

原代人视网膜色素上皮细胞体外培养研究进展综述

林远烨¹, 杨子奇², 刘欣^{3*}

¹华中科技大学同济医学院, 湖北 武汉

²湖北科技学院口腔与眼视光医学院, 湖北 咸宁

³华中科技大学同济医学院附属协和医院眼科, 湖北 武汉

收稿日期: 2026年5月25日; 录用日期: 2026年6月17日; 发布日期: 2026年6月29日

摘要

原代人视网膜色素上皮细胞(hRPE)的体外培养是探索视网膜生理与病理机制、进行药物研发的关键模型, 其研究进展对眼科领域具有重要意义。本文系统阐述了hRPE细胞的分离与培养技术, 以及维持其体内表型的关键策略, 重点剖析了不同培养条件对细胞极化、功能及基因表达谱的调控作用。文章结合前沿研究, 探讨了hRPE模型在年龄相关性黄斑变性、视网膜血管病变等疾病研究中的应用, 通过总结现有体外培养体系的优势与局限性, 旨在为优化hRPE培养技术、深化相关眼病机制认识及推动转化应用提供参考。

关键词

视网膜色素上皮, 原代细胞培养, 体外模型, 细胞极化, 黄斑变性

Advances in *in Vitro* Culture of Primary Human Retinal Pigment Epithelial Cells

Yuanye Lin¹, Ziqi Yang², Xin Liu^{3*}

¹Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei

²School of Stomatology and Optometry, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei

³Department of Ophthalmology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei

Received: May 25, 2026; accepted: June 17, 2026; published: June 29, 2026

Abstract

The *in vitro* culture of primary human retinal pigment epithelial cells (hRPEs) serves as a crucial

*通讯作者。

model for exploring the physiological and pathological mechanisms of the retina and conducting drug research and development, and its research progress is of great significance in the field of ophthalmology. This article systematically elaborates the isolation and culture techniques of hRPE cells as well as key strategies for maintaining their *in vivo* phenotypes, and emphatically analyzes the regulatory effects of different culture conditions on cell polarization, cellular functions and gene expression profiles. Combined with cutting-edge studies, this paper discusses the applications of hRPE models in researches on age-related macular degeneration, retinal vasculopathy and other ocular diseases. By summarizing the advantages and limitations of current *in vitro* culture systems, it aims to provide references for optimizing hRPE culture protocols, further clarifying the mechanisms of related retinal diseases and promoting translational clinical applications.

Keywords

Retinal Pigment Epithelium, Primary Cell Culture, *In Vitro* Model, Cell Polarization, Macular Degeneration

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

视网膜色素上皮(RPE)细胞是位于视网膜神经上皮与脉络膜之间的单层色素上皮细胞,构成了视觉功能的关键结构基础。其生理功能复杂且重要,为光感受器提供结构性支持、参与视黄醛循环以再生视觉色素、形成外血-视网膜屏障以维持视网膜内环境的稳定,以及吞噬并降解光感受器外节盘膜,确保视觉信号的正常传导[1]。这些功能的正常运转对于维持光感受器的存活和视觉稳态至关重要。一旦RPE细胞发生损伤或功能障碍,将直接导致光感受器发生退行性病变,引发一系列严重的视网膜疾病。其中,年龄相关性黄斑变性(AMD)和糖尿病视网膜病变(DR)是两种最常见的、以RPE功能障碍为病理核心的致盲性眼病[2]。在AMD中,RPE细胞功能衰退导致脂褐质等代谢废物堆积、氧化应激加剧以及炎症反应激活,最终引发脉络膜新生血管或地图样萎缩[3]。糖尿病视网膜病变中,高糖环境诱导的RPE细胞代谢异常和屏障功能破坏,是导致视网膜水肿和新生血管形成的关键因素[4]。因此,深入研究RPE的生理与病理机制,对于研发治疗这些疾病具有重要意义。

为了探究RPE生理和病理状态,构建能够准确模拟体内环境的体外模型至关重要。原代人视网膜色素上皮(hRPE)细胞在体外培养时能够更好地保留其关键特性,包括六边形铺路石样形态、极性分布、色素沉着、高跨上皮电阻(TEER)以及吞噬功能等[5]。这使得hRPE细胞成为研究RPE功能、疾病机制、药物筛选以及细胞替代疗法开发的理想模型系统[6]。近年来,随着细胞分离纯化技术的不断优化、培养基成分的精细化设计以及三维培养系统的兴起,hRPE细胞的体外培养体系得到了显著完善。

