

色素上皮衍生因子在眼部疾病中的研究进展

陈玲, 谭薇

引用: 陈玲, 谭薇. 色素上皮衍生因子在眼部疾病中的研究进展. 国际眼科杂志 2023;23(5):763-767

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No.82160200); 贵州省科技计划项目 {No.黔科合基础[2020]1Y327}; 贵州省健康委科学技术基金项目 (No.gzwjkj2020-1-155)

作者单位: (563000) 中国贵州省遵义市, 遵义医科大学第三附属医院眼科 遵义市眼科临床医学中心

作者简介: 陈玲, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 视网膜疾病。

通讯作者: 谭薇, 女, 毕业于中国人民解放军第三军医大学, 博士, 主任医师, 主任, 博士研究生导师, 研究方向: 青光眼、视网膜疾病. tanwei950118@sina.com

收稿日期: 2022-05-07 修回日期: 2023-03-31

摘要

色素上皮衍生因子 (PEDF) 是分子量为 50kDa 的一种分泌型糖蛋白, 最初发现由色素上皮细胞分泌, 随后发现其广泛分布于全身多种器官组织中并发挥多种生物学作用。近年来, 大量研究已经证实 PEDF 在眼部组织中通过与多种受体结合启动广泛的细胞反应, 具有调节血管生成、抗炎、抗氧化应激和营养神经的作用。新近的研究发现, 应用外源性 PEDF 在干眼和角膜损伤的修复方面具有较好治疗效果。除此外, 通过编码 PEDF 基因的治疗方法在年龄相关性黄斑变性及糖尿病视网膜病变的治疗中也展现出良好前景。本综述主要对近年来 PEDF 在干眼、角膜损伤、年龄相关性黄斑变性和糖尿病视网膜病变等疾病中的潜在治疗作用及局限性做简要概述, 为进一步研究 PEDF 在诊治眼部疾病方面提供帮助。

关键词: 色素上皮衍生因子; 干眼; 角膜损伤; 年龄相关性黄斑变性; 糖尿病视网膜病变

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2023.5.09

Research progress of pigment epithelial-derived factor in ocular diseases

Ling Chen, Wei Tan

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No.82160200); Guizhou Science and Technology Plan Project {No.[2020]1Y327}; Science and Technology Fund Project of Guizhou Provincial Health Commission (No.gzwjkj2020-1-155)

Department of Ophthalmology, the Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University; Zunyi City Eye Clinic Medical Center, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Correspondence to: Wei Tan. Department of Ophthalmology, the Third Affiliated Hospital of Zunyi Medical University; Zunyi City Eye Clinic Medical Center, Zunyi 563000, Guizhou Province, China. tanwei950118@sina.com

Received:2022-05-07 Accepted:2023-03-31

Abstract

• As a secreted glycoprotein with a molecular weight of 50kDa, pigment epithelial-derived factor (PEDF) was originally found to be secreted by pigment epithelial cells; afterwards, it was found to be widely distributed in various organs and tissues throughout the body and played multiple biological roles. In recent years, a large number of studies have confirmed that PEDF can initiate a wide range of cellular responses in eye tissues by binding with a variety of receptors, which has the functions of regulating angiogenesis, anti-inflammatory, antioxidant stress and neurotrophic. Recent studies have found that the application of exogenous PEDF has a preferable therapeutic effect on the repair of dry eye and corneal injury. In addition, the PEDF gene encoding therapy has shown promising in the treatment of age-related macular degeneration and diabetic retinopathy. This review mainly summarizes the potential therapeutic effects and limitations of pigment epithelium-derived factors in dry eye, corneal injury, age-related macular degeneration, diabetic retinopathy and other diseases in recent years, which provides help for further research on the diagnosis and treatment of ocular diseases with PEDF.

