyang H, Zhu J, et al. Lens regeneration using endogenous stem cells with gain of visual function. *Nature*, 2016, 531: 323–328
- 50 Ooto S, Haruta M, Honda Y, et al. Induction of the differentiation of lentoids from primate embryonic stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44: 2689–2693
- 51 Fu Q, Qin Z, Jin X, et al. Generation of functional lentoid bodies from human induced pluripotent stem cells derived from urinary cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58: 517–527
- 52 Gasparini S J, Llonch S, Borsch O, et al. Transplantation of photoreceptors into the degenerative retina: current state and future perspectives. *Prog Retinal Eye Res*, 2019, 69: 1–37
- 53 Eiraku M, Sasai Y. Mouse embryonic stem cell culture for generation of three-dimensional retinal and cortical tissues. *Nat Protoc*, 2011, 7: 69–

- 54 Assawachananont J, Mandai M, Okamoto S, et al. Transplantation of embryonic and induced pluripotent stem cell-derived 3D retinal sheets into retinal degenerative mice. [Stem Cell Rep](#), 2014, 2: 662–674
- 55 Zhong X, Gutierrez C, Xue T, et al. Generation of three-dimensional retinal tissue with functional photoreceptors from human iPSCs. [Nat Commun](#), 2014, 5: 4047
- 56 Kruczek K, Gonzalez-Cordero A, Goh D, et al. Differentiation and transplantation of embryonic stem cell-derived cone photoreceptors into a mouse model of end-stage retinal degeneration. [Stem Cell Rep](#), 2017, 8: 1659–1674
- 57 DiStefano T, Chen H Y, Panebianco C, et al. Accelerated and improved differentiation of retinal organoids from pluripotent stem cells in rotating-wall vessel bioreactors. [Stem Cell Rep](#), 2018, 10: 300–313
- 58 Kim S, Lowe A, Dharmat R, et al. Generation, transcriptome profiling, and functional validation of cone-rich human retinal organoids. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2019, 116: 10824–10833
- 59 Shirai H, Mandai M, Matsushita K, et al. Transplantation of human embryonic stem cell-derived retinal tissue in two primate models of retinal degeneration. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2016, 113: E81–E90
- 60 Mandai M, Fujii M, Hashiguchi T, et al. iPSC-derived retina transplants improve vision in *rdl* end-stage retinal-degeneration mice. [Stem Cell Rep](#), 2017, 8: 69–83
- 61 Park K K, Liu K, Hu Y, et al. Promoting axon regeneration in the adult CNS by modulation of the PTEN/mTOR pathway. [Science](#), 2008, 322: 963–966
- 62 Deng W L, Gao M L, Lei X L, et al. Gene correction reverses ciliopathy and photoreceptor loss in iPSC-derived retinal organoids from retinitis pigmentosa patients. [Stem Cell Rep](#), 2018, 10: 1267–1281
