

羊膜在眼科临床应用中的研究新进展

杨雅岚, 王丛香

作者单位: (410011) 中国湖南省长沙市爱尔眼科医院
作者简介: 杨雅岚, 医学硕士, 主治医师, 研究方向: 角膜病学、眼外伤及视网膜病。
通讯作者: 杨雅岚, yangyalan2009@sina.com
收稿日期: 2012-04-06 修回日期: 2012-09-04

Clinical application and research progress of amniotic membrane transplantation in ophthalmology

Ya-Lan Yang, Cong-Xiang Wang

Changsha Aier Eye Hospital, Changsha 410011, Hunan Province, China

Correspondence to: Ya-Lan Yang. Changsha Aier Eye Hospital, Changsha 410011, Hunan Province, China. yangyalan2009@sina.com
Received: 2012-04-06 Accepted: 2012-09-04

Abstract

• With the report on successful application of amniotic membrane transplantation in clinical ophthalmology, especially in the treatment of ocular surface diseases, the basic research on the application of amniotic membrane in ophthalmology field also gained more attention. In this paper, the histological, immunological, and biological characteristics of amniotic membrane in the field of ophthalmology clinical application were reviewed.

• KEYWORDS: amniotic membrane; histological characteristics; immunological characteristics; clinical practice in ophthalmology

Citation: Yang YL, Wang CX. Clinical application and research progress of amniotic membrane transplantation in ophthalmology. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2012;12(10):1910-1914

摘要

随着羊膜移植在眼科临床,特别是在治疗眼表疾病中应用的成功报道,羊膜在眼科领域应用的基础研究也进一步受到关注。本文就羊膜的组织学、免疫学、生物学特性及其在眼科领域的临床应用进行综述。

关键词: 羊膜; 组织学特性; 免疫学特性; 眼科临床应用
DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2012.10.26

引用: 杨雅岚, 王丛香. 羊膜在眼科临床应用中的研究新进展. 国际眼科杂志 2012;12(10):1910-1914

0 引言

羊膜(amniotic membrane, AM)从细胞滋养层衍化而来,是人两层胎膜的内层,正常羊膜薄而透明,无血管、神经和淋巴管。羊膜在眼科的应用最早始于1940年,De Roth^[1]将带有绒毛膜的新鲜人羊膜移植到眼球表面修复结膜缺损,但是因含有抗原性很强的绒毛膜,移植片发生排斥溶解,导致手术失败,所以使得羊膜应用停止了很长时间。1995年, Kim等^[2]重新将羊膜引入眼科治疗领域,采用低温保存羊膜移植使化学性损伤后眼表得以重建,自此羊膜成为眼科的研究和应用热点。

1 羊膜的组织学特性

正常羊膜薄而透明,无血管及神经,厚度为0.02~0.05mm。光镜下自外向内分5层:(1)上皮层:由外胚层衍化而来,与角膜上皮来源相同,大部分为单层立方上皮,有合成、分泌和沉积基底膜和细胞外间质成分的能力。(2)基底膜:全身最厚的基底膜,约0.1mm厚,含IV型胶原纤维网、层粘连蛋白和硫酸肝糖蛋白。(3)致密层:无细胞,致密,由网状纤维组成,对母体的细胞浸润有一定阻力;羊膜的张力决定于此层结构。(4)纤维母细胞层:由纤维母细胞和网状纤维组成。(5)海绵层:由波浪状网织纤维束组成,具有伸展性。致密层、纤维母细胞层和海绵层共同构成基质层,含I型、III型胶原及纤维粘连蛋白。V型及VII型胶原分布在层间。透射电镜下^[3],羊膜上皮细胞内含有丰富的吞饮小泡,泡质丰富,含有大量内质网池和高尔基体。核仁大而不规则,核膜有切迹,上皮细胞之间通过桥粒连接。细胞表面还有许多微绒毛。基底膜上有分化成熟的半桥粒,并有羊膜上皮细胞间组成复杂的迷路,成为沟通羊膜腔和羊膜基质的通道^[4,5]。基底膜上的半桥粒高度发达,并有层上纤维穿过进入基质层。

