

文章编号: 1001-6325(2024)04-0553-05

短篇综述

年龄相关性黄斑变性的研究进展

魏丹丹*, 宋宇涵, 王 淇, 宿树兰, 朱 悦, 段金厥*

南京中医药大学 中药资源产业化与方剂创新药物国家地方联合工程研究中心/
江苏省中药资源产业化过程协同创新中心/江苏省方剂高技术研究重点实验室, 江苏 南京 210023

摘要: 年龄相关性黄斑变性(AMD)严重威胁老年人视力健康,视网膜色素上皮细胞(RPE)功能障碍是其关键环节。年龄增长导致RPE复制性衰老,光暴露、香烟暴露等导致RPE压力性早衰,衰老的RPE细胞溶酶体消化能力下降导致脂褐素积累,触发早期AMD的发生。老化的视网膜内细胞衰老-更新失衡、氧化压力-抗氧化失衡、慢性炎症反应-抗炎失衡、肠道屏障和肠道微生态失衡、促血管生成-抗血管生成失衡一系列内稳态失衡进一步促进AMD的发展。

关键词: 年龄相关性黄斑变性;视网膜;视网膜色素上皮细胞;细胞衰老

中图分类号:R774 文献标志码:A

DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2024.04.0553

Research advances on the age-related macular degeneration

WEI Dandan*, SONG Yuhan, WANG Qi, SU Shulan, ZHU Yue, DUAN Jin'ao*

National and Local Collaborative Engineering Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization and Formulae
Innovative Medicine/Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization/ Jiangsu Key Laboratory for
Traditional Chinese Medicine Formulae Research, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Age-related macular degeneration(AMD) is a serious threat to the visual health of the elderly, and the dysfunction of retinal pigment epithelial cells(RPE) is a significant etiology risk. Aging process leads to RPE replication senescence, and some environment factors like light exposure and cigarette exposure may lead to RPE stress premature aging, and the decreased lysosomal digestion ability of senescent RPE cells may lead to the accumulation of lipofuscin, triggering the occurrence of early AMD. A series of homeostatic imbalances in aging retina, such as cell senescence-renewal imbalance, oxidative stress-antioxidant imbalance, chronic inflammatory-anti-inflammatory imbalance, intestinal barrier and intestinal microbiota imbalance and pro-angiogenesis-antiangiogenic imbalance all contribute to the development of AMD.

Key words: age-related macular degeneration(AMD); retina; retinal pigment epithelial cells(RPE); cellular senescence

收稿日期:2023-04-11 修回日期:2023-12-27

基金项目:国家自然科学基金(82173965,U21A20408);江苏省研究生实践创新项目(SJ CX22_0806,SJ CX23_0768);国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目(国中医药人教函[2023]85号)

*通信作者(corresponding author):wei.dandan@njucm.edu.cn;dja@njucm.edu.cn

目前中国人口结构已进入老年型,深入研究衰老及老年相关疾病、科学应对人口老龄化是新时代的国家重大需求。在众多老年相关疾病中,年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)严重威胁着老年人群的视力健康。

1 AMD 简介

AMD 为视网膜黄斑区域的退行性疾病,引起进行性中央视力丧失,是 65 岁及以上老年人视力丧失甚至失明的主要原因。流行病学研究表明,中国发达城市 AMD 发病率高达 15.5%,预计 2040 年全球患者将达到 2.88 亿人。临床上以玻璃疣大小将 AMD 分为早期、中期、晚期 3 个阶段,晚期 AMD 导致严重的永久性中央视力丧失,晚期 AMD 包括干性或湿性两种类型。干性 AMD 目前尚无有效的治疗手段,湿性 AMD 主流疗法为玻璃体腔注射抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)抗体。

2 AMD 发生、发展的新近研究进展

AMD 病变主要包括视网膜色素上皮细胞(recular pigment endothelial, RPE)以及感光层的丧失、RPE 下方脂质和蛋白质积累或 Bruch 膜中蛋白质沉积、绒毛膜毛细血管脱落、脉络膜新生血管和盘状瘢痕以及小胶质细胞、巨噬细胞募集以及补体激活引起的炎症反应。迄今为止 AMD 机制尚不完全清楚,但视网膜在老化和压力刺激下导致的一系列内稳态失衡在其发生、发展中起重要作用^[1]。

