

视网膜类器官治疗视网膜退行性疾病的研究进展

奚惠雨,茅希颖,孙洁,袁松涛,刘庆淮

引用:奚惠雨,茅希颖,孙洁,等. 视网膜类器官治疗视网膜退行性疾病的研究进展.国际眼科杂志 2019;19(5):771-774

基金项目:国家重点研发计划(No.2017YFA0104101)

作者单位:(210029)中国江苏省南京市,南京医科大学第一附属医院眼科

作者简介:奚惠雨,南京医科大学在读硕士研究生,研究方向:眼底病。

通讯作者:刘庆淮,毕业于南京医科大学,博士,主任医师,教授,博士研究生导师,研究方向:眼底病.liuqh@njmu.edu.cn

收稿日期:2018-10-23 修回日期:2019-03-28

摘要

视网膜退行性疾病是导致视力受损与失明的重要原因。目前,对于感光细胞大量丧失的疾病晚期阶段尚无有效的治疗方案。近年来,大量研究提供了感光细胞的移植替代治疗的新思路,而视网膜3D培养技术产生的视网膜类器官能够在体外产生移植所需的感光细胞及组织,为视网膜退行性疾病的移植替代治疗奠定了基础。本文通过综述视网膜3D培养技术以及感光细胞移植的发展,着重阐述视网膜类器官在视网膜退行性疾病移植替代治疗中的现有运用策略以及局限性,以期视网膜3D培养技术在感光细胞替代治疗中的优化提供理论参考。

关键词:视网膜类器官;感光细胞;移植;视网膜退行性疾病

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.5.14

Progress of retinal organoids in treatment of retinal degenerative diseases

Hui-Yu Xi, Xi-Ying Mao, Jie Sun, Song-Tao Yuan, Qing-Huai Liu

Foundation item: National Key Research and Development Program (No.2017YFA0104101)

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Qing-Huai Liu, Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. liuqh@njmu.edu.cn

Received:2018-10-23 Accepted:2019-03-28

Abstract

• Retinal degeneration is the primary cause of visual impairment and blindness. However, in advanced stage of the disease, the majority or all photoreceptors are lost, effective therapeutics has not been established. In recent years, a large number of studies have provided new ways

for the replacement of photoreceptors and three-dimensional retinal culture has emerged to produce retinal photoreceptors and tissues of both fetal mouse and human, providing the cell source of photoreceptors replacement therapy for treating retinal degenerative diseases. This review focuses on the development of three-dimensional retinal culture techniques and photoreceptors transplantation experiments, and the existing application strategies and limitations of retinal organoids in the replacement therapy of retinal degeneration, which provide a theoretical reference for the optimization of 3D retina in photoreceptors replacement therapy.

• **KEYWORDS:** retinal organoids; photoreceptors; transplantation; retinal degenerative diseases

Citation: Xi HY, Mao XY, Sun J, *et al.* Progress of retinal organoids in treatment of retinal degenerative diseases. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2019;19(5):771-774

0 引言

眼睛,作为连接人类与外在世界的窗户,给予人类分辨外界事物以及颜色的能力。其中视网膜作为整合视觉信息的复杂神经组织结构,它的损伤往往会导致视力不可逆的损害。在大多数国家,视网膜退行性病变是导致视网膜细胞损伤的重要原因^[1],如视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)、年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, ARMD)等^[2],这些疾病会导致感光细胞功能损伤及数量减少,引起视力受损,最终导致失明。目前此类疾病的治疗方法包括神经保护治疗、基因疗法、药物疗法、光遗传学治疗、人工视网膜以及细胞替代疗法等^[3]。但是,大多数治疗方法包括已进入临床试验的视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelium cells, RPE)移植的治疗目标均为保护残存的感光细胞,因此只适用于疾病的早期阶段。但针对感光细胞大部分丢失的疾病晚期阶段,迄今为止仍未建立有效的治疗方案。如何获得移植所需的感光细胞并进行有效移植,是治疗晚期视网膜退行性疾病的关键问题。本文通过介绍感光细胞移植的发展及体外获得大量人源性感光细胞的方法,总结外源性感光细胞及视网膜组织用于移植治疗的主要方法及局限性,以期视网膜退行性疾病的感光细胞移植治疗提供新思路。

