

角膜移植新进展

黎 芊, 肖宇婷, 谢华桃, 张明昌*

华中科技大学附属同济医学院附属协和医院眼科, 湖北 武汉

Email: *mingchangzhang@hotmail.com

收稿日期: 2021年5月23日; 录用日期: 2021年6月12日; 发布日期: 2021年6月23日

摘 要

角膜盲是世界第5大致盲眼病, 角膜移植手术是用透明、健康的角膜替换混浊角膜从而恢复一定视力的手术方式, 是角膜盲唯一的治疗手段。角膜移植手术主要包括穿透性角膜移植术、板层角膜移植术、角膜内皮移植术, 其他新兴的治疗方法包括飞秒激光辅助角膜移植手术和应用人工生物角膜进行移植手术等, 本文就这些角膜移植的术式及人工生物角膜材料的最新进展进行了综述。

关键词

穿透性角膜移植术, 板层角膜移植术, 角膜内皮移植术, 飞秒激光辅助角膜移植手术, 人工生物角膜材料

Advances of Cornea Transplantation

Qian Li, Yuting Xiao, Huatao Xie, Mingchang Zhang*

Department of Ophthalmology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei

Email: *mingchangzhang@hotmail.com

Received: May 23rd, 2021; accepted: Jun. 12th, 2021; published: Jun. 23rd, 2021

Abstract

At present, cornea opacity is the fifth most common leading cause of blindness in the world. Cornea transplantation is the only treatment for corneal blindness, in which we replace the opaque cornea with healthy and transparent cornea to restore visual acuity. Corneal transplantation mainly includes penetrating keratoplasty, lamellar keratoplasty and endothelium keratoplasty. Other emerging treatment methods such as femtosecond laser-assisted keratoplasty and keratoplasty using artificial biological cornea are also applied in clinic. This paper reviews the latest progress

*通讯作者。

文章引用: 黎芊, 肖宇婷, 谢华桃, 张明昌. 角膜移植新进展[J]. 眼科学, 2021, 10(2): 76-88.

DOI: 10.12677/hjo.2021.102009

of these corneal transplantation methods and artificial biological cornea materials.

Keywords

Penetrating Keratoplasty, Lamellar Keratoplasty, Endothelial Keratoplasty, Laser-Assisted Keratoplasty, Artificial Biological Corneal Material

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

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



Open Access

1. 引言

透明的角膜是视物清晰的先决条件,感染、创伤、遗传、免疫、肿瘤等因素都可以导致透明的角膜变混浊,而不可逆转的角膜透明度的丧失最终会导致失明。通过对 1990~2015 年世界视力数据库的数据进行统计分析,Flaxman 等人发现各种原因导致的不可逆的角膜混浊是世界第 5 大致盲眼病[1]。

角膜移植手术是临床上最常见、成功率最高的器官移植手术之一[2],是指用透明、健康的角膜替换混浊角膜从而恢复一定视力的手术方式,是治疗各种原因导致的角膜不可逆性混浊最有效也是最终的方法[3]。角膜移植手术主要包括穿透性角膜移植术、板层角膜移植术、角膜内皮移植术[2],其他新兴的治疗方法包括飞秒激光辅助手术和应用人工生物角膜进行移植手术等[4],本文就这些术式及人工生物角膜材料的最新进展进行了综述。

2. 穿透性角膜移植术

穿透性角膜移植术(Penetrating Keratoplasty, PK)是将病变角膜全层(包括内皮层)由健康的供体角膜进行替换的角膜移植手术,为目前最常用的角膜移植手术类型[5]。PK 按治疗目的可分为治疗性、美容性、光学性和成形性手术,适应症较广,主要包括感染性角膜炎、角膜白斑、角膜变性、角膜营养不良、各种原因所致的角膜混浊、大泡性角膜病变、圆锥角膜以及移植手术失败后的二次手术等[6]。由于角膜内皮细胞再生能力有限,因此 PK 要求角膜植片内皮细胞活性保存良好,必须使用新鲜的供体角膜进行移植,且角膜植片必须在特殊的保存溶液中储存以减少内皮细胞损失率[7]。PK 的手术过程要求较为严格,手术成功的关键是充分降低眼内压、不损害患者眼内组织和保持角膜植片内皮的完整[8]。

PK 的主要优点是术后视力恢复良好,出现术后散光的机率较低[6]。但由于 PK 属于开放性手术,在手术过程中眼内容物暴露于外界,可能导致眼内感染、眼内容物膨出、暴发性脉络膜出血等严重并发症[4]。此外,由于 PK 破坏了眼睛的结构及免疫完整性,术后容易发生角膜缝线处切口开裂以及角膜内皮移植排斥反应等并发症[9]。

PK 术后角膜存活率取决于多种因素,其中供体角膜内皮细胞的损失是导致移植失败的最常见原因,约占 24%~45%,然而影响供体内皮细胞存活率的因素尚未完全了解[10]。PK 手术失败的另一个主要原因是原发病的复发,通常发生于顽固性眼表疾病和感染性角膜炎患者中。PK 术后角膜存活率还取决于是否发生免疫排斥反应[11]。此外,在没有发生排斥反应的情况下,PK 晚期失败的常见原因是术后供体角膜内皮细胞的慢性进行性丢失[12]。

3. 板层角膜移植术

板层角膜移植术(Lamellar Keratoplasty, LK)通常指的是保留一定厚度的健康角膜层(包括后弹力层和

内皮)、仅替换病变角膜基质的角膜移植手术[13]。LK 主要适应于圆锥角膜、角膜混浊、角膜变性、感染性角膜炎等疾病。

3.1. 前板层角膜移植术

前板层角膜移植术(Anterior Lamellar Keratoplasty, ALK)是指进行浅层角膜基质替换的角膜移植手术。与 PK 相比, ALK 最大的优点就是它保留了宿主自身的角膜内皮,从而避免了角膜内皮移植排斥反应,并延长了角膜植片的存活时间,因而手术成功率较 PK 更高。由于其基本不损伤内皮,术后慢性内皮损失的发生率也降低了。并且由于 ALK 手术时主要去除角膜浅层病变组织,保留底部的后弹力层和内皮层,因此眼内容物无需与外界接触,降低了眼内感染和术中出血的潜在风险。同时 ALK 保留了术眼结构的完整性,从而降低了外伤性角膜植片破裂的风险。此外,由于 ALK 仅移植角膜基质层,因此 ALK 无需要求新鲜的供体角膜,用于 ALK 手术的供体角膜基质可以低温长期冷冻保存[14]。然而,在 ALK 手术中,由于角膜植片和植床之间不光滑的基质接触面引起术后散光以及可能形成的基质瘢痕有可能会影响术后最佳矫正视力[15]。

