

The Function and Localization of Corneal Epithelial Stem Cells and Its Relationship with Ocular Surface Diseases

Junhua Fan

Department of Ophthalmology of the 910th Hospital of PLA, Quanzhou Fujian
Email: fjh180@126.com

Received: Nov. 9th, 2019; accepted: Nov. 27th, 2019; published: Dec. 4th, 2019

Abstract

Corneal epithelial stem cells (CESCs) play an important role in repairing corneal epithelium. Their localization in limbus corneae has been widely recognized. However, more and more studies show that no matter through specific markers or functional localization, it cannot be confirmed that corneal epithelial stem cells are located only in limbus, and limbus stem cells play a limited role in renewal and repair of corneal epithelial. This article reviews the different viewpoints and evidences of corneal epithelial stem cells research, and summarizes the recent studies about the function and the localization of corneal epithelial stem cells and the relationship with ocular surface diseases in recent years.

Keywords

Corneal Epithelial Stem Cells, Limbal Stem Cells, Ocular Surface Diseases, Limbal Stem Cell Deficiency

角膜上皮干细胞的功能定位及其与眼表疾病的关系

范军华

解放军第910医院眼科中心, 福建 泉州
Email: fjh180@126.com

收稿日期: 2019年11月9日; 录用日期: 2019年11月27日; 发布日期: 2019年12月4日

摘要

角膜上皮干细胞具有更新修复角膜上皮的重要功能，其定位于角膜缘受到广泛认可，但有越来越多的研究表明，不管是通过特异性标识物定位还是功能定位，都无法证实角膜上皮干细胞仅位于角膜缘，角膜缘干细胞在角膜上皮更新修复方面起到的作用有限。本文通过对角膜上皮干细胞研究的不同观点和证据的阐述，对近年来有关角膜上皮干细胞的功能定位及其与眼表疾病的关系研究作一综述。

关键词

角膜上皮干细胞，角膜缘干细胞，眼表疾病，角膜缘干细胞功能障碍

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

1971年 Davanger 首次提出角膜缘干细胞的概念，认为角膜缘部位存在干细胞，可发挥上皮细胞更新及损伤修复的作用，是维持角膜透明无血管的重要原因。随着对角膜缘干细胞功能的认识加深，临床上通常将各种原因导致的眼表疾病的终末阶段统称为角膜缘干细胞功能障碍(Limbal Stem Cell Deficiency, LSCD) [1]，认为其发病机制是角膜缘上皮基底层的干细胞缺失或受损所引起。但是，近年来有研究认为，角膜上皮干细胞并非只存在于角膜缘部位，整个角膜上皮基底层均存在寡能干细胞(Oligopotential Stem Cells, OSCs)，它们可能也是角膜上皮更新的重要细胞来源，而角膜缘干细胞在角膜上皮更新和角膜稳态维持方面并未发挥关键作用。本文结合近年来对角膜上皮干细胞的新认识和研究结果，对其功能及与LSCD的关系作一综述。

2. 角膜缘干细胞的标识与定位

2.1. 角膜上皮干细胞的概念

干细胞是一类未充分分化、具有自我复制能力的多潜能细胞，在一定条件下，它可以分化成多种功能细胞。根据干细胞所处的发育阶段分为胚胎干细胞和成体干细胞[2]。根据干细胞的发育潜能分为三类：全能干细胞、多能干细胞、单能干细胞。角膜上皮干细胞属于成体干细胞中的单能干细胞，发育等级较低，一般仅能向角膜上皮细胞分发。角膜上皮干细胞历经干细胞、短暂扩增细胞(Transient Amplifying Cells, TACs)和终末分化细胞(Terminally Differentiated Cells, TDCs) 3个分化阶段而构成不断更新的角膜上皮组织。1986年，Schermer等[3]通过研究指出，角膜缘干细胞位于约1.5 mm的角膜缘环形区域内上皮细胞基底层的Vogt栅栏内。角膜上皮干细胞因长期被定位于角膜缘上皮的基底层而又称为角膜缘干细胞(Limbal Stem Cells, LSCs)。

