

年龄相关性黄斑变性炎症相关机制的研究进展

马培茹, 刘羊钰, 李水, 杨华静, 陈建斌*

(华中科技大学同济医学院附属同济医院眼科, 武汉 430000)

摘要: 年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是一种随着年龄增长发病率逐渐升高的视网膜退行性疾病, 可造成不可逆性视力下降, 也是一种多因素疾病, 其发病机制目前尚未完全明确。炎症反应作为AMD最重要的发病机制之一, 参与了AMD的发生和进展过程。其中, NLRP3炎症小体活化、补体级联途径介导、模式识别受体激活以及细胞因子与炎症细胞网络调控等机制与AMD的发病密切相关。针对炎症机制的研究可加深对AMD的认知, 指导疾病的筛查和治疗, 现将AMD中上述机制的研究进展作一综述。

关键词: 年龄相关性黄斑变性; 炎症; 细胞因子; 补体

Research progress on inflammation related mechanisms of age-related macular degeneration

MA Peiru, LIU Yangyu, LI Shui, YANG Huajing, CHEN Jianbin*

(Ophthalmology Department of Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430000, China)

Abstract: Age-related macular degeneration (AMD) is a retinal degenerative disease whose incidence gradually increases with age, which can cause irreversible vision loss. It is also a multifactorial disease, and its pathogenesis is not yet fully clear. As one of the most important pathogenesis, inflammation is involved in the occurrence and progression of AMD. In the mechanisms of inflammation, NLRP3 inflammasome activation, complement cascade pathway mediation, pattern recognition receptor activation, cytokine and inflammatory cell network regulation are closely related to the pathogenesis of AMD. The study of inflammatory mechanisms can deepen the understanding, guide the screening and treatment of AMD. In this paper, the latest researches on the above mechanisms in AMD will be reviewed.

Key Words: age-related macular degeneration; inflammation; cytokine; complement

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是一种侵及视网膜黄斑区域的进行性发展的神经退行性疾病, 是发达国家中老年人失明的常见原因。在45岁以上人群中, AMD的全球患病率为8.7%, 预计到2040年, 全球范围

内AMD的患病人数将达到2.88亿^[1]。AMD主要影响视网膜色素上皮层(retinal pigment epithelium, RPE)、Bruch膜、光感受器和脉络膜, 造成不可逆性视力下降, 但在早期无明显临床症状, 其特征性病理改变为RPE层和Bruch膜之间由细胞外蛋白

收稿日期: 2021-10-10

基金项目: 湖北省自然科学基金项目(2012FKB02444)

第一作者: E-mail: 18034534332@163.com

*通信作者: E-mail: jichen10@163.com

质和脂质沉积所组成的玻璃膜疣。晚期AMD可根据临床表现和病理特征分为以视网膜脉络膜地图样萎缩(geographic atrophy, GA)为特征的干性AMD和以脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)为特征的湿性AMD。

AMD的发病是衰老、环境、氧化应激、遗传等多种致病因素相互作用的结果, 其中炎症反应是最重要的环节之一。视网膜脉络膜炎症可诱导玻璃膜疣形成、RPE/光感受器变性和CNV生成等, 在AMD发生发展中起关键作用。近来更多的研究提示, 这种局部低度炎症状态可能是AMD发生的基础和重要的始动因素。本文对AMD炎症相关的主要机制作一简要综述, 探寻在AMD炎症相关环节中具有防治潜力的关键作用靶点。

1 炎症小体活化

炎症小体是细胞内的一种多聚体蛋白质复合物, 可通过多种病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)或危险相关分子模式(danger-associated molecular patterns, DAMPs)对微生物感染和细胞损伤做出反应, 介导半胱氨酸蛋白酶-1(caspase-1)的激活和促炎细胞因子白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-18的分泌, 是先天性免疫系统的重要组成部分^[2]。