• **KEYWORDS:** pigment epithelial-derived factor; dry eye; corneal injury; age-related macular degeneration; diabetic retinopathy

Citation: Chen L, Tan W. Research progress of pigment epithelial-derived factor in ocular diseases. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023;23(5):763-767

0 引言

1989年 Tombran-Tink 等首次在人胚胎视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelial, RPE) 细胞的培养基上清液中分离出色素上皮衍生因子 (pigment epithelial-derived factor, PEDF) 蛋白, 被认为是一种神经营养因子, 能够诱导 Y79 视网膜母细胞瘤神经元分化和成熟^[1]。PEDF 是分子量为 50kDa 的一种分泌型糖蛋白, 其属于丝氨酸蛋白酶抑制剂超家族, 但具有不抑制蛋白酶活性的特质^[2]。编码 PEDF 的基因 *serpinf1* 位于人类 17p13 染色体上^[3], 其 34-mer 短肽具有抗血管生成特性, 44-mer 短肽具有神经营养特性^[4]。PEDF 广泛分布于全身多种组织器官中, 在眼部组织中 PEDF 通过与多种受体结合启动广泛的细胞反应, 从而发挥调节血管生成、抗炎、抗氧化应激和神经保护等多种生物学作用^[5]。越来越多的研究发现 PEDF 广泛参与多种眼部疾病的发生发展, 本文对近年来 PEDF 在干眼、角膜损伤、年龄相关性黄斑变性和糖尿病视网膜病变中的研究进展进行重点综述, 为进一步研究 PEDF 在诊治眼部疾病方面提供帮助。

1 PEDF 与干眼

干眼(dry eye, DE)是一种多因素导致的眼表疾病,以泪膜失去稳态并伴有眼部症状为特征,其中泪膜不稳定、泪液高渗、眼表炎症和损伤以及神经感觉异常发挥病因作用^[6]。干眼可能会引起多种眼部症状,如干燥、灼热和视物模糊,甚至导致角膜并发症而造成永久性视力丧失^[7]。诸多研究证明免疫介导的炎症反应在干眼的发病机制中起着重要作用,其中角膜上皮细胞分泌的 PEDF 可抑制免疫反应,具有维持眼表免疫稳态的作用^[8]。

Singh 等^[9]在干眼小鼠模型中检测到 PEDF 在角膜上皮细胞中表达增加,并作为一种免疫调节因子对抗树突状细胞驱动的免疫反应,从而降低结膜促炎细胞因子的表达。Th17 细胞是介导 DE 中眼表自身免疫的关键效应细胞^[10],而调节性 T 细胞(regulatory T cells, Tregs)能够减轻 Th17 细胞的效应作用。Singh 等^[11]进一步发现干眼小鼠中的 Tregs 对 Th17 细胞的抑制效应减弱,但通过在 DE 小鼠的 Tregs 培养基中添加重组 PEDF 后,发现 PEDF 对 Tregs 具有保护作用,证实 PEDF 可以减轻 Tregs 的功能障碍来降低 DE 的严重程度。Ma 等^[12]发现 DE 患者泪液中的 PEDF 浓度增加,并进一步在 DE 小鼠模型中证实 PEDF 通过抑制 MAPK p38 和 JNK 信号通路来抑制促炎细胞因子在角膜上皮细胞中的表达,从而减轻角膜上皮损伤。除此外, PEDF 对睑板腺功能障碍的治疗也具有一定作用,正常睑板腺可分泌脂质从而形成防止泪膜蒸发的屏障,而睑板腺功能障碍将导致睑脂分泌异常或不足,致使泪膜蒸发过快而发生 DE^[13]。Fan 等^[14]在老年小鼠结膜下注射合成的 PEDF 的衍生 29-mer 短肽,注射后发现其可以有效刺激睑板腺泡基底细胞增殖,扩大睑板腺泡,改善小鼠泪膜破裂时间。以上研究显示 PEDF 在 DE 中起着抗炎和改善睑板腺功能障碍的作用,在 DE 的治疗方面具有巨大潜力。

