

# 干细胞移植在视网膜神经节细胞损伤修复中的应用

戎欣<sup>1</sup>, 侯慧媛<sup>2</sup>, 郭庚<sup>3</sup>, 张晖<sup>1</sup>

基金项目: 山西省高等学校创新人才支持计划资助项目

作者单位:<sup>1</sup>(030001) 中国山西省太原市, 山西医科大学第一临床医学院;<sup>2</sup>(710032) 中国陕西省西安市, 第四军医大学西京医院眼科;<sup>3</sup>(030001) 中国山西省太原市, 山西医科大学第一医院神经外科

作者简介: 戎欣, 山西医科大学第一临床医学院在读本科生, 已推免北京大学第一医院眼科硕士研究生, 研究方向: 视神经、视网膜的再生、修复和神经保护。

通讯作者: 郭庚, 第四军医大学神经外科学(国家级重点学科)博士, 山西医科大学第一医院神经外科副主任医师, 硕士生导师, 山西省高等学校优秀青年学术带头人, 研究方向: 干细胞移植与神经修复. Guogeng973@163.com

收稿日期: 2014-04-15 修回日期: 2014-06-13

## Application of stem cell transplantation in repair of the retinal ganglion cells injury

Xin Rong<sup>1</sup>, Hui-Yuan Hou<sup>2</sup>, Geng Guo<sup>3</sup>, Hui Zhang<sup>1</sup>

**Foundation item:** Support Program of Shanxi Higher Education for Innovation Talents

<sup>1</sup>The First Clinical Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Xijing Hospital of the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China; <sup>3</sup>Department of Neurosurgery, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

**Correspondence to:** Geng Guo. Department of Neurosurgery, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. Guogeng973@163.com

Received: 2014-04-15 Accepted: 2014-06-13

## Abstract

• The progressive injury of retinal ganglion cells (RGCs) is a common occurrence in several eye diseases, which ultimately may lead to irreversible blindness. Currently, there are still no effective or ideal treatments for it in practice, however some recent studies show that stem cell transplantation may provide a promising new idea for neuroprotection and replacement of retinal ganglion cells. This paper will review the research progress of stem cell transplantation-based treatment.

• **KEYWORDS:** stem cell transplantation; retinal ganglion cell

**Citation:** Rong X, Hou HY, Guo G, et al. Application of stem cell transplantation in repair of the retinal ganglion cells injury. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2014;14(7):1223-1226

## 摘要

进行性视网膜神经节细胞损伤在一些致盲性眼病中屡见

不鲜。目前临床上缺乏有效的损伤修复方法,然而最近研究显示干细胞移植为受损视网膜神经节细胞的保护和替代治疗提供了新思路。本文将就干细胞移植为基础的研究进展进行综述。

**关键词:** 干细胞移植; 视网膜神经节细胞

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.07.12

**引用:** 戎欣, 侯慧媛, 郭庚, 等. 干细胞移植在视网膜神经节细胞损伤修复中的应用. *国际眼科杂志* 2014;14(7):1223-1226

## 0 引言

许多眼病都会导致视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGCs) 受损, 如青光眼、糖尿病性视网膜病变、缺血再灌注、外伤或肿瘤相关的视神经病变等<sup>[1]</sup>。与其他中枢神经元一样, 受损的 RGCs 会迅速坏死, 邻近细胞因缺血、兴奋性神经递质释放、炎症等原因凋亡, 同时这些因素也会加快 RGCs 凋亡和阻止其轴突再生。RGCs 是视网膜内唯一连接脑并将视网膜信息传递到脑的神经元, 不能去分化替代已丢失的细胞, 故进行性 RGCs 死亡是致盲的一个重要原因。迄今为止, 针对以上疾病临床仍缺乏行之有效的治疗方法, 而干细胞 (stem cells, SCs) 移植技术可能会成为治疗这些疾病的新途径。目前研究主要集中在以下两方面: 干细胞移植对 RGCs 的保护和干细胞移植对 RGCs 的替代治疗, 前者有望延缓视力的进一步恶化而后者的理想目标是恢复功能性视力。

