

视网膜色素上皮细胞的功能及其抗新生血管作用

张姝雅¹, 孔 玮², 孔 珺¹

基金项目:2014 年沈阳市科学技术项目计划(No. F14-208-6-00);沈阳市科技计划项目(No. F12-277-1-64)

作者单位:¹(110001)中国辽宁省沈阳市,中国医科大学附属第四医院中国医科大学眼科医院;²(110005)中国辽宁省沈阳市第四人民医院眼科

作者简介:张姝雅,毕业于中国医科大学,硕士研究生,研究方向:年龄相关性黄斑变性。

通讯作者:孔珺,主任医师,研究方向:眼底病. kongjun@hotmail.com

收稿日期:2015-10-12 修回日期:2016-01-07

Functions of retinal pigment epithelial cell and its roles in anti-angiogenesis

Shu-Ya Zhang¹, Wei Kong², Jun Kong¹

Foundation items: Science and Technology Project Plan of Shenyang in 2014(No. F14-208-6-00); Science and Technology Planning Project of Shenyang(No. F12-277-1-64)

¹The Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Ophthalmic Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China; ²Department of Ophthalmology, Shenyang the Fourth Hospital of People, Shenyang 110005, Liaoning Province, China

Correspondence to: Jun Kong. The Fourth Affiliated Hospital of China Medical University, Ophthalmic Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. kongjun@hotmail.com

Received:2015-10-12 Accepted:2016-01-07

Abstract

• The retinal pigment epithelial (RPE) is composed of a monolayer of cuboidal cells lying between the retinal photoreceptor and the Bruch's membrane of the choroids. The normality in morphology and function of RPE is essential for photoreceptor. RPE cells have the functions of selectively transporting nutrition, metabolic end products, ions and excess water, expressing and secreting various growth factors, involved in visual cycle, maintaining the blood - retinal barrier and phagocytosis of shed outer segments of photoreceptor cells. The blood-retinal barrier is indispensable for the maintenance of the retina homeostasis, so the dysfunction of the RPE cells contributes to variety of intraocular neovascular disease. This article reviews the roles of RPE in normal structure, secreting growth factors, maintaining the blood - retinal barrier and anti - angiogenesis.

• **KEYWORDS:** retinal pigment epithelial; blood - retinal barrier; neovascularization; vascular endothelial growth factor

Citation: Zhang SY, Kong W, Kong J. Functions of retinal pigment epithelial cell and its roles in anti - angiogenesis. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2016;16(2):265-269

摘要

视网膜色素上皮(retinal pigment epithelial, RPE)由单层排列整齐的六角形细胞所组成,位于视网膜光感受器细胞层和脉络膜的 Bruch's 膜之间,其形态及功能的正常维持对于光感受器细胞至关重要,具有维持选择性转运营养和代谢物质、表达分泌多种生长因子、参与视循环、维持血-视网膜屏障和吞噬光感受器细胞脱落的外节盘膜等重要生理功能。RPE 细胞所构成的血-视网膜外屏障对于视网膜稳态的维持必不可少,其功能异常与许多眼底新生血管性疾病密切相关。本文对 RPE 正常结构、分泌生长因子、血-视网膜屏障功能、抗新生血管等方面进行综述。

