

补体激活与自噬在年龄相关性黄斑变性中的研究进展

刘雨露, 徐新荣

引用: 刘雨露, 徐新荣. 补体激活与自噬在年龄相关性黄斑变性中的研究进展. 国际眼科杂志 2020;20(6):995-998

基金项目: 江苏省科技计划项目 (No.SBE2018750264)

作者单位: (210023) 中国江苏省南京市, 南京中医药大学附属医院眼科

作者简介: 刘雨露, 南京中医药大学在读硕士研究生, 研究方向: 中西医结合眼底病。

通讯作者: 徐新荣, 毕业于南京中医药大学, 博士, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 中西医结合眼科疾病. Xinrong_Xu@aliyun.com

收稿日期: 2019-11-05 修回日期: 2020-05-08

摘要

年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, ARMD) 是一种随年龄增长而发病率逐渐上升的黄斑部疾病, 目前认为其发病因素与患者的年龄、遗传、吸烟、氧化应激、免疫炎症反应、RPE 细胞老化和代谢异常等有关。补体系统在机体防御感染、免疫调节和炎症应答中扮演重要角色, 补体系统异常激活引起免疫炎症近年来被认为是 ARMD 发病的重要原因。而自噬过程也参与了 ARMD 的发病。正常的自噬是细胞自我保护以及维持稳态的一个重要途径, 当自噬被阻断时, 可加剧氧化应激损伤, 导致 ARMD 的发展。补体激活与自噬过程的均衡调节是控制 ARMD 发展的重要手段。

关键词: 年龄相关性黄斑变性; 补体激活; 自噬过程

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.6.15

Advances in study of complement activation and autophagy on age-related macular degeneration

Yu-Lu Liu, Xin-Rong Xu

Foundation item: Science and Technology Planning Project of Jiangsu Province (No.SBE2018750264)

Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Xin-Rong Xu. Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China. Xinrong_Xu@aliyun.com

Received:2019-11-05 Accepted:2020-05-08

Abstract

• Age-related macular degeneration is a macular disease which incidence increases with age. Currently, it is

believed that its pathogenic factors are related to patients' age, heredity, smoking, oxidative stress, immune inflammatory response, RPE cell aging and metabolic abnormalities. Complement system plays an important role in the body's defense against infection, immune regulation and inflammatory response. Immune inflammation caused by abnormal activation of complement system is considered to be an important cause of ARMD in recent years. Autophagy also plays a role in ARMD. Normal autophagy is an important way for cells' self-protection and maintenance of homeostasis. When autophagy is blocked, oxidative stress can be aggravated, which will lead to the development of ARMD. The balance regulation between complement activation and autophagy is an important method to control the development of ARMD.

• KEYWORDS: age-related macular degeneration; complement activation; autophagy

Citation: Liu YL, Xu XR. Advances in study of complement activation and autophagy on age-related macular degeneration. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2020;20(6):995-998

0 引言

年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, ARMD) 通常也称为老年性黄斑变性, 是导致全世界老年人视力减退甚至丧失的最主要原因之一^[1], 目前全世界成年人的患病率大约在 3% 左右, 预估到 2040 年将会影响全球近 2.88 亿人^[2]。ARMD 可分为干性和湿性两种, 与湿性 ARMD 相比, 干性 ARMD 的发病机制更为复杂, 其形成与脂质代谢和运输调节、细胞外基质重构、细胞粘附、细胞毒性、细胞死亡和血管生成有关, 特别是与炎症密切相关, 而补体系统异常激活容易引起免疫炎症。近年研究表明, 自噬功能异常与干性 ARMD 的发展也密不可分。补体激活与自噬失调相互影响, 加速视网膜细胞的凋亡, 促进 ARMD 的发生、发展。本文就补体激活与自噬过程在 ARMD 发展中的作用作一综述。