## 1 干细胞移植对 RGCs 的保护

**1.1 神经干细胞/祖细胞** 就成年动物而言, 神经干细胞 (neural stem cell, NSC)、神经祖细胞 (neural progenitor cells, NPCs) 主要集中在侧脑室 (室下区) 和海马齿状回 (颗粒下层) 两个区域, 少数分布于虹膜、睫状体、睫状边缘带、视网膜, 此外成年间充质干细胞也可分化为 NPCs。NSC 或 NPCs 可来源于成年细胞或组织, 提示了自体干细胞移植<sup>[2]</sup> 的可能性, 这极大程度上解决了干细胞移植的供体来源短缺及免疫排斥等问题, 降低了供体与宿主间传播疾病的风险。

目前普遍认为, NSC, NPCs 通过生产一些特化的营养因子、免疫调节作用保护受损的 RGCs<sup>[3]</sup>。为了进一步增强此类细胞移植的时效性和多靶向性, 生物学家利用营养因子预处理或基因转染技术操纵 NSC 或 NPCs<sup>[4]</sup>。如 Böhm 等<sup>[4]</sup> 在视神经夹伤动物模型的玻璃体腔内, 注射体外合成的过表达晶状体蛋白的 NPCs, 发现可减弱视神经夹断所致的 RGCs 死亡。尚需证实的是, 究竟是晶状体蛋白自身的 RGCs 保护功能<sup>[5]</sup> 还是 NPCs 释放的神经营养因子 (neurotrophic factors, NTFs) 通过抑制视网膜胶质反应和免疫反应所起到的保护作用。再如, 含有“可诱导自杀基因”的工程细胞可在植入细胞不可控的情况下随时终止其继续发挥功能。

视网膜干细胞/祖细胞 (retinal stem cell/retinal progenitor cells, RSC/RPC) 是一种特殊类型的 NSCs/

NPCs。Stanke等<sup>[6]</sup>研究表明来源于鸡胚7,10,11d的RPC通过生产和分泌营养因子对受累RGCs起到明显的保护作用,而早于或晚于以上发育阶段的细胞不具备此功能,这可能说明了移植细胞发育阶段的重要性。视网膜Müller细胞是唯一一种产生于RSC/RPC的胶质细胞,近来大量的研究指出Müller细胞是成年视网膜中潜在的RSC,多种刺激物均可导致Müller细胞去分化<sup>[7]</sup>表现出干细胞特性。Singhal等<sup>[8]</sup>发现在RGCs丢失的兔眼模型中,视网膜内表面移植Müller细胞诱导分化的RGCs祖细胞,能释放NTFs促进RGCs的功能恢复。

**1.2 间充质干细胞** 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)可从许多组织(如胚胎组织、胎盘、人类骨髓、人类脐带血、脂肪组织)中分离获得。除了能自我更新、调节和支持造血干细胞微环境, MSCs还具有允许自体移植、保护中枢神经系统神经元免受多种损害的特性。一些研究表明NTFs剥夺<sup>[9]</sup>是RGCs的重要死因之一,眼内注射MSCs后可产生多种NTFs,为此多数研究者将MSCs对RGCs的保护归因于营养支持<sup>[10]</sup>。然而亦有研究者认为MSCs营养支持介导的保护作用很有限,激活中枢神经系统内源性保护和修复过程<sup>[11]</sup>、调节免疫反应<sup>[12]</sup>或分泌抗氧化剂拮抗氧化应激<sup>[13]</sup>或许才是主要的机制。如Voulgari-Kokota等<sup>[11]</sup>认为MSCs通过抑制谷氨酸盐在宿主的表达及功能,抵抗兴奋性毒性从而发挥神经元保护作用。

骨髓间充质干细胞(bone marrow derived stem cells, BMSCs)一直是MSCs中的研究热点,得益于它易获得、易分离、易扩增,如BMSCs可被普乐沙福(Plerixafor)动员进入血流从而被方便获取<sup>[14]</sup>。Bull等<sup>[15]</sup>将BMSC与视神经钳夹的视网膜外植体共培养,可明显提高RGCs的存活率。实验表明在青光眼<sup>[10]</sup>、视网膜退变<sup>[16]</sup>、缺血再灌注损伤等动物模型中也能观察到BMSCs对RGCs或其轴突的保护作用。

