

年龄相关性黄斑变性的危险因素分析及对疾病动物模型构建的启示

陈晨凯^a, 王颖异^a, 曹程^a, 许惠琴^b, 朱悦^a, 段金康^a, 郭建明^{a*} (南京中医药大学, a.江苏省方剂高新技术研究重点实验室, 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, b.江苏省中药药效与安全性评价重点实验室, 南京 210023)

摘要: 年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是一种影响视网膜黄斑区功能,引起中心视力进行性损伤的眼科疾病,是导致>60岁老年人视力受损的主要原因。随着中国社会老龄化进程的日益加深,AMD的患病率逐渐升高。AMD的具体发病机制尚不完全明确,构建合适的动物模型有助于阐明其相关病理机制。错综复杂的危险因素共同推动了AMD的发生发展,分析AMD的危险因素对动物模型的构建具有启示作用。

关键词: 年龄相关性黄斑变性; 危险因素; 临床分类; 动物模型

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2021)15-1894-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.15.017

引用本文: 陈晨凯, 王颖异, 曹程, 等. 年龄相关性黄斑变性的危险因素分析及对疾病动物模型构建的启示[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(15): 1894-1900.

Risk Factors Analysis of Age-related Macular Degeneration and the Enlightenment to the Construction of Disease Animal Models

CHEN Chenkai^a, WANG Yingyi^a, CAO Cheng^a, XU Huiqin^b, ZHU Yue^a, DUAN Jin'ao^a, GUO Jianming^{a*} (Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, a.Jiangsu Key Laboratory of High Technology Research of TCM Formulae, Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, b.Jiangsu Key Lab for Pharmacology and Safety Evaluation of Chinese Materia Medica, Nanjing 210023, China)

ABSTRACT: Age-related macular degeneration(AMD) is an ophthalmic disease that affects the function of the macular area of the retina and causes progressive damage to the central vision. It is a leading cause of visual impairment to elderly people aged over 60 years. With the deepening of Chinese society's aging process, the prevalence of AMD is gradually increasing. The molecular mechanisms underlying the specific pathogenesis of AMD is poorly understood. The construction of a suitable animal model is critical to clarifying the pathogenesis of AMD. Intricate risk factors have jointly promoted the occurrence and development of AMD. Therefore, analysis of AMD risk factors may showed some light on its animal construction.

KEYWORDS: age-related macular degeneration; risk factor; clinical classification; animal models

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是一种影响视网膜黄斑区功能,引起中心视力进行性损伤的眼科疾病^[1]。2019年全球约有3.3亿人深受中重度视力障碍及失明的困扰,而AMD是导致失明的第三大原因,是导致中度或重度视力障碍的第四大原因,其全球发病率约为8.69%^[2],预计到2040年全球AMD的患者数将增加至约3亿人^[3]。AMD也一直是导致中国人群视觉障碍的主要病因^[4],AMD在中国的发病率约为5.26%,且呈现逐年增长态势,预计到2050年将升至7.64%^[5]。

由于AMD的具体发病机制尚不明确,因此可以通过构建良好的动物模型来揭示其病理机制。而对AMD复杂多样的危险因素进行全面系统地

分析将有助于发现目前动物模型的不足,且对新的动物模型的构建具有启示意义。

1 AMD的临床分类

AMD的发展分为2个阶段:早、中期AMD和晚期AMD。早期AMD是指在视网膜黄斑区出现中等大小的玻璃膜疣($63\mu\text{m}$ <直径 $\leq 125\mu\text{m}$)或视网膜色素改变(色素沉着过度或色素沉着不足),或两者兼有;中期AMD定义为存在广泛的中等大小的玻璃膜疣或少量大玻璃疣(直径 $>125\mu\text{m}$),或两者兼有^[6]。

晚期AMD又可分为干性AMD和湿性AMD。干性AMD以视网膜黄斑区出现地图样萎缩为特征,伴有光感受细胞层、视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)层和脉络膜毛细血管进

基金项目: 国家自然科学基金项目(81773983)

作者简介: 陈晨凯,男,硕士生 Tel: (025)85811917 E-mail: maxdone001@126.com *通信作者: 郭建明,男,博士,教授,硕导 Tel: (025)85811917 E-mail: njuguo@njucm.edu.cn

行性萎缩^[2],且视网膜神经上皮层受到严重损伤。而湿性 AMD 以出现脉络膜新生血管为特征,当 Bruch's 膜发生钙化和病灶性破裂时,在 RPE 下的间隙中形成脉络膜新生血管^[2]。脉络膜新生血管易发生出血、渗漏,导致血管纤维化或萎缩性黄斑瘢痕(盘状瘢痕),对中心视力造成永久性损伤。

2 AMD 的危险因素

AMD 是一种由多因素诱导的疾病,环境、遗传等多个方面的因素都会参与 AMD 的发生与发展,其中高龄和吸烟是 AMD 最主要的危险因素^[2],见图 1。

2.1 年龄因素

年龄是 AMD 的首要危险因素,AMD 的发病率随着年龄的增长而逐渐升高^[2]。综合 Beaver Dam 眼科研究所、Rotterdam 研究中心和蓝山眼科研究所的研究^[7]发现,55~64 岁人群晚期 AMD 的患病率仅为 0.2%,而>85 岁人群晚期 AMD 的患病率则增至 13.1%。Song 等^[5]也发现,中国人群 AMD 不同阶段的发病率也与年龄的增长成正相关,见

