

# 内质网应激在氧化低密度脂蛋白诱导的人 RPE 细胞凋亡中的作用

吴桐, 党宽荣, 苏静波, 吕葆真, 陆新婷, 惠延年, 杜红俊

引用: 吴桐, 党宽荣, 苏静波, 等. 内质网应激在氧化低密度脂蛋白诱导的人 RPE 细胞凋亡中的作用. 国际眼科杂志 2020; 20 (10): 1688-1692

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81470654); 陕西省自然科学基金资助项目 (No. 2019SF-047)

作者单位: (710032) 中国陕西省西安市, 空军军医大学西京医院眼科 全军眼科研究所

作者简介: 吴桐, 在读硕士研究生, 研究方向: 眼内新生血管性疾病。

通讯作者: 杜红俊, 毕业于第四军医大学, 眼科学博士, 副教授, 副主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 眼内新生血管性疾病. dhj2020@126.com

收稿日期: 2019-11-20 修回日期: 2020-09-09

## 摘要

目的: 观察内质网应激 (ERS) 在氧化低密度脂蛋白 (OxLDL) 诱导的人视网膜色素上皮 (RPE) 细胞凋亡中的作用。

方法: 人 RPE 细胞系 ARPE19 采用低糖 DMEM 培养基和 10% 胎牛血清进行常规培养。实验分为 3 组: 对照组 (常规培养的 ARPE19)、OxLDL 组 (加入 5、10、25、50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  OxLDL) 和 LDL 组 (加入 5、10、25、50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LDL) 培养 24h。分别采用细胞计数试剂盒 (CCK8) 检测各组细胞活性, 流式细胞仪检测凋亡比例, 蛋白质印迹 (Western blotting) 检测 ERS 相关蛋白及凋亡相关酶的表达。激光共聚焦显微镜观察人 RPE 细胞吞噬红色荧光探针 Dil 标记的氧化低密度脂蛋白 (Dil-OxLDL) 情况。

结果: CCK8 结果显示: 对照组细胞存活率为 (100  $\pm$  5.637)%, 加入 5、10、25、50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  OxLDL 后细胞活力分别为 (105.298  $\pm$  9.395)%, (97.106  $\pm$  5.417)%, (77.015  $\pm$  4.055)%, (67.613  $\pm$  3.853)% 和 (43.872  $\pm$  9.532)% ( $P < 0.05$ ); 加入 5、10、25、50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LDL 后细胞活力分别为 (97.55  $\pm$  6.217)%, (99.640  $\pm$  3.586)%, (90.495  $\pm$  2.786)%, (83.552  $\pm$  9.171)% 和 (90.910  $\pm$  1.429)% ( $P > 0.05$ )。流式细胞仪结果显示浓度为 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 OxLDL 会明显诱导细胞凋亡, 对照组、OxLDL 组 (25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 和 LDL (25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 组凋亡率分别是 (5.271  $\pm$  0.519)%, (41.23  $\pm$  1.686)% 和 (13.07  $\pm$  2.579)% ( $P < 0.01$ ); Western blotting 结果显示 OxLDL (25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 组的 ERS 相关蛋白和凋亡相关酶的表达量明显高于对照组与 LDL 组 (Caspase-12:  $F = 50.53$ ,  $P < 0.05$ ; GRP78:  $F = 55.60$ ,  $P < 0.05$ ; CHOP:  $F = 38.22$ ,  $P < 0.05$ ; XBP-1:  $F = 53.94$ ,  $P < 0.05$ ; ATF6:  $F = 20.01$ ,  $P < 0.05$ ), 而 LDL 组 (25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 和对照组之间无差异 ( $P > 0.05$ )。

结论: ERS 参与了 OxLDL 诱导的人 RPE 细胞凋亡, 调控

ERS 可能抑制人 RPE 细胞凋亡, 从而治疗 RPE 细胞凋亡相关疾病。

关键词: 年龄相关性黄斑变性; 视网膜色素上皮; 氧化应激; 内质网应激; 凋亡

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2020.10.05

## Role of endoplasmic reticulum stress in retinal pigment epithelial cell apoptosis induced by oxidized low-density

Tong Wu, Kuan-Rong Dang, Jing-Bo Su, Bao-Zhen Lyu, Xin-Ting Lu, Yan-Nian Hui, Hong-Jun Du

