

间充质干细胞在视网膜疾病研究中的应用

徐 巍,徐国兴

基金项目:中国国家自然科学基金重点资助项目(No. 60827002); 中国卫生部科研课题资助项目(No. WKJ2005-2-013); 中国福建省重点科研课题基金资助项目(No. 2008Y0040)
作者单位:(350005)中国福建省福州市,福建医科大学附属第一医院眼科中心 福建省眼科研究所
作者简介:徐巍,在读博士研究生,研究方向:视网膜疾病。
通讯作者:徐国兴,教授,博士研究生导师,研究方向:视网膜疾病. zjfmuxg@pub5.fz.fj.cn
收稿日期:2010-12-09 **修回日期:**2011-01-05

Utility of mesenchymal stem cells in retinal disease

Wei Xu, Guo-Xing Xu

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 60827002); Ministry of Health Research Projects Funded Project, China (No. WKJ2005-2-013); Key Science Foundation of Fujian Province, China (No. 2008Y0040)
Ophthalmic Institute of Fujian Province, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China
Correspondence to: Guo-Xing Xu. Ophthalmic Institute of Fujian Province, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China. zjfmuxg@pub5.fz.fj.cn
Received: 2010-12-09 Accepted: 2011-01-05

Abstract

• Mesenchymal stem cells (MSCs) are well-known for their multipotent and widely used in researches such as tissue repair and cell replacement therapy. The use of MSCs to differentiate into retinal cells could be a promising way for the treatment of some irreversible retinal diseases. Moreover, the recent advances in MSCs research have shown that MSCs could enhance the viability of neurons under a pathological circumstance by secreting some neurotrophins. There are also researches on the neuroprotection of MSCs in retinal diseases. Therefore, this could be an alternative for the use of MSCs in retinal diseases. Here we make a brief review on the characteristics of MSCs and the utility of it in retinal disease.

• **KEYWORDS:** mesenchymal stem cells; plasticity; retina; neuroprotection

Xu W, Xu GX. Utility of mesenchymal stem cells in retinal disease. *Guji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011; 11(2):266-269

摘要

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一类存在于间质组织具有多向分化潜能的干细胞,被广泛应用于组织或细胞的修复或替代的研究中。利用 MSCs 分化成为

视网膜细胞的研究可为一些视网膜不可逆性病变的治疗带来希望。此外,已有研究表明 MSCs 分泌的一些细胞因子,有助于提高病理状态下的神经细胞存活能力,利用 MSCs 的这一功能可为病变视网膜提供保护作用。因此, MSCs 的神经保护功能也逐渐被应用于视网膜疾病研究中,成为关注的另一焦点。我们着重介绍了 MSCs 特征及其在视网膜疾病研究中的一些现状。

关键词: MSCs; 可塑性; 视网膜; 神经保护

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2011.02.21

徐巍,徐国兴. 间充质干细胞在视网膜疾病研究中的应用. 国际眼科杂志 2011; 11(2):266-269

0 引言

年龄相关性黄斑变性、视网膜色素变性、Stargardt 病等是致盲的重要疾病,这些视网膜病变的共同结果是视网膜光感受器细胞的不可逆性凋亡坏死,造成永久的视力丧失。对于这类视网膜病变目前尚缺乏有效的治疗方法。虽然在基因治疗领域的新突破为这些视网膜病变的治疗带来新希望,但基因治疗的病毒载体及基因治疗本身所存在的各种问题使其在视网膜病变的研究和治疗中难以得到充分的利用。随着间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)研究的深入,利用其可塑性或神经保护功能为病变视网膜提供细胞替代或神经保护作用的研究已成为视网膜疾病研究的一个热点。此外, MSCs 来源广泛、易于培养扩增、可塑性强,又不存在伦理问题、具有免疫抑制功能等优点也是其它干细胞所不具备的。

