

间充质干细胞治疗视网膜疾病的潜能及影响因素

陈丽莎,徐国兴

基金项目:国家自然科学基金(No. 81271026);福建省创新平台基金(No. 2010Y2003)

作者单位:(350001)中国福建省福州市,福建医科大学附属第一医院 福建省眼科研究所

作者简介:陈丽莎,女,硕士研究生,研究方向:晶状体、视网膜疾病。

通讯作者:徐国兴,男,教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:晶状体、视网膜病. fjmuxuguoxing@hotmail.com

收稿日期:2014-04-07 修回日期:2015-02-11

Therapeutic potential and influencing factors of mesenchymal stem cells on retinal diseases

Li-Sha Chen, Guo-Xing Xu

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 81271026); Innovative Platform Foundation of Fujian Province, China (No. 2010Y2003)

Fujian Institute of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Correspondence to: Guo - Xing Xu. Fujian Institute of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China. fjmuxuguoxing@hotmail.com

Received:2014-04-07 Accepted:2015-02-11

Abstract

• As a member of the stem cells family, mesenchymal stem cells (MSCs) have been proved to be effective on the repair of tissue injury. Although the specific mechanism is still unclear, MSCs do have a promising future in retinal disease therapy. The results of the current research are diverse. We still have an urgent and long way to explore the details of MSCs. So it's significant for further understanding of MSCs to analyze the possible mechanism and influencing factors.

• KEYWORDS: mesenchymal stem cell; retinal diseases; transplant; therapy

Citation: Chen LS, Xu GX. Therapeutic potential and influencing factors of mesenchymal stem cells on retinal diseases. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2015;15(3):459-463

摘要

作为干细胞家族的一员,其对损伤组织的修复作用已得到证实。虽然具体作用机制尚不完全明确,在间充质干细胞治疗视网膜疾病中有巨大潜能。现阶段不同的实验所得的结果相差较大,对间充质干细胞的研究任重而道远。综合分析其可能的作用机制和影响因素,对进一步探索间充质干细胞有重要意义。

关键词:间充质干细胞;视网膜疾病;移植;治疗

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.3.21

引用:陈丽莎,徐国兴.间充质干细胞治疗视网膜疾病的潜能及影响因素.国际眼科杂志 2015;15(3):459-463

0 引言

与视网膜病变相关的视力损害甚至盲,在世界范围内影响着越来越多的人。目前临床中,细胞因子和神经保护剂等药物还是针对视网膜病变的主要治疗措施,但其治疗效果十分有限。近几十年来,大量研究尝试通过骨髓间充质干细胞移植来治疗视网膜疾病,所获得的成效已向我们展示了这一策略的巨大潜能^[1]。

1 间充质干细胞在移植治疗方面的优势

间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSCs)因来源广泛,能够体外扩增、免疫赦免且不存在伦理问题等特点在干细胞治疗策略中备受瞩目。在增殖能力方面, MSCs 作为干细胞家族的成员之一,增殖及自我更新是其基本特征;在分化能力方面, MSCs 具有跨胚层分化的潜能,在不同的诱导微环境作用下,可以分化为包括神经细胞、神经胶质细胞等多种细胞类型^[2];在免疫方面:(1) MSCs 表面表达人类主要组织相容性复合体 I(major histocompatibility complex, MHC I)类分子,但不表达 MHC II, Fas 配体和共刺激分子(如 B7-1, B7-2, CIMOL 等),因此不被 T 细胞识别,能够逃避免疫监视^[3]。(2) MSCs 可影响机体免疫状态,通过分泌的因子抑制 T 细胞增殖,并使激活 T 细胞的凋亡^[4];抑制 B 细胞的增殖^[5],以上二者共同作用而达到免疫抑制。此外, MSCs 易于进行基因操纵,内在突变率低,能分泌多种活性蛋白,是多种转基因蛋白分子的理想细胞载体^[6]。上述种种优势决定了 MSCs 是未来用于细胞移植治疗很有前途的种子细胞。

2 保护机制学说

MSCs 有改变疾病病理生理过程的潜能,作用的形式多样,包括分化为不同成体细胞、分泌细胞因子、免疫调节与病变组织直接发生细胞间相互作用等。在 BMSCs 移植治疗视网膜疾病的研究中,目前更多的实验结果支持为其强大的分泌功能通过神经营养、抗炎和促进损伤修复等功能对病损视网膜起到治疗作用。