2.2. 角膜缘干细胞的物理定位与标识

自 Davanger 首次提出角膜缘干细胞的概念以来，寻找角膜缘干细胞特异性标记物的研究从未中断，但始终未找到一种或一组能直接确定角膜缘干细胞的绝对特异性标记物。在寻找角膜上皮干细胞标志物

的各种研究中,主要的依据和方法有:(1)定位依据。根据角膜上皮干细胞仅位于角膜缘基底层的判断,寻找仅表达于角膜缘上皮基底细胞层的标记物,认为这些标记物就是角膜缘干细胞特异性标记物。由于这个判断本身需要通过特异性标记物来证实,以此作为寻找角膜缘干细胞的依据,缺乏严谨性。即使如此,最新研究表明,过去认为仅表达于角膜缘的LSCs的特异性标记物在中央角膜也有所表达[4][5][6],只是表达量的多少存在差异,特异性标记物并不特异,以仅表达于角膜缘上皮基底层的分子作为LSCs标记物的传统观点需要修正。Lyngholm等[7]用二维聚丙烯酰胺凝胶电泳联合质谱法分析眼表上皮细胞中多种蛋白的表达,发现在角膜缘和角膜中央上皮表达水平有明显差异的蛋白多达25种,这些标记物的差异只能说明角膜缘上皮基底细胞与角膜中央上皮细胞有所不同,但无法证明角膜缘上皮基底细胞就是干细胞。(2)表达共识标记物。将表达于人类其它干细胞的共识标记物作为角膜缘干细胞标记物。常见的共识标记物有原始干细胞转运蛋白家族ABCG2、ABCB5、转录因子p63、类鸟苷酸结合蛋白3、TCF4、细胞黏附分子integrin β 1、Bmi-1等[5][6][8],体外角膜基底细胞培养表明这些标记物主要表达于角膜缘基底层,但也可部分表达于中央角膜的基底层和基底上层,依据共识标记物,还不能认定角膜上皮干细胞仅位于角膜缘上皮基底部。(3)具有干细胞的某些形态和功能特点。角膜缘上皮基底细胞具有干细胞的某些形态和功能特点,比如角膜缘上皮基底部细胞与角膜中央上皮基底细胞不同,体积更小,内含色素;角膜缘的肿瘤发病率高于角膜中央区,结合肿瘤更易发生于低分化、增殖能力强的细胞这一特点,提示角膜上皮干细胞可能存在于角膜缘;角膜缘上皮细胞部分或全部缺损后,角膜出现结膜化、新生血管等,这种情况可以通过LSCs移植得到改善。角膜缘上皮基底细胞的这些形态和功能特点提示角膜缘可能是角膜上皮干细胞的主要存在部位,但不能作为角膜缘基底细胞是干细胞的直接证明,也不能据此排除角膜其它部位存在干细胞的可能性。因为,人体组织细胞的增殖分化都是由所处的微环境诱导的,角膜缘与角膜中央区微环境明显不同,两处的上皮细胞在形态和功能上自然会存在差异,不能将这种差异完全归于普通细胞与干细胞之间的差异。此外,人体组织的增殖和愈合能力与血供营养有关,角膜缘血管网丰富,增殖愈合能力强于中央角膜,因此,角膜中央上皮受损通常由角膜缘上皮修复,这与干细胞是否存在角膜缘可能无关。总之,现在发现的各种LSCs标记物并无绝对的特异性,无法通过现有LSCs标记物鉴定角膜上皮干细胞。各种LSCs标识物研究表明,角膜缘基底层的上皮细胞与角膜其它区域的上皮细胞存在明显差异,角膜缘基底层是角膜上皮干细胞可能的储存部位,但不能排除角膜其它区域也存在角膜上皮干细胞的可能性。

