

人羊膜上皮细胞向角膜上皮分化过程中调控机制的研究进展

李令洁, 梁媛婷, 刘小勇*

暨南大学附属第一医院眼科, 广东 广州

收稿日期: 2026年5月16日; 录用日期: 2026年6月9日; 发布日期: 2026年6月18日

摘要

角膜缘干细胞缺乏症(limbal stem cell deficiency, LSCD)可破坏角膜上皮稳态, 导致角膜结膜化、新生血管形成、慢性炎症及视功能损害; 现有角膜缘移植虽可重建眼表, 但仍受供体来源、健眼损伤风险、同种异物免疫排斥及长期免疫抑制等因素限制。人羊膜上皮细胞(human amniotic epithelial cells, hAECs)来源相对充足, 具有低免疫原性、免疫调节、旁分泌活性及较低致瘤风险, 并具备上皮谱系特征和多向分化潜能, 是角膜上皮再生研究中具有潜力的替代种子细胞。已有体外诱导和动物实验提示hAECs可获得角膜上皮样表型并参与眼表修复, 但其分化效率、表型稳定性及功能成熟仍依赖复杂的分子调控和微环境支持。本文围绕hAECs向角膜上皮方向分化的研究进展, 重点综述Wnt/ β -catenin、TGF- β /BMP、p38MAPK、STAT3/PI3K/AKT、EGFR/MAPK等信号通路, PAX6及p63在诱导分化与功能成熟中的作用, 并进一步系统总结TEER、屏障通透性实验、细胞迁移/创面愈合实验及体内移植模型等功能性评估方法, 分析功能结果与CK3/CK12、PAX6、p63、E-cadherin、ZO-1等分子标志物之间的对应关系, 以期为基于hAECs的组织工程角膜及眼表再生治疗研究提供参考。

关键词

人羊膜上皮细胞, 角膜上皮, 角膜缘干细胞, 分化, 信号通路, 组织工程角膜, 功能性评价

Research Advances in the Regulatory Mechanisms of Human Amniotic Epithelial Cell Differentiation into Corneal Epithelial Cells

Lingjie Li, Yuanting Liang, Xiaoyong Liu*

Department of Ophthalmology, The First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou Guangdong

*通讯作者。

文章引用: 李令洁, 梁媛婷, 刘小勇. 人羊膜上皮细胞向角膜上皮分化过程中调控机制的研究进展[J]. 临床医学进展, 2026, 16(6): 1336-1343. DOI: 10.12677/acm.2026.1662344

Abstract

Limbal stem cell deficiency (LSCD) disrupts corneal epithelial homeostasis and may lead to conjunctivalization of the cornea, neovascularization, chronic inflammation, and visual dysfunction. Although current limbal transplantation strategies can restore the ocular surface to some extent, their clinical application remains limited by donor tissue availability, the risk of injury to the contralateral healthy eye, immune rejection after allogeneic transplantation, and the need for long-term immunosuppression. Human amniotic epithelial cells (hAECs) are considered a promising alternative cell source for corneal epithelial regeneration because of their abundant availability, low immunogenicity, immunomodulatory capacity, paracrine activity, relatively low tumorigenic risk, epithelial lineage characteristics, and multilineage differentiation potential. Existing *in vitro* induction studies and animal experiments have shown that hAECs can acquire corneal epithelial-like phenotypes and contribute to ocular surface repair. However, their differentiation efficiency, phenotypic stability, and functional maturation are governed by complex molecular regulatory networks and microenvironmental cues. This review summarizes recent advances in the differentiation of hAECs toward a corneal epithelial lineage, with particular emphasis on the roles of Wnt/ β -catenin, TGF- β /BMP, p38MAPK, STAT3/PI3K/AKT, and EGFR/MAPK signaling pathways, as well as PAX6 and p63 in promoting lineage specification and functional maturation, and systematically discusses functional assessment methods for hAEC-derived corneal epithelium, including transepithelial electrical resistance (TEER), barrier permeability assays, cell migration/wound-healing assays, and *in vivo* transplantation models, and relates functional outcomes to molecular markers such as CK3/CK12, PAX6, p63, E-cadherin, and ZO-1. This review aims to provide a theoretical reference for the development of hAEC-based tissue-engineered corneas and regenerative therapies for ocular surface diseases.