2.1 分化替代机制 视网膜中的神经细胞主要包括神经节细胞 (retinal ganglion cell, RGC)、无长突细胞 (amacrine cell)、双极细胞 (bipolar cell)、水平细胞 (horizontal cell)、视杆细胞 (rod) 和视锥细胞 (cone); 神经胶质细胞包括米勒细胞 (Müller cell)、星形胶质细胞 (astrocyte) 和小胶质细胞 (microglial cell)。诸多体外实验研究证实, 将 BMSCs 在含有视网膜细胞或在多种细胞因子的培养基中诱导, 具有向视网膜细胞分化的潜能。Chung 等^[7] 用 YAG 损伤大鼠视网膜, 经静脉注射 MSCs, 5wk 后视网膜裂孔部分被 GFP 阳性的细胞修复, 7wk 后损伤处基本治愈并可观察到大量 GFP 阳性细胞。通过荧光定位说明移植的 MSCs 能够迁移入宿主视网膜细胞中。Kicic 等^[8]、Tomita 等^[9] 经过体内移植跟踪实验发现经诱导或者未经诱导的 BMSCs 不仅可迁移至宿主视网膜层, 分化为可表达神经胶质纤维酸性蛋白 (GFAP)、视紫红质 (rhodopsin) 等功能标志物的细胞, 分化后的细胞能吸引突触泡, 并通过生理功能检测表明一致的 BMSCs 有可能进一步参与信号传导, 改善视网膜功能。视网膜色素变性、老年性黄斑变性、青光眼和视网膜营养不良等多种视网膜遗传疾病和视网膜视神经退行性疾病均以神经细胞病变甚至死亡为主要特征。诱导 BMSCs 分化为有功能的神经细胞而取代病变或凋亡的细胞是治疗上述疾病根本目标, 但我们目前仍未明确 BMSCs 在体内外分化为功能完全的视网膜细胞的具体调控基因、信号通路、刺激因素等, 有待进一步深入研究。

2.2 分泌营养机制 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^[10] 将 BMSCs 植入 RCS 视网膜下, 其组织学、RT-PCR 和电生理的证据都表明其对光感受器细胞的变性有保护作用, 延缓变性进程, 但移植的细胞位于视网膜下区域, 该研究进行体外实验也表明是 BMSCs 的分泌功能发挥了保护作用。在中枢神经系统疾病的研究中就已经发现 hMSCs 移植入动物模型大脑皮层后, 通过分泌神经生长因子 (NGF) 和 NT-3 等营养因子表达的一些特异性受体如 NGFR 和 TrkC 的作用而实现神经保护作用^[11]。这些研究提示 MSCs 对视网膜的保护作用可能并非通过向视网膜细胞分化实现, MSCs 分泌的神经营养因子可能是其发挥作用的主要原因。已证实, MSCs 可以分泌大量神经营养因子, 如碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF)、睫状神经营养因子 (CNTF)、胶质细胞源性神经营养因子 (GDNF) 和脑源性神经营养因子 (BDNF) 等。在 MSCs 分泌的大量神经营养因子作用下, MSCs 的条件培养液在体外可以促进光感受器细胞的增殖, 并延迟其死亡。此外, 动物模型实验中对对比发现, MSCs 静脉注射可有效改善糖尿病视网膜组织结构, 血-视网膜屏障功能得到提高, 血糖水平降低^[12]。在上述研究中, 除了通过分泌神经营养因子发挥直接神经营养作用外, MSCs 还可能其他的机制, 如免疫调节, 抑制过度炎症, 修复损伤血管, 或通过目前未知的信号, 激活内在的修复机制, 从而促进突触再生^[13]。MSCs 分泌的因子有肯定的保护作用, 在实验中这些因子对自身分化的诱导作用也已得到证实, 但二者之间存在的相互关系需进一步研究。

