

光感受器移植在视网膜退行性疾病中的应用研究进展

余超*, 李秋玉*, 邵毅

引用: 余超, 李秋玉, 邵毅. 光感受器移植在视网膜退行性疾病中的应用研究进展. 国际眼科杂志 2021;21(7):1175-1178

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No.81660158)

作者单位: (330006) 中国江西省南昌市, 南昌大学第一附属医院眼科

*: 余超和李秋玉对本文贡献一致。

作者简介: 余超, 男, 在读本科, 研究方向: 眼底病; 李秋玉, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 角膜病, 眼表疾病。

通讯作者: 邵毅, 男, 毕业于中山大学, 博士, 主任医师, 副主任, 博士研究生导师, 研究方向: 角膜病及眼表疾病. freebee99@163.com

收稿日期: 2020-07-06 修回日期: 2021-05-28

摘要

视网膜退行性疾病是影响人类视力的主要疾病, 使人感光细胞受损, 损害人的视力。而且哺乳动物的视网膜没有再生能力, 一旦患病会严重影响人们的正常生活。目前尚未有明确的预防和减缓该类疾病的方法, 但移植光感受器以补充视网膜中受损的感光细胞可以治疗视网膜疾病。本文将讨论光感受器移植方法在视网膜退行性疾病中恢复视力的现状和移植技术。

关键词: 视网膜退行性疾病; 光感受器移植; 视网膜类器官
DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2021.7.08

Research progress of photoreceptor transplantation in retinal degenerative diseases

Chao Yu*, Qiu-Yu Li*, Yi Shao

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No.81660158)

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Co-first authors: Chao Yu and Qiu-Yu Li

Correspondence to: Yi Shao. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. freebee99@163.com

Received: 2020-07-06 Accepted: 2021-05-28

Abstract

• Retinal degenerative disease is a major disease that affects human vision. It damages human photoreceptor cells and damages human vision. And the mammalian retina does not have the ability to regenerate, once the disease will seriously affect people's normal life. At present, there is no clear way to prevent and alleviate these diseases, but the transplantation of photoreceptors

to supplement the damaged photoreceptors in the retina can treat retinal diseases. In this paper, we will discuss the current situation and techniques of photoreceptor transplantation to restore vision in retinal degenerative diseases.

• KEYWORDS: retinal degenerative diseases; photoreceptor transplantation; retinal organoids

Citation: Yu C, Li QY, Shao Y. Research progress of photoreceptor transplantation in retinal degenerative diseases. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2021;21(7):1175-1178

0 引言

光感受器丢失是视网膜变性疾病的主要原因之一, 由于哺乳动物的视网膜没有再生能力, 因此视网膜变性疾病将导致视杆和视锥细胞光感受器的永久性丢失, 而完全失明。据世界卫生组织估计, 全世界视网膜变性疾病的人数约为 2.85 亿^[1]; 而据估计在欧盟范围内, 年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, ARMD) 或遗传性视网膜变性 (inherited retinal degeneration, IRD) 等疾病中有 3400 万人的视网膜变性与光感受器丢失相关^[2]。庞大的患者数目给世界经济带来巨大负担。目前通过光感受器移植进行治疗, 而光感受器的获取和植入后的免疫排斥影响是影响其疗效重要因素。