3.2. 深板层角膜移植术

深板层角膜移植术(Deep Anterior Lamellar Keratoplasty, DALK)是 ALK 的一种变型术式。DALK 手术过程中受体角膜的基质层被完全替换而不损伤后弹力层及内皮层,在保留了 ALK 手术所有优点的同时由于避免了受体角膜基质-供体角膜基质不光滑的接触面而可以有效改善 ALK 术后散光、基质瘢痕等问题[13]。有研究表明 DALK 术后视力提高程度与 PK 相当[16]。DALK 主要适用于圆锥角膜、角膜基质营养不良、角膜白斑、角膜皮样瘤、感染或免疫性疾病所致的角膜溃疡(未达内皮层)等各种基质深部混浊但内皮功能完好的角膜病[17]。

DALK 手术的关键在于去除受体角膜的所有基质层,顺利的暴露光滑的后弹力层。由于后弹力层厚度仅有 10 μm , DALK 手术在这层薄膜上进行操作,且须保证其完整性,因此对于手术者的手术技巧要求非常严格[18]。DALK 术中特有的并发症包括后弹力层微穿孔(仍可继续行 DALK 手术治疗),后弹力层大穿孔(需转行 PK 手术治疗),术后假性前房、以及植片-植床接触面异常(后弹力层前仍残留少许基质导致)这都与基质层与后弹力层的分离困难相关[19]。

为了提高 DALK 手术成功率及降低并发症的发生率,专家们进行了各种技术的改良,包括最传统的手工逐层剖切、基质内注入生理盐水辅助剖切、基质内注气辅助基质剖切、Melles 技术、基质内注入粘弹剂辅助基质分离、大气泡法辅助 DALK 手术、飞秒激光辅助 DALK 手术等。

3.2.1. 手工分离 DALK 手术

手工分离 DALK 手术是指先用合适大小的环钻钻取 60%~80%深度的角膜基质,随后用刀片轻轻分离底层基质,多次进行角膜板层剥离,直至暴露后弹力层后将植片与植床对位缝合,为最传统的 DALK 术式[20]。然而手工分离 DALK 手术难度较大,发生后弹力层穿孔的风险较高。其次,由于手法剥离较为粗糙,难以去除所有的角膜基质,因而植片与植床间不光滑的基质接触面可能影响术后最佳矫正视力[21]。

3.2.2. 生理盐水辅助 DALK 手术

生理盐水辅助 DALK 手术指首先使用环钻钻取约 80%深度的角膜基质,随后在在基质层内注入生理盐水,以促进角膜基质与后弹力层分离,然后钝性逐层分离直至暴露后弹力层,再将不含内皮和后弹力层的植片对位缝合于植床上[22]。

3.2.3. 粘弹剂辅助 DALK 手术

粘弹剂辅助 DALK 手术是指在钻取 80~90%深度的角膜基质后用刀片分离角膜基质, 再向角膜基质囊袋内注入粘弹剂, 使后弹力层和基质层分离, 再轻轻将基质层去除后缝合植片和植床[23]。但使用粘弹剂的主要缺点是难以判断是否彻底将后弹力层和基质层分离开来, 并且手术过程中可能发生粘弹剂残留[24]。

3.2.4. 大气泡法辅助 DALK 手术

大气泡法辅助 DALK 手术由 Anwar 和 Teichmann 在 2002 年提出, 为目前 DALK 手术中最常用的技术之一, 其主要过程如下: 先用环钻钻取一定厚度的角膜基质层, 随后用一个 25 G 或 27 G 的针头斜面向下自环钻沟槽边缘几乎平行地伸入植床基质中央靠近后弹力层处, 快速注入适量的空气, 从而在剩余的角膜基质和后弹力层之间形成一个白色圆形的大气泡, 帮助角膜基质层与后弹力层分离。先将前部基质层小心剖切掉一定厚度, 仅剩余大气泡表面一层基质, 用尖刀片小心地在植床中央位置将气泡表面的基质层挑破, 再将剩余基质层剖切干净, 只剩下光滑的后弹力层及内皮层。最后将去除后弹力层和内皮的供体角膜植片缝至植床上[25]。大气泡法是 DALK 手术最常用的技术之一。

4. 角膜内皮移植术

角膜内皮移植术(Endothelial Keratoplasty, EK)是指保留健康的角膜上皮层、前弹力层和基质层, 仅替换病变的角膜内皮层及后弹力层的角膜移植手术。EK 通过从角膜缘处小切口进入完成眼内手术, 因此保持了眼睛的完整性, 损伤小, 较为安全, 术中发生角膜穿孔的概率小, 并降低了术后散光的发生率[26]。EK 目前已成为各种角膜内皮病变包括大泡性角膜病变、Fuchs 角膜内皮营养不良、先天性遗传性内皮营养不良、角膜内皮失代偿、虹膜角膜内皮综合症等的首选治疗方法[27]。EK 的各种术式发展如下:

4.1. 深板层角膜内皮移植术

深板层角膜内皮移植术(Deep Lamellar Endothelial Keratoplasty, DLEK)由 Terry 和 Ousley 于 2001 年提出, 通过角膜缘处切口将角膜后板层组织(包括后角膜基质层、后弹力层和内皮层)取下后, 植入合适大小的角膜植片, 并通过前房内注入气泡使植片与植床贴合[28]。

4.2. 后弹力层剥除角膜内皮移植术

后弹力层剥除角膜内皮移植术(Descemet's Stripping Endothelial Keratoplasty, DSEK)由 Price 于 2005 年提出, 指通过角膜缘处切口将角膜内皮层和后弹力层去除后, 植入含有角膜内皮层、后弹力层和较薄的后角膜基质层的植片进行移植[29]。DSEK 为目前广泛使用的术式, 其最主要优点是切口较小, 术后视力恢复较快, 角膜散光发生率下降。

4.3. 自动角膜刀取材的后弹力层撕除内皮移植术

自动角膜刀取材的后弹力层撕除内皮移植术(Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty, DSAEK)是 DSEK 的改进术式, 指采用微型角膜刀代替手工解剖, 制作厚度约 300 μm 含角膜内皮层、后弹力层和部分后角膜基质层的植片进行角膜移植[30]。

4.4. 后弹力层角膜内皮细胞移植术

后弹力层角膜内皮细胞移植术(Descemet's Membrane Endothelial Keratoplasty, DMEK)由 Melles 于 2006 年提出, 指将患者的角膜内皮层和后弹力层去除后, 植入仅含角膜内皮层和后弹力层的植片进行移植[31]。其主要优点是术后植片-植床界面符合角膜生理结构构造, 排斥反应发生率下降[32]。但由于

DMEK 术中使用的植片仅含角膜内皮层和后弹力层，为一透明薄膜，取下后植片易卷曲，将其植入前房内时，植片的正反难以判断且植片难以展开，术中可能损伤角膜内皮细胞，且术后易发生植片脱位，因此 DMEK 手术具有一定难度，对手术医生技术要求较高[33]。

4.5. 微型角膜刀自动角膜内皮移植术

微型角膜刀自动角膜内皮移植(Descemet's Membrane Automated Endothelial Keratoplasty, DMAEK)是 DMEK 和 DSAEK 的混合技术，指的是采用微型角膜刀代替手工解剖，制作仅含角膜内皮层、后弹力层植片用来进行角膜移植[34]。