2.3 免疫调节机制 MSCs 的免疫调节机制尚未完全明确, 有趣的是 MSCs 既有免疫增强的作用又有免疫抑制的作用。移植的细胞直接作为效应细胞发挥作用、抑制 T、B 细胞反应、细胞与细胞间的直接相互作用、炎症因子刺激等均可能是其发挥调节功能的形式。Chan 等^[14] 通过实验证实这些干细胞可以作为抗原提呈细胞 (APCs) 通过 IFN- γ 依赖途径来触发免疫反应, 但当 IFN- γ 增高到一定程度, 它可以直接抑制抗原表达而发挥免疫抑制作用。这说明 MSCs 可以抗异物又可以防止过度炎症反应引起的损伤。MSCs 分泌可溶性因子使 B 细胞进入 G0/G1 细胞周期, 抑制 B 细胞分化和趋化作用。它们还可通过分泌的 IL1- β , 使 TGF β 1 上调表达, 成功抑制 T 细胞活化。MSCs 调节 T 细胞机制学说不一, 有些学者认为氧化氮 (NO) 起着重要作用。研究观察到 MSCs 在 CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞存在时产生 NO, 抑制 Stat5 磷酸化和 T 细胞增殖而当前列腺素或者 NO 合酶即 NOS 被抑制的时候, T 细胞出现增殖^[15]。IFN- γ 使干细胞表面的抑制性共刺激分子 B7-H1 上调表达而调节免疫反应, 说明细胞与细胞间的接触作用对 MSCs 发挥免疫功能有重要意义^[16]。MSCs 还能调节树枝状细胞 (DC)、NK 细胞等, 但此方面报道较少。Ren 等^[17] 发现了 IFN- γ 和其他如 TNF- α , IL1- α 或者 IL1- β 伴随存在时, MSCs 就会表现出免疫抑制作用, 此间 MSCs 分泌的趋化因子、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 等起着中介的作用, 这暗示着促炎因子是 MSCs 细胞这一免疫调节作用的重要因素。

3 眼内治疗的影响因素

BMSCs 用于治疗视网膜疾病有着广阔的前景, 但是不同的研究显示通过不同的方法移植入眼内的治疗和保护作用的相差较大, 现就可能的影响因素分析如下。

3.1 眼内屏障 与中枢神经系统相似, 视网膜不易受外界影响, 且对细胞迁移有抑制作用。视网膜的内外界膜、硫酸软骨素蛋白聚糖等成分组成的细胞外基质和损伤与病理状态下胶质细胞反应性增生造成的胶质瘢痕是视网膜屏障的重要组成部分^[13]。West 等^[18] 向玻璃体腔注射胶质毒素 α -氨基己二酸 (AAA) 从而破坏 C5781/6 小鼠的视网膜外界膜 (OLM), 注射后 72h 是外界膜破坏的高峰期, 此时将光感受器细胞移植入视网膜下腔, 移植后 3wk 发现迁移入视网膜外核层的细胞数量明显多于对照组。但由于 AAA 对于 OLM 的破坏是可逆性的, 注药后 1wk 即视网膜 OLM 已开始修复, 2wk 基本修复完全, 此期间再行视网膜下腔注射, 迁移至视网膜的细胞数量又减少。这说明 OLM 也能在一定程度上阻碍移植细胞的迁移, 视网膜下腔和外核层之间的天然屏障。靶向破坏外界膜交联蛋白, 可逆的外界膜破坏可能可作为改善移植细胞与视网膜整合的新方法。有实验发现 Müller 细胞反应性胶质化参与 AOH 所致视网膜损伤, 玻璃体内注射 AAA, 抑制其反应性胶质化可能改善高眼压性青光眼视网膜病变^[19]。另有研究发现, 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, 仅破坏内界膜基底膜的完整性后植入的 MSCs 的移行效率并没有明显提高, 而抑制 Müller 细胞功能后促进了 MSCs 与视网膜的整

合。因此,Müller细胞是阻止植入玻璃体腔内的MSCs向视网膜移行的重要因素之一^[20]。

除上述屏障成分以外,抑制胶质活性也能显著提高玻璃体腔移植MSC的视网膜整合,证明激活的胶质细胞起到重要的屏障作用^[21]。然而,在机械性视网膜损伤后,从宿主视网膜的神经节细胞层到内核层可发现有突触样结构的细胞,证实是移植入玻璃体腔的细胞分化而来的不成熟细胞,但它们仅在损伤部位附近、结构完整的视网膜区域。进一步研究发现当局部胶质细胞功能破坏后,在临近正常的部位才会出现移植细胞与其的突触整合^[21]。这提示胶质细胞的活化可能既有抑制也有促进移植细胞视网膜整合的功能,但其发挥两种作用的条件尚不清楚。

