

眼科领域应用的脱细胞组织材料

<https://doi.org/10.12307/2021.251>

刘景晨¹, 李明军¹, 孙曙光^{1, 2}, 李才锐^{1, 3}

投稿日期: 2020-08-17

送审日期: 2020-08-26

采用日期: 2020-09-26

在线日期: 2021-02-25

中图分类号:

R459.9; R318.08; R-1

文章编号:

2095-4344(2021)34-05530-07

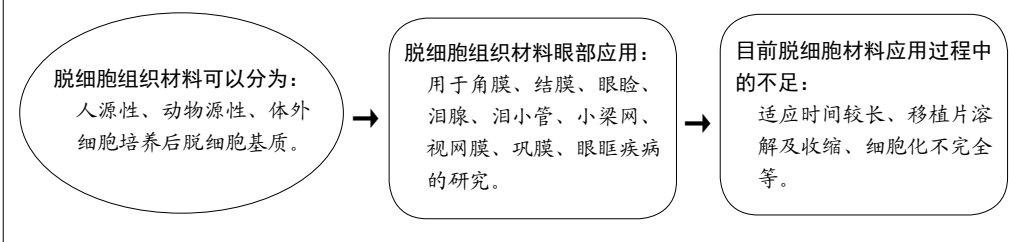
文献标识码: A

文章快速阅读:

文章描述—

△脱细胞组织材料被广泛应用于疾病的临床治疗与基础研究中, 当前眼科使用的脱细胞组织材料有多种来源, 大致可以分为人源性、动物源性及体外细胞培养后脱细胞基质3类;

△通过分析脱细胞组织材料在眼部应用的优点与不足, 为该类材料的进一步临床应用提供参考, 以期能为某些疑难的眼科疾病提供新的治疗选择。



文题释义:

脱细胞组织材料: 是利用脱细胞技术对不同来源的组织进行处理, 获得的由细胞外基质构成的三维结构生物支架材料, 具有生物相容性好、排斥反应低等特点, 可广泛应用于组织的修复与重建中, 尤其对排斥反应高风险的患者, 脱细胞植入物是安全而有效的选择。

再生医学: 是指利用有效的生物工程学治疗方法对创伤或缺损的组织器官在体内或体外进行重建, 使其恢复正常的组织结构与器官功能的医学分支学科。

摘要

背景: 眼科领域许多疾病因缺乏有效的供体及组织重建的材料, 目前的治疗效果并不理想。

目的: 通过查阅已发表的文献, 对脱细胞材料的来源进行总结, 并对在眼科临床和基础研究中使用的脱细胞材料的文献进行分析, 以促进脱细胞组织材料在眼科的有效应用。

方法: 以“脱细胞技术”分别与“角膜、结膜、泪腺、眼睑、泪小管、小梁网、视网膜、巩膜、眼眶”组合检索万方数据库、中国知网数据库, 以“acellular, decellularized”分别与“cornea, conjunctiva, lacrimal gland, eyelid, lacrimal drainage, trabecular meshwork, retina, sclera, orbital”组合检索PubMed数据库, 检索时间范围设置为2014年1月至2020年8月, 最终纳入文献56篇, 其中英文49篇、中文7篇。

结果与结论: ①当前眼科使用的脱细胞组织的有多种的来源, 大致可以分为人源性、动物源性及体外细胞培养后脱细胞基质3类; ②眼科疾病的重建和修复治疗中使用脱细胞组织材料可以取得较好的临床效果, 能挽救部分盲人的视力; ③通过脱细胞支架联合受体细胞移植获取含有活性细胞的植片, 是未来眼科再生医学治疗的一个新方向; ④脱细胞材料应用过程中发现一些不足, 如适应时间较长、移植片溶解及收缩、细胞化不完全等。

关键词: 材料; 眼科; 脱细胞技术; 脱细胞组织; 组织重建; 再生医学; 综述

Application of acellular tissue in ophthalmology

Liu Jingchen¹, Li Mingjun¹, Sun Shuguang^{1, 2}, Li Cairui^{1, 3}

¹Clinical Medical College, Dali University, Dali 671000, Yunnan Province, China; ²Department of Endocrinology, ³Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Dali University, Dali 671000, Yunnan Province, China

Liu Jingchen, Master candidate, Attending physician, Clinical Medical College, Dali University, Dali 671000, Yunnan Province, China

Corresponding author: Li Cairui, Professor, Chief physician, Clinical Medical College, Dali University, Dali 671000, Yunnan Province, China; Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Dali University, Dali 671000, Yunnan Province, China

Abstract

BACKGROUND: Due to the lack of effective donor and tissue reconstruction materials, many diseases in the ophthalmology field have unsatisfactory therapeutic effects.

¹大理大学临床医学院, 云南省大理市 671000; 大理大学第一附属医院, ²内分泌科, ³眼科, 云南省大理市 671000

第一作者: 刘景晨, 男, 1987年生, 江西省抚州市人, 汉族, 大理大学临床医学院在读硕士, 主治医师, 主要从事玻璃体视网膜膜疾病研究。

通讯作者: 李才锐, 教授, 主任医师, 大理大学临床医学院, 云南省大理市 671000; 大理大学第一附属医院眼科, 云南省大理市 671000

<https://orcid.org/0000-0002-7537-3632> (刘景晨)

基金资助: 云南省教育厅科学研究基金项目(2020Y0561): 三七总皂苷体外抑制视网膜母细胞瘤 Y79 细胞作用的研究, 项目负责人: 刘景晨; 云南省科技厅地方高校联合专项重点项目(202001BA070001-007): 滇产苦胆草多糖抗视网膜母细胞瘤的作用

及机制研究, 项目负责人: 李才锐

引用本文: 刘景晨, 李明军, 孙曙光, 李才锐. 眼科领域应用的脱细胞组织材料[J]. 中国组织工程研究, 2021, 25(34):5530-5536.



OBJECTIVE: To summarize the sources of acellular materials by referring to the published literature, and analyze acellular material in clinical and basic research of ophthalmology so as to promote the effective application of acellular tissue materials in ophthalmology.