本综述将系统性阐述原代人视网膜色素上皮细胞体外培养的研究进展。首先,将详细阐述hRPE细胞的各种分离方法及技术。接着,综述hRPE细胞模型在黄斑疾病及视网膜疾病研究中的具体应用[7][8]。最后,结合干细胞技术、组织工程和类器官等前沿领域的最新成果,展望hRPE细胞体外培养模型的未来发展方向及其在转化医学中的广阔前景。

2. 原代人视网膜色素上皮细胞的分离与培养技术

2.1. 组织来源与细胞分离方法

原代人视网膜色素上皮细胞(hRPE)的体外培养研究高度依赖高质量的组织来源。目前,hRPE细胞主

要来源于捐献的人眼组织,包括成人和胎儿眼球[9]。除了人源组织,研究人员也探索了其他物种作为替代来源。猪眼因其解剖结构与人类相似且易于获取,成为一种经济有效的hRPE细胞替代来源[10]。狨猴作为一种与人类视觉系统相似的灵长类动物,其原代RPE细胞也被成功分离和培养[11]。这些多样化的组织来源为不同研究目的提供了可能,但人源组织因其与人类疾病的直接相关性,仍然是基础和转化研究的金标准。

从眼组织中高效、高纯度地分离出具有活性和功能的RPE细胞是体外培养成功的第一步。常用的方法是酶解法结合机械分离,酶解法通常使用胰蛋白酶、胶原酶等蛋白酶来消化和松解RPE细胞与基底膜(Bruch膜)及脉络膜之间的连接[12]。在酶解之后,辅以温和的机械剥离来收集细胞。整个分离过程需在严格的无菌条件下进行,尽可能缩短组织处理时间,最大限度保持细胞活性。

组织处理的时间及条件对分离所得RPE细胞存活率、纯度以及后续培养中的功能维持具有显著影响。标准化的组织获取流程、精确控制酶解时间与温度,及适宜的初始培养条件,是确保原代hRPE细胞成功分离并维持其体内特性的基础,为后续疾病建模、药物筛选和机制研究提供了可靠的细胞模型。

2.2. 培养基配方与培养条件优化

培养基是维持原代人视网膜色素上皮细胞体外存活、增殖与功能表达的基础。典型的培养基通常包含基础营养物质,如葡萄糖、氨基酸和维生素,并需添加血清或血清替代品以提供必要的生长因子和激素。在建立用于氧化应激和炎症研究的猪单眼RPE培养模型时,发现5%的血清含量在维持细胞活力和功能方面表现出良好的平衡[13]。对于旨在研究屏障功能和极性的极化培养,使用5%血清配合层粘连蛋白包被的Transwell小室,证实可提高培养成功率[14]。这些优化工作更好地模拟体内环境,为细胞提供稳定的营养支持。

氧浓度、pH和温度等培养条件,对RPE细胞的功能表达具有精细的调控作用。常规RPE培养中培养基体积会限制氧气向细胞的扩散,从而触发缺氧,激活缺氧诱导因子1 α ,限制氧消耗率,并改变细胞代谢[15]。因此,涉及氧化代谢类疾病(如年龄相关性黄斑变性)研究时,须优化培养条件以确保RPE处于允许氧化代谢的常氧环境。有研究引入了名为Resipher的新系统,可以在数周内持续监测高分化、极化RPE培养物的氧消耗率,同时维持细胞在最佳生长基底和生理培养基中,这为了解RPE生理和疾病状态下的线粒体代谢提供了强大工具[16]。此外,pH和温度的稳定对于维持酶活性和细胞稳态同样重要,需要在标准细胞培养箱内严格控制。

3. 原代人RPE细胞的表型特征及功能维持

3.1. 细胞极化与紧密连接形成

在体外培养体系中,原代人视网膜色素上皮(RPE)细胞能否建立并维持高度极化的单层结构,是评估功能成熟度的核心指标。因此,在体外重建这种极化状态,形成完整的紧密连接,对于获得功能性的RPE细胞模型至关重要。成功的体外培养必须使RPE细胞实现并维持其固有的极化表型,这是其模拟体内生理功能、应用于疾病建模和再生治疗的前提[17]。

