

膜攻击复合物在年龄相关性黄斑变性中致病作用的研究进展

杨 伟, 吴绵绵, 孙 靖, 张 琰, 张 红

(天津医科大学眼科医院, 天津医科大学眼科研究所, 天津医科大学眼视光学院, 天津 300384)

摘要: 年龄相关性黄斑变性 (age-related macular degeneration, AMD) 是老年人视力不可逆性丧失的最常见眼科疾病, 非渗出性约占 90%, 渗出性约占 10%。AMD 的病因和机制复杂, 已有研究表明, 免疫补体的调节失衡与 AMD 发生密切相关。“地图状萎缩斑”是非渗出性 AMD 的特征, 同时伴随着视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞的凋亡和丢失, 以及感光细胞的萎缩变性。脉络膜新生血管 (choroidal neovascularization, CNV) 是渗出性 AMD 最明显的特征。膜攻击复合物 (membrane attack complex, MAC) 是补体系统激活的最终产物。近年来的研究发现其在 AMD 的发展中扮演着重要角色。本文将对 MAC 与 RPE 的萎缩凋亡、CNV 形成的关系, 以及通过抑制 MAC 沉积治疗渗出性和非渗出性 AMD 的研究进展加以综述, 为 AMD 的研究、治疗开辟新思路。

关键词: 眼科学; 年龄相关性黄斑变性; 综述; 膜攻击复合物; 免疫补体; 脉络膜新生血管

中图分类号: R774.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-2850(2019)01-0132-08

Research advances on the role of membrane attack complex in the pathogenesis of age-related macular degeneration

YANG Wei, WU Mianmian, SUN Jing, ZHANG Yan, ZHANG Hong

(Tianjin Medical University Eye Hospital, Tianjin Medical University Eye Institute, School of Optometry and Ophthalmology, Tianjin Medical University, Tianjin 300384, China)

Abstract: Age-related macular degeneration (AMD) is the leading ophthalmological disease in irreversible loss of vision among the elderly. Approximately 90% of AMD patients suffer from non-exudative form of AMD, and the remaining AMD patients suffer from exudative form of AMD. The cause and mechanism of AMD is very complex, but numerous study indicate that the imbalance regulation of complement has an intimated relationship with AMD. “Geographic atrophy” is the feature of non-exudative AMD, with the loss and apoptosis of retinal pigment epithelium (RPE) cells and the atrophy and degeneration of photoreceptors. Choroidal neovascularization (CNV) is the foremost feature of exudative AMD. Membrane attack complex (MAC) is the final product of the activated complement cascade. Recently study has found that MAC plays an important role in the development of AMD. In this article, we will review the relationship between MAC and the apoptosis of RPE, the formation of CNV, and the study progress of inhibiting the deposition of MAC to treat exudative and non-exudative AMD, in order to explore a new thought for the therapy of AMD and its application.

Key words: ophthalmology; age-related macular degeneration; review; membrane attack complex; immune complement; choroidal neovascularization

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金 (20111202110009); 天津市高等学校科技发展基金项目 (20120128)

作者简介: 杨伟 (1990—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向: 眼底病

通信联系人: 张红, 主任医师, 主要研究方向: 白内障. E-mail: tmuechong@126.com

0 引言

AMD 是老年人视力不可逆性丧失最常见的眼科疾病之一,是导致 50 岁以上人群中视力丧失的主要原因^[1-5],其中 70 岁以上人群占到三分之一^[6]。非渗出性 AMD 约占 90%,渗出性 AMD 约占 10%。非渗出性 AMD,又称萎缩性 AMD,是由于 RPE 层与 Bruch's 膜之间脂蛋白物的沉积与玻璃膜疣的产生,导致玻璃膜处的 RPE 层与 Bruch's 膜等发生萎缩变性,产生地图状萎缩,形成了萎缩性 AMD。萎缩性 AMD 也可引起 Bruch's 膜内胶原增厚和后弹力层破裂。随后,新生血管从脉络膜增殖并可通过破裂处侵入视网膜下,形成 CNV^[7]。由于新生的血管壁发育不成熟,出现渗漏导致黄斑部水肿,进而形成渗出性 AMD。因此,CNV 与黄斑水肿是渗出性 AMD 的特征性表现。大部分渗出性 AMD 是由非渗出性 AMD 发展而来的。由于非渗出性 AMD 发生较早,大多就诊较晚,目前尚无有效的治疗手段。而临床上常用血管内皮增生抑制剂雷珠单抗等治疗渗出性 AMD^[8],但其并不能阻止 AMD 的进展。

