感光细胞替代治疗视网膜变性疾病

https://doi.org/10.3969/j.issn.2095-4344.2179
投稿日期：2019-09-30
送审日期：2019-10-21
采用日期：2020-03-18
在线日期：2020-08-20
中图分类号：
R459.9；R394.2；R774.1
文章编号：
2095-4344(2021)07-01116-06
文献标识码：A

李珊珊，郭笑霄，尤 冉，杨秀芬，赵 露，陈 曦，王艳玲

文章快速阅读：

文章特点—

△感光细胞移植是一种有前途的细胞替代疗法，文章总结了感光细胞替代治疗视网膜变性疾病的相关研究进展；

△概括了视网膜变性疾病的治疗策略，多能干细胞来源感光细胞的选择方法；

△详细介绍了感光细胞替代治疗视网膜变性疾病的挑战与困难，总结了应用前景。

文题释义：

视网膜：视网膜由不同种类的相互关联的细胞及神经纤维组成，包括感光细胞、双极细胞、水平细胞、无长突细胞、神经节细胞等5种神经元，感光细胞位于视网膜的外核层，人的视网膜感光细胞包括1种视杆细胞和3种视锥细胞，视杆细胞在低强度的光照下提供视觉，视锥细胞主要集中在后极部黄斑区，在强光下提供高分辨率的中心视觉。双极细胞接受来自视锥细胞和视杆细胞的视觉信号，在水平细胞及无长突细胞的协调下将视觉信号传输给神经节细胞，然后传送给大脑，产生视觉，感光细胞作为产生视觉的一级神经元，对视觉的产生极其重要。

视网膜色素变性：是一种进行性、遗传性、营养不良性退行性病变，主要表现为慢性进行性视野缺失、夜盲、色素性视网膜病变和视网膜电图异常，最终可导致视力下降。该病为遗传性疾病，其遗传方式有常染色体隐性遗传，常染色体显性遗传与性染色体隐性遗传等，以常染色体隐性遗传最多。

摘要

背景：视网膜变性疾病至今仍无有效的治疗手段，其中感光细胞丢失、感光细胞功能障碍和丧失是引起视网膜退行性疾病的主要原因之一，感光细胞移植为一种有前途的细胞替代疗法，是当今研究的主要方向。

目的：对感光细胞替代治疗视网膜变性疾病相关研究进展予以综述。

方法：检索PubMed、CNKI、万方数据库，中文检索词为“感光细胞，视网膜，移植”，英文检索词为“photoreceptors，retina，transplantation”，通过阅读标题及摘要进行初步筛选，排除与主题相关度低的文献，最终共纳入 62 篇文献进行综述。

结果与结论：外源性细胞作为种子细胞移植到视网膜变性环境中，用于替换晚期视网膜变性中丢失的感光细胞展现了巨大优势，为视网膜变性疾病提供了新的治疗策略。然而，至今尚未建立可供临床应用的标准化的种子细胞筛选方案，这也是在未来研究中所面临的重要挑战。

关键词：干细胞；感光细胞；视网膜；变性；移植；视神经；综述

Photoreceptor cell replacement therapy for retinal degeneration diseases

Li Shanshan, Guo Xiaoxiao, You Ran, Yang Xiufen, Zhao Lu, Chen Xi, Wang Yanling

Department of Ophthalmology, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Li Shanshan, Doctoral candidate, Physician, Department of Ophthalmology, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Corresponding author: Wang Yanling, PhD, Chief physician, Department of Ophthalmology, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Co-corresponding author: Chen Xi, PhD, Department of Ophthalmology, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Abstract

BACKGROUND: There is no effective treatment for retinal degenerative diseases, among which the loss of photoreceptor cells, dysfunction and loss of

首都医科大学附属北京友谊医院眼科，北京市 100050

第一作者：李珊珊，女，1992 年生，黑龙江省明水县人，汉族，在读博士，医师，主要从事干细胞治疗视网膜变性疾病的基础和临床应用研究。

通讯作者：王艳玲，博士，主任医师，首都医科大学附属北京友谊医院眼科，北京市 100050

共同通讯作者：陈曦，博士，首都医科大学附属北京友谊医院眼科，北京市 100050

https://orcid.org/0000-0002-3487-0122(王艳玲); https://orcid.org/0000-0002-8066-3394(陈曦)

基金资助：国家自然科学基金面上项目 (81870686)，项目负责人：王艳玲；北京市自然科学基金项目 (7184201)，项目负责人：陈曦；首都卫生发展科研专项项目 (首发 2018-1-2021)，项目负责人：王艳玲

引用本文：李珊珊，郭笑霄，尤冉，杨秀芬，赵露，陈曦，王艳玲 . 感光细胞替代治疗视网膜变性疾病 [J]. 中国组织工程研究，2021，25(7):1116-1121.