Keywords

Human Amniotic Epithelial Cells, Corneal Epithelium, Limbal Stem Cells, Differentiation, Signaling Pathways, Tissue-Engineered Cornea, Functional Assessment

Copyright © 2026 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

角膜上皮是维持角膜透明性、屈光功能和眼表屏障完整性的关键结构，其持续更新主要依赖位于角膜缘区域的角膜缘干细胞[1]。角膜缘干细胞及其微环境一旦因化学烧伤、热损伤、感染、慢性炎症、自身免疫性疾病、长期接触镜相关损伤或先天性无虹膜症等因素受损，便可能发生角膜缘干细胞缺乏症(limbal stem cell deficiency, LSCD); LSCD 的典型病理改变包括持续性上皮缺损、角膜结膜化、新生血管形成、角膜混浊、炎症反应及瘢痕形成，严重者可导致显著视力下降甚至功能性失明[2]。

近年来在羊膜载体上培养自体角膜缘干细胞，诱导分化为角膜上皮细胞已进行临床实践[3][4]。人羊膜上皮细胞(human amniotic epithelial cells, hAECs)来源于羊膜的最内层，由胚泡内细胞团发育而来[5]。与骨髓间充质干细胞、脂肪来源干细胞及胚胎干细胞相比，hAECs 兼具取材非侵入性、来源充足、伦理争议较少、免疫原性低及非致瘤性等优点[6]。同时，hAECs 来源于早期胚胎发育阶段的上胚层，保留了 OCT4、

SOX2、NANOG 等多能性相关分子的表达,并在体外诱导条件下可向神经细胞、肝样细胞、胰岛样细胞、色素上皮样细胞等方向分化[7][8]。值得注意的是, hAECs 本身为上皮来源细胞,可表达 CK 序列等上皮相关标志物,且羊膜长期被用于眼表疾病治疗,提示其与角膜上皮修复之间具有天然联系[9]。hAECs 向角膜上皮方向分化并非简单的标志物表达转换。成熟、可用于修复的角膜上皮样细胞不仅应表达 CK3、CK12、PAX6 等角膜上皮相关分子,还应具备稳定的细胞连接、屏障功能、分层能力及损伤修复能力[1]。此外,角膜缘微环境中的细胞外基质、旁分泌因子、力学信号及细胞间相互作用,对角膜缘干细胞静息、自我更新和分化平衡具有重要影响[10]。对于 hAECs 而言,如何在体外诱导体系中模拟角膜缘生态位,精确调控 Wnt/ β -catenin、TGF- β /BMP、Notch、MAPK、STAT3/PI3K/AKT 等信号强度和作用时序,并进一步评价诱导细胞的功能成熟程度,是其走向临床转化前必须解决的问题[11]。

因此,本文拟从 hAECs 的生物学特征、角膜上皮分化基础、关键信号通路、转录因子与表观遗传调控,以及 TEER 等功能性评估方法等方面进行综述,重点讨论 hAECs 获得角膜上皮样表型的可能机制及当前研究局限,为后续构建稳定、功能成熟且可转化应用的 hAECs 来源组织工程角膜提供理论参考。

2. 角膜缘干细胞缺乏症目前面临的临床困境

严重眼表疾病如重度眼化学伤、Stevens-Johnson 综合征和眼类天疱疮等是常见的难治性眼病,也是当今主要致盲眼病之一。这些眼表疾病都会导致角膜缘干细胞缺陷,从而导致眼表的结构和功能损害。角膜缘干细胞存在于角膜缘 vogt 栅栏区,角膜缘干细胞分化成有限增殖潜能的上皮细胞,向心性地向角膜周边向中心移行,取代正常脱落的上皮细胞。角膜缘干细胞缺乏导致角膜上皮糜烂和持续的角膜溃疡,从而严重影响视功能。临床上进行的同种异体角膜移植存在供体来源缺乏及免疫排斥反应。对于单侧角膜缘干细胞缺乏者已进行培养的自体角膜缘干细胞移植[12],但对于双侧角膜缘干细胞缺乏者,这种方法显然存在不足。由自体口腔黏膜上皮细胞构建的组织工程化角膜上皮细胞片是有益的,然而长期效果仍有待观察[13]。然而,类天疱疮、Stevens Johnson 综合征患者口腔黏膜上皮细胞通常也不健康。在这种情况下,很难使用患者自己的口腔黏膜上皮进行重建。这类疾病的治疗非常棘手,新的组织工程角膜技术为这类疾病的治疗带来了新的希望。

3. hAECs 的生物学特点及角膜上皮分化基础

研究表明, hAECs 具有类似胚胎干细胞的分化能力,具有向三个胚层分化的潜能[14],可用作胚胎干细胞的替代物[15]。羊膜是胎盘最靠近胎儿的一层无血管膜,由上皮层、基底膜和基质层组成。hAECs 位于羊膜最内层,直接面对羊水环境,在胚胎发育早期即形成。新鲜分离的 hAECs 多呈圆形或多角形,细胞质较丰富,体外贴壁后可形成上皮样铺路石状形态。其表型上表达上皮标志物 CK19、E-cadherin 等,也可表达部分多能性相关分子,同时不表达或低表达主要组织相容性复合体 II 类分子及共刺激分子,从而具有较低免疫原性[6]。hAECs 可分泌多种生长因子、抗炎因子和免疫调节分子,这些因子有助于减轻局部炎症反应、促进上皮修复和改善受损组织微环境。透明质酸可通过调节 CD44 亚型转换并激活 AKT/mTOR 信号,延缓 hAECs 衰老,维持其增殖和分化潜能[16]。这提示在长期培养或组织工程构建过程中,维持 hAECs 的年轻状态和上皮特征,对提高角膜上皮诱导效率具有实际意义。