1 感光细胞移植替代治疗的发展

在过去的30余年,视网膜退行性疾病动物模型的感光细胞移植替代疗法的有效性已得到不断证实。最早期的感光细胞移植替代研究主要是小鼠体内来源的感光细胞移植整合效率的研究,包括分别将新生鼠视网膜全层细胞、感光细胞层以及感光细胞悬液移植至视网膜下腔中。20世纪90年代,Gouras等^[4]和Kwan等^[5]分别报道了分

离新生鼠的感光细胞悬液并移植至内源性感光细胞几乎完全消失的视网膜变性鼠模型中。这些研究发现移植的感光细胞有新生的外节段且能与内核层细胞形成突触连接,并证实变性的感光细胞被移植的新细胞替代后,内在的神经视网膜可以重新形成视觉信息^[6]。有研究将不同发育阶段的小鼠视杆细胞移植进正常及疾病小鼠模型中,发现出生后4~6d来源的视杆前体细胞具有最强的整合能力^[7],而将出生之前的视网膜祖细胞(retinal progenitor cells, RPCs)进行移植发现其在体内出现不可控的分化方向,表现为仅有小部分分化为感光细胞。因此,具备最佳移植状态的感光细胞应为小鼠出生后4~6d的细胞,因为这个时间点感光细胞刚刚能够产生突触连接。除了细胞悬液移植外,视网膜全层细胞及感光细胞层的移植也得到了不断研究^[8-9]。如将胎鼠细胞层移植进入视网膜下腔发现其向RPE层形成外节段,并且能够帮助维持光诱活动,另有研究将胎儿视网膜层移植于重度ARMD与RP患者中,发现视觉功能及视力均得到有效改善^[10-11]。

尽管体内来源的细胞研究证明了感光细胞移植的可行性,但由于人供体细胞通常来源于2~3月龄胎儿,并且存在伦理及细胞来源不足等问题,因此体外获得大量可供移植的细胞成为临床应用的必要前提,而干细胞体外分化技术产生的细胞资源为感光细胞的移植创造了条件。

2 视网膜体外培养技术的研究

人胚胎干细胞(hESC)^[12]和人诱导多能干细胞(hiPSC)^[13]是一类可在体外大量扩增并具有分化为三胚层中的不同组织细胞潜能的重要细胞。在过去的10a中,随着干细胞研究的逐渐深入,众多实验室在体外将干细胞逐步分化出胚胎发育过程中形成的早期神经组织、眼区、RPCs等,最终分化产生多种细胞类型^[14-15]。在最初的2D培养中,对由hESC形成的胚体添加Wnt/BMP通路抑制剂等,多数细胞向神经视网膜方向分化^[16-18],并通过添加Notch通路抑制剂产生感光细胞。然而,分化产生的这些细胞大多数为内核层视网膜细胞,且几乎没有细胞表达成熟感光细胞标志物,如opsins。因此,在后续培养中,通过补充加入对早期感光细胞发育有促进作用的视黄酸与牛磺酸以提高表达有opsins的感光细胞数量^[19-20]。尽管已证实将2D培养产生的感光细胞移植到疾病鼠中可恢复部分视觉功能^[21],但2D培养所产生的感光细胞仍缺少分化成熟的能力,尤其是无法形成感光细胞外节这一重要结构。其次,2D培养分化产生的视锥和视杆细胞的数量及比例与体内分化相比仍有很大不同^[22]。此外,无论是在2D贴壁培养组织或类胚体(embryonic bodies, EBs)中,都没有正常的视网膜上皮细胞层结构,这也会影响感光细胞的正常发育。