1 MSCs 的研究现状

MSCs 是一类具有多向分化潜能的干细胞,具有跨胚层分化的能力。MSCs 可向脂肪细胞、成骨细胞、软骨细胞、神经元、神经胶质细胞等分化^[1,2]。MSCs 可来源于骨髓、脐血、脂肪等多种间质组织,故其取材来源广。MSCs 扩增速度快,体外培养的 MSCs 经过 1wk 即可传代,且传代至 P12 的 MSCs 仍可以保持其正常的染色体组型和端粒酶活性^[3]。MSCs 没有特异性的表面标志物,原因在于 MSCs 并不是单一的克隆,可能包含了多个祖系的细胞。故 MSCs 的鉴定多数是通过其表面表达的一些原始细胞标志物和间质细胞的标志物结合细胞的分化功能而实现的。

1.1 MSCs 的可塑性 MSCs 的可塑性已被多数研究证实,而目前 MSCs 的鉴定也需通过检测其是否具有分化功能来实现。体外培养的 MSCs 经 1-甲基-3-异丁基黄嘌呤、地塞米松、胰岛素和吡啶美辛诱导后可发现细胞内的脂肪空泡明显增加,而且诱导后的细胞可表达过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma 2$ (PPAR $\gamma 2$), 脂蛋白脂肪酶(LPL)和脂肪酸结合蛋白 aP2 等,经诱导分化后其脂肪空泡可持续存在,且体外培养至少可保持 3mo 的健康生长^[4]。利用无血清培养液培养离心后形成球状细胞团的 MSCs,经转化生长因子- $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$) 诱导后,可见其形成多层的充满基

质的形态,且细胞外基质不断增加,软骨细胞的标志物呈阳性,表明 MSCs 可向软骨细胞方向分化。而 MSCs 的成骨分化可在地塞米松、 β -磷酸甘油、维生素 C 和 100g/L FBS 作用下实现。MSCs 经诱导后可表达酪氨酸羟化酶、 γ -氨基丁酸(GABA)、 β -微管蛋白、巢蛋白、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)^[5-7]等,表明 MSCs 可向神经细胞方向分化。

1.2 MSCs 分化机制的研究 MSCs 分化涉及的细胞内外分子种类多而复杂, MSCs 向每一个细胞系分化所参与的分化分子种类和数量都不尽相同,故其分化机制的研究复杂而困难。目前使用较多的研究方法是通过比较分化阶段不同相的 MSCs 细胞内外蛋白质组的差异,进而研究细胞分化过程中相关的蛋白或其它因素。其中受体酪氨酸激酶(RTK)可从细胞的增殖、生长、分化等方面调控细胞。过程包括配体-受体的结合,受体磷酸化并活化下游分子,通过级联反应对细胞生长分化等发挥重要作用。Kratchmarova 等^[8]在研究多种细胞因子对 MSCs 对分化的作用机制时,发现 HMSCs 分化成为骨样细胞是表皮生长因子(EGF)刺激产生的,而不是血小板源性生长因子(PDGF),虽然由两种细胞因子刺激而发生磷酸化的下游蛋白有超过 90% 是相同的,但是磷脂酰肌醇激酶 3(PIK3)途径却是单独由 PDGF 激活的。利用 PIK3 的抑制剂可以使 PDGF 诱导分化的效应回退,这表明该途径可能是一个细胞分化的控制点。细胞决定可能与 MAPK 信号途径的激活有关,其活化的频率和强度可以影响到细胞的分化。另外丝氨酸-苏氨酸磷酸化蛋白可以通过转录因子或其调节因子的调节而控制细胞的分化,通过转录相关蛋白的研究可以衔接起分化刺激信号和分化效应之间的空缺。

1.3 MSCs 分化的争议 有学者认为 MSCs 向一些细胞系所谓的“分化”实际上是转分化的结果^[9]。部分研究发现 MSCs 分化表达一些特定细胞标志物是细胞融合的结果^[10]。MSCs 表达某类细胞标志物或具备相应的细胞功能实际上是 MSCs 融合其它细胞后染色体组型倍增的结果。事实上这种现象在造血干细胞中是比较常见的^[11,12]。Jeffrey 等利用共培养体系研究 MSCs 对支气管上皮损伤修复的影响时发现,一些共培养的 MSCs 迅速整合入单层的支气管上皮细胞层内,分化成为支气管上皮样细胞,出现支气管上皮细胞的形状,并表达支气管上皮的标志物^[13]。其中有部分细胞与上皮细胞发生融合,部分发生融合的细胞也同时发生了核的融合。研究发现细胞融合现象并不少见。所以细胞的融合机制在一定层面上也对 MSCs 的可塑性提出了疑问。