多项研究表明, NLRP3炎症小体的活化在湿性和干性AMD的发病机制中起核心作用^[3]。NLRP3作为目前研究最为广泛的炎症小体, 在2012年首次被证明与AMD有关。随后, Tseng等^[4]发现, 湿性及干性AMD患者的RPE细胞和玻璃膜疣中均存在NLRP3炎症小体。进一步研究发现, 蛋白酶体抑制剂MG-132及巴弗洛霉素A1可通过氧化应激激活人RPE细胞中的NLRP3炎症小体, 诱导生成大量炎症因子IL-1 β , 加重视网膜局部病理性炎症, 而使用抗氧化剂阻断线粒体来源的活性氧(reactive oxygen species, ROS)和NADPH氧化酶可阻止IL-1 β 的释放^[5]。在光氧化损伤诱导的视网膜变性模型中, Wooff等^[6]发现, 依赖于caspase-1的NLRP3炎症小体可介导光感受器细胞的死亡和炎症级联反应。

NLRP3炎症小体可与淀粉样蛋白 β (amyloid beta-protein, A β)相互作用从而促进AMD发展。

A β 是玻璃膜疣中的主要致病成分之一, 可通过直接损伤RPE、激活补体和炎症小体等途径诱导并维持视网膜局部炎症反应^[7]。Gao等^[8]观察到, 长时间(14 d)暴露于A β 诱导的促炎环境中, RPE细胞内NF- κ B核转位增加, caspase-1水平升高, IL-18和IL-1 β 分泌水平提高, 表明RPE细胞中炎症小体被显著激活; 此外, RPE-脉络膜组织中caspase-3和gasdermin D蛋白水平明显增高, 证明A β 诱导的炎症小体激活可通过凋亡和焦亡两种细胞死亡途径参与AMD的发病。另一项体外研究证明, A β 可通过NADPH氧化酶和线粒体依赖的ROS途径诱导RPE细胞中NLRP3炎症小体的激活^[9]。

NLRP3炎症小体还可通过自噬过程调节炎症反应及转变细胞死亡途径, 从而影响AMD的发展。炎症坏死是AMD中RPE细胞死亡的主要机制, 其次是坏死性凋亡。自噬蛋白可以保护线粒体的完整性, 减少线粒体DNA向胞浆的释放, 抑制NLRP3炎症小体的激活; 而在体外实验中, 抑制鱼藤酮诱导的RPE细胞自噬可激活炎症小体, 导致caspase-3介导的细胞死亡, 提示自噬可通过调节NLRP3炎症小体依赖性炎症反应来改变RPE细胞的死亡机制^[10]。用IL-1 α 或补体活化产物C5a激活NLRP3炎症小体, 可增加光氧化损伤介导的RPE细胞死亡率, 并将RPE细胞的死亡机制从凋亡转变为炎症坏死^[11]。

NLRP3炎症小体可激活caspase-1, 促进炎症细胞因子IL-1 β 、IL-18的分泌, 介导AMD中的炎症级联反应, 并通过多种细胞因子和凋亡蛋白与A β 相互作用、改变细胞死亡机制等途径在AMD中起核心作用。

2 补体级联途径介导

补体系统由一系列蛋白质组成, 是先天性免疫系统的主要组成部分, 在维持眼部微环境的免疫动态平衡过程中发挥重要作用, 但过度激活补体系统可导致眼部的炎症反应。早期研究发现, AMD患者的玻璃膜疣含有多种补体蛋白, 如C3和C5、C3a和C5a、补体因子H(complement factor H, CFH)和膜攻击复合物(membrane attack complex, MAC)等^[12], 表明补体系统也参与了AMD的发展, 其中, 补体的替代途径(alternative pathway, AP)已

被证明与AMD的发生密切相关^[13]。

AMD病变的早期发生过程中可能有多种补体成分参与,其中C3a的增加可刺激IL-6和IL-1 β 等炎症细胞因子释放^[14]。以高脂高胆固醇饮食饲喂老年(90周龄)杂合补体因子H(CFH^{+/-})小鼠,8周后出现RPE损伤、RPE基底膜下层状沉积、免疫细胞在脉络膜积聚等AMD样病理改变,而全身注射抗C5a抗体仅能抑制单核巨噬细胞在脉络膜-视网膜色素上皮界面的聚集^[14]。Fernandez等^[15]则进一步在体外模型中发现,C3a与受体结合后可通过下调泛素蛋白酶体途径刺激RPE下IV型和VI型胶原沉积,同时损害细胞外基质,诱导RPE下沉积物形成。

