

内质网应激在年龄相关性黄斑变性中的研究进展

刘霞,王艳,江华维,任玉玲,陈晨

引用:刘霞,王艳,江华维,等.内质网应激在年龄相关性黄斑变性中的研究进展.国际眼科杂志 2022;22(2):244-248

基金项目:国家自然科学基金项目(No.81660167);云南省卫生健康委员会医学后备人才培养计划(No.H-2019057)

作者单位:(650021)中国云南省昆明市,昆明医科大学第四附属医院眼科 云南省第二人民医院眼科 云南省眼科研究所 云南省眼部疾病临床医学研究中心 云南省眼病临床医学中心 云南省眼科疾病防治研究重点实验室 云南省姚克专家工作站

作者简介:刘霞,在读硕士研究生,研究方向:玻璃体与视网膜疾病。

通讯作者:陈晨,毕业于中山大学,博士,主治医师,硕士研究生导师,研究方向:眼底病. chenchenmd@aliyun.com

收稿日期:2021-06-07 修回日期:2021-12-23

摘要

年龄相关性黄斑变性(ARMD)是老年人不可逆视力损害的主要原因,以黄斑区玻璃膜疣的形成、色素紊乱、地图样萎缩、脉络膜新生血管形成为主要病理特征,视网膜色素上皮(RPE)细胞功能失调与ARMD关系密切。内质网是真核生物一个特殊的细胞器,主要负责蛋白的合成、修饰、整合和质量控制,并参与Ca²⁺稳态维持和脂质的生物合成。细胞内外环境的变化,导致内质网应激,激活细胞内的信号转导通路——未折叠蛋白反应,以恢复细胞功能和维持细胞内环境稳态。但长期强烈的内质网应激可能导致内质网动态平衡难以恢复,而触发细胞凋亡。ARMD的发病机制尚未完全阐明,但大量研究证明内质网应激与其相关。本文就内质网应激的信号转导通路,内质网应激在RPE中的生理作用及内质网应激可能介导ARMD的机制作一综述。

关键词:年龄相关性黄斑变性;内质网应激;未折叠蛋白反应;视网膜色素上皮细胞;细胞凋亡

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2022.2.14

Endoplasmic reticulum stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration

Xia Liu, Yan Wang, Hua-Wei Jiang, Yu-Ling Ren, Chen Chen

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No.81660167); Personnel Project Funded by Health Commission of Yunnan Province (No.H-2019057)

Department of Ophthalmology, Fourth Affiliated Hospital of Kunming Medical University; Department of Ophthalmology, the Second People's Hospital of Yunnan Province; Yunnan Eye Institute; The Ocular Disease and Clinical Medicine Research Center of Yunnan

Province; The Ocular Disease Clinical Medicine Center of Yunnan Province; Key Laboratory of Yunnan Province for the Prevention and Treatment of Ophthalmology; Expert Workstation of Yao Ke, Kunming 650021, Yunnan Province, China

Correspondence to: Chen Chen. Department of Ophthalmology, Fourth Affiliated Hospital of Kunming Medical University; Department of Ophthalmology, the Second People's Hospital of Yunnan Province; Yunnan Eye Institute; The Ocular Disease and Clinical Medicine Research Center of Yunnan Province; The Ocular Disease Clinical Medicine Center of Yunnan Province; Key Laboratory of Yunnan Province for the Prevention and Treatment of Ophthalmology; Expert Workstation of Yao Ke, Kunming 650021, Yunnan Province, China. chenchenmd@aliyun.com

Received: 2021-06-07 Accepted: 2021-12-23

Abstract

• Age-related macular degeneration (ARMD) is a main cause of irreversible visual impairment in the elderly. The major pathological features are drusen formation, macular pigment disorder, geographic atrophy and abnormal neovascularization. Retinal pigment epithelium (RPE) function is impaired in ARMD. Endoplasmic reticulum (ER) is an organelle in eukaryotes responsible for protein synthesis, modification, integration and quality control. ER also participates in the maintenance of calcium homeostasis and lipid biosynthesis. Stimuli from the external and internal environment may trigger ER stress and therefore activate the intracellular signal transduction pathway - the unfolded protein response (UPR), to restore cell homeostasis. However, prolonged ER stress may lead to apoptosis. The pathogenesis of ARMD has not been fully elucidated, nevertheless, compelling evidence demonstrates that ER stress is involved. In this article, we summarize recent advances in UPR pathways, as well as the role of ER stress in the physiological function of RPE and in the pathogenesis of ARMD.