关键词: 视网膜色素上皮细胞;血-视网膜屏障;新生血管;血管内皮生长因子

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2016.2.17

引用:张姝雅,孔玮,孔珺. 视网膜色素上皮细胞的功能及其抗新生血管作用. 国际眼科杂志 2016;16(2):265-269

0 引言

视网膜色素上皮(retinal pigment epithelial, RPE)是由胚胎时期的视杯外层发育而来,位于视网膜神经上皮层和脉络膜之间,为排列整齐的单层六角形细胞,其特殊的极性排列及极性分泌在维持眼部的正常发育及功能方面发挥重要作用,与部分眼科疾病的发生密切相关^[1-3]。RPE 细胞主要功能包括眼内离子平衡的维持、吞噬光感受器细胞外节膜盘、表达分泌多种生长因子、参与视循环代谢、维持血-视网膜屏障等功能;其与视网膜光感受器细胞层、Bruch's 膜及脉络膜毛细血管构成光感受器细胞/视网膜色素上皮/Bruch's 膜/脉络膜毛细血管复合体,复合体之间的互惠共生关系及其异常与眼底新生血管性疾病的发生发展有着密切的关系^[4-5]。本文对近年来关于 RPE 细胞功能及其抗新生血管方面作用的研究进展进行综述。

1 RPE 细胞的正常结构

RPE 细胞层位于视网膜神经上皮层和脉络膜之间,为排列整齐的单层六角形细胞,黄斑部较厚,周边部较薄。细胞呈极性排列,分为三部分,即顶部、体部和底部。在其顶部向光感受器细胞伸出微绒毛,将光感受器

细胞的外节包埋于黏多糖间质中。RPE细胞区别于其他上皮细胞的是它的顶端表面并不与非细胞腔相邻,而是直接毗邻一层高度分化的感光细胞,即光感受器细胞,使其与光感受器细胞外节的相互作用更加方便直接。基底膜则是为复杂的内折状结构,使之与脉络膜的 Bruch's 膜紧密连接,维持脉络膜毛细血管的稳定^[6]。脉络膜毛细血管的完整性对于满足光感受器细胞高代谢需求是必要的,有助于视网膜和脉络膜毛细血管之间营养物质、代谢产物及细胞因子的交流。

RPE 细胞间连接与调控。在上皮组织中,细胞-细胞间的相互作用由连接复合体调节,位于连接复合体最顶端的就是紧密连接。任何上皮细胞屏障的基础均为紧密连接^[7]。同样,RPE 细胞之间也是通过连接复合体相连接成血-视网膜屏障,即视网膜外屏障。RPE 细胞间的连接及其细胞形状的正常维持对于屏障功能的正常发挥至关重要。而每个 RPE 细胞的形状是由细胞骨架维持,细胞骨架是由微丝、微管及相关蛋白质组成的高度复杂细胞质网络,在维持细胞形状、定向细胞器的运输,靶向膜蛋白迁移、细胞黏附等方面发挥至关重要的作用。其中,微丝的结构成分为肌动蛋白^[8]。肌动蛋白(actin)是一种主要的骨架蛋白,与肌球蛋白(myosin)共同作用,在细胞分泌、吞噬、移动和分离过程中起重要作用。其在细胞中有两种存在形式,即单体 G-actin 和多聚体 F-actin。肌动蛋白素(cofilin),一种肌动蛋白结合蛋白,存在于真核生物中,通过与肌动蛋白纤维解聚作用,可使肌动蛋白重复使用,以确保快速的肌动蛋白纤维聚合/解聚,从而改变细胞和细胞外基质之间的黏附,并最终促进细胞迁移和运动,而细胞骨架重构可能与 F-actin 的重新分布密切相关。细胞骨架的调节是一个多级复杂的过程,目前研究表明,在 RPE 细胞骨架的调节中起重要作用的调控因子包括 Rho GTPases、转化生长因子 β (TGF- β)。Rho GTPases 在肌动蛋白细胞骨架的调节中起核心作用^[9]。因其具有 GTP 酶活性,又称为 GTP 酶,在细胞信号转导过程中发挥着“分子开关”的作用,快速转换于 GTP 结合的活化状态和 GDP 结合的非活化状态之间,将细胞外信号转至细胞内,通过一系列信号传导通路对肌动-肌球蛋白细胞骨架进行调控而影响细胞移动。Rho GTPases 的上游信号通路包括多种调控因子,如色素上皮衍生因子(pigment epithelium-derived factor, PEDF)等,其下游信号通路中 Rho 连接激酶(Rho kinase, ROCK)为重要因子。转化生长因子 β (TGF- β)能够影响调控细胞骨架重构的 Rho GTPases 信号通路从而调节 RPE 的屏障功能。TGF- β 存在两种亚型,即 TGF- β_1 , TGF- β_2 , 其中 TGF- β_1 与此过程密切相关。有研究证实,在人牙周膜细胞中, TGF- β_1 能够抑制 Rho-GDIa 蛋白(GDP 分解抑制剂)的表达,从而调节 ROCK 水平使其磷酸化,使 actin 磷酸化从而影响细胞增殖及重构^[10-11]。在 RPE 细胞中同样存在这种信号通路,通过 Rho/ROCK 通路的一系列调节增加 F-actin 的重新分布,为细胞间提供更好的连接达到增强 RPE 屏障的作用。