2 PEDF 与角膜损伤

角膜是圆顶形的透明组织,位于虹膜和瞳孔的正前方,是眼球的屈光介质之一。角膜与人体中的大多数组织不同,其不含血管,由泪液、睑板腺、房水和支配它的三叉神经节的神经纤维提供营养。炎症、氧化应激、病毒感染和创伤等会对角膜的正常结构和生理功能造成不可逆转的损伤,近年来诸多的研究发现 PEDF 在维持角膜正常结构和组织功能方面具有重要作用。Shang 等^[15]在 PEDF 基因缺失的小鼠中发现内源性 PEDF 的缺失会导致小鼠角膜神经生长中断、敏感性降低及上皮损伤。除此外,还检测出小鼠角膜基质细胞数量减少及泪液量补偿性增加。

PEDF 在促进角膜受损神经的修复和抑制角膜新生血管方面具有一定疗效。有研究表明,在小鼠角膜损伤的治疗中应用 PEDF 联合二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)可增强角膜的修复作用。DHA 是一种多不饱和脂肪酸,在大脑和视觉器官的发育中发挥重要作用,具有调节能量代谢、生长发育、免疫防御、抗炎、抗氧化等作用^[16-17]。Pham 等^[18]应用 PEDF+DHA 局部治疗角膜基质神经受损的小鼠,证实 PEDF 可通过结合其受体激活角膜——三叉神经轴,从而促进角膜神经再生,这种作用在 PEDF+DHA 联合治疗时增强。随后该团队在糖尿病小鼠角膜损伤模型中证实, PEDF+DHA 可以促进糖尿病小鼠的角膜神经再生和加速伤口愈合,同时增强角膜敏感性和增加泪液产生量,并调节糖尿病小鼠角膜的炎症反应^[19]。

PEDF 在糖尿病小鼠角膜损伤中的作用得到了更进一步研究, Liu 等^[20]局部外用 PEDF 治疗 STZ 诱导的糖尿病小鼠角膜病变,发现 PEDF 不仅改善糖尿病小鼠角膜上皮损伤、增加角膜敏感性和泪液量,还降低晚期糖基化终产物的含量以减轻氧化应激诱导的糖尿病小鼠角膜损伤。除 PEDF 外, PEDF 的衍生短肽也具有抑制小鼠角膜新生血管和促进角膜神经修复的作用, Tian 等^[21]在单纯疱疹病毒性角膜炎小鼠模型中予结膜下分别注射 PEDF、PEDF 的 44-mer 和 34-mer 短肽,研究发现注射完整的 PEDF 能更有效地减弱角膜神经退行性变和新生血管。Yeh 等^[22]建立兔的角膜神经损伤模型,分别在结膜下和角膜基质内注射 PEDF 的 44-mer 短肽,发现兔的角膜基底神经末梢再生,角膜触觉逐渐恢复,但这种作用仅在基质内注射 44-mer 短肽后观察到,且具有剂量依赖性。Ho 等^[23]合成 PEDF 衍生短肽 7-mer,证实其可以阻止角膜新生血管形成。Mahmoudzadeh 等^[24]局部应用 PEDF 与贝伐单抗治疗兔角膜新生血管实验模型中比较其疗效,发现两者减少新生血管的长度和面积并没有显著差异,表明 PEDF 是一种较为安全有效的短期治疗方案,但其长期影响有待研究。

综上所述, PEDF 是角膜神经生长发育和维持眼表健康的重要分子,通过外源性的 PEDF 给药对治疗角膜损伤起着积极作用,但不同给药方式及不同 PEDF 衍生短肽的治疗效果不同,具体机制还有待研究。