近来人脐带血间充质干细胞(human umbilical cord blood mesenchymal stem cells, hUCB-MSCs)引起了研究者的关注,因为hUCB-MSCs免疫原性低、使用不受伦理限制,而且其生物特性不受病毒感染的干扰。与BMSCs类似,多数学者认为hUCB-MSCs通过释放神经营养因子、产生大量细胞因子或趋化因子从而为RGCs存活提供良好的微环境<sup>[17]</sup>。但是,可能由于hUCB-MSCs移植后的生存能力或激活内源性NPCs的能力有限<sup>[18]</sup>, hUCB-MSCs在急性视神经损伤实验模型中的抗RGCs凋亡、保护RGCs作用很短暂, RGCs最终难逃不可逆性损害地摧毁<sup>[19]</sup>。相对的,在慢性视神经退变动物模型中hUCB-MSCs可发挥较长时间的保护作用,这或许因为此类眼病所提供的微环境利于hUCB-MSCs生存和分化。最近Jiang等<sup>[20]</sup>证实RGCs胞内内质网高张力,具体表现为GRP78低表达、CHOP高表达,可引起胞体死亡。而hUCB-MSCs通过反向调节以上两种基因的表达来减缓RGCs死亡,这是否说明hUCB-MSCs可降低内质网张力完成对RGCs的保护有待进一步验证。

同NSC类似,我们可人为修饰MSCs性能,旨在以细胞为媒介导入目的基因挽救或替代病态的RGCs,分泌神经营养因子的间充质干细胞(neurotrophic factors secreting mesenchymal stem cells, NTF-SCs)便是其中一例。需注意的是,由病毒转染得到的NTF-SCs可能在临床应用中存在安全隐患,为此近年来多采用将MSCs培养在特定

的因子混合物中或调控MSCs基因组<sup>[21]</sup>的方法来获得目的NTF-SCs。为了评价NTF-SCs是否有更强的RGCs保护功能,Harper等<sup>[22]</sup>将NTF-SCs注入持续性高眼压的兔眼中,实验结果表明修饰后的MSCs对RGCs保护作用明显提高;另有研究者在视神经钳夹动物模型的玻璃体内注入NTF-SCs,结果提示NTF-SCs确实可以提高MSCs生产和分泌NTF的水平,但与未经加工的MSCs相比,NTF-SCs并未增进RGCs的存活<sup>[21]</sup>。导致以上两项实验结论不一致的原因可能是:前一项实验没有设立阴性对照组;且其仅借助视网膜电图和瞳孔测量法来评估对RGCs的保护功能,显然有失精确。

**1.3 诱导多能干细胞** 诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)是体细胞经基因工程技术逆转而成的具胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)特性的多潜能干细胞<sup>[23]</sup>。iPSC的出现回避了诸多的伦理难题,在一定程度上开阔了干细胞/祖细胞的来源,同时为研制出每位患者、每类疾病特异的低免疫原性干细胞奠定了基础<sup>[24]</sup>。研究者希望在体外适宜的培养条件下,将成年体细胞逆转为iPSC,再经多次分化得到iPSC来源的NPC(iPSC-NPs),最终将其注入动物模型,通过免疫调节和营养支持保护RGCs的细胞体及轴突<sup>[25]</sup>。

**1.4 其他类型的干细胞** 胶质细胞的主要生理功能是支持神经元,科研工作者试图利用此功能来维持损伤的RGCs。这里主要介绍嗅鞘细胞(olfactory ensheathing cell, OEC)和少突胶质前体细胞(oligodendrocyte precursor cell, OPC)。OEC可分离自嗅球或鼻黏膜,大量研究从离体实验到在体实验、从玻璃体内注射到直接注射至受损视神经处,均显示OEC可提高RGCs或其轴突的存活率<sup>[26,27]</sup>。究其保护机制可能是OEC间的缝隙连接对受损RGCs所提供的物理支撑,或OEC通过分泌NTFs提供的营养支持。值得一提的是OEC经静脉注射后,可聚集至视神经头部、RGCs无髓鞘轴突处<sup>[28]</sup>,但目前尚无证据表明此法可减缓RGCs凋亡的速度。理论上,静脉注射干细胞可以避免直接注射引起的视神经创伤,同时其疗效可遍及整个视网膜,但目前因为缺乏靶向以及全身治疗的不确定性,静脉注射干细胞较少应用于实验研究。OPC属于NPCs,多项研究发现在炎症刺激的前提下给高眼压动物模型注射OPC,在视网膜神经纤维层内部分OPC分化为少突细胞和髓鞘细胞,通过OPC与炎症细胞的相互作用,髓鞘细胞对RGCs轴突的结构支持和减弱复极化的代谢需求,发挥对RGCs及其轴突的保护作用<sup>[29]</sup>。除此以外,造血干细胞(hematopoietic stem cells)凭借分泌因子调控血管的发育及其结构的稳定性,可以缓解部分视网膜退变相关疾病严重的现状。牙髓干细胞(dental pulp stem cells, DPSC)进入玻璃体后通过释放NTFs促进RGCs的存活,尽管它可以分泌较BMSCs更高水平的营养因子,但是对RGCs的保护效能却不然<sup>[30]</sup>。

