

# 干细胞在视网膜退行性疾病中的应用新进展

吴 创,徐国兴

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81271026)

作者单位:(350005)中国福建省福州市,福建医科大学附属第一医院 福建省眼科研究所

作者简介:吴创,男,眼科学硕士,研究方向:晶状体、视网膜疾病。

通讯作者:徐国兴,教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:晶状体、视网膜病. [fjmuxgx@163.com](mailto:fjmuxgx@163.com)

收稿日期:2016-12-13 修回日期:2017-03-07

## New research and application of stem cells in retina degeneration diseases

Chuang Wu, Guo-Xing Xu

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 81271026)

Fujian Institute of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China

Correspondence to: Guo - Xing Xu. Fujian Institute of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China. [fjmuxgx@163.com](mailto:fjmuxgx@163.com)

Received:2016-12-13 Accepted:2017-03-07

### Abstract

• Retinal degeneration diseases, including age related macular degeneration, retinitis pigmentosa and glaucoma optic atrophy etc, are characterized by the degeneration of retinal neural cells, retinal photoreceptor cells and retinal pigment epithelium cells, etc. Retinal degeneration diseases are the main cause of blindness. It has been generally assumed that the mature mammalian retinal cell is devoid of repair and regenerative capability, hence it's irreversible of retinal cell apoptosis. Currently, there is no efficient method to regenerate retinal organ. However, stem cell would hold great promise to restore visual function, so as to provide an alternative medical care with the biological property of differentiation and proliferation into target cells to replace degenerated retinal cells. This review focus on the sources of retinal stem cells and their applications on retinal degeneration diseases.

• KEYWORDS: stem cell; retinal degeneration; regeneration

Citation: Wu C, Xu GX. New research and application of stem cells in retina degeneration diseases. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2017;17(4):661-664

### 摘要

视网膜退行性疾病,如年龄相关性黄斑变性、视网膜色素变性、青光眼视神经萎缩等,是以视神经细胞、感光细胞及视网膜色素细胞等退行性变为主要特征的一类疾病,是目前主要的致盲性眼病,一直以来都认为成熟哺乳动物视网膜细胞缺乏有效的自我修复及再生能力,因此视网膜细胞凋亡具有不可逆性,目前还缺乏有效的促进视网膜再生方法,而干细胞以其独有的具有向目的细胞分化增殖,以取代变性、凋亡细胞的生物学特性,可作为一种替代疗法,为视网膜细胞的再生、恢复视功能提供了新的思路。本文从视网膜干细胞的来源及其在视网膜退行性疾病的应用进行综述。

关键词:干细胞;视网膜变性;再生

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2017.4.18

引用:吴创,徐国兴. 干细胞在视网膜退行性疾病中的应用新进展. *国际眼科杂志* 2017;17(4):661-664

### 0 引言

视网膜退行性疾病是以视网膜神经节细胞、双极细胞、感光细胞、色素细胞等进行性变性、凋亡、坏死的一类疾病,主要包括视网膜色素变性(retinitis pigmentosa, RP)、年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, ARMD)、视神经萎缩、视锥视杆细胞发育不良、Stargardt等<sup>[1]</sup>。目前针对这类疾病,主要是对症治疗及缓解视网膜细胞变性、凋亡进展,而缺乏有效的针对性促进视网膜细胞再生方法。干细胞(stem cell, SC)是高等多细胞生物体内具有自我更新及多向分化潜能的未分化或低分化细胞。干细胞作为组织细胞再生的理想种子细胞,在眼部疾病的应用具有广阔的前景。干细胞在视网膜疾病中的研究应用具有其独特优势:屈光介质的透明性,可以在直视下直接动态观察;血-视网膜屏障具有一定的免疫赦免特性;显微操作的发展使得局部视网膜移植具有可行性;OCT等视网膜结构功能检查设备的应用可以直接在活体进行视网膜形态结构观察。本文搜集干细胞在视网膜退行性疾病应用的相关文献,从视网膜干细胞的来源及在视网膜退行性疾病的应用,分析干细胞进行视网膜细胞再生的可行性方案。