1 光感受器的解剖与功能

感光细胞是视网膜光敏细胞, 为大脑提供视觉输入。感光细胞是眼中最大的神经元细胞群, 约占视网膜的 80%。感光细胞位于神经视网膜的最外层, 其细胞体形成所谓的外核层 (outer nuclear layer, ONL)。人体视网膜包含一种类型的视杆 (低强度光照条件下提供视觉), 三种类型的视锥, 可以实现三色日光和高敏锐度的感知。光感受器外节以膜片 (杆状) 或褶皱 (圆锥形) 的形式包含大量的细胞膜伸展, 可容纳大量跨膜的光色素。色素由蛋白质 (视蛋白) 和发色团 (视网膜) 组成。接受光信号之后膜盘内的 11-顺式视黄醛异构化为全反式视黄醛。随后, 触发次级信使级联反应, 使环状核苷酸门控离子通道关闭, 并最终使感光体超极化。然后, 超极化信号通过连接的纤毛被动传输到内部部分, 随后到含核的细胞体, 最后是轴突末端。轴突末端含有一个专门的带状突触, 可调节突触的释放。超极化信号降低了 Ca^{2+} 水平, 使神经递质谷氨酸, 以进补、分级的方式突触间隙的释放减少。带状突触与水平和双极细胞的突触后末端一起形成独特的突触三联体。当棒仅与 ON 双极接触时, 圆锥形感光体与 ON 或 OFF 双极突触, 其特征分别是抑制性谷氨酸受体和兴奋性谷氨酸受体的分布不同。在信号以各种并行处理通道的形式通过视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGC) 传输到大脑之前, 视觉信号处理的第一级是在内部核层 (inner nuclear layer, INL) 进行的 (除 Müller 胶质细胞外), 还包含双极, 水平和无长突细胞^[3]。

其他两种细胞类型对于正常的感光器功能至关重要,它们不通过神经元信号传递,而是通过视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)和 Müller 胶质细胞的维持和支持功能。感光体 OS 与底层 RPE 形成密切联系。RPE 除了在视网膜和脉络膜之间形成边界[因此是血-视网膜屏障(blood-retinal barrier, BRB)的一部分]外,在光吸收、离子、流体和代谢物的上皮运输以及生长因子分泌上有重要功能^[4]。重要的是 RPE 每天吞噬大约外段长度的 1/10,从而使全反式类维生素 A 循环成 11-顺式形式。因此,RPE 作为视觉周期的一部分,为感光器的维护和功能提供了必要的支持。除了它们在基底和根尖与继发性神经元和 RPE 细胞的连接外,感光器还被 Müller 胶质细胞突包裹。Müller 胶质细胞形成内部和外部限制膜,覆盖神经核的大部分层和丛状层,密封大部分神经视网膜[除了 OS 和 IS(inner segment)的一部分]。此外它还具有适当的感光器功能,包括结构稳定,谷氨酸和发色团的吸收和再循环以及离子和水的动态平衡感知^[5]。光感受器代表了视觉感知的中心单元,将光转换为生物信号以通过化学突触传递,并依赖于与 RPE 和 Müller 胶质细胞的紧密接触。

2 视网膜退行性疾病治疗现状

鉴于全球视力障碍和失明的形势严峻,新型治疗策略的研究活动激增,但对于大多数致盲疾病,并没有真正的治愈方法^[6]。

引入抗体阻断血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF),可以大大减少湿性 ARMD 患者的新生血管形成,延迟光受体破坏速度,改善和保持视觉功能。但长期研究 SEVEN-UP 的结果显示,开始治疗后 7~8a,有一半以上的患者视力下降,视力下降程度取决于疾病最初几年 VEGF 抑制剂的注射规律^[7]。另外,这种策略对高达 25% 的患者无效。

FDA 于 2017-12 批准 LCA 基因补充方法后第一种眼基因疗法进入市场。这种方法通过使用 AAV 载体,将催化全反式向 11-顺式视网膜的异构化的正常 RPE65 基因导入患者 RPE 细胞,注射到视网膜下间隙,使视觉功能得到改善(在儿童中效果最好)^[8]。尽管尚存在许多缺陷,RPE65 基因补充的成功激励了研究者对影响 RPE,视杆或视锥光感受器的一系列其他视网膜疾病开发基因疗法。通过这种基因疗法优化修复 RPE 和光感受器,恢复视力,为视网膜疾病的治疗带来希望。