## 2 干细胞移植对RGCs的替代治疗

许多处于疾病(如青光眼、糖尿病性视网膜病变、视神经横断伤)晚期的患者,其眼内绝大多数RGCs被累及,对此唯有RGCs的替代治疗才有望修复视功能。完整的替代治疗需要:植入的干细胞迁移并整合入视网膜神经节细胞层、分化成“RGC样细胞”、与视觉传入神经元及传出神经元建立正确的突触联系、新生轴突导向性生长至视觉中枢。至今,RGCs的替代治疗仍处于动物实验的研究阶段,然而在探索进程中取得以下相关方面的进展。

**2.1 干细胞分化为 RGCs 样细胞** 干细胞或祖细胞的分化受多重因素影响,如取材时干细胞的年龄、植入宿主时移植细胞的发育时相、培养基或宿主视网膜的微环境以及进入宿主所借助的载体特性。在理论上胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)是全能的,但分化是一个不易标准化的漫长过程且 ESC 更倾向于向某一特定细胞系分化,故了解 ESC 向 RGCs 细胞系分化的微环境及调控机制尤为重要。Aoki 等<sup>[31]</sup>将 ESC 分化得到的眼球样结构萃取物注射至玻璃体,可检测到新的表达有 RGCs 标记物的细胞。此后 Eiraku 等<sup>[32]</sup>在体外对 ESC 聚集体进行立体培养得到了具有分层视网膜结构的视杯,可以推想,与此类似的一个系统可被用于扩增、分化单个 ESC 成为成千上万个 RGCs。然而,伦理问题、基因组和染色体的不稳定性、潜在致瘤性、异体移植的免疫排斥均限制了 ESC 的深入研究。MSCs 是一类多能基质细胞,在体内外均可分化为神经元样细胞。BMSCs 的增殖与分化潜能会随宿主年龄的增大而降低,而 hUCB-MSCs 是一种较为“年轻”的 MSCs,因此具有较强的增殖和分化潜能。较其他干细胞而言,RSCs, RPC 一直处于视网膜的生长、发育环境中,所以具有更大的向视网膜神经元分化的潜能<sup>[8,33]</sup>。Chen 等<sup>[34]</sup>发现取自于永存胎儿血管患者的 RPC,若在体外更倾向于分化为内层视网膜神经元,若植入眼内部分 RPC 可表达成熟 RGCs 的标志物。近期 Parameswaran 等<sup>[35]</sup>和 Chen 等<sup>[36]</sup>分别在体内外将 iPSC 成功诱导为 RGCs。

就 RGCs 替代治疗而言,我们希望诱导干细胞或祖细胞更多的分化为 RGCs 细胞系,较少甚至不分为胶质细胞,但实验结果恰好相反,因此如何提高向 RGCs 细胞系转化的比率,仍是亟待突破的关键问题。另外,目前仍不明确究竟以何种移植方式效果更优:(1)作为未分化细胞移植,移植后细胞在局部微环境的调控下发生分化,参与 RGCs 损伤的修复;(2)在体外大量扩充增殖后,定向诱导分化为某种特定的细胞类型,然后移植到宿主体内。可能因为高度未分化干细胞自身缺乏必要基因的表达或宿主视网膜抑制其向 RGCs 分化,尚无应用方法一替代 RGCs 的成功案例。相比之下,方法二可能会得到较多的 RGCs,并且致瘤性与移植前细胞的多能性成正比<sup>[37]</sup>。然而已分化细胞迁移并整合入宿主视网膜的比例却较少。