为解决上述问题,2011年Sasai和David课题组提出了体外3D视网膜分化的方法。使干细胞在体外自发形成符合体内发育规律,具有生理结构的视网膜类器官(organoid)^[23-24]。不同实验室也对类器官分化方法进行了优化。其中,Zhong等^[25]解决了感光细胞分化的一个重要问题即体外感光细胞能够成熟并形成外节结构,并证实小部分感光细胞存在光反应,且不断有实验室报道在体外分化的感光细胞有纤毛结构以及早期外节的产生^[26-28]。因此可以证明,与2D培养相比,3D体外培养已能够分化出视杯细胞及形成视网膜分层,并且随着类器官培养时间至数月时,可以产生多种细胞类型,包括感光细胞前体细

胞以及包含外节的成熟感光细胞。这对干性ARMD等视网膜退行性疾病中进行性萎缩退化的RPE、神经视网膜以及脉络膜血管的替代治疗都十分重要。因此,3D体外培养技术作为目前主要的细胞来源手段,对临床尤其是移植替代治疗的应用有着十分重要的意义。

此外,随着体细胞重编程技术与基因编辑技术不断发展,我们可以将遗传性视网膜退行性病变患者的成体细胞重编程形成iPSC,使之不仅能够产生重要的临床研究模型,并能分化为视网膜类器官用于药物筛选,并为感光细胞的移植治疗提供有效的资源^[29]。其中,CRISPR/Cas9基因编辑技术在内在基因缺陷的修复方面发挥重要作用^[30],使患者的iPSC能够成为重要的自体移植细胞来源。且最近研究发现,RNP CRISPR/Cas9技术能够更高效地进行基因的编辑并且脱靶效应更低,在临床应用中更有意义^[31]。因此,与hESC来源的类器官移植相比,自体来源的iPSC分化形成类器官在移植替代治疗中最大的优势是减少了移植后的免疫原性。尽管目前这种方法成本非常高,但有研究发现主要组织相容性复合体匹配的患者在使用相同的iPSC后,会大大降低移植的成本与分化的可变性^[32]。因此,基因编辑后的类器官的产生有助于了解视网膜退行性疾病的发病与转归机制,从而为治疗提供新的思路。

3 视网膜类器官在移植替代治疗中的方法研究

3.1 视网膜类器官的片层移植

视网膜发育至胚胎期8~14wk时大量产生感光细胞前体细胞并且出现RPCs增殖以及其它神经细胞,既往研究通常使用这一时期的视网膜组织进行移植^[33]。已经证实,视网膜类器官在体外30~70d与体内胚胎期8~14wk发育过程相同,可替代胎儿视网膜片层进行移植研究,并且移植进的视网膜类器官片层组织的分化成熟与整合也得到了不断证实。有研究将不同分化阶段的小鼠类器官分割成小片层,并移植进入感光细胞完全缺失的小鼠视网膜下腔中,发现各个时期的移植组织都不断分化并产生外核层,且移植片层会在宿主体内形成3种形态,11~17d相对不成熟的移植片层可与宿主体形成最佳的突触连接,且移植中外核层伴有较少的内核层可更好地与宿主体内核层接触^[34]。虽然在上述研究中可以看到突触的连接和整合,但移植片层的功能并没有得到证实。此外,也有研究将人50~60d视网膜类器官片层移植到裸鼠以及外核层退化的灵长类动物模型中,可以看到临近宿主体内核层有玫瑰花结样组织形成,且表达有成熟的感光细胞标志物并出现成熟的外节。在灵长类动物模型中,可观察到片层中的感光细胞与片层和宿主的双极细胞之间均存在突触蛋白表达,但未能检测到局部电信号的产生^[35-36]。尽管如此,这也证实了hESC来源的类器官不仅可以形成成熟的感光细胞,也能与宿主体视网膜形成突触连接,这为临床应用提供了强有力的理论依据。