1 补体激活及自噬的概念

1.1 补体系统及补体激活 补体是存在于人和动物的体液中以及细胞表面, 经活化后具有生物活性, 能够介导免疫和炎症反应的蛋白, 也称为补体系统, 包括 30 余种可溶性蛋白和膜结合蛋白。补体系统几乎参与了机体中所发生的特异性及非特异性免疫机制。它在防御病原、清除免疫复合物和凋亡细胞及适应性免疫反应中发挥关键作用。补体系统的激活途径主要有 3 种, 即经典、替代 (旁路) 和凝集素 (MBL) 途径。3 条激活途径均可产生 C3 转化酶, 进而导致 C5b-9 (膜攻击复合物 MAC) 生成, 使细胞溶解从而产生免疫学作用。补体系统过度激活产生免疫炎症反应, 能使自身组织遭到破坏。

1.2 自噬 自噬是细胞通过溶酶体途径,将细胞内受损的细胞器或错误折叠的蛋白质降解小分子或氨基酸,对某些蛋白质和氨基酸再回收、再利用的过程^[3]。以细胞内底物进入溶酶体途径的不同为依据,自噬主要分为3种:巨自噬(macroautophagy)、微自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy,CMA),其中巨自噬又可分为选择性自噬以及非选择性自噬^[4]。自噬过程由起始阶段、分隔膜形成阶段、自噬体形成阶段、自噬溶酶体形成及降解阶段4个阶段组成。自噬信号调控的准确性对于细胞的存活以及应对各种应激尤为重要,其调控机制相当复杂。目前的研究表明,泛素样蛋白系统、mTOR、磷酸腺苷活化蛋白激酶及PI3K途径对于调控自噬起到重要作用^[5]。

2 补体激活及自噬与 ARMD

2.1 补体激活与 ARMD 实验表明补体系统与 ARMD 关系密切^[6]。补体失调参与了 ARMD 的发病过程,尤其是补体旁路系统的失调。补体旁路系统作为补体系统的一部分,能够产生与 ARMD 相关的多种蛋白质。随年龄增长,视网膜处理高代谢产物的能力也随之下降,导致脂质、补体(如 C3、C3a)以及其他免疫物质在视网膜下堆积,导致补体系统激活,形成玻璃膜疣^[7]。玻璃膜疣是视网膜色素上皮(RPE)和 Bruch 膜之间的疣状沉积物,与光感受器细胞和 RPE 细胞的变性有关,它是 ARMD 的临床标志,是 ARMD 发病的重要因素^[8-10],随着疾病的发展,其大小和数量也在逐渐增加。玻璃膜疣的形成是导致严重的不可逆性中心性盲的主要原因,严重影响人们的日常生活^[9]。不同补体成分,包括 C3、C5b-9、CFB 和 CFH,在 drusen 和 ARMD 病变^[11]中均有发现。研究还显示,ARMD 患者血浆中 C3a、C3d 和 C5a 水平升高^[12-13]。 β -淀粉样蛋白(amyloid- β -protein, A β)是玻璃膜疣的重要组成成分之一。Zhao 等^[14]在小鼠体内发现,随着小鼠年龄增长,A β 在 RPE 层的表达增多,随之诱导膜攻击复合物(MAC)表达增多,介导固有免疫系统引起炎症反应。丛生蛋白也是玻璃膜疣的主要蛋白成分之一,研究表明,ARMD 患者眼中丛生蛋白的含量远大于正常人眼组织中的含量^[15]。丛生蛋白可以通过调节补体系统而参与炎症反应过程,并且与炎症反应密切相关。Johnson 等^[16]将 RPE 细胞用富含补体成分的血清孵育后建立了一种模拟 ARMD 的体外模型,这种模型模拟了 ARMD 形成过程中一些关键特征,包括 RPE 下沉积物的聚集,即玻璃膜疣的成分和补体系统终末激活物以及大量的丛生蛋白沉积,由此推断丛生蛋白与补体经典途径的激活有关。