• KEYWORDS: age-related macular degeneration; endoplasmic reticulum stress; unfolded protein response; retinal pigment epithelium cells; apoptosis

Citation: Liu X, Wang Y, Jiang HW, et al. Endoplasmic reticulum stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2022; 22(2): 244-248

0 引言

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, ARMD)是一种影响视网膜黄斑区域,导致中心视力进行性丧失的疾病,也是50岁以上老年人视力下

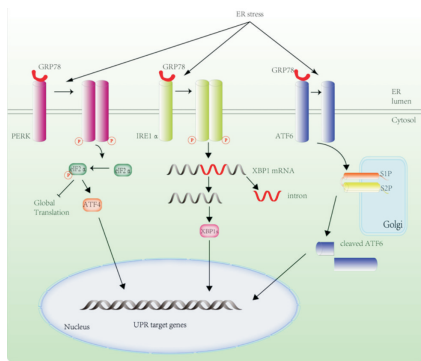


图1 UPR的信号转导机制示意图。

降甚至失明的主要原因之一^[1]。2015年全球失明人口所有年龄段失明原因中 ARMD 排第四位,在导致中重度视力障碍原因中排第三位(仅次于屈光不正和白内障),在人口老龄化地区 ARMD 的致盲比例更高^[2]。ARMD 分为干性 ARMD 和湿性 ARMD,前者的主要表现是黄斑区玻璃膜疣形成和地图样萎缩,后者的主要表现是脉络膜新生血管形成^[3]。视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞是位于视网膜最外层的单层六角形细胞,富含色素颗粒,且具有极性。RPE 功能失调与 ARMD 关系密切^[4]。目前 ARMD 的发病机制尚未完全阐明,但大量研究发现多种危险因素介导的内质网应激在该病的发生发展中起着重要作用。本文就内质网应激的信号转导通路、内质网应激在视网膜色素上皮细胞中的生理作用及其在 ARMD 发病机制中的研究进展作一综述。

1 内质网与内质网应激

内质网是真核细胞内一种特殊的膜性细胞器,承担着跨膜蛋白和分泌蛋白的合成、折叠、组装、修饰的任务,同时也是脂肪、甾体合成以及 Ca^{2+} 储存的主要场所^[5]。蛋白折叠是一个非常容易出错的过程, Ca^{2+} 水平失调、蛋白合成水平提高、持续的氧化应激、营养物质过多或限制、毒素刺激、缺氧、基因突变等因素均可影响蛋白的正常折叠或运输,导致大量未折叠蛋白和/或错误折叠蛋白积聚在内质网腔,此种状态即称为内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ER stress)^[6]。此时,细胞内会产生适应性的信号转导级联反应——未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)来缓解内质网应激。如果强烈的内质网应激持续存在,动态平衡难以恢复,将启动细胞凋亡程序清除受损细胞来保护机体^[7]。

2 内质网应激中的 UPR

UPR 主要通过三种跨膜蛋白激活信号级联反应:活化转录因子 6(activating transcription factor 6, ATF6),蛋白激酶样内质网激酶(protein kinase-like ER kinase, PERK)以及肌醇需求酶 1(inositol-requiring enzyme 1, IRE1)。生理条件下,这三种跨膜蛋白的内质网腔内部分均与葡萄糖调节蛋白 78(glucose-regulated protein 78, GRP78)结合,处于非活化状态。内质网应激时,GRP78 解离引起跨膜蛋白的活化,启动 UPR^[8-9](图 1)。

2.1 IRE1 介导的 UPR IRE1 是位于内质网的一种跨膜激酶,存在于所有真核生物中,结构非常保守^[10]。内质网应激时,IRE1 与 GRP78 解离,通过自身磷酸化而激活其核酸内切酶功能^[11]。转录因子 X 盒结合蛋白 1(X box-binding protein 1, XBP1)的 mRNA 是其底物。IRE1 从 XBP1 的 mRNA 上剪掉一个 26 碱基对的片段,该 mRNA