2 羊膜的免疫学特点

羊膜的免疫学特性是它能够成为临床理想移植材料的基础。在正常环境条件下保存人羊膜不表达人类白细胞抗原,因此不发生免疫排斥反应^[6]。

羊膜具有低免疫原性的机制包括如下几个方面:(1)羊膜上皮细胞通常不表达HLA-A、B和DR抗原,因此不会引起机体针对羊膜植片的免疫排斥反应。此外,羊膜中表达HLA-E、G基因,1995年 Houlihan等^[7]首次用RNA探针进行原位杂交,证明人羊膜和滋养层细胞中有HLA-E、G的mRNA片段,以后用免疫组化法证明羊膜和滋养层细胞膜上有HLA-E、G的蛋白分子表达。HLA-E、G是重要的负向免疫调节因子,对维持羊膜的低免疫原性起重要作用。但是, Jenkins等^[8]和 SuRon等^[9]研究报道证实羊膜上皮层下有少量细胞表达HLA-DR阳性, Kubo等^[10]亦研究表明羊膜成纤维细胞中表达HLA-II类抗原。推测其

原因可能为病灶局部的炎性反应释放的干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ) 等细胞因子诱导 HLA-II 类抗原表达或者羊膜供体来自自身免疫性疾病患者,致使其细胞表达 HLA-DR。因此,羊膜植片发生排斥的现象虽然极少见,但其发生的机制需要重视,有待更深入的研究进行验证。(2)多形核中性粒细胞(polymorphonuclear cells, PMN)是参与炎性反应的主要炎性细胞,眼表烧伤等急性炎性反应时角膜中大量中性粒细胞浸润,释放胶原酶和其他基质金属蛋白酶等蛋白水解酶,引起角膜基质的进行性溶解,激活的多形核白细胞还释放或刺激粒细胞-巨噬细胞克隆刺激因子(granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)、IL-1、血管内皮细胞生长因子(vascular endothelium growth factor, VEGF)炎性因子的表达。Zhou 等^[11]研究发现新鲜羊膜可以分泌表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、IL-1ra、IL-10 和基质金属蛋白酶抑制剂等活性因子促进多形核白细胞的凋亡,羊膜上皮还可以合成并释放溶酶体以帮助清除凋亡的 PMN 细胞,从而减轻免疫炎性反应。(3)羊膜分泌的可溶性蛋白中含有丰富的色素上皮衍生因子(pigment epithelium-derived factor, PEDF),研究表明可抑制人脐静脉内皮细胞和牛视网膜微血管内皮细胞增殖^[12]。因此,羊膜移植于眼表后产生的 PEDF 可抑制角膜新血管生成,改善局部的炎性反应微环境。

3 羊膜的生物学特点

羊膜的生物学特性一直是研究的热点。羊膜在眼科应用的优点,主要是以下三方面^[2,13-16]。

3.1 羊膜作为基底膜促进上皮化 羊膜基底膜与眼表上皮基底膜组织成分相似。眼表上皮细胞的正常增生和分化有赖于上皮下正常基底膜的存在。基底膜主要由 IV 型胶原、VII 型胶原和层粘连蛋白组成,可以促进上皮细胞移行和分化,增强基底上皮细胞黏附,防止上皮细胞凋亡。羊膜内同样含有 IV 型胶原、V 型胶原、整合素、板层体等^[2]多种成分。而层粘连蛋白(Laminin, LN)是由不同的蛋白质分子组成的一个蛋白质家族,是细胞外基质(ECM)中的非胶原糖蛋白。它广泛分布于基底膜的透明层,紧贴细胞基底部,与 IV 型胶原结合形成基底膜的骨架,影响细胞的黏附、运动,调节细胞的生长和分化。Fukuda 等^[17]用间接免疫荧光检验出羊膜和结膜、角膜内 VII 型胶原是完全一样的,其差别仅在于角膜内含 IV 型胶原为 $\alpha 5$ 型,而羊膜和结膜为 $\alpha 2$ 型;羊膜和结膜、角膜内 I 及 V 型层粘连蛋白是完全相同。