2.3. 角膜缘干细胞的功能定位与作用

角膜上皮干细胞的主要功能是能更新修复角膜上皮,保持角膜上皮的完整性。完整的角膜上皮可使角膜免受外界物理或化学损伤,阻碍病原微生物侵袭损伤,抑制免疫炎症及角膜新生血管形成,从而维持眼表的稳定。虽然无法通过角膜干细胞标识物对角膜上皮干细胞进行物理定位,但如果能证明只有角膜缘基底细胞才具有角膜上皮干细胞的功能,那么就能确定角膜上皮干细胞只位于角膜缘,从而在功能上实现角膜上皮干细胞的定位。角膜上皮干细胞的功能定位研究主要围绕两方面进行:一方面研究,在仅仅去除角膜缘上皮细胞的情况下,是否可以造成持续性角膜上皮结膜化、角膜新生血管形成、角膜炎症和溃疡等典型的LSCD表现;另一方面研究,对于LSCD病变,是否只能通过角膜缘干细胞移植来治愈,移植角膜中央上皮、结膜上皮或其它组织治疗均无效。对于第一方面,刘先宁等[9]通过两种方法构建LSCD动物模型,I组10只实验兔去除角膜缘内外2mm以内的上皮及浅基质层组织;II组10只实验兔在I组基础上同时清除角膜中央上皮及浅基质层组织。结果发现I组有6只兔子在平均7d的时间点角膜完全自愈,角膜维持透明并无新生血管形成,构建LSCD模型失败;II组10只实验兔均符合LSCD