2.1 细胞衰老-更新失衡

视网膜细胞更新和修复的能力差,使其罹患退行性疾病风险大大增加。RPE 具有维持视网膜内稳态功能,随着年龄增长细胞反复复制导致端粒变短,RPE 等体细胞分裂能力下降引发复制性细胞衰老。RPE 细胞衰老是 AMD 的关键环节,表现为衰老相关-β-半乳糖苷酶(senescence-associated β-galactosidase, SA-β-gal)上调、活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)增多等。衰老的 RPE 细胞溶酶体消化能力下降导致细胞内蛋白聚集体和脂褐素等代谢废物堆积,脂褐素的积累导致早期 AMD 的发生,脂褐素在光暴露下产生自由基导致 RPE 细胞溶酶体功能障碍,吞噬功能进一步受损促进 AMD

发展^[2]。衰老 RPE 细胞的 DNA 损伤促进细胞内脂褐素的堆积,SA-β-gal 可以抑制线粒体分裂进一步促进脂褐素生成。

紫外线辐射、香烟暴露、氧化应激等可作为应激源,作用于细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDK)抑制剂以及 p53 下游信号,阻止下游低磷酸化的视网膜母细胞瘤基因(retinoblastoma, Rb)蛋白磷酸化,抑制 S 期 DNA 复制减慢细胞周期,触发压力引起 RPE 等细胞早衰。贝伐单抗显著降低 CDK2、CDK4 和 CDK6 以及 cyclin D 和 E 的表达,阻断 RPE 细胞的 G1/S 进展^[3]。多柔比星等药物暴露也能够导致 RPE 细胞衰老,与胚胎干细胞共孵育可通过 TGF-β 和 PI3K 信号通路逆转早衰的 RPE 细胞^[4-5]。衰老的 RPE 细胞破坏了血-视网膜屏障,导致 RPE 吞噬光感受器外节能力和调节类视黄醇循环能力下降,RPE 代谢效率低下、识别和去除受损蛋白质的泛素蛋白酶体和自噬溶酶体系统功能受损,导致细胞内泛素化蛋白质堆积和视网膜细胞外沉积物聚集,形成了包含脂质、脂蛋白、脂褐素、β-淀粉样蛋白以及炎症相关因子多种有害物质的玻璃膜疣并充当抗原刺激,激活免疫系统。年龄相关的 Bruch 膜细胞外基质胶原纤维交联度增加,导致载脂蛋白等大分子在通过视网膜时受阻沉积,进而导致视网膜色素上皮和感光层损伤。

2.2 氧化压力-抗氧化失衡

线粒体的脂肪酸 β 氧化为 RPE 细胞提供大量能量,与此同时产生大量的自由基,视网膜高含量的脂质增加了 RPE 氧化应激的风险,RPE 细胞主要抗氧化机制为核因子红细胞 2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)。衰老的 RPE 中 Nrf2 的转录和表达量下降甚至沉默,导致其无法有效地与细胞质中的 Kelch 样 ECH 相关蛋白 1 分离活化并进入细胞核,与抗氧化反应元件结合,导致下游超氧化物歧化酶 SOD、谷胱甘肽还原酶、硫氧还原酶等抗氧化剂短缺。低度 ROS 可活化氧化信号以维持生理功能,但慢性香烟烟雾、光暴露等刺激造成 RPE 细胞内 ROS 堆积,造成多不饱和脂肪酸等脂质过氧化,导致视网膜铁蓄积^[6-7]。RPE 细胞内过量的铁通过 GSH-GPx-4 和 FSP1-CoQ(10)-NADH 信号转导导致 RPE 细胞铁死亡并加速视网

膜的老化,依赖于RPE提供营养和清除代谢废物的光感受器细胞随之死亡^[8]。RPE细胞功能障碍和丢失触发早期AMD的发生及进展,最终导致视网膜变性,二十二碳六烯酸对铁超载小鼠模型的氧化应激和干性AMD具有保护作用^[9-10]。