3 光感受器获取与移植

3.1 概述

根据目前多项临床试验结果,通过多能干细胞衍生的 RPE 细胞治疗 ARMD 和 Stargardt 疾病安全而且稳定^[9],为光感受器的移植安全提供了事实依据。在大多数移植研究中,供体细胞是年轻的后光受体或视网膜片,从小鼠/人类视网膜(原发细胞)获得或从小鼠/人类 PSC 中提取。视网膜片可以直接移植到宿主亚视网膜空间,如若不是细胞悬浮液,需要进行光受体浓缩[通过 FACS(fluorescence activated cell sorting)或基于 MACS(magnetic-activated cell sorting)的排序来实现]。移植后,应用组织学技术(光学相干断层扫描、免疫组织化学、电子显微镜)分析宿主细胞的定位和宿主视网膜内的相互作用。供体细胞的功能和突触连接可以使用相应技术在不同级别进行测试,从单细胞记录、微电极阵列(评估视网膜内视网膜细胞水平的功能)到通过行为测试(如水迷宫或浅暗盒)向更高的视觉中心发出信号^[10]。

3.2 获取

与任何细胞治疗方法一样,识别合适的细胞类型和来源对光感受器移植的成功极为重要。临床前实验大多使用原代细胞或组织进行移植,然而与使用有丝分裂后感光器相比,这种策略并不是很成功。

2006 年开始,在视网膜变性疾病的细胞治疗方法中,首选的且最常用的原代细胞类型是年轻的,解离的有丝分裂后光感受器的丰富群体,也称为光感受器前体。胚胎阶段 11.5d 到成年的视网膜发育阶段获得移植细胞悬液之后,出生的第 4~7d 是杆状感光受体前体分离和移植的最佳阶段^[11]。关于视锥细胞感光细胞,相应的发育阶段大约在 E15.5 左右,初步研究表明,有丝分裂后的幼小视锥细胞适合用于移植,因为这些细胞的存活率比成年感光细胞高^[12],并能在视网膜下间隙有效成熟^[13]。

然而将幼小的供体感光细胞在人体中培养到适宜阶段会带来一系列伦理法律等问题,为此近年来通过胚胎多能干细胞或诱导性多能干细胞(embryonic stem cell/induced pluripotent stem cells, ESC/iPSC)获得可移植感光体,并结合胚状体(EB)形成和 2D 培养系统。但最初只能成功地获得培养物中 ESC 衍生的神经祖细胞。为了进一步分化为感光细胞,这些神经祖细胞必须移植到成年大鼠的视网膜下间隙中^[14]或将其与胚胎产后第 1d 或成年胚胎共培养^[15]。随后诱导多能干细胞(iPSC)被证明也具有向感光细胞分化的能力。以上培养基本通过使用细胞外基质来操纵发育信号通路的方法产生光感受器,但是整体效率非常低,只有不到 20% 的细胞表达出光感受器特异性标记。

mESC 衍生的视网膜类器官含有杆状光感受器,可以对其进行 MACS 富集,并移植到野生型和晚期视网膜变性小鼠受体中存活并表达成熟的光感受细胞。作为一种新兴技术,类器官领域仍然有大量工作需要完成,如标准化和有效协议的进一步完善,这有助于生产符合 GMP 条件的用于临床的光感受器移植物。另外,针对相关的培养时间长问题,可以采用培养机器人和生物反应器标准化工作步骤扩大移植生产规模来解决(已在脑类器官的产生和视网膜组织体的制备中应用)。尽管初始步骤尚未实现标准化或自动化,仍然需要具有专业技术技能的专家研究人员,但这无疑是减少因时间带来的成本的解决方法之一。

3.3 纯化

分离感光体的最初策略包括成年视网膜的连续酶解、机械解离,以及通过显微镜评估确定获得相对纯净感光体种群的最佳解离时间。现阶段利用 GFP 的荧光报告蛋白标记和分离可移植细胞。在感光器领域,进一步的研究利用不同小鼠模型特定的视网膜细胞表达 GFP 报告蛋白,作为在宿主视网膜内的鉴定工具,并在移植前对其进行分离和富集^[16],具体可以利用 FACS 进行。

但由于高压和剪切力,FACS 对细胞产生相当大的压力。另外有研究表明,感光细胞的存活力随分离时间的增加而降低,而 FACS 是一个相对较慢的过程(每个细胞都被单独询问和分类),增加细胞的死亡率,并不适合用于临床应用。而利用磁激活细胞分选(MACS)作为替代,通过 MACS,基于磁性可以同时分类数百万甚至数十亿个磁性标记的细胞,且相对温和,几乎没有负面影响。在使用 CD73 作为细胞表面标志物的情况下,证明基于 MACS 的分选产生了高度富集的杆状光感受器群体并具有来自原代小鼠视网膜的高细胞活力^[17]以及 mESC 衍生的视网膜