1.4 MSCs 在损伤修复中的作用 虽然 MSCs 的可塑性存在疑问,但是其在损伤修复过程中确实起到了重要作用。机体在损伤时 MSCs 可以游走至损伤部位参与损伤的修复,这可能跟 MSCs 分泌的一些保护性因子有关。MSCs 甚至可以穿过血-脑屏障参与到中枢神经系统损伤的修复。对中风患者进行 MSCs 移植可明显加快患者的功能恢复,而且没有严重的不良反应^[14]。这一机制目前尚不清楚,但可能与 MSCs 所分泌的一些保护性因子、损伤部位基质细胞衍生因子(SDF-1)的表达和 MSCs 的移行整合、细胞增殖和轴突的重建等因素有关^[15]。

1.5 MSCs 的免疫调节功能 MSCs 可抑制淋巴细胞增殖,而且其抑制程度随 MSCs 密度的增加而加强^[16]。MSCs 对 T 细胞的调节在其免疫调节中起着至关重要的作

用。鼠 MSCs 可通过强烈抑制周期素 D2 和上调周期素依赖性蛋白激酶抑制剂 p27kip1 而实现对 T 细胞活化的抑制^[17]。虽然 MSCs 具有免疫调节功能,但并不表示异基因的 MSCs 移植不存在免疫反应。Nauta 等^[18]的研究发现异基因 MSCs 可诱导宿主出现 T 细胞反应,而宿主的 MSCs 确实可以促进移植免疫耐受的出现。MSCs 的免疫调节功能使其在移植中的应用成为可能,但同时免疫抑制可能导致的肿瘤也成为需要关注的问题。

2 MSCs 在视网膜病变研究中的应用

2.1 MSCs 在视网膜疾病研究中的应用途径 研究的途径包括体外和体内两种方式。在体外研究中,利用共培养体系对 MSCs 进行诱导分化进而实现分化机制的研究是比较常见的。共培养的方式包括接触性和非接触性,其中非接触性共培养不存在细胞融合问题,因而在 MSCs 分化成为视网膜细胞的研究中较为常用。用于与 MSCs 共培养的有视网膜细胞,也有视网膜片。由于视网膜片在体外存活时间有限,利用视网膜片与 MSCs 共培养的研究在一定程度上受到了限制。体内研究,即 MSCs 的移植,是将标记的 MSCs 移植入体内或眼内。移植的途径有视网膜下腔移植、玻璃体腔移植和经静脉移植。视网膜下腔移植途径因其存在的免疫赦免及与外层视网膜的距离近有利于植入后 MSCs 的移行而在研究中被广泛采用。但同时视网膜下腔移植也存在着问题,如视网膜下腔容积小,可植入的细胞数量少,不利于细胞存活和后续示踪,植入后定位困难等。经玻璃体腔移植途径可用于 MSCs 神经保护功能的研究。因为视网膜内界膜可阻碍植入玻璃体腔内 MSCs 的移行, MSCs 可以贴近视网膜表面,但很少有细胞可以穿透内界膜。即便是种植在体外培养视网膜片玻璃体面上的 MSCs 也很少可以穿透内界膜。利用胶原酶和 Müller 细胞毒性物质分别消化内界膜基底膜和抑制 Müller 细胞功能后发现,内界膜基底膜的完整性并不足以阻碍 MSCs 的移行,而将 Müller 细胞功能抑制后则可明显促进 MSCs 与视网膜的整合^[19]。因此, Müller 细胞是阻止玻璃体腔内移植的 MSCs 向视网膜移行的一个重要因素。MSCs 经静脉移植后可移行至多个器官内,但 MSCs 移行至视网膜内可能需要一定条件的刺激。因为完整的血-视网膜屏障可能阻碍 MSCs 的移行。