### 1 视网膜可利用干细胞的来源

1.1 视网膜自身干细胞 既往认为哺乳动物成熟视网膜缺乏再生能力,而鱼及两栖动物损伤的视网膜具有完全再生能力,据此推测视网膜应具有视网膜干细胞(retinal stem cells, RSCs)或祖细胞(retinal progenitor cells, RPCs),可以再生填补受损视网膜。在人类胚胎和成人的视网膜及睫状体的某些部位能表达神经干细胞特异性抗原——神经巢蛋白(Nestin),同时这些部位的细胞在体外培养中显示出自我更新、增殖和多向分化的潜能<sup>[2]</sup>。目前已经发

现了大量不同来源的视网膜干细胞,其中视网膜睫状缘(ciliary margin zone, CMZ)也称色素睫状缘(pigmented ciliary margin, PCM)和睫状体平坦部(pars plana of the ciliary body),被认为是视网膜边缘生发区(proliferating marginal region),是具有视网膜再生能力的干细胞存在部位<sup>[3]</sup>。鱼和两栖类动物睫状缘细胞分裂增生非常活跃,不断产生新的神经元整合到视网膜中,而鸡、鼠和人的CMZ干细胞处于休眠状态,仅在病理状态下活化,分化能力有限,胰岛素、成纤维细胞生长因子(FGF-1、FGF-2、Shh)等一定程度上支持CMZ干细胞的神经再生潜能,并诱导产生具有极性吞噬功能的RPE样细胞<sup>[4]</sup>。

视网膜Müller细胞是视网膜中主要的神经胶质细胞,成熟较晚,主要为视网膜神经元提供营养支持,具有一定的RSC特征,亦是目前视网膜干细胞研究的热点。正常情况下,哺乳动物Müller细胞处于分裂的静止期,在病理情况下,Müller细胞可重新开始细胞分裂并去分化成为RSC样细胞,对视网膜进行修复<sup>[5]</sup>。Wan等<sup>[6]</sup>通过注射N-甲基亚硝酸脲(N-methyl-nitrosourea, MNU)破坏视网膜光感受器细胞,建立RP大鼠模型,在注射MNU后,部分Müller细胞反应性增生,并表达干细胞的标志物,这部分细胞经过诱导后可以向视杆细胞分化,并与周边细胞形成突触连接。

视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞是中枢神经系统向视网膜延伸的完全分化状态神经元类型细胞。鱼类、两栖类和鸟类RPE可在特定条件下转分化为视网膜干细胞对损伤的视网膜进行修复<sup>[7]</sup>。妊娠4~6wk的人RPE就处于终末分化状态,并终身处于休眠状态。哺乳动物RPE是否具有干细胞特性目前仍未知,然而最近有学者报导出于静止状态的成体RPE在特定条件下亦可以具有自我更新能力并可以向间叶细胞系分化<sup>[8]</sup>。

**1.2 其他组织来源干细胞** 胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESC)是从受孕3~5d的着床前胚胎的内细胞团(inner cell mass, ICM)中分离出来、能在体外培养的一种高度未分化细胞。最早于1981年由英国剑桥大学的Evans和Kaufman用延缓着床的胚胎、美国加州大学旧金山分校的Martin等用条件培养基分别成功分离、体外培养小鼠胚胎干细胞<sup>[9]</sup>。胚胎干细胞作为全能干细胞可以分化为晶状体细胞、视网膜神经元和视网膜色素上皮细胞。Robin Ali等从胚胎干细胞中获取并培养出未成熟的类视杆细胞并进行了研究,他们发现,利用一种3D培养方法制得的未成熟感光体能够与患有多种视网膜疾病的、接受移植的小鼠视网膜相融合,而且在小鼠体内植入能发育成熟,并具有与发育完全的视杆细胞相似功能<sup>[10]</sup>。

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是目前研究、使用的最为广泛的组织干细胞,主要栖息于骨髓,在胎盘、脂肪、脐血、肝脏等组织器官中也少量存在<sup>[11]</sup>。Maureen Owen和AJ Friedenstein最早开展对MSC的分离培养、扩增鉴定及生物学特性的研究。骨髓中MSCs大约占有核细胞总数的0.001%~0.01%,呈纺锤型,为成纤维细胞样细胞,来源于中胚层,具有自我更新、多向分化潜能及克隆形成能力,可以分化为中胚层细胞,如软骨细胞、脂肪细胞、骨细胞、肌细胞等,在一定条件下甚至可以跨胚层分化,如心肌细胞、神经元、胰岛细胞等<sup>[12]</sup>。间充质细胞分化为视网膜细胞亦屡有报导。MSC由于其免疫原性