C5a是补体蛋白C5的生物活性片段,可介导多种NF- κ B通路相关炎症因子的表达从而启动激活RPE细胞中的NLRP3炎症小体^[16]。人原代RPE细胞和ARPE-19细胞在人血清中培养后,C5a受体mRNA表达水平上调,IL-1 β 分泌量增加,表明人血清可以为RPE细胞炎症小体提供启动信号。补体热灭活和C5a受体抑制剂可抑制人血清的启动效应,而重组C5a可诱导启动炎症小体,表明C5a是RPE细胞中NLRP3炎症小体的潜在启动信号,可介导经典的炎症细胞因子(IL-6、IL-8)以及与炎症小体激活相关的炎症细胞因子IL-1 β 、IL-18的表达,证明补体级联途径与炎症小体激活途径之间存在一定的联系^[17]。

补体系统基因多态性是AMD的高危因素之一。CFH是AP途径的关键抑制因子,可通过干扰C3转化酶的形成及活性,减少C3a、C5a及MAC的形成,阻止补体系统的进一步激活和组织炎症的过度损伤。Borras等^[18]研究发现,当ARPE-19细胞暴露于氧化脂质4-羟基-2-壬烯醛时,全长CFH可以保护RPE细胞免受氧化应激诱导的破坏,而CFH的Y402H多态性可以消除这种作用,这可能是携带该多态性变异的人群AMD易感性较高的机制之一。另外,一项Meta分析证明,C2/CFB基因多态性在AMD中具有保护作用,而C3基因的单核苷酸多态性则是AMD的高危因素^[19]。

局部抑制补体激活是一种具有可行性的AMD治疗方案^[20]。补体AP途径的激活可导致脉络膜毛细血管和RPE上MAC的沉积,亚裂解水平的MAC可诱导炎症因子及细胞因子生成,裂解后的MAC

则导致细胞死亡。CD59是MAC的组装抑制剂,使用腺相关病毒作为CD59的载体并注射到玻璃体腔内是首个针对GA病变的基因疗法,目前已进入临床试验阶段,评估CD59对湿性AMD患者疗效的第二项临床试验也正在进行中^[21]。

因此,补体可介导多种炎症细胞因子的释放、启动NLRP3炎症小体的激活,且补体的基因多态性也可通过抑制补体过度激活、提高RPE细胞对氧化应激的耐受性等多种方式在AMD发病机制中起重要作用。

3 模式识别受体激活

模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)是一种进化上保守的受体,可识别各种内源性及其外源性病原体以及损伤相关的分子模式(PAMPs和DAMPs),受体被相应配体激活后,可迅速激活一系列信号通路,启动免疫炎症反应,参与AMD的发生发展。PRRs主要包括Toll样受体(toll-like receptors, TLRs)、晚期糖基化终产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)、Nod受体、C型凝集素受体、视黄酸诱导基因I样受体等。

TLRs作为常见的PRRs家族参与了AMD的炎症发病机理。分别用不同浓度的TLR2配体Pam3Cys4、TLR4配体脂多糖(LPS)、TLR3配体多肌苷:多胞苷酸(PolyI:C)孵育猪眼RPE细胞和小胶质细胞,发现所有Toll样受体激动剂均可诱导RPE细胞分泌IL-6和IL-8,诱导小胶质细胞分泌IL-1 β 、IL-8、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等细胞因子^[22]。在含有脂质氧化产物CEP的人类血清白蛋白刺激下,人原代RPE细胞(primary human fetal RPE, hfRPE)可产生大量补体因子C3和CFB,靶向TLR2的中和抗体可抑制这种反应^[23]。此外,TLRs家族基因多态性与AMD易感性的相关性受到了广泛关注,Meta分析表明,TLRs的rs4986790多态性与AMD的发病具有显著相关性^[24]。

RAGE与配体结合后,可上调促炎细胞因子水平、促进免疫细胞向病变部位浸润、调节血管生成活性等,促进CNV生成^[25]。研究表明,RAGE基因多态性中的rs1800624和rs1800625多态性与AMD

