

# 年龄相关性黄斑变性替代治疗中移植排斥的综述

茅希颖,袁松涛,刘庆淮

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973计划)(No. 2013CB967500, 2011CB65102)

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:茅希颖,南京医科大学第一临床医学院眼科在读硕士研究生。

通讯作者:刘庆淮,毕业于南京医科大学,博士,主任医师,教授,研究方向:眼底病. [liuqh0545@126.com](mailto:liuqh0545@126.com)

收稿日期:2015-10-29 修回日期:2016-01-11

## Review of graft rejection in age-related macular degeneration replacement therapy

Xi-Ying Mao, Song-Tao Yuan, Qing-Huai Liu

Foundation items: National Basic Research Program of China (973 Program) (No. 2013CB967500, 2011CB65102)

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. [liuqh0545@126.com](mailto:liuqh0545@126.com)

Received: 2015-10-29 Accepted: 2016-01-11

### Abstract

• Age-related macular degeneration (AMD) is the leading cause of blindness among the elderly worldwide. AMD is classified as either neovascular (wet) or non-neovascular (dry). The dysfunction and loss of retinal pigment epithelial (RPE) cells is regarded as the main pathological changes of AMD. The recent development of regenerative medicine has witnessed RPE cell-replacement therapy as a new approach to treat AMD, resulting in obvious visual improvement in various studies. However, there are still many problems and challenges that remain unsolved, including graft rejection. This review introduces subretinal immune environment under both normal and AMD condition, putting emphasis on immune response to allogeneic RPE. Lastly, strategies to prevent graft rejection are discussed.

• KEYWORDS: age-related macular degeneration; retinal pigment epithelium; graft rejection

Citation: Mao XY, Yuan ST, Liu QH. Review of graft rejection in

age-related macular degeneration replacement therapy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2016;16(2):253-257

### 摘要

年龄相关性黄斑变性(AMD)是世界老年人群致盲的主要原因,分为非新生血管性(干性)及新生血管性(湿性)AMD两类。疾病的主要病理改变为视网膜色素上皮(RPE)细胞的功能障碍及丢失。随着近年来再生医学的发展,RPE细胞替代疗法成为了AMD疾病治疗的新思路,多项临床研究中取得了显著的疗效。但是,疗效的背后仍隐藏着许多至今未能解决的问题与挑战,其中之一是与移植相关的免疫排斥。本文介绍了生理情况下以及AMD发病过程中的视网膜下腔免疫环境,重点探讨了机体对同种异体RPE的免疫应答,以及应对该免疫排斥的多种策略。**关键词:**年龄相关性黄斑变性;视网膜色素上皮;移植排斥 DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2016.2.14

引用:茅希颖,袁松涛,刘庆淮.年龄相关性黄斑变性替代治疗中移植排斥的综述.国际眼科杂志2016;16(2):253-257

### 0 引言

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是50岁以上人群最常见的致盲眼病<sup>[1]</sup>。随着血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的发现和深入研究,抗VEGF药物广泛应用于临床治疗湿性AMD,并取得良好的效果。对于干性AMD,尤其是晚期干性AMD所导致的地图状缺损,临床上至今没有任何有效的应对措施。

近20a间多项疗效喜人的视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelial, RPE)替代治疗的临床研究有望为干性AMD的治疗填补空缺。干细胞(包括胚胎干细胞、多能干细胞等)诱导分化的RPE和成熟RPE(包括胎儿、自体等)替换了病程中坏死、缺失的RPE细胞,挽救了视力的进一步丧失。其中,研究较多的替代细胞主要有人类胚胎干细胞分化的RPE(human embryonic stem cell derived RPE, hESC-RPE)和胎儿RPE(fetal RPE, fRPE)两类。hESC-RPE来源于胚囊期的内细胞团,胚胎干细胞具有分化为三个胚层中任意一种细胞类型的能力,Kawasaki等首次从胚胎干细胞中分化得到类似于RPE的细胞,这些多边形、排列紧密的色素细胞表达RPE的特异性标记物(如:ZO-1, RPE65),顶部有微绒毛,并且具有吞噬功能<sup>[2]</sup>。多项研究证实,将其移植至AMD疾病模型小鼠(RCS小鼠)的视网膜下腔,可提高光感受器细胞的存活率<sup>[3]</sup>。

fRPE 主要是从 16~22wk 流产胎儿的视杯中取出的,经过胰蛋白酶处理后种植在含有 fRPE 培养基的孔内(第 0 代, P0)。在繁殖过程中,当临近的细胞相互接触后, fRPE 启动“再分化”程序,即表达 RPE 特异性蛋白和紧密连接。经过多次传代后,选取 P2 或 P3 的细胞进行移植<sup>[4]</sup>。另外, fRPE 也可从胎儿视杯中取下直接用于移植<sup>[5]</sup>。移植后的 fRPE 在多种模型中被证实有着与 RPE 非常相似的细胞学和功能学特征<sup>[6]</sup>。