两个断端重新连接后,其编码蛋白发生改变,表达剪切型 XBP1(XBP1s, XBP1 的活性形式)。XBP1s 进入细胞核,增强其下游基因表达,调节内质网蛋白的折叠和运输、磷脂生物合成以及内质网相关的蛋白降解,从而增强细胞对环境变化的适应性^[12]。另一方面,IRE1 的核酸酶活性能裂解多种 RNA,从而降低内质网 mRNA 丰度和蛋白折叠负荷,这一过程称为受调节的 IRE1 依赖的裂解(regulated IRE1-dependent decay, RIDD)。RIDD 可以裂解大量位于内质网和细胞浆的 mRNA、核糖体 RNA 和小 RNA,在调控葡萄糖代谢、炎症、凋亡等过程中起着重要的生物学作用^[13]。如果内质网应激无法缓解,IRE1 将激活 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)通路,介导细胞凋亡^[7]。

2.2 PERK 介导的 UPR 同 IRE1 一样,PERK 也是内质网定位的跨膜蛋白,与 GRP78 解离后,通过自身磷酸化而激活。内质网应激时,激活的 PERK 在 Ser51 处磷酸化真核翻译起始因子 2(eukaryotic translation initiation factor 2, eIF2)的 α 亚基。磷酸化的 eIF2 α 抑制总体蛋白翻译,从而降低内质网蛋白负荷,缓解内质网应激。另一方面,磷酸化的 eIF2 α 可特异性增加转录激活因子 4(activating transcription factor 4, ATF4)的翻译。ATF4 进入细胞核,促进细胞存活相关基因的表达,激活自噬、抗氧化反应,维持蛋白的合成和运输。C/EBP 同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)是一个前凋亡因子,内质网应激时被 ATF4 激活,通过抑制抗凋亡蛋白 Bcl-2 的转录并增加死亡受体 5(death receptor 5, DR5)的基因表达,介导细胞凋亡^[14-15]。

2.3 ATF6 介导的 UPR ATF6 是一种 II 型跨膜蛋白,包含亮氨酸拉链结构域。内质网应激时,ATF6 与 GRP78 解离,再与外壳蛋白 II(COP II)复合物相互作用被转运到高尔基体,然后被 S1P 和 S2P 两种蛋白酶切割为两部分,释放出稳定的 bZIP 转录因子 ATF6-N。ATF6-N 进入细胞核,参与转录因子 CHOP、XBP1 表达的调控,激活与蛋白折叠相关的基因表达,帮助恢复内质网蛋白折叠的动态平衡^[16-17]。ATF6 的转运与激活是受到高度调控的过程,该过程与内质网驻留蛋白 18(ERp18)相关。ERp18 是一种氧化还原酶,它介导 ATF6 与 GRP78 的解离,并调节 ATF6 转出内质网的过程。ERp18 缺失时,ATF6 无法被 S1P 或 S2P 蛋白酶正确切割,因而不能产生其活性形式 ATF6-N^[18]。

3 内质网应激与 ARMD

Lenox 等^[19]研究发现,正常老化视网膜中,内质网稳态破坏导致 UPR 激活,氧化应激和炎症信号增加。各种危险因素(如年龄、吸烟、光损伤等)都可以在视网膜中引起内质网应激,导致 ARMD 的发生发展^[20-21]。接下来将从内质网应激与氧化应激、炎症、自噬、细胞凋亡、血管生成和 RPE 分泌蛋白失衡的相互作用来介绍内质网应激与 ARMD 发病机制的关系。

3.1 内质网应激与氧化应激 氧化应激是 ARMD 发生发展中最重要机制。生理情况下,活性氧(reactive oxygen species, ROS)对于正常细胞功能维持是必要的,而吸烟、高脂饮食等危险因素将刺激细胞产生过多 ROS,损伤细胞蛋白和 DNA,损害细胞生理功能^[22]。RPE 细胞具有强大的抗氧化能力,其中 NF-E2 相关因子 2(NF-E2-related factor 2, Nrf2)是对抗氧化应激最重要的调节分子。Nrf2 是一种 bZIP 转录因子,它能与抗氧化反应元件

(antioxidant response elements, ARE)结合,激活一系列含有 ARE 的抗氧化基因,对 ROS 诱导的视网膜细胞凋亡有保护作用^[23-24]。Nrf2 基因敲除的小鼠表现出玻璃膜疣样沉积、脂褐质堆积、自发性脉络膜新生血管等与人类 ARMD 相似的表型^[25]。在 ARMD 中,内质网应激与氧化应激有较多的交互作用。Cullinan 等^[26]研究发现,Nrf2 是 PERK 的直接底物,PERK 可以磷酸化 Nrf2,使其与抑制蛋白 Keap1 离解,进入细胞核。由此可见,PERK 通路虽然通过 eIF2 α /ATF4/CHOP 信号诱导细胞凋亡,却通过 Nrf2 信号保护细胞生存。He 等^[27]发现,ATF4 可以与 Nrf2 形成二聚体,共同调节抗氧化酶血红素加氧酶 1 (Heme oxygenase-1, HO-1)的表达。而我们之前的研究^[28]发现 XBP1 对 Nrf2 有调节作用,在 ARPE-19 细胞中过表达剪切型 XBP1 后,Nrf2 的水平也增加;在 RPE 特异性 XBP1 基因敲除的小鼠,Nrf2 的表达也显著降低。这些研究证明,调控内质网应激可以影响氧化应激的关键分子 Nrf2,进而影响细胞的抗氧化反应。