目前已在羊膜中发现多种细胞生长因子,如碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、角蛋白细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)等生长因子及其相应的 mRNA。这些生长因子有利于上皮细胞分化移行,增强上皮细胞黏附性,促进上皮生长。生长因子在眼表创伤愈合和维持角膜透明性中起重要作用^[18]。

碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)是哺乳动物和人体组织中存在的一种微量蛋白质,能诱导神经外胚层和中胚层来源的细胞增殖与分化,其分子量约为 16ku。与 EGF 不同 bFGF 主要是促进基质成纤维细胞的增殖、移行和分化,其对术后伤口愈合的影响持续时间较长,贯穿于伤口愈合的全过程。实验研究已证实,它能有效地刺激体外培养的动物及人的眼表及视网膜色素细胞的增殖^[19]。

表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)是美国学者 Cohen 1962 年于小鼠颌下腺中首先发现的一种多肽类细胞激素,由 53 个氨基酸组成,分子量为 6ku。EGF 是哺乳动物眼中最强的细胞因子之一,能刺激体内多种类型组织细胞的分裂和增生,在相同条件下刺激角膜、结膜上皮细胞增殖的能力是 KGF, HGF 的 10 倍^[20]。

转化生长因子(transforming growth factor, TGF)分为 2 大类:TGF- α 和 TGF- β 。在羊膜组织中 TGF- α 的含量较正常角膜组织低,仅为 0.7ng/g。目前,它作为一种反映角膜上皮细胞健康状态的指标因子,在移植中所起作用的大小还需要进一步实验证明。而 TGF- β 是由 112 个氨基酸残基组成的以多肽为单位,通过二硫键相连的二聚体分子。TGF- β 至少有 5 个亚型,在人羊膜内仅检出 TGF- $\beta 1$ 、 $\beta 2$,其中以 TGF- $\beta 1$ 为主。TGF- β 本身对角膜上皮细胞的移行没有影响,却能抑制 EGF 对角膜上皮细胞移行的刺激作用,提示 TGF- β 可能在角膜上皮细胞的愈合过程中起修饰作用。临床和实验室研究表明羊膜可通过有效地抑制 TGF- β 信号系统的表达,抑制肌纤维细胞分化,从而抑制瘢痕形成^[21]。

肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)是一种生物作用尚未完全明了的多向性因子,能刺激各种靶细胞的生长,包括肝细胞、上皮细胞、内皮细胞、角质化细胞和造血细胞。它可增加细胞的能动性,有利于眼表上皮修复。

角质细胞生长因子(keratinocyte growth factor, KGF)是一条具有 163 个氨基酸残基的单链多肽,有促进上皮来源细胞增生的作用。

此外,羊膜含有的神经生长因子和 P 物质,对角膜神经有营养作用。羊膜作为遮盖物使用时,还能够保护新生上皮组织免受瞬目时眼睑的刮擦,减少炎症细胞和泪液蛋白与角膜基质的接触。

3.2 抑制炎症和新生血管 炎症和新生血管形成是两个紧密相关的病理过程,新生血管往往是各种炎症长期刺激的结果。临床研究发现羊膜具有抑制炎症、减少新生血管形成的作用。