4.6. 角膜内皮细胞治疗

除了上述内皮移植手术方式外，目前角膜内皮细胞治疗正在积极开展中，细胞治疗的关键是将培养的角膜内皮细胞移植到患者角膜内皮面[35]。在很长一段时间内，角膜内皮细胞的体外培养遇到了接触抑制以及内皮-间充质转化的问题[36]，但近年来随着对角膜内皮细胞生物学的研究进展，角膜内皮细胞的体外培养现已成为可能。研究显示，rho 相关蛋白激酶(ROCK)抑制剂能够在体外刺激角膜内皮细胞增殖并解除其接触抑制[37]。日本 Kinoshita 团队研究发现，通过前房注射使用 rho 相关蛋白激酶(ROCK)抑制剂培养的人角膜内皮细胞治疗大泡性角膜病变，取得了较好的疗效，术后角膜内皮密度增多，角膜透明度恢复，平均最佳矫正视力提高超过两行，未发现不良反应[38]。但该临床研究样本量有限，因此关于角膜内皮细胞治疗的应用前景仍需进一步研究。

5. 飞秒激光辅助角膜移植手术

除了上述手工解剖、使用角膜板层刀等方法外，还可以使用飞秒激光技术辅助角膜移植手术。飞秒激光通过极短时间内释放超短脉冲红外线激光，可以精确的切割角膜组织[39]。飞秒激光技术现已在激光原位角膜磨镶术(Laser-Assisted in-situ Keratomileusis, LASIK)中得到了广泛应用[40]。近年来，飞秒激光在角膜移植领域的应用也开始得到较大的关注，一系列飞秒激光辅助角膜移植手术现已得到了开展，包括飞秒激光辅助 PK、飞秒激光辅助 LK、以及飞秒激光辅助 EK 等。

5.1. 飞秒激光辅助 PK 手术

传统 PK 手术难以实现对角膜植床和植片形状的精准控制，而飞秒激光能够根据患者角膜病变部位和大小，通过设定一定的激光参数对供体、受体角膜进行精确切割，从而获得最佳形状、大小的植床植片，甚至完成某些特殊的切割角度和切割形状，包括某些“倒蘑菇形”、“高帽形”、“之字形”等特殊形状的植床和植片[41] [42] [43]。飞秒激光辅助 PK 手术能够为不同患者制定最适方案，其精确性是传统的手工切削移植手术无法实现的[44]。

5.2. 飞秒激光辅助 LK 手术

飞秒激光辅助 LK 手术首先通过飞秒激光依据患者角膜病变范围切削一定深度的角膜板层以制备植床，再通过飞秒激光依据植床深度切削供体角膜以制备植片，随后将植片-植床对位缝合，完成板层移植手术。使用飞秒激光能供精确切削深度，且切削面光滑、周边切面垂直，能够实现植片-植床的精准对位吻合，有利于术后视力恢复[45] [46]。

飞秒激光辅助 DALK 手术现已得到开展，DALK 手术由于需要在厚度仅为 10 μm 的后弹力层上完成高难度的角膜基质切削，因而手术过程中常常存在角膜基质残留以及后弹力层穿孔，而飞秒激光能够精准的控制切削深度，因此能够有效去除所有的角膜基质同时减少后弹力层穿孔的发生率[47]。并有研究显

示, 飞秒激光辅助 DALK 手术发生术后散光情况较少[48]。此外, 还有研究显示, 飞秒激光辅助 DALK 手术恢复较快, 可以更早的拆除缝线[49]。

5.3. 飞秒激光辅助 EK 手术

飞秒激光辅助 EK 手术是通过飞秒激光切割、制备角膜植片, 再将植片通过角膜缘处切口进行角膜内皮移植。飞秒激光可使植片切削面更为光滑, 从而有助于植片 - 植床的贴合[50]。研究显示, 飞秒激光辅助 DSAEK 手术术后 1 年内角膜内皮细胞损伤保持相对稳定, 表明飞秒激光制备角膜植片是安全的[51]。但也有研究显示, 飞秒激光辅助 DSEK 手术术后最佳矫正视力下降, 这可能是由于早期使用的飞秒激光能量过大, 造成切面粗糙导致的[52]。飞秒激光在 EK 手术中的效果还需更多的临床试验进行验证。

6. 人工生物角膜材料研究进展

由于角膜捐献供体数量的严重匮乏导致很多角膜病患者在等待中失去了复明的唯一希望[53]。因此, 寻找到一种合适的替代产品来代替供体角膜的迫在眉睫。人工生物合成的角膜替代物相比天然人体角膜具有以下显著优势: 可大规模生产, 为解决全球供体角膜的严重短缺这一问题提供了一个强有力的潜在解决方案; 严格地控制生产过程能够确保完全无菌化; 低抗原性的人工生物材料可以避免由同种异体角膜移植所引起的免疫排斥反应; 定制化的角膜替代物可以使患者获得最佳的术后视力[54]。近年来生物材料的迅速发展有助于高质量角膜替代物的构建。

6.1. 聚甲基丙烯酸甲酯材料

传统的人工角膜材料由聚甲基丙烯酸甲酯(Polymethyl Methacrylate, PMMA)构成, 主要有 3 种类型: 波士顿人工角膜、骨 - 齿型人工角膜以及俄罗斯 MICOF 人工角膜。这 3 种人工角膜材料主要适用于无法进行角膜移植的严重角膜盲患者, 包括严重化学伤、热烧伤、Stevens-Johnson 综合征、干燥综合征和眼外伤等眼表严重紊乱、严重新生血管化的患者[55]。但使用这三种类型的人工角膜都有发生严重并发症的高风险, 如钙化、青光眼、镜后膜形成、视网膜脱离、角膜溶解等[54]。

6.1.1. 波士顿人工角膜

波士顿人工角膜分为 I 型和 II 型, 均由 PMMA 作为中央角膜光学柱镜, 周围连接一个钛固定环, 但使用波士顿人工角膜需要使用供体角膜进行连接。I 型和 II 型区别是 II 型中的光学柱镜较 I 型前凸约 1~2 mm。波士顿 I 型人工角膜为目前使用最多的人工角膜之一[56]。使用波士顿人工角膜进行角膜移植最主要的术后并发症是镜柱后膜形成, 其他包括视网膜脱离、玻璃体积血、青光眼、无菌性玻璃体炎以及角膜溶解等[57]。

6.1.2. 骨 - 齿型人工角膜

骨 - 齿型人工角膜(Osteo-Odonto Keratoprosthesis, OOKP)由中央的 PMMA 光学柱镜和周围的自体牙齿支架组合构成。使用 OOKP 进行角膜移植最常见的术中并发症是玻璃体出血, 最常见的长期致盲并发症是发生继发性青光眼[58]。由于 OOKP 需要使用自体牙齿作为支架, 制备过程较为繁琐, 应用范围有限。

6.1.3. 俄罗斯 MICOF 人工角膜

俄罗斯 MICOF 人工角膜来自俄罗斯费德洛夫眼外科中心, 与波士顿人工角膜一样, 均由 PMMA 和钛固定环组合而成, 但无需使用供体角膜[59]。目前, 我国、俄罗斯和一些东欧国家在使用俄罗斯 MICOF