AMD 的病因复杂,炎症^[9]与吸烟^[10]参与其发生发展,并可能与氧化应激有关,但具体的机制目前尚未完全清楚。近年来的研究表明,多种补体蛋白、补体激活剂和抑制剂与 AMD 的发生发展密切相关^[11],可能是因为补体的激活和抑制失衡所致。而 MAC 是补体激活途径的终产物,通过与细胞膜的结合引起细胞溶解^[12-13]。因此,MAC 可能是 AMD 发生发展过程中的关键组成部分,可以通过抑制 MAC 的形成来抑制补体激活,从而抑制补体激活对 AMD 发生发展的促进作用。

1 膜攻击复合物

1.1 MAC 的结构与形成

MAC 是补体激活的终产物,由补体激活途径的 5 个终末补体蛋白: C5b、C6、C7、C8 和 C9 所构成^[14],通过在靶细胞膜上产生 MAC 通道,破坏细胞磷脂双分子层,导致靶细胞的溶解,从而发挥免疫作用^[15]。抗原抗体复合物及细胞毒素等可激活补体经典途径与旁路途径,随后形成 C5 转化酶。在 C5 转化酶的作用下,C5 被不可逆地水解成蛋白片段 C5a 和 C5b^[16],C5a 促进炎症反应,而 C5b 则构成 MAC 支架^[17-19]。C5b 与 C6、C7、C8 共同形成 C5b678 复合物。MAC 的形成开始于 C5b678 复合物插入到细胞膜表面,随后 C5b 再与多个 C9 聚合^[20],最终形成 MAC。MAC 进而插入细胞膜中形成 MAC 通道,从而引起细胞溶解破坏。

1.2 MAC 的作用

MAC 是补体激活的最终产物,其可以插入病原体及自体细胞膜表面形成 MAC 孔道,即“渗漏斑”,从而使病原体和自体细胞发生溶解破坏。但正常机体可以表达 CD59 与 CD46 等补体调节蛋白,因而可以阻止 MAC 对自体细胞的溶解损害^[21],而其他病原体不能表达这些补体调节蛋白,随后病原体发生溶解,机体产生免疫清除作用。高水平的 MAC 沉积可以引起细胞的溶解^[22];而低水平的 MAC 沉积则促进细胞有丝分裂和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等细胞因子的表达^[23-24]。

1.3 MAC 与 AMD 的关系

RPE 细胞的凋亡和 Bruch's 膜的玻璃疣沉积是早期 AMD 患者的基本病理改变^[25-27]。玻璃疣是由多种具有氧化性质的物质混合而成,包括脂类、蛋白和细胞碎片等^[28],其中包含大量的淀粉样蛋白、凝血因子和补体成分。地图状萎缩是进展期 AMD 患者的表现,以 RPE 细胞的持续性萎缩、丢失,以及感受器细胞的变性为其特征^[29],此种病变属于非渗出性 AMD。补体介导的细胞损伤作用在 AMD 病变进展中的角色不容忽视。研究表明,在 Bruch's 膜和 RPE 处,补体调节蛋白和 MAC 的浓度增高^[9,30-32]。EBRAHIMI 等^[33]

发现进展期 AMD 患者 RPE 细胞上 CD59 和 CD46 的表达水平下降;早期 AMD 患者中,紧邻玻璃疣的异形 RPE 细胞 CD46 的表达水平比玻璃疣外 RPE 细胞的表达水平减少,而且随着玻璃疣的增大,CD46 的基线逐渐消失。在正常对照眼的黄斑部和外围部 PRE,以及早期 AMD 患者的外围部 RPE,CD59 呈低表达;而早期 AMD 患者黄斑形态尚正常的 RPE 处,CD59 表达水平增高,此为补体刺激所引起的保护性 CD59 高表达反应。然而,玻璃疣覆盖处的异形 RPE 细胞中,CD59 的表达水平较形态尚正常的外围 RPE 细胞低,萎缩斑及萎缩斑边缘尚且正常的 RPE 细胞所表达的 CD59 水平也下降。由于补体调节蛋白的下调会导致 MAC 对自体细胞的损害。因此,可以认为 CD46 和 CD59 的下调引起了 MAC 对自身 RPE 细胞的损害,导致了 RPE 细胞的凋亡与丢失,加速了 AMD 病情的发展。