photoreceptor cells are the main causes of retinal degenerative diseases. Photoreceptor cell transplantation as a promising cell replacement therapy is the main research direction today.
OBJECTIVE: To review the progress of photoreceptor cell replacement in the treatment of retinal degeneration.
METHODS: PubMed, CNKI and Wanfang databases were searched. The Chinese keywords were "photoreceptor cells, retina, transplantation" and the English keywords were "photoreceptors, retina, transplantation". After preliminary screening by reading the titles and abstracts, the articles with low relevance to the subject were excluded, and a total of 62 articles were finally included for review.
RESULTS AND CONCLUSION: The transplantation of exogenous cells into the retinal degeneration environment to replace the photoreceptors lost in advanced retinal degeneration has shown great advantages and provided a new therapeutic strategy for the diseases of retinal degeneration. However, standardized cell screening protocols for clinical use are still not perfect, which is an important challenge for future research.
Key words: stem cells; photoreceptor cells; retina; degeneration; transplantation; optic nerve; review

Funding: *the National Natural Science Foundation of China, No. 81870686 (to WYL); the Beijing Municipal Natural Science Foundation, No. 7184201 (to CX); the Capital's Funds for Health Improvement and Research (SF 2018-1-2021) (to WYL)*
How to cite this article: *LI SS, GUO XX, YOU R, YANG XF, ZHAO L, CHEN X, WANG YL. Photoreceptor cell replacement therapy for retinal degeneration diseases. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2021;25(7):1116-1121.*

0 引言 Introduction

眼睛是人类获取外界信息的主要器官，视力损害给患者、家庭和社会带来巨大的经济负担[1]。据统计，到2020年全球将有9.29亿人遭受视力损害，费用总支出将达2.77万亿美元。

视网膜由不同种类的相互关联的细胞及神经纤维组成，包括感光细胞、双极细胞、水平细胞、无长突细胞、神经节细胞等5种神经元，感光细胞位于视网膜的外核层，人的视网膜感光细胞由1种视杆细胞和3种视锥细胞组成，视杆细胞在低强度的光照下提供视觉，视锥细胞主要集中在后极部黄斑区，提供高分辨率的中心视觉[2]，双极细胞接受来自感光细胞的视觉信号，在水平细胞及无长突细胞的协调下将视觉信号传输给神经节细胞，然后传送给大脑，产生视觉，感光细胞作为产生视觉的一级神经元，对视觉的产生极其重要。

视网膜变性疾病作为致盲的重要原因，至今仍无有效的治疗手段[3-4]，其主要原因是感光细胞的丢失，感光细胞功能障碍或功能丧失是引起视网膜退行性疾病的主要原因之一。世界卫生组织估计，因感光细胞功能受损而致视力低下的患者数量约为2.85亿[5]，如年龄相关性黄斑变性或遗传性视网膜变性，其主要特点都是感光细胞的功能障碍和丢失，由于视网膜缺乏自我修复能力，这两类患者的视力损伤是不可逆的。年龄相关性黄斑变性主要发生在50岁以上老年人，其病因为视网膜色素上皮细胞死亡后继发视锥细胞的丢失，导致中心视力下降[6]。遗传性视网膜变性首先出现视杆细胞损伤，导致暗视力下降，继而视锥细胞死亡，最终导致全盲。虽然上述常见视网膜变性疾病的发病机制和病程进展不同，但是共同的结局都是感光细胞死亡。然而在感光细胞死亡后，内层视网膜神经元在很大程度上得以保留[7-8]。据报道，在晚期视网膜色素变性患者的黄斑区仍有80%的双极细胞存活[9]，这也为细胞替代治疗以恢复视功能提供了可能性。感光细胞移植是一种有前途的细胞替代疗法，是当今研究的主要方向，该文章主要对感光细胞替代治疗视网膜变性疾病相关研究进展予以综述。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 **文献检索和筛选要求** 检索PubMed、CNKI、万方数据库，中文检索词为"感光细胞，视网膜，移植"，英文检索词为"photoreceptors，retina，transplantation"。选择发表在2019年12月之前的相关文献。

1.2 **文献筛选标准** 纳入标准：感光细胞移植研究的相关文献，研究方向契合度大、内容有实质性帮助，权威期刊发表，引用率高，被广泛认可的文献。排除标准：与目的无关及重复性研究；质量低、权威性差、证据等级不够的文章。

1.3 **质量评估及数据的提取** 计算机初检得到1 066篇文献，经资料收集者互相评估纳入文献的有效性和适用性，通过阅读文题和摘要进行初步筛选；排除中英文文献重复性研究，以及内容不相关的文献，最后纳入62篇文献进行综述。

2 结果 Results

2.1 **视网膜变性疾病治疗策略** 近年来，致力于视网膜色素变性的新型治疗策略研究大量出现，虽然其中一些已经成功过渡到临床，但对于大多数致盲性疾病仍然没有真正的治疗方法[3]，治疗策略包括抗新生血管生长因子的治疗[10]、基因疗法和基因编辑方法[11]、阻断化学电压钾离子通道[12]、视网膜色素上皮细胞移植、移植生物电子视网膜假体、光发生工具、光敏感开光等。激活内源性干细胞/前体细胞产生新的感光细胞，补充外源性的干细胞/前体细胞在体内分化为感光细胞的研究发展很快[11，13-15]，其中外源性细胞作为种子细胞移植到视网膜变性环境中，用于替换晚期视网膜变性中丢失的细胞展现了巨大的优势[16]，为视网膜变性疾病提供了新的治疗策略。