羊膜中含有各种蛋白酶及蛋白酶抑制因子,如基质金属蛋白酶、金属蛋白酶组织抑制因子、 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶、 $\alpha 2$ -巨球蛋白、 $\alpha 2$ -抗糜蛋白酶等。其中,基质金属蛋白酶(MMP)是由多种细胞产生的一组由钙离子激活的含锌离子的内肽酶家族,具有高度同源性,几乎能降解细胞外基质的所有成分,为新细胞的生长提供空间。金属蛋白酶组织抑制因子(TIMP)是一种生物大分子物质,可促进成纤维细胞增生及胶原合成,致细胞外基质沉积并抑制其降

解。Hao等^[22]通过RT-PCR已分别从羊膜上皮细胞及基质中检出所有4种TIMP,其对眼表组织内的MMP的抑制作用可以解释羊膜移植后的抗纤维化和抗新生血管化的作用。TIMP和MMP二者相互作用、相互抗衡,两者间的相互作用在抗新生血管化和间质纤维化过程中发挥重要作用。研究表明羊膜上皮还可以合成神经生长因子如脑源性神经生长因子(BDNF)、神经生长因子(NGF)等,可释放乙酰胆碱、儿茶酚胺等神经递质^[23]。这些神经营养因子和递质可以刺激和促进受伤角膜中的残存三叉神经末梢得以再生,进而影响角膜细胞的代谢活性,如减少合成胶原酶和基质金属蛋白酶等。

羊膜还可以抑制白细胞介素的表达、调整炎症趋化因子表达,诱导多核白细胞凋亡,降低角膜基质金属蛋白酶1,2,9的表达,从而减轻角膜炎症反应,抵抗角膜溶解。羊膜中所含的抗新生血管化蛋白,对新生血管有一定的抑制作用。Kobayashi等^[24]用羊膜上皮和间质细胞培养上清液治疗由bFGF诱导的角膜新生血管的形成明显减少,说明羊膜中含有新生血管抑制因子,抑制血管内皮细胞的迁移和生长。又进一步通过RT-PCR和免疫组化发现羊膜上皮和间质细胞可以表达多种抗血管形成和抗炎蛋白,如IL-1RA,IL-10、胶原XVIII(内皮抑素前体蛋白)、金属蛋白酶组织抑制因子(TIMP)和血小板反应蛋白-1等,这些因子对抑制眼部炎症和新生血管形成均有直接或间接的作用。

3.3 抑制纤维化 在各种不同病理损伤过程中,瘢痕形成和纤维化是伤口愈合的共同途径,为细胞-细胞间、细胞-基质间各种细胞因子相互作用调节的复杂生理过程。在这一过程中,TGF- β 是控制纤维化发生的原始型细胞因子,它使细胞和基质的相互作用增强,促进纤维形成。同时,TGF- β 还可以调高成纤维细胞对 $\alpha_5\beta_1$ -整合素和 α -SM肌动蛋白的表达,而后的表达升高是成纤维细胞活化,转化为肌成纤维细胞的标志。肌成纤维细胞与瘢痕形成有关。通过抑制 β 转化生长因子的mRNA表达,来抑制纤维母细胞的活性,减少角膜瘢痕形成。

4 羊膜在眼科临床中的应用

4.1 用于多种眼表疾患的重建手术^[25,26] 各种原因导致的角膜上皮缺损或溃疡,药物治疗无效时,用羊膜移植有明显的优越性或较好的疗效,如角膜深层溃疡,羊膜移植可采用一层或多层覆盖溃疡表面治疗,效果良好^[27,28]。顽固性角膜上皮缺损导致的无菌性角膜溃疡^[29]。对于角膜缘干细胞缺乏伴有持续性角膜上皮缺损、角膜血管翳、白斑、溃疡溶解或穿孔等疾病,采用角膜缘移植可以从根本上重建眼表,如Steven-Johnson综合征等致的角膜缘干细胞缺乏征^[30]。对于大泡性角膜病变患者行角膜基质羊膜充填,减轻角膜水肿,改善眼部刺激症状^[31]。