G 蛋白包括 Ras、Rab、Rho、Sar/Arf 和 Ran 5 个亚家族。Rho GTPase 在调节 RPE 细胞屏障连接功能方面的作用已得到证实。而 G 蛋白中 Ras 超家族的一员-小 GTPase Rap 1 被证实调节 RPE 细胞屏障连接功能方面为一个新的重要调节因子,可能为细胞连接过程中的信号蛋白。小 GTPase Rap 1 有两个亚型: Rap 1A 和 Rap 1B, 其中 Rap 1A 可能与静态下屏障完整性有关,而 Rap 1B 则调节动态过程中的连接反应^[9]。小 GTPase Rap 1 调节 RPE 细胞屏障连接方式与 Rho GTPase 相似,均影响 F-actin 从而达调节细胞连接聚合和解聚的作用。相关实验观察到 Rap 1 敲除的 RPE 细胞使得更多的脉络膜内皮细胞增殖迁移穿过 Bruch's 膜,突破 RPE 的屏障,使 RPE 屏障功能瓦解,到达视网膜神经上皮层下形成脉络膜新生血管,最终导致许多眼底新生血管性疾病的发生,如年龄相关性黄斑变性^[12]。所以相关研究表明在某些年龄相关性黄斑变性患者中可以通过选择性的活化 Rap 1 的活性增强 RPE 的屏障功能以达到抑制脉络膜内皮细胞迁移形成新生血管,例如特定 RAPI 活化化合物 8CPT2ME-cAMP,通过基因治疗在 RPE 细胞中靶向表达活化的 Rap 1^[9]。可见 RPE 细胞间连接及其细胞骨架的调控为一个多级复杂的过程,每个环节的正常运作保证了 RPE 细胞的屏障功能,保持视网膜为相对无新生血管的稳态,任何一个调控因素发生障碍均会导致 RPE 细胞的功能异常。

2 RPE 细胞的极性分泌

RPE 细胞的一个最主要功能为在视网膜外层和脉络膜之间选择性地传送营养和代谢物质,将营养物质从脉络膜传送至光感受器细胞,然后将代谢终产物、离子和多余的水分反向运输,所以 RPE 细胞在维持视网膜稳态方面起到至关重要的作用。RPE 细胞的极性结构在其顶面及基底面相互作用上极其重要,这在蛋白质的定向分泌上同样起到关键作用。大量研究已证实 RPE 细胞分泌相当数量的生长因子、细胞因子及结构相关蛋白,尽管已经证实许多蛋白质的分泌存在顶端或基底面的优势分泌,然而定向蛋白分泌的重要性通常还是被忽略了。在极性细胞中,蛋白的分泌需要一个多级的复杂的通路来控制以确保蛋白分泌被精确定位并从适当的细胞表面释放^[13]。下面介绍几种 RPE 细胞中定向分泌蛋白。