3.2. 吞噬功能与自噬过程

视网膜色素上皮细胞对光感受器外节的吞噬是维持视网膜稳态的核心功能之一[18]。在体外培养模型中,通过向RPE细胞提供分离的光感受器外节片段,可以成功诱导并评估其吞噬功能,从而模拟生理状态下的关键细胞活动[19]。

利用体外培养模型,可以深入研究调节自噬以保护RPE功能的潜在治疗策略。多种化合物已被证明

能够通过激活自噬来保护 RPE 细胞免受氧化应激等损伤。小檗碱通过激活 AMPK/mTOR/ULK1 信号通路刺激自噬,从而抵抗过氧化氢诱导的氧化损伤[20]。二甲双胍同样通过 AMPK 通路激活自噬,保护 RPE 细胞[21]。这些研究共同表明,通过体外模型靶向调节吞噬和自噬过程,是研究和治疗视网膜变性疾病的重要方向。

4. 体外培养 hRPE 细胞在疾病机制研究中的应用

4.1. 黄斑变性(AMD)相关研究

在黄斑变性(AMD)的病理机制研究中,利用原代人视网膜色素上皮(RPE)细胞体外培养模型模拟氧化应激及炎症环境,是探究 RPE 细胞损伤机制的关键策略。AMD 的进展与 RPE 细胞长期处于高氧化环境密切相关,衰老和累积的氧化应激会触发 RPE 功能障碍和最终死亡[22]。在体外模型中,使用过氧化氢(H_2O_2)或碘酸钠($NaIO_3$)等试剂诱导氧化应激,可以模拟 AMD 相关的 RPE 损伤[23] [24]。蓝光暴露也被证实是 AMD 的风险因素,能诱导 RPE 细胞发生氧化应激、内质网应激和细胞死亡[25]。炎症环境同样至关重要,AMD 相关的细胞因子如 $TNF\alpha$ 、 $TGF-\beta_2$ 、IL-6 和 IL- 1β 可以诱导 RPE 细胞发生代谢重编程,包括乳酸产生增加和糖酵解抑制被解除,这可能与疾病进展有关[26]。这些体外模型为阐明氧化应激和炎症在 AMD 发病中的核心作用,以及筛选潜在的保护性药物(如抗氧化剂、自噬增强剂)提供了重要平台。

4.2. 视网膜血管病变与炎症反应

视网膜血管病变,如糖尿病视网膜病变、早产儿视网膜病变、年龄相关性黄斑变性及视网膜血管阻塞等,其共同的病理生理机制涉及血管生成因子表达失调与慢性炎症反应的恶性循环[27]。血管内皮生长因子(VEGF)是这一过程中的关键分子[26] [28]。研究表明,VEGF 与促炎细胞因子如肿瘤坏死因子- α ($TNF-\alpha$)、白细胞介素- 1β (IL- 1β)和 IL-6 之间存在复杂的相互作用,共同破坏血-视网膜屏障,促进白细胞募集和血管不稳定[27] [29]。此外,血管生成素-2 (Ang-2)在病理状态下表达增加,通过拮抗 Ang-1/Tie2 信号通路,导致血管周细胞丢失、血管失稳,并与 VEGF 协同加剧血管渗漏和炎症[28] [30]。这种血管生成与炎症的紧密耦合,使得针对单一通路的治疗(如抗 VEGF 疗法)在部分患者中效果有限,提示需要同时靶向血管生成和炎症的双重策略[27] [31]。因此,深入研究并干预 RPE 细胞与免疫细胞之间的相互作用及炎症介质分泌网络,对于开发更有效的视网膜血管疾病治疗策略具有重要意义。

5. 体外培养 hRPE 细胞面临的挑战与未来发展方向

5.1. 细胞衰老与表型稳定性问题

原代人视网膜色素上皮(RPE)细胞在体外培养中面临的核心挑战之一是固有的有限增殖能力及在长期培养过程中表型稳定性的丧失。原代 RPE 细胞在体外经过有限次数的传代后,会逐渐进入复制性衰老状态,这不仅限制了其可用于实验或治疗的时间窗口,更伴随着关键细胞功能的退化。这种表型丧失的风险在模拟年龄相关性黄斑变性(AMD)等疾病的研究中尤为突出。研究表明,在 AMD 的病理过程中,RPE 细胞内会积累脂褐素等脂质丰富的沉积物,这些沉积物本身就会诱导细胞衰老并破坏细胞间的紧密连接,从而损害 RPE 的屏障和吞噬功能[32]。这种由病理刺激诱发的细胞衰老,叠加复制性衰老,共同加速了体外培养 RPE 细胞功能的衰退,使得长期维持其体内原代表型变得异常困难。