羊膜用于热烧伤、化学烧伤引起的眼表疾病,尤其是双眼结膜大片瘢痕、睑球粘连以及穹隆部缩窄分离松解后等创面的修复术^[32]。羊膜能提供含基底膜和基质成分的胶原支架,以使受体及结膜或角膜表型的上皮细胞扩展移行于其上达到真正的结膜及角膜眼表的重建。对于轻、中度损伤,急性期使用羊膜能加快角膜和结膜修复,减少瘢

痕形成,减轻炎症反应;对于严重的眼表烧伤,在急性期往往会导致角膜和结膜坏死、融解,甚至角膜穿孔,治疗的策略主要是去除坏死的组织,促进眼表上皮化,减轻炎症和阻止结、角膜的融解等^[33],使用羊膜能减少瘢痕形成和粘连发生,但不能预防角膜缘干细胞缺乏,对于有角膜干细胞缺乏者,需结合角膜干细胞移植^[34,35]。Solomon等^[36]将羊膜移植用于睑球粘连17眼的结膜穹隆重建,有12眼获得了成功,睑球粘连完全解除,2眼获得部分穹隆重建,睑球粘连得到改善;3眼睑球粘连复发。由此认为,羊膜能有效的解决睑球粘连症状。眼表疾患经手术治疗留下的大片结膜缺损,如:较大面积的翼状胬肉^[37],疗效较好。激光角膜上皮磨镶术后^[38],降低角膜混浊发生率,提高手术质量^[39]。难治性青光眼、新生血管性青光眼及原发性闭角性青光眼等。长期以来,滤过手术后眼球外改变(结膜下瘢痕化)是手术失败的主要原因,抗纤维药物、丝裂霉素和5-氟尿嘧啶常用来抑制瘢痕形成,但并发症的发生率也随之提高^[40]。Fujishima等^[41]报道了羊膜在难治性青光眼小梁切除术中的应用,并联合应用丝裂霉素来抑制瘢痕形成和促进滤过,将羊膜放置于巩膜瓣下,效果满意。但Anderson等^[42]报道,将羊膜用于眼表疾病治疗时出现角膜钙化,发生率为12.8%,认为角膜钙化可能与手术部位、对侧眼有钙化及术后使用含磷酸盐的眼药水有关。

4.2 羊膜在生物组织工程移植膜构建中的作用 羊膜是一种理想的支持上皮细胞生长的物质,可延长其生命,维持其克隆性生长。Lee等^[43]将其用于构建人工角膜,发现用羊膜培育人工角膜保留时间较其他材料平均长于24wk,且抗房水渗漏压最小达250mmHg。研究显示^[44]:还可以通过在羊膜上负载培养角膜缘干细胞、结膜干细胞、口腔黏膜上皮细胞等,进行三维培养可体外构建复合型上皮移植膜,重建角、结膜眼表。最新一项研究使用分散酶处理过的羊膜为基底膜,成功的培养出人视网膜色素上皮(RiPE)细胞。用这种方法培养的人视网膜色素上皮细胞的RPE65,酪氨酸相关蛋白-2等的基因表达上调^[45],色素上皮细胞中血管内皮生长因子、色素上皮衍生因子明显增高。这项研究使羊膜在眼科的应用有了新的发展方向,为视网膜移植提供了新的移植载体。

4.3 药物缓释系统 羊膜作为潜在的控释给药系统在眼科具有极大的应用前景。羊膜基底膜富含胶原纤维和网状纤维,交织排列成网状,网孔间隙约0.5~15 μ m,能容纳大量药物分子,可吸附药液作为“药库”,羊膜可自行降解,在较长时间内逐步释放出药物,维持局部有效药物浓度,成为良好的膜控半定量释药系统^[46]。Kim等^[47]将羊膜用于药物缓释系统,试验予局部点用氧氟沙星眼液每15min一次点4次,由于羊膜自身组织结构特点,使房水及泪水中药物在0.5,1,2,4,6h内浓度均高于对照组,为羊膜应用于药物缓释系统研究提供了新的思路。