标准,成功率 100%。由此表明,仅仅去除角膜缘上皮及基质层,并不能造成 LSCD 模型,只有连同角膜中央上皮及基质层去除的情况下,才能造成 LSCD 模型,提示角膜中央上皮也具有增殖修复能力,表明在角膜中央区也可能存在角膜上皮干细胞。Huang 等[10]实验发现,完全性角膜缘损毁的兔中央角膜上皮依然能够长期存活,但如再刮除中央区上皮,则不能通过周边的结膜化上皮再生。Majo 等[11]的一项动物实验,通过 360 度烧灼野鼠的环角膜缘区域,包括角膜缘上皮和其下基质,使其不可能有任何 LSCs 残留,建立了完全性的角膜缘缺失模型。灼伤眼的角膜在整个实验的 4 个月观察期中均保持透明,且未观察到角膜溃疡或基质血管,表明角膜缘上皮完整与否与 LSCD 无必然联系,同时强烈提示中央区角膜上皮具有类似干细胞的自我修复更新、维持生理稳态的能力。Dua 等[12]对被诊断为完全性 LSCD 的 8 例患眼进行了观察,这 8 眼均为 360 度角膜缘干细胞缺失,周边角膜和角膜缘上皮完全结膜化,但中央区角膜上皮仍完整和正常。经过超 60 个月的观察发现,角膜结膜化区域已完全结膜化,共焦显微镜下可见结膜化的上皮细胞、杯状细胞和新生血管,已无角膜缘干细胞存在可能,但中央角膜上皮细胞“岛”的上皮仍长期维持正常形态,表现为浅表细胞呈多边形、翼状细胞分化良好、以及较小的基底细胞。Dua 等的研究提示,在角膜缘 LSC 完全缺失的情况下,角膜中央区上皮细胞同样可以维持角膜上皮透明性及生理稳态,LSC 也许并不是维持角膜上皮完整性及生理稳态不可或缺的原因。对于另一方面,有研究证明,对于角膜缘的完全性损伤,并非只能通过角膜缘干细胞移植才能修复,移植角膜中央区上皮细胞、结膜上皮或口腔上皮等到角膜缘后也同样可以修复角膜上皮损伤,维持角膜透明。2008 年, Majo 等在《Nature》上发表研究报告[11],从被 β -gal 标记的供体鼠角膜中央获取了包括角膜上皮及其基质在内的全层植片,并植入角膜缘损毁的裸鼠的角膜缘,植片迅速与受体鼠的角膜缘融合并保持活性,成功地修复角膜缘受损区,且在 9 个月时间内标记的角膜上皮与相邻的未标记的角膜缘上皮之间的界限分明,表明修复完全依赖于移植的供体鼠中央角膜上皮而不是受体鼠自身的角膜缘上皮。如果将被 β -gal 标记的供体鼠角膜中央上皮移植到角膜缘上皮被刮除的受体鼠角膜中央,受体鼠角膜缘上皮缺损区被移植的供体鼠角膜中央上皮所修复,表明角膜中央上皮具有修复角膜缘上皮的的功能。另外,由 Chang 等[13]研究发现,通过准分子激光指环形切除人角膜旁中央区上皮及浅基质层,保留中央区岛状上皮及角膜缘上皮,然后通过组织培养法观察切除区上皮愈合情况,结果表明,缺损区可同时被中央区角膜上皮和角膜缘上皮修复,中央区上皮修复速度甚至快于角膜缘区上皮。术后中央区上皮细胞密度增加了 36%,而角膜缘区上皮细胞密度反而没有明显变化。如果在上述指环形切除的基础上同时切除角膜缘区的上皮及浅基质层,角膜缘仍可被角膜中央区的上皮细胞修复。Chang 等的研究提示,角膜上皮受损后,上皮的向心性和离心性修复同时存在,而既往认为上皮缺损后只能靠角膜缘上皮的向心性修复而愈合,这也表明中央角膜上皮具有类似干细胞的再生特性,不但参与维持角膜上皮的完整性,也参与修复角膜缘区域的损伤。此外,尚有利用结膜上皮细胞、口腔粘膜上皮细胞、羊膜上皮细胞等非角膜缘干细胞治疗 LSCD 成功的报道,表明 LSCD 治疗成功的关键是要恢复上皮的完整性与稳定性,与是否移植角膜缘干细胞无关[13][14][15][16]。总之,综合现有各种研究,不管是通过标识定位的角度还是功能定位的角度,都难以证实角膜上皮干细胞只存在于角膜缘部位。在角膜缘之外可能有其他干细胞起到维持角膜自我更新的作用,因为长期自我更新以及能够维持移植存活的能力是干细胞所特有的,无法单纯依赖角膜中央分裂次数有限的 TAC 来实现。此外,大量研究表明,在微环境的诱导下,成体干细胞可以跨系、甚至跨胚层分化为不同来源的细胞,称之为干细胞的“可塑性”[17][18],因此也不排除角膜中央上皮基底细胞或移植的其它组织上皮细胞,在微环境改变诱导下,获得了角膜干细胞的特性,使它拥有可以独立再生和维持上皮植片的能力,从而更新修复角膜上皮,重建角膜生理稳态。这也从另一方面证明,角膜缘上皮干细胞在角膜上皮自我修复及更新上并不是不可或缺的。

3. 角膜缘干细胞与 LSCD 的关系

3.1. 角膜缘干细胞功能障碍的诊断标准与动物模型的构建

临床上,各种原因导致的眼表疾病如未经及时有效治疗,其发展的终末阶段都被诊断为角膜缘干细胞功能障碍(LSCD),诸如化学烧伤、热烧伤、Stevens-Johnson 综合征、眼部类天疱疮、翼状胬肉、角膜缘部位的手术等导致的角膜上皮缺损、基质混浊和新生血管形成,均被诊断为 LSCD。目前公认的 LSCD 诊断标准[1]主要包含以下几方面:1) 角膜上皮结膜化,印迹细胞学检查可发现结膜杯状细胞;2) 角膜新生血管长入;3) 角膜持续性上皮缺损及炎症;4) 角膜基质混浊以及角膜溃疡。LSCD 的临床诊断标准也被广泛用作 LSCD 动物模型的构建标准。现有的 LSCD 动物模型,虽然名称上叫角膜缘干细胞功能障碍模型,但在实际构建过程中,却并非是通过去除角膜缘干细胞而形成。刘先宁[9]、Huang [10]、柯红琴[19]等通过动物实验表明,如果仅仅去除角膜缘干细胞或角膜缘组织,难以制造出符合 LSCD 诊断标准的动物模型。已报道的 LSCD 常用构建方法是,通过碱烧伤或机械去除的方式,彻底损坏或去除包括角膜周边 2 mm 结膜在内的全角膜浅层组织,形成包括周边结膜在内的全角膜创面。这种创面只能由创缘周边健康的结膜组织进行瘢痕修复,从而导致大量新生血管和结膜化上皮侵入角膜,形成所谓的 LSCD 模型。这种模型的角膜上皮结膜化和新生血管化与人体其它组织受损后的瘢痕增生类似,是眼表遭受损害的正常病理反应,与角膜缘干细胞是否缺失并无关联。因此,从病理学角度看,现有的 LSCD 动物模型更像是眼表广泛创伤的修复模型而非角膜缘干细胞缺乏模型。这种模型的成因是非干细胞性的,治疗也不完全依赖于角膜缘干细胞,以此来研究角膜缘干细胞的功能和临床治疗效果缺乏说服力。