角膜上皮的分化并不是单一标志物转换过程,而是由干性维持、谱系指定、增殖迁移、分层成熟和屏障建立等环节组成。成熟角膜上皮细胞通常表达 CK3、CK12、E-cadherin、ZO-1 等标志物,而角膜缘干细胞则富集 p63、ABCG2、KRT14 等分子[1]。体外诱导 hAECs 向角膜上皮分化时,常以 CK3、CK12 和 PAX6 表达升高作为角膜上皮表型获得的依据[17],但这些分子并不足以完全证明其功能成熟。理想的角膜上皮样细胞还应具有良好的细胞间连接、较高屏障功能、稳定的增殖分层能力以及体内修复损伤角膜的能力。因此, hAECs 的角膜上皮分化研究应同时关注形态学、分子标志物、细胞功能和体内修复效果。

4. PAX6、p63 与角膜上皮特异性转录网络

角膜上皮分化的核心在于特异性转录程序的启动与稳定。PAX6 是眼发育和角膜上皮身份维持的关键转录因子,在成体角膜上皮中仍持续发挥抑制结膜化、维持透明上皮表型的作用[18]。多种角膜上皮疾病中 PAX6 表达下降,并伴随 DSG1 等细胞连接相关蛋白降低,提示 PAX6 不仅是发育因子,也与角膜上皮屏障和细胞身份稳定有关[19]。对于 hAECs 向角膜上皮分化而言,PAX6 的表达升高是较为重要的谱系转变指标,但更合理的解释是,PAX6 激活代表细胞进入角膜上皮转录程序,后续仍需通过 CK12、E-cadherin、ZO-1、occludin/claudin 以及功能性屏障指标来判断其成熟程度。

p63,尤其是 Δ Np63,是角膜缘干/祖细胞的重要标志物。其高表达与上皮干性、增殖能力和多层上皮结构维持密切相关[20] [21]。在组织工程角膜上皮中,维持 Δ Np63 阳性细胞比例被认为有利于获得可扩增、可分层的上皮片。p38MAPK 抑制可维持 p63 表达并减轻异常分化[20],角膜缘微环境诱导角膜形成细胞祖细胞转分化时,p63 阳性细胞比例上升也是分化成功的重要表现[22]。然而,成熟角膜中央上皮细胞并不以持续高 p63 表达为特征,因此 hAECs 分化过程中 p63 也应被看作阶段性指标:早期 p63 有助于形成角膜上皮祖细胞样群体,后期则需逐步提高 CK3/CK12 和屏障相关分子表达,完成由前体状态向成熟功能状态转变。

谱系定向还受到上游信号和表观遗传状态共同制约。Wnt、BMP、RA、TGF- β 抑制及 EGFR/MAPK 信号可在不同阶段影响 PAX6、p63 和角膜上皮角蛋白表达[11] [20] [22]-[24]。此外,在角膜上皮细胞中,PAX6、OTX2、FOXC1 等特异性转录因子高表达,而多数 Hox 基因处于沉默状态;在角质形成细胞中,Hox 蛋白可结合 Gtl2 启动子附近位点,激活 Gtl2-Dio3 区域 miRNA 表达,进而靶向下调 PAX6、OTX2 等角膜上皮关键转录因子[25]。该发现提示,hAECs 转分化不仅涉及诱导因子对角膜标志物的上调,也可能需要解除原有表观遗传障碍并重建角膜上皮增强子网络。未来若能明确 hAECs 中 Hox 基因、Gtl2-Dio3miRNA 及 PAX6 调控网络的起始状态,可能有助于提高诱导分化的特异性。

5. Wnt/ β -Catenin 信号通路对角膜上皮命运的调控

在正常角膜上皮中,Wnt7a 等配体对维持上皮增殖和修复能力具有一定作用;糖尿病角膜病变模型中,Wnt7a、 β -catenin、cyclinD1 及 p-GSK-3 β 等表达下降,角膜上皮愈合延迟,而氯化锂通过抑制 GSK-3 β 激活 Wnt/ β -catenin 通路后,可促进角膜上皮创面愈合[26]。YTHDF3 作为 m6A 阅读蛋白,可通过促进 THBS2 表达并上调 Wnt/ β -catenin 通路,改善糖尿病角膜上皮修复受损状态[27]。这些结果说明,适当激活 Wnt 通路有利于受损角膜上皮增殖和迁移。