4.4 羊膜在义眼座植入中的应用 羟基磷灰石义眼座是眼球摘除术后首选的眶内植入材料。但作为一种可引起巨细胞反应的永久性异物,其粗糙的表面增加了与机体的接触面积,增加了异物反应的可能性。刘文斌等^[48]将7

例常规眼球摘除术后患者应用羊膜包裹义眼座,减少排斥反应的发生,效果较好。

5 羊膜的缺点

羊膜在眼表损伤重建领域中有重要作用,可用来重建结膜表面以修复正常基质,提供健康的基底膜以便新生的上皮增殖和分化。但单纯羊膜移植对于角膜缘干细胞缺乏患者的治疗效果不佳。印迹细胞学研究^[26]证实,某些疾病单纯行羊膜移植治疗后,结膜及角膜上皮表型全部结膜化,具体表现在被覆盖羊膜及角膜上皮细胞全部变小变致密,而且含有大量杯状细胞,角膜上皮缺失干细胞。因此,对于角膜缘遭到完全破坏的患者,应把羊膜移植看作是眼表重建的第一步,同时联合自体或异体角膜缘干细胞移植,提供干细胞来源重建健康眼表功能。单纯羊膜移植对于泪液分泌量最大量为零的严重干眼症也不能达到理想效果,术后人工泪液的应用或异位分泌腺(如颌下腺、腮腺)的移植,都可以提高手术成功率。

综上所述,羊膜是一种透明、有韧性又无神经、血管、淋巴管的组织,它是人体最厚的基底膜。羊膜材料易获得,免疫原性低,具有抗微生物的特性和较强的抗黏附性。无血管基质可以防止纤维瘢痕组织形成、控制排斥反应的发生,而厚的基底膜有利于上皮细胞移行,增加基底上皮细胞的黏附,促进上皮化,防止上皮细胞凋亡,可用于严重眼表疾病发挥治疗作用或作为联合角膜缘移植重建健康眼表的第一步。羊膜中生物活性物质种类繁多,一些可能还未被查明,已知活性成分的作用也不完全清楚,这些成分间相互作用的研究还未开展。由于羊膜来源广泛,制备成本低,加之具有独特的优点,因此对羊膜进行生物学改良成为未来的趋势。改变羊膜的结构(去羊膜上皮细胞或改变上皮细胞性质)及成分(吸附特殊的药物,使羊膜固有化学成分发生变化),在保持羊膜基本生理特性的同时赋予其更多的生物学功能^[49],必然成为现代眼科学中密切关注的领域,并有进一步深入研究的价值及更广泛的开发前景。

参考文献

- De Roth A. Plastic repair of conjunctival defects with fetal membrane. *Arch Ophthalmol* 1940;23(5):522-525
- Kim JC, Tseng SCG. Transplantation of preserved human amniotic membrane for surface reconstruction in severely damaged rabbit Corneas. *Cornea* 1995;14(5):473-484
- Roudebush WE, Toledo AA, Kort HI, et al. Platelet-activating factor significantly enhances intrauterine insemination pregnancy rates in non-male Factor Infertility. *Fertil Steril* 2004;82(1):52-56
- Rowland BL, Vermiluons T, Roundebush WE. Elevated circulating concentrations of platelet activating factor in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183(4):930-932
- 李莹.羊膜在眼科中应用的医学基础及临床研究新进展.黑龙江医药科学 2004;27(6):60-62
- Shimzaki J, Yang HY, Tsubota K. Amniotic membrane transplantation for ocular reconstruction in patients with chemical and thermal burns. *Ophthalmology* 1997;104(12):2068-2076
- Houlihan JM, Biro PA, Harper HM, et al. The human amnion is a site of MHC class Ib expression; evidence for the expression of HLA-E and HLA-G. *J Immunol* 1995;154(11):5665-5674