3 PEDF 与年龄相关性黄斑变性

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, ARMD)是一种由氧化应激、炎症等多因素导致的视网膜疾病,主要影响视网膜黄斑区域,导致中央视力进行性丧失。ARMD 主要有两种形式:干性黄斑变性,主要与 RPE 细胞的退化相关;渗出性或湿性黄斑变性,与脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)相关^[25]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)可促进 CNV 生成和增加血管通透性,在湿性 ARMD 的发展中起关键作用^[26]。有临床研究表明, ARMD 中 Bruch 膜和脉络膜毛细血管复合体中 PEDF 水平降低,并且 PEDF 和 VEGF 之间存在临界平衡, PEDF 的减少可能会破坏平衡从而利于 CNV 的形成^[27]。Oszejca 等^[28]观察到 ARMD 患者的外周循环中 PEDF 含量明显降低,尤其在渗出型 ARMD 患者中 PEDF 降低更为显著;并且在疾病的进展过程中, PEDF 和 VEGF 水平呈负相关,证实了它们的拮抗作用。Farnoodian 等^[29]在 PEDF 基因缺失的小鼠中分离出脉络膜内皮细胞,他们发现 PEDF 缺失的脉络膜内皮细胞的增殖能力更强,其炎症介质骨桥蛋白和 VEGF 的表达水平增加,并且氧化应激反应也相应增强。Nadal-Nicolas 等^[30]建立 RPE 细胞慢性氧化应激损伤的体外模型,通过不同浓度的 PEDF 作用后测定其细胞毒性和活力。结果显示,随着 PEDF 浓度的增加, RPE 细胞的氧化损伤明显减少。

3.1 非病毒载体编码 PEDF 基因的治疗 早期的动物研究中已经证实,使用腺病毒或慢病毒载体将编码 PEDF 的基因治疗新生血管性年龄相关性黄斑变性(nvARMD)具有良好效果^[31-32]。然而使用病毒载体传递遗传信息在效率和安全性方面仍然存在局限性,如腺病毒载体可能会影响疗效甚至诱发严重的免疫反应;慢病毒载体倾向于将转录基因整合到宿主细胞转录活性基因组区域,增加相关插入突变的风险。有研究发现,非病毒睡美人(sleeping

beauty, SB)转座子,特别是它的超活性形式(SB100X),可以避免与病毒载体相关的风险,提供高效、稳定的基因转移和表达^[33]。基于SB100X在传递遗传信息方面的优势,Thumann等^[34]开发无抗生素标记的PFAR质粒结合SB100X转座子传递PEDF基因,其可以在原代牛虹膜色素上皮细胞和人RPE细胞中稳定、长期保持基因表达和蛋白分泌。Pastor等^[35]进一步证实SB100X介导转基因整合到宿主细胞的基因组中,使原代人RPE细胞转染至重组PEDF蛋白的分泌量增加2.4倍且能保持8mo。Johnen等^[36]使用SB100X转座子系统转染PEDF至RPE细胞的基因组,结果显示PEDF基因稳定整合到RPE细胞的基因组中,且能持续高分泌PEDF。粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)是一种神经保护蛋白,Bascuas等^[37-38]使用SB100X转染PEDF+GM-CSF基因至人的RPE细胞,与对照组相比,转染组显示出显著的抗氧化细胞保护作用,并且同时过表达PFDE和GM-CSF基因的作用强于表达单一基因的作用。

3.2 非病毒载体编码PEDF基因与RPE移植治疗 通过移植RPE来治疗早期ARMD是一种有前景的治疗方法^[39]。最近的研究发现,移植经过修饰的高表达PEDF的RPE细胞和虹膜色素上皮细胞在治疗ARMD方面有不错的疗效。Garcia-Garcia等^[40]应用SB转座子系统将编码PEDF基因转染至大鼠RPE细胞,先通过体外实验证实培养的视网膜和虹膜色素上皮细胞能分泌高水平的PEDF,再进一步将该基因工程细胞移植到CNV大鼠模型的视网膜下,研究显示该细胞能稳定存活且持续高分泌PEDF达4mo以上,可减少50%的新生血管的形成。Hernandez等^[41]将转基因的RPE细胞和虹膜色素上皮细胞注入由激光诱导大鼠CNV模型视网膜下腔,检测注射后第7、14d大鼠脉络膜血管渗漏面积及新生血管面积明显减少,且PEDF/VEGF比值显著增加。此外研究发现,相比于RPE细胞悬浮液移植,RPE组织移植已经被证明在形态、生理和存活方面更优越,因为其提供细胞间连接和内源性细胞外基质环境,然而传统的RPE组织移植需要应用支架支撑这些微妙的结构,这种方法需要外科手术的侵入,为此Al-Ani等^[42]开发无支架RPE微组织(RPE- μ ts),RPE- μ ts可以使用超细针头视网膜下注射输送,并且RPE- μ ts保留了关键的RPE分子标记,与传统的单层培养相比PEDF的转录和分泌显著增加。综上所述,在动物研究中通过SB100X系统编码PEDF基因联合RPE细胞悬浮液治疗ARMD已有显著成效,然而是否可以通过上述SB100X系统编码PEDF基因联合RPE组织移植的方式更有效地治疗ARMD还有待研究。