然而,Wnt/ β -catenin 信号对角膜上皮并非单向有益。在诱导 hAECs 向角膜上皮分化时,过度维持增殖状态可能妨碍成熟分化,而适时抑制 Wnt 活性则有助于谱系推进。因此,Wnt 通路在 hAECs 分化中更可能呈现阶段依赖性:早期适度维持细胞扩增,随后通过 RA 或 Wnt 抑制剂降低经典 Wnt 活性,使细胞从增殖状态转向角膜上皮分化状态。

6. TGF- β /BMP、p38MAPK 的协同作用

TGF- β 超家族在角膜上皮命运调控中具有复杂作用。一般而言,TGF- β /Smad2/3 通路倾向于促进上皮-间充质转化和纤维化,而 BMP4 通过 Smad1/5/8 参与眼表外胚层分化。WJ-MSCs 向角膜上皮样细胞分化的研究显示,BMP4 单独处理效果有限,需与 RA、TGF- β 抑制剂 SB505124 和 EGF 联合使用,才能显著提高 CK12 表达[11]。这说明 BMP 信号本身并不是独立的“分化开关”,而需建立在 TGF- β 被限制、RA 促进上皮分化、EGF 支持增殖迁移的综合背景下。对于 hAECs 而言,这种多因子组合比单一诱导因子更接近角膜缘微环境,可能有助于提高分化效率和表型稳定性。p38MAPK 通路在炎症、应激和上皮异

常分化中具有重要作用。组织工程角膜上皮研究显示,下调 p38MAPK 信号可维持 ABCG2、p63、KRT14、Wnt7a 等干性相关标志物表达,同时降低 KRT12、PAX6、KRT10 及 ACTA2、SNAIL 等分化或转分化标志物水平,从而改善组织工程角膜上皮质量[20]。严重干眼可通过激活 p38MAPK 造成角膜缘干细胞功能障碍[28],中性粒细胞胞外诱捕网也可通过 p38MAPK 抑制 hAECs 增殖并促进凋亡[29]。这些结果提示,炎症和应激环境中的 p38MAPK 过度激活,可能是 hAECs 分化及移植后存活的不利因素。临床转化中,若将 hAECs 用于 LSCD 或慢性炎症眼表,单纯移植细胞可能不足,还需结合抗炎或 p38 调控策略改善受体微环境。

因此, TGF- β /BMP 与 p38MAPK 在 hAECs 诱导中的关键不是单一路径激活或抑制,而是建立“促谱系定向、保留适度祖细胞性、抑制纤维化和炎症应激”的平衡。具体而言,早期可通过限制过强 TGF- β /Smad2/3 和应激性 p38 活化减少 EMT 倾向;中期通过 BMP/RA 促进眼表外胚层和角膜上皮命运指定;后期再通过基底膜、气液界面或三维支架支持分层成熟和屏障形成。

7. STAT3/PI3K/AKT、EGFR/MAPK 及其他修复相关通路

PI3K/AKT 是细胞存活、增殖、迁移和代谢调节的重要信号通路。角膜缘微环境诱导角质形成细胞祖细胞向角膜上皮细胞转分化的研究显示, STAT3 位于 PI3K/AKT 上游, STAT3 抑制可阻断 PI3K/AKT 激活并削弱转分化效率,说明 STAT3/PI3K/AKT 轴可能是替代细胞获得角膜上皮命运的重要驱动通路[22]。hAECs 外泌体中富集的功能性 miRNA 也可通过 PI3K-AKT-mTOR 相关通路发挥促修复作用[30]。

EGFR/MAPK 信号在角膜上皮创面修复中研究较多。EGF 可激活 EGFR/ERK1/2 和 PI3K/AKT 通路,促进角膜上皮细胞增殖、迁移和再上皮化[31]。Lumican/lumikine 可通过与 TGF- β I 型受体/ALK5 结合,激活非经典 Smad 非依赖性 TGF- β /TBRs 信号,上调 EGFR 配体表达并促进角膜上皮区上皮损伤愈合[32]。这说明 TGF- β 受体相关信号并不总是导致纤维化,其不同分支可在特定背景下促进上皮修复。且 NEAT1 缺失可激活 cAMP 信号,促进角膜上皮和神经再生[33]; FEZ1-DKK1 轴则被单细胞转录组学研究认为与角膜上皮细胞增殖和抗衰老密切相关[34]。