图 2。早期 AMD 的患病率,45~49 岁人群为 1.79%(95%CI=1.05~3.02),而 85~89 岁人群已升至 10.05%(95%CI=6.17~15.97);晚期干性 AMD 的患病率,45~49 岁人群为 0.38%(95%CI=0.16~0.97),而 85~89 岁人群已升至 3.88%(95%CI=1.68~9.13);晚期湿性 AMD 的患病率,45~49 岁人群为 0.24%(95%CI=0.11~0.50),而 85~89 岁人群已升至 2.79%(95%CI=1.33~5.77)。

2.2 环境因素

2.2.1 吸烟 吸烟是与 AMD 最强烈相关的环境因素,也是目前唯一被认为可以通过行为习惯改变的危险因素^[2]。一项荟萃分析显示,吸烟会使 AMD 总发病风险增加近 3 倍^[8],使晚期 AMD 的发病风险增加 2 倍^[2]。在患有不同程度 AMD 的单卵双胞胎试验中发现,双胞胎中吸烟的要比不吸烟的更易感晚期 AMD^[9]。已戒烟人群患 AMD 的风险要低于未戒烟人群,但仍要高于无吸烟史人群^[10]。吸烟还会增加所有 *CFH* 基因型、*ARMS2* 基因型和 *HtrA* 丝氨酸蛋白酶 1(*HTRA1*)基因型的 AMD 风险^[2]。

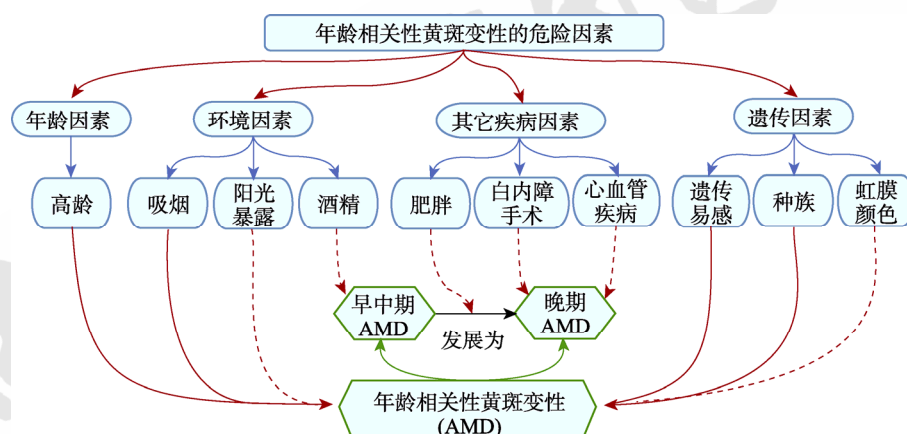


图 1 危险因素与 AMD 相关性的示意图

Fig. 1 Schematic diagram of correlation between risk factors and AMD

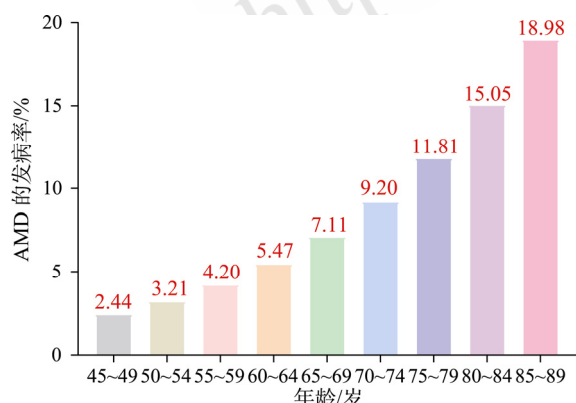


图 2 2015 年中国各年龄段 AMD 的发病率^[5]

Fig. 2 Incidence of AMD in different age groups in China in 2015^[5]

2.2.2 阳光暴露 阳光暴露也可能与 AMD 有关^[11]。Sui 等^[12]汇总分析了 14 项研究,在其中的 12 项研究中发现阳光暴露会增加 AMD 的风险,其中的 6 项研究表明阳光暴露具有重大风险。在阳光下长时间暴露工作会增加患 AMD 的风险^[13]。Modenese 等^[14]对 13 项职业因素与 AMD 风险的研究进行了系统评估,其中 10 项报道阳光暴露与 AMD 相关。长时间暴露于太阳辐射下,户外工作人员的眼睛可能会面临危险,特别是当他们在能够反射阳光的表面上工作时,如水、白沙、或有光泽的金属^[15]。Taylor 等^[16]对 838 名在切萨皮克海湾工作的船工追踪调查 20 年发现 27.6%的人患有 AMD。但除去

因工作原因而长期暴露在强光环境的人群, 其他人群由于很难测量其终生光照, 因此他们的年龄相关性黄斑变性与过度阳光暴露的流行病学证据较为薄弱。最近有一项研究表明阳光暴露与 AMD 的风险增加无关, 做好阳光防护措施并不能降低 AMD 的发病率^[17]。