炎症与血管再生的发生相关,而补体参与的具体作用尚不清楚,但有证据表明补体在 AMD 发生发展中起着关键作用^[34]。补体调节蛋白控制补体激活的级联放大作用^[35]。已有实验表明补体调节蛋白的缺乏会导致动物 CNV 的发展^[36-37]。MAC 可以促使各种有核细胞释放成纤维细胞生长因子(β -fibroblast growth factor, β -FGF)^[24,38]、血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)^[22]和 VEGF^[39]等,这可能是 MAC 引起病理性新生血管形成的机制之一。BORA 等^[40]通过激光诱导 C57BL/6 小鼠 CNV 发现,激光模型组小鼠 CNV 的发生率为 98%,CNV 处可见 MAC 的沉积,VEGF、 β -FGF、PDGF 等表达均明显增加;而用蛇毒因子(cobra venom factor, CVF)耗竭补体的小鼠中 CNV 发生率仅为 3%,且血清总补体溶血活性水平明显下降,表明补体失活,CNV 处也未见 MAC 的沉积,VEGF、 β -FGF、PDGF 等均在基础表达水平。抗 C6 抗体可抑制 C6 的产生从而可以阻断 MAC 的形成。用抗 C6 抗体治疗组小鼠的 CNV 比 IgG 对照组也明显减少。此外,CASHMAN 等^[41]在激光诱导的 CNV 小鼠模型视网膜激光斑处也发现有 MAC 的沉积。BORA 等^[37]也在激光光凝诱导的渗出性 AMD 模型中发现 MAC 增多,而且减少 MAC 可以抑制 CNV 的形成。这些证据说明 MAC 的形成对 CNV 有着重要的作用。

2 MAC 抑制物拮抗 AMD 相关 CNV 的形成

2.1 人脯氨酸/精氨酸丰富端亮氨酸丰富重复蛋白

人脯氨酸/精氨酸丰富端亮氨酸丰富重复蛋白(human proline/arginine-rich end leucine-rich repeat protein, PRELP)是一种细胞外基质蛋白,广泛分布于巩膜、肌腱、肺、皮肤、心脏等结缔组织中^[42-43]。近来发现其是聚合 C9 的抑制物^[44],而形成聚合 C9 是 MAC 形成的必经过程^[45-46]。因此,可以通过抑制 C9 聚合,抑制 MAC,从而抑制 CNV 的形成。BIRKE 等^[47]通过激光诱导 6 周的 C57Bl/6J 小鼠 CNV 的形成研究渗出性 AMD,通过视网膜下注射 AAV2/8-PRELP-GFP 转染小鼠视网膜,并以 AAV2/8-pA-GFP 空载体作为对照组。2 周后在视乳头周边做等距离的脉络膜激光斑,再于 7 d 后检查视网膜。AAV2/8-PRELP-GFP 成功转入小鼠视网膜,GFP 信号出现在 RPE 层和感光细胞层,且合成并分泌 PRELP,但 PRELP 仅局限在视网膜内层及除外核层以外的视网膜外层。此外,AAV2/8-pA-GFP 注射眼的 MAC 信号密度平均比率为 $(3.376\pm 0.288)\times 10^4$ U/ μm^2 ,而 AAV2/8-PRELP 注射眼的 MAC 信号密度平均比率为 $(2.516\pm 0.300)\times 10^4$ U/ μm^2 ,MAC 减少了 $(25.5\pm 12.3)\%$ ($P=0.040$ 9),且差异有统计学意义。并且 AAV2/8-pA-GFP 注射眼激光诱导 CNV 的平均面积为 $(3.025\pm 0.355)\times 10^4$ μm^2 ,而 AAV2/8-PRELP-GFP 注射眼激光诱导 CNV 的平均面积为 $(1.250\pm 0.138)\times 10^4$ μm^2 ,相比之下减少了 $(60.0\pm 13.1)\%$ ($P<0.000$ 1)。说明 PRELP 可以抑制 MAC 的形成,随后显著抑制了 CNV 的形成。