8. hAECs 来源角膜上皮的评估方法及相关分子标志物

8.1. 体外屏障功能: TEER 与屏障通透性实验

跨上皮电阻(trans epithelial electrical resistance, TEER)是评价上皮或内皮单层紧密连接完整性的常用无损定量方法,可实时反映细胞层对离子通过的阻抗[35]。在 hAECs 来源角膜上皮研究中, TEER 可用于判断诱导细胞是否形成连续、致密且可维持的屏障;且 TEER 随培养时间和分层成熟升高,应与 ZO-1、occludin、claudin、E-cadherin 等连接蛋白的连续膜定位相互印证。

屏障通透性实验通常使用 FITC-dextran、荧光素钠或 Lucifer yellow 等示踪分子,通过 Transwell 或类似插入式培养系统检测示踪物从顶端侧向基底侧的通量[36]。与 TEER 主要反映离子通透性不同,荧光示踪物实验可评价不同分子量物质的旁细胞通透性。理想的 hAECs 来源角膜上皮应表现为 TEER 升高、FITC-dextran 或荧光素通透性降低,并伴随 ZO-1/occludin/claudin 在细胞边界呈连续环状分布。两类实验联合使用可更全面地证明诱导细胞具有屏障功能,而不是仅具备角膜上皮标志物。

8.2. 细胞迁移与创面修复: 划痕实验、去上皮模型和再上皮化速度

角膜上皮的另一项核心功能是损伤后的快速迁移和再上皮化。体外划痕实验可用于评价 hAECs 或 hAECs 来源角膜上皮样细胞在标准化缺损区域内的迁移速度,并可结合 EdU/Ki67 检测区分迁移与增殖贡献。EGFR/MAPK、STAT3/PI3K/AKT 和 Wnt/ β -catenin 等通路与角膜上皮创面修复密切相关[26] [27]

[31], 因此功能实验结果应与相关通路激活状态相结合。若诱导细胞表达 CK12 但划痕闭合缓慢, 提示修复执行能力不足; 若划痕闭合快速但 CK12、PAX6、ZO-1 表达不足, 则可能代表非特异性增殖迁移, 而非角膜上皮样成熟修复。

LSCD 主要病理症状之一就是持续性角膜上皮缺损[37], 所以在离体或体内去上皮模型中, 荧光素染色面积、上皮缺损闭合时间、角膜表面平整度和组织学上皮连续性等是用来评估再上皮化速度的主要指标。对于 hAECs 来源细胞, 可同时评估荧光素染色面积变化与 CK12/PAX6 阳性上皮覆盖范围、p63 阳性基底细胞比例及炎症/新生血管程度, 避免仅以“缺损变小”推断细胞分化成功。

8.3. 体内移植模型：疗效、来源追踪和安全性评价

体内移植模型是判断 hAECs 来源角膜上皮转化价值的重要环节。常用模型包括兔角膜缘干细胞缺乏模型、碱烧伤模型、机械去上皮模型及层板/全层角膜损伤模型。主要观察指标应包括上皮缺损闭合时间、荧光素染色评分、角膜透明度、角膜混浊和水肿、新生血管面积、炎症细胞浸润、角膜结膜化程度以及移植植物存活情况[9] [37]。

本课题组已构建 hAECs-兔角膜基质组织工程角膜, 并在三种兔角膜损伤/移植模型中评价其眼表重建效果。结果显示, 组织工程角膜移植组角膜上皮愈合天数显著短于对照组, 新生血管出现时间延后; 在中央板层角膜模型和全层角膜移植模型中, 移植组角膜新生血管、浑浊度和上皮荧光素染色均低于对照组[9]。该研究为 hAECs 参与角膜上皮修复提供了重要的体内功能证据, 但未来仍需进一步报告长期随访中的上皮屏障稳定性、结膜化标志物(如 MUC5AC、K13/K19)抑制情况、免疫排斥风险和移植细胞长期命运。

8.4. 功能结果与分子标志物的关联

功能性评估的核心价值在于将分子标志物表达转化为可解释的生物学功能。PAX6 上调提示角膜上皮身份建立, CK3/CK12 上调提示终末分化方向增强, p63/KRT14/ABCG2 保留提示祖细胞样增殖储备[21], E-cadherin/ZO-1/occludin/claudin 连续表达则提示细胞间连接和屏障结构形成[38] [39]。相应地, TEER 升高和通透性降低应与连接蛋白连续膜定位一致; 再上皮化速度加快应与 EGFR/MAPK、STAT3/PI3K/AKT 等修复通路激活和适度 Ki67/EdU 阳性比例相符; 体内透明度改善和新生血管减少则应与炎症因子下降、结膜化标志物降低及角膜上皮标志物稳定表达相关联。