3.2 内质网应激与炎症 玻璃膜疣位于 RPE 与 Bruch 膜之间,是 ARMD 的典型体征。玻璃膜疣的成分包含很多炎症相关物质,包括补体成分、免疫球蛋白、人类白细胞抗原和急性时相蛋白等,这证明炎症与 ARMD 密切相关^[29]。有学者^[30]提出 ARMD 发生的两级模型假设:第一级是人眼在光、吸烟、衰老等危险因素作用下,各种损伤分子如补体因子、白细胞介素等不断积累。第二级是这些损伤分子诱发的炎症宿主反应。这种(无菌性)炎症反应造成细胞和组织的额外损伤,最终发展为 ARMD。

内质网应激时,IRE1 信号通路可以使核因子 κ B 抑制蛋白 I κ B (I kappa B Proteins)降解,从而激活核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B)。PERK-eIF2 α 通路则减少 I κ B 的蛋白翻译,使得 NF- κ B 得以入核。NF- κ B 通过调节细胞因子、趋化因子、生长因子和血管生成因子的转录在炎症反应中起关键作用。UPR 的另一条通路,ATF6,可以激活急性时相反应^[31-32],活化的 ATF6 在细胞核内调节急性时相蛋白的基因转录。Kheitan 等^[33]通过构建蛋白质-蛋白质相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络对 ARMD 中内质网应激和炎症的相互关系进行研究,发现 MAPK 信号通路是与内质网应激和炎症交叉作用相关度最高的通路。MAPK 信号通路通过对不同刺激的磷酸化反应来调节转录因子的活性,如通过 JNK 和 p38/MAPK 的活化来调节 RPE 细胞的凋亡。由此可见,ARMD 中内质网应激和炎症常常同时存在而相互影响。

3.3 内质网应激与自噬功能障碍 自噬是一种溶酶体介导的降解过程,将非必须或已损害的细胞成分降解来为细胞供能,维持细胞内环境平衡^[34]。研究发现,随年龄增加,RPE 自噬能力逐渐下降,光感受器外节以及脂褐质在 RPE 和 Bruch 膜之间积累^[35]。RPE 自噬功能障碍与 ARMD 的发生发展密切相关^[36]。Golestaneh 等^[37]报道,ARMD 患者的 RPE 细胞中,自噬体变大,脂滴变多,且自噬体和受损线粒体的数量显著多于正常 RPE。自噬功能障碍会导致异常蛋白和 ROS 在内质网积聚,从而导致内质网应激。Feng 等^[38]研究发现,内质网分子伴侣 GRP78 能诱导 RPE 自噬增加,用 siRNA 抑制 GRP78 表达后,RPE 自噬功能降低。自噬诱导剂雷帕霉素可以减少内质网应激,从而保护 RPE 细胞免受蓝光诱导的凋亡。Song 等^[39]报道,可见光在体外培养的 RPE 细胞中诱导自噬增加,持

久过强的自噬引起 RPE 细胞凋亡。小鼠腹腔注射内质网应激抑制剂 Salubrinal 后再暴露于强光,此时强光诱导的自噬较对照组少,强光导致的视网膜结构异常显著轻于对照组,可见抑制内质网应激能减少过多的自噬而保护 RPE 细胞。

3.4 内质网应激与细胞凋亡 RPE 细胞密度随年龄增加而下降,其凋亡率随年龄增加而增加^[40]。RPE 细胞凋亡是干性 ARMD 的重要标志^[41]。UPR 的 PERK 通路和 IRE1 通路可通过不同的机制导致细胞凋亡。PERK 激活 eIF2 α ,后者抑制总体蛋白合成来减轻内质网应激,但持久过强的抑制蛋白合成不利于细胞存活;PERK 通路还激活前凋亡蛋白 CHOP,抑制 Bcl-2 的转录而诱导细胞凋亡。同时,IRE1 磷酸化可活化 RIDD,过强的 RIDD 可降解位于内质网的几百种 mRNA,剥夺了内质网的蛋白组分,反而加重内质网应激,引起细胞凋亡^[7,13,42]。