人工角膜, 但其应用范围有限[60]。

6.2. 脱细胞猪角膜基质

脱细胞猪角膜基质(Acellular Porcine Corneal Stroma, APCS)通过去除猪角膜的细胞成分, 同时保留尽量多的天然细胞外基质而获得可用于移植的角膜植片。APCS 在直径、厚度、屈光状态和低免疫源性方面均表现出良好的支架潜能, 因此可作为供体角膜的一种合适的替代物[61]。许多临床研究现已证明了 APCS 在治疗感染性角膜炎方面已获得了成功。Zhang 等对 47 例真菌性角膜炎患者使用 APCS 进行了板层角膜移植, 证明了 APCSs 在人类角膜移植术中的安全性和有效性。他们随访 6 个月后发现除了有 4 个 APCS 植片溶解外, 其他所有植片均上皮化, 大部分植片逐渐变得透明, 角膜溃疡全部愈合, 未发生排斥反应, 无感染复发, 并且平均最佳矫正视力获得了超过两行的改善[62]。Zheng 等对单纯疱疹性角膜炎患者使用 APCS 进行板层角膜移植术, 结果显示 APCS 在角膜透明度、新生血管化、视力等方面均有改善, 证明使用 APCS 进行角膜移植对治疗单纯疱疹性角膜炎是有效的[63]。

但目前 APCS 仍具有一些缺点, 还不能完全地替代捐献的供体角膜。与天然人体角膜相比, 猪角膜具有相似的弹性, 但是它的硬度比天然角膜更低[64]。研究发现, 在使用 APCS 进行板层角膜移植后出现了角膜钙化, 在角膜中央处遮挡瞳孔可能会影响视力[65]。Li 等人发现使用 APCS 进行板层角膜移植术后的角膜厚度下降, 这可能是由于 APCS 中胶原蛋白的降解导致的[66]。

由于许多国家严重缺乏供体角膜, 当紧急情况下找不到供体角膜时, 可以通过使用 APCS 实施角膜移植术作为保住眼球的替代方案。然而, 在最近的一项研究中, 将 APCS 应用于外周角膜移植术中可能导致术后持续性上皮缺损和无菌角化溶解[67], 因此 APCS 不适用于治疗周围角膜疾病。此外, 猪-人异种移植存在传播猪源性传染性病的风险[68], 因此在制备过程中必须完全去除异种抗原并彻底灭菌。

6.3. 胶原支架

使用交联胶原支架可以模拟天然角膜基质, 交联胶原支架现已被广泛证明可以作为生物工程角膜的潜在支架, 主要包括胶原凝胶、胶原海绵、电纺纤维支架和蚕丝蛋白等类型。

6.3.1. 胶原凝胶

胶原凝胶是由胶原纤维网络构成的凝胶, 可作为载体, 达到运输细胞或药物的目的, 但所有的胶原凝胶都需要进行交联才能增加其稳定性并减少其体内降解[69]。一些交联剂(如戊二醛)可有效增加胶原支架的稳定性, 但可能具有细胞毒性作用[70]。另一种无细胞毒性的交联剂是 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, EDC), 它能激活交联过程, 但不会掺入最终产品中[71]。在一项临床试验中, 使用 EDC/N-羟基琥珀酰亚胺交联的重组人胶原(Recombinant Human Collagen, RHC) III 型支架进行板层角膜移植, 所有患者均观察到上皮再生, 约 9 个月后上皮下神经和基质细胞长入支架中, 长期随访研究证实所有植入物保持稳定、无新生血管长入[72]。

6.3.2. 胶原海绵

此外, 胶原海绵目前也在研究中, 相比于胶原凝胶, 胶原海绵由于其特殊微观结构使其机械性能和支架透明度上更优越。胶原海绵由胶原纤维的多孔网络组成, 在胶原海绵的生产过程中能够人工控制成分、强度和孔隙率, 其中最常用的材料是 I 型牛胶原蛋白, 它在生产过程中首先被脱水然后进行交联[73]。胶原海绵的主要优点之一是它们的多孔性, 相比于胶原水凝胶, 胶原海绵能够使角膜基质细胞更好地穿透支架, 从而有助于体内角膜基质再生[74]。研究显示, 胶原海绵与胶原凝胶相比, 其透光率明显更高[75]。

6.3.3. 电纺纤维支架

电纺纤维支架是通过用静电纺丝法制造纳米纤维胶原网, Wray 和 Orwin 通过静电纺丝技术获得了均匀排列的 I 型胶原纤维, 该方法复制了天然角膜中 I 型胶原纤维的独特形态和排列, 在离体试验中显示角膜成纤维细胞能够沿纤维排列轴伸长, 证明了这种电纺纤维支架能够模拟体内角膜基质的微结构, 为替代供体角膜基质提供了一种可行的方案[76]。

此外, 3D 打印技术现已成功用于构建电纺纤维支架。Frank 等创造了一台定制的静电纺丝 3D 打印机, 通过设定静电纺丝参数(电压, 相对湿度和乙酸浓度)来自动控制打印过程, 并能实时监测相对湿度和静电纺丝电流, 成功用于构建电纺纤维支架[77]。Gibney 等人发现角膜基质细胞能在 3D 打印支架上成功生长, 并能观察到细胞穿透胶原, 为角膜再生带来了新的治疗策略[78]。

6.3.4. 蚕丝蛋白

蚕丝蛋白是从蚕茧中获得、纯化后的纤维蛋白, 可用于形成从超薄膜到多孔海绵的一系列支架结构。蚕丝蛋白膜已被证明能够成功培养人角膜缘上皮细胞, 因此具有作为角膜再生生物材料的巨大潜力[79]。但由于蚕丝蛋白的透明度随着厚度的增加而降低, 使其仅适合作为角膜缘和巩膜细胞的支架, 而不适用于透明度至关重要的中央或全厚度基质再生支架[80]。

6.4. 组织工程角膜

组织工程角膜(tissue-engineered cornea)是将体外培养的种子细胞(包括角膜上皮细胞、基质细胞和内皮细胞)种植在具有与天然角膜相似的力学、光学性能的支架材料上, 再通过体外三维培养获得形态与功能与天然角膜相近的替代品, 从而应用于临床治疗以及基础研究[81]。Guo 等研究发现, 在加入维生素 C 衍生物的刺激下, 能够在五周的时间内诱导角膜基质细胞形成细胞外基质, 组装的细胞外基质由平行排列的胶原纤维组成[82]。Builles 等人证明, 在自组装过程中, 胶原纤维的排列可以通过使用磁场来实现[83]。Proulx 等人通过对角膜中天然存在的所有三种细胞类型使用自组装方法重建了角膜, 自组装基质构建体的两侧接种有角膜上皮细胞或内皮细胞, 并成功移植于动物模型中, 证明了组织工程角膜的可行性[84]。