- 63 Gao M L, Lei X L, Han F, et al. Patient-specific retinal organoids recapitulate disease features of late-onset retinitis pigmentosa. [Front Cell Dev Biol](#), 2020, 8: 128
- 64 Pan D, Xia X X, Zhou H, et al. COCO enhances the efficiency of photoreceptor precursor differentiation in early human embryonic stem cell-derived retinal organoids. [Stem Cell Res Ther](#), 2020, 11: 366
- 65 Akhtar T, Xie H, Khan M I, et al. Accelerated photoreceptor differentiation of hiPSC-derived retinal organoids by contact co-culture with retinal pigment epithelium. [Stem Cell Res](#), 2019, 39: 101491
- 66 Zhao J J, Ouyang H, Luo J, et al. Induction of retinal progenitors and neurons from mammalian Müller glia under defined conditions. [J Biol Chem](#), 2014, 289: 11945–11951
- 67 Gu D, Wang S, Zhang S, et al. Directed transdifferentiation of Müller glial cells to photoreceptors using the sonic hedgehog signaling pathway agonist purmorphamine. [Mol Med Rep](#), 2017, 16: 7993–8002
- 68 Zhao C, Tao Z, Xue L, et al. Lin28b stimulates the reprogramming of rat Müller glia to retinal progenitors. [Exp Cell Res](#), 2017, 352: 164–174
- 69 Wan J, Zheng H, Xiao H L, et al. Sonic hedgehog promotes stem-cell potential of Müller glia in the mammalian retina. [Biochem Biophys Res Commun](#), 2007, 363: 347–354
- 70 Qu Z, Guan Y, Cui L, et al. Transplantation of rat embryonic stem cell-derived retinal progenitor cells preserves the retinal structure and function in rat retinal degeneration. [Stem Cell Res Ther](#), 2015, 6: 219
- 71 Zou T, Gao L, Zeng Y, et al. Organoid-derived C-Kit⁺/SSEA4[−] human retinal progenitor cells promote a protective retinal microenvironment during transplantation in rodents. [Nat Commun](#), 2019, 10: 1205
- 72 Chen X, Chen Z, Li Z, et al. Grafted c-kit⁺/SSEA1[−] eye-wall progenitor cells delay retinal degeneration in mice by regulating neural plasticity and forming new graft-to-host synapses. [Stem Cell Res Ther](#), 2016, 7: 191
- 73 Qu L, Gao L, Xu H, et al. Combined transplantation of human mesenchymal stem cells and human retinal progenitor cells into the subretinal space of RCS rats. [Sci Rep](#), 2017, 7: 199
- 74 Xue L, Zeng Y, Li Q, et al. Transplanted olfactory ensheathing cells restore retinal function in a rat model of light-induced retinal damage by inhibiting oxidative stress. [Oncotarget](#), 2017, 8: 93087–93102
- 75 Li Z, Zeng Y, Chen X, et al. Neural stem cells transplanted to the subretinal space of *rdl* mice delay retinal degeneration by suppressing microglia activation. [Cytotherapy](#), 2016, 18: 771–784
- 76 Xuqian W, Kanghua L, WeiHong Y, et al. Intraocular transplantation of human adipose-derived mesenchymal stem cells in a rabbit model of experimental retinal holes. [Ophthalmic Res](#), 2011, 46: 199–207