类器官。MACS 技术具有巨大的可扩展性潜力,很容易适应 GMP 条件和自动化处理,是一种运用于临床应用的细胞分选系统。

3.4 移植 较其他器官的移植,光感受器移植到视网膜具有以下优势:(1)亲和性更好,不需要高侵入性手术方法;(2)眼睛是免疫特权器官,免疫排斥较其他器官弱。光感受器移植的目标位置是所谓的视网膜下空间,即退化的视网膜和 RPE 的剩余光感受器(如果有的话)之间的空间。正常情况下,感光器外部片段与 RPE 细胞紧密接触,这是类维生素 A 视觉周期和感光器外部片段尖端的每日吞噬作用所必需的。在移植过程中,使感光器外部与 RPE 之间视网膜脱离产生空间进行移植。视网膜与 RPE 的重新附着通常在几天之内发生。移植方法包括单细胞移植、视网膜片移植以及生物材料支持移植。

单细胞移植优势在于:(1)能移植准确数量的细胞;(2)供体和宿主视网膜细胞之间有更好地接触;(3)外科手术对眼的侵害最少;(4)供体细胞容易标记。获得的供体光感受器细胞悬液可以经角膜注射,也经玻璃体或巩膜注射来移植。通过角膜的注射方法中,注射针通过角膜上/下侧的移植部位沿对角线进入眼球,而同样的方法应用于通过玻璃体注射。这种注射方法能够准确确定注射部位并规避血管损伤。但客观上视网膜的穿刺仍会导致宿主内发生反应性胶质增生^[18]。而尽管经巩膜注射可避免损坏视网膜本身,但脉络膜会被挤压,更容易导致血管损伤,使免疫细胞渗入视网膜并可能形成出血。以上后两种方法都有细胞逆流的风险,但经玻璃体注射法的优点在于手术过程中可以目视监测注射部位,更易于评估注射过程中的细胞逆流,作出及时的应对。使用单细胞悬浮法,在野生型和晚期视网膜变性的小鼠模型中观察到适宜的外部节段形成,这表明了移植在视网膜下空间的成熟受环境因素影响^[19]。单细胞悬液移植的缺点包括在推注期间潜在的高细胞死亡率和移植细胞外排,供体细胞移离移植部位错位,长期细胞存活和整合率低,存在抑制性细胞外基质(extracellular matrix, ECM)蛋白(例如 CD44 或神经聚糖)等^[20]。

视网膜片移植是单细胞悬液的替代方法。该方法是在健康的视网膜内递送供体感光细胞,并保持其特征性分层组织。在大鼠模型中,视网膜片(视网膜上,视网膜下或脉络膜)的存活,组织和成熟度与移植物的位置有关^[21]。正确放置在 SRS(sub-retinal space)中的视网膜片移植有助于保留视网膜的分层结构,并形成与宿主 RPE 接触的外部 and 内部部分^[22]。在临床模型中,针对晚期色素性视网膜炎患者目前进行的是对移植存活和视觉恢复的评估。在这种同种异体移植条件且不使用免疫抑制时,视网膜片移植 1a 内没有排斥反应。另外在针对 10 例患有各种视网膜疾病的患者研究中[包括视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)和 ARMD],其中 7 例患者提供了切实的视力改善的临床证据^[23]。Seiler 实验室的最新出版物证明在将 hESC 来源的视网膜片或胎儿视网膜片移植到大鼠模型后,通过光动力学测试(optokinetic testing, OKT)或上丘和视皮层的电生理记录显示的严重视网膜变性能恢复视觉功能^[24]。视网膜片移植优势之一是移植存活率明显更高^[25]。在某些视网膜变性模型中,供体细胞在异常环境中可能损害其生存和分化^[26],但在其他一些模型中,例如 Prph2,即使是视网膜变性的后期