低,易于获取和扩增,具有较高的代谢活性,内在突变率低,易于进行基因操纵,并能分泌多种细胞因子,是目前最有可能在临床广泛应用的干细胞。

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)由Friedenstein等最先发现并报导。BMSCs具有一定的向视网膜样细胞分化的能力,其体外诱导可以分化为RPE样细胞,并具有治疗视网膜退行性疾病的潜在能力<sup>[13]</sup>。Kicic等<sup>[14]</sup>利用活化蛋白A、牛磺酸和EGF在体外成功将成人CD90<sup>+</sup>BMSCs诱导分化为光感受器样细胞,表达光感受器细胞特异性标志物视紫红质、视蛋白、视觉恢复蛋白;将CD90<sup>+</sup>细胞注射到成年大鼠视网膜下腔后2wk,其可整合入宿主视网膜,形成结构类似于感光细胞样细胞并表达感光细胞特异性标记物,而未见畸胎瘤的形成。郑学栋等<sup>[15]</sup>利用脑源性神经生长因子(BDNF)、表皮生长因子(EGF)、碱性成纤维生长因子(bFGF)联合人视网膜色素上皮细胞(HRPECs)共培养对BMSCs定向诱导分化,可使BMSCs分化为视网膜色素上皮样细胞。诱导后的BMSCs由成纤维细胞样转化为圆形、类圆形、不规则形、短杆状外观,细胞内有色素颗粒形成,RPE65、角蛋白18免疫组织化学染色及mRNA表达量明显高于对照组。

脂肪间充质干细胞(adipose-derived mesenchymal stem cells, ADSCs)获取容易,培养后细胞数量多,具有多向分化潜能、稳定的扩增能力和干细胞表型。Zuk等<sup>[16]</sup>首次于抽脂术后脂肪组织废弃液中分离出的脂肪血管基质成分中获取了脂肪组织来源干细胞。近年来,随着ADSCs诱导分化研究的深入,已经证实ADSCs不仅能够分化为中胚层细胞如脂肪细胞、成骨细胞、心肌细胞等,而且还可跨胚层分化为外胚层细胞如神经细胞,内胚层细胞如肝细胞等。Rezanejad等<sup>[17]</sup>利用携带有人PAX6(5a)基因的慢病毒颗粒转染人脂肪组织来源的干细胞(hADSCs),通过转录调控因子PAX6(5a)的表达,连同补充有纤连蛋白的培养基,能够诱导hADSCs分化成视网膜祖细胞、RPE细胞和光感受器细胞。

在胎盘和脐带组织中分离出间充质干细胞,不仅保持了间充质干细胞的生物学特性,而且还具备如下优点:(1)胎盘和脐带中的干/祖细胞更原始,有更强的增殖分化能力。(2)免疫细胞较为幼稚,功能活性低,不会触发免疫反应及引起移植物抗宿主病。(3)干细胞易于分离,纯度高,无肿瘤细胞污染。(4)扩增时培养体系能统一,便于质控。(5)可制成种子细胞冷冻,多次使用,冷冻后细胞损失小。(6)潜伏性病毒和病原微生物的感染及传播几率比较低。(7)采集时对产妇及新生儿无任何危害及损伤。(8)采集方便,易于保存和运输,伦理学争议少。脐血来源的人间充质干细胞在EGF、牛磺酸联合诱导下可转化成神经元样或视紫红质阳性细胞,表达神经元特异性烯醇化酶(NSE)及视紫红质(RHOS)、巢蛋白(nestin)<sup>[18]</sup>。Choi等<sup>[19]</sup>发现,通过抑制人羊膜上皮干细胞及脐带干细胞microRNA-203的表达,使其可表达成熟的光感受器表面标志物、视紫红质、视蛋白,可以诱导其向光感受器样细胞分化。

在胎儿及成人中枢神经系统包括视网膜均发现能通过体外扩增获得的多能神经元前体细胞、星型胶质细胞、少突胶质细胞,统称为神经干细胞(neural stem cells, NSCs),可以分化为形态学和电生理学上与神经元类似特征的细胞。与中枢海马来源的神经前体细胞相比,大脑皮