但是,由于以上两类替代细胞均为异体移植,因此免疫排斥反应在所难免,因此如何减轻或避免排斥反应是本综述关注的重点。本文首先介绍生理情况下的视网膜下腔免疫环境, AMD 疾病状态下免疫环境的改变,探讨机体对同种异体 RPE 移植的免疫应答,并重点介绍应对该免疫排斥的多种策略。

## 1 视网膜下腔的免疫环境

### 1.1 生理条件下的“免疫豁免”

视网膜下腔位于 RPE 层与视网膜外界膜之间,并一直被认为维持着免疫豁免的状态,可能机制如下<sup>[7]</sup>:(1) RPE 分泌多种细胞因子(如 TGF- $\beta$ 、PEDF 等)抑制固有免疫及 T 细胞活化;(2) RPE 细胞表面表达的 Fas 配体诱导免疫细胞凋亡;(3) 血-视网膜屏障(blood-retinal barrier, BRB)的物理屏障作用。

但随着研究的深入,免疫豁免的概念被重新审视:免疫豁免并不是缺乏免疫反应,而是一种免疫抑制的状态。视网膜下腔重要的结构 RPE 可表达 Toll 样受体,补体成分等<sup>[8]</sup>; IFN- $\gamma$  处理后可上调其 MHC I 类和 II 类的表达,使其成为潜在的抗原递呈细胞(antigen presentation cell, APC),刺激 T 细胞活化。RPE 可分泌多种细胞因子、趋化因子和生长因子,具有炎症刺激和抑制的双重作用。另外,视网膜小胶质细胞具有抗原递呈功能,强光照射刺激视网膜可诱导小胶质细胞招募至视网膜下腔<sup>[9]</sup>。因此,当视网膜下腔受到微生物、自身免疫、衰老等因素的影响,“免疫豁免”的环境会触发一系列强烈的免疫反应<sup>[10]</sup>。

### 1.2 AMD 的免疫环境变化

AMD 致病的主要因素为氧化应激、遗传因素和衰老三种,前两个可视为损伤因素的累积,后一个可视为保护作用的降低。作用于视网膜的光损伤累积效应、补体系统基因突变所导致的补体反应增强、脂蛋白于 Bruch 膜上的沉积等损伤因素可贯穿于人的一生,但大部分时间内完好的 BRB 与免疫抑制的视网膜下腔环境阻碍了 AMD 的发生,维持了机体的稳态<sup>[11]</sup>。

但是随着衰老,这种平衡逐渐被打破,随后导致了恶性循环的后果。衰老可伴随着全身免疫系统的改变<sup>[12]</sup>:(1) 循环内炎症因子的增加, M1 型吞噬细胞向 M2 型(即炎症吞噬细胞)转化;(2) 血管通透性增加,炎症因子和巨噬细胞渗入视网膜下腔并进一步激活 T 细胞和 B 细胞介导的获得性免疫;(3) RPE 细胞和 Bruch 膜的老化降低了免疫抑制和保护屏障作用,加速循环炎症成分的涌入的同时,补体在玻璃膜疣上大量沉积,形成攻膜复合物(membrane attack complex, MAC),加剧 RPE 的损害。

## 2 同种异体 RPE 移植相关的免疫应答

### 2.1 移植免疫的相关概念

移植免疫同样分为固有免疫

和获得性免疫。手术相关损伤或缺血所导致的感染或内源性炎症因子释放可刺激固有免疫(如补体、自然杀伤细胞和树突状细胞)的激活<sup>[1]</sup>。受体识别供体移植植物触发获得性免疫,是移植免疫中最重要的组成部分。