2.2 CD59

CD59,又称膜反应性溶解抑制物(membrane inhibitor of reactive lysis, MIRL),是质膜上的糖基磷

脂酰肌醇 (GPI) 锚定蛋白, 为 MAC 形成抑制物^[48-49]。其通过绑定补体终末复合物 C5b678 及阻止补体分子 C9 聚合物的形成, 发挥抑制 MAC 形成的作用, 从而保护自体细胞免遭补体溶解的损害^[50]。然而, 从质膜上释放的可溶性 CD59 (soluble CD59, sCD59) 的抑制 MAC 能力低下, 在血清的作用下其抑制能力明显被消除^[51-52]。与之相比, 重组的 sCD59 活性更高, 许多疾病的体外试验表明其很有效果^[36, 53-54]。因此, CASHMAN 等^[55]采用基因技术重组非质膜源性的 sCD59, 研究其对渗出性和非渗出性 AMD 的作用。以腺病毒作为 CD59 重组基因 (AdCAGsCD59) 的输送工具, 并以空载体腺病毒 (AdCAGpA) 作为对照, 在体内外成功表达 sCD59, 并成功抑制了血清介导的细胞溶解。6 周龄的 C57Bl6/J 小鼠视网膜下注射 AdCAGpA, 72 h 后对注射眼与正常眼进行激光诱导 CNV, 7 d 后发现注射眼平均 CNV 面积为 $(3.73 \pm 0.78) \times 10^4 \mu\text{m}^2$, 未注射对照眼平均 CNV 面积为 $(6.91 \pm 1.88) \times 10^4 \mu\text{m}^2$, 并无明显差异; 而注射 AdCAGsCD59 的小鼠眼 CNV 平均面积为 $(1.43 \pm 0.24) \times 10^4 \mu\text{m}^2$, 相对于 AdCAGpA 处理组, AdCAGsCD59 组的 CNV 平均面积减少了 $(61.7 \pm 19.9)\%$ ($P < 0.01$), 且 MAC 的沉积量减少了 $(52.5 \pm 13.4)\%$ ($P < 0.001$)。此外, 采用腺相关病毒 (adeno-associated virus, AAV) 载体时, 对于 AAVCAGGFP 和 AAVCAGsCD59 组, CNV 平均面积分别为 $(1.31 \pm 0.23) \times 10^5 \mu\text{m}^2$ 和 $(0.49 \pm 0.08) \times 10^5 \mu\text{m}^2$, AAVCAGsCD59 组相对于 AAVCAGGFP 组减少了 $(62.6 \pm 16.9)\%$ ($P < 0.001$)。提示重组非质膜源性的 sCD59 可以抑制 MAC 的形成, 并且 CNV 形成也随之减少。

2.3 CD46

CD46, 又称膜辅蛋白 (membrane cofactor protein, MCP), 为补体调节蛋白, 其本质为跨膜糖蛋白, 广泛表达于灵长类动物^[56-57]中, 在正常人眼内也有表达^[58-61]。CD46 是血浆丝氨酸蛋白酶因子 I 的辅助因子。血浆丝氨酸蛋白酶因子 I 通过其局限于特定蛋白的水解作用, 清除自体细胞上的 C3b, 产生的 iC3b 片段不会引起高效的补体激活反馈作用^[56-57], 因而补体的激活途径被阻断。LYZOGUBOV 等^[62]通过激光诱导 C57BL/6J 小鼠 CNV 模型, 构建 CD46 基因缺陷型小鼠 (CD46^{-/-}小鼠) 作为实验组, 以野生小鼠 (WT 小鼠) 作为对照组, 研究 CD46 对 CNV 的影响。结果显示, CD46^{-/-}小鼠未见 CD46 表达或其表达信号微弱, 而 WT 小鼠的视网膜外界膜处可见强烈的 CD46 表达信号, 内外丛状层及内外节细胞层也可见中等表达信号。同时, 在 CD46^{-/-}小鼠的视网膜与脉络膜处可见 MAC 呈高表达, RPE 细胞基底面也有 MAC 的沉积, 在激光后第 2 天和第 3 天, 激光斑处 CNV 的发生率分别为 19% 和 42%。而 WT 小鼠未见 MAC 的阳性表达, 激光后第 2 天和第 3 天, 激光斑处 CNV 的发生率分别为 0 和 11%。此外, 与 WT 小鼠相比, CD46^{-/-}小鼠的神经节细胞、RPE 细胞及脉络膜处的 VEGF 及 C9 表达水平也升高。此结果提示, CD46 对 MAC 的产生有着负向调节作用, 对 CNV 的形成也表现出抑制作用。