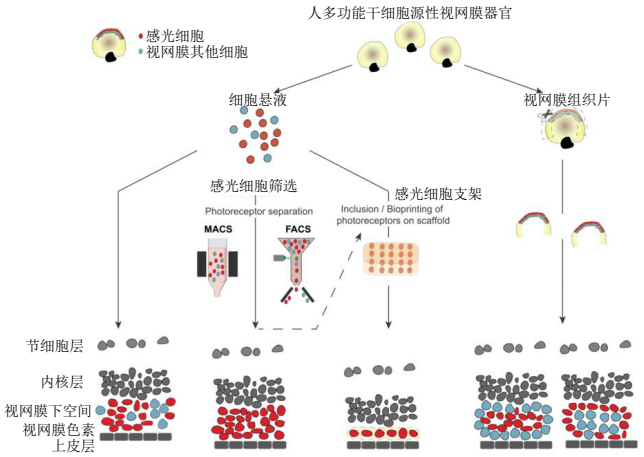
2.2 **人胚胎干细胞和诱导多能干细胞产生的感光细胞** 细胞移植的治疗机制主要为神经营养、免疫调节、细胞替代和突触形成。干细胞具有无限增殖和产生各种细胞的潜能，是细胞替代治疗的一种有前途的细胞，从人胚胎干细胞和诱导多能干细胞中提取视网膜细胞的方法在干细胞培养的基础上进行了探索，并取得了许多成功的结果[17]。细胞移植早期，移植的干细胞/前体细胞主要通过分泌营养因子促进视网膜残留细胞的存活和残余视功能的部分恢复[18]，即"bystander"效应；同时移植细胞也可通过免疫调节，抑制小胶质细胞的激活，保护视功能[19]。此外，移植细胞也可释放免疫调节性细胞因子和趋化因子，以及表达免疫调节相关受体以减轻免

疫反应[20]。移植干细胞/前体细胞“bystander”的神经营养效应和免疫调节效应在细胞移植早期对视功能的保护起到了关键作用，而细胞移植治疗的长效机制主要基于细胞替代和突触形成，其过程为移植细胞从移植区域迁徙至外核层，分化为感光细胞，与宿主视网膜形成突触连接，并整合进入视网膜环路。种子细胞的选择对整合效果至关重要。多能干细胞因其具有多潜能分化特性及体外无限增殖能力而被广泛认为是种子细胞来源的理想选择。通过胚胎干细胞和诱导性多能干细胞诱导分化形成感光细胞是现今研究的重要方向。

多能干细胞来源的感光细胞在治疗视网膜变性疾病方面展现了巨大的潜力，对于大多数视网膜色素变性患者来说，视杆细胞死亡是疾病早期导致夜盲的主要原因。此外，视杆细胞占感光细胞的90%以上，因此视杆细胞移植是一种适合于视网膜色素变性的治疗方法。到目前为止，胚胎干细胞或诱导性多能干细胞的感光前体细胞移植已经在视网膜变性小鼠模型中完成，且视网膜功能得到一定的改善[21]。

为了克服供体细胞供应的问题，诱导性多能干细胞衍生的感光细胞已被用于临床前移植，多能干细胞诱导分化为感光细胞的诱导方案分为二维培养和三维培养。二维培养方案通常在胚胎干细胞或诱导性多能干细胞贴壁条件下，加入Wnt拮抗剂Dickkopf-1(Dkk-1)、骨形态发生蛋白拮抗剂Noggin、维甲酸、胰岛素样生长因子1或碱性成纤维生长因子等促进其向感光细胞分化[22]。三维培养方案通常使用多能干细胞无血清悬浮培养形成拟胚体体系，加入特定的细胞分子或小分子[23]。IKEDA等[24]加入体积分数5%血清和activin-A，形成视网膜同源蛋白(Rax)$^+$/配对盒蛋白(Pax6)$^+$视网膜前体细胞的比例约为26%，并继续分化为视锥－视杆同源框转录因子(Crx)$^+$感光祖细胞；LAMBA等[22]在诱导分化3周后约形成80%视网膜前体细胞和12% Crx$^+$感光祖细胞，进一步提高了诱导效率，该诱导方案虽然在相对短的时间内产生高比例的视网膜前体细胞样细胞，然而其使用的基质胶中包含许多不明生长因子。找到可完全明确成分的分化诱导方案对于临床应用至关重要，OSAKADA等[25]首先提出成分确定的诱导方案，对于人胚胎干细胞在早期的神经诱导阶段加入Dkk-1、Nodal拮抗剂LEFTY-A和Rho激酶抑制剂Y-27632，在感光细胞诱导阶段加入维甲酸和牛磺酸，诱导140−200 d可得到约15% rhodopsin$^+$感光细胞。