- 77 Pearson R A, Gonzalez-Cordero A, West E L, et al. Donor and host photoreceptors engage in material transfer following transplantation of post-mitotic photoreceptor precursors. [Nat Commun](#), 2016, 7: 13029
- 78 Singh M S, Balmer J, Barnard A R, et al. Transplanted photoreceptor precursors transfer proteins to host photoreceptors by a mechanism of cytoplasmic fusion. [Nat Commun](#), 2016, 7: 13537
- 79 Jiang D, Chen F X, Zhou H, et al. Bioenergetic crosstalk between mesenchymal stem cells and various ocular cells through the intercellular trafficking of mitochondria. [Theranostics](#), 2020, 10: 7260–7272
- 80 Richardson P M, McGuinness U M, Aguayo A J. Axons from CNS neurones regenerate into PNS grafts. [Nature](#), 1980, 284: 264–265
- 81 Berry M, Carlile J, Hunter A. Peripheral nerve explants grafted into the vitreous body of the eye promote the regeneration of retinal ganglion cell axons severed in the optic nerve. [J Neurocytol](#), 1996, 25: 147–170
- 82 Cui Q, Harvey A R. CNTF promotes the regrowth of retinal ganglion cell axons into murine peripheral nerve grafts. [Neuroreport](#), 2000, 11: 3999–4002
- 83 Yin D P, Chen Q Y, Liu L. Synergetic effects of ciliary neurotrophic factor and olfactory ensheathing cells on optic nerve reparation (complete translation). [Neural Regen Res](#), 2016, 11: 1006
- 84 Cui Q, Lu Q, So K F, et al. CNTF, not other trophic factors, promotes axonal regeneration of axotomized retinal ganglion cells in adult hamsters. [Invest Ophthalmol Vis Sci](#), 1999, 40: 760–766
- 85 Cho K S, Chan P M, So K F, et al. Ciliary neurotrophic factor promotes the regrowth capacity but not the survival of intraorbitally axotomized retinal ganglion cells in adult hamsters. [Neuroscience](#), 1999, 94: 623–628
- 86 Cen L P, Luo J M, Zhang C W, et al. Chemotactic effect of ciliary neurotrophic factor on macrophages in retinal ganglion cell survival and axonal regeneration. [Invest Ophthalmol Vis Sci](#), 2007, 48: 4257–4266
- 87 Liu Y, Gong Z, Liu L, et al. Combined effect of olfactory ensheathing cell (OEC) transplantation and glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) intravitreal injection on optic nerve injury in rats. [Mol Vis](#), 2010, 16: 2903–2910
- 88 Shao Z, Wu J, Du G, et al. Young bone marrow Sca-1 cells protect aged retina from ischaemia-reperfusion injury through activation of FGF2. [J Cell Mol Med](#), 2018, 22: 6176–6189
- 89 Gao F J, Wu J H, Li T T, et al. Identification of mesencephalic astrocyte-derived neurotrophic factor as a novel neuroprotective factor for retinal ganglion cells. [Front Mol Neurosci](#), 2017, 10
- 90 Fischer D, Pavlidis M, Thanos S, et al. Cataractogenic lens injury prevents traumatic ganglion cell death and promotes axonal regeneration both *in vivo* and in culture. [Invest Ophthalmol Vis Sci](#), 2000, 41: 3943–3954
- 91 Wang Y, Wang Y, Wang D, et al. *In vitro* study of the effects of lens extract on rat retinal neuron survival and neurite outgrowth. [Ophthalmic Res](#), 2009, 42: 29–35
- 92 Zhong Y, Yao H, Deng L, et al. Promotion of neurite outgrowth and protective effect of erythropoietin on the retinal neurons of rats. [Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol](#), 2007, 245: 1859–1867
- 93 Tan H, Zhong Y, Shen X, et al. Erythropoietin promotes axonal regeneration after optic nerve crush *in vivo* by inhibition of RhoA/ROCK signaling pathway. [Neuropharmacology](#), 2012, 63: 1182–1190
- 94 Yang Z, Wang J, Liu X, et al. Y-39983 downregulates RhoA/Rho-associated kinase expression during its promotion of axonal regeneration. [Oncol Rep](#), 2013, 29: 1140–1146
- 95 Wu M M, You S W, Hou B, et al. Effects of inosine on axonal regeneration of axotomized retinal ganglion cells in adult rats. [Neurosci Lett](#), 2003, 341: 84–86
- 96 Wang T, Wei X Y, Yang A A, et al. Branched-chain amino acids enhance retinal ganglion cell survival and axon regeneration after optic nerve transection in rats. [Curr Eye Res](#), 2018, 43: 1500–1506
- 97 Xu Z X, Qin S Z, Xu G Z, et al. Enhancement of axonal regeneration of retinal ganglion cells in adult rats by etomidate: involvement of protein kinase C. [Invest Ophthalmol Vis Sci](#), 2011, 52: 8117–8122
- 98 Zhao X, Kuang F, You Y Y, et al. Etomidate affects the anti-oxidant pathway to protect retinal ganglion cells after optic nerve transection. [Neural Regen Res](#), 2019, 14: 2020–2024
- 99 Han W, Zhu Y, Chen B, et al. 7,8,3'-Trihydroxyflavone ameliorate oxidative stress *in vivo* and promotes neurite regeneration *in vitro* in rat retinal ganglion cells. [Eur J Pharmacol](#), 2018, 833: 283–289
- 100 Fung J C L, Cho E Y P. Methylene blue promotes survival and GAP-43 expression of retinal ganglion cells after optic nerve transection. [Life](#)