4 PEDF与糖尿病视网膜病变

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病的一种微血管并发症,DR的特征是视网膜血管病变和神经元损伤。已有大量研究发现促血管生成因子和抗血管生成因子的平衡失调可导致DR的进展^[43]。在正常视网膜中,神经组织与血管内皮细胞密切接触,形成神经血管单位,合成包括PEDF在内的多种营养因子,其中PEDF在神经保护、抗通透性和抗血管生成的3个因素中作用最明显^[44],PEDF的下调可能是导致糖尿病视网膜血管病变和神经变性的主要原因^[45]。Araújo等^[46]在Ins2(Akita)小鼠模型中发现PEDF在DR的早期阶段有增加的趋势,

但在DR后期逐渐下降至保持不变,而促血管因子VEGF在DR的后期增加。Chen等^[47]通过高脂饮食诱导猕猴的DR早期模型中发现恒河猴视网膜VEGF表达增加,PEDF表达降低。在尼日利亚北部的DR患者的一项研究中显示,DR患者血浆VEGF和PEDF水平明显高于无视网膜病变的糖尿病患者,尽管血糖控制良好,DR患者和对照组中VEGF/PEDF的比率也没有显著差异^[48];这提示糖尿病患者不仅需要严格控制血脂和血糖外,针对这些关键分子进行辅助治疗可能在预防和延缓DR的发生中具有重要作用,有待进一步研究。

基于PEDF的治疗:早期研究中已经证实PEDF在DR中的多重保护作用, Park等^[49]构建PEDF转基因小鼠,并在氧诱导视网膜病变小鼠中证实,PEDF转基因小鼠的视网膜新生血管减少、血管渗漏情况改善,以及促炎因子表达水平明显降低。Haurigot等^[50]通过对小鼠玻璃体注射腺相关病毒上调PEDF表达,可以显著抑制玻璃体内新生血管,改善视网膜毛细血管密度,进而预防视网膜脱离。然而,病毒载体与免疫原性和诱变性有关,促进了非病毒载体的设计作为替代。Calado等^[51]发现通过非病毒载体pEPito转导PEDF至糖尿病小鼠中,在单次视网膜下注射后,PEDF可持续表达长达3mo,并且降低VEGF水平及小胶质细胞活性,从而减少炎症。胎盘生长因子(placental growth factor, PIGF/PGF)是VEGF家族中另一个具有促血管生成和促炎症作用的细胞因子,但其不是生理性血管生成所必须的,却在病理性新生血管中发挥关键作用^[52]。基于此,Araújo等^[53-54]使用pEPito载体编码PEDF基因联合沉默PIGF基因治疗糖尿病小鼠,在单次视网膜下注射21d后,糖尿病小鼠的视网膜炎症反应显著减少、新生血管的明显消退、视网膜毛细血管网络恢复和通透性降低,并且这种联合作用的影响优于单一多表达PEDF或沉默PIGF。此外,考虑到PEDF对视网膜的神经保护作用 and PIGF沉默不影响生理性血管生成的强大抗血管生成作用,这种潜在的治疗方法可能副作用更小。

5 小结和展望

PEDF参与多种眼部疾病的发生发展,发挥抗炎、抗氧化应激、抑制新生血管以及神经营养等作用,对于干眼、角膜损伤、ARMD、DR等疾病的治疗具有重要的潜在价值。PEDF可通过滴用、结膜下注射、基因治疗等方式使其表达增加。通过滴用或结膜下注射外源性PEDF治疗干眼及角膜损伤有明显疗效;通过非病毒载体编码PEDF基因治疗ARMD和DR,可以避免病毒载体传递的相关风险,其转染效率更高,作用更安全有效。然而,同一研究中不同给药方式以及不同PEDF衍生短肽显示出的治疗效果存在较大差异,还需进一步研究。目前基于PEDF的治疗方法多停留在细胞及动物实验阶段,其在眼部疾病中的临床疗效还不确定。因此,在未来的研究中,期望大样本的纳入以确定PEDF的使用时机、给药方式和剂量等在临床中的疗效。