3.2. 角膜缘干细胞与 LSCD 的关系

临床上将很多眼表疾病的终末阶段都诊断为 LSCD,但这些疾病是否均由角膜缘干细胞缺乏所引起仍存在争论。很多诊断为 LSCD 的眼表疾病,其始发病因并不是角膜缘干细胞受损或缺乏,而是炎症或烧伤等导致的眼表广泛损害,从而诱发角膜新生血管形成和结膜上皮侵入角膜,这是病理学上的损伤修复机制,这种病理机制几乎见于人体所有组织,并不限于眼表。例如,典型的 LSCD 疾病 Stevens-Johnson 综合征,其发病机制为药物或感染诱发的强烈自身免疫反应,导致全身皮肤和黏膜受损。眼部主要表现为强烈的眼表炎症反应,导致结膜杯状细胞受损丢失,泪液质量下降,泪腺分泌导管受损阻塞,形成严重的干眼,进而引起睑内翻、倒睫和睑缘角化导致角膜慢性炎症刺激,由此而致持续性角膜上皮损害,患者角膜新生血管形成和角膜结膜上皮化[20]。Stevens-Johnson 综合征的本质仍然是眼表的广泛损伤和由此导致的增生修复,其治疗也必须在控制炎症损害、改善眼表微环境的基础上进行,如果只进行角膜缘干细胞移植是无效的。大量研究认为,翼状胬肉侵入角膜内的根本原因是紫外线等损伤了鼻侧角膜缘干细胞,失去了角膜缘干细胞的屏障作用,从而导致鼻侧结膜血管组织侵入角膜,因此在切除胬肉后需要通过移植角膜缘干细胞来避免复发[21]。但是,约有 57.0%~87.7%的翼状胬肉病例,在单纯切除胬肉并部分暴露巩膜后,翼状胬肉没有复发侵入角膜,如果切除胬肉后行不带角膜缘的结膜瓣移植,可以将胬肉复发率降到 5%以下[22] [23],表明角膜缘干细胞缺乏并不一定需要角膜缘干细胞移植才能修复,翼状胬肉的形成可能并不是因为角膜缘干细胞的缺失,而是由于局部持续性炎症等微环境改变诱导了血管组织增生。通过切除炎性病变组织,移植健康的结膜,改善了局部微环境,角膜上皮的完整性及生理稳态便可自我修复。另有研究显示,如果角膜缘结膜化范围在 3~5 个钟点内,去除侵入角膜的结膜上皮和血管组织,并切除相应处的结膜上皮至角膜缘后 5~7 mm,角膜可再上皮化为正常角膜细胞表型,无结膜血管长入角膜,无需行自体或异体角膜缘干细胞移植术[24]。如果联合使用羊膜移植加快角膜修复速度,可将适应证范围扩大到 240 度左右的角膜缘干细胞缺失[25]。这也表明,很多被归为角膜缘干细胞功能障碍的