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 81470654); Natural Science Foundation of Shaanxi Province (No. 2019SF-047)

Eye Institute of PLA; Department of Ophthalmology, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Hong-Jun Du. Eye Institute of PLA; Department of Ophthalmology, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China. dhj2020@126.com

Received: 2019-11-20 Accepted: 2020-09-09

## Abstract

• AIM: To investigate the role of endoplasmic reticulum stress (ERS) in oxidized low-density lipoprotein (OxLDL) induced retinal pigment epithelium (RPE) cells apoptosis.

• METHODS: The human RPE cell line ARPE19 was cultured in low glucose DMEM medium with 10% fetal bovine serum. Experiments were divided into three groups: control group (normal cultured ARPE19), OxLDL group (with 5, 10, 25, 50, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of OxLDL), and LDL group (with 5, 10, 25, 50, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of OxLDL) and cultured 24h. The CCK8 kit (Cell Counting Kit-8) was used to detect cell activity, the flow cytometry was used to detect the percentage of apoptosis and the Western blotting was used to detect the expression of ERS-related proteins and apoptosis-related enzymes. The confocal microscope was used to observe the phagocytosis of Dil-labeled OxLDL (Dil-OxLDL) in RPE cells.

• RESULTS: The results of CCK8 showed that when compared with control group, with cell viability of (100  $\pm$  5.637)%, different concentrations (5, 10, 25, 50, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) of OxLDL could change cell viability significantly ( $F =$

41.20,  $P < 0.05$ ), and cell viability of each group was ( $105.298 \pm 9.395$ )%, ( $97.106 \pm 5.417$ )%, ( $77.015 \pm 4.055$ )%, ( $67.613 \pm 3.853$ )% and ( $43.872 \pm 9.532$ )%; However, the same concentrations (5, 10, 25, 50, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) of LDL treatment had no influence on cell viability ( $P > 0.05$ ), and the cell viability changes were ( $97.55 \pm 6.217$ )%, ( $99.640 \pm 3.586$ )%, ( $90.495 \pm 2.786$ )%, ( $83.552 \pm 9.171$ )% and ( $90.910 \pm 1.429$ )% respectively. Flow cytometry results showed that OxLDL with concentrations higher than  $25\mu\text{g}/\text{mL}$  could induce apoptosis apparently. The apoptosis rates of the blank group, the OxLDL ( $25\mu\text{g}/\text{mL}$ ) group, and the LDL ( $25\mu\text{g}/\text{mL}$ ) group were ( $5.271 \pm 0.519$ )%, ( $41.23 \pm 1.686$ )% and ( $13.07 \pm 2.579$ )% respectively, and the differences among them were statistically significant ( $F = 329.8$ ,  $P < 0.01$ ); The Western blotting results showed that the expression levels of ERS-related proteins and apoptosis-related enzymes in the OxLDL ( $25\mu\text{g}/\text{mL}$ ) group were significantly higher than those in the control group and the LDL group (Caspase-12:  $F = 50.53$ ,  $P < 0.05$ ; GRP78:  $F = 55.60$ ,  $P < 0.05$ ; CHOP:  $F = 38.22$ ,  $P < 0.05$ ; XBP-1:  $F = 53.94$ ,  $P < 0.05$ ; ATF6:  $F = 20.01$ ,  $P < 0.05$ ), while there was no difference between the control group and the LDL group ( $P > 0.05$ ).

• **CONCLUSION:** ERS is involved in the apoptosis of RPE cells induced by OxLDL, and regulating ERS may achieve the purpose of inhibiting RPE cell apoptosis and thus treating RPE apoptosis-related diseases.