识别“非己”通过识别细胞特异性表面蛋白,主要为 MHC 分子。识别 MHC 需要 APC 的参与,有直接和间接两种方式。直接识别为供体中含有 APC,可直接将其表面的抗原肽-供体的 MHC 分子复合物(pMHC)递呈至受体 T 细胞;而间接识别是供体移植植物的 MHC 抗原经受体专职 APC 摄取、加工、递呈至受体 T 细胞。因此,直接识别在移植早期急性排斥中起到重要作用。另外, APC 表达的协同刺激分子作为刺激或抑制的第二信号参与 T 细胞的增殖分化。

接下来为效应阶段,按照免疫排斥的发生时间可分为超急性排斥(hyperacute rejection, HAR),急性排斥(acute rejection, AR),和慢性排斥(chronic rejection, CR)<sup>[13]</sup>。HAR 主要发生于富含血管的组织,发生于移植后的数分钟到数小时; AR 主要为 CD4<sup>+</sup> Th1 介导的迟发性超敏反应(delayed hypersensitivity, DH), Th1 分泌的 IFN- $\gamma$  刺激巨噬细胞等单核细胞浸润至移植部位,分泌更多的炎症因子。同时 CD8<sup>+</sup> 细胞毒性 T 细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的细胞毒性作用与 Th2 介导的体液免疫也参与其中。AR 发生于移植后数天或数周<sup>[14]</sup>。CR 发生于移植后数月,机制仍不清,可能与 T 细胞的再次激活有关。

### 2.2 同种异体 RPE 的抗原性和免疫原性

在移植免疫中,抗原性指“异己”抗原致敏受体的能力,免疫原性指移植植物受到特异性免疫反应的损伤程度<sup>[15]</sup>。将同种异体的皮肤移植至肾被膜下,移植植物完全损坏,则同种异体的皮肤具有抗原性和免疫原性两种属性。探究同种异体的 RPE 是否也具备这两种属性,对于 RPE 移植的成功至关重要。

将 C57BL/6 小鼠的 RPE 层分别移植至 BALB/c 小鼠的肾被膜下以及视网膜下腔,两者均至少 12wk 未发移植物的损坏及炎症反应。从移植至肾被膜下的 BALB/c 小鼠脾脏中分离提取的抗原特异性 T 细胞注射至自体耳廓,出现耳廓肿胀的现象,此方法称为鼠耳肿胀试验(mouse ear swelling tests, Mest),阳性即说明机体被致敏并引发了 DH;而另一组 Mest 阴性<sup>[16]</sup>。说明移植于视网膜下腔的 RPE 无抗原性和免疫原性,而肾被膜下的 RPE 有抗原性而无免疫原性。

那么是什么导致了同种异体 RPE 独特的免疫特性?(1) 多种器官移植的研究发现 TGF $\beta$  和 IL-10 在抑制移植相关的 DH 起到重要作用<sup>[17]</sup>。体外培养的 RPE 上清液中预置抗 TGF $\beta$  抗体,原先抑制的淋巴细胞被激活<sup>[18]</sup>。因此推测 RPE 自身分泌 TGF $\beta$  的能力可抑制 DH,维持 RPE 的低抗原性。(2) Wenkel 将 gld/gld 小鼠(CD95 基因敲除的 C57BL/6 小鼠)的单层 RPE 移植至 BALB/c 小鼠的肾被膜下,2wk 后 RPE 层受损<sup>[16]</sup>。说明 RPE 表面的 Fas 配体介导的特异性 T 细胞凋亡是维持低免疫原性的重要因素。(3) 随后 Zamiri 等<sup>[19]</sup>进行补充实验, C57BL/6 小鼠的 RPE

细胞致敏 BALB/c 小鼠,随后提取出 BALB/c 小鼠的特异性 T 细胞,并注入 C57BL/6 小鼠与 gld/gld 小鼠的视网膜下腔,除注射部位的少量 RPE 细胞溶解外,两者 RPE 层均完好,未发生排斥反应。因此进一步说明,在视网膜下腔内,维持 RPE 的单层、紧密排列以及其紧密附着于完好的 Bruch 膜上的状态对于免疫原性的影响远大于 RPE 表面 Fas 配体介导的 T 细胞凋亡的免疫抑制作用。