2.4 金精三羧酸

金精三羧酸 (aurintricarboxylic acid, ATA) 是一种分子量为 422 u 的三苯甲基染料化合物。有体外试验研究发现其可以抑制内皮细胞与补体的活化^[63], 通过抑制 C9 和 C5b678 聚合体的结合, 从而阻止 MAC 的形成^[64]。LIPO 等^[65]通过构建激光诱导 C57BL/6 小鼠 CNV 模型, 研究 ATA 对 MAC 形成的抑制作用及其对 AMD 动物模型 CNV 的抑制作用。研究发现, ATA 不仅可以抑制补体介导的细胞损伤, 而且还可以抑制细胞膜上 MAC 的形成。此外, 注射 ATA 的小鼠眼平均 CNV 面积为 $(1.88 \pm 0.31) \times 10^4 \mu\text{m}^2$, 而对照组的平均 CNV 面积为 $(5.81 \pm 0.84) \times 10^4 \mu\text{m}^2$, 减少了 $(67.7 \pm 14.2)\%$ ($P < 0.0001$)。而且, ATA 组沉积的 MAC 也比对照组减少了 $(37.7 \pm 9.2)\%$ ($P < 0.0001$)。试验结果提示, ATA 除可以在体外和体内试验中抑制 MAC 的产生外, 还可以抑制激光诱导小鼠 CNV 的形成。

3 结论与展望

AMD是导致老年人视力丧失的主要眼病之一,有诸多因素参与其发生发展,例如年龄、吸烟、性别、血脂异常、高血压、基因及种族等^[65]。此外,免疫补体系统失调是近年来发现的导致AMD加速发展的重要原因之一。MAC是免疫补体激活的最终产物,也是补体发挥作用的主要途径。综上所述,CNV的发生伴随着MAC的沉积,而且随着MAC沉积的减少,CNV的面积也随之减小。所以MAC的形成与CNV的形成呈正相关。此外,进展期AMD患者RPE细胞上CD59和CD46的水平出现下调,所以RPE细胞的萎缩和丢失可能也与MAC介导的细胞破坏相关。因此,可以通过抑制MAC的产生来抑制CNV的发展和RPE细胞的萎缩丢失。但MAC参与AMD发生发展的具体分子、细胞机制尚需进一步研究。

对于AMD的治疗,除针对高血压、吸烟等危险因素的控制外,现阶段临床上对于非渗出性AMD的治疗多采用营养疗法,具有抗氧化作用的维生素和锌剂治疗可以延缓AMD的进展及视力的丧失^[66]。对渗出性的AMD多采用激光和抗VEGF药物来抑制CNV的发展,但未达到令人满意的效果。通过抑制MAC途径来抑制渗出性和非渗出性AMD的发展,在将来有望成为治疗、干预AMD的方法之一,但还需进一步研究。

[参考文献] (References)

- [1] GEHRS K M, ANDERSON D H, JOHNSON L V, et al. Age-related macular degeneration—emerging pathogenetic and therapeutic concepts[J]. *Ann. Med.*, 2006, 38(7): 450-471.
- [2] FRIEDMAN D S, O'COLMAIN B J, MUÑOZ B, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in the United States[J]. *Arch. Ophthalmol.*, 2004, 122(4): 564-572.
- [3] REIN D B, WITTENBORN J S, ZHANG X, et al. Forecasting age-related macular degeneration through the year 2050: the potential impact of new treatments[J]. *Arch. Ophthalmol.*, 2009, 127(4): 533-540.
- [4] CHRISTOFORIDIS J B, TECCE N, DELL'OMO R, et al. Age related macular degeneration and visual disability[J]. *Current Drug Targets*, 2011, 12(2): 221-233.
- [5] COLEMAN H R, CHAN C C, FERRIS F R, et al. Age-related macular degeneration[J]. *The Lancet*, 2008, 372(9652): 1835-1845.
- [6] LIM L S, MITCHELL P, SEDDON J M, et al. Age-related macular degeneration[J]. *The Lancet*, 2012, 379(9827): 1728-1738.
- [7] BHUTTO I, LUTTY G. Understanding age-related macular degeneration (AMD): relationships between the photoreceptor/retinal pigment epithelium/Bruch's membrane/choriocapillaris complex[J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2012, 33(4): 295-317.
- [8] MICHELS S, SCHMIDT-ERFURTH U, ROSENFELD P J. Promising new treatments for neovascular age-related macular degeneration[J]. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 2006, 15(7): 779-793.
- [9] HAGEMAN G S, LUTHERT P J, VICTOR C N H, et al. An integrated hypothesis that considers drusen as biomarkers of immune-mediated processes at the RPE-Bruch's membrane interface in aging and age-related macular degeneration[J]. *Prog. Retin. Eye Res.*, 2001, 20(6): 705-732.
- [10] TOMANY S C, WANG J J, van LEEUWEN R, et al. Risk factors for incident age-related macular degeneration: pooled findings from 3 continents[J]. *Ophthalmology*, 2004, 111(7): 1280-1287.
- [11] ANDERSON D H, RADEKE M J, GALLO N B, et al. The pivotal role of the complement system in aging and age-related macular degeneration: hypothesis re-visited[J]. *Prog. Retin. Eye Res.*, 2010, 29(2): 95-112.
- [12] WALPORT M J. Complement. First of two parts[J]. *N. Engl. J. Med.*, 2001, 344(14): 1058-1066.
- [13] WALPORT M J. Complement. Second of two parts[J]. *N. Engl. J. Med.*, 2001, 344(15): 1140-1144.
- [14] PODACK E R, KOLB W P, MULLER-EBERHARD H J. The C5b-9 complex: subunit composition of the classical and