2.2 MSCs 与视网膜损伤修复的关系 体内移植的 MSCs 移行整合往往与视网膜存在损伤因素或病变有关系,因为在一些作为对照组研究的正常视网膜中并没有观察到 MSCs 移行分化的现象。由于组织损伤可使局部 SDF-1 激活和其它趋化因子表达增加,并进入体循环。MSCs 表达的 CXCR-4 可对进入体循环的 SDF-1 发生应答,进而游走进入损伤组织^[20]。视网膜病变表达的 SDF-1 可促进 MSCs 移行至视网膜并参与修复。在激光诱导的脉络膜新生血管(CNV)动物模型中经静脉注射 MSCs,可使 MSCs 在损伤处聚集并分化,参与新生血管的发展过程^[21]。尽管如此,在小梁网激光光凝诱导的高眼压动物模型中经静脉移植 MSCs 后却没有发现 MSCs 游走至病变眼内,移植的 MSCs 也没有对损伤的视神经产生作用,而玻璃体腔内途径移植的却发现有一部分散在的 MSCs 移行入视网膜,移植的 MSCs 可明显缓解高眼压导致的神经节细胞轴突的减少^[22]。不同的视网膜损伤导致的经静脉移植 MSCs 的差别可能与血-视网膜屏障的完整性有关,移植细胞的移行整合可能需要视网膜色素上皮(RPE)分泌的细胞因子参与。NaIO₃ 诱导的 RPE 损伤可促进骨髓基质干

细胞(BMSCs)游走,损伤的小鼠RPE可检测到细胞SDF-1的mRNA表达量增加,其培养液ELISA检测也发现SDF-1的浓度明显增加,而将BMSCs与SDF-1的拮抗剂孵育后却发现其趋化作用减弱,这表明SDF-1是RPE损伤后MSCs游走趋化的一个关键因素^[23]。

2.3 MSCs 诱导分化成为视网膜细胞的研究 新生鼠视网膜发育的研究表明,碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)对促进体外培养的新生鼠视网膜细胞表达视蛋白(opsin)有重要作用。bFGF可通过增强视网膜前体细胞的存活能力,促进前体细胞的增殖和未成熟光感受器细胞的分化等方面的作用而促进细胞表达opsin^[24]。此外还有一些其它的细胞因子参与视网膜的发育,如表皮生长因子(EGF)可以促进细胞突起的形成^[25],BDNF参与神经节细胞的形成等^[26]。因此,这些细胞因子也被应用到了MSCs诱导分化成为视网膜细胞的研究中。经过BDNF,FGF,bFGF诱导的MSCs可表达MAP2,BT-III,GFAP,PKC- α ,Recoverin。将生长因子预处理后的MSCs与视网膜片共培养可使MSCs表达NF200,GFAP,PKC- α 和Recoverin,表明MSCs可向视网膜细胞方向分化,而未经诱导的MSCs没有向视网膜细胞方向分化的迹象^[27]。这些视网膜发育早期参与的物质可为细胞分化提供微环境,此外还可以参与细胞分化的调节等。Kicic等^[28]利用活化素A、牛磺酸、EGF诱导体外培养CD90⁺的MSCs后,发现有约30%MSCs可表达光感受器细胞标志物rhodopsin和无长突细胞标志物CRABP1,此外有6%~10%诱导后的MSCs可表达Nestin,表明MSCs向神经节细胞方向分化。一些其它标志物,如GFAP,MAP2,PKC等均可见表达。体外培养易于明确诱导MSC分化相关的一些因素,但体外过于简单的环境无法为MSCs的分化提供准确的路径。因此需要在体内对MSCs的分化进行研究。Gong等^[29]在NaIO₃诱导的视网膜色素变性动物模型的大鼠视网膜下腔移植eGFP标记的MSCs后,可见多数MSCs仍停留视网膜下腔而少部分的细胞可移行并整合到视网膜神经上皮层内,部分细胞可表达rhodopsin,GFAP和角蛋白等。在RCS大鼠视网膜下腔移植hMSCs后电生理检查同样可以发现其视功能的恶化速度也较对照组减慢^[30]。Tomita等^[31]利用骨髓源性干细胞(bone marrow-derived stem cells, BMCs)对机械性视网膜损伤的大鼠进行玻璃体腔移植,2wk后发现移植的细胞可移行至视网膜损伤处及其周边部位且表达GFAP,calbindin,vimentin和rhodopsin等,细胞表型鉴定发现移行的细胞中CD45⁻的数量远多于CD45⁺,显然移行和分化的细胞主要是来自骨髓中的非造血系干细胞MSCs。尽管多数研究表明MSCs经适当的方法诱导后可表达视网膜各种细胞的标志物,且可能具备部分功能,但是如何选择更为有效的诱导方法及分化时间点的控制也是MSCs诱导分化成为视网膜细胞所面临的一个问题。MSCs具有维持自身稳定的特征,虽然在分化因素作用下可以分化成为特定类型的细胞或前体细胞,但其随后的自身调节作用可以使其恢复未分化状态。与E13.5的RPC共培养3d的MSCs可以分化成为神经节前体细胞样的细胞,而随着共培养时间的延长,MSCs的分化状态反而回退,这表明MSCs存在着负反馈调节作用以维持自身的未分化状态^[32]。因此,MSCs的分化效应回退问题是其诱导分化成为视网膜细胞过程中所必须解决的。此外,虽然多数体外诱导或体内移植的方法可以使MSCs分化成为视网膜样的细胞,但是分化的细胞数量少且分化后的细胞功能不完