3.2 宿主视网膜微环境 移植后的MSCs迁移整合与视网膜存在损伤因素或病变有一定关系,变性视网膜的微环境有利于移植细胞的存活,迁移和分化。在宿主视网膜中,目前有较充分的证据说明损伤部位相对高浓度的细胞基质衍生因子-1(SDF-1)等有趋化活性的因子能诱导MSCs的迁移,到达后局部的炎症因子等能进一步刺激其发挥作用。有学者^[22]将标记的BMSCs移植到正常小鼠眼的玻璃体腔内,发现BMSCs大部分聚集在玻璃体腔,没有发挥任何作用。而将BMSCs注入视网膜损伤模型的小鼠玻璃体腔内,则BMSCs分布内界膜层和神经节细胞层,并能表达多种神经营养因子。Harris等^[23]将标记的BMSCs移植到损伤的鼠视网膜下,发现部分细胞能迁移整合到宿主受损视网膜视锥、视杆细胞层、双极细胞层及节细胞层等各层,细胞形态与周围视网膜各类细胞相似并表达相应的特异性功能标记物。林志祥等^[24]研究MSCs生物学特性发现损伤部位的趋化因子浓度是MSCs向其移行的关键因素。组织损伤后释放趋化因子,MSCs表达多种趋化因子受体。趋化因子激活是MSCs向损伤部位移行的重要步骤。Chapel等^[25]在一个多器官衰竭模型中观察到GFP标记的MSCs向大量组织部位归巢,并根据损伤的严重程度不同而定位,归巢是细胞移行、植入组织并发挥功能和保护作用的必要过程。而SDF-1/CXCL1是趋化因子家族成员,MSCs表达其特异受体CXCR4^[26],另外还表达与SDF-1及CXCL1等其他趋化因子相应的黏附分子^[27]。Li等^[28]研究也证实RPE损伤可促进BMSCs迁移,损伤的小鼠RPE可检测到细胞SDF-1的mRNA表达量上升,其培养液中也发现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,用数据客观说明损伤组织释放的SDF-1对移植细胞归巢的促进作用。其作用机制可能是由于组织损伤使局部SDF-1和其它趋化因子表达增加,并进入体循环。MSCs表面的CXCR4识别SDF-1,进而游走进入损伤的视网膜病变部位参与修复。

3.3 移植途径 移植的途径有局部移植和经静脉移植,局部移植又可分为视网膜下腔移植、玻璃体腔移植。

3.3.1 局部移植 局部移植多指直接将MSCs在显微镜下移植至视网膜临近处,这种方法可以使移植物直接作用于局部组织,具有更好的针对性,但此方法具有一定破坏性,有对视网膜造成额外损伤的可能,影响对实验结果的准确

评估。视网膜下腔移植因其存在的免疫赦免,移植后不易发生免疫排斥反应,以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。目前常用的方法是经巩膜、脉络膜将移植物植入视网膜下腔的方法,由于不经玻璃体,对眼内环境干扰较小可避免引起增殖性玻璃体视网膜病变,但对操作技巧要求较高,容易刺穿视网膜进入玻璃体;注入液体量太多容易造成视网膜脱离;也有引起增殖性玻璃体视网膜病变的可能性。普遍认为视网膜下注射对于以视网膜外层病变为主的疾病较为合适,但对于距离注射部位较远的视网膜则缺乏治疗效果。据最新研究,有学者已用改良方法使注射入的细胞能够形成一个均匀薄层分布于视网膜下腔,解决此前的方法使注射入的细胞在视网膜下或玻璃体腔形成一个局部细胞团,保护作用也仅局限于注射局部的弊端^[29]。但是,即使用绿色荧光蛋白等其他标记分子解决了细胞存活和后续示踪,植入后定位等困难,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等。相对视网膜下注射而言,玻璃体内注射操作难度比较小,可植入的细胞数较多,由于解剖位置关系,更适于治疗视网膜内层病变,但对眼内环境干扰较大,且由于视网膜固有的阻止细胞迁移屏障的存在,细胞难以迁移和整合到视网膜。玻璃体腔内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。