2.2.3 酒精摄入 虽然少量饮酒量(每天饮用<1 杯标准饮料, 1 杯标准饮料等于 10 克纯酒精)或中等饮酒量(每天饮用 1~2 杯标准饮料)与 AMD 的发病风险无明显关联, 但是大量饮酒(每天饮用>3 杯标准饮料)与早期 AMD 的发病风险极密切相关^[18]。Dinu 等^[18]汇总了 12 项研究发现, 相较于每天饮用<1 杯标准饮料的受试者, 每天饮用 1~2 杯标准饮料的受试者患 AMD 的风险增加 20%。但是每天饮用>2 杯标准饮料与晚期 AMD 的发生率却无统计学意义^[19]。因此, 新西兰每日酒精摄入量指南认为女性每日饮酒量应<2 杯标准饮料, 男性每日饮酒量应≤3 杯标准饮料^[19]。

2.3 遗传因素

2.3.1 遗传易感 遗传和流行病学研究认为遗传变异在 AMD 病因中发挥了一定作用, 这一结论在 Seddon 的双胞胎试验中已被证实, 同卵双胞胎之间 AMD 的一致性很高, 甚至是异卵双胞胎的 2 倍, 估计 AMD 的遗传率可能高达 45%~70%^[20-21]。目前已有>50 个遗传易感基因鉴定出与 AMD 遗传相关, 其中最受关注的是 *CFH* 和 *ARMS2* 基因^[2]。

约 50% 的 AMD 患病风险可归因于 *CFH* 变异体导致 *CFH* 的功能下降^[11]。*CFH* 的功能障碍会涉及 AMD 发病机制中的补体级联和慢性炎症^[22]。*CFH* 突变风险大多来自位于第 9 号外显子多态性位点 *Y420H(rs1061170)* 的改变(组氨酸替换掉了酪氨酸), 这会使 AMD 的患病风险提高 2~7 倍^[16]。补体途径参与玻璃膜疣的形成, *CFH* 可通过促进 I 因子介导的 C3b 失活或从 C3Bb 复合物中置换因子 Bb 来抑制替代途径, 从而对补体系统进行负调节^[23]。

视网膜黄斑区的 RPE 细胞中 *ARMS2* 基因的高表达易造成 RPE 细胞的退行性改变, 从而引发 AMD 风险^[24]。主要是 *ARMS2* 的多态性位点 *A69S(rs10490924)* 会对 AMD 的发生、发展产生影响。在同一病例对照样本中, *ARMS2 A69S* 对湿性 AMD 的影响甚至要强于 *CFH Y402H*^[25]。

2.3.2 种族 欧洲白人的 AMD 患病率约是亚洲人和非洲人的 2 倍, 见图 3。无论早期、中期还是晚期 AMD, 欧洲白人都有更高的发病率。相较于

亚洲人(0.21%)和非洲人(0.14%), 欧洲白人有着较高的干性 AMD 发病率(1.11%), 但各种族的湿性 AMD 的发病率几乎无差异(0.46%)^[2]。

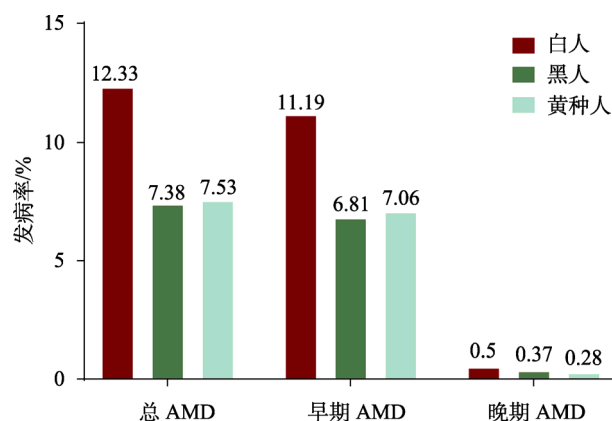


图 3 不同人种各阶段 AMD 的发病率

Fig. 3 Incidence of AMD in different stages of different races

2.3.3 虹膜颜色

2.3.3.1 虹膜颜色深浅 虹膜颜色的深浅与 AMD 的发病风险显著相关^[26]。浅色虹膜人群比深色虹膜人群发生 AMD 的风险要高出 2 倍^[11], 浅色虹膜人群患晚期 AMD 的风险也会增加^[27]。蓝山眼科研究所的一项研究也发现浅色虹膜人群发生早期或晚期 AMD 的风险都显著增加^[26]。

2.3.3.2 虹膜颜色不同 不同颜色的虹膜并没有显著影响 AMD 的发病风险, 与之仅有适度关联^[11]。与蓝色虹膜人群相比, 棕色虹膜人群更易患早期 AMD, 但患晚期 AMD 的风险均显著降低^[11]。