善也是当前MSCs分化成为视网膜细胞研究所存在的另一问题。

2.4 MSCs 对视网膜神经保护功能的研究 事实上,在中枢神经系统疾病的研究中就已经发现MSCs具有神经保护的功能,MSCs可以分泌NGF和NT-3及表达NGFR和TrkC受体,通过分泌的神经营养因子和表达的一些特异性受体的作用而实现神经保护作用^[33]。在视网膜疾病研究中,体内移植的MSCs虽然分化数量少,甚至不发生分化^[34],但多数利用MSCs进行体内移植后,病变视网膜功能恶化的进展速度却是明显减慢的。这表明MSCs对病变视网膜还具有神经保护作用。因此,在没有解决MSCs分化研究中所存在的上述问题时,利用MSCs的神经保护作用实现对病变视网膜的保护作用似乎更具有现实意义。Arnbold等^[35]利用BMSCs对RCS大鼠进行视网膜下腔移植,2mo后除观察到移植的BMSCs可表现出RPE的形态学特征,表达RPE的一些标志物和紧密连接蛋白ZO-1外,移植的细胞还表现出对RCS大鼠光感受器细胞的保护作用,移植了MSCs后视网膜光感受器细胞的数量远多于对照组,RT-PCR和ELISA可以检测到MSCs表达PEDF,说明MSCs可以分泌一些保护性因子,促进光感受器细胞的存活。当然,MSCs对光感受器细胞的保护作用还可能是因为移植后向RPE方向分化的MSCs使RPE细胞层功能改善的结果。但是在RPE细胞层功能完整的rhodopsin基因敲除(Rho^{-/-})小鼠视网膜下腔移植MSCs后,MSCs对光感受器细胞的保护作用仍然是存在的^[36],这进一步说明MSCs对视网膜具有神经保护作用的。尽管多数的研究表明MSCs是可以向视网膜细胞方向分化的,但是Inoue等^[37]利用Pexr2K-lacZ转基因小鼠的MSCs移植入RCS大鼠视网膜下腔后并没有观察到MSCs分化成为光感受器细胞,而移植了MSCs的鼠视网膜外核层的厚度却是对照组的两倍,ERG同样也较对照组有明显改善。此外,利用MSCs培养液与视网膜细胞培养液以1:1混合形成的条件培养液培养视网膜细胞可提高细胞的存活量。这些也都表明MSCs分泌的一些细胞因子可以营养视网膜细胞,增强其存活能力。MSCs分泌的细胞因子对病变视网膜有保护作用,已被上述研究证实。MSCs的视网膜保护功能可能与bFGF,BDNF,PEDF和CNTF等细胞因子的表达有关。在高眼压所致视网膜缺血-再灌注损伤的鼠玻璃体腔内移植MSCs,可见MSCs表达CNTF,bFGF和BDNF且可持续存在至少4wk。视网膜缺血-再灌注损伤后bFGF和CNTF的表达量较正常眼是下降的,而在玻璃体腔内移植了MSCs的缺血-再灌注损伤视网膜的二者表达量又可以显著上调,且在缺血-再灌注损伤情况下移植组的神经节细胞数量明显多于对照组^[38],说明MSCs分泌的上述生长因子可以增强应激状态下神经节细胞的存活能力。虽然MSCs分泌的细胞因子对病变视网膜的神经保护功能是明确的,但是细胞因子的表达量与神经保护功能的关系、各种神经保护因子表达量的时间变化曲线和在神经保护中所起的作用还需要深入的研究。