• **KEYWORDS:** age-related macular degeneration; retinal pigment epithelium; oxidative stress; endoplasmic reticulum stress; apoptosis

**Citation:** Wu T, Dang KR, Su JB, *et al.* Role of endoplasmic reticulum stress in retinal pigment epithelial cell apoptosis induced by oxidized low-density. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020; 20 (10): 1688-1692

## 0 引言

年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, ARMD) 是老年人不可逆盲的最主要原因。按照病理变化不同, ARMD 可以分为干性和湿性两种类型。干性 ARMD 的主要病理改变之一是视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞的凋亡和由此导致的感光细胞死亡, 而氧化应激损伤是主要原因<sup>[1]</sup>。内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS) 是近年来发现的一种新的凋亡机制, 它通过影响细胞内促存活和促凋亡途径相关基因的表达, 维持细胞内代谢平衡, 以及 PERK-eIF2-ATF4-CHOP、IRE1-XBP1 和 ATF6 三种经典的信号途径发挥作用<sup>[2]</sup>。既往研究中已证实氧化低密度脂蛋白 (oxidized low-density lipoprotein, OxLDL) 可引起 RPE 细胞凋亡, 但其参与凋亡的具体机制以及 ERS 是否参与其中尚不明确<sup>[3-4]</sup>。本研究采用不同浓度的 OxLDL 作用于人 RPE 细胞, 观察对细胞活力和凋亡的影响, 同时观察 ERS 相关蛋白及凋亡相关酶的变化, 探讨 ERS 在 OxLDL 诱发的人 RPE 细胞凋亡中的作用和机制。

## 1 材料和方法

1.1 材料 人 RPE 细胞系 ARPE19 (中国科学院细胞库)、胎牛血清 (Hyclone, 澳大利亚)、低糖 DMEM (Corning, 美

国)、胰酶 (Gibco, 美国)、青霉素/链霉素 (Gibco, 美国)、OxLDL、LDL、DiI-OxLDL (翊圣生物, 中国)、Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡双染试剂盒 (碧云天, 中国)、CCK8 (七海生物, 中国)、BCA 蛋白定量试剂盒、小鼠源 Caspase-12 抗体、小鼠源  $\beta$ -actin 抗体 (CST, 美国)、兔源 CHOP 抗体、兔源 GRP78 抗体、兔源 XBP-1 抗体、兔源 ATF6 抗体 (Proteintech, 中国)、兔源 RPE65 抗体 (Abcam, 美国)、Alexa Fluor 488 标记的山羊抗兔 IgG 二抗、辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的山羊抗小鼠 IgG 二抗、HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗 (翊圣生物, 中国)、DAPI (Invitrogen, 美国)、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒 (碧云天, 中国)、ECL 超敏发光底物 (四正柏, 中国)。主要仪器设备: CO<sub>2</sub> 培养箱 (上海力申科学仪器)、倒置显微镜 (Olympus, 日本)、FSX100 荧光显微镜 (Olympus, 日本)、SDS-PAGE 电泳仪、电泳槽及化学发光仪 (Bio-Rad, 美国)、流式细胞仪 (Becton-Dickinson, 美国)。

## 1.2 方法

1.2.1 细胞培养 ARPE19 采用低糖 DMEM 培养基 (含 10% 胎牛血清、 $1 \times 10^5$  U/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素) 在 37°C、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度的培养箱中常规培养。取生长状态良好的细胞进行后续实验。

1.2.2 RPE 细胞吞噬检测 将对数生长期的 ARPE19 接种于 24 孔板细胞爬片, 常规培养至 50% 融合状态后, 加入  $25\mu\text{g}/\text{mL}$  红色荧光探针 DiI 标记的 OxLDL (DiI-OxLDL) 培养 8h, 4% PFA 固定后免疫荧光染色, 加入 RPE65 抗体 4°C 过夜, 洗涤后与 Alexa Fluor 488 标记的山羊抗兔 IgG 二抗室温孵育 2h, DAPI 染色并封片。使用激光共聚焦显微镜观察 RPE 细胞吞噬 DiI-OxLDL 情况并拍照。

1.2.3 实验分组和细胞活力测定 将对数生长期的 ARPE19 接种于 96 孔细胞培养板, 实验分为 (1) 对照组: 完全培养基常规培养; (2) OxLDL 组: 完全培养基中加入不同浓度 (5、10、25、50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) OxLDL; (3) LDL 组: 完全培养基中加入不同浓度 (5、10、25、50、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) LDL。根据我组前期实验方法<sup>[5]</sup>, 继续培养 24h 后收集细胞, 采用 CCK8 法评价 OxLDL 对细胞活力的影响。各组细胞活力以其吸光度 (optical density, OD) 值占正常对照组 OD 值的百分比表示, 公式为: 细胞存活率 (%) =  $[(As - Ab) / (Ac - Ab)] \times 100\%$ ; As: 实验孔吸光度 (含细胞、培养基、CCK8 溶液和 OxLDL/LDL); Ac: 对照孔吸光度 (含细胞、培养基、CCK8 溶液, 不含药物); Ab: 空白孔吸光度 (含培养基、CCK8 溶液, 不含细胞、药物)。