**2.2 植入细胞移行及整合至宿主视网膜** 一旦获得满意的移植细胞,下一步面临的挑战便是移植细胞最大程度地移行并整合入宿主视网膜。研究发现与移行和整合相关的因素有:移植细胞的发育阶段、宿主视网膜的微环境、视网膜的内外界膜、与 RGCs 死亡相伴随的炎症积聚<sup>[38]</sup>和硫酸软骨素蛋白多糖沉积<sup>[39]</sup>、细胞移植引起的胶质增生<sup>[38]</sup>。我们有望通过选取最佳的供体细胞,给予抗炎或免疫抑制治疗改善宿主视网膜微环境、解除物理屏障,从而促进移植细胞的移行和整合<sup>[40]</sup>。近年来,组织工程学的进步使体外组织培养干细胞成为可能,即将细胞种在组织材料上,以组织的形式进行移植使其更具功能性<sup>[41]</sup>。

目前已有 ESC<sup>[42]</sup>、MSCs<sup>[10]</sup>、NPCs<sup>[43]</sup>、Müller 干细胞<sup>[44]</sup>、iPSC<sup>[25]</sup> 移行并整合入 RGCs 受累的视网膜的相关报道。譬如最近 Satarian 等<sup>[25]</sup>将 iPSC-NPs 移植入视神经损伤的兔眼模型中,结果显示 iPSC-NPs 可透过内界膜进入视网膜神经节细胞层,同时表达神经元样细胞标志

物,研究者推测植入细胞可能通过“分化为 RGCs”来改善视神经功能。

### 2.3 内源性 RGCs 轴突再生或植入细胞发出功能性轴突

现在普遍认同的观点是:即使修复很少量的受损视神经轴突,对患者视力功能的恢复也意义重大,然而成年哺乳动物视网膜内环境阻止了 RGCs 轴突再生。研究表明将 hUCB-MSCs 送至视神经损伤处<sup>[45]</sup>或将 DPSC 注入视神经钳夹模型的玻璃体内<sup>[30]</sup>,均利于受损 RGCs 轴突发芽,但再生作用很有限。尽管 RPCs 通过玻璃体腔内注射移植到 RGCs 基因缺失动物模型后可发出较长的轴突样结构<sup>[46]</sup>;NPCs 植入视神经钳夹模型玻璃体内可聚集于宿主视网膜神经节细胞层,甚至发出伸入视神经远端的轴突<sup>[4]</sup>,然而这些新生的神经突均不具备传递电信号的功能。临床观察发现,RGCs 丢失先于视力下降,为此部分数量的 RGCs 功能性突触重建就会极大改善视功能,但至今有关通过 RGCs 替代治疗改善视功能的报道仍非常有限。

### 3 问题和展望

围绕干细胞移植对受损 RGCs 的保护与替代治疗,我们需要关注以下环节:选取合适的干/祖细胞来源,有效控制干细胞向特定类型细胞转化,用安全稳定的技术修饰移植细胞,纯化与扩增移植细胞,选择合适治疗窗及转导技术将移植细胞导入宿主,提高移植细胞在宿主体内成活、迁移、整合的能力,研究移植细胞不可控时的“自毁”技术,评估干细胞移植的治疗效果(特别是长期疗效、视功能的修复情况)和副作用,评价移植前修饰供体细胞的意义。就目前看来,干细胞移植保护 RGCs 较替代治疗更具临床可操作性,因为前者仅需移植细胞在无明显副作用的前提下生存于宿主,同时为 RGCs 提供持续支持作用。在此我们必须认识到,即使干细胞替代治疗的应用前景十分广阔,为残存的及新生的 RGCs 提供良好的生活环境以防其再次死亡才最为重要,因此各种治疗方案的综合应用可能会成为未来的发展方向。总之,干细胞移植步入临床应用前尚有大量研究待完善,随着对细胞生物学和分子生物学的深入认识,干细胞移植必将成为治疗 RGCs 死亡相关疾病的一把利器。