3 问题与展望

MSCs作为一种具有多向分化潜能的干细胞,在组织或细胞替代研究领域已经成为关注的热点。MSCs的分化潜能已被多数研究证实。此外,MSCs还具有神经保护与细胞融合的功能。尽管已有研究证实MSCs是可以分化成为视网膜细胞的,但是在MSCs分化成为视网膜细胞的研究中存在着如何准确诱导分化及分化时相的控制问题。

相应的研究还表明 MSCs 对病变的视网膜具有神经保护作用, MSCs 分泌的细胞因子可以提高光感受器细胞或神经节细胞等的存活能力。因此, 在尚未实现准确诱导 MSCs 分化成为目的细胞之前, 利用 MSCs 的神经保护功能对病变视网膜实现保护功能似乎更具现实意义, 其操作难度也较分化的研究小, 更有可行性。

参考文献

- 1 Abdallah BM, Kassem M. Human mesenchymal stem cells; from basic biology to clinical applications. *Gene Ther* 2008;15(2):109-116
- 2 Brazelton TR, Rossi FM, Keshet GI, et al. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science* 2000;290(5497):1775-1779
- 3 Wislet-Gendebien S, Wautier F, Leprince P, et al. Astrocytic and neuronal fate of mesenchymal stem cells expressing nestin. *Brain Res Bull* 2005;68(1-2):95-102
- 4 Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284(54):143-147
- 5 Wislet-Gendebien S, Leprince P, Moonen G, et al. Regulation of neural markers nestin and GFAP expression by cultivated bone marrow stromal cells. *J Cell Sci* 2003;116(16):3295-3302
- 6 Sun S, Yang M, Iacovitti L. Adult human bone marrow stromal spheres express neuronal traits *in vitro* and in a rat model of Parkinson's disease. *Brain Res* 2006;1106(1):46-51
- 7 Tropel P, Platet N, Platet JC, et al. Functional neuronal differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006;24(12):2868-2876
- 8 Kratchmarova I, Blagoev B, Haack-Sorensen M, et al. Mechanism of divergent growth factor effects in mesenchymal stem cell differentiation. *Science* 2005;308(5727):1472-1477
- 9 Song L, Tuan RS. Transdifferentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow. *FASEB J* 2004;18(9):980-982
- 10 Terada N, Hamazaki T, Oka M, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* 2002;416(6880):542-545
- 11 Wang X, Willenbring H, Akkari Y, et al. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature* 2003;422(6934):897-901
- 12 Vassilopoulos G, Wang PR, Russell DW. Transplanted bone marrow regenerates liver by cell fusion. *Nature* 2003;422(6934):901-904
- 13 Spees JL, Olson SD, Ylostalo J, et al. Differentiation, cell fusion and nuclear fusion during *ex vivo* repair of epithelium by human adult stem cells from bone marrow stroma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(5):2397-2402
- 14 Bang OY, Lee JS, Lee PH, et al. Autologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients. *Ann Neurol* 2005;57(6):874-882
- 15 Tang Y, Yasuhara T, Hara K, et al. Transplantation of bone marrow-derived stem cells; a promising therapy for stroke. *Cell Transplant* 2007;16(2):159-169
- 16 Maitra B, Szekely E, Gjini K, et al. Human mesenchymal stem cells support unrelated donor hematopoietic stem cells and suppress T-cell activation. *Bone Marrow Transplant* 2004;33(6):597-604
- 17 Glennie S, Soeiro I, Dyson PJ, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells. *Blood* 2005;105(7):2821-2827
- 18 Nauta AJ, Westerhuis G, Kruisselbrink AB, et al. Donor-derived mesenchymal stem cells are immunogenic in an allogeneic host and stimulate donor graft rejection in a nonmyeloablative setting. *Blood* 2006;108(6):2114-2120
- 19 Johnson TV, Bull ND, Martin KR. Transplantation prospects for the