9. 总结与展望

hAECs 由于来源广泛、免疫原性低、非致瘤性和上皮分化基础较好, 在角膜上皮再生研究中具有较大潜力。现有研究表明, hAECs 向角膜上皮方向分化受到 Wnt/ β -catenin、TGF- β /BMP、p38MAPK、STAT3/PI3K/AKT、EGFR/MAPK 等多通路共同调节, 并依赖 PAX6、p63 修饰及细胞外基质微环境的协同作用。

未来可在机制层面明确 hAECs 分化的关键节点, 明确 PAX6、p63、Wnt、BMP/RA、EGFR/MAPK、STAT3/PI3K/AKT 和 p38MAPK 的时序关系, 建立可重复的阶段化诱导方案, 将 TEER、通透性、划痕/创面修复、分层结构、体内透明度、新生血管和结膜化抑制纳入核心终点, 结合去细胞羊膜、仿生基底膜、三维打印支架[40]、外泌体递送和抗炎微环境调控, 提升移植后存活、分层成熟和长期稳定性; 并在工程化体系中实现对信号通路和微环境的精确调控, 以基于 hAECs 的组织工程角膜和无细胞治疗有望为 LSCD 及其他眼表损伤性疾病提供新的治疗选择。

基金项目

广州市科技计划项目资助(任务书编号: 2025A03J4242)。

参考文献

- [1] Sun, T., Tseng, S.C. and Lavker, R.M. (2010) Location of Corneal Epithelial Stem Cells. *Nature*, **463**, E10-E11. <https://doi.org/10.1038/nature08805>
- [2] Lent-Schochet, D., Akbar, M., Hou, J.H. and Farooq, A.V. (2025) Diagnostic Approach to Limbal Stem Cell Deficiency. *Frontiers in Ophthalmology*, **4**, Article 1524595. <https://doi.org/10.3389/fopht.2024.1524595>
- [3] Jurkunas, U.V., Kaufman, A.R., Yin, J., Ayala, A., Maguire, M., Samarakoon, L., et al. (2025) Cultivated Autologous Limbal Epithelial Cell (CALEC) Transplantation for Limbal Stem Cell Deficiency: A Phase I/II Clinical Trial of the First Xenobiotic-Free, Serum-Free, Antibiotic-Free Manufacturing Protocol Developed in the US. *Nature Communications*, **16**, Article No. 1607. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-56461-1>
- [4] Tsai, R.J., Li, L.M. and Chen, J.K. (2000) Reconstruction of Damaged Corneas by Transplantation of Autologous Limbal Epithelial Cells. *New England Journal of Medicine*, **343**, 86-93. <https://doi.org/10.1056/nejm200007133430202>
- [5] 王璐璐, 赖东梅. 人羊膜上皮细胞在妇产科相关疾病中的应用及研究进展[J]. 复旦学报(医学版), 2021, 48(6): 819-826.
- [6] Zhang, Q. and Lai, D. (2020) Application of Human Amniotic Epithelial Cells in Regenerative Medicine: A Systematic Review. *Stem Cell Research & Therapy*, **11**, Article No. 439. <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01951-w>
- [7] Bejaoui, M., Ferdousi, F., Zheng, Y., Oda, T. and Isoda, H. (2021) Regulating Cell Fate of Human Amnion Epithelial Cells Using Natural Compounds: An Example of Enhanced Neural and Pigment Differentiation by 3,4,5-Tri-O-Caffeoylquinic Acid. *Cell Communication and Signaling*, **19**, Article No. 26. <https://doi.org/10.1186/s12964-020-00697-5>
- [8] Michalik, M., Wieczorek, P. and Czekaj, P. (2022) *In Vitro* Differentiation of Human Amniotic Epithelial Cells into Hepatocyte-Like Cells. *Cells*, **11**, Article 2138. <https://doi.org/10.3390/cells11142138>
- [9] Zhou, Q., Liu, X., Ruan, Y., Wang, L., Jiang, M., Wu, J., et al. (2015) Construction of Corneal Epithelium with Human Amniotic Epithelial Cells and Repair of Limbal Deficiency in Rabbit Models. *Human Cell*, **28**, 22-36. <https://doi.org/10.1007/s13577-014-0099-6>
- [10] Hu, S., Chen, J., Jin, J., Liu, Y., Xu, G. and Ou, Q. (2024) Construction of Living-Cell Tissue Engineered Amniotic Membrane for Ocular Surface Disease. *BMC Ophthalmology*, **24**, Article No. 409. <https://doi.org/10.1186/s12886-024-03680-7>