3.3.2 经静脉移植 经静脉移植的优点是MSCs通过血液循环到达范围较广,在不对视网膜造成额外创伤的前提下可以惠及整个视网膜,而且便于进行重复注射。但是全身注射需要大量细胞,并且会增加过敏反应的可能性;进入血管后若聚集形成细胞团,也有可能成为栓子堵塞肺部等其他重要器官的危险。在上文已提及的Chung等^[7]的研究中经通过免疫荧光定位明确观察到经大鼠尾静脉注射的GFP标记的MSCs细胞可整合入视网膜组织中,但Johnson等^[30]的研究,发现静脉注射的BMSCs不迁移至损伤眼且对神经无任何保护作用,而玻璃体腔内注射BMSCs能提高RGCs的存活率,显著降低RGCs的死亡率,具有保护视神经的作用。虽然MSCs经静脉移植后的移行和保护效果争议较大,可能是因为相较其他器官而言,MSCs发挥作用需要一定条件的刺激,如完整的血视网膜屏障可能阻碍MSCs的移行或可能需要视网膜色素上皮(RPE)分泌的细胞因子参与等。

3.4 移植MSCs的状态 通常情况下我们分离得到的MSCs数量少,远远少于治疗所需要的数量,这就需要体外扩增培养来获得。MSCs在个体内有不断自我更新和分化能力,然而在离体条件下却表现为有限的增殖和分化能力^[31]。Vacanti等^[32]通过传代研究发现不同代的MSCs有其特点,如随着代数增加,肌动蛋白发生累积、贴壁及分化能力均有下降等。MSCs虽有损伤部位迁移的本能,但体外培养的细胞缺乏SDF-1受体CXCR4的表达,故而影响移植的MSCs的归巢作用。Xu等^[33]通过绿色荧光蛋白示踪定位及检测移植后CNTF和GFAP的表达,证实了SDF-1a处理过的MSCs较原态MSCs有更强的迁移整合和功能保

护作用。实际上, MSCs 会因退化性疾病、生理失常或者衰老而耗尽, 研究发现 MSCs 移植治疗效果会随着年龄的增加而呈下降趋势^[34]。MSCs 已开始用于某些免疫疾病的临床治疗, 其中有一个临床试验的失败通过分析后已被归因于冻存过程的细胞发生免疫抑制特性损坏^[35]。Machalinska 等^[36]、Harper 等^[37] 经基因改造使移植的细胞高表达 NT-4、BDNF 等, 通过对比发现高表达神经营养因子的细胞较原态 MSCs 有更明显的神经保护功能。因此, 在移植前保证 BMSCs 有着与在体内尽可能相同的状态, 甚至通过及基因改造等手段增强其归巢、分泌等功能与其治疗效果的好坏息息相关。

3.5 持续时间及多次移植 移植后的 BMSCs 能够稳定存活已被许多实验证实, 但其存活持续时间尚未明确。Minamino 等^[38] 将 BMSCs 注入激光光凝视网膜鼠的玻璃体内, 2wk 后检测到植入的 BMSCs 不仅表达神经细胞的相关因子, 而且能表达视网膜神经细胞特异蛋白, 甚至在 1a 后仍能检测到 BMSCs 来源的神经细胞表达。但就其治疗效果而言, 实验追踪发现, 将 hBM-MSc 植入 4 周龄的 RCS 鼠视网膜下腔, 其保护及治疗效果仅维持 20wk, 若将 hBM-MSc 移植入玻璃体腔, 其治疗效果仅持续 12wk, 在 RCS 鼠 10wk 时二次注射并没有延长其保护时间^[29]。目前关于 BMSCs 存活质量发挥作用的时间及多次移植的效果的相关报道较少, 有待更多的数据来分析。