质来源的神经前体细胞(cortical neural progenitor cells, CNPCs)具有更好的向RPE细胞分化的能力。Gamm等<sup>[20]</sup>将CNPCs移植入RP模型大鼠的视网膜下腔中发现,模型鼠的视功能有了明显提高,并且在细胞移植后很长时间仍然保持着良好的视功能。

2006年,日本Yamanaka研究小组将逆转录病毒介导的Oct3/4, Sox2, Klf4及c-Myc四个外源基因转入小鼠成纤维细胞中,使成体细胞重新编程为具有多向分化潜能的诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSC)<sup>[21]</sup>。iPSCs技术的建立是干细胞研究领域的一个重大发现和突破,由于iPSCs可来源于患者自身的体细胞,因此既可以回避干细胞治疗涉及到的有关伦理道德问题,又避免了异体免疫排斥反应,使得干细胞个体化治疗成为可能,具有广阔的临床应用前景。活体外,与人类光感受器细胞、神经节细胞、色素上皮细胞功能相似的视网膜细胞已经可以从iPSCs分化得到<sup>[22-25]</sup>。由iPSC诱导转换而来的RPE在营养不良小鼠实验中发现有保护作用,并能维持长期的视功能<sup>[25]</sup>。2010年美国Advanced Cell Technology(ACT)公司宣称,他们得到了在Stargardt患者身上用ESCs替换视网膜色素上皮(RPE) I/II期临床医疗准许。在视网膜退行性疾病中,从患者自身提取的iPSCs可以作为替换治疗的手段,纠正基因缺陷并且阻止视网膜细胞的进一步退化。

## 2 干细胞治疗视网膜退行性疾病可能机制

视网膜退行性疾病主要病理基础是感光细胞、神经节细胞、色素上皮细胞等进行性变性、凋亡、坏死,引起视网膜各级神经元的结构和功能异常,最终造成不可逆性视功能损害。干细胞治疗视网膜退行性疾病主要通过补充、替换已变性坏死的视网膜细胞,亦可以经由干细胞通过旁分泌机制刺激残存细胞活性。干细胞自身特性及所处的微环境共同影响干细胞分化命运。移植干细胞能够移行进入机械性损伤或变性的受体视网膜内,进入内层视网膜的细胞数明显多于外层,形态学及免疫组织化学均显示,这些细胞能分化为神经元和神经胶质细胞,进入视网膜外层的移植细胞能表达光感受器细胞的特异性标志物,进入视网膜内层移植细胞却表达双极细胞和无长突细胞特异性标志物<sup>[26-27]</sup>。Rahimzadeh等<sup>[28]</sup>认为BMSCs可归巢至视网膜损伤或缺血处发挥修复功能,这是BMSCs的重要特征之一。BMSCs归巢机制可能是受损组织细胞释放特异性趋化因子或生长因子,BMSCs表面可表达趋化因子的相应受体,帮助其向靶组织的归巢。其中趋化因子受体4(CXCR4)发挥重要的作用,CXCR4可与受损视网膜组织表达上调的SDF-1结合,诱导BMSCs归巢至病变视网膜处参与组织的修复,且这种诱导作用可能与Akt, ERK和p38信号转导通路有关<sup>[29]</sup>。此外,BMSCs还表达趋化因子受体CCR2和c-met等,可与MCP-1和HGF结合,诱导BMSCs的归巢<sup>[30-31]</sup>。Neuss等研究发现,MSCs可分泌纤溶酶(包括组织纤溶酶原激活物、尿激酶型纤溶酶原激活物、尿激酶型纤溶酶原激活物受体和纤溶酶原激活物抑制因子),促使MSCs进入受损组织的纤溶蛋白凝块并使其降解,从而促使MSCs进入损伤组织并参与组织修复重建<sup>[32]</sup>。干细胞亦可分泌多种神经营养因子,如睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)、脑源性神经营养因子(bone derived neurotrophic factor, BDNF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)等,并在受损视网膜的微环境中表达上调,促进视网膜组