另外,体外与体内实验均证实,生理条件下 RPE 细胞表面低表达 MHC I 和 ICAM-I 而不表达 MHC II。IFN- $\gamma$  预处理的 RPE 细胞 MHC II 和 ICAM-I 的表达量提高。体外实验中无论是否 IFN- $\gamma$  预处理过的 RPE 在外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)缺失的条件下均不能激活 T 细胞,说明 RPE 的 MHC 与协同刺激分子的表达量不足以成功递呈抗原,需要受体 APC 来激活 T 细胞<sup>[20]</sup>。RCS 鼠的视网膜切片发现大量小胶质细胞在视网膜下腔的聚集和巨噬细胞的浸润<sup>[21]</sup>,同时 Ng 等<sup>[15]</sup>也证实聚集密度越大,视网膜下腔内移植物排斥反应程度也越大。因此,推断 RPE 移植主要为间接识别途径,即与受体 APC 的招募至视网膜下腔有关。

综上所述,在生理条件下的视网膜下腔,同种异体的 RPE 移植不易发生免疫排斥;而当 BRB 破坏后(如 AMD),移植的 RPE 逐渐恢复抗原性和免疫原性,免疫排斥应运而生。

### 3 应对 RPE 移植排斥的策略

**3.1 移植手术各环节的优化** RPE 移植作为治疗 AMD 的创新手段在动物模型及临床试验中受到广泛研究,通常将 RPE 成活率和视力改善程度作为衡量手术成功的指针。近年来手术成功率不断提升,因此 RPE 移植具有很高的应用前景。移植手术各环节衍生出的多种方式在多年的研究中进行对比筛选。本节介绍如何优化手术的各环节以降低排斥反应的发生。

**3.1.1 手术对象的选择** 移植手术所造成的眼内损伤是增加免疫排斥风险的重要因素,通常临床表现为黄斑水肿、视网膜前膜形成和增生性玻璃体视网膜病变(proliferative vitreoretinopathy, PVR)。大量研究发现二次手术的黄斑水肿发病率显著提高<sup>[22]</sup>。另外,晶状体残留的患者施行玻璃体切除术黄斑水肿发病率达 28%,无晶状体或前房人工晶状体的患者高达 46%<sup>[1]</sup>。基于以上研究,最好选择近期未接受过眼内手术,或白内障摘除术后人工晶状体眼,可降低发生免疫排斥的风险。

另外,Algere 等<sup>[23]</sup>运用相同的植入方式以及细胞来源,对比湿性和干性 AMD 患者的 RPE 移植的免疫排斥反应,发现在未使用免疫抑制剂的情况下湿性 AMD 患者在移植后的 3mo 内均发生免疫排斥;而 60%的干性 AMD 患者 6mo 后相继发生排斥,其余患者未发现排斥征象。因此,湿性 AMD 患者发生免疫排斥的风险大于干性 AMD。

**3.1.2 移植细胞种类** hESC-RPE 与 fRPE 在体外体内实验分别证实了在形态与功能学与 RPE 相似,在近期临床试验中都取得良好结果。Schwartz 等<sup>[24-25]</sup>于 2012、2014 年进行 hESC-RPE 细胞悬液移植的一期、二期临床试验,

选取干性 AMD 患者,均未发现免疫排斥现象。但术前术后使用免疫抑制剂的缘故,掩盖了移植物本身的免疫原性。Algere 等<sup>[23,26]</sup>选取 15~17wk 的 fRPE 经过体外培养植入干性 AMD 和纤维血管膜已移除的湿性 AMD 患者的视网膜下腔内,移植后未用免疫抑制剂,3mo 内未观察到临床可见的排斥反应(如黄斑水肿、荧光素渗漏等),但是由于 MHC 的不同以及缺少组织学证据,并不能排除此期有微弱免疫排斥反应的存在。

应对由于同种异体移植所带来的不可避免的 MHC 分子的差异,科学家首先考虑到利用患者自体视网膜边缘健康的 RPE 细胞进行移植,取材方便、可以避免免疫排斥,但手术过程复杂,取材局限。另外,近年来利用基因工程重新构建自体体细胞获得诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPSC)的技术不断成熟,继而分化出的 iPSC-RPE 成为一类新兴的替代细胞来源<sup>[27]</sup>。为了证实理论上 iPSC-RPE 具有零免疫排斥的优势,Takahashi 进行了一系列以猕猴为对象的实验<sup>[28]</sup>:(1)将自体 iPSC-RPE 移植入猕猴视网膜下腔,iPSC-RPE 表面未发现 MHC II,仅有 MHC I 的表达。(2)分离出猕猴的 PBMCs,并与自体 iPSC-RPE 共培养,未发现 T 细胞活化的现象。(3)将自体 iPSC-RPE 层移植入猕猴的视网膜下腔,未使用免疫抑制剂,移植 1a 后未发生免疫排斥。但由于 iPSC 分化过程中可能出现的翻译后修饰现象,导致了 iPSC-RPE 微弱的抗原性,但这种免疫反应在临床上可忽略不计<sup>[29]</sup>。