发病风险显著相关, 且 $rs1800624$ 的T等位基因在AMD的发生中有保护作用, 而 $rs1800625$ 的G等位基因标志着AMD预后不良^[26]。

综上, PRRs受体通过一系列信号通路诱导细胞因子、补体因子大量生成, 启动AMD中的免疫炎症反应, 且多种PRRs受体的基因多态性也与AMD的发病有一定相关性。

4 细胞因子与炎症细胞网络调控

随着年龄的增长, 视网膜色素上皮层对促炎、抗炎细胞因子的调节作用可能诱导并维持视网膜的低度慢性炎症状态, 促进AMD的发生和进展。炎症细胞因子可上调血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的分泌水平, 促进脉络膜和视网膜新生血管生成。CNV的破裂造成血浆蛋白和炎症细胞渗出到血管外, 在各种细胞外基质蛋白和炎症细胞的共同作用下, 局部胶质细胞增生和细胞外基质有序沉积诱发了视网膜下纤维化形成, 导致湿性AMD患者永久性视力损害。其中, 多种炎症细胞因子和炎症相关细胞的网络调控作用是最主要的原因之一^[27]。

4.1 炎症细胞因子

多种炎症细胞因子与湿性AMD相关。Mimura等^[28]在一项病例对照研究中发现, 湿性AMD病例组患眼房水中多种炎症细胞因子水平高于白内障对照组, 如单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)、IL-6、IL-8等。湿性AMD患者在玻璃体腔内注射阿柏西普(抗VEGF治疗药物)后, 血清中干扰素 γ 诱导蛋白-10(IP-10)、IL-6等炎症细胞因子水平有明显改变^[29]。临床研究还发现, 湿性AMD患者和息肉状脉络膜血管病变患者的玻璃体中前IL-1 β 和IL-1 β 蛋白水平较对照组显著升高^[30]。

IL-2是一种特征性炎症因子, 参与了AMD中的黄斑纤维化过程。IL-2可诱导视网膜色素上皮细胞中转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、细胞外基质标志物如纤维连接蛋白和I型胶原表达水平显著上调, 促进细胞外基质生成和视网膜下纤维化进展^[31]。IL-6是一种多功能细胞因子, 参与了多种生物过程, 如炎症免疫反应、新生血管生成和多种组织的纤维化。将富含

巨噬细胞的腹膜渗出细胞注射到小鼠视网膜下间隙后, 可促进RPE细胞的上皮-间充质转化, 从而诱导视网膜下纤维化, 且Sato等^[32]发现, IL-6^{-/-}小鼠视网膜下纤维化面积小于IL-6^{+/+}小鼠, 提示IL-6是促进视网膜下纤维化的关键介质, 靶向IL-6可能是治疗CNV和黄斑纤维化的有效疗法。

TGF- β 参与血管生成、免疫调节、炎症反应、血管纤维化等多种生理病理过程, 是调控湿性AMD患者黄斑纤维化的又一主要因素^[33]。研究发现, TGF- β 可通过Smad2/3-VEGF/TNF- α 信号通路下调VEGF和TNF- α 的蛋白质水平, 抑制CNV小鼠模型中新血管的形成和发展^[34]。此外, 研究还发现, 缺乏TGF- β 后, 小胶质细胞反应性增强, 可诱导视网膜变性并增加CNV形成^[35]。TNF- α 可通过ROS依赖的 β -连环蛋白信号通路促进RPE细胞分泌VEGF, 从而诱导CNV形成, 玻璃体腔内注射TNF- α 的中和抗体可降低RPE/脉络膜中的VEGF水平, 缩小激光诱导后的小鼠CNV体积^[36]。服用集落刺激因子-1受体(colony-stimulating factor 1 receptor, CSF-1R)抑制剂PLX5622一周的小鼠在激光照射后产生的视网膜下CNV面积与未服用的小鼠相似, 但抑制CSF后CNV的消退速度加快^[37]。

多种炎症细胞因子如IL-2、IL-6、TGF- β 、TNF- α 等, 通过不同的信号通路参与了AMD中的黄斑纤维化及CNV的形成过程, 而相关的炎症细胞与其共同构建成的炎症调控网络在AMD的发病中起着不容忽视的作用。