织修复,发挥神经保护作用。

## 3 干细胞移植治疗视网膜退行性疾病可行性技术路线

干细胞视网膜移植的途径主要有经玻璃体腔注射、静脉注射、视网膜下腔注射。玻璃体腔内注射操作相对简单,对视网膜损伤相对较小,但细胞移行存在视网膜内界膜及Müller细胞足板障碍,可以到达视网膜的细胞量很少。与局部注射不同,静脉注射后细胞可迁移至病变视网膜,且在宿主视网膜中广泛分布,有利于视网膜改善的整体评估,排除了一些干扰因素,如视网膜损伤或视网膜脱离造成的细胞因子释放等。Hou等<sup>[33]</sup>将BMSCs注入激光诱导的脉络膜新生血管小鼠玻璃体腔内,发现BMSCs在CNV损伤处聚集而不会在其他部位停留,并分化成多种细胞类型。Chung等<sup>[34]</sup>利用YAG激光损伤大鼠视网膜,经尾静脉注射GFP标记的MSCs后发现,在移植后5wk就可以观察到损伤视网膜裂孔处被GFP阳性细胞填充修复,7wk后裂孔完全修复并且GFP阳性细胞明显高于对照组,说明经尾静脉注射的MSCs可移行并整合入视网膜神经组织中。视网膜下腔注射是将供体细胞直接投递到视网膜RPE层与感光细胞层之间,使之位于病变视网膜微环境中,有利于供体细胞直接、定点发挥作用。亦有学者利用生长因子,如G-SCF、Flt3配体(Flt3-Ligand, FL)刺激BMSCs动员向外周血释放,并可顺SDF-1浓度梯度向眼部迁移,在RPE变性鼠模型中,动员的BMSCs可迁移并定居于RPE损伤处,并可表达RPE标志物<sup>[35-36]</sup>。

## 4 问题及展望

再生医学通过对细胞、组织或器官的再生或替换,以预防或治疗疾病,防治原有病理过程的进一步加剧、恶化,达到生物学、形态学功能修复。目前主要进行的组织细胞再生修复包括:通过内源性途径,利用组织细胞生长因子等提升组织器官、组织细胞再生能力;利用外源性途径移植同种异体或自体起源组织细胞,以及利用组织工程学进行人造组织器官移植。目前,以何种方式将干细胞整合到受损的视网膜,并使其定向分化、融合入宿主视网膜并发挥有效的视功能,是干细胞治疗视网膜退行性疾病研究的重点。如何驾驭干细胞使其充分表达其干性及定向分化;如何鉴别干细胞,干细胞特征性表型目前仅仅局限于特异性表面标志物;干细胞的免疫学特性及其致瘤性亦使其目前局限于理论上及动物实验研究;成体干细胞虽不受伦理约束,但其随年龄增加而进行性退化,可获取利用数量较少,而且其分化的潜能及机制目前仍有诸多争议之处。如何有效获取成体干细胞并按既定要求引导其定向分化,抑制其致瘤性,将是现在及未来干细胞进一步研究及应用的重点。

### 参考文献

- 1 Klassen H. Stem cells in clinical trials for treatment of retinal degeneration. *Exp Opin Biol Ther* 2016;16(1):7-14
- 2 Yang P, Seiler MJ, Aramant RB, et al. *In vitro* isolation and expansion of human retinal progenitor cells. *Exp Neurol* 2002;177(1):326-331
- 3 Ballios BG, Clarke L, Coles BL, et al. The adult retinal stem cell is a rare cell in the ciliary epithelium whose progeny can differentiate into photoreceptors. *Biol Open* 2012;1(3):237-246
- 4 阴正勤,李世迎,蹇骞. 眼科干细胞研究的现状及进一步研究的问题. *中华实验眼科杂志* 2015;33(9):769-773
- 5 Singhal S, Bhatia B, Jayaram H, et al. human muller 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

6 Wan J, Zheng H, Chen ZL, *et al.* preferential regeneration of photoreceptor from muller glia after retinal degeneration in adult rat. *Vis Res* 2008;48(2):223-234

7 Wang SZ, Yan RT. The Retinal Pigment Epithelium: a Convenient Source of New Photoreceptor cells? *J Ophthalmic Vis Res* 2014;9(1):83-93

8 Salero E, Blenkinsop TA, Corneo B, *et al.* adult human rpe can be activated into a multipotent stem cell that produces mesenchymal derivatives. *Cell Stem Cell* 2012;10(1):88-95

9 Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981;292:154

10 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

11 Nombela - Arrieta C, Ritz J, Silberstein LE. The elusive nature and function of mesenchymal stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011;12(2):126-131

12 Huang Y, Enzmann V, Ildstad ST. Stem cell - based therapeutic applications in retinal degenerative diseases. *Stem Cell Rev* 2011;7(2):434-445