**3.1.3 植入方法** RPE 有两种移植方式:RPE 细胞悬液注射和单层 RPE 移植。细胞悬液的注射具有手术创伤小的优点,干性 AMD 早期患者更提倡细胞悬液的注射,最大限度降低视网膜下腔与外周循环的接触<sup>[27]</sup>。但是由于 AMD 患者 Bruch 膜的老化、细胞连接形成不足,细胞可脱离原位流入玻璃体导致 PVR 的形成,为了降低此类事件的发生率,Schwartz 等<sup>[24]</sup>选取黄斑周边相对正常的视网膜下腔作为注射点,提高了 hESC-RPE 与 RPE 和 Bruch 膜的融合。但是对于湿性 RPE 和视网膜脱离的患者来说,单层 RPE 胜过细胞悬液,因为单层 RPE 更加接近于生理 RPE 的生物学效应,并迅速覆盖缺损部位,维持紧密连接的外屏障<sup>[27]</sup>。随着移植手术术式的改进和承载单层 RPE 支架的生物材料(具有异物反应小、有弹性和半通透性的特点)的发现,单层 RPE 移植的优势大大超过细胞悬液注射。单层 RPE 移植可增强细胞的抗氧化损伤的能力,提高存活率<sup>[30]</sup>。Diniz 等<sup>[31]</sup>将 hESC-RPE 细胞悬液和长于聚对二甲苯(parylene)支架上的 hESC-RPE 单层分别移植至无胸腺的裸鼠视网膜下腔,单层 hESC-RPE 的存活率明显高于细胞悬液。

**3.1.4 免疫抑制剂的应用** 免疫抑制剂具有抑制固有及获得性免疫的作用,减少细胞因子介导的小胶质细胞增殖与招募,下调促炎因子的表达。围手术期使用免疫抑制剂能够降低远期的免疫排斥,提高移植细胞的存活。围手术期免疫抑制剂(霉酚酸酯和他克莫司),联合口服或局部糖皮质激素用药,是如今临床试验的常用药<sup>[24-25]</sup>。但在如此强力的用药下,移植排斥现象仍时有发生,并且免疫

抑制剂全身性的毒副作用无法忽视<sup>[1]</sup>。与运用免疫抑制剂相比,维持完整的 BRB 在减轻免疫排斥中处于重中之重<sup>[7]</sup>。综上,完全依赖免疫抑制剂而忽视其他环节的优化是不可取的。

### 3.2 创新策略

**3.2.1 MHC 分子的靶向干预** 上文提到的两种抗原识别途径的中心环节均是对 MHC 分子的识别。胚胎滋养层细胞具有逃过母体免疫监视的能力主要是因为细胞表面缺少 MHC II 的表达。因此,下调 MHC II 的表达成为了抑制免疫排斥的新思路。MHC II 反式激活因子(C II TA)可招募组蛋白修饰酶至 MHC II 启动子,启动 MHC II 的转录<sup>[32]</sup>。因此运用 siRNA 和 shRNA 沉默 C II TA 基因可使 hESC-RPE 和 fRPE 表面不表达 MHC II 分子,从而减少受体免疫系统对其的识别,从源头阻止免疫排斥。然而 siRNA/shRNA 分子运用的安全性及作用持续时间有待考量。

**3.2.2 间充质干细胞** 间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)存在于多种组织(骨髓、脂肪、肌肉、脐带)内,由于其具有分化的潜力、免疫调节和组织修复的能力<sup>[33]</sup>,成为多种退行性变和自身免疫性疾病的治疗研究方向。

多项研究表明脂肪及骨髓来源的 MSC 可通过导入目标基因或体外培养基内分化为类似 RPE 的细胞<sup>[34]</sup>。MSC-RPE 可作为 RPE 移植的细胞来源,并且 MSC 细胞自体取材来源丰富,自体移植降低免疫排斥风险,但有待今后的动物及临床大量试验。