上述研究表明通过移植完整或解离的视网膜类器官片层能够治疗感光细胞退行性疾病,但由于移植的片层细胞组成复杂,结构紊乱,移植替代效果目前也并不十分理想。因此,类器官片层移植的应用仍需要不断地探索和优化。

3.2 视网膜类器官的单纯感光细胞移植

体内来源的小鼠感光细胞悬液移植研究证明感光细胞前体细胞能够功能性地整合于退化的视网膜中,故在人类视网膜移植替代的研究中,从类器官中获得最佳且单纯的感光细胞十分重

要。有研究将绿色荧光蛋白(GFP)报告基因敲入干细胞系并进行分化,通过流式技术分选带有荧光的细胞,利用此方法将小鼠类器官的 Rhop.GFP⁺的视杆细胞分离出,并注射至视杆细胞缺乏的 Gnat1^{-/-}鼠的视网膜下腔中,结果表明感光细胞前体细胞阶段的移植更有整合效率,并且移植细胞与宿主细胞产生电生理现象且有感光细胞外节形成。此外,整合进的细胞与宿主细胞有着类似的药理学激动剂和拮抗剂反应,证明体外衍生的细胞与天然细胞具有相似性^[37]。但在临床应用中无法使用 GFP⁺的感光细胞进行移植,因此另一种直接获得单纯感光细胞的方法是通过感光细胞表面标志物进行流式技术分选,如 CD73⁺、CD133⁺、CD24⁺、CD15⁺等。最近的一项研究发现,与鼠类器官分选不同的是单独的 CD73⁺无法对来源的视网膜类器官进行有效分选,有研究者发现 CD29/SSEA-1 双阴性结合或者不结合 CD73⁺的分选方式虽然产生的细胞总量较低,但可以获得更大比例的感光细胞^[38]。

尽管人来源的视网膜类器官可以为移植替代治疗提供丰富的细胞资源,但目前人源性类器官的单纯感光细胞移植的效果还未得到更多证实。这可能与感光细胞表面标志物特异性差,GFP 敲入细胞系难构建以及分化出的视锥细胞比例低有关。因此,如何有效地在早期获得成熟的、大量的可供移植的感光细胞仍是目前需要解决的问题。

4 视网膜类器官的优势与局限

目前,以干细胞为基础的视网膜体外分化技术涵盖了视网膜发育过程中的细胞与分子层面上的主要特征^[39]。类器官的应用不仅在于能为视网膜退行性疾病的细胞移植治疗提供丰富的组织资源,且与其它技术的结合与利用也能够帮助了解视网膜正常发育以及变性过程,建立疾病模型,测试药物治疗功效等^[40-41]。而且疾病应用模型与药物测试相结合也为精准医疗带来了可能性,如诱导复杂遗传性疾病的患者 iPSC 分化产生特异的类器官以定制个性化治疗方案等。

但是,视网膜类器官在分化与移植方面仍存在问题:(1) 尽管不同实验室对 3D 培养技术下由干细胞分化为视网膜类器官进行了不断优化,但目前的培养技术仍有一定的局限性。如在长期培养中获得的已经分化成熟的类器官的结构仍有很高的变异性,从而影响数据信息的稳定^[42],因此通过改进现行的 3D 培养技术以提高长期培养中类器官的稳定性显得尤为重要。(2) 虽然在类器官中能够发现双极细胞、水平细胞和 Müller 胶质细胞等细胞的标志物,但正确的视网膜细胞类型比例仍未形成,尤其是位于内核层中的细胞。(3) 由于视网膜类器官与胎儿体内视网膜分化的时间大致相同,即体外视网膜分化成熟与获得通常所需数月时间,这也大大增加了视网膜疾病治疗以及获得移植资源的时间。因此,有效缩短培养获得类器官的时间也是十分必要的,但分化时间的缩短有可能会引起细胞分化命运的改变。(4) 尽管已经有研究将干细胞分化产生的视锥细胞移植进晚期阶段的 RP 模型中证明了视锥细胞移植的可行性^[43],且有研究分别对胎儿及干细胞来源的视锥细胞的转录谱进行了分析^[44],但目前的视网膜类器官仍无法产生与分离大量人类高敏视力所需要的视锥细胞,尤其是 L/M 型视锥细胞。因此,视锥细胞定向分化以及纯化的方法仍需要进一步研究。