METHODS: The Wanfang database, CNKI database and PubMed database were searched for relevant literature from January 2014 to August 2020 using the keywords “acellular, decellularized” combined with “cornea, conjunctiva, lacrimal gland, lacrimal drainage, trabecular meshwork, retina, sclera, orbit”, separately. A total of 56 articles were eventually included, of which 49 were in English and 7 in Chinese.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) There are multiple sources of decellularized tissues currently used in ophthalmology, which can be broadly categorized into three categories: human, animal and acellular matrix after *in vitro* cell culture. (2) The use of decellularized tissue materials in the reconstruction and repair of ophthalmic diseases can achieve better clinical results and save the vision of some blind people. (3) The acquisition of implants containing active cells through decellularized scaffolds combined with recipient cell transplantation is a new direction for future ophthalmic regenerative medicine treatment. (4) Some deficiencies were found during the application of the decellularized material, such as longer adaptation time, graft sheet dissolution and shrinkage, and incomplete cellularization.

Key words: material; ophthalmology; acellular technology; acellular tissue; tissue reconstruction; regenerative medicine; review

Funding: the Scientific Research Fund Project of Yunnan Education Department, No. 2020Y0561 (to LJC); the Key Joint Project of Local Colleges and Universities of Yunnan Provincial Department of Science and Technology, No. 202001BA070001-007 (to LCR)

How to cite this article: LIU JC, LI MJ, SUN SG, LI CR. Application of acellular tissue in ophthalmology. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu.* 2021;25(34):5530-5536.

0 引言 Introduction

各种原因引起眼部不同部位的损伤在临床中非常常见, 由于眼部组织尤其是眼球的精密程度极高, 损伤后常造成严重的功能丧失, 既往由于医疗技术和组织修复材料的限制, 缺乏有效的治疗方法。随着科技的不断进步和新的生物材料的不断发现, 眼部疾病的治疗已由简单缝合和改善美容逐步向复杂功能恢复的方向发展, 其中脱细胞组织材料在眼部的应用创新了许多传统的治疗方式, 使一些疾病的治疗更精准、更具个体化。脱细胞组织是利用脱细胞技术对人和动物组织进行处理后得到的由细胞外基质构成的三维结构生物支架, 在移植过程中可为移植物提供机械支持^[1], 是再生医学及组织修复中使用的重要生物材料, 其来源广泛、生物相容性好、排斥反应低, 在组织修复与重建中被广泛使用, 尤其对排斥反应高风险的患者, 脱细胞植入物是安全而有效的选择^[2]。从脱细胞组织中获取的生物支架抗原成分显著减少, 能最大限度地降低排斥反应的风险^[3], 被广泛应用于眼部疾病的临床治疗中。在眼睑缺损修复、泪小管重建、角膜移植、眼肿瘤手术后眼眶修复等手术中, 采用脱细胞材料可以获得较好的美容效果, 也能在一定程度上恢复组织的功能。另外, 脱细胞材料的支架作用和独特的微环境可以支持不同细胞生长, 能诱导干细胞的分化, 在眼部再生医学研究中取得了令人振奋的成果, 以脱细胞材料为支架进行的组织再生研究, 为某些目前缺乏有效治疗手段的眼科疾病带来了新的希望。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 以“脱细胞技术”分别与“角膜、结膜、泪腺、眼睑、泪小管、小梁网、视网膜、巩膜、眼眶”组合检索万方数据库、中国知网数据库, 以“acellular, decellularized”分别与“cornea, conjunctiva, lacrimal gland, eyelid, lacrimal drainage, trabecular meshwork, retina, sclera, orbital”组合检索 PubMed 数据库。检索时间范围设置为 2014 年 1 月至 2020 年 8 月。最终纳入文献 56 篇, 其中英文 49 篇、中文 7 篇。

1.2 入选标准

纳入标准: 脱细胞组织研究与“角膜、结膜、泪腺、眼睑、泪小管、小梁网、视网膜、巩膜、眼眶”相关的文章。

排除标准: ①内容重复的研究文章; ②与该综述目的不

符合的文章。

1.3 文献质量评估 文献均公开发表在权威期刊中, 内容均与脱细胞材料在眼科领域的基础和临床研究相关。检索到与眼科相关的研究文献共 394 篇, 中文文献 145 篇, 英文文献 249 篇。对上述文献进行分类、归纳及排除后, 选取其中相关的 56 篇文献进行综述的撰写, 其中英文文章 49 篇, 中文文章 7 篇, 见图 1。

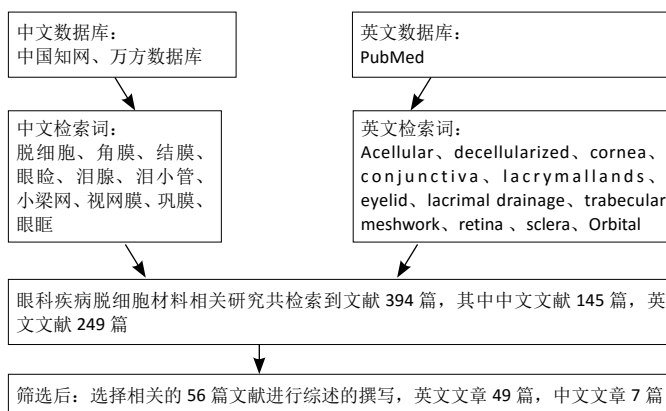


图 1 | 数据库获取文献及筛选流程图

2 结果 Results

2.1 脱细胞材料来源 目前眼科领域使用的脱细胞支架主要由特定部位人体及动物组织通过脱细胞处理而获得, 随着研究的深入及技术的发展, 组织的来源不断扩大, 不同部位组织的生理特性具有不同的特点, 使疾病的治疗拥有更多的选择。根据组织的供体不同, 目前可以用于脱细胞的组织主要有以下几种来源。

2.1.1 人源性组织脱细胞材料 同种异体来源的组织是当前组织重建的热点研究方向, 但受体部位大范围缺损时移植物存活能力下降、供者和受者之间的免疫不匹配会导致的排斥反应、需进行长期免疫抑制治疗等因素, 严重限制了异体组织的应用。通过脱细胞技术处理的人体组织能有效去除组织中的抗原成分, 其作为支架材料可以支持人体细胞的生长, 有效解决同种异体移植中的排斥问题。ALIO DEL BARRIO 等^[4]以脱细胞人角膜基质植片为支架, 对支架使用人脂肪来源成体干细胞进行再细胞化后移植入兔角膜的基质层, 评估发现脱细胞人角膜基质植片中的人脂肪来源成体干细胞体外再细