1.2.4 Annexin V-FITC/PI 双染色法检测细胞凋亡 根据文献报道<sup>[6-7]</sup>, 采用  $25\mu\text{g}/\text{mL}$  的 OxLDL 处理人 RPE 细胞 24h 后, 收集细胞重悬于 500  $\mu\text{L}$  上样缓冲液, 与 Annexin V-FITC 和 PI 各 5  $\mu\text{L}$  室温避光孵育 15min, 然后采用流式细胞仪 (Becton-Dickinson, 美国) 分析测定细胞凋亡率。细胞总细胞凋亡率 (%) = 早期凋亡率 (Annexin V+/PI-) + 晚期凋亡率 (Annexin V+/PI+)。

1.2.5 Western blotting 分析 根据 CCK8 实验结果所选浓度, 将细胞分为对照组、OxLDL 组 ( $25\mu\text{g}/\text{mL}$ )、LDL 组 ( $25\mu\text{g}/\text{mL}$ )。按照本实验室报道的方法<sup>[8]</sup> 提取蛋白, 等量的各组总蛋白经 SDS-PAGE 凝胶电泳分离后转移到 PVDF 膜上, 经封闭、洗涤后加入一抗小鼠源 Caspase-12

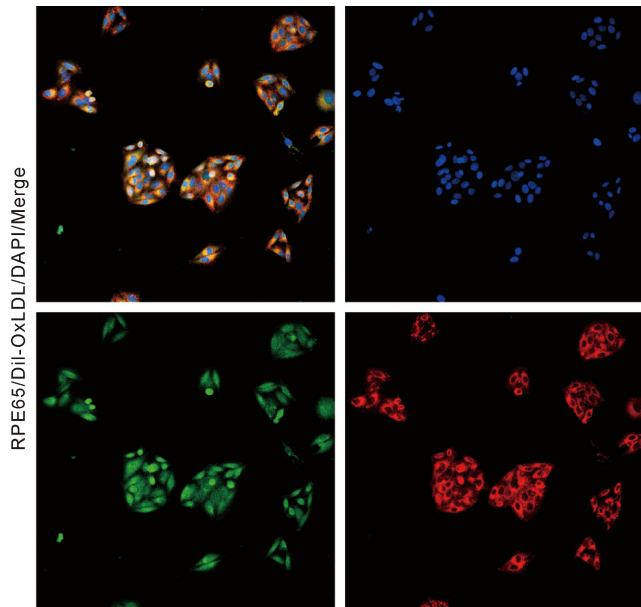


图1 RPE细胞吞噬 Dil-OxLDL 细胞免疫荧光染色结果 ( $\times 200$ ) Merge 图像为共定位;蓝色为 DAPI 染细胞核;绿色荧光为 RPE65;红色荧光为吞噬的 Dil-OxLDL。

抗体(1:1000)、兔源 CHOP 抗体(1:1000)、兔源 GRP78 抗体(1:1000)、兔源 XBP-1 抗体(1:1000)、兔源 ATF6 抗体(1:1000)、小鼠源  $\beta$ -actin 抗体(1:1000), $4^{\circ}\text{C}$  过夜, $\beta$ -actin 作为内参。洗膜后与 HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 二抗、HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗室温孵育 2h。抗原-抗体复合物以 ECL 发光底物显示,应用化学发光成像仪(美国 Bio-Rad 公司, Bio-Rad ChemiDoc XRS+型)采集图像,用 Image J 软件分析蛋白条带灰度值,以靶蛋白灰度值/ $\beta$ -actin 灰度值的比值反应靶蛋白相对水平。