因此,发展能够延长原代 RPE 细胞功能维持时间的优化培养体系至关重要。因此,未来的优化培养体系可能需要整合抗炎或免疫调节成分,以模拟更健康的局部环境,从而在体外更长久地维持 RPE 细胞的表型稳定性和功能完整性。

5.2. 模型的标准化与可重复性

原代人视网膜色素上皮(RPE)细胞体外培养模型的标准化与可重复性是当前研究领域面临的核心挑战之一。不同实验室在培养条件上的显著差异,直接影响了研究结果的可比性,阻碍了基础研究发现向临床应用的有效转化。例如,在模拟年龄相关性黄斑变性(AMD)等疾病时,所使用的 RPE 模型种类繁多[33]。这些模型在关键的表型特征上,因实验室采用的培养条件不同而存在巨大差异[33]。这种不一致性使得评估特定模型是否能够准确复现 AMD 的特定病理生理过程变得困难,从而直接影响了其在研究不同疾病生物学方面的可用性。因此,建立一套统一的、从细胞分离、培养到表型评价的标准操作程序(SOP)体系,对于提升不同研究机构间数据的可比性和可重复性至关重要。

为了应对这一挑战,学术界正积极推动建立标准化的评价体系。这首先要对 RPE 细胞的表型进行严格且一致的鉴定[33] [34]。通过结合明确的表型评价标准、标准化的操作流程以及自动化技术的应用,是推动原代 RPE 细胞培养模型走向标准化、提高研究可重复性和结果可比性的必由之路。

5.3. 模拟复杂体内环境的三维与共培养模型

为了更精确地模拟体内复杂的视网膜微环境,研究者们正致力于开发超越传统二维单层培养的先进模型。构建包含多种细胞类型的共培养系统是其中的核心策略之一。例如,有研究利用甲基丙烯酸酯化明胶(GelMA)为基础的三维水凝胶,创建了一个包含视网膜色素上皮细胞和 Müller 胶质细胞的多重共培养平台[35]。这种设计通过限制一种细胞的移动性来预测和增强细胞间相互作用的可能性,为大规模组织建模和筛选提供了更复杂的类组织替代方案[34]。这些共培养模型对于研究因细胞间有序结构破坏而引发的多种视网膜病变至关重要[34]。另一项研究则聚焦于模拟外血-视网膜屏障这一功能单元,该特定方案能够模拟 oBRB 的生理结构,生成一个无孔表面用于培养人诱导多能干细胞来源的 RPE 单层,同时其内部的三维多孔结构则用于构建脉络膜血管网络[36]。结果表明,这种内部多孔结构促进了内皮细胞和周细胞的生理性自组织[36]。这种一体化的功能性材料允许 RPE 和脉络膜两个区室在保持各自定位的同时紧密邻近培养,从而有利于细胞间的相互作用,为 oBRB 组织建模提供了生理相关且易于使用、可大规模低成本生产的生物材料[36]。

6. 未来展望:原代人视网膜色素上皮细胞培养技术的创新与临床转化

6.1. 结合基因编辑和干细胞技术,实现定制化 RPE 细胞模型

基因编辑技术与干细胞技术的结合,为构建高度定制化的原代人视网膜色素上皮细胞模型开辟了革命性的途径。通过利用诱导多能干细胞技术,可以从患者体细胞重编程获得 iPSC,进而分化为视网膜色素上皮细胞,这为建立患者特异性的“疾病在培养皿”模型奠定了基础[37]。研究人员能够构建从基因型到表型都高度可控的 RPE 细胞模型,极大地推动了视网膜疾病机制研究、药物筛选和个性化治疗策略的开发。

6.2. 开发更接近体内环境的动态培养系统,提升模型生理相关性

为了提升原代人视网膜色素上皮细胞体外培养模型的生理相关性,研究者们正致力于开发更接近体内环境的动态培养系统。传统的二维单层培养模型在模拟复杂的视网膜外屏障结构方面存在显著局限,无法充分再现视网膜色素上皮、Bruch 膜和脉络膜毛细血管之间的动态相互作用[38]。因此,构建能够整合这些关键组件的三维微生理系统成为当前研究的前沿。该系统能够模拟糖尿病环境,诱导出紧密连接完整性下降、屏障功能丧失和血管收缩等与体内病理变化相似的表现,为研究视网膜和脉络膜血管疾病提供了一个有价值的体外平台[39]。