参考文献

- 1 Steele FR, Chader GJ, Johnson LV, et al. Pigment epithelium-derived factor: neurotrophic activity and identification as a member of the serine protease inhibitor gene family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90(4): 1526-1530
- 2 Becerra SP, Sagasti A, Spinella P, et al. Pigment epithelium-derived factor behaves like a noninhibitory serpin. Neurotrophic activity does not

require the serpin reactive loop. *J Biol Chem* 1995;270(43):25992–25999

3 Tombran-Tink J, Pawar H, Swaroop A, et al. Localization of the gene for pigment epithelium-derived factor (PEDF) to chromosome 17p13.1 and expression in cultured human retinoblastoma cells. *Genomics* 1994;19(2):266–272

4 Filleur S, Volz K, Nelius T, et al. Two functional epitopes of pigment epithelium-derived factor block angiogenesis and induce differentiation in prostate cancer. *Cancer Res* 2005;65(12):5144–5152

5 Huang KT, Lin CC, Tsai MC, et al. Pigment epithelium-derived factor in lipid metabolic disorders. *Biomed J* 2018;41(2):102–108

6 Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, et al. TFOS DEWS II definition and classification report. *Ocul Surf* 2017;15(3):276–283

7 Tian L, Wen Y, Li SY, et al. Benefits and safety of astaxanthin in the treatment of mild- to - moderate dry eye disease. *Front Nutr* 2021;8:796951

8 Foulsham W, Coco G, Amouzegar A, et al. When clarity is crucial: regulating ocular surface immunity. *Trends Immunol* 2018;39(4):288–301

9 Singh RB, Blanco T, Mittal SK, et al. Pigment Epithelium-derived Factor secreted by corneal epithelial cells regulates dendritic cell maturation in dry eye disease. *Ocul Surf* 2020;18(3):460–469

10 Chen YH, Chauhan SK, Shao CY, et al. IFN- γ -expressing Th17 cells are required for development of severe ocular surface autoimmunity. *J Immunol* 2017;199(3):1163–1169

11 Singh RB, Blanco T, Mittal SK, et al. Pigment epithelium-derived factor enhances the suppressive phenotype of regulatory T cells in a murine model of dry eye disease. *Am J Pathol* 2021;191(4):720–729

12 Ma BK, Zhou YF, Liu RJ, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) plays anti-inflammatory roles in the pathogenesis of dry eye disease. *Ocul Surf* 2021;20:70–85

13 Reneker LW, Irlmeier RT, Shui YB, et al. Histopathology and selective biomarker expression in human meibomian glands. *Br J Ophthalmol* 2020;104(7):999–1004

14 Fan NW, Ho TC, Lin EH, et al. Pigment epithelium-derived factor peptide reverses mouse age-related meibomian gland atrophy. *Exp Eye Res* 2019;185:107678

15 Shang ZY, Li CX, Liu XM, et al. PEDF gene deletion disrupts corneal innervation and ocular surface function. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2021;62(7):18

16 Hellström A, Pivodic A, Gränse L, et al. Association of docosahexaenoic acid and arachidonic acid serum levels with retinopathy of prematurity in preterm infants. *JAMA Netw Open* 2021;4(10):e2128771

17 Piñas García P, Hernández Martínez FJ, Aznárez López N, et al. Supplementation with a highly concentrated docosahexaenoic acid (DHA) in non-proliferative diabetic retinopathy: a 2-year randomized double-blind placebo-controlled study. *Antioxidants (Basel)* 2022;11(1):116