然而 Beaver Dam 眼科研究所的一项报告指出, 虹膜颜色与早期 AMD 的 10 年发病率以及 AMD 进展无关^[17]。

2.4 其他疾病与 AMD 的关系

2.4.1 肥胖 肥胖一般用体质质量指数(body mass index, BMI)进行评价。肥胖会增加早中期 AMD 发展为晚期 AMD 的风险^[10], 此外, 在有一只眼已经患有晚期 AMD 的情况下, 肥胖可能导致另一只眼也发展为晚期 AMD^[28]。蓝山眼科研究所发现, 非正常的 BMI 数值与早期 AMD 之间存在显著的横断面关联^[29], 但在之后的 5 年或更久的随访中却无法证实这种关联。其他研究也指出肥胖与早期 AMD 之间并无显著性关联, 只有极度肥胖才与 AMD 相关, 在对饮食结构调整后, 关联性消失^[30]。

2.4.2 白内障手术 目前, 白内障手术与 AMD 进展间的关系仍然充满争议。较早的横断面研究报

告显示白内障手术会增加晚期 AMD 的风险。Beaver Dam 眼科研究所和蓝山眼科研究所调查了白内障手术与 AMD 的关联, 5 年和 10 年的随访结果都发现白内障手术与早期 AMD 风险相关, 白内障手术还会增加晚期 AMD 的风险^[31]。然而, 在韩国政府主导的全国性的横断面调查“韩国国民健康与营养调查”中发现白内障手术与任何形式的 AMD 均无关联^[32]。

2.4.3 心血管疾病 AMD 与心血管疾病的致病机制存在许多相似之处, 有一些共同的潜在病理生理因素如高龄、吸烟、肥胖和 CFH 等^[33]。一项蓝山眼科的研究^[34]发现晚期 AMD 与心血管死亡的风险增加有关。但更多研究宣称并没有观察到 AMD 和心血管疾病之间的任何联系^[35], 包括 Beaver Dam 眼科研究所的报告、洛杉矶拉丁裔眼科研究以及一项来自 Beaver Dam 眼科研究所, 蓝山眼科研究和 Rotterdam 研究中心的荟萃分析。

3 AMD 动物模型的构建

将 AMD 的危险因素用于指导 AMD 动物模型的构建对深入了解其发病机制有着极为重要的意义, 见图 4。

3.1 年龄因素

动物的年龄是构建 AMD 动物模型时首先需要考虑的因素, 老年动物是构建 AMD 模型的首选动物。Chen 等^[36]构建了 CCL2(-/-)CX3CR1(GFP/GFP)小鼠自发性病变模型以模拟干性 AMD 的表型, 在 180 Lux 光照饲养条件下, 发现在 6 月龄之前所有小鼠的眼底并未产生视网膜变性; 60%的

12 月龄小鼠的视网膜中央区出现类玻璃膜疣的淡黄色或白色沉淀物, 大小约为 0.5~5 个视盘直径, 而周边视网膜并未发生类似病变; 18 月龄时所有小鼠的视网膜中央区均出现此类沉积物。此外, CCL2(-/-)CX3CR1(GFP/GFP)小鼠还会呈年龄依赖性地发生局部视网膜萎缩, 这是干性 AMD 样病变, 并且发生此种病变的最小年龄为 12 个月。Vessey 等^[37]构建了 P2X7-null 小鼠模型, 并以相同年龄的野生型 C57BL/6J 小鼠作为对照, 来研究 P2X7 受体清除剂活性在 AMD 发病进程中的作用。用视网膜电生理检测各年龄段小鼠感光细胞的功能情况, 随年龄增长, P2X7-null 小鼠与 C57BL/6J 小鼠视杆细胞和视锥细胞的 b 波振幅与视敏度都逐渐下降。此外, 随年龄增长, P2X7-null 小鼠与 C57BL/6J 小鼠的 Bruch's 膜厚度逐渐增加, 与 4 月龄时相比, 12 月龄的 P2X7-null 小鼠 Bruch's 膜厚度甚至增加了 1 倍, Bruch's 膜厚度的变化一直持续到 18 月龄; 视网膜神经胶质细胞数也逐渐增加, 与 4 月龄时相比, 12 月龄 P2X7-null 小鼠视网膜神经胶质细胞发生显著增殖, 增长了约 1 倍。

3.2 烟雾诱导

吸烟是诱导 AMD 的主要危险因素, 烟雾中含有大量的强氧化物质, 在 AMD 的发病进程中发挥重要作用。Annamalai 等^[38]将 8 周龄♂ C57BL/6J 小鼠放进 TE-10 型香烟烟雾机中进行烟雾造模, 燃烧 3R4F 标准科研用香烟, 使烟雾机内总悬浮颗粒物的平均浓度为 $130 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$, 1 周造模 5 d, 每天造模 5 h, 共造模 6 个月, 发现小鼠的 Bruch's