4.2 炎症细胞

4.2.1 单核细胞

单核吞噬细胞如小胶质细胞、单核细胞和巨噬细胞以及一系列化学介质如补体、细胞因子和趋化因子构成了视网膜的先天性免疫系统。部分体外研究已经证实, 视网膜下间隙中单核吞噬细胞的积聚与光感受器的丢失有关^[38]。转录因子Otx2是视网膜发育的关键转录因子, 可调节一些必需基因的表达, 成年小鼠缺乏转录因子Otx2会导致进行性的视网膜光感受器退化。Mathis等^[39]发现, 活化的单核细胞可分泌TNF- α , 抑制RPE内转录因子Otx2的表达, 从而影响视网膜的功能。

4.2.2 小胶质细胞

衰老的小胶质细胞无法迅速对神经损伤做出

反应,其功能障碍是早期AMD的关键因素之一^[40]。小胶质细胞是中枢神经系统内的常驻免疫细胞,在维持视网膜正常功能方面发挥重要作用,并随着年龄增加和外界环境变化迁移到视网膜的不同层面发挥作用。视网膜下间隙积聚的小胶质细胞显示为激活状态,可诱导RPE结构改变,使小胶质细胞大量堆积,促进视网膜外层的炎症,并有助于CNV的形成^[41]。补体成分C1q是补体经典途径的关键激活分子,C1q的缺失可保护视网膜结构,减少光感受器细胞的死亡和炎症反应,改善视网膜功能。在光氧化损伤模型中,小鼠视网膜下小胶质细胞表达的C1q可激活炎症小体,促进视网膜的损伤,而阻断C1q则可减缓视网膜的退行性改变^[42]。

4.2.3 巨噬细胞

巨噬细胞是AMD病变尤其是CNV中的主要炎症细胞。巨噬细胞参与了组织修复、再生及纤维化等生物过程,可以被极化为两种亚型:M1型和M2型。M1型通常为促炎巨噬细胞,分泌促炎细胞因子如IL-6、IL-12、TNF- α 等,引起炎症和组织损伤;M2型为抗炎巨噬细胞,可促进组织修复和新生血管生成、肿瘤生成和转移等;随着细胞周围微环境的变化,这两种表型可相互转化。Yang等^[43]在激光诱导小鼠CNV模型中发现,M1型巨噬细胞相关标记物的mRNA表达水平在CNV生成早期显著上调,随后迅速下降,与之相比,M2型相关标记物的mRNA表达水平在中期升高并可持续到晚期;同时,脉络膜视网膜复合体中M2型相关趋化因子的水平更高,提示在CNV病变中,M2型巨噬细胞的作用可能更占优势,尤其是在CNV的晚期。在一项同期临床研究中,以CCL22/CXCL10的比值代替M2/M1,发现AMD患者房水中M2/M1的比值较对照组高,这也进一步佐证了M2型巨噬细胞可能在CNV的发展过程中占主导地位^[43]。Zhou等^[44]发现,M1型巨噬细胞主要分布在脉络膜上,而M2型巨噬细胞主要存在于视网膜上,且M1型在抑制CNV发展中起更直接的作用。AMD患者血清中几丁质酶-3-样-1(chitinase-3-like-1, CHI3L1)水平明显升高,而在小鼠CNV模型中,CHI3L1可诱导巨噬细胞M2型极化,局部抑制CHI3L1后可减少CNV的形成,并增强了抗VEGF的治疗效果,表明

CHI3L1可能是治疗AMD的一个新靶点^[45]。

4.2.4 中性粒细胞

中性粒细胞具有调节急性损伤及修复、自身免疫和慢性炎症等生物学功能,并可以招募单核/巨噬细胞到达炎症部位。一项系统研究分析显示,湿性AMD发病率与中性粒细胞/淋巴细胞比率(neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)升高有较强的相关性^[46]。Subhi等^[47]进行的临床研究发现,中性粒细胞数目与CNV的病变大小相关,而NLR与CNV病变面积相关。脂钙蛋白-2(lipocalin-2, LCN-2)可能与AMD的炎症反应有关。Ghosh等^[48]的研究表明,早期AMD患者脉络膜和视网膜中LCN-2阳性的中性粒细胞浸润增加;同时,在小鼠模型中证明了AKT2-NF- κ B-LCN-2信号轴可上调视网膜中LCN-2的表达,并激活炎症反应。抑制AKT2的表达水平可减少LCN-2介导的中性粒细胞浸润,并逆转早期AMD样表型改变^[49]。因此,AKT2抑制剂可能对早期AMD有治疗潜力。