2.1 顶部分泌蛋白 RPE 细胞的顶部分泌多种生长因子、细胞因子及结构相关蛋白,如 aBCrystallin、Hyaluronan、MMP-2、PEDF、TGF- β 、TIMP-I 等^[13]。其顶部分泌的蛋白质均与年龄相关性黄斑变性有关,其中色素上皮衍生因子(PEDF)与眼底脉络膜新生血管发生发展密切相关。PEDF 是一类由免疫细胞及其相关细胞产生的调节细胞功能的高活性、多功能蛋白质,具有神经营养、神经保护、抗新生血管、抑制血管通透性等作用,为视网膜维持一个相对无新生血管的环境^[14-15]。另一个极其重要的生长因子为 TGF- β 。如前文所诉, TGF- β 存在两种亚型,即 TGF- β_1 , TGF- β_2 , 其中 TGF- β_1 与在细胞骨架重构方面有重要影响。大量研究表明 RPE 细胞的增

殖与迁移能够导致增殖性玻璃体视网膜病变 (proliferative vitreoretinopathy, PVR) 的发生,而 TGF- β_1 与此过程密切相关。在病理状态下, RPE 细胞脱离神经视网膜后能够进入玻璃体腔,发生上皮间质细胞转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 后开始异常增殖。TGF- β_1 在 PVR 的病理过程中起重要作用,能够促进细胞外基质如胶原蛋白的表达,对调控细胞的形态发生、增殖和分化发挥重要作用^[16]。研究还表明, TGF 可以调节 VEGF 的表达,从而导致各种眼底新生血管性疾病的发生发展。

2.2 基底部分泌蛋白 同顶部分泌一样, RPE 细胞的基底部分泌多种生长因子及结构相关蛋白,如 Endothelin I、Cystatin C、FGF 5、VEGF 等^[13]。其中血管内皮生长因子 (VEGF) 同样在脉络膜新生血管的发生发展中有着至关重要的作用。VEGF 能够促血管内皮细胞分裂从而促进新生血管形成,具有增强血管通透性的功能。大量研究证实 RPE 细胞为人眼内 VEGF 最主要也是最初发育的来源。RPE 源性 VEGF 不仅在脉络膜毛细血管和 RPE 的发育、维持、正常功能发挥上有着重要作用,同样也与后两者的病理过程息息相关^[17]。现已知影响 VEGF 表达的因素很多,如缺氧、机械应力、晚期糖基化终产物、血管加压素、细胞因子 (IL-1, TNF- α) 及其他生长因子 (如 TGF- β_2 、bFGF、PDGF 等)。小眼畸形转录因子 (microphthalmia-associated transcription factor, MITF) 被证实参与了 RPE 细胞的正常发育分化过程。同样有研究表明 MITF-Tfe 家族与 RPE 中 VEGF 的表达密切相关,实验构建了一个靶向负向调控 MITF-Tfe 表达,结果导致 VEGF 表达显著降低 50%,很大程度上说明 MITF-Tfe 家族直接或者间接地调控 RPE 中 VEGF 的表达^[18]。已知氧化应激能够导致 RPE 的功能障碍,以致涉及 RPE 细胞重要功能的基因表达下调,这其中包括与吞噬功能相关的可溶性 Mer 受体酪氨酸激酶 (soluble Mer receptor tyrosine kinase, sMerTK), 调控全反式视黄醛向 11-顺式视黄醛转换的重要基因-RPE65 (研究证实 RPE65 为 RPE 细胞中的关键基因,参与视循环代谢并起到重要作用,其突变可导致 Leber 氏先天黑矇的发生)^[19-22]。有趣的是,在几个 RPE 特征性的基因研究过程中发现,在 RPE 细胞功能障碍的情况下,只有 MITF 的表达是升高的,功能障碍的 RPE 细胞会导致光感受器细胞死亡,然而升高的 MITF 会进一步导致 VEGF 高表达,促进年龄相关性黄斑变性的发生。