- alternative pathway-generated complex[J]. *J. Immunol.*, 1976, 116(5): 1431-1434.
- [15] BUBECK D. The making of a macromolecular machine: assembly of the membrane attack complex[J]. *Biochemistry*, 2014, 53(12): 1908-1915.
- [16] DISCIPIO R G, SMITH C A, MULLER-EBERHARD H J, et al. The activation of human complement component C5 by a fluid phase C5 convertase[J]. *J. Biol. Chem.*, 1983, 258(17): 10629-10636.
- [17] GUO R F, WARD P A. Role of C5a in inflammatory responses[J]. *Annu. Rev. Immunol.*, 2005, 23: 821-852.
- [18] MANTHY H D, WOODEUFF T M, TAYLOR S M, et al. Complement component 5a (C5a)[J]. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2009, 41(11): 2114-2117.
- [19] FERNANDEZ H N, HUGLI T E. Primary structural analysis of the polypeptide portion of human C5a anaphylatoxin. Polypeptide sequence determination and assignment of the oligosaccharide attachment site in C5a[J]. *J. Biol. Chem.*, 1978, 253(19): 6955-6964.
- [20] HADDERS M A, BUBECK D, ROVERSI P, et al. Assembly and regulation of the membrane attack complex based on structures of C5b6 and sC5b9[J]. *Cell Rep.*, 2012, 1(3): 200-207.
- [21] KIM D D, SONG W C. Membrane complement regulatory proteins[J]. *Clin. Immunol.*, 2006, 118(2-3): 127-136.
- [22] HALPERIN J A, TARATUSKA A, NICHOLSON-WELLER A. Terminal complement complex C5b-9 stimulates mitogenesis in 3T3 cells[J]. *J. Clin. Invest.*, 1993, 91(5): 1974-1978.
- [23] KUNCHITHAPAUTHAM K, BANDYOPADHYAY M, DAHROUJ M, et al. Sublytic membrane-attack-complex activation and VEGF secretion in retinal pigment epithelial cells[J]. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2012, 723: 23-30.
- [24] BENZAQUEN L R, NICHOLSON-WELLER A, HALPERIN J A. Terminal complement proteins C5b-9 release basic fibroblast growth factor and platelet-derived growth factor from endothelial cells[J]. *J. Exp. Med.*, 1994, 179(3): 985-992.
- [25] DUNAIEF J L, DENTCHEV T, YING G S, et al. The role of apoptosis in age-related macular degeneration[J]. *Arch. Ophthalmol.*, 2002, 120(11): 1435-1442.
- [26] del PRIORE L V, KUO Y H, TEZEL T H. Age-related changes in human RPE cell density and apoptosis proportion *in situ*[J]. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2002, 43(10): 3312-3318.
- [27] ABDELSALAM A, del PRIORE L, ZARBIN M A. Drusen in age-related macular degeneration: pathogenesis, natural course, and laser photocoagulation-induced regression[J]. *Surv. Ophthalmol.*, 1999, 44(1): 1-29.
- [28] SPAIDE R F, HO-SPAIDE W C, BROWNE R W, et al. Characterization of peroxidized lipids in Bruch's membrane[J]. *Retina*, 1999, 19(2): 141-147.
- [29] SARCS J P, SARCS S H, KILLINGSWORET M C. Evolution of geographic atrophy of the retinal pigment epithelium[J]. *Eye (Lond.)*, 1988, 2(Pt 5): 552-577.
- [30] JOHNSON L V, LEITNER W P, STAPLES M K, et al. Complement activation and inflammatory processes in Drusen formation and age related macular degeneration[J]. *Exp. Eye Res.*, 2001, 73(6): 887-896.
- [31] LOMMATZSCH A, HERMANS P, MÜLLER K D, et al. Are low inflammatory reactions involved in exudative age-related macular degeneration? Morphological and immunohistochemical analysis of AMD associated with basal deposits[J]. *Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2008, 246(6): 803-810.
- [32] KIJLSTRA A, LA HEIJ E, HENDRIKSE F. Immunological factors in the pathogenesis and treatment of age-related macular degeneration[J]. *Ocul. Immunol. Inflamm.*, 2005, 13(1): 3-11.
- [33] EBRAHIMI K B, FIJALKOWSKI N, CANO M, et al. Decreased membrane complement regulators in the retinal pigmented epithelium contributes to age-related macular degeneration[J]. *J. Pathol.*, 2013, 229(5): 729-742.
- [34] MULLINS R F, DEWALD A D, STREB L M, et al. Elevated membrane attack complex in human choroid with high risk complement factor H genotypes[J]. *Exp. Eye Res.*, 2011, 93(4): 565-567.
- [35] LISZEWSKI M K, LEUNG M K, ATKINSON J P. Membrane cofactor protein: importance of N- and O-glycosylation for complement regulatory function[J]. *J. Immunol.*, 1998, 161(7): 3711-3718.