13 Duan P, Xu H, Zeng Y, *et al.* Human bone marrow stromal cells can differentiate to a retinal pigment epithelial phenotype when co-cultured with pig retinal pigment epithelium using a transwell system. *Cell Physiol Biochem* 2013;31(4-5):601-613

14 Kicic A, Shen WY, Wilson AS, *et al.* Differentiation of marrow stromal cells into photoreceptors in the rat eye. *J Neurosci* 2003;23(21):7742-7749

15 郑学栋, 徐国兴, 侯泽江, 等. 联合共培养系统诱导骨髓间充质干细胞分化为视网膜色素上皮样细胞. *中华眼视光学与视觉科学杂志* 2011;13(2):88-93

16 Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, *et al.* Multilineage cells from human adipose tissue; implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001;7(2):211-228

17 Rezanejad H, Soheili ZS, Haddad F, *et al.* *In vitro* differentiation of adipose-tissue-derived mesenchymal stem cells into neural retinal cells through expression of human PAX6 (5a) gene. *Cell Tissue Res* 2014;356(1):65-75

18 Jin W, Xing YQ, Yang AH. Epidermal growth factor promotes the differentiation of stem cells derived from human umbilical cord blood into neuron-like cells via taurine induction *in vitro*. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2009;45(7):321-327

19 Choi SW, Shin JH, Kim JJ, *et al.* Direct cell fate conversion of human somatic stem cells into cone and rod photoreceptor-like cells by inhibition of microRNA-203. *Oncotarget* 2016;7(27):42139-42149

20 Gamm DM, Wang S, Lu B, *et al.* protection of visual functions by human neural progenitors in a rat model of retinal disease. *PLoS One* 2007;2(3):e338

21 Takahashi K, Yamanaka S. induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126(4):663-676

22 Meyer JS, Shearer RL, Capowski EE, *et al.* modeling early retinal development with human embryonic and induced pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(39):16698-16703

23 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

24 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

25 Krohne TU, Westenskow PD, Kurihara T, *et al.* generation of retinal pigment epithelial cells from small molecules and oct4 reprogrammed human induced pluripotent stem cells. *Stem Cells Transl Med* 2012;1(2):96-109

26 Stern JH, Temple S. Stem cells for retinal replacement therapy. *Neurotherapeutics* 2011;8(4):736-743

27 Chacko DM, Rogers JA, Turner JE, *et al.* Survival and differentiation of cultured retinal progenitors transplanted in the subretinal space of the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;268(3):842-846

28 Rahimzadeh A, Tabatabaei Mirakabad FS, Movassaghpour A, *et al.* Biotechnological and biomedical applications of mesenchymal stem cells as a therapeutic system. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2016;44(2):559-570

29 Ryu CH, Park SA, Kim SM, *et al.* Migration of human umbilical cord blood mesenchymal stem cells mediated by stromal cell-derived factor-1/cxcr4 axis via akt, erk, and p38 signal transduction pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;398(1):105-110

30 Ishikawa M, Ito H, Kitaori T, *et al.* MCP/CCR2 signaling is essential for recruitment of mesenchymal progenitor cells during the early phase of fracture healing. *PLoS One* 2014;9(8):e104954

31 Neuss S, Becher E, Woltje M, *et al.* Functional expression of hgf and hgf receptor/c-met in adult human mesenchymal stem cells suggests a role in cell mobilization, tissue repair, and wound healing. *Stem Cells* 2004;22(3):405-414

32 Neuss S, Schneider RK, Tietze L, *et al.* Secretion of fibrinolytic enzymes facilitates human mesenchymal stem cell invasion into fibrin clots. *Cells Tissues Organs* 2010;191(1):36-46

33 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

34 Chung JK, Park TK, Ohn YH, *et al.* Modulation of retinal wound healing by systemically administered bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Korean J Ophthalmol* 2011;25(4):268-274

35 Li Y, Atmaca-Sonmez P, Schanie CL, *et al.* Endogenous bone marrow derived cells express retinal pigment epithelium cell markers and migrate to focal areas of rpe damage. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(9):4321-4327

36 Li Y, Reza RG, Atmaca-Sonmez P, *et al.* Retinal pigment epithelium damage enhances expression of chemoattractants and migration of bone marrow-derived stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(4):1646-1652