EIRAKU等[26]及NAKANO等[27]利用鼠胚胎干细胞及人胚胎干细胞三维培养得到了视杯，开创了多能干细胞三维培养的新时代。EIRAKU等[26]研究显示约80%鼠胚胎干细胞拟胚体含有Rax$^+$细胞，(73.7±2.5)% Rax$^+$聚集体可形成1−4个视泡样结构，其中(57.0±4.7)%可形成视杯样结构，而GONZALEZ-CORDERO等[28]研究表明所有鼠胚胎干细胞形成的拟胚体都至少存在1个神经视网膜样结构，而其中包含有丰富的视杆细胞。NAKANO等[27]对人胚胎干细胞三维诱导的结果显示>70%的人胚胎干细胞拟胚体中含有Rax$^+$细胞，58%−73%的聚集体形成视泡样结构，21%−24%形成视杯样结构；



图注：此图展示了细胞悬液移植、感光细胞筛选及移植、视网膜组织片移植模式图

图1 | 移植研究中的主要策略[38]

COLLIN等[29]利用人胚胎干细胞三维培养形成的视杯分离Crx$^+$细胞，在移植后也可以与宿主双极细胞形成突触结构。

多能干细胞在二维环境和三维环境下诱导为视网膜细胞的方案越来越成熟，得到所需细胞的周期越来越短。多能干细胞来源细胞与胚胎发育来源细胞在功能和表型上均具有高度相似性[1, 30]。通过三维培养体系得到的感光细胞移植入视网膜变性环境中，可整合入宿主视网膜环路中[28, 31]，而二维培养来源的感光祖细胞却不能整合入宿主视网膜[32]，提示三维培养体系更贴近胚胎发育，从三维培养体系可能得到更优的种子细胞。

2.3 多能干细胞来源的感光细胞选择

2.3.1 通过不同的细胞表面抗原筛选小鼠感光前体细胞 感光前体细胞的选择一直是研究的热点，其中一些研究使用感光细胞特定的启动子，提供腺相关病毒转染细胞来表达绿色荧光蛋白，然而这些通过基因或病毒标记的细胞不能应用于临床。感光前体细胞表面标记物CD73(胞外−5核苷酸酶)是一种有效的表面抗原，能够特异标记发育中及早期出生的小鼠视网膜感光细胞[33]，然后使用流式细胞分选和免疫磁珠分选方法获得大量的感光前体细胞，见**图1**。LAKOWSKI等[34]发现CD73与另一个细胞表面标记物CD24可同时标记感光前体细胞，CD24主要表达于小鼠胚胎视网膜，在出生后表达迅速下降，研究结果显示移植CD73阳性细胞相比于CD74/CD24双阳性细胞，与宿主整合效率相同。感光细胞表面CD标记物还有CD133、CD47，其中CD73与CD133主要在Nrl$^-$视杆细胞中高表达，而CD24与CD47主要表达于有丝分裂后期，对于发育中的感光细胞具有特异性[35]，作者还发现潜在有害的有丝分裂活性细胞标记物、CD15阴性选择标记物，因此提出了将阳性和阴性方法结合起来作为光感受器前体纯化策略的建议。

2.3.2 通过不同的细胞表面抗原筛选人感光前体细胞 基于小鼠视网膜感光前体细胞标记物的描述，CD24、CD47、CD15并不适用于人类感光前体细胞的选择，但是发现CD73

与 CD133 可表达于人类成人和胎儿的视网膜[36]，随后的研究发现 CD73 是人视锥和视杆细胞的表面标记物，CD73 可成功标记视网膜感光细胞，并可将感光细胞从人诱导多能干细胞来源的神经视网膜中成功分离出来，不同的细胞表面标记物被相继发现，如钠依赖性中性氨基酸转运体 (SLC6A17)、溶质载体家族 40 成员 1、钾电压门控通道 (KCNH2，KCNV2)，随着 RNA 测序及单细胞测序技术的发展，不仅有利于发现新的潜在感光细胞标记物，而且有利于了解视网膜的发育阶段，并有助于获得相当于胎儿视网膜细胞的人源性视网膜干细胞[37]。

2.4 感光细胞替代治疗视网膜变性疾病 研究发现，第 11−17 天的视网膜片具有良好的分化能力，可分化为含有不同程度内外节的光感受器结构，与细胞悬液移植相似，第 18−24 天分化的视网膜片表现出结构紊乱，并与单个细胞发生融合[38]。移植整合模式主要与视网膜片结构的完整性有关。事实上，在移植物中存在 1 个类似于内核层样结构，可以干扰和阻止移植物的感光器与宿主的内核层直接接触，视网膜片中含有不完全内核层，通常这种不完全的内核层围绕在外核层周围，形成玫瑰样结构，能够与宿主双极细胞直接接触，然而这些玫瑰样结构阻断了移植物与宿主视网膜色素上皮的接触[39]，见图 1。