曾在 2005 年,同时发表在 Science 杂志上的 3 篇文章均与 ARMD 的遗传学基础研究有关,这些研究均提示补体因子 H(CFH)的多态性与 ARMD 有密切联系^[17-19]。ARMD 发生的主要预报因子是补体因子 H 基因常见的变异体 Y402H^[20],该变异体能够对其调节免疫系统方面起到抑制作用,从而过度激活补体,形成玻璃膜疣,损坏 Bruch 膜,引发湿性 ARMD。Hageman 等^[21]报告显示影响 ARMD 敏感性的不仅是 Y402H 单一基因变异,而且是 CFH 不同区域组成的半倍体型变异。这提示多样的补体因子 H 的变异会导致 ARMD 风险上升或下降。

2.2 自噬与 ARMD 自噬在视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞的功能中起着关键作用^[22-24]。RPE 细胞是有丝分裂后非自我更新的吞噬细

胞,这些细胞内成分的自噬对维持正常细胞功能至关重要。最近研究发现,野生型小鼠的视网膜,特别是 RPE 和光感受器的自噬水平维持在一个较高的基线水平,而光照会引起自噬反应^[25]。在 ARMD 初期,为了补偿损坏的细胞器和氧化应激的结果,自噬水平增长。在人体 ARMD 样本和小鼠 ARMD 模型中,RPE 和视网膜层中 LC3、ATG9、ATG7 水平升高^[26]。然而,在来自晚期 ARMD 的样本中,LC3、ATG9 和 ATG7 水平下降,我们认为缺乏自噬活性导致了 ARMD 的恶化。N-视黄醇胺(N-retinylidene-N-retinylethanolamine, A2E)存在于老年患者的 RPE 细胞中,是一种主要的毒性脂褐素成分。Zhang 等^[27]发现,在 ARMD 早期,A2E 可触发 RPE 细胞自噬,RPE 细胞自噬水平升高,通过减少炎症细胞因子和 VEGF 的分泌,保护细胞免受 A2E 的有害影响。自噬水平的降低使 RPE 细胞容易受到各种应激诱导的凋亡,包括营养耗竭和线粒体氧化损伤。p62 是自噬降解的一种选择性底物蛋白,具有靶向导向、信号调节、组装蛋白质复合物和调节细胞凋亡等作用^[28];p62 还可影响由 keap1/Nrf2 通路调节的氧化应激反应。研究表明,通过自噬清除不溶性蛋白质及 Nrf2 信号通路的激活从而发挥抗氧化功能,p62 为 RPE 提供双重保护^[29]。内源性 p62 的耗尽通过下调自噬相关基因 Atg1,降低自噬活性,进而使 RPE 更容易受到氧化损伤,即在疾病状态下自噬活性被抑制,导致 p62 堆积,从而加重 ARMD 的进展^[30]。

3 补体激活与自噬相互影响

3.1 自噬调节免疫炎症 补体系统异常激活导致免疫炎症反应,破坏自身组织;而自噬作为一种自我保护机制,是维持细胞稳态的一个重要途径,在调解免疫炎症方面起到重要作用。在关于巨噬细胞的实验中,Shi 等^[31]研究发现自噬可以减轻免疫炎症反应的发生,其过程是通过降解炎症小体的组成成分以抑制 NLRP3 炎症小体的激活。有研究表明,ARMD 病程中可能与自噬代谢累积物 p62 的沉积相关,其毒性反应对 RPE 细胞产生损伤作用^[32]。在 ARMD 患者的黄斑组织中也出现自噬体及 NLRP3 等炎症因子累积^[33]。说明自噬功能失调可加重免疫炎症反应。