inner retina. *Eye (Lond)* 2009;23(10):1980-1984

- 20 Shen LH, Li Y, Chen J, et al. Therapeutic benefit of bone marrow stromal cells administered 1 month after stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 2007;27(1):6-13
- 21 Hou HY, Liang HL, Wang YS, et al. A therapeutic strategy for choroidal neovascularization based on recruitment of mesenchymal stem cells to the sites of lesions. *Mol Ther* 2010;18(10):1837-1845
- 22 Johnson TV, Bull ND, Hunt DP, et al. Neuroprotective effects of intravitreal mesenchymal stem cell transplantation in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(4):2051-2059
- 23 Li Y, Reza RG, Atmaca-Sonmez P, et al. Retinal pigment epithelium damage enhances expression of chemoattractants and migration of bone marrow derived stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(4):1646-1652
- 24 Hicks D, Courtois Y. Fibroblast growth factor stimulates photoreceptor differentiation in vitro. *J Neurosci* 1992;12(6):2022-2033
- 25 Morrison RS, Kornblum HI, Leslie FM, et al. Trophic stimulation of cultured neuron from neonatal rat brain by epidermal growth factor. *Science* 1987;238(4823):72-75
- 26 Barde YA, Davies AM, Johnson JE, et al. Brain derived neurotrophic factor. *Prog Brain Res* 1987;71:185-189
- 27 Tomita M, Mori T, Maruyama K, et al. A comparison of neural differentiation and retinal transplantation with bone marrow-derived cells and retinal progenitor cells. *Stem Cells* 2006;24(10):2270-2278
- 28 Kicic A, Shen WY, Wilson AS, et al. Differentiation of marrow stromal cells into photoreceptors in the rat eye. *J Neurosci* 2003;23(21):7742-7749
- 29 Gong L, Wu Q, Song B, et al. Differentiation of rat mesenchymal stem cells transplanted into the subretinal space of sodium iodate-injected rats. *Clin Experiment Ophthalmol* 2008;36(7):666-671
- 30 Lund RD, Wang S, Lu B, et al. Cells Isolated from umbilical cord tissue rescue photoreceptors and visual functions in a rodent model of retinal disease. *Stem Cells* 2007;25(3):602-611
- 31 Tomita M, Adachi Y, Yamada H, et al. Bone marrow-derived stem cells can differentiate into retinal cells in injured rat retina. *Stem Cells* 2002;20(4):279-283
- 32 Sun XR, Ge J, Jiang RZ, et al. Induced differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells towards retinal ganglion precursor cells. *Cell Research* 2008;18:76
- 33 Pisati F, Bossolasco P, Meregalli M, et al. Induction of neurotrophin expression via human adult mesenchymal stem cells: implication for cell therapy in neurodegenerative diseases. *Cell Transplant* 2007;16(1):41-55
- 34 Hill AJ, Zwart I, Tam HH, et al. Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells do not differentiate into neural cell types or integrate into the retina after intravitreal grafting in neonatal rats. *Stem Cells Dev* 2009;18(3):399-409
- 35 Arnholt S, Heiduschka P, Klein H, et al. Adenovirally transduced bone marrow stromal cells differentiate into pigment epithelial cells and induce rescue effects in RCS rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(9):4121-4129
- 36 Arnholt S, Absenger Y, Klein H, et al. Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells rescue photoreceptor cells in the dystrophic retina of the rhodopsin knockout mouse. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245(3):414-422
- 37 Inoue Y, Iriyama A, Ueno S, et al. Subretinal transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells delays retinal degeneration in the RCS rat model of retinal degeneration. *Exp Eye Res* 2007;85(2):234-241
- 38 Li N, Li XR, Yuan JQ, et al. Effects of bone-marrow mesenchymal stem cells transplanted into vitreous cavity of rat injured by ischemia/reperfusion. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2009;247(4):503-514