人胚胎干细胞和诱导性多能干细胞来源的视网膜片移植，在视网膜变性模型中展现出巨大的优势[40]，分化第 30−65 天的视网膜片没有形成成熟的光感受器，而用视网膜类器官制备视网膜片，移植后 2−4 个月分化为功能性的感光细胞，通过视网膜电生理检测显示视功能改善[41]。最近有研究发现，在免疫缺陷视网膜营养不良模型中，人胚胎干细胞来源的视网膜片移植 10 个月后，大鼠的视功能依然有改善[42]。由于视网膜片处在不成熟的发育阶段，移植时视网膜组织富含增殖祖细胞，一般来说在临床环境中具有潜在的危险，但是研究显示未观察到成瘤现象发生[43]。这些研究表明，人胚胎干细胞和诱导性多能干细胞来源的视网膜片移植，在视网膜变性模型中表现出了较好的生长、分化和成熟的能力，同时也指出了使用免疫缺陷模型来检测人多能干细胞来源视网膜片替代治疗的重要性。

2.5 移植策略的挑战与困难

2.5.1 宿主疾病类型对移植效果的影响 移植细胞是否可以整合入宿主视网膜环路与宿主微环境相关。在正常视网膜和变性程度较轻的视网膜微环境中，首先被证实移植细胞可整合入宿主视网膜，随后 BARBER 等[44]研究表明多种视网膜变性模型 (包括严重视网膜变性) 也可实现整合。然而，不同疾病类型也对整合效果产生一定影响。视杆祖细胞移植入夜盲模型视杆细胞转导蛋白 a 敲除小鼠 (Gnat1$^{-/-}$ 小鼠) 的整合细胞数量与移植入正常视网膜环境相似，并且移植细胞可分化形成外节，以及与宿主视网膜形成突触联系。而视杆祖细胞移植入 rhodopsin$^{-/-}$ 小鼠，整合细胞数目明显减少，且鲜有外节形成。当视杆祖细胞移植入快速视网膜变性模型 rd1 小鼠后，虽然移植细胞未能分化形成成熟感光细胞的形态，但是整合细胞数量多，且可促使宿主视功能恢复[44-46]。

2.5.2 外界膜完整性对于移植效果的影响 对整合极其重要的是供体细胞从移植区域 (通常是视网膜下腔) 通过外界膜迁徙至外核层[47]。现认为这一过程中的两大决定性因素为外界膜的完整性和宿主视网膜胶质化的程度[44，48-50]。Müller 胶质细胞的终端在感光细胞内节之间形成的黏着连接构成了外界膜。外界膜是阻碍移植细胞来源感光细胞整合入宿主视网膜的一大屏障。因此破坏外界膜的完整性有助于提高整合效率，其方法包括药物干预 (如胶质毒素 DL-α− 氨基己二酸) 和基因沉默外界膜相关蛋白 ZO-1[44，49-50]，然而这两类策略都无法直接用于临床治疗。破坏外界膜的药物毒性也可直接损害 Müller 胶质细胞，并且外界膜和视网膜色素上皮层都表达黏着连接蛋白 ZO-1，沉默 ZO-1 可破坏外界膜的同时也会引起视网膜色素上皮细胞的变性，故 ZO-1 也不是理想的特异性靶点。

2.5.3 反应性胶质增生对移植细胞的影响 反应性胶质增生是影响中枢神经系统修复和再生的主要因素；另一方面，反应性胶质增生也是促进剩余神经元存活的保护因素，并可引起神经元重塑[51]。在视网膜中，反应性胶质增生主要来源于 Müller 胶质细胞。Müller 胶质细胞增生会引起 vimentin 和胶质纤维酸性蛋白上调，Müller 胶质细胞胞体肥大，以及抑制性细胞外基质分子的堆积，如硫酸软骨素蛋白聚糖[52]。在变性环境下，Müller 胶质细胞反应性胶质增生所产生的胶质瘢痕以及抑制性细胞外基质分子都会阻碍移植细胞整合入宿主视网膜中。据此，降低宿主视网膜胶质化程度可改善移植细胞的整合效果。GFAP$^{-/-}$Vim$^{-/-}$ 小鼠不表达胶质相关蛋白 GFAP 和 vimentin，其胶质瘢痕的形成显著减少，在这样的环境中移植细胞的迁徙明显增加[48，53]。通过降低硫酸软骨素蛋白聚糖的浓度也可促进整合效果的提高。硫酸软骨素蛋白聚糖结合了许多细胞外基质蛋白和生长因子，对调节细胞黏附和迁徙起到了重要作用。在中枢神经系统受到损伤后，硫酸软骨素蛋白聚糖出现上调，并抑制神经元轴突的再生，而视网膜损伤后硫酸软骨素蛋白聚糖的变化趋势尚不明确，在不同的变性环境中硫酸软骨素蛋白聚糖家族中的不同成分呈现了不同的表达方式，如在两种视网膜营养不良大鼠模型中聚集蛋白聚糖呈现上调[54]，而在 rd1 小鼠和 rhodopsin$^{-/-}$ 小鼠中神经糖蛋白呈现上调[55]。采用可分解多种硫酸软骨素蛋白聚糖的广谱软骨素酶 ChABC，可有效促进受损脊髓的轴突再生。ChABC 的应用也可水解视网膜变性环境中堆积的硫酸软骨素蛋白聚糖，促进整合效果的提高[44]。基质金属蛋白酶可降解细胞外基质的多种成分，包括胶原、纤连蛋白、层粘连蛋白和多种蛋白聚糖等。研究表明，应用基质金属蛋白酶 2 也可促进移植细胞迁徙入宿主视网膜[56]。rd1 小鼠既可出现严重的胶质瘢痕形成，也会出现外界膜完整性下降[44]，但是胶质增生不仅仅对视功能起到不利影响，一定程度的胶质增生也会促进移植细胞和宿主残留视锥细胞的存活[57]。