胞化能力优异,移植后的角膜植片基质透明,未发现移植排斥反应,具有良好的生物相容性,在移植的人脂肪来源成体干细胞中有人角化蛋白的表达,脱细胞人角膜基质植片具有促进人脂肪来源成体干细胞向角化细胞分化的作用。人脱细胞真皮组织材料具有保护周围组织、预防挛缩、感染率低等特点^[5],在临床中应用于跟腱断裂^[6]、全层皮肤创伤^[7]、糖尿病足溃疡等疾病的治疗^[8],在眼眶疾病及眼表修复中脱细胞真皮材料也具有较好的效果。CHO等^[9]的研究中使用人脱细胞真皮基质对眼球缺失或萎缩的患者进行矫正手术,手术效果良好,术后患者均可成功佩戴假体。JIANG等^[10]使用人脱细胞真皮基质对角膜边缘变性患者进行角膜移植,移植术后不同时间点的复诊发现,在移植中角化细胞重新聚集并生长,基底上皮中可见神经纤维,角膜内皮细胞形态未受明显影响,证实了人脱细胞真皮基质移植在治疗边缘性角膜变性患者中具有良好的透明性、生物相容性和安全性。另外,人脱细胞羊膜也被广泛应用于皮肤和眼表组织的修复中^[11]。人组织脱细胞支架的生物安全性及组织相容性高于异种脱细胞组织,但其供体来源受社会文化因素的影响较大,在部分国家和地区供体的来源较少。

2.1.2 动物源性脱细胞材料 动物组织因其供体来源广泛越来越受关注,但异种抗原的存在可能引发明显的炎症反应及免疫介导的组织排斥,通过脱细胞技术去除异种抗原获得的有细胞外基质生物活性的脱细胞支架具有临床治疗的巨大潜力。异种脱细胞角膜材料是当前角膜疾病中应用最多的脱细胞支架材料,已有从鸵鸟、猪、牛等多种动物组织中获取脱细胞角膜基质材料应用于角膜移植的基础和临床研究^[12-14]。ZHENG等^[15]通过对13例单纯疱疹病毒性角膜炎患者使用脱细胞猪角膜基质进行角膜移植发现,脱细胞猪角膜基质对单纯疱疹病毒性角膜炎患者有较好的治疗效果,角膜透明度与术前相比有显著提高。异种脱细胞真皮的来源广泛,是眼部整形修复手术中使用的明显材料。BARMETTLER等^[16]在一项下睑回缩修复的前瞻性、随机比较研究中发现,使用猪脱细胞真皮基质、牛脱细胞真皮基质和自体耳郭软骨进行下睑重建的术后效果和并发症没有统计学差异。高眼压引起的视神经损伤是青光眼最常见的临床表现,但在体外青光眼视神经损伤研究中能够重现视神经头复杂解剖和生物力学环境的方法极少。LIU等^[17]通过对猪眼球的后极部进行脱细胞处理,发现经脱细胞视神经乳头的模型在保持原有细胞外基质微结构的同时,视神经乳头的生物力学响应能力未受明显影响,在压力测试中能产生与对照组相似的位移,可以满足青光眼发病机制研究的需要。动物来源的脱细胞支架供体来源广泛、易于获取,但植片溶解、适应时间较长、植片收缩及细胞化不完全等并发症困扰着该类材料的大范围应用。

2.1.3 体外细胞基质脱细胞材料 在人体内存存在一些重要的组织,结构菲薄,但对组织功能的发挥具有关键性作用,常规技术难于获取,限制着疾病的治疗。眼部的视网膜色素上皮细胞是血-视网膜外屏障的重要组成部分^[18],损伤后可

以导致严重的视力障碍,但由于组织极薄且对视力恢复具有重要作用而受到研究者的广泛关注。MCLENACHAN等^[19]将体外培养的视网膜色素上皮细胞ARPE19进行脱细胞处理后获得的细胞外基质应用于人视网膜色素上皮细胞的培养,发现在ARPE19细胞外基质上培养的细胞能保持色素表型,经ARPE19细胞外基质培养的多能干细胞能产生色素,并表达人视网膜色素上皮标记物RPE65。因此,对于体内某些重要而精细的组织,在体外培养大量扩增细胞的基础上制备脱细胞支架,在组织重建中是一个有潜力的研究方向。目前这类材料多用于体外研究,支架制备后进行体内移植的技术并不完善,同时体外培养细胞所使用的试剂对人体的长期安全性也需进一步研究。

2.2 脱细胞组织材料的眼科研究 眼部是外伤、年龄相关性疾病的好发部位,病变组织的重建及再生是眼科研究的热点。临床上外伤出现的泪小管离断、大面积眼部皮肤缺损、眼肿瘤切除后组织缺损及角膜移植片供给紧张等问题一直困扰着眼科的临床治疗,随着脱细胞技术的不断进展,眼科脱细胞材料的应用越来越广泛,使这类疾病的治疗有了新的选择。

2.2.1 泪腺 泪腺是眼部重要的分泌腺,分泌液中含有水、电解质及免疫球蛋白等物质,参与形成覆盖眼表面的泪膜,能润滑结膜和角膜、支持眼表的代谢^[20],在维持眼表健康、保持眼部稳定屈光状态和保护眼表免受环境影响方面起着重要的作用^[21]。干眼症是一种常见的眼表疾病,其特征是泪液分泌减少、泪膜失去稳态,并伴有眼部症状^[22],重症干眼可能发生严重的眼表并发症,引起角膜混浊而导致失明。干眼症的治疗主要是抗炎及泪液替代治疗,但这些治疗对于重症干眼患者效果不佳。严重干眼症的主要原因是泪液分泌功能障碍,利用颌下腺组织的自体移植来恢复泪液功能性分泌是治疗此类患者的有效方法,但颌下腺移植后并没有明显改善重症干眼的眼表^[23],部分患者存在溢泪、静脉曲张形成、口干、涎石症等并发症^[24];并且由于唾液成分不同于泪液,可能会导致眼表上皮的进一步损害,需开发新的治疗方式以改善这些不足。其中构建具有分泌性功能的生物工程泪腺是一种有潜力的干眼症治疗方式。SPANIOL等^[25]通过脱细胞技术处理猪泪腺后得到具有泪腺形态的三维脱细胞泪腺支架,然后将具有分泌活性的猪泪腺细胞移入脱细胞支架中培养,发现细胞可以形成类似于泪腺的形态,并表现出分泌活性。LIN等^[26]将接种有兔泪腺祖细胞的新西兰兔泪腺脱细胞支架放入三维培养体系中培养,发现可以诱导形成具有导管样和腺泡样的组织结构,通过对脱细胞支架泪腺基质中的细胞形态、免疫染色和氨基己糖酶分泌进行检测,发现其显示出良好的细胞活力、细胞分化和分泌功能。MASSIE等^[27]使用脱细胞猪空肠作为泪腺上皮细胞的支架进行静态(细胞冠)或动态培养(灌注室),发现泪腺上皮细胞在脱细胞猪空肠上可以良好地生长,透射电镜发现细胞之间具有良好的连接,且上皮细胞上表面出现与原生上皮细胞相似的极化,免疫组化检测发现脱细胞猪空肠支架上培养的细胞能够产生泪腺特