脂质过氧化产物可以氧化修饰视网膜细胞内的DNA、蛋白质、脂质、线粒体DNA等大分子使其转变为寿命更长的氧化应激刺激物--氧化特异性表位(oxidation-specific epitopes, OSEs),如晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs),AGEs促进其他OSEs的保留并防止其被模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)清除。OSEs通过与PRRs相互作用招募小胶质细胞,下调26S蛋白酶导致细胞内泛素化蛋白质蓄积促进脂褐素和玻璃膜疣的形成,并产生神经毒性炎性介质,清除濒死神经元,破坏并吞噬光感受器。受损的线粒体DNA正反馈地促进细胞内ROS进一步增加并加剧线粒体功能失调,氧化损伤的DNA分子导致视网膜细胞DNA甲基化、端粒变短、组蛋白脱乙酰化、线粒体功能失调、转录组变化等功能异常。给予外源性线粒体来源的24肽护脑素HG可以降低细胞内炎症指标的蛋白水平,如CD62E/E-Selectin、CD62P/P-Selectin、ICAM-1、TNF- α 、MIP-1 α 、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-13、IL-17A等,减轻线粒体DNA介导的炎症反应^[11]。RPE中特异性地过表达Nrf2可以保护RPE形态和功能并防止感光细胞层被破坏^[1]。巨噬细胞NAD⁺消耗酶的过度表达导致视网膜微环境中NAD⁺浓度下降,触发巨噬细胞炎症途径激活、炎症细胞正反馈聚集和ROS积累^[12]。给予其前体如烟酰胺核糖NR和烟酰胺单核苷酸NMN可通过Sirt3-Nrf2等通路恢复氧化-还原平衡改善AMD^[13-14]。

2.3 慢性炎症反应-抗炎失衡

视网膜中的硬脂酸通过Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4)重塑染色质,选择性地增强AP-1结合位点并触发先天免疫系统持续重编程。视网膜中的AGEs可以放大炎症反应,保留炎症碎片或细胞残留物形成玻璃膜疣,触发AMD。氧化压力和线粒体功能失调可活化炎症小体NLRP3和cGAS/STING,激活NF- κ F转录因子,释放IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、MCP-1等,导致视网膜长期处于慢性低度炎

性环境,加剧AMD的进展。衰老相关分泌表型SASPs包括促炎细胞因子IL-6、IL-8、CXCL1、CXCL2、CSF-1,一方面诱导周围健康细胞发生细胞衰老,另一方面以自分泌、旁分泌的方式诱导免疫细胞聚集,引起慢性炎症反应。衰老的RPE细胞内蓄积的ROS可以激活NLRP3炎症小体和NF- κ F信号通路,上调caspase-1,促进IL-1 β 、IL-18等炎症因子的前体转化为活性形式,并激活其他炎症因子,随着炎症反应的加剧免疫功能下降。NLRP3在AMD发展过程中的作用,目前尚存在争议,有研究认为在AMD的后期抑制NLRP3相关信号可防止RPE变性和干性AMD的进展,另一些研究则认为NLRP3信号可防止AMD进一步发展。此外,衰老的RPE招募小胶质细胞,激活补体系统并释放玻连蛋白和簇蛋白等补体通路调控因子,形成C3和C5膜攻击复合物等促炎反应物,导致细胞溶解和释放趋化因子,进一步介导炎症细胞包括小胶质细胞和巨噬细胞募集,视网膜单核吞噬细胞的免疫状态是AMD进展、转归的关键决定因素^[15]。

2.4 自噬功能失衡

自噬为RPE及视网膜代谢提供了至关重要的支持,保护视网膜免受压力和生理衰老的影响。早期AMD患者中央凹周围RPE中PTEN诱导激酶1(PTEN induced kinase 1, PINK1)降低,PINK1缺陷型RPE线粒体自噬和线粒体功能受损,触发上皮-间充质转化,这种作用可以被一种分泌性蛋白Kallistatin所逆转^[16-17]。当溶体形成受损时分泌性自噬取代退化性自噬,导致RPE释放蛋白质-蛋白质聚集体、脂褐素、 β -淀粉样蛋白、线粒体缺陷、促炎因子和促血管生成因子,形成玻璃膜疣和脉络膜新生血管。抑制分泌性自噬可能是AMD的一种治疗策略,分泌性自噬体特异性的TRIM16、SEC22B和RAB8A蛋白可能是治疗靶点的主要候选蛋白^[18]。年龄的增长导致褪黑素含量下降,补充褪黑素通过抑制低氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)/Bcl2/腺病毒E1B19kD相互作用蛋白3(Bcl2/adenovirus E1B 19kDa interacting protein 3, BNIP3)-轻链3B(light chain 3B, LC3B)/线粒体自噬信号抑制碘酸钠诱导的ARPE-19细胞凋亡^[19]。