2.5.4 免疫反应对移植效果的影响 虽然视网膜是免疫赦免器官，对外来物质(移植细胞)较少产生免疫反应，但是在视网膜变性情况下，除了移植相关损伤外，免疫反应可能更加明显，许多视网膜退行性疾病，如年龄相关性黄斑变性及遗传性视网膜变性，都会导致视网膜色素上皮细胞的丢失，这不仅会干扰这些细胞分泌免疫抑制因子，还可能导致血-视网膜屏障破坏，进一步削弱视网膜的免疫赦免；此外，年龄相关性黄斑变性疾病在发展过程中免疫调节反应加强，可进一步加剧免疫排斥反应。细胞移植注射到视网膜下腔后，会引起视网膜下空间炎性细胞浸润，如视网膜小胶质细胞和抗原提呈细胞浸润，T细胞、B细胞激活并产生免疫反应[58]。

免疫抑制可能有助于提高临床细胞移植的效率。WEST等[59]发现巨噬细胞及T细胞可减少感光细胞的整合及突出形成，而给予淋巴细胞活性抑制剂和环孢素A等免疫抑制可显著增加感光细胞的存活率，在免疫缺陷小鼠中，特别是在白细胞介素2受体敲除的小鼠中发现多能干细胞来源的感光细胞移植成功率明显提高，可成功分化为成熟的感光细胞并改善视功能[60]。

3 感光细胞替代治疗的前景 Prospects of photoreceptor cell replacement therapy

有证据表明，感光细胞替代治疗可以使视网膜的结构和功能得以部分恢复，视网膜片移植或感光细胞移植的表现有些相似，在这两种情况下它们都停留在视网膜下腔中，移植物与宿主均可建立突触联系。胎儿视网膜移植人类患者的结果表明，对光感受器移植不一定需要免疫抑制，视网膜下空间细胞的长期存活可能发生在人类身上。然而感光细胞移植领域的进一步发展将取决于许多因素，包括最佳的种子细胞来源、移植时供体感光细胞的状态、丰富以及纯化的视杆细胞和视锥细胞的产生。

种子细胞的选择对整合效果至关重要，Nrl^+感光祖细胞可整合进入宿主视网膜环路[21, 61-62]，然而Nrl^+感光祖细胞来源相当受限，不利于大规模应用于临床治疗，如果找到合适的表面标记物来建立标准的筛选方案，以得到均质的稳定的干/前体细胞群，可为视网膜干细胞临床应用的标准化和产业化提供一个新途径。依赖胚胎干细胞三维培养技术，从胚胎干细胞来源三维视杯结构中分离的Crx^+或$rhodopsin^+$感光祖细胞可整合入宿主视网膜环路中，但是由于Crx或rhodopsin并非细胞表面标记物，其分离依赖于GFP的标记，未来成像技术的发展将为视网膜移植提供重要的手段。

作者贡献：李珊珊、陈曦负责综述构思设计，陈曦、王艳玲负责文章写作校对，郭笑霄、尤冉参与文献收集、分析总结，杨秀芬、赵露负责项目指导。全体作者都阅读并同意最终的文本。

经费支持：该文章接受了“国家自然科学基金面上项目(81870686)”“北京市自然科学基金项目(7184201)”“首都卫生发展科研专项项目(首发2018-1-2021)”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。