人工生物角膜为全球供体角膜匮乏问题以及使用供体组织的传统角膜移植所遇到的大多数限制(如排斥、表面不规则性和质量控制等)提供了新的解决方案[85]。但目前人工生物角膜技术相对较新, 仍有许多未知有待探索, 例如防止瘢痕形成, 促进再上皮化的表面涂层, 以及与细胞、微生物或分子特异性相互作用的功能化, 从而更好地保护角膜免受胶原酶的损伤、感染和血管化。为了使人工角膜临床移植大规模应用, 需明确对所开发的植入物进行系统和详细的描述, 因此所有的临床前研究应包括对移植材料的透明性、硬度和抗缝合性、生物相容性、形状控制、时间稳定性、术后视觉功能评估以及感染率等均应进行描述[54]。

7. 结论

角膜移植手术历经长时间发展, 在手术方式、器材选用和技术上不断改进完善, 目前角膜移植可选用的术式种类繁多, 各种手术方式都有其优缺点, 使眼科医生能够根据角膜病变的不同部位进行针对性的有效手术(见表 1)。近年来飞秒激光技术在角膜移植领域的应用也不断提升了角膜移植手术的精确性。但各种角膜移植术式均依赖于捐献的供体角膜数量, 因此难以对广大角膜盲患者进行治疗。目前, 关于人工生物角膜材料的研究正在积极开展中, 但关于人工生物角膜材料的安全性和有效性仍需更进一步的研究和观察。

Table 1. Comparison of different corneal transplantation methods**表 1.** 角膜移植手术方式优缺点对比

角膜移植手术方式	优点	缺点
PK	适应症较广，术后视力恢复良好，出现术后散光的机率较低。	必须使用新鲜的供体角膜进行移植；开放性手术，可能导致眼内感染、眼内容物膨出、暴发性脉络膜出血等严重并发症；破坏了眼睛的结构及免疫完整性，术后容易发生角膜缝线处切口开裂以及角膜内皮移植排斥反应等并发症。
ALK	避免了角膜内皮移植排斥反应，因而手术成功率较 PK 更高；术中眼内容物无需与外界接触，降低了眼内感染和术中出血的潜在风险；保留了术眼结构的完整性，从而降低了外伤性角膜植片破裂的风险；对供体角膜的内皮无要求，供体角膜可以低温长期冷冻保存。	仅适用于浅层角膜基质病变；角膜植片和植床之间不光滑的基质接触面可能会导致较大的术后散光；可能形成的基质瘢痕会影响术后最佳矫正视力。
DALK	保留 ALK 所有的优点的同时可以有效改善 ALK 术后散光、基质瘢痕等问题，术后视力效果与 PK 相当。可适用于深部角膜基质病变。	对于手术者的手术技巧要求非常高；术中特有的并发症包括后弹力层微穿孔，后弹力层大穿孔，术后假性前房、以及植片-植床接触面异常(后弹力层前仍残留少许基质导致)。
EK	适用于各种基质健康的角膜内皮病变；保持了眼睛的完整性，损伤小，较为安全，术中发生角膜穿孔的概率小，并降低了术后散光的发生率。	必须使用新鲜的供体角膜进行移植；对手术医生技术要求较高；术后主要并发症包括角膜内皮移植排斥反应、植片脱位。
激光辅助角膜移植术	精确性高，安全性好，微创伤。	适应症范围较窄，疗效不确切，设备昂贵，个性化设计缺乏大数据支持。
人工生物角膜	可大规模生产；能够确保完全无菌化；低抗原性的人工生物材料可以避免免疫排斥反应；定制化的角膜替代物可以使患者获得最佳的术后视力。	安全性和有效性仍需更进一步的研究和观察。

基金项目

本研究得到国家自然科学基金(82070934)、协和医院研究基金(2018xhyn106)的资助。

参考文献

- [1] Flaxman, S.R., Bourne, R.R.A., Resnikoff, S., Ackland, P., Braithwaite, T., Cicinelli, M.V., *et al.* (2017) Global Causes of Blindness and Distance Vision Impairment 1990-2020: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Lancet Global Health*, **5**, e1221-e1234. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(17\)30393-5](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(17)30393-5)
- [2] Tan, D.T., Dart, J.K.G., Holland, E.J. and Kinoshita, S. (2012) Corneal Transplantation. *Lancet*, **379**, 1749-1761. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60437-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60437-1)
- [3] Ilhan-Sarac, O. and Akpek, E.K. (2005) Current Concepts and Techniques in Keratoprosthesis. *Current Opinion in Ophthalmology*, **16**, 246-250. <https://doi.org/10.1097/01.icu.0000172829.33770.d3>
- [4] Singh, R., Gupta, N., Vanathi, M. and Tandon, R. (2019) Corneal Transplantation in the Modern Era. *Indian Journal of Medical Research*, **150**, 7-22. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_141_19
- [5] Andrew Frost, N., Wu, J., Lai, T.F. and Coster, D.J. (2006) A Review of Randomized Controlled Trials of Penetrating