吸烟是 ARMD 的独立危险因素,烟雾中有多种成分可损伤视网膜^[43]。我们前期的研究发现,在吸烟小鼠模型中,RPE 中的 XBP1s 和 CHOP 的 mRNA 水平显著升高,而神经视网膜中 XBP1s 的 mRNA 水平亦显著上升,这说明内质网应激参与了吸烟导致 ARMD 的过程。我们进一步研究发现,香烟烟雾的主要成分氢醌在 RPE 细胞中诱导 GRP78、PERK、eIF2- α 、ATF4、CHOP 的表达,最后激活 caspase3,导致细胞凋亡。同时,内质网应激抑制剂 4-苯基丁酸能抑制前凋亡蛋白 CHOP 的水平,从而抑制氢醌诱导的 RPE 凋亡。更深入的机制研究发现,用过表达显性负性突变 PERK 的腺病毒感染细胞,使正常 PERK 被抑制后,氢醌诱导的 RPE 凋亡显著减少,说明氢醌诱导 RPE 凋亡主要是通过 PERK 通路。另一方面,剪切型 XBP1 则对 RPE 凋亡有保护作用。利用腺病毒在 RPE 细胞中过表达剪切型 XBP1 后,氢醌诱导的细胞凋亡显著下降^[44]。由此可见,调控内质网应激可以影响 RPE 细胞凋亡。

3.5 内质网应激与血管生成 RPE 细胞过量表达血管内皮细胞生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 导致脉络膜新生血管 (choroidal neovascularization, CNV) 形成是湿性 ARMD 发生的关键环节。内质网应激时,UPR 的 PERK 通路可以激活 ATF4,IRE1 通路可以激活 JNK,ATF4 和 JNK 可以直接调节 VEGF 的转录,使其水平升高^[45-46]。Pollreisz 等^[47]研究发现,氧化磷脂(一类脂质氧化产物)在人胚胎 RPE 细胞和原代 RPE 细胞中增加 VEGF 的 mRNA 水平,并使细胞分泌的 VEGF 增加。siRNA 阻断细胞内 ATF4 信号后,氧化磷脂诱导的 VEGF 表达显著下降,说明 ATF4 在氧化磷脂诱导的 VEGF 表达中是必需的。这证实了内质网应激在 RPE 分泌 VEGF 过程中的作用。

目前,抗 VEGF 注射在湿性 ARMD 的治疗中取得了确切疗效。然而,ANCHOR、MARINA 等临床试验表明,抗 VEGF 治疗后新生血管的消退经常并不完全,也不持久^[48],我们仍然需要新的 ARMD 治疗靶点。Liu 等^[49]研究发现,在视网膜血管内皮细胞中,外源性 VEGF、高糖、过氧化氢均能诱导 UPR,激活 IRE1 和 ATF6,抑制细胞内 VEGF 裂解,使 VEGF 聚集。siRNA 抑制 IRE1 和 ATF6 表达后,细胞内 VEGF 裂解显著增加,内皮细胞成管显著减少。在激光诱导的 CNV 小鼠模型中,玻璃体腔注射 IRE1 或 ATF6 的 siRNA 后,CNV 形成减少 35%以上。当 siRNA 处理联合抗 VEGF 治疗时,CNV 形成减少 60%以上。这

一研究证实了内质网应激在 CNV 形成中的作用,并为湿性 ARMD 治疗提供了新的靶点。

3.6 内质网应激与 RPE 分泌蛋白失衡 RPE 分泌蛋白的平衡对维持光感受器细胞和 Bruch 膜/脉络膜的结构和功能至关重要^[50]。RPE 顶部分泌的蛋白主要有透明质酸, α B 晶体蛋白,色素上皮衍生因子等;其基底部分泌的蛋白主要有血管内皮生长因子,成纤维细胞生长因子 5,内皮素 I 等^[51]。内质网在 RPE 分泌蛋白平衡中起着质控作用。内质网应激时,蛋白折叠和运输功能受损,可能有错误折叠的蛋白被分泌到细胞外,影响组织的正常生理功能^[50-52]。