另一个重要的基底部分泌蛋白-碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblastic growth factor, bFGF) 已经成为近年来研究的热点。基于其能够诱导 VEGF 的分泌并促进细胞增殖的作用而越来越被人们关注,可能成为抗新生血管治疗方面新的突破方向。然而还有一些生长因子、细胞因子及结构相关蛋白的分泌极性尚未被证实,如肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF)、脑源性神经营养因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF)、补体 H 因子 (complement factor H, CFH) 等^[23]。HGF 为促血管生成因子,其作用与 VEGF 平行,同 bFGF 一样在调

节脉络膜新生血管方面可能起至重要作用。

已证实除了以上所述的生长因子外,与炎症相关的细胞因子也参与脉络膜新生血管的形成,如白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-12 (IL-12)、白细胞介素-10 (IL-10)、干扰素 γ (INF γ)、肿瘤坏死因子- α (TNF α) 等^[24],这些促炎因子并不需要改变细胞侧膜间的紧密连接来调节 RPE 单层细胞,而是通过改变跨膜电阻 (transepithelial electrical resistance, TER) 来改变其通透性,进而影响改变 RPE 细胞视网膜屏障功能^[25-26]。

3 RPE 抗新生血管作用

从 RPE 细胞吞噬作用方面来说:年龄相关性黄斑变性为脉络膜新生血管性疾病中最具代表性的一类。年龄相关性黄斑变早期主要改变为大量玻璃膜疣的存在。众所周知,玻璃膜疣的形成是由于随着年龄的增长, RPE 细胞生理性吞噬视网膜感光细胞外节膜盘的能力退化及代谢不足,致使不能消化的残余代谢产物-脂褐质 (lipofuscin) 不断从 RPE 细胞内排泄至 Bruch's 膜处堆积起来所致。大量的玻璃膜疣不断形成,进而引起 RPE/Bruch's 膜/脉络膜毛细血管复合体变性,黄斑区和后极部视网膜脉络膜发生萎缩,严重者致使脉络膜毛细血管通过破损的 Bruch's 膜形成脉络膜新生血管,新生血管的形成将引发一系列病理改变。最新研究发现, N-亚视黄基-N-视黄基-乙醇胺 (A2E, N-retinyl-N-retinylidene ethanolamine) 为脂褐质中的重要组成成分,与年龄相关性黄斑变性的发生息息相关。A2E 对于 RPE 细胞的存亡来说是一个危险信号,因其能够通过一系列信号通路降低 RPE 细胞的吞噬作用,同时降低细胞的生存能力。自吞噬作用是 RPE 细胞中重要的代谢产物清除机制,对于维持细胞内稳态也至关重要,能够有效清除细胞内残余代谢产物。自吞噬作用的降低则导致脂褐质于细胞内大量异常堆积,最终 RPE 细胞变性死亡。另外,研究还发现 A2E 与 VEGF-A 及炎症细胞因子的表达相关,实验通过 A2E 抑制剂抑制其活性后发现炎症因子包括 IL-1 β 、IL-10 等,以及 VEGF-A 的表达下降^[27-28]。所以有可能通过抑制 A2E 的作用减少炎症因子和 VEGF-A 的分泌来增强 RPE 细胞的自吞噬作用,从而维持有效的细胞内代谢多余废物清除系统,达到延缓控制年龄相关性黄斑变性疾病的发展进程的作用。这为治疗以年龄相关性黄斑变性为代表的一系列脉络膜新生血管性疾病提供了又一个新的理论依据。

从 RPE 细胞所构成的物理屏障及分泌生长因子来说:正常情况下, RPE 细胞能够有效地抑制脉络膜新生血管的形成,这是通过其形成的物理屏障及促血管生成因子 (如 VEGF) 与抑制血管生成因子 (如 PEDF) 间动态平衡的建立来完成的,这些因子的极性分泌以及 RPE 屏障功能维持所得的一个分泌趋化梯度对于阻止脉络膜新生血管的发展起到至关重要的作用^[29-30]。新生血管的形成包括以下几个步骤:(1) 血管外基质的降解;(2) 内皮细胞的迁移;(3) 内皮细胞的增生;(4) 新生血管的成熟。RPE 细胞能够释放相关蛋白酶抑制因子来抑制血管外基