异性蛋白,并且在动态培养中溶菌酶和乳铁蛋白的表达量更高,说明脱细胞猪空肠是支持泪腺上皮细胞生长的合适支架,在动态培养条件下可以促进泪腺细胞的代谢活性和功能。利用脱细胞技术获取的生物支架能良好地支持泪腺细胞的生长,维持其代谢活性和功能,在泪腺组织再生方面具有潜在的应用价值。目前应用脱细胞支架进行泪腺再生的研究多为体外实验,再生的泪腺虽然具有一定的代谢活性和功能,但其应用于人体移植需进一步研究。

2.2.2 眼睑 眼睑直接与外界环境接触,是眼球重要的保护组织,眼睑形态异常导致的眼睑严重退缩、外伤及恶性肿瘤导致的眼睑大面积缺损,可导致角膜严重发生,甚至出现角膜溃疡,最终影响患者的视力,在眼睑修复过程中需寻找有效的移植物支撑眼睑,以达到治疗效果。SUN等^[28]使用牛脱细胞真皮基质对甲状腺相关性上睑退缩患者进行提上睑延长术,术后未发现排斥病例,92%患者的治疗效果评价为可接受及良好,牛脱细胞真皮基质作为可吸收支架术后可延伸提上睑腱膜,是纠正甲状腺相关性严重眼睑收缩的一种有效选择。MCGRATH等^[29]使用猪脱细胞真皮基质对下眼睑退缩的患者进行治疗,同样发现患者术后下眼睑退缩均有显著改善,植片的组织相容性较好,在随访期间患者无明显眼部刺激,未发现移植排斥病例,但脱细胞植片会在术后出现一定的吸收和收缩。章余兰等^[30]使用牛脱细胞真皮组织在眼睑恶性肿瘤切除术中替代切除眼睑的结膜睑板组织,随诊半年发现牛脱细胞真皮内表面均被结膜上皮覆盖,基质部分已溶解,外表面皮瓣生长良好、未见坏死,术后仅部分患者出现程度较轻的眼睑闭合不全及睑球粘连。脱细胞基质可为眼睑组织提供有效的支架以保持眼睑的正常外形,在眼睑临床治疗中具有重要的应用价值,目前大多数文献中所研究的病例数较少,安全性的确定需进行大样本的随机对照临床试验。

2.2.3 泪小管 泪道损伤是面部外伤的常见并发症,泪小管断裂后泪道修复是眼科的一个难题,常因瘢痕收缩导致治疗的失败,当前有多种组织及材料用于其治疗,但效果并不理想。CHEN等^[31]将自体结膜瓣贴附在脱细胞牛真皮基质,做成以结膜上皮为内壁、脱细胞真皮基质为外壁的管状结构,对5例泪道部分或完全缺失的患者进行泪小管重建,随访6-12个月,鼻内窥镜下5例患者均可观察到鼻腔内的重建泪小管的开口,泪道冲洗通畅,溢泪症状均得到缓解。表明脱细胞真皮基质在治疗复杂泪道病变方面具有潜力,是泪道重建的一种新的方法,目前研究显示的短期疗效满意,但病例数较少且长期效果需进一步观察。

2.2.4 结膜 结膜是眼表的重要组成部分^[32],是眼部对抗病原体的天然屏障,并能分泌黏蛋白维持泪膜的稳定。结膜损伤的愈合常伴随着瘢痕增生,容易导致结膜囊收缩,在眼表严重破坏的疾病中,结膜缺损面积过大在愈合后可形成睑球粘连,导致眼球运动受限,结膜大面积损伤后出现黏蛋白分泌减少,使泪膜稳定性下降,进而导致角膜疾病的发生,严重影响患者视力。因此对于结膜的重建非常重要,临床上对

于结膜缺损患者通常采用自体结膜或羊膜移植进行治疗,但自体结膜供应有限,羊膜对大面积结膜缺损的长期治疗效果并不稳定,需寻找新的材料来提高该类患者的疗效。魏利娜等^[33]采用脱细胞牛心包生物补片对32例义眼台植入后结膜囊狭窄患者行结膜囊成形术,术后观察植片未发现脱落及溶解,可见上皮细胞生长到脱细胞植片上,手术3个月后植片上呈正常结膜色泽外观,可以顺利配戴义眼片,并且眼外形良好。HUANG等^[34]使用脱细胞牛心包植片进行兔结膜重建,发现结膜上皮能够良好地生长在脱细胞牛心包植片支架上,上皮下组织为随机排列的胶原组成的松散网络,并且与正常结膜中一样可发现杯状细胞分散在上皮细胞中,脱细胞植片重建的结膜比羊膜重建组具有更强的力学性能和弹性,但同时也发现脱细胞植片在重建过程中上皮需更长时间恢复的不足。ZHAO等^[35]在兔严重睑球粘连模型研究中发现,脱细胞猪结膜的应用可以增强移植稳定性和改善上皮再生,将脱细胞猪结膜应用于翼状胬肉和睑球粘连患者治疗时发现,移植的脱细胞猪结膜表现出良好的组织相容性,所有病例的移植物均完全重新上皮化,未见移植物融化或纤维增生。石璐等^[36]应用异种脱细胞真皮基质对睑球粘连和结膜囊狭窄患者进行结膜囊成形术,发现术后新生结膜可爬行生长在异种脱细胞真皮基质上,结膜囊成形良好,异种脱细胞真皮基质在术后40d至2个月发生溶解,观察结束时手术眼眼球无粘连,结膜囊成形良好的总有效率可达89.5%。由此可见,脱细胞技术获得的细胞外基质在结膜疾病治疗方面具有良好的效果,可以促进结膜修复及上皮生长,是一种良好的结膜替代生物膜。但使用脱细胞支架材料术后炎症反应时间相对较长,降解过程的免疫学机制尚不明确,需继续对其进行研究并探索有效的解决方法。