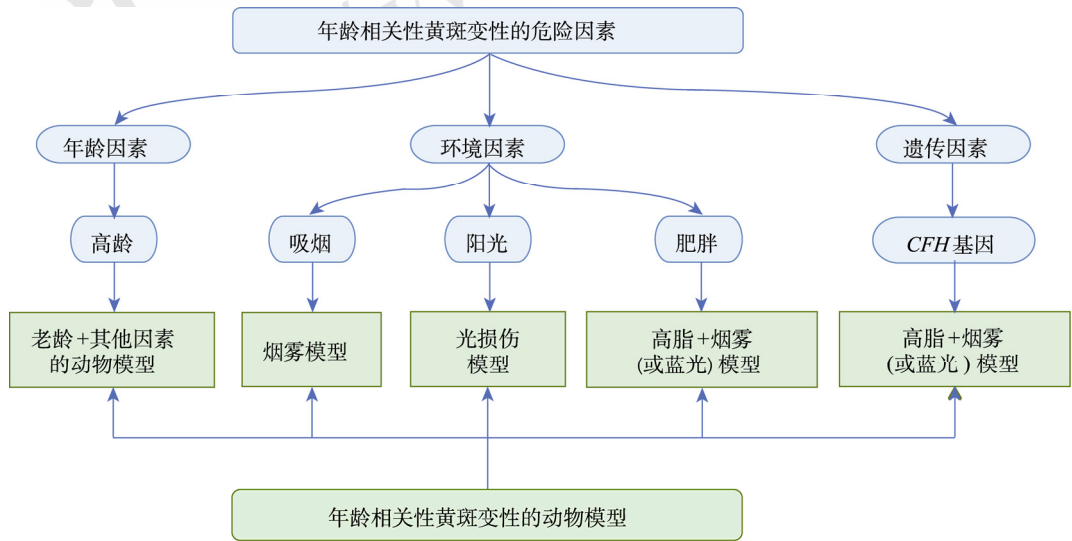


图 4 AMD 危险因素对动物模型构建的指导作用

Fig. 4 Guiding role of AMD risk factors in animal model construction

膜厚度显著增加,其5层结构出现丢失,RPE细胞基底外侧褶皱的形态学也发生改变,出现延长和扩大,出现RPE细胞线粒体肿胀,RPE细胞功能出现障碍。Wang等^[39]也使用类似方法构建了烟雾模型,但改变了动物性别组成,选用♀♂各半,且将烟雾机内总悬浮颗粒物的平均浓度改为 $90\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$,还将每天造模降低为2.5 h,造模6个月后发现小鼠RPE层出现萎缩与凋亡,RPE细胞的超微结构也发生改变,顶端微绒毛缩短,细胞内液泡增加,基底外侧褶皱变宽。

3.3 过度光暴露

光诱导的脂质和蛋白质氧化会引起视网膜损伤,多年来积累的视网膜损伤促进了AMD的发展。阳光中可见光的波谱范围为400~750 nm,其中400~500 nm的蓝光具有更高的能量,也更具诱导产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)的能力^[40]。而ROS会抑制RPE细胞的溶酶体功能,进而抑制其吞噬视杆外节和含N-亚视黄基-N-视黄基乙醇胺(*N*-retinylidene-*N*-retinylethanolamine, A2E)的脂褐素的作用^[40],当A2E暴露于蓝光时,它很容易被氧化成A2E-环氧化物,随着时间的积累,引起视网膜氧化应激反应和炎症反应,诱导AMD风险。Kim等^[41]选用5周龄Balb-c♂小鼠构建蓝光模型,蓝光波长为430 nm,光强为10 000 Lux,每天造模1 h,持续14 d,发现长时间的蓝光照射使视网膜A2E-环氧化物水平升高,诱导距视乳头600~900 μm处视网膜外核层(此处存在感光细胞的细胞核)、内核层和神经纤维层的丢失以及厚度降低,同时在视网膜下空间生成了新生血管。Nakamura等^[42]也构建了一种蓝光损伤模型,选用8周龄♂C57BL/6J小鼠进行造模,在光暴露试验开始前将小鼠暗适应30 min,然后麻醉小鼠并扩瞳,将其置于蓝光装置中,蓝光波长为456 nm,光强为1 100 Lux,光暴露3 h,发现蓝光诱导RPE细胞发生变性,导致其吞噬功能受损,产生大量的未消化的光感受器外节膜盘碎片,引起巨噬细胞浸润到感光细胞层,继而引起感光细胞外节丢失,感光细胞功能继发性退化。

3.4 高脂饮食

用高脂饲料喂养小鼠至老龄,在RPE基底膜下仅出现非常轻度的局灶性沉积物^[43],这表明单一的高脂饮食诱导并不能有效地引起动物眼底的AMD样病变,因此通常要与其他因素联合造模。

Clare等^[44]开发了*Cfh* +/-小鼠模型,在*Cfh* +/-小鼠80~99周龄时,将其从正常饮食改为高脂饮食,维持8周后,发现它出现明显的AMD样病变,包括RPE层与Bruch's膜之间出现沉积物,单核吞噬细胞积聚,RPE细胞受到氧化应激损伤,但并不导致视网膜厚度显著变薄,这是早中期AMD的特征。

在AMD眼中发现过氧化物酶体增殖物激活受体1α(peroxisome proliferator-activated receptor-γ coactivator 1α, PGC-1α)表达受到抑制,因此Zhang等^[45]建立了*PGC-1α* +/-复合高脂饮食小鼠模型,发现*Pgc-1α*低表达小鼠暴露于高脂饮食后,视网膜的形态与功能出现AMD样表现:RPE细胞的脂褐素沉积物数量增加;Bruch's膜增厚,在外胶原层出现沉积物;脉络膜毛细血管内皮细胞的膜孔数量减少;RPE细胞和感光细胞变性,少量的黑素体迁移到光感受器外节区域。