4 参考文献 References

[1] JIN ZB, GAO ML, DENG WL, et al. Stemming retinal regeneration with pluripotent stem cells. Prog Retin Eye Res. 2019;69:38-56.
[2] 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.
[3] ROSKA B, SAHEL JA. Restoring vision. Nature. 2018;557(7705):359-367.
[4] SCHOLL HP, STRAUSS RW, SINGH MS, et al. Emerging therapies for inherited retinal degeneration. Sci Transl Med. 2016;8(368):368rv6.
[5] PASCOLINI D, MARIOTTI SP. Global estimates of visual impairment: 2010. Br J Ophthalmol. 2012;96(5):614-618.
[6] GEHRS KM, ANDERSON DH, JOHNSON LV, et al. Age-related macular degeneration--emerging pathogenetic and therapeutic concepts. Ann Med. 2006;38(7):450-471.
[7] DAMIANI D, NOVELLI E, MAZZONI F, et al. Undersized dendritic arborizations in retinal ganglion cells of the rd1 mutant mouse: a paradigm of early onset photoreceptor degeneration. J Comp Neurol. 2012;520(7):1406-1423.
[8] MAZZONI F, NOVELLI E, STRETTOI E. Retinal ganglion cells survive and maintain normal dendritic morphology in a mouse model of inherited photoreceptor degeneration. J Neurosci. 2008;28(52):14282-14292.
[9] SANTOS A, HUMAYUN MS, DE JUAN E JR, et al. Preservation of the inner retina in retinitis pigmentosa. A morphometric analysis. Arch Ophthalmol. 1997;115(4):511-515.
[10] 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.
[11] BURNIGHT ER, GIACALONE JC, COOKE JA, et al. CRISPR-Cas9 genome engineering: Treating inherited retinal degeneration. Prog Retin Eye Res. 2018;65:28-49.
[12] VAN GELDER RN. Photochemical approaches to vision restoration. Vision Res. 2015;111(Pt B):134-141.
[13] WILKEN MS, REH TA. Retinal regeneration in birds and mice. Curr Opin Genet Dev. 2016;40:57-64.
[14] YAO K, QIU S, WANG YV, et al. Restoration of vision after de novo genesis of rod photoreceptors in mammalian retinas. Nature. 2018;560(7719):484-488.
[15] JORSTAD NL, WILKEN MS, GRIMES WN, et al. Stimulation of functional neuronal regeneration from Müller glia in adult mice. Nature. 2017;548(7665):103-107.
[16] 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.
[17] JIN ZB, TAKAHASHI M. Generation of retinal cells from pluripotent stem cells. Prog Brain Res. 2012;201:171-181.
[18] MA Y, HAN X, DE CASTRO RB, et al. Analysis of the bystander effect in cone photoreceptors via a guided neural network platform. Sci Adv. 2018;4(5):eaas9274.
[19] LI Z, ZENG Y, CHEN X, et al. Neural stem cells transplanted to the subretinal space of rd1 mice delay retinal degeneration by suppressing microglia activation. Cytotherapy. 2016;18(6):771-784.
[20] LUI KO, BOYD AS, COBBOLD SP, et al. A role for regulatory T cells in acceptance of ESC-derived tissues transplanted across an major histocompatibility complex barrier. Stem Cells. 2010;28(10):1905-1914.