- [11] Nguyen, H.T., Theerakittayakorn, K., Somredngan, S., Ngernsoungnern, A., Ngernsoungnern, P., Sritangos, P., et al. (2022) Signaling Pathways Impact on Induction of Corneal Epithelial-Like Cells Derived from Human Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article No. 3078. <https://doi.org/10.3390/ijms23063078>
- [12] Jurkunas, U., Johns, L. and Armant, M. (2022) Cultivated Autologous Limbal Epithelial Cell Transplantation: New Frontier in the Treatment of Limbal Stem Cell Deficiency. *American Journal of Ophthalmology*, **239**, 244-268. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2022.03.015>
- [13] Nishida, K., Yamato, M., Hayashida, Y., Watanabe, K., Yamamoto, K., Adachi, E., et al. (2004) Corneal Reconstruction with Tissue-Engineered Cell Sheets Composed of Autologous Oral Mucosal Epithelium. *New England Journal of Medicine*, **351**, 1187-1196. <https://doi.org/10.1056/nejmoa040455>
- [14] Miki, T. (2018) Stem Cell Characteristics and the Therapeutic Potential of Amniotic Epithelial Cells. *American Journal of Reproductive Immunology*, **80**, e13003. <https://doi.org/10.1111/aji.13003>
- [15] García-López, G., García-Castro, I.L., Avila-González, D., et al. (2015) Las células del epitelio amniótico humano (CEAh) como posible fuente de células troncales (CT). *Gaceta Médica de México*, **151**, 66-74.
- [16] Yu, C., Yuan, H., Xu, Y., Luo, Y., Wu, Z., Zhong, J., et al. (2024) Hyaluronan Delays Human Amniotic Epithelial Stem Cell Senescence by Regulating CD44 Isoform Switch to Activate AKT/mTOR Signals. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **170**, Article ID: 116100. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.116100>
- [17] Yao, M., Chen, J., Yang, X.X., et al. (2013) Differentiation of Human Amniotic Epithelial Cells into Corneal Epithelial-like Cells *In Vitro*. *International Journal of Ophthalmology*, **6**, 564-572.
- [18] Smits, J.G.A., Cunha, D.L., Amini, M., Bertolin, M., Laberthonnière, C., Qu, J., et al. (2023) Identification of the Regulatory Circuit Governing Corneal Epithelial Fate Determination and Disease. *PLOS Biology*, **21**, e3002336. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002336>
- [19] Stachon, T., Fries, F.N., Li, Z., Daas, L., Nagy, Z.Z., Seitz, B., et al. (2025) Decreased PAX6 and DSG1 Protein Expression in Corneal Epithelium of Patients with Epithelial Basal Membrane Dystrophy, Salzmann Nodular Degeneration, and Pterygium. *Journal of Clinical Medicine*, **14**, Article No. 1456. <https://doi.org/10.3390/jcm14051456>
- [20] Mao, Y., Ou, S., Zhu, C., Lin, S., Liu, X., Liang, M., et al. (2022) Downregulation of p38 MAPK Signaling Pathway Ameliorates Tissue-Engineered Corneal Epithelium. *Tissue Engineering Part A*, **28**, 977-989. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2022.0082>