18 Pham TL, He JC, Kakazu AH, et al. Defining a mechanistic link between pigment epithelium-derived factor, docosahexaenoic acid, and corneal nerve regeneration. *J Biol Chem* 2017;292(45):18486–18499

19 He JC, Pham TL, Kakazu A, et al. Recovery of corneal sensitivity and increase in nerve density and wound healing in diabetic mice after PEDF plus DHA treatment. *Diabetes* 2017;66(9):2511–2520

20 Liu XM, Liu H, Lu XX, et al. PEDF attenuates ocular surface damage in diabetic mice model through its antioxidant properties. *Curr Eye Res* 2021;46(3):302–308

21 Tian X, Wang TS, Zhang SM, et al. PEDF reduces the severity of herpetic simplex keratitis in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59

(7):2923–2931

22 Yeh SI, Yu SH, Chu HS, et al. Pigment epithelium-derived factor peptide promotes corneal nerve regeneration: an *in vivo* and *in vitro* study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2021;62(1):23

23 Ho TC, Yeh SI, Chen SL, et al. A short peptide derived from pigment epithelium-derived factor exhibits an angioinhibitory effect. *BMC Ophthalmol* 2022;22(1):88

24 Mahmoudzadeh R, Heidari - Keshel S, Mehrpour M, et al. Comparison of topical pigment epithelium-derived factor (PEDF) with topical bevacizumab for accelerating the regression of corneal neovascularization in an experimental model of rabbit corneal angiogenesis. *Ocul Immunol Inflamm* 2021;29(7–8):1471–1477

25 Jensen EG, Jakobsen TS, Thiel S, et al. Associations between the complement system and choroidal neovascularization in wet age-related macular degeneration. *Int J Mol Sci* 2020;21(24):9752

26 Vilkeviciute A, Cebatoriene D, Kriauciuniene L, et al. VEGFA haplotype and VEGF-A and VEGF-R2 protein associations with exudative age-related macular degeneration. *Cells* 2022;11(6):996

27 Bhutto IA, McLeod DS, Hasegawa T, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in aged human choroid and eyes with age-related macular degeneration. *Exp Eye Res* 2006;82(1):99–110

28 Oszejca K, Szmraj M, Szmraj J, et al. Association analysis of genetic polymorphisms and expression levels of selected genes involved in extracellular matrix turnover and angiogenesis with the risk of age-related macular degeneration. *Ophthalmic Genet* 2018;39(6):684–698

29 Farnoodian M, Sorenson CM, Sheibani N. PEDF expression affects the oxidative and inflammatory state of choroidal endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2018;314(4):C456–C472

30 Nadal-Nicolas FM, Becerra SP. Pigment epithelium-derived factor protects retinal pigment epithelial cells against cytotoxicity “*In vitro*”. *Adv Exp Med Biol* 2018;1074:457–464

31 Saishin Y, Silva RL, Saishin Y, et al. Periocular gene transfer of pigment epithelium-derived factor inhibits choroidal neovascularization in a human-sized eye. *Hum Gene Ther* 2005;16(4):473–478

32 Sheibani N, Wang SJ, Darjatmoko SR, et al. Novel anti-angiogenic PEDF-derived small peptides mitigate choroidal neovascularization. *Exp Eye Res* 2019;188:107798

33 Izsvák Z, Hackett PB, Cooper LJ, et al. Translating Sleeping Beauty transposition into cellular therapies: victories and challenges. *Bioessays* 2010;32(9):756–767

34 Thumann G, Harmening N, Prat-Souteyrand C, et al. Engineering of PEDF-expressing primary pigment epithelial cells by the SB transposon system delivered by pFAR4 plasmids. *Mol Ther Nucleic Acids* 2017;6:302–314

35 Pastor M, Johnen S, Harmening N, et al. The antibiotic-free pFAR4 vector paired with the sleeping beauty transposon system mediates efficient transgene delivery in human cells. *Mol Ther Nucleic Acids* 2018;11:57–67

36 Johnen S, Harmening N, Marie C, et al. Electroporation-based genetic modification of primary human pigment epithelial cells using the sleeping beauty transposon system. *J Vis Exp* 2021