- Keratoplasty Techniques. *Ophthalmology*, **113**, 942-949. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2006.03.003>
- [6] 卞婕, 杨勤. 穿透性角膜移植术的研究进展[J]. 江苏医药, 2016, 42(7): 816-818.
- [7] Yüksel, B., Uzunel, U.D. and Küsbeci, T. (2016) Endothelial Cell Viability of Donor Corneas Preserved in Eusol-C Corneal Storage Medium. *Experimental and Clinical Transplantation*, **14**, 441-444. <https://doi.org/10.6002/ect.2014.0295>
- [8] Chua, A., Chua, M.J. and Kam, P. (2018) Recent Advances and Anaesthetic Considerations in Corneal Transplantation. *Anaesthesia and Intensive Care*, **46**, 162-170. <https://doi.org/10.1177%2F0310057X1804600204>
- [9] 张冰洁, 等. 角膜移植的研究进展[J]. 国际眼科杂志, 2015, 15(6): 989-992.
- [10] Mannis, M.J., Holland, E.J., Gal, R.L., Mannis, M.J., Kollman, C., Raghinaru, D., et al. (2013) The Effect of Donor Age on Penetrating Keratoplasty for Endothelial Disease. *Ophthalmology*, **120**, 2419-2427. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2013.08.026>
- [11] Sellami, D., Abid, S., Bouaouaja, G., Ben Amor, S., Kammoun, B., Masmoudi, M., et al. (2007) Epidemiology and Risk Factors for Corneal Graft Rejection. *Transplantation Proceedings*, **39**, 2609-2611. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2007.08.020>
- [12] Kelly, T.-L., Williams, K.A. and Coster, D.J. (2011) Corneal Transplantation for Keratoconus: A Registry Study. *Archives of Ophthalmology*, **129**, 691-697. <https://doi.org/10.1001/archophthalmol.2011.7>
- [13] Federico, L.-G., Tan, D.T. and Mehta, J.S. (2011) Evolution of Deep Anterior Lamellar Keratoplasty (DALK). *Ocular Surface*, **9**, 98-110. [https://doi.org/10.1016/S1542-0124\(11\)70017-9](https://doi.org/10.1016/S1542-0124(11)70017-9)
- [14] Xie, H.T., Li, J., Liu, Y., Jiang, D.L., Shen, R.F. and Zhang, M.C. (2018) Cryopreserved Limbal Lamellar Keratoplasty for Peripheral Corneal and Limbal Reconstruction. *International Journal of Ophthalmology*, **11**, 699-702. <https://doi.org/10.18240/ijo.2018.04.27>
- [15] Singh, N.P., Said, D.G. and Dua, H.S. (2018) Lamellar Keratoplasty Techniques. *Indian Journal of Ophthalmology*, **66**, 1239-1250. https://doi.org/10.4103/ijo.IJO_95_18
- [16] Song, Y., Zhang, J. and Pan, Z. (2020) Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Outcomes of Penetrating Keratoplasty versus Deep Anterior Lamellar Keratoplasty for Keratoconus. *Experimental and Clinical Transplantation*, **18**, 417-428. <https://doi.org/10.6002/ect.2019.0123>
- [17] Henein, C. and Nanavaty, M.A. (2017) Systematic Review Comparing Penetrating Keratoplasty and Deep Anterior Lamellar Keratoplasty for Management of Keratoconus. *Contact Lens and Anterior Eye*, **40**, 3-14. <https://doi.org/10.1016/j.clae.2016.10.001>
- [18] Sugita, J. and Kondo, J. (1997) Deep Lamellar Keratoplasty with Complete Removal of Pathological Stroma for Vision Improvement. *British Journal of Ophthalmology*, **81**, 184-188. <https://doi.org/10.1136/bjo.81.3.184>
- [19] Coombes, A.G.A., Kirwan, J.F. and Rostron, C.K. (2001) Deep Lamellar Keratoplasty with Lyophilised Tissue in the Management of Keratoconus. *British Journal of Ophthalmology*, **85**, 788-791. <https://doi.org/10.1136/bjo.85.7.788>
- [20] Anwar, M. (1972) Dissection Technique in Lamellar Keratoplasty. *British Journal of Ophthalmology*, **56**, 711-713. <https://doi.org/10.1136/bjo.56.9.711>
- [21] Shimazaki, J., Shimmura, S., Ishioka, M. and Tsubota, K. (2002) Randomized Clinical Trial of Deep Lamellar Keratoplasty vs Penetrating Keratoplasty. *American Journal of Ophthalmology*, **134**, 159-165. [https://doi.org/10.1016/S0002-9394\(02\)01523-4](https://doi.org/10.1016/S0002-9394(02)01523-4)
- [22] Amayem, A.F. and Anwar, M. (2000) Fluid Lamellar Keratoplasty in Keratoconus. *Ophthalmology*, **107**, 76-79. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(99\)00002-0](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(99)00002-0)
- [23] Manche, E.E. Holland, G.N. and Maloney, R.K. (1999) Deep Lamellar Keratoplasty Using Viscoelastic Dissection. *Archives of Ophthalmology*, **117**, 1561-1565. <https://doi.org/10.1001/archophth.117.11.1561>
- [24] Bhojwani, R.D., Noble, B., Chakrabarty, A.K. and Stewart, O.G. (2003) Sequestered Viscoelastic after Deep Lamellar Keratoplasty Using Viscodissection. *Cornea*, **22**, 371-373. <https://doi.org/10.1097/00003226-200305000-00017>
- [25] Anwar, M. and Teichmann, K.D. (2002) Big-Bubble Technique to Bare Descemet's Membrane in Anterior Lamellar Keratoplasty. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, **28**, 398-403. [https://doi.org/10.1016/S0886-3350\(01\)01181-6](https://doi.org/10.1016/S0886-3350(01)01181-6)
- [26] Park, C.Y., Lee, J.K., Gore, P.K., Lim, C.-Y. and Chuck, R.S. (2015) Keratoplasty in the United States. *Ophthalmology*, **122**, 2432-2442. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2015.08.017>
- [27] Anshu, A., Price, M.O., Tan, D.T.H. and Price Jr., F.W. (2012) Endothelial Keratoplasty: A Revolution in Evolution. *Survey of Ophthalmology*, **57**, 236-252. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2011.10.005>
- [28] Terry, M.A. and Ousley, P.J. (2001) Deep Lamellar Endothelial Keratoplasty in the First United States Patients: Early Clinical Results. *Cornea*, **20**, 239-243. <https://doi.org/10.1097/00003226-200104000-00001>