3.2 补体激活与自噬对 RPE 细胞的影响 膜攻击复合物(MAC)是补体激活的终产物,它已被发现存在于 ARMD 患者的黄斑区及玻璃膜疣中,以攻击 RPE 细胞为目标,并可促进跨膜通道的形成,进而导致 RPE 细胞的死亡^[34],而抗氧化、抑制补体激活能减轻 RPE 细胞损伤^[34-35]。在如缺氧、炎症、氧化应激或非折叠蛋白反应等应激环境中,RPE 细胞的自噬可以被激活^[36-37]。Lee 等^[38]通过研究观察到线粒体膜中 PINK1 的积聚,并综合电镜等的检查结果证实了 RPE 细胞的损伤能够导致线粒体自噬增加,并保护细胞,以及预防 RPE 细胞的损失。Wang 等^[39]在实验中观察到由线粒体铁蛋白(FTMT)过表达的 ARPE-19 细胞线粒体分裂增强,引起线粒体自噬的触发,促进保护机制的形成以应对氧化应激和与应激相关的其他损失。以上研究表明,补体激活导致 RPE 细胞死亡,而自噬则对 RPE 细胞起保护作用。

3.3 均衡调节补体激活和自噬的作用 keap1/Nrf2 是人体最为重要的抗氧化应激防御性通路。p62 是自噬过程的重要调节蛋白。Hayashi 等^[40]研究发现,在听觉细胞,自噬在氧化应激时通过 p62 蛋白维持与 Nrf2 系统的信号串扰; Mizunoe 等^[41]研究结果显示,海藻糖能诱导自噬,还

可激活 p62-keap1/Nrf2 通路,有望用于治疗氧化应激和自噬功能障碍导致的许多慢性疾病。氧化损伤直接激活或者通过 Nrf2 通路激活均可导致补体系统的激活。因此,keap1/Nrf2 通路与补体激活和细胞自噬过程关系密切。自噬对细胞具有保护作用,但过度上调也会加重细胞凋亡;而补体激活形成的膜攻击复合物会裂解细胞,激活过程产生的活化片段可介导炎症反应,引发各种病理生理改变,但抑制补体激活会导致免疫防御功能的下降,甚至使肿瘤细胞逃避攻击。这启示我们,单纯上调自噬或抑制补体激活对氧化应激诱发的细胞损伤的保护作用是难以评估的,均衡调节补体激活和自噬是防治 ARMD 的关键所在,而 P62 蛋白作为 keap1/Nrf2 通路的重要调控因子,可能作为补体激活和自噬活动的调节者,为维护细胞内稳态起到关键作用。

4 小结

补体系统保持低烈度激活和正常的自噬是机体应对老化、变性、变异和各种有害物质侵袭的重要途径。虽然我们对补体激活及自噬与 ARMD 的关系的探索已取得一定进展,但 ARMD 的发生受年龄、遗传、吸烟、氧化应激等诸多因素的影响,是多个机制共同作用的结果。发病机制的研究是临床治疗的理论基石。针对补体因子的生物制剂还处于研发当中,尚未进行大规模临床应用;对自噬程度的靶向调控还未取得全部突破,自噬过少影响细胞的正常功能,自噬过强则能导致自噬性死亡。因此,我们需进一步明确各种补体、炎症因子激活的诱导因子及各因子间相互作用机制,以平衡补体激活与自噬之间的关系;其次,基于 P62 蛋白的特有功能,我们需深入研究调控 P62 蛋白可能通过 keap1/Nrf2 通路调节补体激活和自噬活动,为防治 ARMD 做好理论基础和准备。