2.5 肠道屏障和肠道微生物生态失衡

随着衰老的进展,由上皮细胞、黏液层、抗菌肽、

IgA 分泌的免疫球蛋白构成的肠道上皮屏障功能下降,导致肠道微生物的多样性和丰富性下降。肠道微生物的结构也随着衰老逐渐变化;水解蛋白质的潜在的肠道病原菌丰度增加,有利于维持肠道屏障功能完整性的水解糖类的肠道菌以及具有抗氧化活性的肠道菌丰度下降^[20-21]。肠道菌及其代谢产物如短链脂肪酸可以直接或者间接修饰不同细胞的表观基因组,从而调节免疫细胞功能,老化的肠道菌群及其代谢产物可以刺激免疫系统的先天免疫应答和适应性免疫应答,诱导全身性炎症反应,通过“肠-眼轴”、“肠-视网膜轴”在视网膜远端影响免疫状态,导致视网膜长期处于炎症环境,诱发 AMD 的发生和发展。老化的肠道内乳酸菌丰度下降,乳酸可缓解线粒体膜电位破坏、减轻细胞内 ROS,上调 LC3II/I 的比例激活自噬、增加 LC3 点状和自噬液泡的形成,保护线粒体功能并防止氧化应激诱导的视网膜变性^[22]。

参考文献:

- [1] Barnett BP, Handa JT. Retinal microenvironment imbalance in dry age-related macular degeneration: a mini-review[J]. *Gerontology*, 2013, 59: 297-306.
- [2] Wu DM, Ji XK, Ivanchenko MV, *et al.* Nrf2 overexpression rescues the RPE in mouse models of retinitis pigmentosa[J]. *JCI Insight*, 2021, 6: e145029. doi: 10.1172/jci.insight.145029.
- [3] Chen Q, Lin H, Li S, *et al.* Mini- α A upregulates the miR-155-5p target gene CDK2 and plays an antiapoptotic role in retinal pigment epithelial cells during oxidative stress[J]. *J Ophthalmol.* 2023, 2023: 6713094. doi: 10.1155/2023/6713094.
- [4] Lee H, Lee HY, Chae JB, *et al.* Single-cell transcriptome of the mouse retinal pigment epithelium in response to a low-dose of doxorubicin [J]. *Commun Biol*, 2022, 5: 722. doi: 10.1038/s42003-022-03676-3.
- [5] Wang S, Liu Y, Liu Y, *et al.* Reversed senescence of retinal pigment epithelial cell by coculture with embryonic stem cell via the TGF β and PI3K pathways[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 588050. doi: 10.3389/fcell.2020.588050.
- [6] Ren J, Ren A, Deng X, *et al.* Long-chain polyunsatura-

2.6 促血管生成-抗血管生成失衡

RPE 同时生成促血管生成因子 VEGF 以及抗血管生成因子--色素上皮衍生因子维持正常视网膜内稳态;衰老或早衰的 RPE 细胞内蓄积的 ROS 通过低氧诱导因子 HIF-1 α 通路上调 VEGF 的表达,促进脉络膜新生血管形成。脆弱的脉络膜新生血管易破裂受损,促使邻近 RPE 缺氧并上调 VEGF 表达,导致绒毛膜、毛细血管血流失调,加剧湿性 AMD 进展^[23]。

3 问题与展望

AMD 的发病机制尚不完全清楚、缺乏特异性专属性衰老相关靶点,严重阻碍了 AMD 药物研发进程。NF- κ F、Nrf2、VEGF 是其主要靶点,NF- κ F 抑制剂、Nrf2 激活剂、VEGF 抗体、补体抑制剂、端粒激活剂、细胞周期调节剂、微生态调节剂可以在一定程度上促使受损的视网膜重获细胞内稳态,可以在一定程度上延缓 AMD 的发生和发展。