- [29] Price Jr., F.W. and Price, M.O. (2005) Descemet's Stripping with Endothelial Keratoplasty in 50 Eyes: A Refractive Neutral Corneal Transplant. *Journal of Refractive Surgery*, **21**, 339-345. <https://doi.org/10.3928/1081-597X-20050701-07>
- [30] Woodward, M.A., *et al.* (2012) Corneal Donor Tissue Preparation for Endothelial Keratoplasty. *Journal of Visualized Experiments*, No. 64, e3847. <https://doi.org/10.3791/3847>
- [31] Lu, P., Li, L., Mukaida, N. and Zhang, X. (2007) Alkali-Induced Corneal Neovascularization Is Independent of CXCR2-Mediated Neutrophil Infiltration. *Cornea*, **26**, 199-206. <https://doi.org/10.1097/01.icc.0000248385.16896.34>
- [32] Anshu, A., Price, M.O. and Price, F.W. (2012) Risk of Corneal Transplant Rejection Significantly Reduced with Descemet's Membrane Endothelial Keratoplasty. *Ophthalmology*, **119**, 536-540. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2011.09.019>
- [33] Guerra, F.P., Anshu, A., Price, M.O., Giebel, A.W. and Price, F.W. (2011) Descemet's Membrane Endothelial Keratoplasty Prospective Study of 1-Year Visual Outcomes, Graft Survival, and Endothelial Cell Loss. *Ophthalmology*, **118**, 2368-2373. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2011.06.002>
- [34] McCauley, M.B., Price, F.W. and Price, M.O. (2009) Descemet Membrane Automated Endothelial Keratoplasty Hybrid Technique Combining DSAEK Stability with DMEK Visual Results. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, **35**, 1659-1664. <https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2009.05.034>
- [35] Mimura, T., Yamagami, S. and Amano, S. (2013) Corneal Endothelial Regeneration and Tissue Engineering. *Progress in Retinal and Eye Research*, **35**, 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2013.01.003>
- [36] Ljubimov, A.V. and Saghizadeh, M. (2015) Progress in Corneal Wound Healing. *Progress in Retinal and Eye Research*, **49**, 17-45. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2015.07.002>
- [37] Okumura, N., Inoue, R., Okazaki, Y., Nakano, S., Nakagawa, H., Kinoshita, S., *et al.* (2015) Effect of the Rho Kinase Inhibitor Y-27632 on Corneal Endothelial Wound Healing. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **56**, 6067-6074. <https://doi.org/10.1167/iovs.15-17595>
- [38] Kinoshita, S., Koizumi, N., Ueno, M., Okumura, N., Imai, K., Tanaka, H., *et al.* (2018) Injection of Cultured Cells with a ROCK Inhibitor for Bullous Keratopathy. *The New England Journal of Medicine*, **378**, 995-1003. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1712770>
- [39] Cheng, Y.Y.Y., Pels, E. and Nuijts, R.M.M.A. (2007) Femtosecond-Laser-Assisted Descemet's Stripping Endothelial Keratoplasty. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, **33**, 152-155. <https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2006.07.044>
- [40] Binder, P.S. (2006) One Thousand Consecutive Intra Lase Laser *In Situ* Keratomileusis Flaps. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, **32**, 962-969. <https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2006.02.043>
- [41] Bahar, I., Kaiserman, I., Lange, A.P., Levinger, E., Sansanayudh, W., Singal, N., *et al.* (2008) Femtosecond Laser versus Manual Dissection for Top Hat Penetrating Keratoplasty. *British Journal of Ophthalmology*, **93**, 73-78. <https://doi.org/10.1136/bjo.2008.148346>
- [42] Cheng, Y.Y., Tahzib, N.G., van Rij, G., Cleynenbreugel, H., Pels, E., Hendrikse, F., *et al.* (2008) Femtosecond Laser-Assisted Inverted Mushroom Keratoplasty. *Cornea*, **27**, 679-685. <https://doi.org/10.1097/01.icc.0000611396.27289.d2>
- [43] Buratto, L. and Böhm, E. (2007) The Use of the Femtosecond Laser in Penetrating Keratoplasty. *American Journal of Ophthalmology*, **143**, 737-742.e1. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2007.01.056>
- [44] Kamiya, K., Kobashi, H., Shimizu, K. and Igarashi, A. (2014) Clinical Outcomes of Penetrating Keratoplasty Performed with the VisuMax Femtosecond Laser System and Comparison with Conventional Penetrating Keratoplasty. *PLoS ONE*, **9**, e105464. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105464>
- [45] Sarayba, M.A., Juhasz, T., Chuck, R.S., Ignacio, T.S., Nguyen, T.B., Sweet, P., *et al.* (2005) Femtosecond Laser Posterior Lamellar Keratoplasty: A Laboratory Model. *Cornea*, **24**, 328-333. <https://doi.org/10.1097/01.icc.0000138830.50112.f4>
- [46] Soong, H.K., Mian, S., Abbasi, O. and Juhasz, T. (2005) Femtosecond Laser-Assisted Posterior Lamellar keratoplasty Initial Studies of Surgical Technique in Eye Bank Eyes. *Ophthalmology*, **112**, 44-49. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2004.06.037>
- [47] Anwar, M. and Teichmann, K.D. (2002) Deep Lamellar Keratoplasty: Surgical Techniques for Anterior Lamellar Keratoplasty with and without Baring of Descemet's Membrane. *Cornea*, **21**, 374-383. <https://doi.org/10.1097/00003226-200205000-00009>
- [48] 戴鹏飞, 等. 飞秒激光辅助大泡技术深板层角膜移植治疗角膜基质层营养不良[J]. 中华眼视光学与视觉科学杂志, 2020, 22(7): 485-491.
- [49] Farid, M., Steinert, R.F., Gaster, R.N., Chamberlain, W. and Lin, A. (2009) Comparison of Penetrating Keratoplasty Performed with a Femtosecond Laser Zig-Zag Incision versus Conventional Blade Trephination. *Ophthalmology*, **116**,

- 1638-1643. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2009.05.003>
- [50] Feng, Y., Qu, H.Q., Ren, J., Prahs, P. and Hong, J. (2017) Corneal Endothelial Cell Loss in Femtosecond Laser-Assisted Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty: A 12-Month Follow-up Study. *Chinese Medical Journal*, **130**, 2927-2932. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.220320>
- [51] Cheng, Y.Y.Y., Hendrikse, F., Pels, E., Wijdh, R.-J., van Cleynenbreugel, H., Eggink, C.A., et al. (2008) Preliminary Results of Femtosecond Laser-Assisted Descemet Stripping Endothelial Keratoplasty. *Archives of Ophthalmology*, **126**, 1351-1356. <https://doi.org/10.1001/archophth.126.10.1351>
- [52] Shang, X. and Zhang, M. (2010) Body and Organ Donation in Wuhan, China. *The Lancet*, **376**, 1033-1034. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60937-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60937-3)
- [53] Brunette, I., Roberts, C.J., Vidal, F., Harissi-Dagher, M., Lachaine, J., Sheardown, H., et al. (2017) Alternatives to Eye Bank Native Tissue for Corneal Stromal Replacement. *Progress in Retinal and Eye Research*, **59**, 97-130. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2017.04.002>
- [54] Yaghouti, F., Nouri, M., Abad, J.C., Power, W.J., Doane, M.G. and Dohlman, C.H. (2001) Keratoprosthesis: Preoperative Prognostic Categories. *Cornea*, **20**, 19-23. <https://doi.org/10.1097/ICO.00003226-200101000-00003>
- [55] Ament, J.D., Stryjowski, T.P., Ciolino, J.B., Todani, A., Chodosh, J. and Dohlman, C.H. (2010) Cost-Effectiveness of the Boston Keratoprosthesis. *American Journal of Ophthalmology*, **149**, 221-228.e2. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2009.08.027>
- [56] Chew, H.F., Ayres, B.D., Hammersmith, K.M., Rapuano, C.J., Laibson, P.R., Myers, J.S., et al. (2009) Boston Keratoprosthesis Outcomes and Complications. *Cornea*, **28**, 989-996. <https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e3181a186dc>
- [57] Tan, A., Tan, D.T., Tan, X.-W. and Mehta, J.S. (2012) Osteo-Odonto Keratoprosthesis: Systematic Review of Surgical Outcomes and Complication Rates. *Ocular Surface*, **10**, 15-25. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2012.01.003>
- [58] Huang, Y., Yu, J., Du, G., Song, J. and Guo, H. (2011) Moscow Eye Microsurgery Complex in Russia Keratoprosthesis in Beijing. *Ophthalmology*, **118**, 41-46. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2010.05.019>
- [59] Ma, X., Xiang, R., Xiang, R., Qin, L., Wu, Y., Tain, L., et al. (2017) Russian Keratoprosthesis in Stevens—Johnson Syndrome. *Cornea*, **36**, 304-309. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001094>
- [60] Li, Q., Wang, H., Dai, Z., Cao, Y. and Jin, C. (2017) Preparation and Biomechanical Properties of an Acellular Porcine Corneal Stroma. *Cornea*, **36**, 1343-1351. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000001319>
- [61] Zhang, M.-C., Liu, X., Jin, Y., Jiang, D.-L., Wei, X.-S. and Xie, H.-T. (2015) Lamellar Keratoplasty Treatment of Fungal Corneal Ulcers with Acellular Porcine Corneal Stroma. *American Journal of Transplantation*, **15**, 1068-1075. <https://doi.org/10.1111/ajt.13096>
- [62] Zheng, J., Huang, X., Zhang, Y., Wang, Y., Qin, Q., Lin, L., et al. (2019) Short-Term Results of Acellular Porcine Corneal Stroma Keratoplasty for Herpes Simplex Keratitis. *Xenotransplantation*, **26**, Article No. e12509. <https://doi.org/10.1111/xen.12509>
- [63] Ahearne, M., Yang, Y., Then, K.Y. and Liu, K.-K. (2007) An Indentation Technique to Characterize the Mechanical and Viscoelastic Properties of Human and Porcine Corneas. *Annals of Biomedical Engineering*, **35**, 1608-1616. <https://doi.org/10.1007/s10439-007-9323-9>
- [64] Li, H., Dong, M., Zhou, Q., Zhao, L., Wang, F., Wang, X., et al. (2020) Corneal Calcification of Acellular Porcine Corneal Stroma Following Lamellar Keratoplasty. *Acta Ophthalmologica*. <https://doi.org/10.1111/aos.14665>
- [65] Li, S., Deng, Y., Tian, B., Huang, H., Zhang, H., Yang, R., et al. (2020) Healing Characteristics of Acellular Porcine Corneal Stroma Following Therapeutic Keratoplasty. *Xenotransplantation*, **27**, Article No. e12566. <https://doi.org/10.1111/xen.12566>
- [66] Li, S., Xiao, P., Deng, Y., Li, M., Wang, Q. and Yuan, J. (2020) Acellular Porcine Corneal Stroma May Not Be Optimal for Peripheral Keratoplasty: Reports of 2 Cases. *Cornea*, **40**, 502-505. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000002496>
- [67] Shi, W., Zhou, Q., Gao, H., Li, S., Dong, M., Wang, T., et al. (2019) Protectively Decellularized Porcine Cornea versus Human Donor Cornea for Lamellar Transplantation. *Advanced Functional Materials*, **29**, Article ID: 1902491. <https://doi.org/10.1002/adfm.201902491>
- [68] Matthyssen, S., Van den Bogerd, B., Ní Dhubhghaill, S., Koppen, C. and Zakaria, N. (2018) Corneal Regeneration: A Review of Stromal Replacements. *Acta Biomaterialia*, **69**, 31-41. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.01.023>
- [69] Doillon, C.J., Watsky, M.A., Hakim, M., Wang, J., Munger, R., Laycock, N., et al. (2003) A Collagen-Based Scaffold for a Tissue Engineered Human Cornea: Physical and Physiological Properties. *International Journal of Artificial Organs*, **26**, 764-773. <https://doi.org/10.1177%2F039139880302600810>
- [70] Fagerholm, P., Lagali, N.S., Merrett, K., Bruce Jackson, W., Munger, R., Liu, Y., et al. (2010) A Biosynthetic Alternative to Human Donor Tissue for Inducing Corneal Regeneration: 24-Month Follow-up of a Phase I Clinical Study.