质的降解,从而抑制新生血管的发生^[31]。促进血管内皮细胞增生和迁移的因子有:VEGF、成纤维细胞生长因子(FGF)、转化生长因子 α (TGF- α);抑制血管内皮细胞增生和迁移的因子有:转化生长因子 β 、PEDF等。正常情况下刺激内皮生长和抑制内皮生长的因子处于一个动态平衡的状态,使得内皮细胞处于相对静止状态,无新生血管形成,而这一平衡的失调与新生血管的形成密切相关,最常见的诱因有缺氧、炎症刺激等。有研究表明在脉络膜新生血管患者的玻璃体中 VEGF 含量明显升高,而 PEDF 含量下降;在经过抗 VEGF 药物治疗后再次检测玻璃体内 VEGF 及 PEDF 含量,发现虽然部分患者 VEGF 含量未见明显下降,但 PEDF 含量却明显上升,即 PEDF 升高的幅度远大于 VEGF 减低的幅度,表明在经过抗 VEGF 药物后,改变的不仅是 VEGF 的含量,更是刺激内皮生长和抑制内皮生长的因子动态平衡状态的改变,而后的改变在治疗脉络膜新生血管疾病中更为重要。

大量研究已证实,光感受器细胞、视网膜色素上皮、Bruch's 膜、脉络膜毛细血管之间存在互惠共生关系,组成光感受器细胞/视网膜色素上皮/Bruch's 膜/脉络膜毛细血管复合体。脉络膜细胞死亡或功能障碍导致与其相邻的 RPE 缺氧,缺氧的 RPE 细胞基底面异常分泌 VEGF, Bruch's 膜损伤,最终导致脉络膜新生血管的发生,最终视网膜光感受器细胞因缺乏来自脉络膜的营养而死亡^[32]。复合体中的各个组成成分既互相依赖又互相影响,只有维持一个互惠共生的关系才能保持视网膜的稳态及完整性。其中 RPE 细胞的功能正常最为重要。RPE 屏障功能的瓦解是湿性年龄相关性黄斑变性发生发展的重要原因。近年来,治疗眼底新生血管性疾病的方法包括激光治疗、抗新生血管药物治疗、手术治疗以及近来研究越来越多的基因治疗等。目前应用最为广泛的抗 VEGF 治疗,已成为治疗眼底新生血管性疾病最主要的治疗手段。然而在正常生理状态下,VEGF 不仅有促进新生血管形成的作用,在营养神经及内皮细胞正常生长过程中也起到保护作用,抑制其生物活性不仅抑制新生血管,也抑制其有益作用。因此,研究者试图开发更为有效且根本的治疗方法。大量研究表明,不论从 RPE 细胞吞噬作用还是其构成的物理屏障、分泌多种生长因子的角度而言,只有 RPE 细胞的各个生理功能正常维持及运作才能使眼内稳定于无新生血管的状态。所以针对于 RPE 细胞本身的治疗成为目前治疗眼底许多疾病的又一突破点。其中,通过基因治疗在 RPE 细胞中靶向表达活化的 Rap 1,例如特定 RAPI 活化化合物如 8CPT2ME-cAMP,增强 RPE 的屏障功能以达到抑制脉络膜内皮细胞迁移形成新生血管的目的^[9]。近年来大量实验研究人胚胎干细胞分化成的视网膜色素上皮细胞移植来治疗视网膜疾病,细胞移植是治疗 RPE 细胞变性的具有前景的方法^[33]。作为干细胞家族的一员,间充质干细胞治疗视网膜疾病有巨大的潜能。虽然具体作用机制尚不完全明确,但其对损伤组织的修复作用已得到证实。虽然干细胞定向分化 RPE 细胞移植的研究任重而道远,但可以确

