

MnSOD 与年龄相关性黄斑变性相关性的研究进展

任成达, 于靖

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No. 81470648)
作者单位:(200072) 中国上海市, 同济大学附属第十人民医院眼科
作者简介:任成达, 毕业于同济大学, 硕士, 研究方向: 黄斑变性。
通讯作者:于靖, 博士, 副主任医师, 同济大学副教授, 研究方向: 玻璃体疾病、黄斑变性。dryujing@aliyun.com
收稿日期:2015-08-25 **修回日期:**2015-12-09

Research progress of the relation between MnSOD and age - related macular degeneration

Cheng-Da Ren, Jing Yu

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 81470648)

Department of Ophthalmology, Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China

Correspondence to: Jing Yu. Department of Ophthalmology, Tenth People's Hospital of Tongji University, Shanghai 200072, China. dryujing@aliyun.com

Received: 2015-08-25 Accepted: 2015-12-09

Abstract

• Age-related macular degeneration (AMD) is one of the leading causes of senile irreversible blindness. The oxidative stress caused by reactive oxygen species (ROS), as a risk factor of AMD, plays a role in the pathogenesis of AMD. Manganese superoxide dismutase (MnSOD), as one of the first line antioxidant enzymes, could be expressed in retina cells. It has been demonstrated that MnSOD is correlated with AMD and has been confirmed in animals, cellular level, and patients. This article reviewed the recent literatures on the research and progress of the relation between MnSOD and AMD.

• **KEYWORDS:** age - related macular degeneration; manganese superoxide dismutase; oxidative stress

Citation: Ren CD, Yu J. Research progress of the relation between MnSOD and age-related macular degeneration. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2016;16(1):60-62

摘要

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是导致老年人不可逆性失明的最常见原因之一。活性氧引起的氧化应激作为年龄相关性疾病的危险因素,证实与AMD的发病相关。锰超氧化物歧化酶(manganese superoxide dismutase, MnSOD),作为机体一线抗氧化酶在

视网膜中表达,已经在动物水平、细胞水平、患者水平三个层面证实与AMD发病相关。本文将对近年MnSOD与AMD相关性的研究进展作出综述。

关键词: 年龄相关性黄斑变性; 锰超氧化物歧化酶; 氧化应激

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2016.1.15

引用:任成达,于靖. MnSOD与年龄相关性黄斑变性相关性的研究进展. 国际眼科杂志 2016;16(1):60-62

0 引言

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是导致老年人不可逆性失明最常见的原因之一,2010年全球约有800万AMD患者^[1]。AMD分为干性和湿性两类。干性AMD的主要表现是脉络膜玻璃膜疣(drusen)及黄斑区光感受器的萎缩。湿性AMD的重要标志则是脉络膜新生血管(chronic neovascularization, CNV)。研究已证实氧化应激与AMD的发病相关^[2]。而锰超氧化物歧化酶(manganese superoxide dismutase, MnSOD),作为机体的一线抗氧化酶能保护细胞抗氧化应激损伤并且在视网膜色素上皮细胞中表达,可能在AMD的发病过程中起着关键的作用^[3]。

1 MnSOD及其抗氧化应激的作用机制

人MnSOD由线粒体内的非线粒体DNA编码,基因位于染色体6q25.3,拥有5个外显子与4个内含子^[4]。MnSOD是SOD家族唯一一个维持需氧器官生存的必需蛋白,主要负责清除线粒体内自由基,是保护组织和细胞抗氧化应激的关键酶。在正常人体中,活性氧(reactive oxygen species, ROS)的生成主要是作为线粒体内电子传递链的副产品,其次也可以通过雌激素代谢生成^[5-6]。2%~5%的氧经过不完全降解而产生超氧阴离子自由基,随之引起一系列的ROS产物生成。线粒体基质中的MnSOD的作用机制是催化超氧阴离子自由基的歧化反应,将之转化为过氧化氢和氧,最后过氧化氢在谷胱甘肽过氧化物酶或过氧化物酶家族的作用下降解为水和氧气。MnSOD可以有效地清除细胞中的ROS,保护其免受ROS的损伤^[7]。过多的超氧阴离子自由基的生成会引起MnSOD活性增加,从而保护细胞,维持正常的生理环境。MnSOD已经证实与多种氧化应激相关性疾病相关,包括Alzheimer病、Parkinson病、缺血性卒中等许多年龄相关性疾病^[8]。