- Jenkins DM, O'Neill M, Johnson PM. HLA-DR-positive cells in the human amniochorion. *Immunol Lett* 1983;6(2):65-67
- SuRon L, Mason DY, Redman CW. HLA-DR positive cells in the human placenta. *Immunology* 1983;49(5):103-112
- Kubo M, Sonoda Y, Muramatsu R, et al. Immunogenicity of human amniotic membrane in experimental xenotransplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(7):1539-1546
- Zhou S, Chen J, Feng J. The effects of amniotic membrane on polymorphonuclear cells. *Chin Med J(Engl)* 2003;116(5):788-790
- 马翔, Haydee-Bazan, 李军.羊膜培养液抑制角膜新生血管的实验研究.中华眼科杂志 2003;39(12):753-756
- Lee SH, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol* 1997;85(3):303-312
- Sato H, Shimazaki J, Shinozake N. Role of growth factors for ocular reconstruction after amniotic membrane transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39(5):428-435
- Tseng SCG, Tsubota K. Important concepts for treating ocular surface and tear disorders. *Am J Ophthalmol* 1997;124(6):825-835
- Prabhasawat P, Kosrirukongs P, Booranapong W. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *J Med Assoc Thai* 2001;84(5):705-718
- Fukuda K, Chikama T. Differential distribution of subchains of the basement membrane components type IV collagen and laminin among the amniotic membrane, cornea, and conjunctiva. *Cornea* 1999;18(1):73-79
- 赵敏,鲁静,张琪,等. HGF、bFGF、ColIV、LN 在保存羊膜中的表达.眼科研究 2006;24(5):514-517
- 周浩,褚仁远,同行涛,等.体内实验观察 bFGF 对视网膜色素上皮细胞再生的促进作用.眼科新进展 2003;23(2):97-99
- Honma Y, Nishida K, Sotozono C. Effect of transforming growth factor-beta 1 and -beta 2 on *in vitro* rabbit corneal epithelial cell proliferation promoted by epidermal growth factor, keratinocyte growth factor, or hepatocyte growth factor. *Exp Eye Res* 1997;65(3):391-396
- Li DQ, Ma X. Suppression of transforming growth factor-beta isoforms TGF-beta receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts by amniotic membrane matrix. *J Cell Physiol* 1999;179(3):325-335
- Hao Y, Ma DH. Identification of antiangiogenic and antiinflammatory proteins in human amniotic membrane. *Cornea* 2000;19(3):348-352
- Uchida S, Inanaga Y. Neurotrophic function of conditioned medium from human amniotic epithelial cells. *J Neurosci Res* 2000;62(4):585-590
- Kobayashi N, Namie MD, Kabuyama Y, et al. Suppression of Corneal Neovascularization by Culture Supernatant of Human Amniotic Cells. *Cornea* 2002;21(1):62-67
- Ma X, Li D, Tseng SCG. Cytokine expression by human corneal and limbal fibroblasts is modulated by amniotic membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38(4):512
- Tseng SCG, Prabhasawat P, Lee SH. Amniotic membrane transplantation for conjunctival surface reconstruction. *Am J Ophthalmol* 1997;124(6):765-774
- Azuara-Blanco A, Pillai CT, Dua HS. Amniotic membrane transplantation for ocular surface reconstruction. *Br J Ophthalmol* 1999;83(4):339-402
- 闻祥根,吴晓云,闻毅颀.眼外伤睑球粘连的羊膜移植治疗.眼外伤职业眼病杂志 2002;24(2):123
- Hanada K, Shimazaki J, Shimmura S, et al. Multilayered amniotic membrane transplantation for severe ulceration of the cornea and sclera. *Am J Ophthalmol* 2001;131(3):324-331