统计学分析:采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,数据使用均数 $\pm$ 标准差表示。多个样本均数之间的比较采用单因素方差分析,组间比较采用 LSD-*t* 检验。双侧检验以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 RPE 细胞吞噬 OxLDL 情况** 激光共聚焦显微镜观察结果显示,细胞 RPE65 染色阳性,细胞内可见大量吞噬的 Dil-OxLDL,证明 OxLDL 可被 RPE 吞噬而进入细胞,发挥进一步作用,见图 1。

**2.2 CCK8 检测细胞活力结果** 对照组细胞活力为( $100 \pm 5.637$ )%,与对照组比较, OxLDL 组经 5、10、25、50 和  $100 \mu\text{g}/\text{mL}$  处理 24h 后细胞活力分别为 ( $105.298 \pm 9.395$ )%、( $97.106 \pm 5.417$ )%、( $77.015 \pm 4.055$ )%、( $67.613 \pm 3.853$ )% 和 ( $43.872 \pm 9.532$ )%,各组之间比较差异有统计学意义( $F = 38.45, P < 0.05$ ),与对照组相比, 25、50 和  $100 \mu\text{g}/\text{mL}$  OxLDL 组差异有统计学意义(均  $P < 0.05$ ),即 OxLDL 在低浓度( $< 25 \mu\text{g}/\text{mL}$ )时不影响细胞活力,而高浓度时( $> 25 \mu\text{g}/\text{mL}$ )则可降低细胞的活力( $P < 0.05$ )。而 5、10、25、50 和  $100 \mu\text{g}/\text{mL}$  LDL 处理 24h 对细胞活力无影响,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),各组细胞活力分别为 ( $97.55 \pm 6.217$ )%、( $99.640 \pm 3.586$ )%、( $90.495 \pm 2.786$ )%、( $83.552 \pm 9.171$ )% 和 ( $90.910 \pm 1.429$ )%,见图 2。

**2.3 Annexin V-FITC/PI 双染色法检测细胞凋亡情况** 因浓度大于  $25 \mu\text{g}/\text{mL}$  的 OxLDL 会降低细胞活力,因此我

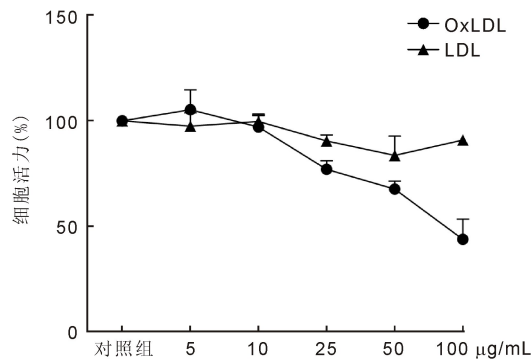


图2 CCK8 检测各组细胞活力。

们采用  $25 \mu\text{g}/\text{mL}$  处理 RPE 细胞, Annexin V-FITC/PI 染色和流式细胞仪检测细胞凋亡水平,结果显示:对照组、OxLDL 组和 LDL 组凋亡率分别是 ( $5.271 \pm 0.519$ )%、( $41.23 \pm 1.686$ )% 和 ( $13.07 \pm 2.579$ )%,差异有统计学意义( $F = 329.8, P < 0.01$ )。且 OxLDL 组相比 LDL 组和对照组,以及 LDL 组相比对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 3。

**2.4 Western blotting 检测 ERS 相关蛋白表达结果** 对照组、OxLDL 组、LDL 组 5 种 ERS 相关蛋白的表达水平差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。OxLDL 组 ERS 相关蛋白表达均高于对照组和 LDL 组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1,图 4。

## 3 讨论

ARMD 是视网膜黄斑区的一种慢性退行性病变,在临床上主要分为干性(萎缩型)和湿性(渗出或出血型)两种。其中干性 ARMD 占确诊病例的 80% 以上,其主要特征是早期玻璃膜疣(drusen)的形成、RPE 细胞的变性死亡和由此引起的视网膜外屏障破坏、感光细胞的死亡,进而造成严重的视力损伤。而在此过程中,年龄引起的黄斑部的氧化应激起着重要作用<sup>[9-11]</sup>。随着 RPE 细胞的衰老和感光细胞的更新,RPE 细胞消化 OxLDL 的能力降低,过多的 OxLDL 在 RPE 细胞内堆积,细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)和非自由基物质增加,最终导致了 RPE 细胞的死亡<sup>[12-13]</sup>。临床试验已经证明服用抗氧化剂可以减小 ARMD 进展的风险,这也证明了氧化应激在 ARMD 发病中的关键作用<sup>[14-15]</sup>。