3.5 基因易感

*CFH*基因变体与AMD的发病紧密相关。视网膜单核吞噬细胞诱导*CFH*发生基因突变,从而驱动视网膜RPE层和感光细胞层的炎症反应,使感光细胞外节丢失,出现晚期AMD样病变。在4 500 Lux的绿光下适应4 d后,Calippe等^[46]用波长为532 nm的激光对12月龄的*Cx3cr1*^{GFP/GFP}小鼠和*Cx3cr1*^{GFP/GFP}*Cfh*^{-/-}小鼠造模50 ms,发现相较于*Cx3cr1*^{GFP/GFP}小鼠,*Cx3cr1*^{GFP/GFP}*Cfh*^{-/-}小鼠视网膜下空间的单核吞噬细胞的累积明显减少,视网膜外核层的厚度变薄程度明显减弱,感光细胞层厚度也明显增加,视锥细胞几乎没有遭受损伤。基于*CFH* Y402H的多态性改变(rs1061170)是AMD的最强基因易感风险,Rafael等^[47]构建了人源性Y402H *CFH*敲基因小鼠以替代*Cfh*^{-/-}小鼠,在12~14月龄时视网膜中央处出现玻璃膜疣样沉积物,RPE层与Bruch's膜之间出现了基底层状沉积物(与玻璃膜疣的形成密切相关)和脂褐素颗粒沉积,视网膜RPE层处也出现单核吞噬细胞积聚,伴有补体激活与神经炎症迹象。

4 讨论

AMD是导致>60岁老年人视力障碍的主要原因。由于发病时间晚、复杂的遗传学和环境因素混杂,AMD已经成为一种具有挑战性的疾病。

综合分析多篇临床文献后发现,高龄、吸烟与AMD最为相关。高龄是AMD的首要危险因素,从45岁开始出现少量病例,到60岁大量流行,

85 岁高度易感, 随着年龄的不断增长, AMD 的发病率逐渐升高; 吸烟与 AMD 强烈相关, 未戒烟人群比戒烟人群易感, 戒烟人群比无吸烟史人群易感。其次是种族与遗传易感基因, 白人比黄种人和黑人更易感 AMD; 目前已鉴定出 50 多种基因与 AMD 相关, 其中 *CFH* 和 *ARSM2* 与之相关性最强。其他危险因素如阳光光照、酒精等与之关联性较弱。

危险因素的分析对动物模型的构建起着引领作用, 在以上危险因素中, 能够用来指导动物模型构建只有高龄、吸烟、遗传易感基因、光照、肥胖和酒精摄入。单一危险因素构建的模型缺乏对复杂疾病的高还原性, 需要复合多种危险因素来模拟疾病特征。高龄是 AMD 的首要危险因素, 所以任何 AMD 动物模型构建时都需要首先考虑动物的年龄, 但是目前已构建的 AMD 模型中仅有敲基因动物模型使用老年动物, 其他模型几乎都是用年轻动物造模, 因此对动物年龄的选择尚有待摸索与改进。吸烟是与 AMD 强烈相关的危险因素, 将高龄与吸烟因素结合构建老年动物烟雾模型, 长时间的烟雾造模可以使高龄动物呈现出明显的 AMD 表型。但是并非所有的 AMD 患者都吸烟或有吸烟史, 这个模型只能涵盖一部分 AMD 人群, 所以仍需其他模型进行补充。敲基因模型已鉴定出 50 多种基因与 AMD 相关, 这些敲基因动物通过饮食诱导步入老年后会自发地出现 AMD 相关表型, 与非敲基因模型相比, 敲基因动物还能表现出类玻璃膜疣样的沉积物, 这为 AMD 的深入机制研究提供了条件。光照因素一般应用于单一的急性光损伤模型, 短时间的强烈光照会急剧损伤视网膜, 主要表现为外核层和光感受器细胞层的丢失, 但 RPE 层的病理变化却鲜有提及, 因此光损伤最好作为 AMD 造模的辅助手段。仅使用高龄和肥胖诱导造模, AMD 相关表型的成模率较低, 所以肥胖一般引申为饮食诱导, 在动物模型构建中充当次要因素。尽管大量饮酒与 AMD 有一定的相关性, 但在动物模型中很少涉及酒精诱导, 这是因为酒精在眼中几乎不存在氧化代谢, 而非氧化途径生成的脂肪酸乙酯主要蓄积在脉络膜中, 促进新生血管的生成^[48], 由于 AMD 的病理损伤顺序是先 RPE 层后脉络膜, 所以酒精动物模型不能有效地模拟 AMD 疾病, 因此只能在诱导出 AMD 的基础上, 联合酒精造模诱导新生血管的生成。