参考文献

- 1 Kook D, Wolf AH, Yu AL, *et al.* The protective effect of quercetin against oxidative stress in the human RPE *in vitro*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(4):1712-1720
- 2 Miller JW, Bagheri S, Vavvas DG. Advances in Age-related Macular Degeneration Understanding and Therapy. *US Ophthalmic Rev* 2017;10(2):119-130
- 3 侯文文, 石焕琦, 张真, 等. 自噬抑制剂 3-MA 对高糖诱导的人视网膜色素上皮细胞增生的抑制作用. *中华实验眼科杂志* 2017;35(1):5-9
- 4 Mizushima N, Komatsu M. Autophagy:renovation of cells and tissues. *Cell* 2011;147(4):728-741
- 5 张尧, 冯乐, 王方. 自噬及其与干性年龄相关性黄斑变性发病的相关性. *国际眼科纵览* 2016;40:13-18
- 6 Sivaprasad S, Chong NV. The complement system and age-related macular degeneration. *Eye* 2006;20(8):867-872
- 7 Whitcup SM, Sodhi A, Atkinson JP, *et al.* The role of the immune response in age-related macular degeneration. *Int J Inflam* 2013;2013:348092
- 8 Kauppinen A, Paterno JJ, Blasiak J, *et al.* Inflammation and its role in age-related macular degeneration. *Cell Mol Life Sci* 2016;73(9):1765-1786
- 9 Algrever PV, Kvanta A, Seregard S. Drusen maculopathy: a risk factor for visual deterioration. *Acta Ophthalmol* 2016;94(5):427-433
- 10 Handa JT, Cano M, Wang L, *et al.* Lipids, oxidized lipids, oxidation-specific epitopes, and age-related macular degeneration. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* 2017;1862(4):430-440
- 11 Anderson DH, Radeke MJ, Gallo NB, *et al.* The pivotal role of the complement system in aging and age-related macular degeneration;

- hypothesis re-visited. *Prog Retin Eye Res* 2010;29(2):95-112
- 12 Lechner J, Chen M, Hogg RE, *et al.* Higher plasma levels of complement C3a, C4a and C5a increase the risk of subretinal fibrosis in neovascular age-related macular degeneration; complement activation in ARMD. *Immun Ageing* 2016;13(1):4
- 13 Reynolds R, Hartnett ME, Atkinson JP, *et al.* Plasma complement components and activation fragments: associations with age-related macular degeneration genotypes and phenotypes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(12):5818-5827
- 14 Zhao T, Gao J, Van J, *et al.* Age-related increases in amyloid beta and membrane attack complex: evidence of inflammasome activation in the rodent eye. *J Neuroinflammat* 2015;12:121
- 15 An E, Lu X, Flippin J, *et al.* Secreted proteome profiling in human RPE cell cultures derived from donors with age-related macular generation and age matched healthy donors. *J Proteome Res* 2006;5(10):2599-2610
- 16 Johnson LV, Forest DL, Banna CD, *et al.* Cell culture model that mimics drusen formation and triggers complement activation associated with age-related macular generation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(45):18277-18282
- 17 Klein RJ, Zeiss C, Chew EY. Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science* 2005;308(5720):421-424
- 18 Edwards AO, Ritter R, Abel KJ. Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science* 2005;308(5720):421-424
- 19 Haines JL, Hauser MA, Schmidt S. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular. *Science* 2005;308(5720):419-421
- 20 Shuler-RK JR, Hauser MA, Caldwell J, *et al.* Neovascular age-related macular degeneration and its association with LOC387715 and complement factor H polymorphism. *Arch Ophthalmol* 2007;1(1):63-67
- 21 Hageman GS, Anderson DH. A common haplotype in the complement regulatory gene factor H(HFI/CFH) predisposes individuals to age-related macular degeneration. *Nat Acad Sci USA* 2005;102(20):7227-7232
- 22 Chang YC, Hsieh MC, Wu HJ, *et al.* Methylglyoxal, a reactive glucose metabolite, enhances autophagy flux and suppresses proliferation of human retinal pigment epithelial ARPE-19 cells. *Toxicol In Vitro* 2015;29(7):1358-1368
- 23 Mitter SK, Song C, Qi X, *et al.* Dysregulated autophagy in the RPE is associated with increased susceptibility to oxidative stress and ARMD. *Autophagy* 2014;10(11):1989-2005
- 24 Zhu Y, Zhao KK, Tong Y, *et al.* Exogenous NAD⁺ decreases oxidative stress and protects H₂O₂-treated RPE cells against necrotic death through the up-regulation of autophagy. *Sci Rep* 2016;6:26322
- 25 Chen Y, Sawada O, Kohno H, *et al.* Autophagy protects the retina from light-induced degeneration. *J Biol Chem* 2013;288:7506-7518
- 26 Wang AL, Lukas TJ, Yuan M, *et al.* Autophagy and exosomes in the aged retinal pigment epithelium: possible relevance to drusen formation and age-related macular degeneration. *PLoS One* 2009;4:e4160
- 27 Zhang J, Bai Y, Huang L, *et al.* Protective effect of autophagy on human retinal pigment epithelial cells against lipofuscin fluorophore A2E: implications for age-related macular degeneration. *Cell Death Dis* 2015;6:e1972
- 28 李瑞丹, 柴克霞. p62 蛋白与疾病相关性的研究进展. *现代临床医学* 2019;45(3):1557-1673
- 29 Cano M, Wang L, Wan J, *et al.* Oxidative stress induces mitochondrial dysfunction and a protective unfolded protein response in RPE cells. *Free Radic Biol Med* 2014;69(7):1-14
- 30 Song C, Mitter SK, Qi X, *et al.* Oxidative stress mediated NF- κ B phosphorylation up-regulates P62/SQSTM1 and promotes retinal pigmented epithelial cell survival through increased autophagy. *PLoS One*