细胞凋亡是细胞死亡方式的一种程序性,通常和早期疾病的发生密切相关。经典的细胞凋亡通路包括:死亡受体活化(外源性)途径即细胞表面死亡受体接受胞外死亡信号而激活细胞内的凋亡;线粒体损伤(内源性)途径即线粒体通过释放凋亡诱导因子(apoptosis-inducing factor, AIF)等激活 Caspase 通路导致细胞凋亡。而 ERS 引起的凋亡是近年来发现的一种新的凋亡方式。内质网是膜相关蛋白和分泌蛋白折叠和组装的主要细胞内位点。内质网功能障碍可导致蛋白质折叠能力落后于蛋白质折叠负荷。大量错误折叠的蛋白质给内质网带来压力,进而导致细胞凋亡<sup>[16-17]</sup>。ERS 主要有 PERK-eIF2-ATF4-CHOP、IRE1-XBP1 和 ATF6 三种经典的信号途径参与,其中后两个途径主要调控内质网伴侣蛋白,例如 GRP78,从而增加了蛋白质折叠的能力<sup>[18]</sup>。虽然 PERK 的早期激活增加了 eIF2 $\alpha$  的磷酸化,降低了蛋白质翻译速率,从而使内质网

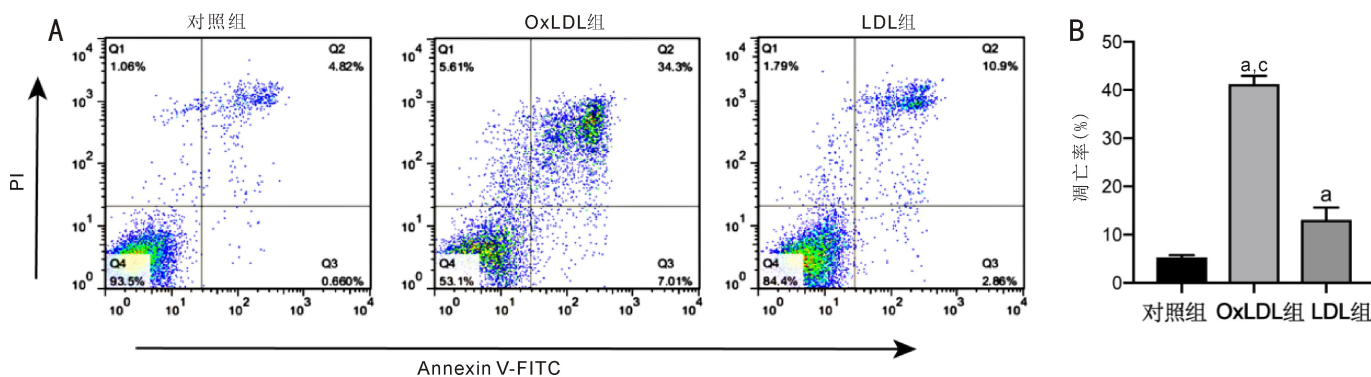


图3 流式细胞仪检测各组细胞凋亡率 A:细胞凋亡流式图;B:细胞凋亡率统计图;<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组;<sup>c</sup> $P < 0.05$  vs LDL组。