6.3. 推动体外模型在新药研发、基因治疗及细胞替代疗法中的应用，促进视网膜疾病治疗进步

原代人视网膜色素上皮(RPE)细胞的体外培养模型,在新药研发方面被广泛用于评估候选药物的疗效与安全性。一项研究开发了他克莫司纳米胶束(TAC-NMF),展现了其在治疗新生血管性年龄相关性黄斑变性(nvAMD)中的潜力[23]。这些基于 RPE 细胞的体外筛选模型,极大地加速了新型眼用制剂从实验室到临床的转化进程。

在基因治疗领域,原代 RPE 细胞模型为疾病机制研究和治疗策略验证提供了不可或缺的平台。研究者利用患者来源的诱导多能干细胞(iPSC)分化为 RPE 细胞(iRPE),成功构建了多种遗传性视网膜疾病的“盘中疾病”模型。例如,来自 NPHP5 基因突变所致莱伯先天性黑蒙(LCA)患者的 iPSC-RPE 细胞,再现了纤毛轴突异常延长的表型,并通过腺相关病毒(AAV)介导的基因增补疗法成功挽救了疾病表型[5]。这些研究凸显了原代 RPE 模型在验证基因治疗靶点、评估基因编辑效率及预测临床疗效方面的核心价值。

此外,为了提升移植细胞的存活与整合,生物材料支架与细胞递送技术也得到了同步发展。研究将原代人 RPE 细胞培养在聚乳酸共聚合物(PDLLA)纳米纤维膜上,形成具有极性和功能的细胞层,并成功将其移植到小型猪的视网膜下腔,证明了该载细胞支架在动物模型中的可行性与初步整合[40]。这些技术与体外细胞培养模型的结合,正共同推动着视网膜疾病治疗从概念走向临床现实的革命性进步。

7. 结论

体外培养的原代人视网膜色素上皮细胞作为研究视网膜生理与病理的核心工具,其价值在于最大程度地模拟了体内细胞的生物学特性,为超越传统细胞系模型的局限性提供了关键途径。通过对细胞分离、纯化与培养体系的持续优化,现代技术已能更好地维持 hRPE 细胞的极性、屏障功能及吞噬活性等关键表型,从而构建出用于解析年龄相关性黄斑变性等疾病机制、以及进行高通量药物筛选的可靠平台。这一进展不仅深化了我们对视网膜色素上皮在视觉维持中核心作用的认识,也直接推动了针对脉络膜新生血管、炎症微环境等病理过程的干预策略探索。

当前,该领域仍面临若干核心挑战。原代细胞的体外衰老问题限制了长期实验的可行性,而培养体系的标准化缺失则影响了研究结果的可重复性与跨实验室比较。更为根本的是,现有的静态二维培养模型难以复现体内复杂的细胞外基质结构、血-视网膜屏障的动力学特征以及系统性的免疫与代谢交互。这些挑战恰恰指明了未来的创新方向:通过整合组织工程、微流控器官芯片、类器官培养以及多组学分析等多学科前沿技术,构建更接近生理状态的动态三维共培养体系。此类下一代模型有望在空间结构与微环境信号上实现突破,从而更精准地模拟疾病发生发展过程。

综上所述,体外 hRPE 细胞培养技术的持续演进,其最终目标远不止于建立一个完美的“培养皿中的视网膜”。它的根本使命在于搭建一座坚实的桥梁,一端连接着对视网膜疾病分子与细胞机制的深刻基础认知,另一端则通向具有转化潜力的临床解决方案。随着模型系统的日益复杂与精准,将在发现新的治疗靶点、评估基因与细胞疗法的安全性及有效性、以及推动个体化治疗策略的开发中,发挥越来越重要的作用,最终为攻克致盲性视网膜疾病奠定坚实的理论基石。

参考文献

- [1] Intartaglia, D., Giamundo, G. and Conte, I. (2022) Autophagy in the Retinal Pigment Epithelium: A New Vision and Future Challenges. *The FEBS Journal*, **289**, 7199-7212. <https://doi.org/10.1111/febs.16018>
- [2] Wang, S., Li, W., Chen, M., Cao, Y., Lu, W. and Li, X. (2024) The Retinal Pigment Epithelium: Functions and Roles in Ocular Diseases. *Fundamental Research*, **4**, 1710-1718. <https://doi.org/10.1016/j.fmre.2023.08.011>
- [3] Lenin, R.R., Koh, Y.H., Zhang, Z., Yeo, Y.Z., Parikh, B.H., Seah, I., et al. (2023) Dysfunctional Autophagy, Proteostasis,