[21] PEARSON RA, BARBER AC, RIZZI M, et al. Restoration of vision after transplantation of photoreceptors. Nature. 2012;485(7396):99-103.
[22] 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.
[23] LAMBA DA, REH TA. Microarray characterization of human embryonic stem cell--derived retinal cultures. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011; 52(7):4897-4906.
[24] IKEDA H, OSAKADA F, WATANABE K, et al. Generation of Rx+/Pax6+ neural retinal precursors from embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2005;102(32):11331-11336.
[25] 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.
[26] EIRAKU M, TAKATA N, ISHIBASHI H, et al. Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture. Nature. 2011;472(7341): 51-56.
[27] 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.
[28] GONZALEZ-CORDERO 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.
[29] COLLIN J, ZERTI D, QUEEN R, et al. CRX Expression in Pluripotent Stem Cell-Derived Photoreceptors Marks a Transplantable Subpopulation of Early Cones. Stem Cells. 2019;37(5):609-622.
[30] SINGH R, CUZZANI O, BINETTE F, et al. Pluripotent Stem Cells for Retinal Tissue Engineering: Current Status and Future Prospects. Stem Cell Rev Rep. 2018;14(4):463-483.
[31] ZOU T, GAO L, ZENG Y, et al. Organoid-derived C-Kit+/SSEA4- human retinal progenitor cells promote a protective retinal microenvironment during transplantation in rodents. Nat Commun. 2019;10(1):1205.
[32] WEST EL, GONZALEZ-CORDERO A, HIPPERT C, et al. Defining the integration capacity of embryonic stem cell-derived photoreceptor precursors. Stem Cells. 2012;30(7):1424-1435.
[33] EBERLE D, SCHUBERT S, POSTEL K, et al. Increased integration of transplanted CD73-positive photoreceptor precursors into adult mouse retina. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011;52(9):6462-6471.
[34] LAKOWSKI J, HAN YT, PEARSON RA, et al. Effective transplantation of photoreceptor precursor cells selected via cell surface antigen expression. Stem Cells. 2011;29(9):1391-1404.
[35] LAKOWSKI J, GONZALEZ-CORDERO A, WEST EL, et al. Transplantation of Photoreceptor Precursors Isolated via a Cell Surface Biomarker Panel From Embryonic Stem Cell-Derived Self-Forming Retina. Stem Cells. 2015;33(8):2469-2482.
[36] 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.
[37] POSTEL K, BELLMANN J, SPLITH V, et al. Analysis of cell surface markers specific for transplantable rod photoreceptors. Mol Vis. 2013;19: 2058-2067.
[38] GAGLIARDI G, BEN M'BAREK K, GOUREAU O. Photoreceptor cell replacement in macular degeneration and retinitis pigmentosa: A pluripotent stem cell-based approach. Prog Retin Eye Res. 2019;71: 1-25.
[39] 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.
[40] TU HY, WATANABE T, SHIRAI H, et al. Medium- to long-term survival and functional examination of human iPSC-derived retinas in rat and primate models of retinal degeneration. EBioMedicine. 2019;39: 562-574.
[41] 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.
[42] MCLELLAND BT, LIN B, MATHUR A, et al. Transplanted hESC-Derived Retina Organoid Sheets Differentiate, Integrate, and Improve Visual Function in Retinal Degenerate Rats. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2018; 59(6):2586-2603.
[43] 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. 2016;113(1):E81-90.
[44] BARBER AC, HIPPERT C, DURAN Y, et al. Repair of the degenerate retina by photoreceptor transplantation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013; 110(1):354-359.
[45] LI T, LEWALLEN M, CHEN S, et al. Multipotent stem cells isolated from the adult mouse retina are capable of producing functional photoreceptor cells. Cell Res. 2013;23(6):788-802.
[46] 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 U S A. 2013;110(3):1101-1106.
[47] WARRE-CORNISH K, BARBER AC, SOWDEN JC, et al. Migration, integration and maturation of photoreceptor precursors following transplantation in the mouse retina. Stem Cells Dev. 2014;23(9): 941-954.
[48] KINOUCHI R, TAKEDA M, YANG L, et al. Robust neural integration from retinal transplants in mice deficient in GFAP and vimentin. Nat Neurosci. 2003;6(8):863-868.
[49] PEARSON RA, BARBER AC, WEST EL, et al. Targeted disruption of outer limiting membrane junctional proteins (Crb1 and ZO-1) increases integration of transplanted photoreceptor precursors into the adult wild-type and degenerating retina. Cell Transplant. 2010;19(4): 487-503.
[50] WEST EL, PEARSON RA, TSCHERNUTTER M, et al. Pharmacological disruption of the outer limiting membrane leads to increased retinal integration of transplanted photoreceptor precursors. Exp Eye Res. 2008;86(4):601-611.
[51] KARL MO, REH TA. Regenerative medicine for retinal diseases: activating endogenous repair mechanisms. Trends Mol Med. 2010;16(4):193-202.
[52] KARL MO. The potential of stem cell research for the treatment of neuronal damage in glaucoma. Cell Tissue Res. 2013;353(2):311-325.
[53] VERARDO MR, LEWIS GP, TAKEDA M, et al. Abnormal reactivity of muller cells after retinal detachment in mice deficient in GFAP and vimentin. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008;49(8):3659-3665.
[54] CHEN LF, FITZGIBBON T, HE JR, et al. Localization and developmental expression patterns of CSPG-cs56 (aggrecan) in normal and dystrophic retinas in two rat strains. Exp Neurol. 2012;234(2):488-498.
[55] ROESCH K, STADLER MB, CEPKO CL. Gene expression changes within Müller glial cells in retinitis pigmentosa. Mol Vis. 2012;18:1197-1214.
[56] YAO J, TUCKER BA, ZHANG X, et al. Robust cell integration from co-transplantation of biodegradable MMP2-PLGA microspheres with retinal progenitor cells. Biomaterials. 2011;32(4):1041-1050.
[57] LEE ES, YU SH, JANG YJ, et al. Transplantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into the developing mouse eye. Acta Histochem Cytochem. 2011;44(5):213-221.
[58] SUGITA S, MAKABE K, FUJII S, et al. Detection of Retinal Pigment Epithelium-Specific Antibody in iPSC-Derived Retinal Pigment Epithelium Transplantation Models. Stem Cell Reports. 2017;9(5): 1501-1515.
[59] 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.
[60] ZHU J, CIFUENTES H, REYNOLDS J, et al. Immunosuppression via Loss of IL2rγ Enhances Long-Term Functional Integration of hESC-Derived Photoreceptors in the Mouse Retina. Cell Stem Cell. 2017;20(3): 374-384.e5.
[61] MACLAREN RE, PEARSON RA, MACNEIL A, et al. Retinal repair by transplantation of photoreceptor precursors. Nature. 2006;444(7116): 203-207.
[62] BARTSCH U, ORIYAKHEL W, KENNA PF, et al. Retinal cells integrate into the outer nuclear layer and differentiate into mature photoreceptors after subretinal transplantation into adult mice. Exp Eye Res. 2008; 86(4):691-700.