- [36] BORA N S, JHA P, LYZOGUBOV V V, et al. Recombinant membrane-targeted form of CD59 inhibits the growth of choroidal neovascular complex in mice[J]. *J. Biol. Chem.*, 2010, 285(44): 33826-33833.
- [37] BORA N S, KALIAPPAN S, JHA P, et al. CD59, a complement regulatory protein, controls choroidal neovascularization in a mouse model of wet-type age-related macular degeneration[J]. *J. Immunol.*, 2007, 178(3): 1783-1790.
- [38] CYBULSKY A V, TAHANO T, PAPILLON J, et al. Complement C5b-9 induces receptor tyrosine kinase transactivation in glomerular epithelial cells[J]. *Am. J. Pathol.*, 1999, 155(5): 1701-1711.
- [39] MORGAN B P. Effects of the membrane attack complex of complement on nucleated cells[J]. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 1992, 178: 115-140.
- [40] BORA P S, SOHN J H, CRUZ J M, et al. Role of complement and complement membrane attack complex in laser-induced choroidal neovascularization[J]. *J. Immunol.*, 2005, 174(1): 491-497.
- [41] CASHMAN S M, RAMO K, KUMAR-SINGH R. A non membrane-targeted human soluble CD59 attenuates choroidal neovascularization in a model of age related macular degeneration[J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e19078.
- [42] GROVER J, CHEN X N, KORENBERG J R, et al. The gene organization, chromosome location, and expression of a 55-kDa matrix protein (PRELP) of human articular cartilage[J]. *Genomics*, 1996, 38(2): 109-117.
- [43] HEINEGÅRD D, LARSSON T, SOMMARIN Y, et al. Two novel matrix proteins isolated from articular cartilage show wide distributions among connective tissues[J]. *J. Biol. Chem.*, 1986, 261(29): 13866-13872.
- [44] HAPPONEN K E, FÜRST C M, SAXNE T, et al. PRELP protein inhibits the formation of the complement membrane attack complex[J]. *J. Biol. Chem.*, 2012, 287(11): 8092-8100.
- [45] BUBECK D. The making of a macromolecular machine: assembly of the membrane attack complex[J]. *Biochemistry*, 2014, 53(12): 1908-1915.
- [46] TEGLA C A, CUDRICI C, PATEL S, et al. Membrane attack by complement: the assembly and biology of terminal complement complexes[J]. *Immunol. Res.*, 2011, 51(1): 45-60.
- [47] BIRKE M T, LIPO E, ADHI M, et al. AAV-mediated expression of human PRELP inhibits complement activation, choroidal neovascularization and deposition of membrane attack complex in mice[J]. *Gene Ther.*, 2014, 21(5): 507-513.
- [48] MERI S, MORGAN B P, DAVIES A, et al. Human protectin (CD59), an 18,000-20,000 MW complement lysis restricting factor, inhibits C5b-8 catalysed insertion of C9 into lipid bilayers[J]. *Immunology*, 1990, 71(1): 1-9.
- [49] DAVIES A, SIMMONS D L, HALE G, et al. CD59, an LY-6-like protein expressed in human lymphoid cells, regulates the action of the complement membrane attack complex on homologous cells[J]. *J. Exp. Med.*, 1989, 170(3): 637-654.
- [50] ROLLINS S A, SIMS P J. The complement-inhibitory activity of CD59 resides in its capacity to block incorporation of C9 into membrane C5b-9[J]. *J. Immunol.*, 1990, 144(9): 3478-3483.
- [51] SUGITA Y, ITO K, SHIOZUKA K, et al. Recombinant soluble CD59 inhibits reactive haemolysis with complement[J]. *Immunology*, 1994, 82(1): 34-41.
- [52] VÄKEVÄ A, JAUHAINEN M, EHNHOLM C, et al. High-density lipoproteins can act as carriers of glycoposphoinositol lipid-anchored CD59 in human plasma[J]. *Immunology*, 1994, 82(1): 28-33.
- [53] MIZUNO M, NISHIKAWA K, SPILLER O B, et al. Membrane complement regulators protect against the development of type II collagen-induced arthritis in rats[J]. *Arthritis Rheum.*, 2001, 44(10): 2425-2434.
- [54] FRASER D A, HARRIS C L, WILLIAMS A S, et al. Generation of a recombinant, membrane-targeted form of the complement regulator CD59: activity *in vitro* and *in vivo*[J]. *J. Biol. Chem.*, 2003, 278(49): 48921-48927.
- [55] CASHMAN S M, RAMO K, KUMAR-SINGH R. A non membrane-targeted human soluble CD59 attenuates choroidal neovascularization in a model of age related macular degeneration[J]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e19078.
- [56] LISZEWSKI M K, LEUNG M, CUI W, et al. Dissecting sites important for complement regulatory activity in membrane cofactor protein (MCP; CD46)[J]. *J. Biol. Chem.*, 2000, 275(48): 37692-37701.
- [57] LISZEWSKI M K, KEMPER C, PRICE J D, et al. Emerging roles and new functions of CD46[J]. *Springer Semin.*