随着年龄的增长,视网膜下间隙内单核吞噬细胞积聚,诱导眼后部的炎症反应,损伤RPE和光感受器的完整性,在AMD的发展中起重要作用^[50]。此外,中性粒细胞也与CNV病变和AMD的炎症反应密切相关。

5 总结与展望

AMD是一种复杂的多因素疾病,近年来,其炎症反应机制在AMD发生发展中的作用逐渐被人们重视。许多诱因可介导RPE细胞释放大量炎症介质,如NLRP3炎症小体、补体蛋白,以及IL-1 β 、IL-6、IL-12、IL-18、TNF- α 等多种细胞因子,从而启动炎症级联反应。同时,炎症细胞尤其是小胶质细胞、巨噬细胞、中性粒细胞等,可与炎症细胞因子组成炎症调控网络,诱导AMD的发生发展。NLRP3炎症小体的激活、IL-1 β 和IL-18的释放,是焦亡经典通路的表现,因此,是否有诱因激活了NLRP3炎症小体,触发了焦亡并释放一系列炎性物质,从而介导AMD的发生发展还需要未来进一步的基础研究。目前,AMD的发病机制尚不完全清晰,且无特异性治疗方法,本文主要概述了AMD发病机制中炎症的相关因素,在未来AMD的治疗实践中,是否可在常规治疗的同时联合抗炎治疗,值得进一步的临床实验探究。尽管