- Sci, 2020, 262: 118462
- 101 Chen D F, Jhaveri S, Schneider G E. Intrinsic changes in developing retinal neurons result in regenerative failure of their axons.. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 1995, 92: 7287–7291
- 102 Moore D L, Apará A, Goldberg J L. Krüppel-like transcription factors in the nervous system: Novel players in neurite outgrowth and axon regeneration. [Mol Cell Neurosci](#), 2011, 47: 233–243
- 103 Duan X, Qiao M, Bei F, et al. Subtype-specific regeneration of retinal ganglion cells following axotomy: effects of osteopontin and mTOR signaling. [Neuron](#), 2015, 85: 1244–1256
- 104 Jorstad N L, Wilken M S, Grimes W N, et al. Stimulation of functional neuronal regeneration from Müller glia in adult mice. [Nature](#), 2017, 548: 103–107
- 105 Wang X W, Li Q, Liu C M, et al. Lin28 signaling supports mammalian PNS and CNS axon regeneration. [Cell Rep](#), 2018, 24: 2540–2552.e6
- 106 Huang T, Li H, Zhang S, et al. Nrn1 overexpression attenuates retinal ganglion cell apoptosis, promotes axonal regeneration, and improves visual function following optic nerve crush in rats. [J Mol Neurosci](#), 2021, 71: 66–79
- 107 Cen L P, Liang J J, Chen J H, et al. AAV-mediated transfer of RhoA shRNA and CNTF promotes retinal ganglion cell survival and axon regeneration. [Neuroscience](#), 2017, 343: 472–482
- 108 Moore D L, Goldberg J L. Four steps to optic nerve regeneration. [J Neuroophthalmol](#), 2010, 30: 347–360
- 109 Chen M, Chen Q, Sun X, et al. Generation of retinal ganglion-like cells from reprogrammed mouse fibroblasts. [Invest Ophthalmol Vis Sci](#), 2010, 51: 5970–5978
- 110 Deng F, Chen M, Liu Y, et al. Stage-specific differentiation of iPSCs toward retinal ganglion cell lineage-iPSC. [Mol Vis](#), 2016, 22: 536–547
- 111 Song W T, Zeng Q, Xia X B, et al. Atoh7 promotes retinal Müller cell differentiation into retinal ganglion cells. [Cytotechnology](#), 2016, 68: 267–277
- 112 Meng F, Wang X, Gu P, et al. Induction of retinal ganglion-like cells from fibroblasts by adenoviral gene delivery. [Neuroscience](#), 2013, 250: 381–393
- 113 Xiao D, Deng Q, Guo Y, et al. Generation of self-organized sensory ganglion organoids and retinal ganglion cells from fibroblasts. [Sci Adv](#), 2020, 6: eaaz5858
- 114 Blackshaw S, Sanes J R. Turning lead into gold: reprogramming retinal cells to cure blindness. [J Clin Invest](#), 2021, 131: e146134
- 115 Yuan J, Yu J X. Gender difference in the neuroprotective effect of rat bone marrow mesenchymal cells against hypoxia-induced apoptosis of retinal ganglion cells. [Neural Regen Res](#), 2016, 11: 846–853
- 116 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. [Exp Eye Res](#), 2019, 185: 107699
- 117 Zhu Q I, Liu Z, Wang C, et al. Lentiviral-mediated growth-associated protein-43 modification of bone marrow mesenchymal stem cells improves traumatic optic neuropathy in rats. [Mol Med Rep](#), 2015, 12: 5691–5700
- 118 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 Chem Neuroanat](#), 2019, 96: 134–139
- 119 Li X, Zhao S, Wang L. Therapeutic effect of adipose-derived stem cell transplantation on optic nerve injury in rats. [Mol Med Rep](#), 2018, 17: 2529–2534
- 120 Wang Y H, Yin Z Q, Wang Y. Synergistic effect of olfactory ensheathing cells and alpha-crystallin on restoration of adult rat optic nerve injury. [Neurosci Lett](#), 2017, 638: 167–174
- 121 Venugopalan P, Wang Y, Nguyen T, et al. Transplanted neurons integrate into adult retinas and respond to light. [Nat Commun](#), 2016, 7: 10472

Regenerative medicine in ophthalmology: current status and perspectives in China

ZHAO Ning & JIN Zi-Bing

Beijing Institute of Ophthalmology, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing 100730, China

Regenerative medicine is a hotspot in life science and plays a key role in the revolution of contemporary medicine. Because of the unique structure and physiology of the human eyes, the regeneration of eye tissues has become one of the most promising areas of life science. Remarkable studies of novel cell therapies derived from pluripotent stem cells and clinical trials were first performed in ocular diseases, which greatly improved translational medicine in other diseases. Stem cell-based therapies are now revolutionizing, upgrading, and renewing the treatment of many blinding diseases, including corneal disease, cataract, glaucoma, retinitis pigmentosa, and age-related macular degeneration. In this study, we outlined outstanding preclinical and clinical studies for regenerative medicine of ophthalmology in China and discussed the opportunities and challenges in the field. We hope that this review will stimulate new directions for regenerative medicine research.

regenerative medicine, ophthalmology, stem cells, tissue regeneration, cell therapy

doi: [10.1360/SSV-2021-0092](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0092)