- Immunopathol., 2005, 27(3): 345-358.
- [58] FETT A L, HERMANN M M, MUETHER P S, et al. Immunohistochemical localization of complement regulatory proteins in the human retina[J]. *Histol. Histopathol.*, 2012, 27(3): 357-364.
- [59] BORA N S, GOBLEMAN C L, ATKINSON J P, et al. Differential expression of the complement regulatory proteins in the human eye[J]. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1993, 34(13): 3579-3584.
- [60] SOHN J H, KAPLAN H J, SUK H J, et al. Complement regulatory activity of normal human intraocular fluid is mediated by MCP, DAF, and CD59[J]. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2000, 41(13): 4195-4202.
- [61] McLAUGHLIN B J, FAN W, ZHENG J J, et al. Novel role for a complement regulatory protein (CD46) in retinal pigment epithelial adhesion[J]. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2003, 44(8): 3669-3674.
- [62] LYZOGUBOV V, WU X, JHA P, et al. Complement regulatory protein CD46 protects against choroidal neovascularization in mice[J]. *Am. J. Pathol.*, 2014, 184(9): 2537-2548.
- [63] KIM H K, KIM J E, WI H C, et al. Aurintricarboxylic acid inhibits endothelial activation, complement activation, and von Willebrand factor secretion *in vitro* and attenuates hyperacute rejection in an *ex vivo* model of pig-to-human pulmonary xenotransplantation[J]. *Xenotransplantation*, 2008, 15(4): 246-256.
- [64] LEE M, GUO J P, SCHWAB C, et al. Selective inhibition of the membrane attack complex of complement by low molecular weight components of the aurin tricarboxylic acid synthetic complex[J]. *Neurobiol. Aging*, 2012, 33(10): 2237-2246.
- [65] LIPO E, CASHMAN S M, KUMAR-SINGH R. Aurintricarboxylic acid inhibits complement activation, membrane attack complex, and choroidal neovascularization in a model of macular degeneration[J]. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2013, 54(10): 7107-7114.
- [66] CHEW E Y, CLEMONS T E, AGRÓN E, et al. Long-term effects of vitamins C and E, β -carotene, and zinc on age-related macular degeneration: AREDS report no. 35[J]. *Ophthalmology*, 2013, 120(8): 1604-1611.

(责任编辑: 李曦)