#### 参考文献

- Hellstrom M, Harvey A. Retinal ganglion cell gene therapy and visual system repair. *Curr Gene Ther* 2011;11(2):116-131
- Zhou X, Xia XB, Xiong SQ. Neuro-protection of retinal stem cells transplantation combined with copolymer-1 immunization in a rat model of glaucoma. *Mol Cell Neurosci* 2013;54:1-8
- Lepski G, Maciaczyk J, Jannes CE, et al. Delayed functional maturation of human neuronal progenitor cells *in vitro*. *Mol Cell Neurosci* 2011;47(1):36-44
- Böhm MR, Pfrommer S, Chiwitt C, et al. Crystallin- $\beta$ -b2-overexpressing NPCs support the survival of injured retinal ganglion cells and photoreceptors in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(13):8265-8279
- Fischer D, Hauk TG, Müller A, et al. Crystallins of the beta/gamma-superfamily mimic the effects of lens injury and promote axon regeneration. *Mol Cell Neurosci* 2008;37(3):471-479
- Stanke JJ, Fischer AJ. Embryonic retinal cells and support to mature retinal neurons. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(4):2208-2218
- Lawrence JM, Singhal S, Bhatia B, et al. MIO-M1 cells and similar Müller glial cell lines derived from adult human retina exhibit neural stem cell characteristics. *Stem Cells* 2007;25(8):2033-2043
- Singhal S, Bhatia B, Jayaram H, et al. Human Müller glia with stem

cell characteristics differentiate into retinal ganglion cell (RGC) precursors in vitro and partially restore RGC function in vivo following transplantation. *Stem Cells Transl Med* 2012;1(3):188-199

9 Johnson TV, Bull ND, Martin KR. Neurotrophic factor delivery as a protective treatment for glaucoma. *Exp Eye Res* 2011;93(2):196-203

10 Johnson TV, Bull ND, Hunt DP, et al. Neuroprotective effects of intravitreal mesenchymal stem cell transplantation in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(4):2051-2059

11 Voulgari-Kokota A, Fairless R, Karamita M, et al. Mesenchymal stem cells protect CNS neurons against glutamate excitotoxicity by inhibiting glutamate receptor expression and function. *Exp Neurol* 2012;236(1):161-170

12 Franquesa M, Hoogduijn MJ, Bestard O, et al. Immunomodulatory effect of mesenchymal stem cells on B cells. *Front Immunol* 2012;3:212

13 Kemp K, Hares K, Mallam E, et al. Mesenchymal stem cell-secreted superoxide dismutase promotes cerebellar neuronal survival. *J Neurochem* 2010;114(6):1569-1580

14 Rosenbeck LL, Srivastava S, Kiel PJ. Peripheral blood stem cell mobilization tactics. *Ann Pharmacother* 2010;44(1):107-116

15 Bull ND, Johnson TV, Welsapar G, et al. Use of an adult rat retinal explant model for screening of potential retinal ganglion cell neuroprotective therapies. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(6):3309-3320

16 Inoue Y, Iriyama A, Ueno S, et al. Subretinal transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells delays retinal degeneration in the RCS rat model of retinal degeneration. *Exp Eye Res* 2007;85(2):234-241

17 Dalous J, Larghero J, Baud O, et al. Transplantation of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells as a novel strategy to protect the central nervous system: technical aspects, preclinical studies, and clinical perspectives. *Pediatr Res* 2012;71(4 Pt 2):482-490

18 Zhao T, Li Y, Tang L, et al. Protective effects of human umbilical cord blood stem cell intravitreal transplantation against optic nerve injury in rats. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2011;249(7):1021-1028

19 Chen M, Xiang Z, Cai J. The anti-apoptotic and neuro-protective effects of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells (hUCB-MSCs) on acute optic nerve injury is transient. *Brain Res* 2013;1532:63-75

20 Jiang B, Zhang P, Zhou D, et al. Intravitreal Transplantation of Human Umbilical Cord Blood Stem Cells Protects Rats from Traumatic Optic Neuropathy. *PLoS One* 2013;8(8):e69938

21 Levkovitch-Verbin H, Sadan O, Vander S, et al. Intravitreal injections of neurotrophic factors secreting mesenchymal stem cells are neuroprotective in rat eyes following optic nerve transection. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(12):6394-6400

22 Harper MM, Grozdanic SD, Blits B, et al. Transplantation of bdnf-secreting mesenchymal stem cells provides neuroprotection in chronically hypertensive rat eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(7):4506-4515

23 Robinton DA, Daley GQ. The promise of induced pluripotent stem cells in research and therapy. *Nature* 2012;481(7381):295-305

24 Park IH, Arora N, Huo H, et al. Disease-specific induced pluripotent stem cells. *Cell* 2008;134(5):877-886

25 Satarian L, Javan M, Kiani S, et al. Engrafted human induced pluripotent stem cell-derived anterior specified neural progenitors protect the rat crushed optic nerve. *PLoS One* 2013;8(8):e71855