- and Mitochondria as a Prelude to Age-Related Macular Degeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article 8763. <https://doi.org/10.3390/ijms24108763>
- [4] Hernandez, M., Recalde, S., Bezunartea, J., Moreno-Orduña, M., Belza, I., Chas-Prat, A., *et al.* (2024) The Scavenging Activity of Coenzyme Q10 Plus a Nutritional Complex on Human Retinal Pigment Epithelial Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, **25**, Article 8070. <https://doi.org/10.3390/ijms25158070>
- [5] Wen, F., Wang, Y., He, D., Liao, C., Ouyang, W., Liu, Z., *et al.* (2022) Primary Culture of Porcine Retinal Pigment Epithelial Cells. *Journal of Visualized Experiments*, No. 187, e64244. <https://doi.org/10.3791/64244-v>
- [6] Hall, J.C., Paull, D., Pébay, A. and Lidgerwood, G.E. (2022) Human Pluripotent Stem Cells for the Modelling of Retinal Pigment Epithelium Homeostasis and Disease: A Review. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, **50**, 667-677. <https://doi.org/10.1111/ceo.14128>
- [7] Kruczek, K., Qu, Z., Welby, E., Shimada, H., Hiriyanna, S., English, M.A., *et al.* (2022) *In Vitro* Modeling and Rescue of Ciliopathy Associated with IQCB1/NPHP5 Mutations Using Patient-Derived Cells. *Stem Cell Reports*, **17**, 2172-2186. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2022.08.006>
- [8] Dodina, M., Gurtsieva, D., Karabelsky, A. and Minskaia, E. (2024) Evaluation of Mesenchymal Stem Cells as an *in Vitro* Model for Inherited Retinal Diseases. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **12**, Article 1455140. <https://doi.org/10.3389/fcell.2024.1455140>
- [9] Jin, X., Liu, J., Wang, W., Li, J., Liu, G., Qiu, R., *et al.* (2022) Identification of Age-Associated Proteins and Functional Alterations in Human Retinal Pigment Epithelium. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, **20**, 633-647. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2022.06.001>
- [10] Paterson, C.A., Weatherston, D., Teeples, T. and Vargis, E. (2024) Isolation of Primary Porcine Retinal Pigment Epithelial Cells for *in Vitro* Modeling. *Journal of Visualized Experiments*, No. 207, e66079. <https://doi.org/10.3791/66079>
- [11] Jang, H.Y., Cho, C.S., Shin, Y.M., Kwak, J., Sung, Y.H., Kang, B., *et al.* (2023) Isolation and Characterization of the Primary Marmoset (*Callithrix jacchus*) Retinal Pigment Epithelial Cells. *Cells*, **12**, Article 1644. <https://doi.org/10.3390/cells12121644>
- [12] Palanisamy, K. and Chidambaram, S. (2024) An *in Vitro* Bilayer Model of Human Primary Retinal Pigment Epithelial and Choroid Endothelial Cells for Permeability Studies. In: Tharakan, B., Ed., *Vascular Hyperpermeability*, Springer, 205-223. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3429-5_17