5 展望

目前,为解决分化中的问题,3D 培养方法已在不断改进,已经发现缺氧和生物反应器的使用能促进感光细胞的产生^[45],但临床试验的应用仍需要 3D 分化方法的进一步优化,以维持类器官功能的稳定和量化分析产生的感光细胞的纯度、活力及发育阶段。再者,移植细胞的安全性仍然需要得到有效评估,因为未分化的干细胞及有增殖能力的细胞群会导致肿瘤组织的形成^[46]。因此,在移植前有效地移除这些细胞,不仅能够减少肿瘤发生的风险,更重要的是能提高感光细胞的整合效率。此外,已经发现移植进的感光细胞与宿主细胞之间可以发生蛋白质与核糖核酸(RNA)的物质交换^[47],但与直接的物理整合不同的是,移植细胞与宿主细胞间的“物质交换”,可以看作是在功能上更新受损的神经元。因为这种交换首先需要宿主中仍有残存的感光细胞,其次移植细胞仍然依赖宿主细胞的突触连接,因此这种交换并不是功能上的整合。尽管目前细胞之间的物质交换机制仍不清楚,但是可以猜想移植细胞的整合现象不仅仅是与宿主细胞的物理整合有关,也许与这种物质交换也有关^[48],因此感光细胞移植治疗的机制仍有待于进一步研究。此外,这种靶向性地细胞间的融合可能产生一种新的治疗方式,例如可将体内 Müller 胶质细胞重编程产生感光细胞前体细胞,进而分化为感光细胞,这可能会对现有移植方法提供新的启示。

总之,人类体外视网膜 3D 培养产生类器官作为一种新兴且快速发展的技术,不仅为临床移植替代治疗的应用提供了新的思路与前景,也充满着许多未知的挑战与可能。而这些问题与挑战的不断解决,为视网膜退行性疾病的的治疗提供了光明的前景。

参考文献

- Bourne RR, Taylor HR, Flaxman SR, *et al.* Number of People Blind or Visually Impaired by Glaucoma Worldwide and in World Regions 1990–2010: A Meta-Analysis. *PLoS One* 2016; 11(10): e0162229
- Hoon M, Okawa H, Santana LD, *et al.* Functional architecture of the retina: development and disease. *Prog Retin Eye Res* 2014; 42(9): 44–84
- Santosferreira TF, Borsch O, Ader M. Rebuilding the Missing Part—A Review on Photoreceptor Transplantation. *Front Syst Neurosci* 2017; 10: 105
- Gouras P, Du J, Gelanze M, *et al.* Transplantation of photoreceptors labeled with tritiated thymidine into RCS rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32(5): 1704–1707
- Kwan AS, Wang S, Lund RD. Photoreceptor layer reconstruction in a rodent model of retinal degeneration. *Exp Neurol* 1999; 159(1): 21–33
- Maclaren RE, Pearson RA, Macneil A, *et al.* Retinal repair by transplantation of photoreceptor precursors. *Nature* 2007; 23(3): 203–207
- Pearson RA, Barber AC, Rizzi M, *et al.* Restoration of vision after transplantation of photoreceptors. *Nature* 2012; 485(7396): 99–103
- Silverman MS, Hughes SE. Transplantation of photoreceptors to light-damaged retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989; 30(8): 1684–1690
- Seiler MJ, Aramant RB. Intact sheets of fetal retina transplanted to restore damaged rat retinas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39(11): 2121–2131
- Radtke N, Aramant RH, Green P, *et al.* Vision improvement in retinal degeneration patients by implantation of retina together with retinal pigment epithelium. *Am J Ophthalmol* 2008; 146(2): 172–182
- Seiler MJ, Aramant RB. Cell replacement and visual restoration by retinal sheet transplants. *Prog Retin Eye Res* 2012; 31(6): 661–687