- [21] Rama, P., Matuska, S., Paganoni, G., Spinelli, A., De Luca, M. and Pellegrini, G. (2010) Limbal Stem-Cell Therapy and Long-Term Corneal Regeneration. *New England Journal of Medicine*, **363**, 147-155. <https://doi.org/10.1056/nejmoa0905955>
- [22] Wang, B., Zhao, J., Wang, G., Cai, W., Xiao, Y., Wang, J., *et al.* (2025) Transdifferentiation of Rat Keratinocyte Progenitors to Corneal Epithelial Cells by Limbal Niche via the STAT3/PI3K/AKT Signaling Pathway. *Stem Cell Research & Therapy*, **16**, Article No. 8. <https://doi.org/10.1186/s13287-024-04129-w>
- [23] Wang, Y., Ge, H., Chen, P. and Wang, Y. (2024) Wnt/ β -Catenin Signaling in Corneal Epithelium Development, Homeostasis, and Pathobiology. *Experimental Eye Research*, **246**, Article ID: 110022. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2024.110022>
- [24] Shen, Y., Wang, J., Dai, Y., Wan, X., Zhang, J. and Le, Q. (2025) RSPO3 Promotes Proliferation and Self-Renewal of Limbal Epithelial Stem Cells through a WNT/ β -Catenin-Independent Signaling Pathway. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **66**, Article No. 8. <https://doi.org/10.1167/iovs.66.1.8>
- [25] Guo, Y., Wu, W., Chen, H., Wang, X., Zhang, Y., Li, S., *et al.* (2025) Network Analysis Reveals Potential Mechanisms That Determine the Cellular Identity of Keratinocytes and Corneal Epithelial Cells through the Hox/Gtl2-Dio3 miRNA Axis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **13**, Article 1475334. <https://doi.org/10.3389/fcell.2025.1475334>
- [26] Dan, J., Tan, T., Wu, M., Gong, J., Yang, Q., Wang, L., *et al.* (2023) Lithium Chloride Promotes Diabetic Corneal Epithelial Wound Healing by Activating the Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **26**, Article No. 373. <https://doi.org/10.3892/etm.2023.12072>
- [27] Wang, J., Zhu, R., Dong, Y., Feng, J., Gao, J., Wang, S., *et al.* (2025) YTHDF3 Suppresses Declines in Corneal Epithelial Wound Healing through Upregulating the Wnt/ β -Catenin Signaling Pathway and THBS2 Expression in Diabetic Corneas. *International Journal of Biological Macromolecules*, **285**, Article ID: 138267. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.138267>
- [28] Lin, S., Cai, M., Zhang, L., Mao, Y., Wu, H., Liu, X., *et al.* (2023) Limbal Stem Cell Dysfunction Induced by Severe Dry Eye via Activation of the p38 MAPK Signaling Pathway. *The American Journal of Pathology*, **193**, 1863-1878. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2023.08.003>
- [29] 胡敏, 申迪, 张美华, 等. 中性粒细胞胞外诱捕网对人羊膜上皮细胞增殖和凋亡的影响及其可能机制[J]. 中华围产医学杂志, 2022, 25(8): 609-614.
- [30] 宋菲, 董叫云, 等. 人羊膜上皮细胞外泌体通过 PI3K/AKT/mTOR 介导血管生成和促进成纤维细胞功能加速糖尿病创面愈合[J]. 中华烧伤与创面修复杂志, 2021, 37(5): 452.
- [31] Maugeri, G., D'Amico, A.G., Magri, B., Giunta, S., Saccone, S., Federico, C., *et al.* (2023) Protective Effect of Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide in Diabetic Keratopathy. *Peptides*, **170**, Article ID: 171107. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2023.171107>
- [32] Kao, W.W.Y., Zhang, J., Venkatakrishnan, J., Chang, S., Yuan, Y., Yamanaka, O., *et al.* (2024) Lumican/Lumikine Promotes Healing of Corneal Epithelium Debridement by Upregulation of EGFR Ligand Expression via Noncanonical Smad-Independent TGF β /TBRs Signaling. *Cells*, **13**, Article No. 1599. <https://doi.org/10.3390/cells13191599>
- [33] Sang, T., Wang, Y., Wang, Z., Sun, D., Dou, S., Yu, Y., *et al.* (2024) NEAT1 Deficiency Promotes Corneal Epithelial Wound Healing by Activating cAMP Signaling Pathway. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **65**, Article No. 10. <https://doi.org/10.1167/iovs.65.3.10>
- [34] Zhu, L., Wang, L., Liu, D., Chen, C., Mo, K., Lan, X., *et al.* (2023) Single-Cell Transcriptomics Implicates the FEZ1-DKK1 Axis in the Regulation of Corneal Epithelial Cell Proliferation and Senescence. *Cell Proliferation*, **56**, e13433. <https://doi.org/10.1111/cpr.13433>
- [35] Srinivasan, B., Kolli, A.R., Esch, M.B., Abaci, H.E., Shuler, M.L. and Hickman, J.J. (2015) TEER Measurement Techniques for *in Vitro* Barrier Model Systems. *SLAS Technology*, **20**, 107-126. <https://doi.org/10.1177/2211068214561025>
- [36] McCullough, S. and Farber, S. (2020) Method: FITC-Dextran Trans-Epithelial Permeability Assay. Nature Publishing.
- [37] Deng, S.X., Borderie, V., Chan, C.C., Dana, R., Figueiredo, F.C., Gomes, J.A.P., *et al.* (2018) Global Consensus on Definition, Classification, Diagnosis, and Staging of Limbal Stem Cell Deficiency. *Cornea*, **38**, 364-375. <https://doi.org/10.1097/ico.0000000000001820>
- [38] Ban, Y., Dota, A., Cooper, L.J., Fullwood, N.J., Nakamura, T., Tsuzuki, M., *et al.* (2003) Tight Junction-Related Protein Expression and Distribution in Human Corneal Epithelium. *Experimental Eye Research*, **76**, 663-669. [https://doi.org/10.1016/s0014-4835\(03\)00054-x](https://doi.org/10.1016/s0014-4835(03)00054-x)
- [39] Ko, J., Yanai, R. and Nishida, T. (2009) Up-Regulation of ZO-1 Expression and Barrier Function in Cultured Human Corneal Epithelial Cells by Substance P. *FEBS Letters*, **583**, 2148-2153. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2009.05.010>
- [40] Xu, Y., Liu, J., Song, W., Wang, Q., Sun, X., Zhao, Q., *et al.* (2023) Biomimetic Convex Implant for Corneal Regeneration through 3D Printing. *Advanced Science*, **10**, e2205878. <https://doi.org/10.1002/adv.202205878>