2.2.5 角膜 角膜作为眼睛的最外层容易受到物理和化学损伤,从而导致角膜透明度下降甚至消失,导致失明^[37]。对于角膜混浊的患者目前尚无可靠的治疗药物,角膜移植是目前使病变角膜恢复透明最有效的方法^[38]。人角膜供体主要来源于器官捐赠,但由于社会文化因素,多数国家捐献死亡器官的比率非常低^[39],需开发新的角膜移植供体来源来解决角膜供给困难问题。角膜胶原纤维的规则排列是维持角膜透明度的重要因素,通过脱细胞技术获取规则的细胞外基质可满足这一要求。经脱细胞处理的猪角膜基质与天然角膜基质结构相似,其免疫原性较低、透明性和生物相容性良好,是一种优良的角膜供体材料^[40]。HASHIMOTO等^[41]使用脱细胞猪角膜基质进行兔板层移植研究,组织学分析显示脱细胞角膜基质可与兔角膜完全融合,可见与正常角膜相似的角膜上皮再生;随着术后观察时间的延长,脱细胞猪角膜基质中逐渐出现兔角化细胞的浸润,并逐渐重构到兔角膜组织中;透射电镜显示,脱细胞猪角膜基质内出现与正常角膜相似的超微结构改变。段虎成等^[42]对5例使用脱细胞猪角膜基质行板层角膜移植的患者进行扫描共聚焦显微镜检查,显示术后3d脱细胞猪角膜基质上开始出现上皮化,整个上皮化过程在10d左

右可以完成, 随诊半年发现角膜上皮细胞的密度与对照眼无差异, 但细胞的排列较疏松。李上等^[43]使用脱细胞猪角膜基质植片对感染性角膜溃疡进行深板层角膜移植, 发现脱细胞猪角膜基质植片生存良好, 角膜保持透明, 共聚焦显微镜检查显示脱细胞猪角膜基质植片上覆盖满角膜上皮细胞, 但植片深基质层靠近内皮面仍可见脱细胞纤维排列, 与新鲜角膜植片对比基质内的细胞密度明显减少。脱细胞猪角膜基质因其在角膜移植治疗上较好的治疗效果受到了极大关注, 目前国内已有上市商品化的脱细胞猪角膜基质应用于临床治疗中, 是替代人角膜组织的有效方法^[44], 但目前脱细胞技术主要通过化学或物理方法去除移植组织中的细胞成分, 如何在脱细胞处理的同时保持组织固有结构仍是一大难题, 基质结构受影响可能导致角膜植片的稳定下降, 导致移植失败, 需进一步研究来完善。

2.2.6 小梁网 青光眼是世界范围内不可逆性盲的主要原因, 眼内压是目前青光眼唯一可改变的危险因素。小梁网在房水流出调节中起关键性作用^[45], 小梁网细胞的功能失调使房水流出减少, 导致眼压升高, 是发生青光眼性视神经病变的重要危险因素。因此对小梁网进行脱细胞, 或者小梁网脱细胞联合有功能小梁网细胞移植可能是治疗青光眼的有效方法。DANG等^[46]将处理后的新鲜猪眼前节在 -80°C 及室温下循环冻融2次, 经实验分析确认冻融的小梁网内细胞完全消融后, 在相同灌注压情况下对小梁网脱细胞后猪眼进行眼压监测, 发现24 h内比基线眼压平均下降了约30%, 在另一组使用0.02%皂苷进行脱细胞处理的猪眼前节中, 48 h内也有同等程度的眼压下降。

ABU-HASSAN等^[47]使用皂苷对人眼前节进行脱细胞处理, 发现经皂苷脱细胞的小梁网失去了维持眼内压的稳态功能, 在小梁网移植培养的人小梁网细胞或小梁网样诱导多能干细胞后这一功能得到了恢复。说明在进行小梁网脱细胞处理后可显著改变眼内压, 但小梁网维持眼内压稳态的功能受损, 使用有功能小梁网细胞对脱细胞的小梁网组织再细胞化, 然后使用该组织进行小梁网移植, 能达到一定的降眼压及维持眼压稳定功能, 可能是青光眼治疗的新方向。

2.2.7 视网膜 视网膜病变引起的神经元凋亡和丢失会导致不可逆转的失明, 视网膜前体细胞是治疗这类患者非常有潜力的方法^[48], 但视网膜前体细胞增殖能力有限及细胞倾向于胶质细胞分化等问题限制了其临床应用^[49]。细胞外基质因其可以提供适当的细胞黏附及诱导细胞分化的微环境, 为视网膜前体细胞研究提供了新的方向。JI等^[49]通过对培养的人脂肪间充质细胞进行脱细胞处理生成脂肪间充质细胞脱细胞基质, 再将分离培养的小鼠视网膜前体细胞与脂肪间充质细胞脱细胞基质共培养, 发现脂肪间充质细胞脱细胞基质对视网膜前体细胞增殖具有促进作用, 扫描电镜检查可见脂肪间充质细胞脱细胞基质上培养的视网膜前体细胞形态正常, 同时出现正常生长的神经突, 免疫细胞化学分析发现视网膜前体细胞所分化的感光细胞数量也显著增加, 通过蛋白印迹