2 AMD与氧化应激

许多研究均表明氧化应激与AMD的发病有密切的联系,目前认为ROS在氧化应激造成的视网膜色素上皮(retina pigment epithelium, RPE)损伤中扮演着重要的角色^[2]。低水平的ROS对于维持氧化还原依赖性的生理过程如细胞内信号调控,基因表达,免疫系统细胞激活等十

分必要^[9-10]。过多的 ROS 或体内氧化应激防御机制功能不全可以引起多种分子损伤,包括结构蛋白和酶蛋白羧基化, DNA 氧化, 脂质过氧化^[11]。研究认为, 眼内的富氧环境以及光暴露引起的慢性氧化应激会导致 RPE 细胞代谢功能异常, 吞噬功能下降^[12]。这些细胞自我保护机制功能障碍更加重了 ROS 等细胞毒性物质聚集^[13], 高浓度的 ROS 会引起 RPE 细胞线粒体和溶酶体等细胞器的损伤以及自体吞噬功能不全^[14]。最终致使脂褐质生成增加、RPE 细胞凋亡、drusen 沉积、脉络膜新生血管形成, 导致 AMD 发病^[15-16]。

3 AMD 与 MnSOD 相关性的研究进展

随着近年来 MnSOD 与 AMD 发病的关系逐渐被关注, 越来越多的研究围绕两者关系展开, 主要基于小鼠 MnSOD 基因敲除、细胞内 MnSOD 表达水平、人类 MnSOD 单核苷酸多态性三个方面。

3.1 小鼠 MnSOD 基因敲除与 AMD 近年 MnSOD 基因敲除与 AMD 发病的相关研究取得了重大进展, 各种动物模型的成功建立不仅提示 MnSOD 的下降与 AMD 发病相关, 更为日后在活体动物上进行 AMD 发病及治疗的研究提供了基础。Justilien 等^[17]使用巨细胞病毒肌动蛋白 (cytomegalovirus β -actin, CBA) 作为启动因子, 采用对小鼠视网膜下注射 AAV-CBA-Rz432 的方法降低 MnSOD 的 mRNA 及蛋白表达水平, 达到敲低 MnSOD 的目的。并且保证了小鼠的存活时间, 使得氧化应激损伤可以持续发展, 最终出现 RPE 及 Bruch's 膜的形态学改变: 氧化修饰蛋白的沉积, 自体荧光水平升高, 以及 RPE 与脉络膜小疣中出现 N-亚视黄基-N-视黄基乙醇胺色素 (N-retinyl-N-retinylidene ethanol amine, A2E) 等早期干性 AMD 的标志性表现。这类动物模型的优势在于直接作用于视网膜并且包含了一些公认的 AMD 典型病变, 对于开展 AMD 的动物研究有重要意义。目前该模型作为 AMD 研究的动物模型已经得到广泛应用^[18]。后续的研究中, Seo 等^[19]对小鼠注射 AAV-Rz432 并通过 6mo 的观察发现小鼠同样出现了视网膜空泡化, Bruch's 膜变薄等典型的地图样萎缩性改变, 证实了 Justilien 的方法。为了改进了上述方法, 他们采用了 RPE 特异性 VMD2 替代 CBA 来介导 Rz432 表达, 对小鼠注射 AAV-VMD2-Rz432 制造 MnSOD 基因敲低小鼠, 同样成功模拟了 AMD 模型, 验证了 MnSOD 表达降低后引起视网膜-RPE-脉络膜复合体氧化应激相关性损伤导致的类 AMD 表现。再一次说明 MnSOD 在 AMD 发病过程中的重要性。Mao 的研究中采用了 Cre-Loxp 重组酶系统敲除小鼠 MnSOD 基因外显子 3 区域, 将其替换为 PVMD2-rtTA 和 tetO-PhCMV cre, 使 cre 重组酶仅表现在 RPE 细胞中。在多西环素诱导下, 小鼠 RPE 细胞中 MnSOD 表达下降, 氧化应激增强, 导致 RPE 功能异常, 脉络膜损伤, 感光细胞死亡。虽然没有引起疣样沉积, 但这种模型已经包含了干性 AMD 的几个关键改变, 并且已应用到 AMD 治疗的实验中^[20]。