MSC 已作为治疗移植抗宿主病的治疗方法,通过其旁分泌功能可诱导 T 细胞分化为 Treg 以及阻碍树突状细胞、巨噬细胞成熟且低表达 MHC II 和协同刺激分子,起到免疫抑制的效果。但 MSC 本身的激活必须依赖于这些细胞分泌的炎症因子的存在<sup>[33]</sup>。Hou 等<sup>[35]</sup>将骨髓来源的 MSC 静脉注射至视网膜受激光损伤的小鼠体内,发现 MSC 聚集于视网膜下腔。根据以上两点得出,MSC 仅在炎症环境下发挥免疫抑制的作用,较之传统的免疫抑制剂,具有减少对于全身系统的影响的优势。

MSC 可作为急性或慢性中枢神经系统损伤的靶向治疗分子。RCS 小鼠静脉或视网膜下腔注射 MSC,具有阻止视网膜萎缩和功能减退的神经保护作用<sup>[36]</sup>。因此提供了继 RPE 移植的又一崭新的 AMD 治疗思路。

目前 MSC 应用于多种疾病的治疗并取得丰硕的成果,但对于 AMD 治疗的文献相当有限。因此 MSC 作为未来 AMD 替代治疗与分子治疗的新思路将充满研究前景。

## 4 小结

在过去的 20a 中,随着再生医学的蓬勃发展,RPE 细胞替代疗法成为了 AMD 治疗的研究热点,在多种 RPE 替代细胞中,hESC-RPE、fRPE、iPSC-RPE 等成为研究中的热门细胞,随后开展了多项临床试验,均取得了乐观的试验结果。但乐观中也并存挑战,其中之一是移植细胞能否在体内长期的存活。虽然视网膜下腔为公认的免疫豁免区域,且替代细胞在体外和体内被证实具有 RPE 相似的

免疫学特征,但 AMD 的发生发展过程打破了原来“安静”的免疫环境,这为异体移植的免疫排斥反应提供了先决条件——移植物上 MHC 分子的表达以及循环中受体 APC 与移植物的接触。因此,应对免疫排斥有两大方向——寻找免疫原性小的细胞以及改善免疫微环境。然而,视网膜下腔的免疫排斥进程是缓慢的,体外的实验结果可能不适用于体内环境,因此要比较寻找出免疫排斥小的细胞替代方法最终需要大样本、长期的动物及临床试验进行佐证。

### 参考文献

- 1 Nazari H, Zhang L, Zhu D, et al. Stem cell based therapies for age-related macular degeneration: The promises and the challenges. *Prog Retin Eye Res* 2015;48:1-39
- 2 Haruta M, Sasai Y, Kawasaki H, et al. *In vitro* and *in vivo* characterization of pigment epithelial cells differentiated from primate embryonic stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(3):1020-1025
- 3 Lund RD, Wang S, Klimanskaya I, et al. Human embryonic stem cell-derived cells rescue visual function in dystrophic RCS rats. *Cloning Stem Cells* 2006;8(3):189-199
- 4 Valtink M, Engelmann K. Culturing of retinal pigment epithelium cells. *Dev Ophthalmol* 2009;43:109-119
- 5 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
- 6 Adijanto J, Philp NJ. Cultured primary human fetal retinal pigment epithelium (hfRPE) as a model for evaluating RPE metabolism. *Exp Eye Res* 2014;126:77-84
- 7 Xian B, Huang B. The immune response of stem cells in subretinal transplantation. *Stem Cell Res Ther* 2015;6:161
- 8 Detrick B, Hooks JJ. Immune regulation in the retina. *Immunol Res* 2010;47(1-3):153-161
- 9 Ng TF, Streilein JW. Light-induced migration of retinal microglia into the subretinal space. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(13):3301-3310
- 10 Forrester JV, Xu H, Kuffová L, et al. Dendritic cell physiology and function in the eye. *Immunol Rev* 2010;234(1):282-304
- 11 Nussenblatt RB, Lee RW, Chew E, et al. Immune responses in age-related macular degeneration and a possible long-term therapeutic strategy for prevention. *Am J Ophthalmol* 2014;158(1):5-11
- 12 Xu H, Chen M, Forrester JV. Para-inflammation in the aging retina. *Prog Retin Eye Res* 2009;28(5):348-368
- 13 Warfvinge K, Kiilgaard JF, Klassen H, et al. Retinal progenitor cell xenografts to the pig retina; immunological reactions. *Cell Transplant* 2006;15(7):603-612
- 14 Rocha PN, Plumb TJ, Crowley SD, et al. Effector mechanisms in transplant rejection. *Immunol Rev* 2003;196:51-64
- 15 Ng TF, Klassen HJ, Hori J, et al. Retinal transplantation. *Chem Immunol Allergy* 2007;92:300-316
- 16 Wenkel H, Streilein JW. Evidence that retinal pigment epithelium functions as an immune-privileged tissue. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(11):3467-3473
- 17 VanBuskirk AM, Burlingham WJ, Jankowska-Gan E, et al. Human allograft acceptance is associated with immune regulation. *J Clin Invest* 2000;106(1):145-155
- 18 Sugita S, Horie S, Yamada Y, et al. Inhibition of B-cell activation by retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci*