4 展望

MSCs 治疗及保护视网膜功能是明确的, 然而到目前为止, 我们仍未完全揭开其治疗机制的面纱。MSCs 对光感受器细胞的保护作用可能是因为移植后向视网膜细胞方向分化的细胞使各层功能改善的结果, 也可能是其分泌因子的营养支持作用, 其免疫调节当然也有举足轻重的功劳。但对于分化后的细胞能否在形态和功能上真正取代受损的细胞、其分泌的各细胞因子所起的具体保护功能及表达量的时间变化、如何把握其免疫调节的最佳条件、在其发挥治疗的同时会不会出现远期并发症等未知领域还需要进一步研究。在 Swaroop 等^[39] 研究中初步阐明了哺乳动物视网膜发育过程中, 在转录水平决定细胞发育成视锥细胞及视杆细胞的 6 个重要转录调控因子, 即 RORbeta, OTX2, NRL, CRX, NR2E3 和 TRbeta2 之间的复杂关系、重要的信号通路等。我们需要在各个水平层面继续进行的大胆探索。

MSCs 在免疫性疾病、血管性疾病、器官移植、退行性疾病、神经损伤、骨关节重建和重度感染等多种疾病的治疗中取得肯定成效。但仍有不少问题有待我们继续深入挖掘: 目前尚未全面了解间充质干细胞的表型特征, 还未能筛选到间充质干细胞特异性的标记分子, 建立鉴定的统一标准; MSCs 数量少, 在体外如何实现安全培养而不发生恶性转变; 其在体外分化的效率低, 能否通过调整氧浓度、培养基成分甚至基因改造等手段诱导分化; 分化的细胞功能是否完全, 尤其是在体外的分化是否会引起尚未发现的遗传特性的改变; 有没有更有效而安全的方法实现细胞的准确移植; 理论上, 越原始的细胞其分化及自我更新及致瘤性也越强, 尤其前 3 代 MSCs 的较强, 怎样避免致瘤性

的表达; 刺激分化、分泌的信号通路、调控因子尚不明确, 如何利用其保护作用而避免其刺激机体发生免疫损伤; 目前尚未有足够的数据来评估骨髓间充质干细胞在临床应用的安全性等。

参考文献

- 1 Stern JH, Temple S. Stem cells for retinal replacement therapy. *Neurotherapeutics* 2011;8(4):736-743
- 2 Jiang Y, Jahagirdar BN, Reiahardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002;418(6893):41-49
- 3 Rasmnsson I, Ringden O, Sundberg B, et al. Mesenchymal stem cells inhibit the formation of cytotoxic T lymphocytes, but not activated cytotoxic T lymphocytes or natural killer cells. *Transplantation* 2003;76(9):1208-1213
- 4 Plumas J, Chaperot L, Richard MJ. Mesenchymal stem cells induce apoptosis of activated T cells. *Leukemia* 2005;19(9):1597-1604
- 5 Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood* 2006;10(7):367-372
- 6 Ye J, Yao K, Kim JC. Mesenchymal stem cell transplantation in a rabbit corneal alkali burn model: engraftment and involvement in wound healing. *Eye* 2006;20(4):482-490
- 7 Chung JK, Park TK, Ohn YH, et al. Modulation of retinal wound healing by systemically administered bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Korean J Ophthalmol* 2011;25(4):268-274
- 8 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
- 9 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):2870-2878
- 10 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
- 11 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
- 12 Yang Z, Li K, Yan X, et al. Amelioration of diabetic retinopathy by engrafted human adipose-derived mesenchymal stem cells in streptozotocin diabetic rats. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010;248(10):1415-1422
- 13 李筱荣, 张晓敏. 间充质干细胞在视网膜疾病中的临床应用展望. *眼科* 2011;20(4):222-225
- 14 Chan JL, Tang KC, Patel AP, et al. Antigen-presenting property of mesenchymal stem cells occurs during a narrow window at low levels of interferon- γ . *Blood* 2006;107(12):4817-4824
- 15 Sato K, Ozaki K, Oh I, et al. Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells. *Blood* 2007;109(1):228-234
- 16 Sheng H, Wang Y, Jin Y, et al. A critical role of IFN γ in priming MSC-mediated suppression of T cell proliferation through up-regulation of B7-H1. *Cell research* 2008;18(8):846-857
- 17 Ren G, Zhang L, Zhao X, et al. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide. *Cell Stem Cell* 2008;2(2):141-150
- 18 West E, Pearson R, Tschernutter M, et al. Pharmacological disruption

of the outer limiting membrane leads to increased retinal integration of transplanted photoreceptor precursors. *Exp Eye Res* 2008;86(4): 601–611