3.2 细胞内 MnSOD 表达水平与 AMD 细胞水平的实验证实 MnSOD 可以保护 RPE 细胞抗氧化应激, 减少细胞内 ROS 生成, 维持线粒体结构完整与功能正常, 提示其在 AMD 的发病过程中扮演了重要的角色。对 MnSOD 敲除小鼠的 RPE 细胞进行体外培养后, 其 MnSOD 表达明显降低, 超氧自由基的含量明显升高, 这种变化导致单核巨噬细胞引起的 RPE 细胞凋亡明显上升, 与 AMD 的早期病变

相似^[21], 提示小鼠 RPE 细胞中 MnSOD 低表达, 导致 RPE 细胞抗氧化应激能力下降与 AMD 发病相关。研究发现 AMD 患者的 RPE 细胞中 MnSOD 表达水平较正常人低^[22], 说明低 MnSOD 表达水平与 AMD 的发病相关。Khandakar 等指出, 抑制充满 A2E 的 ARPE-19 细胞自体吞噬功能, 会使得细胞内 MnSOD 的 mRNA 及蛋白表达量下降, 从而导致细胞氧化应激损伤加重并引起线粒体功能障碍, 与 AMD 患者 RPE 细胞的改变一致^[23-24]。Yang 等^[25]通过 AMD 患者 RPE 细胞诱发多能干细胞从而进行 AMD 病变早期研究, 发现 AMD 易患位点 2 (age-related macular degeneration susceptibility, ARMS2) 与高温必须蛋白 A1 (high temperature requirement A1, HTRA1) 风险等位基因的存在能够降低 MnSOD 对细胞的保护, 使得 RPE 细胞更容易受到氧化应激的损伤。研究指出, MnSOD 介导了姜黄素, 17 β 雌二醇的抗氧化应激作用。两种物质都可以通过上调 MnSOD 的表达, 减少细胞内 ROS 生成, 提高细胞在氧化应激状态下的活性, 在维持 RPE 结构与功能正常方面发挥重要的作用^[22, 26]。由此可见, MnSOD 在视网膜氧化应激的保护方面扮演了重要的角色, 与 AMD 的发病密切相关。

3.3 人类 MnSOD 单核苷酸多态性与 AMD MnSOD 最常见的单核苷酸多态性位点位于密码子 16, 该位点的 T-C 转换使得缬氨酸转化为丙氨酸。研究表明, 由于丙氨酸型 MnSOD 的 α -螺旋结构替代了缬氨酸型 MnSOD 的 β -片层结构, 使其在转运进入线粒体时效率升高, 从而影响 MnSOD 的抗氧化应激功能^[27]。许多研究指出, 由单核苷酸多态性导致的 MnSOD 效率差异在多种疾病的发病过程中扮演重要角色, 包括 2 型糖尿病, 心血管疾病, 肿瘤等^[28]。