2010;51(11):5783–5788

19 Zamiri P, Zhang Q, Streilein JW. Vulnerability of allogeneic retinal pigment epithelium to immune T-cell-mediated damage *in vivo* and *in vitro*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(1):177–184

20 Klimanskaya I, Hipp J, Rezaei KA, *et al.* Derivation and comparative assessment of retinal pigment epithelium from human embryonic stem cells using transcriptomics. *Cloning Stem Cell* 2004;6(3):217–245

21 Robertson MJ, Erwig LP, Liversidge J, *et al.* Retinal microenvironment controls resident and infiltrating macrophage function during uveoretinitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(7):2250–2257

22 Mylonas G, Sacu S, Deák G, *et al.* Macular edema following cataract surgery in eyes with previous 23-gauge vitrectomy and peeling of the internal limiting membrane. *Am J Ophthalmol* 2013;155(2):253–259

23 Algereve PV, Gouras P, Dalfgard Kopp E. Long-term outcome of RPE allografts in non-immunosuppressed patients with AMD. *Eur J Ophthalmol* 1999;9(3):217–230

24 Schwartz SD, Hubschman JP, Heilwell G, *et al.* Embryonic stem cell trials for macular degeneration; a preliminary report. *The Lancet* 2012;379(9817):713–720

25 Schwartz SD, Regillo CD, Lam BL, *et al.* Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy; follow-up of two open-label phase 1/2 studies. *The Lancet* 2015;385(9967):509–516

26 Algereve PV, Berglin L, Gouras P, *et al.* Transplantation of fetal retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration with subfoveal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1994;32(12):707–716

27 Kamao H, Mandai M, Okamoto S, *et al.* Characterization of human

induced pluripotent stem cell-derived retinal pigment epithelium cell sheets aiming for clinical application. *Stem Cell Reports* 2014;2(2):205–218

28 Okamoto S, Takahashi M. Induction of retinal pigment epithelial cells from monkey iPS cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(12):8785–8790

29 Zhao T, Zhang ZN, Rong Z, *et al.* Immunogenicity of induced pluripotent stem cells. *Nature* 2011;474(7350):212–215

30 Hsiung J, Zhu D, Hinton DR. Polarized human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelial cell monolayers have higher resistance to oxidative stress-induced cell death than nonpolarized cultures. *Stem Cells Transl Med* 2015;4(1):10–20

31 Diniz B, Thomas P, Thomas B, *et al.* Subretinal implantation of retinal pigment epithelial cells derived from human embryonic stem cells; improved survival when implanted as a monolayer. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(7):5087–5096

32 Folk JC, Stone EM. Ranibizumab therapy for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2010;363(17):1648–1655

33 Castro – Manreza ME, Montesinos JJ. Immunoregulation by mesenchymal stem cells; biological aspects and clinical applications. *J Immunol Res* 2015;2015:394917

34 Joe AW, Gregory – Evans K. Mesenchymal stem cells and potential applications in treating ocular disease. *Curr Eye Res* 2010;35(11):941–952

35 Hou HY, Liang HL, Wang YS, *et al.* A therapeutic strategy for choroidal neovascularization based on recruitment of mesenchymal stem cells to the sites of lesions. *Mol Ther* 2010;18(10):1837–1845

36 Wang S, Lu B, Girman S, *et al.* Non-invasive stem cell therapy in a rat model for retinal degeneration and vascular pathology. *PLoS One* 2010;5(2):e9200