信的是基因治疗以及 RPE 移植必将会成为视网膜新生血管性疾病根本且有效的治疗方法。

4 小结

基于目前对 RPE 功能及其在抗新生血管作用方面的大量研究,已经证实 RPE 细胞与眼底多种疾病的发生发展密切相关。RPE 功能及形态的异常可引起眼底相应的病理变化,导致多种新生血管性疾病的发生。现已证实,许多眼底疾病为基因突变导致,但 RPE 细胞所构成的视网膜外屏障的瓦解则为许多眼底疾病发生发展的触发器。因而增强 RPE 细胞的屏障作用有助于控制许多眼底疾病的发展。RPE 细胞的功能正常及完整性对于人眼维持正常稳态至关重要,其正常生理功能及复杂的调控机制仍需深入探究,其中任何一个环节的功能障碍均可导致其屏障作用异常。对 RPE 的深入研究将为阐述眼底新生血管性疾病的病理生理机制及防治提供重要依据及有效途径。

参考文献

- 1 Bharti K, Gasper M, Ou J, et al. A regulatory loop involving PAX6, MITF, and WNT signaling controls retinal pigment epithelium development. *PLoS Genet* 2012;8(7):e1002757
- 2 Chiba C. The retinal pigment epithelium; an important player of retinal disorders and regeneration. *Exp Eye Res* 2014;123(6):107-114
- 3 Fuhrmann S, Zou C, Levine EM. Retinal pigment epithelium development, plasticity, and tissue homeostasis. *Exp Eye Res* 2014;123(6):141-150
- 4 Bhutto I, Luttj G. Understanding age-related macular degeneration (AMD): relationships between the photoreceptor/retinal pigment epithelium/Bruch's membrane/choriocapillaris complex. *Mol Aspects Med* 2012;33(4):295-317
- 5 Bandyopadhyay M, Rohrer B. Matrix metalloproteinase activity creates pro-angiogenic environment in primary human retinal pigment epithelial cells exposed to complement. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(4):1953-1961
- 6 Ford KM, Saint-Geniez M, Walshe T, et al. Expression and role of VEGF in the adult retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(13):9478-9487
- 7 Rizzolo LJ, Peng S, Luo Y, et al. Integration of tight junctions and claudins with the barrier functions of the retinal pigment epithelium. *Prog Retin Eye Res* 2011;30(5):296-323
- 8 Bonilha VL. Retinal pigment epithelium (RPE) cytoskeleton *in vivo* and *in vitro*. *Exp Eye Res* 2014;126(9):38-45
- 9 Wittchen ES, Nishimura E, McCloskey M, et al. Rap1 GTPase activation and barrier enhancement in rpe inhibits choroidal neovascularization *in vivo*. *PLoS One* 2013;8(9):73070
- 10 Huang X, Wei Y, Ma H, et al. Vitreous-induced cytoskeletal rearrangements via the Rac1 GTPase-dependent signaling pathway in human retinal pigment epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012;419(2):395-400
- 11 Wang L, Wang T, Song M, et al. Rho plays a key role in TGF-beta1-induced proliferation and cytoskeleton rearrangement of human periodontal ligament cells. *Arch Oral Biol* 2014;59(2):149-157
- 12 Wittchen ES, Hartnett ME. The small GTPase Rap1 is a novel regulator of RPE cell barrier function. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(10):7455-7463