REFERENCES

- [1] PAPADOPOULOS Z. Neovascular age-related macular degeneration and its association with Alzheimer's disease[J]. *Curr Aging Sci*, 2020, 13(2): 102-112.
- [2] MITCHELL P, LIEW G, GOPINATH B, et al. Age-related macular degeneration[J]. *Lancet*, 2018, 392(10153): 1147-1159.
- [3] BOSCH-MORELL F, VILLAGRASA V, ORTEGA T, et al. Medicinal plants and natural products as neuroprotective agents in age-related macular degeneration[J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(12): 2207-2216.
- [4] XU T L, WANG B S, LIU H, et al. Prevalence and causes of vision loss in China from 1990 to 2019: Findings from the Global Burden of Disease Study 2019[J]. *Lancet Public Heal*, 2020, 5(12): e682-e691.
- [5] SONG P G, DU Y H, CHAN K Y, et al. The national and subnational prevalence and burden of age-related macular degeneration in China[J]. *J Glob Health*, 2017, 7(2): 020703. Doi: 10.7189/jogh.07.020703.
- [6] FERRIS F L, WILKINSON C P, BIRD A, et al. Clinical classification of age-related macular degeneration[J]. *Ophthalmology*, 2013, 120(4): 844-851.
- [7] SMITH W, ASSINK J, KLEIN R, et al. Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents[J]. *Ophthalmology*, 2001, 108(4): 697-704.
- [8] NEUNER B, KOMM A, WELLMANN J, et al. Smoking history and the incidence of age-related macular degeneration: Results from the Muenster Aging and Retina Study (MARS) cohort and systematic review and meta-analysis of observational longitudinal studies[J]. *Addict Behav*, 2009, 34(11): 938-947.
- [9] SEDDON J M, REYNOLDS R, SHAH H R, et al. Smoking, dietary betaine, methionine, and vitamin D in monozygotic twins with discordant macular degeneration: Epigenetic implications[J]. *Ophthalmology*, 2011, 118(7): 1386-1394.
- [10] HEESTERBEEK T J, LORÉS-MOTTA L, HOYNG C B, et al. Risk factors for progression of age-related macular degeneration[J]. *Ophthalmic Physiol Opt*, 2020, 40(2): 140-170.
- [11] LAMBERT N G, ELSHELMANI H, SINGH M K, et al. Risk factors and biomarkers of age-related macular degeneration[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2016(54): 64-102.
- [12] SUI G Y, LIU G C, LIU G Y, et al. Is sunlight exposure a risk factor for age-related macular degeneration? A systematic review and meta-analysis[J]. *Br J Ophthalmol*, 2013, 97(4): 389-394.
- [13] SCHICK T, ERSOY L, LECHANTEUR Y T, et al. History of sunlight exposure is a risk factor for age-related macular degeneration[J]. *Retina*, 2016, 36(4): 787-790.
- [14] MODENESE A, GOBBA F. Macular degeneration and occupational risk factors: A systematic review[J]. *Int Arch Occup Environ Health*, 2019, 92(1): 1-11.
- [15] INTERNATIONAL COMMISSION ON NON-IONIZING RADIATION PROTECTION. ICNIRP statement: Protection of workers against ultraviolet radiation[J]. *Health Phys*, 2010, 99(1): 66-87.
- [16] DATTA S, CANO M, EBRAHIMI K, et al. The impact of oxidative stress and inflammation on RPE degeneration in non-neovascular AMD[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2017(60): 201-218.
- [17] ZHOU H J, ZHANG H N, YU A Q, et al. Association between