- ted fatty acids and their metabolites regulate inflammation in age-related macular degeneration[J]. *J Inflamm Res.* 2022, 15: 865-880.
- [7] Valencia E, García M, Fernández-Vega B, *et al.* Targeted analysis of tears revealed specific altered metal homeostasis in age-related macular degeneration [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2022, 63: 10. doi: 10.1167/iops.63.4.10.
- [8] Yang M, Tsui MG, Tsang JKW, *et al.* Involvement of FSP1-CoQ (10)-NADH and GSH-GPx-4 pathways in retinal pigment epithelium ferroptosis[J]. *Cell Death Dis.* 2022, 13: 468. doi: 10.1038/s41419-022-04924-4.
- [9] Orozco LD, Chen HH, Cox C, *et al.* Integration of eQTL and a single-cell atlas in the human eye identifies causal genes for age-related macular degeneration[J]. *Cell Rep*, 2020, 30: 1246-1259.
- [10] Liu Y, Bell BA, Song Y, *et al.* Deuterated docosahexaenoic acid protects against oxidative stress and geographic atrophy-like retinal degeneration in a mouse model with iron overload[J]. *Aging Cell*, 2022, 21: e13579. doi: 10.1111/accel.13579.
- [11] Nashine S, Cohen P, Wan J, *et al.* Effect of Humanin G

- (HNG) on inflammation in age-related macular degeneration(AMD)[J]. *Aging*, 2022, 14: 4247-4269.
- [12] Lin R, Yu J. The role of NAD(+) metabolism in macrophages in age-related macular degeneration [J]. *Mech Ageing Dev*, 2023, 209: 111755. doi: 10.1016/j.mad.2022.111755.
- [13] Vreones M, Mustapic M, Moaddel R, *et al.* Oral nicotinamide riboside raises NAD+ and lowers biomarkers of neurodegenerative pathology in plasma extracellular vesicles enriched for neuronal origin[J]. *Aging cell*, 2023, 22: e13754. doi: 10.1111/accel.13754.
- [14] Ren C, Hu C, Wu Y, *et al.* Nicotinamide mononucleotide ameliorates cellular senescence and inflammation caused by sodium iodate in RPE [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 5961123. doi: 10.1155/2022/5961123.
- [15] Lückoff A, Scholz R, Sennlaub F, *et al.* Comprehensive analysis of mouse retinal mononuclear phagocytes[J]. *Nat Protoc*, 2017, 12: 1136-1150.
- [16] Datta S, Cano M, Satyanarayana G, *et al.* Mitophagy initiates retrograde mitochondrial-nuclear signaling to guide retinal pigment cell heterogeneity[J]. *Autophagy*, 2022, 19: 1-18.
- [17] Shen G, Li Y, Zeng Y, *et al.* Kallistatin deficiency induces the oxidative stress-related epithelial-mesenchymal transition of retinal pigment epithelial cells: a novel protagonist in age-related macular degeneration [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2023, 64: 15. doi: 10.1167/iovs.64.12.15.
- [18] Blasiak J, Kaamiranta K. Secretory autophagy: a turn key for understanding AMD pathology and developing new therapeutic targets? [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2022, 26: 883-895.
- [19] Wang K, Chen YS, Chien HW, *et al.* Melatonin inhibits NaIO₃-induced ARPE-19 cell apoptosis via suppression of HIF-1 α /BNIP3-LC3B/mitophagy signaling [J]. *Cell Biosci*, 2022, 12: 133. doi: 10.1186/s13578-022-00879-3.
- [20] Scuderi G, Troiani E, Minnella AM. Gut microbiome in retina health: the crucial role of the gut-retina axis[J]. *Front Microbiol*, 2022, 12: 726792. doi: 10.3389/fmicb.2021.726792.
- [21] Cao YQ, Li YL, Gkerdi A, *et al.* Association of nutrients, specific dietary patterns, and probiotics with age-related macular degeneration [J]. *Curr Med Chem*, 2022, 29: 6141-6158.
- [22] Zou GP, Wang T, Xiao JX, *et al.* Lactate protects against oxidative stress-induced retinal degeneration by activating autophagy [J]. *Free Radical Biol Med*, 2023, 194: 209-219.
- [23] Abokyi S, To CH, Lam TT, *et al.* Central role of oxidative stress in age-related macular degeneration: evidence from a review of the molecular mechanisms and animal models [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 7901270. doi: 10.1155/2020/7901270.