疾病其本质并不是角膜缘干细胞缺失或受损引起，其治疗也不依赖于角膜缘干细胞移植，重点是修复角膜局部的微环境，尽快恢复角膜上皮完整性。既使在使用角膜缘干细胞移植治疗成功的 LSCD 病例中，其作用机制仍不清楚。近年来进行的部分通过标记移植角膜缘干细胞的长期研究，并未发现供体干细胞的存在，由此提出了移植的角膜缘干细胞在修复眼表过程中的作用机制问题。例如：究竟是通过移植的角膜缘干细胞的增殖分化，还是通过修复角膜缘干细胞自我更新的微环境？是否还存在其他的机制？[13]。有研究者质疑，培养的角膜缘干细胞是否能在受体角膜上长期存活，它的存在与手术的长期效果是否有关，甚至提出培养的上皮植片仅起临时作用[26]。因此，现有的 LSCD 定义，不管是在诊断上还是在治疗上，均过于夸大了角膜缘干细胞的作用而忽略了疾病的始发因素，具有一定的误导性，不利于许多被诊断为 LSCD 的眼表疾病的预防和治疗。

4. 问题与展望

总之，角膜上皮干细胞虽然数十年以来一直是眼科界的研究热点，但至今仍无法对其进行明确的标识和定位，对于其在眼表“整体”中的作用、地位仍存在争议。眼表是一个“整体”的概念，参与维持眼表正常的所有因素，如泪腺、睑板腺、泪道和眼表上皮组成一个完整的功能单位，调节着眼表细胞的更新和泪膜的代谢，维持着眼表微环境的稳定。组成眼表的任一因素出现异常，均会导致“整体”的坍塌，眼表微环境被破坏，从而出现角膜新生血管化和结膜上皮化等眼表功能衰竭的表现。因此，角膜缘上皮干细胞受损并非导致眼表功能衰竭的唯一因素，眼表疾病的治疗仍应重视“整体”性的维护。脱离眼表的整体性重建，单纯依靠角膜上皮干细胞或角膜缘上皮干细胞再生或移植，难以提高重度眼表疾病的治疗成功率。

参考文献

- [1] 赵堪兴, 杨培增. 眼科学[M]. 第 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 90-92.
- [2] 安克. 胚胎干细胞定向诱导分化为心肌细胞进展[J]. 中国优生与遗传杂志, 2018, 16(12): 3-4.
- [3] Schermer, A., Galvin, S. and Sun, T.T. (1986) Differentiation-Related Expression of a Major 64k Corneal Epithelial Stem Cells. *The Journal of Cell Biology*, **103**, 49-62. <https://doi.org/10.1083/jcb.103.1.49>
- [4] Dua, H.S., Miri, A., Alomar, T., Yeung, A.M. and Said, D.G. (2009) The Role of Limbal Stem Cells in Corneal Epithelial Maintenance: Testing the Dogma. *Ophthalmology*, **116**, 856-863. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2008.12.017>
- [5] Kawashima, M., Kawakita, T., Yoshida, S., et al. (2009) Nucleostemin as a Possible Progenitor Marker of Corneal Epithelial Cells. *Molecular Vision*, **15**, 1162-1168.
- [6] Umemoto, T., Yamato, M., Nishida, K., et al. (2005) Rat Limbal Epithelial Side Population Cells Exhibit a Distinct Expression of Stem Cell Markers that Are Lacking in Side Population Cells from the Central Cornea. *FEBS Letters*, **579**, 6569-6574. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.10.047>
- [7] Lyngholm, M., Vorum, H., Nielsen, K., et al. (2008) Differences in the Protein Expression in Limbal versus Central Human Corneal Epithelium—A Search For Stem Cell Markers. *Experimental Eye Research*, **87**, 96-105. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2008.05.001>
- [8] Schlotzer-schrehardt, U. and Kruse, F.E. (2005) Identification and Characterization of Limbal Stem Cells. *Experimental Eye Research*, **81**, 247-264. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2005.02.016>
- [9] 刘先宁, 吴浩, 朱秀萍. 角膜上皮干细胞缺失动物模型的方法研究[J]. 国际眼科杂志, 2009, 9(8): 1583-1584.
- [10] Huang, A.J. and Tseng, S.C. (1991) Corneal Epithelial Wound Healing in the Absence of Limbal Epithelium. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **32**, 96-105.
- [11] Majo, F., Rochat, A., Nicolas, M., et al. (2008) Oligopotent Stem Cells Are Distributed throughout the Mammalian Ocular Surface. *Nature*, **456**, 250-254. <https://doi.org/10.1038/nature07406>
- [12] Chang, C.Y., Green, C.R., Meghean, C.N., et al. (2008) Acute Wound Healing in the Human Central Corneal Epithelium Appears to Be Independent of Limbal Stem Cell Influence. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **49**, 5279-5286. <https://doi.org/10.1167/iov.07-1260>