- 12 Thomson JA, Itskovitzeldor J, Shapiro SS, *et al.* Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282 (5391) : 1145-1147
- 13 Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2010;131(5) : 861-872
- 14 Lowe A, Harris R, Bhansali P, *et al.* Intercellular Adhesion - Dependent Cell Survival and ROCK - Regulated Actomyosin - Driven Forces Mediate Self-Formation of a Retinal Organoid. *Stem Cell Reports* 2016;6(5) :743-756
- 15 Nakano T, Ando S, Takata N, *et al.* Self-formation of optic cups and storable stratified neural retina from human ESCs. *Cell Stem Cell* 2012;10(6) :771-785
- 16 Anderson RM, Lawrence AR, Stottmann RW, *et al.* Chordin and noggin promote organizing centers of forebrain development in the mouse. *Development* 2002;129(21) :4975-4987
- 17 Mukhopadhyay M, Shtrom S, Rodriguezesteban C, *et al.* Dickkopf1 is required for embryonic head induction and limb morphogenesis in the mouse. *Dev Cell* 2001;1(3) :423-434
- 18 Lamba DA, Karl MO, Ware CB, *et al.* Efficient generation of retinal progenitor cells from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(34) :12769-12774
- 19 Altshuler D, Lo Turco JJ, Rush J, *et al.* Taurine promotes the differentiation of a vertebrate retinal cell type *in vitro*. *Development* 1993; 119(4) : 1317-1328
- 20 Kelley MW, Turner JK, Reh TA. Retinoic acid promotes differentiation of photoreceptors *in vitro*. *Development* 1994; 120(8) : 2091-2102
- 21 Lamba DA, Gust J, Reh TA. Transplantation of human embryonic stem cell-derived photoreceptors restores some visual function in Crx-deficient mice. *Cell Stem Cell* 2009;4(1) :73-79
- 22 Osakada F, Ikeda H, Mandai M, *et al.* Toward the generation of rod and cone photoreceptors from mouse, monkey and human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2008;26(2) :215-224
- 23 Eiraku M, Takata N, Ishibashi H, *et al.* Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture. *Nature* 2011;472(7341) : 51-56
- 24 Meyer JS, Howden SE, Wallace KA, *et al.* Optic Vesicle - like Structures Derived from Human Pluripotent Stem Cells Facilitate a Customized Approach to Retinal Disease Treatment. *Stem Cells* 2011;29(8) :1206-1218
- 25 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
- 26 Chen HY, Dogan KK, Dong L, *et al.* Three - dimensional retinal organoids from mouse pluripotent stem cells mimic *in vivo* development with enhanced stratification and rod photoreceptor differentiation. *Mol Vis* 2016;22:1077-1094
- 27 Decembrini S, Koch U, Radtke F, *et al.* Derivation of traceable and transplantable photoreceptors from mouse embryonic stem cells. *Stem Cell Reports* 2014;2(6) :853-865
- 28 Parfitt DA, Amelia L, Ramsden CM, *et al.* Identification and Correction of Mechanisms Underlying Inherited Blindness in Human iPSC-Derived Optic Cups. *Cell Stem Cell* 2016;18(6) :769-781
- 29 Clevers H. Modeling Development and Disease with Organoids. *Cell* 2016;165(7) :1586-1597
- 30 Hung SS, Chrysostomou V, Li F, *et al.* AAV-Mediated CRISPR/Cas Gene Editing of Retinal Cells *In Vivo*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57(7) :3470-3746
- 31 Lin S, Staahl BT, Alla RK, *et al.* Enhanced homology - directed human genome engineering by controlled timing of CRISPR/Cas9 delivery. *Elife* 2014;3(6) :e04766