Luibl 等^[53]在人类玻璃膜疣标本中发现了淀粉样蛋白的存在。Wang 等^[54]研究发现,24 月龄的小鼠 RPE 分泌的淀粉样蛋白明显比 2 月龄小鼠 RPE 分泌的淀粉样蛋白多。 β 淀粉样蛋白具有毒性作用,可以导致 RPE 空泡产生和视网膜细胞老化,还可激活补体级联反应,诱导 RPE 分泌 VEGF,促进 ARMD 发生^[55-56]。Plate 等^[57]和 Wang 等^[58]研究发现,UPR 的 ATF6 通路能减少淀粉样免疫球蛋白轻链的分泌,而 XBP1 通路能增加内质网对淀粉样免疫球蛋白轻链的降解,证明 UPR 在淀粉样蛋白的分泌中有调控作用。Matsui 等^[59]研究发现, β 淀粉样蛋白在 RPE 细胞中诱导 VEGF 的分泌,而用内质网应激抑制剂 4-苯基丁酸同时处理细胞后,受刺激分泌的 VEGF 水平显著降低。因此 Matsui 等^[59]指出内质网应激抑制剂可能在伴有玻璃膜疣的 ARMD 患者中有预防新生血管生成作用。

4 小结与展望

综上所述,大量研究证实 ARMD 与内质网应激密切相关。目前针对 ARMD 的治疗手段比较有限,抗 VEGF 疗法治疗湿性 ARMD 也具有一定的疗效差异性和远期局限性。对于干性 ARMD 的治疗,除了干细胞治疗已经进入临床研究阶段,尚无有效药物可以挽救 RPE 细胞的凋亡和感光细胞的损伤。未折叠蛋白反应作为内质网应激主要的信号通路,与炎症、氧化应激、自噬等机制相互作用,形成一个复杂的调控网络。UPR 的三条信号通路早期可以通过诱导自噬和抗氧化反应、调控炎症信号来恢复内质网稳态,但长期过度的 UPR 激活可能导致自噬功能障碍、炎症信号增加、ROS 聚集而诱导细胞凋亡。了解以持续 UPR 为特征的年龄相关性视网膜疾病的分子机制,从 UPR 的上下游研究如何调控相关基因表达以维持细胞或组织正常生理代谢,进一步探讨内质网应激在 ARMD 发生发展中的作用,有助于为 ARMD 治疗提供新的思路和可能的分子靶点。

参考文献

- 1 Wong WL, Su XY, 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 Heal* 2014;2(2):e106-e116
- 2 Flaxman SR, Bourne RRA, Resnikoff S, et al. Global causes of blindness and distance vision impairment 1990-2020: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Health* 2017;5(12):e1221-e1234
- 3 Mitchell P, Liew G, Gopinath B, et al. Age-related macular degeneration. *Lancet* 2018;392(10153):1147-1159
- 4 Caceres PS, Rodriguez-Boulan E. Retinal pigment epithelium polarity in health and blinding diseases. *Curr Opin Cell Biol* 2020;62:37-45
- 5 Schwarz DS, Blower MD. The endoplasmicreticulum: structure,