及PCR检测发现, 脂肪间充质细胞脱细胞基质通过视网膜前体细胞内的Akt和Erk信号通路促进细胞的增殖, 当这两条通路被抑制时脂肪间充质细胞脱细胞基质对视网膜前体细胞增殖及分化的促进作用减弱。KUNDU等^[50]对牛视网膜进行脱细胞处理, 再将人视网膜前体细胞接种到脱细胞视网膜基质进行培养, 发现人视网膜前体细胞可以在脱细胞视网膜基质上良好地附着、增殖和分化, 与在正常组织培养平板表面和纤维连接蛋白涂层表面培养的人视网膜前体细胞相比, 脱细胞视网膜基质能促进视网膜祖细胞的成熟, 并促进光受体标记的表达。

视网膜色素上皮细胞是视网膜的重要组成部分, 在视网膜稳态中起重要作用^[51], 视网膜色素上皮细胞的萎缩可严重影响患者视力, 目前尚无有效的治疗方法。MCLENACHAN等^[49]通过对硫酸葡聚糖中培养的ARPE19细胞进行脱细胞处理获得了ARPE19细胞外基质, 将其应用于人视网膜色素上皮细胞的培养后, 与geltrex及vitronectin上培养的视网膜色素上皮细胞进行对比发现, 虽然3种培养条件下的视网膜色素上皮细胞数量均增加, 但仅有ARPE19细胞外基质上的细胞能保持色素表型; 而将诱导多能干细胞在ARPE19细胞外基质上培养后, 发现诱导多能干细胞产生色素, 并且细胞中视网膜色素上皮细胞标记物RPE65的表达明显增加, 表明ARPE19细胞外基质具有维持视网膜色素上皮细胞表型和促进诱导多能干细胞向视网膜色素上皮细胞分化的功能。因此, 在视网膜疾病中脱细胞基质可以维持细胞表型及促进细胞分化, 在治疗视网膜疾病方面有广泛的应用前景, 但脱细胞基质支架中的干细胞分化率低、诱导分化后的细胞与视网膜的整合较差、如何建立移植片与视网膜神经信号连接等都是需要解决的难题。

2.2.8 眼眶 眼眶对眼球具有重要的保护作用, 许多眼球的病理改变与眼眶关系密切, 需通过眼眶手术来治疗。后巩膜葡萄肿是病理性近视的标志, 可以诱发黄斑病变导致视力的丢失^[52], 对后极部巩膜进行加固能预防病理性近视的进一步发展, 可以有效保护患者的现有视力。王甜等^[53]使用异体脱细胞真皮基质对日本大耳白兔行后巩膜加固术, 发现术后加固条带表面及受体巩膜融合区均有结缔组织增生, 受体巩膜未发现溶解征象, ELISA检测实验眼脱细胞真皮基质加固区的碱性成纤维细胞生长因子较对照眼明显升高, 提示脱细胞真皮基质加固后可以刺激巩膜成纤维细胞的增生, 表明脱细胞基质在后巩膜加固治疗中具有应用的潜力。

义眼台暴露是义眼植入后一个比较常见的问题, 目前临床上一直寻求合适的材料解决。刘凤霞等^[54]使用脱细胞牛心包补片对12例中重度义眼台暴露的患者进行修复, 随诊时患者双眼外观对称, 结膜能良好地覆盖脱细胞补片, 未见明显的排异反应, 表明脱细胞补片对义眼台暴露具有良好的治疗效果。脱细胞基质在眼眶重建方面也具有重要的作用。KIM等^[55]对29例使用脱细胞异体真皮基质进行眶壁重建的患者进行回顾分析, 发现脱细胞异体真皮基质能很好地适应

眼眶内部轮廓,进行眼眶重建手术操作方便,在眼眶壁重建后患眼的眼球内陷、眼球活动受限及复视的症状均有改善,随访期间未发现并发症的发生,认为脱细胞异体真皮基质可能是一个很好的眼眶重建材料。SCOFIELD-KAPLAN等^[56]报道了2例进行眶底重建的眼眶肿瘤患者,术中使用钛板重建眶底,为防止锋利的边缘接触眼睑组织,在弯曲钛板前部后使用脱细胞真皮连接眼睑与钛板,在术后随诊发现术后外观良好,没有眼球内陷及瘢痕性睑内外翻,脱细胞真皮的使用减少了单纯钛板重建导致的潜在性瘢痕收缩引起的眼睑外观异常。

3 展望 Prospects

脱细胞技术是当前组织工程中应用广泛的生物材料,这类材料的使用创新了许多眼科疾病的治疗方式,但当前脱细胞组织材料制备采用的技术方法多而复杂,在受体组织中易降解,以及物理、化学及生物方法进行脱细胞处理时难免对组织固有结构造成影响。另外,脱细胞材料尚无统一的评价标准,研究中的部分材料脱细胞不完全等问题都可能影响最终的治疗效果,需进一步的研究来解决。脱细胞组织材料可以应用于大部分眼部结构的重建手术,具有良好的治疗效果,但同时也存在植片溶解、新生血管植入、适应时间较长、植片收缩及细胞化不完全等不足,需研究出现这些并发症的病理生理机制以寻找有效的解决方案。

通过在脱细胞组织支架上进行干细胞或受体组织细胞的培养可以定制含不同组织活细胞的生物植片,对眼部组织的再生和重建具有重大意义,但细胞在脱细胞支架上的诱导、分化及生长过程仍处于探索阶段,相信随着脱细胞技术的发展及医学研究的深入,组织材料及处理技术不断的优化,这些问题都将得到有效解决,脱细胞材料在眼科治疗领域将发挥巨大的作用。

作者贡献: 李才锐、刘景晨进行综述设计,资料收集为刘景晨、李明军,刘景晨成文,李才锐、孙曙光审核。

经费支持: 该文章接受了“云南省教育厅科学研究基金项目(2020Y0561)及云南省科技厅地方高校联合专项重点项目(202001BA070001-007)”的资助。所有作者声明,经费支持没有影响文章观点和对研究数据客观结果的统计分析及其报道。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

写作指南: 该研究遵守《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA指南)。

文章查重: 文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行3次查重。

文章外审: 文章经小同行外审专家双盲外审,同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享4.0”条款,在合理引用的情况下,允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