- 30 Koizumi N, Inatomi T, Suzuki T, *et al.* Cultivated corneal epithelial stem cell transplantation in ocular surface disorders. *Ophthalmology* 2001;108(9):1569-1574
- 31 Pires RT, Tseng SC, Prabhasawat P. Amniotic Membrane Transplantation for Symptomatic Bullous Keratopathy. *Arch Ophthalmol* 1999;117(10):1291-1297
- 32 Kiln JS, Park SW, Kim JH, *et al.* Temporary amniotic membrane all promotes healing and inhibits protease activity in corneal wound Induced by alkali burn in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis* 1998;39(5):90
- 33 周世有, 陈家祺, 刘祖国, 等. 羊膜移植重建急性期严重烧伤眼表的临床研究. *中华眼科杂志* 2004;40(2):97
- 34 Gomes JA, dos Santos MS, Cunha MC, *et al.* Amniotic membrane transplantation for partial and total limbal stem cell deficiency secondary to chemical burn. *Ophthalmology* 2003;110(3):466-473
- 35 Meller D, Pires RT, Mack RJ, *et al.* Amniotic membrane transplantation for acute chemical or thermal burns. *Ophthalmology* 2000;107(5):980-989
- 36 Solomon A, Espana EM, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation for reconstruction of the conjunctival fornices. *Ophthalmology* 2003;110(1):93-100
- 37 Solomon A, Pires RT, Tseng SC. Amniotic membrane transplantation after extensive removal of primary and recurrent pterygia. *Ophthalmology* 2001;108(3):449-460
- 38 Lee HK, Kim JK, Kim SS, *et al.* Effect of amniotic membrane after laser-assisted subepithelial keratectomy on epithelial healing: clinical and refractive outcomes. *J Cataract Refract Surg* 2004;30(2):334-340
- 39 Solomon A, Meller D, Prabhaswat P, *et al.* Amniotic membrane grafts for nontraumatic Corneal Perforations, Descemetocelles, and deep ulcers. *Ophthalmology* 2002;109(4):694-703
- 40 陈家祺, 周世友, 黄挺, 等. 新鲜羊膜移植治疗严重的急性炎症期及瘢痕期眼表疾病的临床研究. *中华眼科杂志* 2000;36(1):13-16
- 41 Fujishima H, Shimazaki J, Shinozaki N, *et al.* Trabeculectomy with the use of amniotic membrane for uncontrollable glaucoma. *Ophthalmic Surg Lasers* 1998;29(5):428-431
- 42 Anderson SB, de Souza RF, Hofmann-Rummelt C, *et al.* Corneal calcification after amniotic membrane transplantation. *Br J Ophthalmol* 2003;87(5):587-591
- 43 Lee JH, Wee WK, Chung ES, *et al.* Development of a newly designed double-fixed Seoul-type keoatoprosthesis. *Arch Ophthalmol* 2000;118(12):1673-1678
- 44 Kinoshita S, Koizumi N, Nakamura T. Transplantable cultivated mucosal epithelial sheet for ocular surface reconstruction. *Exp Eye Res* 2004;78(3):483-491
- 45 Ohno-matsui K, Lchinose S, Nakahama K, *et al.* The effects of amniotic membrane on retinal pigment epithelial Cell differentiation. *Mol Vis* 2005;11(6):1-10
- 46 瞿小妹, 褚仁远, 周行涛. 羊膜载释药物对渗入眼内的促进作用. *眼科研究* 2003;21(4):362-364
- 47 Kim HS, Sah WJ, Kim YJ, *et al.* Amniotic Membrane. Tear film, corneal, and aqueous levels of loxacin in rabbit eyes after amniotic membrane Transplantation. *Cornea* 2001;20(6):628-634
- 48 刘文斌, 孙思勤, 温耀春, 等. 羊膜包裹的羟基磷灰石义眼座植入. *眼科新进展* 2001;21(3):191-192
- 49 陈家祺, 袁进. 羊膜手术的分类和发展趋势. *眼科* 2006;15(3):151-153