目前尚无法阐明各种炎症机制和病理进展之间确切的关系, 但国内外已开展了许多有意义的相关研究, 进一步探索炎症与AMD的关系将有助于为AMD的防治提供新的思路。

参考文献

- [1] Wong WL, Su X, Li X, et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health*, 2014, 2(2): e106-e116
- [2] 张跃辉, 贺福初, 田春艳, 等. 炎症小体的研究进展概述. *生命的化学*, 2015, 35(35): 622-626
- [3] Celkova L, Doyle SL, Campbell M. NLRP3 inflammasome and pathobiology in AMD. *J Clin Med*, 2015, 4(1): 172-192
- [4] Tseng WA, Thein T, Kinnunen K, et al. NLRP3 inflammasome activation in retinal pigment epithelial cells by lysosomal destabilization: implications for age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(1): 110-120
- [5] Piippo N, Korhonen E, Hytti M, et al. Oxidative stress is the principal contributor to inflammasome activation in retinal pigment epithelium cells with defunct proteasomes and autophagy. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(1): 359-367
- [6] Wooff Y, Fernando N, Wong JHC, et al. Caspase-1-dependent inflammasomes mediate photoreceptor cell death in photo-oxidative damage-induced retinal degeneration. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 2263
- [7] 程育宏, 吉梦, 王华, 等. Amyloid beta在湿性年龄相关性黄斑变性患者中的表达及意义. *现代生物医学进展*, 2020, 20(18): 3486-3489
- [8] Gao J, Cui JZ, To E, et al. Evidence for the activation of pyroptotic and apoptotic pathways in RPE cells associated with NLRP3 inflammasome in the rodent eye. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 15
- [9] Wang K, Yao Y, Zhu X, et al. Amyloid β induces NLRP3 inflammasome activation in retinal pigment epithelial cells via NADPH oxidase- and mitochondria-dependent ROS production. *J Biochem Mol Toxicol*, 2017, 31(6): e21887
- [10] Liu J, Copland DA, Theodoropoulou S, et al. Impairing autophagy in retinal pigment epithelium leads to inflammasome activation and enhanced macrophage-mediated angiogenesis. *Sci Rep*, 2016, 6: 20639
- [11] Brandstetter C, Patt J, Holz FG, et al. Inflammasome priming increases retinal pigment epithelial cell susceptibility to lipofuscin phototoxicity by changing the cell death mechanism from apoptosis to pyroptosis. *J PhotoChem PhotoBiol B-Biol*, 2016, 161: 177-183
- [12] Mullins RF, Schoo DP, Sohn EH, et al. The membrane attack complex in aging human choriocapillaris. *Am J Pathol*, 2014, 184(11): 3142-3153
- [13] Loyet KM, DeForge LE, Katschke Jr KJ, et al. Activation of the alternative complement pathway in vitreous is controlled by genetics in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(10): 6628-6637
- [14] Toomey CB, Landowski M, Klingeborn M, et al. Effect of anti-C5a therapy in a murine model of early/intermediate dry age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59(2): 662-673
- [15] Fernandez GR, Pierce EA. C3a triggers formation of sub-retinal pigment epithelium deposits via the ubiquitin proteasome pathway. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 9679
- [16] Brandstetter C, Holz FG, Krohne TU. Complement component C5a primes retinal pigment epithelial cells for inflammasome activation by lipofuscin-mediated photooxidative damage. *J Biol Chem*, 2015, 290(52): 31189-31198
- [17] Cao S, Wang JCC, Gao J, et al. CFH Y402H polymorphism and the complement activation product C5a: effects on NF- κ B activation and inflammasome gene regulation. *Br J Ophthalmol*, 2016, 100(5): 713-718
- [18] Borrás C, Canonica J, Jorieux S, et al. CFH exerts anti-oxidant effects on retinal pigment epithelial cells independently from protecting against membrane attack complex. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 13873
- [19] Lu F, Liu S, Hao Q, et al. Association between complement factor C2/C3/CFB/CFH polymorphisms and age-Related macular degeneration: a meta-analysis. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2018, 22(9): 526-540
- [20] Park DH, Connor KM, Lambris JD. The challenges and promise of complement therapeutics for ocular diseases. *Front Immunol*, 2019, 10: 1007
- [21] Kumar SR. The role of complement membrane attack complex in dry and wet AMD-From hypothesis to clinical trials. *Exp Eye Res*, 2019, 184: 266-277
- [22] Dietrich L, Lucius R, Roeder J, et al. Interaction of inflammatorily activated retinal pigment epithelium with retinal microglia and neuronal cells. *Exp Eye Res*, 2020, 199: 108167
- [23] Mulfaul K, Ozaki E, Fernando N, et al. Toll-like receptor 2 facilitates oxidative damage-induced retinal degeneration. *Cell Rep*, 2020, 30(7): 2209-2224.e5
- [24] Liu XC, Guo XH, Chen X, et al. Toll-like receptor 4 gene polymorphisms rs4986790 and rs4986791 and age-related macular degeneration susceptibility: a meta-analysis. *Ophthalmic Genet*, 2020, 41(1): 31-35
- [25] Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M, et al. Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products.