研究人员通过比较患者组和对照组特定位点的基因频率, 从遗传学角度分析 MnSOD 与 AMD 的关系。最早的报道来自于 Kimura 等^[29], 他们指出 MnSOD 线粒体靶向序列 Ala-9Val 位点中缬氨酸与丙氨酸之间的转换与 MnSOD 加工效率相关, 其中缬氨酸型人群的 MnSOD 转运至线粒体时更慢。在日本人群中的研究发现, AMD 患者组该位点的丙氨酸基因频率明显高于对照组, 从遗传方面证明了 MnSOD 与 AMD 之间的联系。随后 Kowalski 等^[30]对该位点进行的研究, 证实了 Kimura 的结论。然而后续针对该位点的研究中, 在日本人种的研究及西班牙人种的研究均否定了之前的结论^[31-33]。针对 rs2842992 位点与 AMD 的相关性在中国汉族人群中进行的研究^[34]以及针对 rs5474613 位点在日本人群中进行研究^[33]都没有证据表明该位点的单核苷酸多态性与 AMD 发病相关。MnSOD 与 AMD 在单核苷酸多态性方面的研究尚不全面, 由于不同个体内 ROS 的生成与其饮食, 体育锻炼以及其他环境因素关系密切。同时人种差异与筛选方法的不同, 基因型分型方法不同, 现有的几项研究得出的结论差异较大, MnSOD 单核苷酸多态性与 AMD 有无联系仍不能确定。鉴于 MnSOD 在 AMD 发病过程中的重要性, 仍然需要样本更大的基因分型方法更准确的对照试验来进一步确定 MnSOD 与 AMD 在单核苷酸多态性方面的联系。

4 展望

尽管 AMD 的发病机制尚未完全清楚, 氧化应激作为 AMD 的可能发病机制之一备受关注。研究表明氧化应激条件下引起的脉络膜、视网膜损伤, 感光细胞死亡, 与

AMD患者相似均可能表明氧化应激与AMD发病相关^[35-36]。因此,MnSOD可能作为AMD研究的一个新靶点,为AMD的发病机制研究及治疗提供一个新思路。

参考文献

- Jonas JB. Global prevalence of age-related macular degeneration. *Lancet Glob Health* 2014;2(2):e65-66
- Blasiak J, Petrovski G, Vereb Z, et al. Oxidative stress, hypoxia, and autophagy in the neovascular processes of age-related macular degeneration. *BioMed Res Int* 2014;2014:768026
- Behndig A, Svensson B, Marklund SL, et al. Superoxide dismutase isoenzymes in the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39(3):471-475
- Brose RD, Avramopoulos D, Smith KD. SOD2 as a potential modifier of X-linked adrenoleukodystrophy clinical phenotypes. *J Neurol* 2012;259(7):1440-1447
- Pourova J, Kottova M, Voprsalova M, et al. Reactive oxygen and nitrogen species in normal physiological processes. *Acta Physiol* 2010;198(1):15-35
- Powers SK, Duarte J, Kavazis AN, et al. Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. *Exper Physiol* 2010;95(1):1-9
- Zhang Z, Han S, Wang H, et al. Lutein extends the lifespan of *Drosophila melanogaster*. *Arch Gerontol Geriatr* 2014;58(1):153-159
- Flynn JM, Melov S. SOD2 in mitochondrial dysfunction and neurodegeneration. *Free Radic Biol Med* 2013;62:4-12
- Finkel T. Signal transduction by reactive oxygen species. *J Cell Biol* 2011;194(1):7-15
- Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal* 2012;24(5):981-990
- Da Costa LA, Badawi A, El-Soheby A. Nutrigenetics and modulation of oxidative stress. *Ann Nutr Metab* 2012;60 Suppl 3:27-36
- Tokarz P, Kaamiranta K, Blasiak J. Role of antioxidant enzymes and small molecular weight antioxidants in the pathogenesis of age-related macular degeneration (AMD). *Biogerontology* 2013;14(5):461-482
- Blasiak J, Glowacki S, Kauppinen A, et al. Mitochondrial and nuclear DNA damage and repair in age-related macular degeneration. *Int J Mol Sci* 2013;14(2):2996-3010
- Kaamiranta K, Sinha D, Blasiak J, et al. Autophagy and heterophagy dysregulation leads to retinal pigment epithelium dysfunction and development of age-related macular degeneration. *Autophagy* 2013;9(7):973-984
- Rabin DM, Rabin RL, Blenkinsop TA, et al. Chronic oxidative stress upregulates Drusen-related protein expression in adult human RPE stem cell-derived RPE cells: a novel culture model for dry AMD. *Aging* 2013;5(1):51-66
- Krohne TU, Stratmann NK, Kopitz J, et al. Effects of lipid peroxidation products on lipofuscinogenesis and autophagy in human retinal pigment epithelial cells. *Exper Eye Res* 2010;90(3):465-471
- Justilien V, Pang JJ, Renganathan K, et al. SOD2 knockdown mouse model of early AMD. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(10):4407-4420
- Mitter SK, Song C, Qi X, et al. Dysregulated autophagy in the RPE is associated with increased susceptibility to oxidative stress and AMD. *Autophagy* 2014;10(11):1989-2005
- Seo SJ, Krebs MP, Mao H, et al. Pathological consequences of long-term mitochondrial oxidative stress in the mouse retinal pigment