- Science Translational Medicine*, **2**, 46ra61. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001022>
- [71] Fagerholm, P., Lagali, N.S., Ong, J.A., Merrett, K., Bruce Jackson, W., Polarek, J.W., *et al.* (2014) Stable Corneal Regeneration Four Years after Implantation of a Cell-Free Recombinant Human Collagen Scaffold. *Biomaterials*, **35**, 2420-2427. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.11.079>
- [72] Fagerholm, P., Lagali, N.S., Ong, J.A., Merrett, K., Bruce Jackson, W., Polarek, J.W., *et al.* (2014) Stable Corneal Regeneration Four Years after Implantation of a Cell-Free Recombinant Human Collagen Scaffold. *Biomaterials*, **35**, 2420-2427. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.11.079>
- [73] Borene, M.L., Barocas, V.H. and Hubel, A. (2004) Mechanical and Cellular Changes during Compaction of a Collagen-Sponge-Based Corneal Stromal equivalent. *Annals of Biomedical Engineering*, **32**, 274-283.
- [74] Orwin, E.J. and Hubel, A. (2000) *In Vitro* Culture Characteristics of Corneal Epithelial, Endothelial, and Keratocyte Cells in a Native Collagen Matrix. *Tissue engineering*, **6**, 307-319. <https://doi.org/10.1089/107632700418038>
- [75] Orwin, E.J., Borene, M.L. and Hubel, A. (2003) Biomechanical and Optical Characteristics of a Corneal Stromal Equivalent. *Journal of Biomechanical Engineering*, **125**, 439-444. <https://doi.org/10.1115/1.1589773>
- [76] Wray, L.S. and Orwin, E.J. (2009) Recreating the Microenvironment of the Native Cornea for Tissue Engineering Applications. *Tissue Engineering Part A*, **15**, 1463-1472. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2008.0239>
- [77] Alexander, F.A., Johnson, L., Williams, K. and Packer, K. (2019) A Parameter Study for 3D-Printing Organized Nanofibrous Collagen Scaffolds Using Direct-Write Electrospinning. *Materials*, **12**, Article No. 4131. <https://doi.org/10.3390/ma12244131>
- [78] Gibney, R., Matthyssen, S., Patterson, J., Ferraris, E. and Zakaria, N. (2017) The Human Cornea as a Model Tissue for Additive Biomanufacturing: A Review. *Procedia CIRP*, **65**, 56-63. <https://doi.org/10.1016/j.procir.2017.04.040>
- [79] Bray, L.J., George, K.A., Louise Ainscough, S., Hutmacher, D.W., Chirila, T.V. and Harkin, D.G. (2011) Human Corneal Epithelial Equivalents Constructed on *Bombyx mori* Silk Fibroin Membranes. *Biomaterials*, **32**, 5086-5091. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.03.068>
- [80] Bray, L.J., George, K.A., Hutmacher, D.W., Chirila, T.V. and Harkin, D.G. (2012) A Dual-Layer Silk Fibroin Scaffold for Reconstructing the Human Corneal Limbus. *Biomaterials*, **33**, 3529-3538. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.01.045>
- [81] Ghezzi, C.E., Rnjak-Kovacina, J. and Kaplan, D.L. (2015) Corneal Tissue Engineering: Recent Advances and Future Perspectives. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, **21**, 278-287. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2014.0397>
- [82] Guo, X., Hutcheon, A.E.K., Melotti, S.A., Zieske, J.D., Trinkaus-Randall, V. and Ruberti, J.W. (2007) Morphologic Characterization of Organized Extracellular Matrix Deposition by Ascorbic Acid Stimulated Human Corneal Fibroblasts. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **48**, 4050-4060. <https://doi.org/10.1167/iovs.06-1216>
- [83] Builles, N., Janin-Manificat, H., Malbouyres, M., Justin, V., Rovère, M.-R., Pellegrini, G., *et al.* (2010) Use of Magnetically Oriented Orthogonal Collagen Scaffolds for Hemi-Corneal Reconstruction and Regeneration. *Biomaterials*, **31**, 8313-8322. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.07.066>
- [84] Boulze Pankert, M., Goyer, B., Zaguia, F., Bareille, M., Perron, M.-C., Liu, X., *et al.* (2014) Biocompatibility and Functionality of a Tissue-Engineered Living Corneal Stroma Transplanted in the Feline Eye. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **55**, 6908-6920. <https://doi.org/10.1167/iovs.14-14720>
- [85] Guérin, L., Le-Bel, G., Desjardins, P., Couture, C., Gillard, E., Boisselier, É., *et al.* (2021) The Human Tissue-Engineered Cornea (hTEC): Recent Progress. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article No. 1291. <https://doi.org/10.3390/ijms22031291>