4 参考文献 References

- [1] VAN DEN BOGERD B, NÍ DHUBHGHAILL S, ZAKARIA N. Characterizing human decellularized crystalline lens capsules as a scaffold for corneal endothelial tissue engineering. *J Tissue Eng Regen Med.* 2018;12(4): e2020-e2028.
- [2] ISLAM MM, BUZNYK O, REDDY JC, et al. Biomaterials-enabled cornea regeneration in patients at high risk for rejection of donor tissue transplantation. *NPJ Regen Med.* 2018;3:2.
- [3] KASBEKAR S, KAYE SB, WILLIAMS RL, et al. Development of decellularized conjunctiva as a substrate for the ex vivo expansion of conjunctival epithelium. *J Tissue Eng Regen Med.* 2018;12(2):e973-e982.
- [4] ALIO DEL BARRIO JL, CHIESA M, GARAGORRI N, et al. Acellular human corneal matrix sheets seeded with human adipose-derived mesenchymal stem cells integrate functionally in an experimental animal model. *Exp Eye Res.* 2015;132:91-100.
- [5] KIM YH, HWANG KT, KIM KH, et al. Application of acellular human dermis and skin grafts for lower extremity reconstruction. *J Wound Care.* 2019;28(Sup4):S12-S17.
- [6] COLE W, SAMSELL B, MOORE MA. Achilles Tendon Augmented Repair Using Human Acellular Dermal Matrix: A Case Series. *J Foot Ankle Surg.* 2018;57(6):1225-1229.
- [7] BONDIOLI E, PURPURA V, ORLANDI C, et al. The use of an acellular matrix derived from human dermis for the treatment of full-thickness skin wounds. *Cell Tissue Bank.* 2019;20(2):183-192.
- [8] ZELEN CM, ORGILL DP, SERENA TE, et al. An aseptically processed, acellular, reticular, allogenic human dermis improves healing in diabetic foot ulcers: A prospective, randomised, controlled, multicentre follow-up trial. *Int Wound J.* 2018;15(5):731-739.
- [9] CHO WK, JUNG SK, PAIK JS, et al. Surgical Outcomes of Deep Superior Sulcus Augmentation Using Acellular Human Dermal Matrix in Anophthalmic or Phthisis Socket. *J Craniofac Surg.* 2016;27(5): 1120-1124.
- [10] JIANG X, WANG Y, QIU W, et al. Corneal Stromal Transplantation With Human-derived Acellular Dermal Matrix for Pellucid Marginal Corneal Degeneration: A Nonrandomized Clinical Trial. *Transplantation.* 2019;103(6):e172-e179.
- [11] TANG K, WU J, XIONG Z, et al. Human acellular amniotic membrane: A potential osteoinductive biomaterial for bone regeneration. *J Biomater Appl.* 2018;32(6):754-764.
- [12] LIU XN, ZHU XP, WU J, et al. Acellular ostrich corneal stroma used as scaffold for construction of tissue-engineered cornea. *Int J Ophthalmol.* 2016;9(3):325-331.
- [13] LI S, LI M, GU L, et al. Risk factors influencing survival of acellular porcine corneal stroma in infectious keratitis: a prospective clinical study. *J Transl Med.* 2019;17(1):434.
- [14] ZHENG X, ZHANG D, LI S, et al. An Experimental Study of Femto-Laser in Assisting Xenograft Acellular Cornea Matrix Lens Transplantation. *Med Sci Monit.* 2018;24:5208-5215.
- [15] ZHENG J, HUANG X, ZHANG Y, et al. Short-term results of acellular porcine corneal stroma keratoplasty for herpes simplex keratitis. *Xenotransplantation.* 2019;26(4):e12509.
- [16] BARMETTLER A, HEO M. A Prospective, Randomized Comparison of Lower Eyelid Retraction Repair With Autologous Auricular Cartilage, Bovine Acellular Dermal Matrix (Surgimend), and Porcine Acellular Dermal Matrix (Enduragen) Spacer Grafts. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg.* 2018;34(3):266-273.
- [17] LIOU JJ, DREWRY MD, SWEENEY A, et al. Decellularizing the Porcine Optic Nerve Head: Toward a Model to Study the Mechanobiology of Glaucoma. *Transl Vis Sci Technol.* 2020;9(8):17.