(即 9mo)移植,供体视杆感光细胞也能存活^[27]。另外,有可能在视网膜中层压结构内递送保持顶基极性的感光细胞。尽管这研究结果令人欢喜,但视网膜片移植仍然需要解决一系列问题。一个是如何解决除了感光层之外,包含外丛状、内核乃至内丛状和神经节细胞层,在注射后形成“双视网膜”的问题。这种结构影响与宿主二级神经元形成正确的突触和供体感光细胞产生信号的正确处理(影响程度尚不明确)。另外一个问题是手术方面的,即如何在做到正确定向移植递送的同时,控制侵入最小并保障患者的安全。

以上两种方法的应用于视网膜的变性的不同阶段^[28]。一般地,视网膜变性的早期阶段需要单细胞悬液移植,因为供体细胞可以支持宿主视网膜中剩余的感光细胞。相反,以缺乏宿主感光器为特征的视网膜变性晚期可能需要进行视网膜片移植,尽管视网膜晚期的递送最佳策略尚存在争论。

生物材料支持移植:早期试验将视网膜嵌入明胶基质中,并使用振动切片法将感光体分离。这使供体感光体的操作和移植时受到的损害最小化;同时明胶柔韧无毒害,能在体温下溶解,使感光体与宿主视网膜融合。最近在生物支架中植入 hPSC 衍生的光感受器,促进了顶端-基底方向的极化^[29]。通常生物支架中具有低杨氏模量(模仿视网膜)的柔性聚合物是最佳的,可以调整内部刚度以匹配其 EMC 的顺应性,柔性聚合物允许在注射过程中进行操作,避免损坏周围组织^[30]。此外,支架的拓扑结构也具有促进细胞黏附(例如通过层黏连蛋白包被进行修饰)的作用。理想情况下,生物支架具有生物相容性、可生物降解性、易于注射性。总之,视网膜细胞和生物支架结合用于供体细胞移植递送是一种很有潜力的方法。随着进一步发展,生物材料支架将是一种结合单细胞移植和片状移植优点的方法。但目前仍然需要进行多项研究以评估生物支架在移植后对视网膜的修复力等。

4 光感受器移植的问题与展望

感光体移植的最终目标是通过移植感光体使目前无法治愈的视网膜变性疾病恢复某些视觉功能,从而改善患者的生活。尽管有关感光体移植的大多数研究尚在临床实验中,并未实际运用,但随着科学技术的不断进步,感光体移植中的相应问题诸如感光体的获得纯化等必将得到解决,感光体移植的不同策略将更好的针对不同视网膜疾病阶段进行高效可行的治疗,比如目前首个用于治疗 RPE65 LCA 的基因疗法已被批准并投放市场,并针对不同情况(包括基于视杆和视锥细胞的疾病)开展了其他几项基因疗法试验^[31],这无疑是视网膜疾病患者治愈的希望。

参考文献

- 1 Pascolini D, Mariotti SP. Global estimates of visual impairment: 2010. *Br J Ophthalmol* 2012;96(5):614-618
- 2 Li JQ, Welchowski T, Schmid M, et al. Incidence of rhegmatogenous retinal detachment in Europe - A systematic review and meta-analysis. *Ophthalmologica* 2019;242(2):81-86
- 3 Masland RH. The neuronal organization of the Retina. *Neuron* 2012;76(2):266-280
- 4 Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev* 2005;85(3):845-881
- 5 Bringmann A, Pannicke T, Grosche J, et al. Müller cells in the healthy and diseased Retina. *Prog Retin Eye Res* 2006;25(4):397-424