37 Bascuas T, Kropp M, Harmening N, et al. Induction and analysis of oxidative stress in sleeping beauty transposon-transfected human retinal pigment epithelial cells. *J Vis Exp* 2020

38 Bascuas T, Zedira H, Kropp M, et al. Human retinal pigment epithelial cells overexpressing the neuroprotective proteins PEDF and GM-CSF to treat degeneration of the neural retina. *Curr Gene Ther* 2022;22(2):168–183

- 39 Al-Ani A, Sunba S, Hafeez B, *et al.* *In vitro* maturation of retinal pigment epithelium is essential for maintaining high expression of key functional genes. *Int J Mol Sci* 2020;21(17):6066
- 40 Garcia-Garcia L, Recalde S, Hernandez M, *et al.* Long-term PEDF release in rat iris and retinal epithelial cells after sleeping beauty transposon-mediated gene delivery. *Mol Ther Nucleic Acids* 2017;9:1-11
- 41 Hernandez M, Recalde S, Garcia - Garcia L, *et al.* Preclinical evaluation of a cell - based gene therapy using the sleeping beauty transposon system in choroidal neovascularization. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2019;15:403-417
- 42 Al-Ani A, Toms D, Sunba S, *et al.* Scaffold-free retinal pigment epithelium microtissues exhibit increased release of PEDF. *Int J Mol Sci* 2021;22(21):11317
- 43 Popescu M, Bogdan C, Pintea A, *et al.* Antiangiogenic cytokines as potential new therapeutic targets for resveratrol in diabetic retinopathy. *Drug Des Devel Ther* 2018;12:1985-1996
- 44 Mallmann F, Canani LH. Intravitreal neurodegenerative and inflammatory mediators in proliferative diabetic retinopathy. *Arq Bras Oftalmol* 2019;82(4):275-282
- 45 Falero-Perez J, Park S, Sorenson CM, *et al.* PEDF expression affects retinal endothelial cell proangiogenic properties through alterations in cell adhesive mechanisms. *Am J Physiol Cell Physiol* 2017; 313 (4): C405-C420
- 46 Araújo RS, Silva MS, Santos DF, *et al.* Dysregulation of trophic factors contributes to diabetic retinopathy in the Ins2(Akita) mouse. *Exp Eye Res* 2020;194:108027
- 47 Chen JF, Luo QH, Huang C, *et al.* Expression of VEGF and PEDF in early-stage retinopathy in diabetic macaca mulatta. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2017;37(9):1217-1221
- 48 Unung PJ, Bassey IE, Etukudo MH, *et al.* Effect of glycemic control and dyslipidemia on plasma vascular endothelial growth factor and pigment epithelium - derived factor in diabetic retinopathy patients in Northern Nigeria. *Int J Health Sci (Qassim)* 2020;14(6):4-12
- 49 Park K, Jin J, Hu Y, *et al.* Overexpression of pigment epithelium-derived factor inhibits retinal inflammation and neovascularization. *Am J Pathol* 2011;178(2):688-698
- 50 Haurigot V, Villacampa P, Ribera A, *et al.* Long-term retinal PEDF overexpression prevents neovascularization in a murine adult model of retinopathy. *PLoS One* 2012;7(7):e41511
- 51 Calado SM, Diaz - Corrales F, Silva GA. pEPito - driven PEDF expression ameliorates diabetic retinopathy hallmarks. *Hum Gene Ther Methods* 2016;27(2):79-86
- 52 Balser C, Wolf A, Herb M, *et al.* Co-inhibition of PGF and VEGF blocks their expression in mononuclear phagocytes and limits neovascularization and leakage in the murine retina. *J Neuroinflammation* 2019;16(1):26
- 53 Araújo RS, Silva GA. PlGF silencing combined with PEDF overexpression; modeling RPE secretion as potential therapy for retinal neovascularization. *Mol Biol Rep* 2020;47(6):4413-4425
- 54 Araújo RS, Bitoque DB, Silva GA. Development of strategies to modulate gene expression of angiogenesis-related molecules in the retina. *Gene* 2021;791:145724