- 32 Sunao S, Yuko I, Kenichi M, *et al.* Successful Transplantation of Retinal Pigment Epithelial Cells from MHC Homozygote iPSCs in MHC-Matched Models. *Stem Cell Reports* 2016;7(4) :635-648
- 33 Hendrickson A, Bumstedo'Brien K, Natoli R, *et al.* Rod photoreceptor differentiation in fetal and infant human retina. *Exp Eye Res* 2008;87(5) :415-426
- 34 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 Reports* 2014;2(5) :662-674
- 35 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 U S A* 2015;113(1) :E81-90
- 36 Chao JR, Lamba DA, Klesert TR, *et al.* Transplantation of Human Embryonic Stem Cell-Derived Retinal Cells into the Subretinal Space of a Non-Human Primate. *Transl Vis Sci Technol* 2017;6(3) :4
- 37 Gonzalezcordero A, West EL, Pearson RA, *et al.* Photoreceptor precursors derived from three-dimensional embryonic stem cell cultures integrate and mature within adult degenerate retina. *Nat Biotechnol* 2013; 31(8) :741-747
- 38 Lakowski J, Welby E, Budinger D, *et al.* Isolation of Human Photoreceptor Precursors via a Cell Surface Marker Panel from Stem Cell-derived Retinal Organoids and Fetal Retinae. *Stem Cells* 2018;36(5) :709-722
- 39 Gill KP, Hung SSC, Sharov A, *et al.* Enriched retinal ganglion cells derived from human embryonic stem cells. *Sci Rep* 2016;6:30552
- 40 Parfitt DA, Lane A, Ramsden CM, *et al.* Identification and Correction of Mechanisms Underlying Inherited Blindness in Human iPSC-Derived Optic Cups. *Cell Stem Cell* 2016;18(6) :769-781
- 41 Wiley LA, Burnight E, Drack AV, *et al.* Using patient - specific induced pluripotent stem cells and wild - type mice to develop a gene augmentation - based strategy to treat CLN3 - associated retinal degeneration. *Hum Gene Ther* 2016;27(10) :835-846
- 42 Wahlin KJ, Maruotti JA, Sripathi SR, *et al.* Photoreceptor Outer Segment - like Structures in Long - Term 3D Retinas from Human Pluripotent Stem Cells. *Sci Rep* 2017;7(1) :766
- 43 Gonzalez-Cordero A, Kruczek K, Naeem A, *et al.* Recapitulation of Human Retinal Development from Human Pluripotent Stem Cells Generates Transplantable Populations of Cone Photoreceptors. *Stem Cell Reports* 2017;9(3) :820-837
- 44 Welby E, Lakowski J, Foggia VD, *et al.* Isolation and Comparative Transcriptome Analysis of Human Fetal and iPSC - Derived Cone Photoreceptor Cells. *Stem Cell Reports* 2017;9(6) :1898-1915
- 45 Ovando-Roche P, West EL, Branch MJ, *et al.* Use of bioreactors for culturing human retinal organoids improves photoreceptor yields. *Stem Cell Res Ther* 2018;9(1) :156
- 46 Arnhold S, Klein H, Semkova I, *et al.* Neurally selected embryonic stem cells induce tumor formation after long - term survival following engraftment into the subretinal space. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(12) :4251-4255
- 47 Pearson RA, Gonzalezcordero A, West EL, *et al.* Donor and host photoreceptors engage in material transfer following transplantation of post-mitotic photoreceptor precursors. *Nat Commun* 2016;7:13029
- 48 Waldron PV, Di MF, Kruczek K, *et al.* Transplanted Donor- or Stem Cell - Derived Cone Photoreceptors Can Both Integrate and Undergo Material Transfer in an Environment - Dependent Manner. *Stem Cell Reports* 2018;10(2) :406-421