19 苏吉儿,丁静文,韩松等. Müller 细胞反应性胶质化在急性高血压致大鼠视网膜损伤中作用. *基础医学与临床* 2013;33(2):133–138

20 Johnson TV, Bull ND, Martin KR. Transplantation prospects for the inner retina. *Eye (Lond)* 2009;23(10):1980–1984

21 Johnson TV, Bull ND, Martin KR. Identification of barriers to retinal engraftment of transplanted stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(2):960–970

22 Li N, Li XR, Yuan JQ. Effects of bone–marrow mesenchymal stem cells transplanted into vitreous cavity of rat injured by ischemia/reperfusion. *Graefes Arch for Clin Exp Ophthalmol* 2009;247(4):503–514

23 Harris JR, Brown GA, Jorgensen M, et al. Bone marrow–derived cells home to and regenerate retinal pigment epithelium after injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(5):2108–2113

24 林志祥,徐皓. 间充质干细胞生物学特性研究现状. *中国组织工程研究与临床康复* 2011;15(19):3577–3580

25 Chapel A, Bertho JM, Bensidhoum M, et al. Mesenchymal stem cells home to injured tissues when co–infused with hematopoietic cells to treat a radiation–induced multi–organ failure syndrome. *J Gene Med* 2003;5(12):1028–1038

26 Honeczarenko M, Le Y, Swierkowski M, et al. Human bone marrow stromal cells express a distinct set of biologically functional chemokine receptors. *Stem Cells* 2006;24(4):1030–1041

27 Majumdar MK, Keane–Moore M, Buyaner D, et al. Characterization and functionality of cell surface molecules on human mesenchymal stem cells. *J Biomed Sci* 2003;10(2):228–241

28 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

29 Tzameret A, Sher I, Belkin M, et al. Transplantation of human bone marrow mesenchymal stem cells as a thin subretinal layer ameliorates retinal degeneration in a rat model of retinal dystrophy. *Exp Eye Res*

2014;118:135–144

30 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

31 DiGirolamo CM, Stokes D, Colter D, et al. Propagation and senescence of human marrow stromal cells in culture: a simple colony–forming assay identifies samples with the greatest potential to propagate and differentiate. *Br J Haematol* 1999;107(2):275–281

32 Vacanti V, Kong E, Suzuki G, et al. Phenotypic changes of adult porcine mesenchymal stem cells induced by prolonged passaging in culture. *J Cell Physiol* 2005;205(2):194–201

33 Xu W, Wang XT, Xu GX, et al. Stromal cell–derived factor 1 α –stimulated mesenchymal stem cells confer enhanced protection against light–induced retinal degeneration in rats. *Curr Eye Res* 2013;39(1):69–78

34 Stolzing A, Jones E, McGonagle D, et al. Age–related changes in human bone marrow–derived mesenchymal stem cells: consequences for cell therapies. *Mech Ageing Dev* 2008;129(3):163–173

35 François M, Copland IB, Yuan S, et al. Cryopreserved mesenchymal stromal cells display impaired immunosuppressive properties as a result of heat–shock response and impaired interferon– γ licensing. *Cytotherapy* 2012;14(2):147–152

36 Machalińska A, Kawa M, Pius–Sadowska E, et al. Long–term neuroprotective effects of NT–4–engineered mesenchymal stem cells injected intravitreally in a mouse model of acute retinal injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(13):8292–8305

37 Harper MM, Grozdanic SD, Blits B, et al. Transplantation of BDNF–secreting mesenchymal stem cells provides neuroprotection in chronically hypertensive rat eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(7):4506–4515

38 Minamino K, Adachi Y, Yamada H, et al. Long–term survival of bone marrow–derived retinal nerve cells in the retina. *Neuroreport* 2005;16(12):1255–1259

39 Swaroop A, Kim D, Forrest D. Transcriptional regulation of photoreceptor development and homeostasis in the mammalian retina. *Nat Rev Neurosci* 2010;11(8):563–576