- [13] 周庆军, 谢立信. 干细胞移植修复眼表损伤的研究进展[J]. 中华眼科杂志, 2009, 45(7): 658-661.
- [14] Tanioka, H., Kawasaki, S., Yamusaki, K., *et al.* (2006) Establishment of a Cultivated Human Conjunctival Epithelium as an Alternative Tissue Source for Autologous Corneal Epithelial Transplantation. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **47**, 3820-3827. <https://doi.org/10.1167/iovs.06-0293>
- [15] Hori, J., Ohara, K., Sakuragawa, N., *et al.* (2002) Pro-Inflammatory Effect of Amniotic Epithelial Allografts on Orthotopic Corneal Allografts. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **43**, 2254.
- [16] Nakamura, T., Inatomi, T., Sotozono, C., *et al.* (2004) Transplantation of Cultivated Autologous Oral Mucosal Epithelial Cells in Patients with Severe Ocular Surface Disorders. *British Journal of Ophthalmology*, **88**, 1280-1284. <https://doi.org/10.1136/bjo.2003.038497>
- [17] Bruste, O., Jones, K.N., Learish, R.D., Karam, K., *et al.* (1999) Embryonic Stem Cell-Derived Glial Precursors: A Source of Myelinating Transplants. *Science*, **285**, 754-756. <https://doi.org/10.1126/science.285.5428.754>
- [18] Dreyfus, P.A., Chretien, F., Chazaud, B., *et al.* (2004) Adult of Bone Marrow-Derived Stem Cells in Muscle Connective Tissue and Satellite Cell Niche. *American Journal of Ophthalmology*, **164**, 773-779. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63165-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63165-3)
- [19] 柯红琴, 刘磊, 栗静, 等. 兔全角膜缘干细胞缺乏模型的构建和鉴定[J]. 中华实验眼科杂志, 2013, 31(2): 151-155.
- [20] 赵堪兴, 杨培增. 眼科学[M]. 第8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 113-114.
- [21] 刘祖国. 眼表疾病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 355-356.
- [22] 王丹, 汪锐, 张启明, 等. 三种手术方式治疗翼状胬肉的临床观察[J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2016, 30(2): 94-95.
- [23] 姚小琪. 翼状胬肉单纯切除与联合角膜缘干细胞移植的疗效观察[J]. 包头医学院学报, 2015, 31(10): 69-70.
- [24] Dua, H. (1998) The Conjunctiva in Corneal Epithelial Wound Healing. *British Journal of Ophthalmology*, **82**, 1407-1411. <https://doi.org/10.1136/bjo.82.12.1407>
- [25] Anderson, D., Ellies, P., Pires, R.T. and Tseng, S.C.G. (2001) Amniotic Membrane Transplantation for Partial Limbal Stem Cell Deficiency. *British Journal of Ophthalmology*, **85**, 567-575. <https://doi.org/10.1136/bjo.85.5.567>
- [26] Shimmura, S. and Tsubota, K. (2008) Surgical Treatment of Limbal Stem Cells Deficiency: Are We Really Transplanting Stem Cells? *American Journal of Ophthalmology*, **146**, 154-155. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2008.04.025>