- function and response to cellular signaling. *Cell Mol Life Sci* 2016;73(1):79-94
- 6 Wang M, Kaufman RJ. Protein misfolding in the endoplasmic reticulum as a conduit to human disease. *Nature* 2016;529(7586):326-335
- 7 Hetz C, Papa FR. The unfolded protein response and cell fate control. *Mol Cell* 2018;69(2):169-181
- 8 Hetz C, Zhang K, Kaufman RJ. Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2020;21(8):421-438
- 9 Kopp MC, Larburu N, Durairaj V, et al. UPR proteins IRE1 and PERK switch BiP from chaperone to ER stress sensor. *Nat Struct Mol Biol* 2019;26(11):1053-1062
- 10 Calton M, Zeng H, Urano F, et al. IRE1 couples endoplasmic reticulum load to secretory capacity by processing the XBP-1 mRNA. *Nature* 2002;415(6867):92-96
- 11 Amin-Wetzel N, Neidhardt L, Yan Y, et al. Unstructured regions in IRE1 α specify BiP-mediated destabilisation of the luminal domain dimer and repression of the UPR. *Elife* 2019;8:e50793
- 12 Siwecka N, Rozpedek-Kaminska W, Wawrzynkiewicz A, et al. The structure, activation and signaling of IRE1 and its role in determining cell fate. *Biomedicines* 2021;9(2):156
- 13 Adams CJ, Kopp MC, Larburu N, et al. Structure and molecular mechanism of ER stress signaling by the unfolded protein response signal activator IRE1. *Front Mol Biosci* 2019;6:11
- 14 Chang TK, Lawrence DA, Lu M, et al. Coordination between two branches of the unfolded protein response determines apoptotic cell fate. *Mol Cell* 2018;71(4):629-636,e5
- 15 Harding HP, Zhang Y, Bertolotti A, et al. Perk is essential for translational regulation and cell survival during the unfolded protein response. *Mol Cell* 2000;5(5):897-904
- 16 Hillary RF, FitzGerald U. A lifetime of stress: ATF6 in development and homeostasis. *J Biomed Sci* 2018;25(1):48
- 17 Haze K, Yoshida H, Yanagi H, et al. Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress. *Mol Biol Cell* 1999;10(11):3787-3799
- 18 Oka OB, van Lith M, Rudolf J, et al. ERp18 regulates activation of ATF6 α during unfolded protein response. *Embo J* 2019;38(15):e100990
- 19 Lenox AR, Bhootada Y, Gorbatyuk O, et al. Unfolded protein response is activated in aged retinas. *Neurosci Lett* 2015;609:30-35
- 20 Sano R, Reed JC. ER stress-induced cell death mechanisms. *Biochim Biophys Acta* 2013;1833(12):3460-3470
- 21 Kim SH, Park JW. Morin hydrate attenuates CSE-induced lipid accumulation, ER stress, and oxidative stress in RPE cells: implications for age-related macular degeneration. *Free Radic Res* 2019;53(8):865-874
- 22 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. *Oxid Med Cell Longev* 2020;2020:7901270
- 23 Zhang ZY, Bao XL, Cong YY, et al. Autophagy in age-related macular degeneration: a regulatory mechanism of oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev* 2020;2020:2896036
- 24 陈婷妍,周洋.基于 Nrf2/Keap1/ARE 通路研究槲皮素对小鼠年龄相关性黄斑变性的保护作用. *国际眼科杂志* 2020;20(7):1132-1138
- 25 Zhao Z, Chen Y, Wang J, et al. Age-related retinopathy in NRF2-deficient mice. *PLoS One* 2011;6(4):e19456
- 26 Cullinan SB, Zhang D, Hannink M, et al. Nrf2 is a direct PERK substrate and effector of PERK-dependent cell survival. *Mol Cell Biol* 2003;23(20):7198-7209

27 He CH, Gong P, Hu B, *et al.* Identification of activating transcription factor 4 (ATF4) as an Nrf2-interacting Protein. Implication for heme oxygenase-1 gene regulation. *J Biol Chem* 2001;276(24):20858-20865

28 Chen C, Zhong Y, Wang JJ, *et al.* Regulation of Nrf2 by X box-binding protein 1 in retinal pigment epithelium. *Front Genet* 2018;9:658

29 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

30 Rozing MP, Durhuus JA, Krogh Nielsen M, *et al.* Age-related macular degeneration: a two-level model hypothesis. *Prog Retin Eye Res* 2020;76:100825

31 Garg AD, Kaczmarek A, Krysko O, *et al.* ER stress-induced inflammation: does it aid or impede disease progression? *Trends Mol Med* 2012;18(10):589-598

32 Gong J, Wang XZ, Wang T, *et al.* Molecular signal networks and regulating mechanisms of the unfolded protein response. *J Zhejiang Univ Sci B* 2017;18(1):1-14

33 Kheitan S, Minuchehr Z, Soheili ZS. Exploring the cross talk between ER stress and inflammation in age-related macular degeneration. *PLoS One* 2017;12(7):e0181667

34 Dikic I, Elazar Z. Mechanism and medical implications of mammalian autophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018;19(6):349-364

35 Blasiak J, Pawlowska E, Szczepanska J, *et al.* Interplay between autophagy and the ubiquitin-proteasome system and its role in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Int J Mol Sci* 2019;20(1):210

36 Kaamiranta K, Tokarz P, Koskela A, *et al.* Autophagy regulates death of retinal pigment epithelium cells in age-related macular degeneration. *Cell Biol Toxicol* 2017;33(2):113-128

37 Golestaneh N, Chu Y, Xiao YY, *et al.* Dysfunctional autophagy in RPE, a contributing factor in age-related macular degeneration. *Cell Death Dis* 2017;8(1):e2537