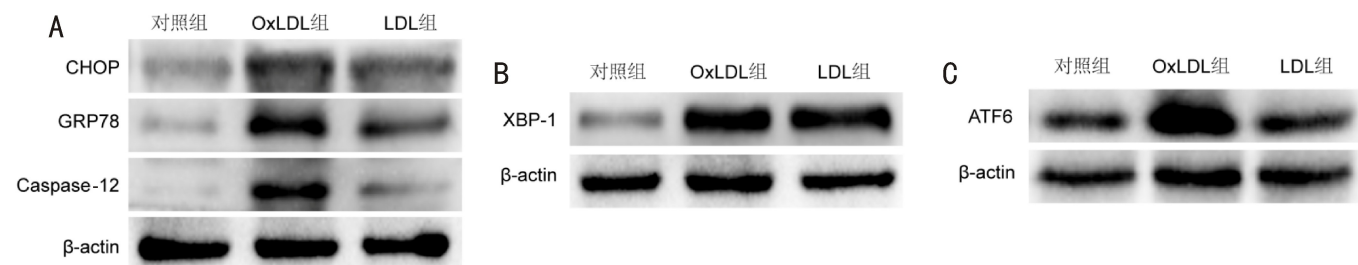


图4 Western blotting 检测 ERS 相关蛋白表达结果 A:各组细胞中 CHOP、GRP78 和 Caspase-12 蛋白表达结果;B:各组细胞中 XBP-1 蛋白表达结果;C:各组细胞中 ATF6 蛋白表达结果。

表1 各组中 CHOP、GRP78、Caspase-12、XBP-1 和 ATF6 蛋白表达情况

组别	Caspase-12	GRP78	CHOP	XBP-1	ATF6
对照组	0.403±0.014	0.427±0.058	0.575±0.073	0.538±0.072	0.778±0.105
OxLDL 组	1.068±0.114 <sup>a,c</sup>	1.035±0.111 <sup>a,c</sup>	1.016±0.097 <sup>a,c</sup>	1.125±0.121 <sup>a,c</sup>	1.281±0.137 <sup>a,c</sup>
LDL 组	0.625±0.084	0.851±0.009 <sup>a</sup>	0.867±0.033 <sup>a</sup>	1.190±0.042 <sup>a</sup>	0.902±0.032
F	50.53	55.60	38.22	53.94	20.01
P	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组;<sup>c</sup> $P < 0.05$  vs LDL组。

从压力中恢复。但持续的 ERS 会激活 PERK 通路的下游因子 CHOP,导致细胞凋亡和死亡<sup>[19-20]</sup>。

以往有研究证实 OxLDL 可通过激活 ERK-Bax/Bcl-2 信号通路导致 RPE 细胞凋亡<sup>[3]</sup>,但 ERS 是否参与尚未见文献报道。本研究结果显示,浓度大于 25μg/mL 的 OxLDL 作用于 RPE 细胞可引起细胞活力降低。进一步通过 Annexin V-FITC/PI 染色和流式细胞仪检测发现,OxLDL 处理组的 RPE 细胞凋亡比例增加。Western blotting 检测结果显示凋亡相关酶 Caspase-12 在 OxLDL 作用下表达增加同时 ERS 相关蛋白 CHOP、GRP78、XBP-1 和 ATF6 表达上调。提示除了经典的凋亡通路,OxLDL 还可以通过 ERS 途径引起 RPE 细胞凋亡。

综上所述,本次研究证实一定浓度 OxLDL 可通过 ERS 途径导致 RPE 细胞凋亡,而通过调控 ERS 减少 RPE 细胞凋亡可能达到控制 ARMD 进展的目的。

#### 参考文献

- 1 Chew EY, Clemons TE, Agron E, et al. Ten-year follow-up of age-related macular degeneration in the age-related eye disease study: AREDS report no. 36. *JAMA Ophthalmol* 2014; 132(3): 272-277
- 2 Wang M, Kaufman RJ. Protein misfolding in the endoplasmic reticulum as a conduit to human disease. *Nature* 2016; 529(7586): 326-335
- 3 Yating Q, Yuan Y, Wei Z, et al. Oxidized LDL induces apoptosis of human retinal pigment epithelium through activation of ERK-Bax/Bcl-2

signaling pathways. *Curr Eye Res* 2015; 40(4): 415-422

4 AnandBabu K, Sen P, Angayarkanni N. Oxidized LDL, homocysteine, homocysteine thiolactone and advanced glycation end products act as pro-oxidant metabolites inducing cytokine release, macrophage infiltration and pro-angiogenic effect in ARPE-19 cells. *PLoS One* 2019; 14(5): 1-14

5 Wu T, Dang KR, Wang YF, et al. A modified laser-induced choroidal neovascularization animal model with intravitreal oxidized low-density lipoprotein. *Int J Ophthalmol* 2020; 13(8): 1187-1194