2017;12(2):e0171940

31 Shi CS, Shenderov K, Huang NN, *et al.* Activation of autophagy by inflammatory signals limits IL - 1 beta production by targeting ubiquitinated inflammasomes for destruction. *Nat Immunol* 2012;13(3):255-263

32 Wang L, Ebrahimi KB, Chyn M, *et al.* Biology of p62/sequestosome-1 in age-related macular degeneration(ARMD). *Adv Exp Med Biol* 2016;854:17-22

33 Wang Y, Hanus JW, Abu-Asab MS, *et al.* NLRP3 upregulation in retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Int J Mol Sci* 2016;17(1):73

34 Kunchithapautham K, Atkinson C, Rohrer B. Smoke Exposure Causes Endoplasmic Reticulum Stress and Lipid Accumulation in Retinal Pigment through Oxidative Stress and Complement Activation. *J Biol Chem* 2014;289(21):14534-14546

35 Wang L, Kondo N, Cano M, *et al.* Nrf2 signal modulates cigarette smoke-induced complement activation in retinal pigmented epithelial cells. *Free Radic Biol Med* 2014;70:155-166

36 Mitter SK, Song C, Qi X, *et al.* Dysregulated autophagy in the RPE is

associated with increased susceptibility to oxidative stress and ARMD. *Autophagy* 2014;10(11):1989-2005

37 Szatmári-Tóth M, Kristóf E, Veréb Z, *et al.* Clearance of autophagy-associated dying retinal pigment epithelial cells—a possible source for inflammation in age-related macular degeneration. *Cell Death Dis* 2016;7(9):e2367

38 Lee SY, Oh JS, Rho JH, *et al.* Retinal pigment epithelial cells undergoing mitotic catastrophe are vulnerable to autophagy inhibition. *Cell Death Dis* 2014;5:e1303

39 Wang X, Yang H, Yanagisawa D, *et al.* Mitochondrial ferritin affects mitochondria by stabilizing HIF - 1a in retinal pigment epithelium: implications for the pathophysiology of age-related macular degeneration. *Neurobiol Aging* 2016;47(11):168-179

40 Hayashi K, Dan K, Goto F, *et al.* The autophagy pathway maintained signaling crosstalk with the Keap1-Nrf2 system through p62 in auditory cells under oxidative stress. *Cell Signal* 2015;27(2):382-393

41 Mizunoe Y, Kobayashi M, Sudo Y, *et al.* Trehalose protects against oxidative stress by regulating the Keap1-Nrf2 and autophagy pathways. *Redox Biol* 2018;15:115-124