- J Mol Med(Berl)*, 2005, 83(11): 876-886
- [26] Banevicius M, Vilkeviciute A, Kriauciuniene L, et al. The association between variants of receptor for advanced glycation end products (RAGE) gene polymorphisms and age-related macular degeneration. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 190-199
- [27] Sato T, Takeuchi M, Karasawa Y, et al. Comprehensive expression patterns of inflammatory cytokines in aqueous humor of patients with neovascular age-related macular degeneration. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 19447
- [28] Mimura T, Funatsu H, Noma H, et al. Aqueous humor levels of cytokines in patients with age-related macular degeneration. *Ophthalmologica*, 2019, 241(2): 81-89
- [29] Sato T, Takeuchi M, Karasawa Y, et al. Intraocular inflammatory cytokines in patients with neovascular age-related macular degeneration before and after initiation of intravitreal injection of anti-VEGF inhibitor. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 1098
- [30] Zhao M, Bai Y, Xie W, et al. Interleukin-1 β level is increased in vitreous of patients with neovascular age-related macular degeneration (nAMD) and polypoidal choroidal vasculopathy (PCV). *PLoS One*, 2015, 10(5): e0125150
- [31] Jing R, Qi T, Wen C, et al. Interleukin-2 induces extracellular matrix synthesis and TGF- β 2 expression in retinal pigment epithelial cells. *Dev Growth Differ*, 2019, 61(7-8): 410-418
- [32] Sato K, Takeda A, Hasegawa E, et al. Interleukin-6 plays a crucial role in the development of subretinal fibrosis in a mouse model. *Immunol Med*, 2018, 41(1): 23-29
- [33] Wang K, Li H, Sun R, et al. Emerging roles of transforming growth factor β signaling in wet age-related macular degeneration. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2019, 51(1): 1-8
- [34] Wang X, Ma W, Han S, et al. TGF- β participates choroid neovascularization through Smad2/3-VEGF/TNF- α signaling in mice with Laser-induced wet age-related macular degeneration. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 9672
- [35] Ma W, Silverman SM, Zhao L, et al. Absence of TGF β signaling in retinal microglia induces retinal degeneration and exacerbates choroidal neovascularization. *Elife*, 2019, 8: e42049
- [36] Wang H, Han X, Wittchen ES, et al. TNF- α mediates choroidal neovascularization by upregulating VEGF expression in RPE through ROS-dependent β -catenin activation. *Mol Vis*, 2016, 22: 116-128
- [37] Schwarzer P, Kokona D, Ebner A, et al. Effect of inhibition of colony-stimulating factor 1 receptor on choroidal neovascularization in mice. *Am J Pathol*, 2020, 190(2): 412-425
- [38] Levy O, Calippe B, Lavalette S, et al. Apolipoprotein E promotes subretinal mononuclear phagocyte survival and chronic inflammation in age-related macular degeneration. *EMBO Mol Med*, 2015, 7(2): 211-226
- [39] Mathis T, Housset M, Eandi C, et al. Activated monocytes resist elimination by retinal pigment epithelium and downregulate their OTX2 expression via TNF- α . *Aging Cell*, 2017, 16(1): 173-182
- [40] Fletcher EL. Contribution of microglia and monocytes to the development and progression of age related macular degeneration. *Ophthalmic Physiol Opt*, 2020, 40(2): 128-139
- [41] Ma W, Wong WT. Aging changes in retinal microglia and their relevance to age-related retinal disease. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 854: 73-78
- [42] Jiao H, Rutar M, Fernando N, et al. Subretinal macrophages produce classical complement activator C1q leading to the progression of focal retinal degeneration. *Mol Neurodegener*, 2018, 13(1): 45
- [43] Yang Y, Liu F, Tang M, et al. Macrophage polarization in experimental and clinical choroidal neovascularization. *Sci Rep*, 2016, 6: 30933
- [44] Zhou Y, Yoshida S, Kubo Y, et al. Different distributions of M1 and M2 macrophages in a mouse model of laser-induced choroidal neovascularization. *Mol Med Rep*, 2017, 15(6): 3949-3956
- [45] Xu N, Bo Q, Shao R, et al. Chitinase-3-like-1 promotes M2 macrophage differentiation and induces choroidal neovascularization in neovascular age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2019, 60(14): 4596-4605
- [46] Niazi S, Krogh Nielsen M, Sørensen TL, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio in age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *Acta Ophthalmol*, 2019, 97(6): 558-566
- [47] Subhi Y, Lykke Sørensen T. New neovascular age-related macular degeneration is associated with systemic leucocyte activity. *Acta Ophthalmol*, 2017, 95(5): 472-480
- [48] Ghosh S, Shang P, Yazdankhah M, et al. Activating the AKT2-nuclear factor- κ B-lipocalin-2 axis elicits an inflammatory response in age-related macular degeneration. *J Pathol*, 2017, 241(5): 583-588
- [49] Ghosh S, Padmanabhan A, Vaidya T, et al. Neutrophils homing into the retina trigger pathology in early age-related macular degeneration. *Commun Biol*, 2019, 2(1): 348
- [50] Guillonnet X, Eandi CM, Paques M, et al. On phagocytes and macular degeneration. *Prog Retinal Eye Res*, 2017, 61: 98-128