- 6 Roska B, Sahel JA. Restoring vision. *Nature* 2018; 557 (7705) : 359-367
- 7 Ehlken C, Jungmann S, Böhringer D, et al. Switch of anti-VEGF agents is an option for nonresponders in the treatment of AMD. *Eye (Lond)* 2014;28(5):538-545
- 8 Pennesi ME, Weleber RG, Yang P, et al. Results at 5 years after gene therapy for RPE65-deficient retinal dystrophy. *Hum Gene Ther* 2018;29(12):1428-1437
- 9 da Cruz L, Fynes K, Georgiadis O, et al. Phase 1 clinical study of an embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium patch in age-related macular degeneration. *Nat Biotechnol* 2018;36(4):328-337
- 10 Gasparini SJ, Llonch S, Borsch O, et al. Transplantation of photoreceptors into the degenerative retina: Current state and future perspectives. *Prog Retin Eye Res* 2019;69:1-37
- 11 Smiley S, Nickerson PE, Comanita L, et al. Corrigendum: Establishment of a cone photoreceptor transplantation platform based on a novel cone-GFP reporter mouse line. *Sci Rep* 2016;6:24012
- 12 Gust J, Reh TA. Adult donor rod photoreceptors integrate into the mature mouse Retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52 (8) : 5266-5272
- 13 Singh MS, Charbel Issa P, Butler R, et al. Reversal of end-stage retinal degeneration and restoration of visual function by photoreceptor transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110(3):1101-1106
- 14 Banin E, Obolensky A, Idelson M, et al. Retinal incorporation and differentiation of neural precursors derived from human embryonic stem cells. *Stem Cells* 2006;24(2):246-257
- 15 Ikeda H, Osakada F, Watanabe K, et al. Generation of Rx+/Pax6+ neural retinal precursors from embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(32):11331-11336
- 16 Lakowski J, Baron M, Bainbridge J, et al. Cone and rod photoreceptor transplantation in models of the childhood retinopathy Leber congenital amaurosis using flow-sorted Crx-positive donor cells. *Hum Mol Genet* 2010;19(23):4545-4559
- 17 Santos-Ferreira T, Postel K, Stutzki H, et al. Daylight vision repair by cell transplantation. *Stem Cells* 2015;33(1):79-90
- 18 Peng YQ, Tang LS, Zhou YD. Subretinal injection: a review on the novel route of therapeutic delivery for vitreoretinal diseases. *Ophthalmic Res* 2017;58(4):217-226
- 19 Eberle D, Kurth T, Santos-Ferreira T, et al. Outer segment formation of transplanted photoreceptor precursor cells. *PLoS One* 2012; 7 (9) : e46305
- 20 Ballios BG, Cooke MJ, van der Kooy D, et al. A hydrogel-based stem cell delivery system to treat retinal degenerative diseases. *Biomaterials* 2010;31(9):2555-2564
- 21 del Cerro M, Gash DM, Rao GN, et al. Intraocular retinal transplants. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1985;26(8):1182-1185
- 22 Seiler MJ, Aramant RB. Intact sheets of fetal Retina transplanted to restore damaged rat retinas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39 (11) : 2121-2131
- 23 Radtke ND, Aramant RB, Petry HM, 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
- 24 Foik AT, Lean GA, Scholl LR, et al. Detailed visual cortical responses generated by retinal sheet transplants in rats with severe retinal degeneration. *J Neurosci* 2018;38(50):10709-10724
- 25 West EL, Pearson RA, Barker SE, et al. Long-term survival of photoreceptors transplanted into the adult murine neural Retina requires immune modulation. *Stem Cells* 2010;28(11):1997-2007
- 26 Zarbin M. Cell-based therapy for degenerative retinal disease. *Trends Mol Med* 2016;22(2):115-134
- 27 Barber AC, Hippert C, Duran, et al. Repair of the degenerate Retina by photoreceptor transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110(1):354-359
- 28 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 Rep* 2014;2(5):662-674
- 29 Jung YH, Phillips MJ, Lee J, et al. 3D microstructured scaffolds to support photoreceptor polarization and maturation. *Adv Mater* 2018; 30 (39) : e1803550
- 30 Lavik EB, Klassen H, Warfvinge K, et al. Fabrication of degradable polymer scaffolds to direct the integration and differentiation of retinal progenitors. *Biomaterials* 2005;26(16):3187-3196
- 31 DiCarlo JE, Mahajan VB, Tsang SH. Gene therapy and genome surgery in the Retina. *J Clin Invest* 2018;128(6):2177-2188