26 Wang T, Cong R, Yang H, et al. Neutralization of BDNF attenuates the in vitro protective effects of olfactory ensheathing cell-conditioned medium on scratch-insulted retinal ganglion cells. *Cell Mol Neurobiol* 2011;31(3):357-364

27 Liu Y, Gong Z, Liu L, et al. Combined effect of olfactory ensheathing cell (OEC) transplantation and glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) intravitreal injection on optic nerve injury in rats. *Mol Vis* 2010;16:2903-2910

28 Li Y, Li D, Khaw PT, et al. Transplanted olfactory ensheathing cells incorporated into the optic nerve head ensheath retinal ganglion cell

axons: possible relevance to glaucoma. *Neurosci Lett* 2008;440(3):251-254

29 Bull ND, Irvine KA, Franklin RJ, et al. Transplanted oligodendrocyte precursor cells reduce neurodegeneration in a model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(9):4244-4253

30 Mead B, Logan A, Berry M, et al. Intravitreally transplanted dental pulp stem cells promote neuroprotection and axon regeneration of retinal ganglion cells after optic nerve injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(12):7544-7556

31 Aoki H, Hara A, Niwa M, et al. Transplantation of cells from eye-like structures differentiated from embryonic stem cells in vitro and in vivo regeneration of retinal ganglion-like cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008;246(2):255-265

32 Eiraku M, Takata N, Ishibashi H, et al. Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture. *Nature* 2011;472(7341):51-56

33 Hu Y, Ji J, Xia J, et al. An in vitro comparison study: The effects of fetal bovine serum concentration on retinal progenitor cell multipotentiality. *Neurosci Lett* 2013;34:90-95

34 Chen G, Ma J, Shatos MA, et al. Application of human persistent fetal vasculature neural progenitors for transplantation in the inner retina. *Cell Transplant* 2012;21(12):2621-2634

35 Parameswaran S, Balasubramanian S, Babai N, et al. Induced pluripotent stem cells generate both retinal ganglion cells and photoreceptors: therapeutic implications in degenerative changes in glaucoma and age-related macular degeneration. *Stem Cells* 2010;28(4):695-703

36 Chen M, Chen Q, Sun X, et al. Generation of retinal ganglion-like cells from reprogrammed mouse fibroblasts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(11):5970-5978

37 Chaudhry GR, Fecek C, Lai MM, et al. Fate of embryonic stem cell derivatives implanted into the vitreous of a slow retinal degenerative mouse model. *Stem Cells Dev* 2009;18(2):247-258

38 Johnson TV, Bull ND, Martin KR. Identification of barriers to retinal engraftment of transplanted stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(2):960-970

39 Singhal S, Lawrence JM, Bhatia B, et al. Chondroitin sulfate proteoglycans and microglia prevent migration and integration of grafted Müller stem cells into degenerating retina. *Stem Cells* 2008;26(4):1074-1082

40 Singhal S, Lawrence JM, Salt TE, et al. Triamcinolone attenuates macrophage/microglia accumulation associated with NMDA-induced RGC death and facilitates survival of Müller stem cell grafts. *Exp Eye Res* 2010;90(2):308-315

41 Kador KE, Goldberg JL. Scaffolds and stem cells; delivery of cell transplants for retinal degenerations. *Expert Rev Ophthalmol* 2012;7(5):459-470

42 Jagatha B, Divya MS, Sanalkumar R, et al. In vitro differentiation of retinal ganglion-like cells from embryonic stem cell derived neural progenitors. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;380(2):230-235

43 Mellough CB, Cui Q, Harvey AR. Treatment of adult neural progenitor cells prior to transplantation affects graft survival and integration in a neonatal and adult rat model of selective retinal ganglion cell depletion. *Restor Neurol Neurosci* 2007;25(2):177-190

44 Bull ND, Limb GA, Martin KR. Human Müller stem cell (MIO-M1) transplantation in a rat model of glaucoma: Survival, differentiation, and integration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(8):3449-3456

45 Zwart I, Hill AJ, Al-Allaf F, et al. Umbilical cord blood mesenchymal stromal cells are neuroprotective and promote regeneration in a rat optic tract model. *Exp Neurol* 2009;216(2):439-448

46 Cho JH, Mao CA, Klein WH. Adult mice transplanted with embryonic retinal progenitor cells: new approach for repairing damaged optic nerves. *Mol Vis* 2012;18:2658-2672