- 13 Kay P, Yang YC, Paraoan L. Directional protein secretion by the retinal pigment epithelium: roles in retinal health and the development of age-related macular degeneration. *J Cell Mol Med* 2013;17(7):833–843
- 14 Zhu D, Deng X, Spee C, et al. Polarized secretion of PEDF from human embryonic stem cell-derived RPE promotes retinal progenitor cell survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(3):1573–1585
- 15 Farnoodian M, Kinter JB, Yadrnji AS, et al. Expression of pigment epithelium-derived factor and thrombospondin-1 regulate proliferation and migration of retinal pigment epithelial cells. *Physiol Rep* 2015;3(1):e12266
- 16 Velez G, Weingarden AR, Tucker BA, et al. Retinal Pigment Epithelium and Muller Progenitor Cell Interaction Increase Muller Progenitor Cell Expression of PDGFRalpha and Ability to Induce Proliferative Vitreoretinopathy in a Rabbit Model. *Stem Cells Int* 2012;2012:106486
- 17 Kozlowski MR. Senescent retinal pigment epithelial cells are more sensitive to vascular endothelial growth factor; implications for "wet" age-related macular degeneration. *J Ocul Pharmacol Ther* 2015;31(2):87–92
- 18 Ford KM, D'Amore PA. Molecular regulation of vascular endothelial growth factor expression in the retinal pigment epithelium. *Mol Vis* 2012;18(3):519–527
- 19 Tang PH, Buhusi MC, Ma JX, et al. RPE65 is present in human green/red cones and promotes photopigment regeneration in an *in vitro* cone cell model. *J Neurosci* 2011;31(50):18618–18626
- 20 Klein D, Mendes – Madeira A, Schlegel P, et al. Immuno – histochemical analysis of rod and cone reaction to RPE65 deficiency in the inferior and superior canine retina. *PLoS One* 2014;9(1):e86304
- 21 Akrami H, Soheili ZS, Sadeghizadeh M, et al. Evaluation of RPE65, CRALBP, VEGF, CD68, and tyrosinase gene expression in human retinal pigment epithelial cells cultured on amniotic membrane. *Biochem Genet* 2011;49(5–6):313–322
- 22 Pierce EA, Bennett J. The Status of RPE65 Gene Therapy Trials: Safety and Efficacy. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015;5(9):a017285
- 23 Toomey CB, Kelly U, Saban DR, et al. Regulation of age – related macular degeneration – like pathology by complement factor H. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112(23):E3040–E3049
- 24 Cao S, Walker GB, Wang X, et al. Altered cytokine profiles of human retinal pigment epithelium: oxidant injury and replicative senescence. *Mol Vis* 2013;19(3):718–728
- 25 Peng S, Gan G, Rao V S, et al. Effects of proinflammatory cytokines on the claudin – 19 rich tight junctions of human retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(8):5016–5028
- 26 Sparrow JR, Hicks D, Hamel CP. The retinal pigment epithelium in health and disease. *Curr Mol Med* 2010;10(9):802–823
- 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 and Disease* 2015;11(6):e1972
- 28 Kinnunen K, Petrovski G, Moe MC, et al. Molecular mechanisms of retinal pigment epithelium damage and development of age – related macular degeneration. *Acta Ophthalmol* 2012;90(4):299–309
- 29 Rizzolo LJ, Peng S, Luo Y, et al. Integration of tight junctions and claudins with the barrier functions of the retinal pigment epithelium. *Prog Retin Eye Res* 2011;30(5):296–323
- 30 Dahrouj M, Alsarraf O, Mcmillin JC, et al. Vascular endothelial growth factor modulates the function of the retinal pigment epithelium *in vivo*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(4):2269–2275
- 31 杜红俊. 视网膜色素上皮与新生血管的形成. *眼科研究* 1998;16(2):155–157
- 32 Kinnunen K, Petrovski G, Moe MC, et al. Molecular mechanisms of retinal pigment epithelium damage and development of age – related macular degeneration. *Acta Ophthalmol* 2012;90(4):299–309
- 33 Szober CM, Hauck SM, Euler KN, et al. Profound re – organization of cell surface proteome in equine retinal pigment epithelial cells in response to *in vitro* culturing. *Int J Mol Sci* 2012;13(11):14053–14072