38 Feng JY, Chen YH, Lu B, *et al.* Autophagy activated via GRP78 to alleviate endoplasmic reticulum stress for cell survival in blue light-mediated damage of A2E-laden RPEs. *BMC Ophthalmol* 2019;19(1):249

39 Song JY, Fan B, Che L, *et al.* Suppressing endoplasmic reticulum stress-related autophagy attenuates retinal light injury. *Aging* 2020;12(16):16579-16596

40 Del Priore LV, Kuo YH, Tezel TH. Age-related changes in human RPE cell density and apoptosis proportion *in situ*. *Invest ophthalmol vis sci* 2002;43(10):3312-3318

41 孟佳敏, 李健, 张红兵. 干性 ARMD 中视网膜色素上皮细胞的作用及损伤机制. *国际眼科杂志* 2021;21(7):1200-1204

42 Acosta-Alvear D, Karagoz GE, Frohlich F, *et al.* The unfolded protein response and endoplasmic reticulum protein targeting machineries converge on the stress sensor IRE1. *Elife* 2018;7:e43036

43 Nita M, Grzybowski A. Smoking and eye pathologies. A systemic review. part II. retina diseases, uveitis, optic neuropathies, thyroid-associated orbitopathy. *Curr Pharm Des* 2017;23(4):639-654

44 Chen C, Cano M, Wang JJ, *et al.* Role of unfolded protein response dysregulation in oxidative injury of retinal pigment epithelial cells.

Antioxid Redox Signal 2014;20(14):2091-2106

45 Salminen A, Kauppinen A, Hyttinen JM, *et al.* Endoplasmic reticulum stress in age-related macular degeneration: trigger for neovascularization. *Mol Med* 2010;16(11-12):535-542

46 Guma M, Rius J, Duong-Polk KX, *et al.* Genetic and pharmacological inhibition of JNK ameliorates hypoxia-induced retinopathy through interference with VEGF expression. *PNAS* 2009;106(21):8760-8765

47 Pollreisz A, Afonyushkin T, Oskolkova OV, *et al.* Retinal pigment epithelium cells produce VEGF in response to oxidized phospholipids through mechanisms involving ATF4 and protein kinase CK2. *Exp Eye Res* 2013;116:177-184

48 Rofagha S, Bhisitkul RB, Boyer DS, *et al.* Seven-year outcomes in ranibizumab-treated patients in ANCHOR, MARINA, and HORIZON: a multicenter cohort study (SEVEN-UP). *Ophthalmology* 2013;120(11):2292-2299

49 Liu L, Qi XP, Chen ZJ, *et al.* Targeting the IRE1 α /XBP1 and ATF6 arms of the unfolded protein response enhances VEGF blockade to prevent retinal and choroidal neovascularization. *Am J Pathol* 2013;182(4):1412-1424

50 Paraoan L, Sharif U, Carlsson E, *et al.* Secretory proteostasis of the retinal pigmented epithelium: impairment links to age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2020;79:100859

51 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

52 Sun Z, Brodsky JL. Protein quality control in the secretory pathway. *J Cell Biol* 2019;218(10):3171-3187

53 Luibl V, Isas JM, Kaye R, *et al.* Drusen deposits associated with aging and age-related macular degeneration contain nonfibrillar amyloid oligomers. *J Clin Invest* 2006;116(2):378-385

54 Wang J, Ohno-Matsui K, Morita I. Elevated amyloid beta production in senescent retinal pigment epithelium, a possible mechanism of subretinal deposition of amyloid beta in age-related macular degeneration. *Biochem Biophys Res Commun* 2012;423(1):73-78

55 Blasiak J. Senescence in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Cell Mol Life Sci* 2020;77(5):789-805

56 Yoshida T, Ohno-Matsui K, Ichinose S, *et al.* The potential role of amyloid beta in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *J Clin Invest* 2005;115(10):2793-2800

57 Plate L, Rius B, Nguyen B, *et al.* Quantitative interactome proteomics reveals a molecular basis for ATF6-dependent regulation of a destabilized amyloidogenic protein. *Cell Chem Biol* 2019;26(7):913-925

58 Wang YJ, Mu TW. Interactome changes quantified to identify the ER proteostasis network to fight amyloid diseases. *Cell Chem Biol* 2019;26(7):909-910

59 Matsui A, Kaneko H, Shu KC, *et al.* Expression of vascular endothelial growth factor by retinal pigment epithelial cells induced by amyloid-beta is depressed by an endoplasmic reticulum stress inhibitor. *Ophthalmic Res* 2015;55(1):37-44