- [18] FIELDS MA, DEL PRIORE LV, ADELMAN RA, et al. Interactions of the choroid, Bruch's membrane, retinal pigment epithelium, and neurosensory retina collaborate to form the outer blood-retinal-barrier. *Prog Retin Eye Res.* 2020;76:100803.
- [19] MCLENACHAN S, HAO E, ZHANG D, et al. Bioengineered Bruch's-like extracellular matrix promotes retinal pigment epithelial differentiation. *Biochem Biophys Rep.* 2017;10:178-185.
- [20] LIN H, LIU Y, YIU S. Three Dimensional Culture of Potential Epithelial Progenitor Cells in Human Lacrimal Gland. *Transl Vis Sci Technol.* 2019;8(4):32.
- [21] KAWAKITA T. Regeneration of Lacrimal Gland Function to Maintain the Health of the Ocular Surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018;59(14):DES169-DES173.
- [22] ZHANG S, HONG J. Risk Factors for Dry Eye in Mainland China: A Multi-Center Cross-Sectional Hospital-Based Study. *Ophthalmic Epidemiol.* 2019;26(6):393-399.
- [23] QIN Y, ZHANG Y, LIANG Q, et al. Labial Salivary Gland Transplantation for Severe Dry Eye in a Rhesus Monkey Model. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018;59(6):2478-2486.
- [24] WANG DK, ZHANG SE, SU YX, et al. Microvascular Submandibular Gland Transplantation for Severe Keratoconjunctivitis Sicca: A Single-Institution Experience of 61 Grafts. *J Oral Maxillofac Surg.* 2018;76(11):2443-2452.
- [25] SPANIOL K, METZGER M, ROTH M, et al. Engineering of a Secretory Active Three-Dimensional Lacrimal Gland Construct on the Basis of Decellularized Lacrimal Gland Tissue. *Tissue Eng Part A.* 2015;21(19-20):2605-2617.
- [26] LIN H, SUN G, HE H, et al. Three-Dimensional Culture of Functional Adult Rabbit Lacrimal Gland Epithelial Cells on Decellularized Scaffold. *Tissue Eng Part A.* 2016;22(1-2):65-74.
- [27] MASSIE I, SPANIOL K, BARBIAN A, et al. Evaluation of Decellularized Porcine Jejunum as a Matrix for Lacrimal Gland Reconstruction In Vitro for Treatment of Dry Eye Syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017;58(12):5564-5574.
- [28] SUN J, LIU X, ZHANG Y, et al. Bovine Acellular Dermal Matrix for Levator Lengthening in Thyroid-Related Upper-Eyelid Retraction. *Med Sci Monit.* 2018;24:2728-2734.
- [29] MCGRATH LA, HARDY TG, MCNAB AA. Efficacy of porcine acellular dermal matrix in the management of lower eyelid retraction: case series and review of the literature. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2020;258(9):1999-2006.
- [30] 章余兰, 石璐, 宋映, 等. 异种脱细胞真皮基质联合邻位皮瓣修复眼睑全层缺损的临床观察 [J]. *眼科新进展*, 2017,37(7):671-673.
- [31] CHEN L, GONG B, WU Z, et al. A new method using xenogeneicacellular dermal matrix in the reconstruction of lacrimal drainage. *Br J Ophthalmol.* 2014;98(11):1583-1587.
- [32] PARK SJ, KIM Y, JANG SY. The application of an acellular dermal allograft (AlloDerm) for patients with insufficient conjunctiva during evisceration and implantation surgery. *Eye (Lond).* 2018;32(1):136-141.
- [33] 魏利娜, 邵安良, 黄立静, 等. 去细胞异种角膜基质与去细胞异种结膜基质的免疫原性研究 [J]. *药物分析杂志*, 2019,39(08):1362-1369.
- [34] HUANG D, XU B, YANG X, et al. Conjunctival structural and functional reconstruction using acellular bovine pericardium graft (Normal GEN®) in rabbits. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2016;254(4):773-783.
- [35] ZHAO L, JIA Y, ZHAO C, et al. Ocular surface repair using decellularized porcine conjunctiva. *Acta Biomater.* 2020;101:344-356.
- [36] 石璐, 章余兰. 异种脱细胞真皮基质在结膜囊成形术中的应用 [J]. *眼科新进展*, 2017,37(1):80-82.
- [37] WANG X, MAJUMDAR S, SOIBERMAN U, et al. Multifunctional synthetic Bowman's membrane-stromal biomimetic for corneal reconstruction. *Biomaterials.* 2020;241:119880.
- [38] CHEN M, NG SM, AKPEK EK, et al. Artificial corneas versus donor corneas for repeat corneal transplants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;5:CD009561.
- [39] GIRANI L, XIE X, LEI T, et al. Xenotransplantation in Asia. *Xenotransplantation.* 2019;26(1):e12493.
- [40] WANG Q, ZHOU H, SUN Y, et al. Modified acellular porcine corneal matrix in deep lamellar transplantation of rabbit cornea. *J Biomater Appl.* 2020;34(8):1092-1104.
- [41] HASHIMOTO Y, FUNAMOTO S, SASAKI S, et al. Re-epithelialization and remodeling of decellularized corneal matrix in a rabbit corneal epithelial wound model. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2019;102:238-246.
- [42] 段虎成, 陈瑞, 罗嘉婧. 猪脱细胞角膜基质板层角膜移植术后植片上皮化的临床观察 [J]. *眼科学报*, 2019,34(2):85-89.
- [43] 李上, 卢红双, 臧云晓, 张等. 脱细胞猪角膜基质作为植片的深板层角膜移植治疗感染性角膜溃疡的临床观察 [J]. *眼科*, 2018,27(3):164-170.
- [44] LI S, DENG Y, TIAN B, et al. Healing characteristics of acellular porcine corneal stroma following therapeutic keratoplasty. *Xenotransplantation.* 2020;27(2):e12566.
- [45] TORREJON KY, PAPKE EL, HALMAN JR, et al. Bioengineered glaucomatous 3D human trabecular meshwork as an in vitro disease model. *Biotechnol Bioeng.* 2016;113(6):1357-1368.
- [46] DANG Y, WAXMAN S, WANG C, et al. Freeze-thaw decellularization of the trabecular meshwork in an ex vivo eye perfusion model. *Peer J.* 2017;5:e3629.
- [47] ABU-HASSAN DW, LI X, RYAN EI, et al. Induced pluripotent stem cells restore function in a human cell loss model of open-angle glaucoma. *Stem Cells.* 2015;33(3):751-761.
- [48] WANG Z, GAO F, ZHANG M, et al. Intravitreal Injection of Human Retinal Progenitor Cells for Treatment of Retinal Degeneration. *Med Sci Monit.* 2020;26:e921184.
- [49] JI J, ZHANG D, WEI W, et al. Decellularized matrix of adipose-derived mesenchymal stromal cells enhanced retinal progenitor cell proliferation via the Akt/Erk pathway and neuronal differentiation. *Cytotherapy.* 2018;20(1):74-86.
- [50] KUNDU J, MICHAELSON A, TALBOT K, et al. Decellularized retinal matrix: Natural platforms for human retinal progenitor cell culture. *Acta Biomater.* 2016;31:61-70.
- [51] GOLESTANEH N, CHU Y, XIAO YY, et al. Dysfunctional autophagy in RPE, a contributing factor in age-related macular degeneration. *Cell Death Dis.* 2017;8(1):e2537.
- [52] OHNO-MATSUI K, JONAS JB. Posterior staphyloma in pathologic myopia. *Prog Retin Eye Res.* 2019;70:99-109.
- [53] 王甜, 张金嵩. 异体脱细胞真皮基质后巩膜加固术后组织相容性及bFGF表达的变化 [J]. *眼科新进展*, 2015,35(10):921-923.
- [54] 刘凤霞, 张松, 杨倩倩, 等. 脱细胞牛心包补片移植修复眼台暴露的临床疗效分析 [J]. *中国美容医学*, 2016,25(10):38-39.
- [55] KIM J, LEW DH, ROH TS, et al. Use of Acellular Allogenic Dermal Matrix (MegaDerm) in Orbital Wall Reconstruction: A Comparison With Absorbable Mesh Plate and Porous Polyethylene. *J Craniofac Surg.* 2017;28(7):e644-e649.
- [56] SCOFIELD-KAPLAN SM, PATEL SY, MANCINI R. Orbital Floor and Rim Reconstruction With a Titanium Orbital Implant and Acellular Dermis. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg.* 2019;35(1):e19-e21.

(责任编辑: GW, ZN, SX)