6 Hoppe G, Marmorstein AD, Pennock EA, et al. Oxidized low density lipoprotein-induced inhibition of processing of photoreceptor outer segments by RPE. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42(11): 2714-2720

7 Cho K, Choi SH. ASK1 Mediates Apoptosis and Autophagy during oxLDL-CD36 Signaling in Senescent Endothelial Cells. *Oxid Med Cell Longev* 2019; (2019): 1-10

8 Xu W, Wu Y, Hu Z, et al. Exosomes from Microglia Attenuate Photoreceptor Injury and Neovascularization in an Animal Model of Retinopathy of Prematurity. *Mol Ther Nucleic Acids* 2019; 16:778-790

9 Hanus J, Kolkin A, Chimienti J, et al. 4-Acetoxyphenol Prevents RPE Oxidative Stress-Induced Necrosis by Functioning as an NRF2 Stabilizer. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56(9): 5048-5059

10 Shaw PX, Stiles T, Douglas C, et al. Oxidative stress, innate immunity, and age-related macular degeneration. *AIMS Mol Sci* 2016; 3(2): 196-221

11 Colak E, Zoric L, Radosavljevic A, *et al.* The Association of Serum Iron-Binding Proteins and the Antioxidant Parameter Levels in Age-Related Macular Degeneration. *Curr Eye Res* 2018;43(5): 659-665

12 van Lookeren Campagne M, LeCouter J, Yaspan BL, *et al.* Mechanisms of age-related macular degeneration and therapeutic opportunities. *J Pathol* 2014; 232(2): 151-164

13 Li KR, Yang SQ, Gong YQ, *et al.* 3H-1,2-dithiole-3-thione protects retinal pigment epithelium cells against Ultra-violet radiation via activation of Akt-mTORC1-dependent Nrf2-HO-1 signaling. *Sci Rep* 2016; 6:1-13

14 Wang K, Zheng M, Lester KL, *et al.* Light-induced Nrf2(-/-) mice as atrophic age-related macular degeneration model and treatment with nanoceria laden injectable hydrogel. *Sci Rep* 2019; 9(1): 1-12

15 McCusker MM, Durrani K, Payette MJ, *et al.* An eye on nutrition;

The role of vitamins, essential fatty acids, and antioxidants in age-related macular degeneration, dry eye syndrome, and cataract. *Clin Dermatol* 2016; 34(2): 276-285

16 Yoshida H. ER stress and diseases. *Febs J* 2007; 274(3): 630-658

17 Hetz C, Papa FR. The Unfolded Protein Response and Cell Fate Control. *Mol Cell* 2018; 69(2): 169-181

18 Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science* 2011; 334(6059): 1081-1086

19 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

20 Chen X, Zhong J, Dong D, *et al.* Endoplasmic Reticulum Stress-Induced CHOP Inhibits PGC-1alpha and Causes Mitochondrial Dysfunction in Diabetic Embryopathy. *Toxicol Sci* 2017; 158(2): 275-285

## 中国科技核心期刊眼科学类期刊主要指标及排名

刊名	核心总被引频次		核心影响因子		综合评价总分	
	数值	排名	数值	排名	数值	排名
中华眼科杂志	1891(3036)	2(2)	0.954(1.191)	1(4)	71.5	1
眼科新进展	1428(2775)	3(3)	0.902(1.656)	2(1)	65.3	2
中华实验眼科杂志	1021(1721)	4(4)	0.775(1.292)	3(3)	49.9	3
<b>国际眼科杂志</b>	<b>2257(5484)</b>	<b>1(1)</b>	<b>0.628(1.628)</b>	<b>5(2)</b>	<b>49.3</b>	<b>4</b>
中华眼科医学杂志电子版	108	10	0.340	10	48.0	5
中华眼底病杂志	843	5	0.668	4	45.4	6
临床眼科杂志	467	7	0.470	6	33.9	7
中华眼视光学与视觉科学杂志	579	6	0.448	7	24.8	8
眼科	404	8	0.412	9	23.5	9
中国斜视与小儿眼科杂志	253	9	0.448	7	18.0	10

摘编自 2019 版《中国科技期刊引证报告》核心版和扩展版(括号里面为扩展版的统计指标)