- sunlight exposure and risk of age-related macular degeneration: A meta-analysis[J]. BMC Ophthalmol, 2018, 18(1): 331. Doi: 10.1186/s12886-018-1004-y.
- [18] DINU M, PAGLIAI G, CASINI A, et al. Food groups and risk of age-related macular degeneration: A systematic review with meta-analysis[J]. Eur J Nutr, 2019, 58(5): 2123-2143.
 - [19] CHAPMAN N A, JACOBS R J, BRAAKHUIS A J. Role of diet and food intake in age-related macular degeneration: A systematic review[J]. Clin Exp Ophthalmol, 2019, 47(1): 106-127.
 - [20] COOKE BAILEY J N, HOFFMAN J D, SARDELL R J, et al. The application of genetic risk scores in age-related macular degeneration: A review[J]. J Clin Med, 2016, 5(3): E31. Doi: 10.3390/jcm5030031.
 - [21] GEERLINGS M J, DE JONG E K, DEN HOLLANDER A I. The complement system in age-related macular degeneration: A review of rare genetic variants and implications for personalized treatment[J]. Mol Immunol, 2017(84): 65-76.
 - [22] TOOMEY C B, JOHNSON L V, BOWES RICKMAN C. Complement factor H in AMD: Bridging genetic associations and pathobiology[J]. Prog Retin Eye Res, 2018(62): 38-57.
 - [23] SCHMIDT C Q, LAMBRIS J D, RICKLIN D. Protection of host cells by complement regulators[J]. Immunol Rev, 2016, 274(1): 152-171.
 - [24] YANG M, SO K F, LAM W C, et al. Novel programmed cell death as therapeutic targets in age-related macular degeneration?[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(19): E7279. Doi: 10.3390/ijms21197279.
 - [25] JABBARPOOR BONYADI M H, YASERI M, NIKKHAH H, et al. Comparison of ARMS2/LOC387715 A69S and CFH Y402H risk effect in wet-type age-related macular degeneration: A meta-analysis[J]. Int Ophthalmol, 2019, 39(4): 949-956.
 - [26] EDWARDS M, CHA D, KRITHIKA S, et al. Iris pigmentation as a quantitative trait: Variation in populations of European, East Asian and South Asian ancestry and association with candidate gene polymorphisms[J]. Pigment Cell Melanoma Res, 2016, 29(2): 141-162.
 - [27] MCGOWAN A, SILVESTRI G, MOORE E, et al. Retinal vascular caliber, iris color, and age-related macular degeneration in the Irish Nun Eye Study[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 56(1): 382-387.
 - [28] LECHANTEUR Y T, VAN DE VEN J P, SMAILHODZIC D, et al. Genetic, behavioral, and sociodemographic risk factors for second eye progression in age-related macular degeneration[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(9): 5846-5852.
 - [29] LÜDTKE L, JÜRGENS C, ITTERMANN T, et al. Age-related macular degeneration and associated risk factors in the population-based study of health in Pomerania (SHIP-trend)[J]. Med Sci Monit, 2019(25): 6383-6390.
 - [30] ZHANG Q Y, TIE L J, WU S S, et al. Overweight, obesity, and risk of age-related macular degeneration[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2016, 57(3): 1276-1283.
 - [31] EHMANN D S, HO A C. Cataract surgery and age-related macular degeneration[J]. Curr Opin Ophthalmol, 2017, 28(1): 58-62.
 - [32] RIM T H, LEE C S, LEE S C, et al. Association between previous cataract surgery and age-related macular degeneration[J]. Semin Ophthalmol, 2017, 32(4): 466-473.
 - [33] WANG J, XUE Y J, THAPA S, et al. Relation between age-related macular degeneration and cardiovascular events and mortality: A systematic review and meta-analysis[J]. Biomed Res Int, 2016(2016): 8212063. Doi: 10.1155/2016/8212063.
 - [34] VASSILEV Z P, RUIGÓMEZ A, SORIANO-GABARRÓ M, et al. Diabetes, cardiovascular morbidity, and risk of age-related macular degeneration in a primary care population[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2015, 56(3): 1585-1592.
 - [35] PENNINGTON K L, DEANGELIS M M. Epidemiology of age-related macular degeneration(AMD): Associations with cardiovascular disease phenotypes and lipid factors[J]. Eye Vis: Lond, 2016(3): 34. Doi: 10.1186/s40662-016-0063-5.
 - [36] CHEN M, HOMBREBUENO J R, LUO C, et al. Age- and light-dependent development of localised retinal atrophy in CCL2(-/-)CX3CR1(GFP/GFP) mice[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e61381. Doi: 10.1371/journal.pone.0061381.
 - [37] VESSEY K A, GU B J, JOBLING A I, et al. Loss of function of P2X7 receptor scavenger activity in aging mice: A novel model for investigating the early pathogenesis of age-related macular degeneration[J]. Am J Pathol, 2017, 187(8): 1670-1685.
 - [38] ANNAMALAI B, NICHOLSON C, PARSONS N, et al. Immunization against oxidized elastin exacerbates structural and functional damage in mouse model of smoke-induced ocular injury[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2020, 61(3): 45. Doi: 10.1167/iov.62.4.13.
 - [39] WANG L, KAYA K D, KIM S, et al. Retinal pigment epithelium transcriptome analysis in chronic smoking reveals a suppressed innate immune response and activation of differentiation pathways[J]. Free Radic Biol Med, 2020(156): 176-189.
 - [40] ALGVERE P V, MARSHALL J, SEREGARD S. Age-related maculopathy and the impact of blue light hazard[J]. Acta Ophthalmol Scand, 2006, 84(1): 4-15.
 - [41] KIM J, CHO K, CHOUNG S Y. Protective effect of *Prunella vulgaris* var. L extract against blue light induced damages in ARPE-19 cells and mouse retina[J]. Free Radic Biol Med, 2020(152): 622-631.
 - [42] NAKAMURA M, YAKO T, KUSE Y, et al. Exposure to excessive blue LED light damages retinal pigment epithelium and photoreceptors of pigmented mice[J]. Exp Eye Res, 2018(177): 1-11.
 - [43] ESPINOSA-HEIDMANN D G, SUNER I J, CATANUTO P, et al. Cigarette smoke-related oxidants and the development of sub-RPE deposits in an experimental animal model of dry AMD[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47(2): 729-737.
 - [44] CLARE A J, COPLAND D A, NICHOLSON L B, et al. Treatment with interleukin-33 is non-toxic and protects retinal pigment epithelium in an ageing model of outer retinal degeneration[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(22): 13546-13550.
 - [45] ZHANG M, CHU Y, MOWERY J, et al. *Pgc-1α* repression and high-fat diet induce age-related macular degeneration-like phenotypes in mice[J]. Dis Model Mech, 2018, 11(9): dmm032698. Doi: 10.1242/dmm.032698.
 - [46] CALIPPE B, AUGUSTIN S, BEGUIER F, et al. Complement factor H inhibits CD47-mediated resolution of inflammation[J]. Immunity, 2017, 46(2): 261-272.
 - [47] ABOKYI S, TO C H, LAM T T, 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.
 - [48] BORA P S, KALIAPPAN S, XU Q, et al. Alcohol linked to enhanced angiogenesis in rat model of choroidal neovascularization[J]. FEBS J, 2006, 273(7): 1403-1414.

收稿日期: 2020-08-17
(本文责编: 沈倩)