- epithelium. *Exper Eye Res* 2012;101:60-71
- Mao H, Seo SJ, Biswal MR, et al. Mitochondrial oxidative stress in the retinal pigment epithelium leads to localized retinal degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(7):4613-4627
- Yang D, Elner SG, Lin LR, et al. Association of superoxide anions with retinal pigment epithelial cell apoptosis induced by mononuclear phagocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(10):4998-5005
- Chang YC, Chang WC, Hung KH, et al. The generation of induced pluripotent stem cells for macular degeneration as a drug screening platform: identification of curcumin as a protective agent for retinal pigment epithelial cells against oxidative stress. *Front Aging Neurosci* 2014;6:191
- Saadat KA, Murakami Y, Tan X, et al. Inhibition of autophagy induces retinal pigment epithelial cell damage by the lipofuscin fluorophore A2E. *FEBS Open Bio* 2014;4:1007-1014
- Ambati J, Fowler BJ. Mechanisms of age-related macular degeneration. *Neuron* 2012;75(1):26-39
- Yang J, Li Y, Chan L, et al. Validation of genome-wide association study (GWAS)-identified disease risk alleles with patient-specific stem cell lines. *Hum Mol Genet* 2014;23(13):3445-3455
- Zhu C, Wang S, Wang B, et al. 17beta-Estradiol up-regulates Nrf2 via PI3K/AKT and estrogen receptor signaling pathways to suppress light-induced degeneration in rat retina. *Neuroscience* 2015;304:328-339
- Holley AK, Dhar SK, Xu Y, et al. Manganese superoxide dismutase: beyond life and death. *Amino Acids* 2012;42(1):139-158
- Bresciani G, Cruz IB, de Paz JA, et al. The MnSOD Ala16Val SNP: relevance to human diseases and interaction with environmental factors. *Free Radic Res* 2013;47(10):781-792
- Kimura K, Isashiki Y, Sonoda S, et al. Genetic association of manganese superoxide dismutase with exudative age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2000;130(6):769-773
- Kowalski M, Bielecka-Kowalska A, Oszajca K, et al. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene (Ala-9Val, Ile58Thr) polymorphism in patients with age-related macular degeneration (AMD). *Med Sci Monit* 2010;16(4):CR190-196
- Brion M, Sanchez-Salorio M, Corton M, et al. Genetic association study of age-related macular degeneration in the Spanish population. *Acta ophthalmologica* 2011;89(1):e12-22
- Gotoh N, Yamada R, Matsuda F, et al. Manganese superoxide dismutase gene (SOD2) polymorphism and exudative age-related macular degeneration in the Japanese population. *Am J Ophthalmol* 2008;146(1):146-147
- Kondo N, Bessho H, Honda S, et al. SOD2 gene polymorphisms in neovascular age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *Mol Vis* 2009;15:1819-1826
- Kan M, Liu F, Weng X, et al. Association study of newly identified age-related macular degeneration susceptible loci SOD2, MBP, and C8orf42 in Han Chinese population. *Diagn Pathol* 2014;9:73
- Liang FQ, Godley BF. Oxidative stress-induced mitochondrial DNA damage in human retinal pigment epithelial cells: a possible mechanism for RPE aging and age-related macular degeneration. *Exper Eye Res* 2003;76(4):397-403
- Thampi P, Rao HV, Mitter SK, et al. The 5HT1a receptor agonist 8-Oh DPAT induces protection from lipofuscin accumulation and oxidative stress in the retinal pigment epithelium. *PLoS one* 2012;7(4):e34468