- [13] Dörschmann, P., Prinz, M., Schmitkall, G., Roider, J. and Klettner, A. (2025) Specific Assay Protocols for Porcine Single-Eye Retinal Pigment Epithelium Concerning Oxidative Stress and Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences*, **26**, Article 8434. <https://doi.org/10.3390/ijms26178434>
- [14] Dörschmann, P., von der Weppen, S., Koyama, E., Roider, J. and Klettner, A. (2025) Porcine Single-Eye Retinal Pigment Epithelium Cell Culture for Barrier and Polarity Studies. *Cells*, **14**, Article 1007. <https://doi.org/10.3390/cells14131007>
- [15] Hass, D.T., Zhang, Q., Autterson, G.A., Bryan, R.A., Hurley, J.B. and Miller, J.M.L. (2023) Medium Depth Influences O₂ Availability and Metabolism in Human RPE Cultures. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **64**, Article 4. <https://doi.org/10.1167/iovs.64.14.4>
- [16] Zhang, Q., Shu, D.Y., Bryan, R.A., Han, J.Y.S., Gulette, G.A., Lo, K., *et al.* (2024) Long-Term Monitoring of Oxygen Consumption Rates in Highly Differentiated and Polarized Retinal Pigment Epithelial Cultures. *Journal of Visualized Experiments*, No. 210, e67038. <https://doi.org/10.3791/67038>
- [17] Lakkaraju, A., Umamathy, A., Tan, L.X., Daniele, L., Philp, N.J., Boesze-Battaglia, K., *et al.* (2020) The Cell Biology of the Retinal Pigment Epithelium. *Progress in Retinal and Eye Research*, **78**, Article ID: 100846. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2020.100846>
- [18] Schreiter, S., Vafia, K., Barsacchi, R., Tsang, S.H., Bickle, M., Ader, M., *et al.* (2020) A Human Retinal Pigment Epithelium-Based Screening Platform Reveals Inducers of Photoreceptor Outer Segments Phagocytosis. *Stem Cell Reports*, **15**, 1347-1361. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2020.10.013>
- [19] Dörschmann, P., Thalenhorst, T., Seeba, C., Tischhöfer, M., Neupane, S., Roider, J., *et al.* (2023) Comparison of Fucoidans from *Saccharina latissima* Regarding Age-Related Macular Degeneration Relevant Pathomechanisms in Retinal Pigment Epithelium. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article 7939. <https://doi.org/10.3390/ijms24097939>
- [20] Li, S., Jiang, Y., Xing, X., Lin, R., Li, Q., Zhou, W., *et al.* (2021) Protective Mechanism of Berberine on Human Retinal Pigment Epithelial Cells against Apoptosis Induced by Hydrogen Peroxide via the Stimulation of Autophagy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2021**, Article ID: 7654143. <https://doi.org/10.1155/2021/7654143>
- [21] Zhao, X., Liu, L., Jiang, Y., Silva, M., Zhen, X. and Zheng, W. (2020) Protective Effect of Metformin against Hydrogen Peroxide-Induced Oxidative Damage in Human Retinal Pigment Epithelial (RPE) Cells by Enhancing Autophagy through Activation of AMPK Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2020**, Article ID: 2524174. <https://doi.org/10.1155/2020/2524174>
- [22] Maurya, M., Bora, K., Blomfield, A.K., Pavlovich, M.C., Huang, S., Liu, C., *et al.* (2023) Oxidative Stress in Retinal

- Pigment Epithelium Degeneration: From Pathogenesis to Therapeutic Targets in Dry Age-Related Macular Degeneration. *Neural Regeneration Research*, **18**, 2173-2181. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.369098>
- [23] Gote, V., Mandal, A., Alshamrani, M. and Pal, D. (2020) Self-Assembling Tacrolimus Nanomicelles for Retinal Drug Delivery. *Pharmaceutics*, **12**, Article 1072. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12111072>
- [24] Chang, Y., Lee, Y., Hsu, M., Wang, M., Tsou, S., Chen, C., *et al.* (2021) Protective Effect of Quercetin on Sodium Iodate-Induced Retinal Apoptosis through the Reactive Oxygen Species-Mediated Mitochondrion-Dependent Pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article 4056. <https://doi.org/10.3390/ijms22084056>
- [25] Lin, Y., Sheu, S., Liu, W., Hsu, Y., He, C., Wu, C., *et al.* (2023) Retinal Protective Effect of Curcumin Metabolite Hexahydrocurcumin against Blue Light-Induced RPE Damage. *Phytomedicine*, **110**, Article ID: 154606. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2022.154606>
- [26] Hansman, D.S., Ma, Y., Thomas, D., Smith, J.R., Casson, R.J. and Peet, D.J. (2024) Metabolic Reprogramming of the Retinal Pigment Epithelium by Cytokines Associated with Age-Related Macular Degeneration. *Bioscience Reports*, **44**, BSR20231904. <https://doi.org/10.1042/bsr20231904>
- [27] Srejovic, J.V., Muric, M.D., Jakovljevic, V.L., Srejovic, I.M., Sreckovic, S.B., Petrovic, N.T., *et al.* (2024) Molecular and Cellular Mechanisms Involved in the Pathophysiology of Retinal Vascular Disease—Interplay between Inflammation and Oxidative Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, **25**, Article 11850. <https://doi.org/10.3390/ijms252111850>
- [28] Nguyen, Q.D., Heier, J.S., Do, D.V., Mirando, A.C., Pandey, N.B., Sheng, H., *et al.* (2020) The Tie2 Signaling Pathway in Retinal Vascular Diseases: A Novel Therapeutic Target in the Eye. *International Journal of Retina and Vitreous*, **6**, Article No. 48. <https://doi.org/10.1186/s40942-020-00250-z>
- [29] Xu, G., Zhang, J. and Tang, L. (2023) Inflammation in Diabetic Retinopathy: Possible Roles in Pathogenesis and Potential Implications for Therapy. *Neural Regeneration Research*, **18**, 976-982. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.355743>
- [30] Joussem, A.M., Ricci, F., Paris, L.P., Korn, C., Quezada-Ruiz, C. and Zarbin, M. (2021) Angiotensin/Tie2 Signaling and Its Role in Retinal and Choroidal Vascular Diseases: A Review of Preclinical Data. *Eye*, **35**, 1305-1316. <https://doi.org/10.1038/s41433-020-01377-x>
- [31] Chaudhary, V., Mar, F., Amador, M.J., Chang, A., Gibson, K., Joussem, A.M., *et al.* (2025) Emerging Clinical Evidence of a Dual Role for Ang-2 and VEGF-A Blockade with Faricimab in Retinal Diseases. *Graefes' Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, **263**, 1239-1247. <https://doi.org/10.1007/s00417-024-06695-4>
- [32] Zhang, Q., Presswalla, F., Ali, R.R., Zacks, D.N., Thompson, D.A. and Miller, J.M. (2021) Pharmacologic Activation of Autophagy without Direct mTOR Inhibition as a Therapeutic Strategy for Treating Dry Macular Degeneration. *Aging*, **13**, 10866-10890. <https://doi.org/10.18632/aging.202974>
- [33] Bharti, K., den Hollander, A.I., Lakkaraju, A., Sinha, D., Williams, D.S., Finnemann, S.C., *et al.* (2022) Cell Culture Models to Study Retinal Pigment Epithelium-Related Pathogenesis in Age-Related Macular Degeneration. *Experimental Eye Research*, **222**, Article ID: 109170. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2022.109170>
- [34] Truong, V., Viken, K., Geng, Z., Barkan, S., Johnson, B., Ebeling, M.C., *et al.* (2021) Automating Human Induced Pluripotent Stem Cell Culture and Differentiation of iPSC-Derived Retinal Pigment Epithelium for Personalized Drug Testing. *SLAS Technology*, **26**, 287-299. <https://doi.org/10.1177/2472630320972110>
- [35] Qureshi, M.H., Metin, E., Kesim, C., Zakeri, Z., Rumman, B., Sahin, A., *et al.* (2025) A Hydrogel-Based Multiplex Coculture Platform for Retinal Component Cells. *ACS Applied Bio Materials*, **8**, 2813-2823. <https://doi.org/10.1021/acsabm.4c01376>
- [36] Dujardin, C., Habeler, W., Aprile, P., Dellaquila, A., Monville, C., Letourneur, D., *et al.* (2025) Engineered Micro-Structured Biomimetic Material for Modelling the Outer Blood-Retinal Barrier. *Biomaterials*, **322**, Article ID: 123357. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2025.123357>
- [37] Wu, X., Yan, N. and Zhang, M. (2022) Retinal Degeneration: Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies. *Current Medicinal Chemistry*, **29**, 6125-6140. <https://doi.org/10.2174/0929867328666211129122908>
- [38] Molins, B., Rodríguez, A., Llorenç, V. and Adán, A. (2024) Biomaterial Engineering Strategies for Modeling the Bruch's Membrane in Age-Related Macular Degeneration. *Neural Regeneration Research*, **19**, 2626-2636. <https://doi.org/10.4103/nrr.nrr-d-23-01789>
- [39] Nam, U., Lee, S. and Jeon, J.S. (2023) Generation of a 3D Outer Blood-Retinal Barrier with Advanced Choriocapillaris and Its Application in Diabetic Retinopathy in a Microphysiological System. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, **9**, 4929-4939. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.3c00326>
- [40] Lytvynchuk, L., Ebbert, A., Studenovska, H., Nagymihály, R., Josifovska, N., Rais, D., *et al.* (2022) Subretinal Implantation of Human Primary RPE Cells Cultured on Nanofibrous Membranes in Minipigs. *Biomedicine*, **10**, Article 669. <https://doi.org/10.3390/biomedicine10030669>