

巨噬细胞极化与 AMD 的关系

刘芳 李加青 综述 丁小燕 审校

510060 广州 中山大学中山眼科中心

通信作者:丁小燕,Email:dingxy75@gmail.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.01.019

【摘要】 年龄相关性黄斑变性(AMD)是世界范围内老年人中主要的致盲原因之一。巨噬细胞在 AMD 的致病机制中有重要作用,随着病程的发展,巨噬细胞根据微环境的变化转化为经典活化的 M1 型或选择性活化的 M2 型。在 AMD 进程中,M1/M2 失衡可能是造成黄斑变性的原因之一。本文就 AMD 研究中的巨噬细胞极化现象进行总结,分别探讨巨噬细胞极化与干性 AMD、湿性 AMD 及 AMD 相关的危险因素之间的关系。

【关键词】 年龄相关性黄斑变性;巨噬细胞极化;M1 型巨噬细胞;M2 型巨噬细胞

基金项目: 国家自然科学基金项目(81341028);中山大学青年教师培育项目(12ykpy58)

Relationship between macrophage polarization and age-related macular degeneration Liu Fang, Li Jiaqing, Ding Xiaoyan

Zhongshan Ophthalmic center of Zhongshan University, Guangzhou 510060, China

Corresponding author: Ding Xiaoyan, Email: dingxy75@gmail.com

【Abstract】 Age-related macular degeneration (AMD) is one of the leading causes to blindness worldwide in elderly population. Innate immune system elements, such as macrophages and cytokines, play an important role in AMD pathology and pathogenesis. In AMD, macrophages can be functionally polarized into M1 (classically activated) and M2 (alternatively activated), as well as regulatory cells, in response to systems biology approaches. Imbalances in the M1 and M2 populations together with activation of retinal microglia are observed and potentially contribute to tissue degeneration. In this review, the phenomenon of macrophage polarization in AMD study was summarized, and the relationship between macrophage polarization and dry AMD, wet AMD, AMD related risk factors were discussed.

【Key words】 Age-related macular degeneration; Macrophage polarization; M1 macrophage; M2 macrophage

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81341028); Sun yat-sen University Young Teachers Cultivation Foundation (12ykpy58)

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)指发生于 60 岁以上人群的进行性黄斑变性。AMD 病因复杂,目前认为与炎症、缺氧、光损伤、基因异常等多种因素有关,其发生及发展涉及免疫功能紊乱。研究发现 AMD 本质上是慢性炎症,与巨噬细胞关系密切^[1-3]。巨噬细胞是机体非特异性免疫的重要组成部分,与包括 AMD 在内的多种疾病密切相关。Liu 等^[4]提出巨噬细胞活化的概念,认为单核巨噬细胞在不同微环境下功能是可变的,根据其功能特性、表面标志物及其分泌的细胞因子的不同将巨噬细胞分为 M1 型和 M2 型 2 种类型:在 α 干扰素(interferon- α , IFN- α) 诱导下巨噬细胞吞噬能力增强、抗炎因子及炎症介质表达增加,称为经典活化,经此途径活化的细胞称为 M1 型巨噬细胞;而在白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)、IL-13 诱导下巨噬细胞抗炎介质、促肿瘤

因子增加,称为替代活化,经此途径活化的细胞称为 M2 型巨噬细胞。而单核巨噬细胞向 M1 和 M2 分化的过程则称之为极化^[5]。巨噬细胞极化在肿瘤、肝硬化、肺纤维化、血管粥样硬化等多种疾病过程中均具有作用。目前 M1 型巨噬细胞被认为具有促炎、抑菌、抗肿瘤作用,而 M2 型巨噬细胞被认为具有抗炎、组织重塑、促肿瘤、免疫调节和促增生作用。最近研究建议将 M2 型巨噬细胞再细分为促血管新生和抑血管新生 2 个亚型。然而关于亚分类的依据目前尚有很多争论。已有研究者在黑色素瘤、角膜炎、角膜新生血管及脉络膜新生血管等疾病中观察到了巨噬细胞极化的异常。本文就近年来巨噬细胞极化在 AMD 及其相关研究领域中的作用进行综述。

1 巨噬细胞与干性 AMD

AMD 的本质是一种慢性炎症反应,巨噬细胞是慢性炎症

中最主要细胞类型。研究显示 AMD 病变组织中炎症细胞以巨噬细胞为主,其数量远远多于小胶质细胞和淋巴细胞^[1-2,6]。在干性 AMD 中 Drusen 病变区域及病变周围、新生血管和地图样萎缩病灶中均发现有巨噬细胞浸润^[7-9]。巨噬细胞分泌一系列的细胞因子、趋化因子、补体因子和生长因子以应对外来病原体和内源性损害因素,调控炎症、免疫、细胞吞噬、细胞生长和细胞凋亡,这些因子均参与 AMD 的发生和发展。脉络膜内的巨噬细胞在正常状态下并不表达诱导型 NO (induced NO, iNO),但免疫组织化学结果显示早期干性 AMD 伴有软性 Drusen 和增厚的基底膜上、晚期 AMD 盘状疤痕中及临床前期脉络膜新生血管 (choroidal neovascularization, CNV) 患者中均发现巨噬细胞能分泌 iNO^[6]。

2 巨噬细胞极化与湿性 AMD

新生血管形成是湿性 AMD 的特征表现并最终形成疤痕化病灶,造成患者视力不可逆损伤。巨噬细胞在新生血管中的作用复杂,有研究显示其能促进新生血管形成,也能抑制新生血管形成^[10]。组织损伤早期,炎症因子脂多糖结合 Toll 样受体,使巨噬细胞合成血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF), VEGF 导致血管舒张,募集 CD31⁺ 内皮祖细胞,最终形成新生血管,这是巨噬细胞促进新生血管的主要通路^[11]。在肿瘤形成中,肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophages, TAMs) 能促进新生血管形成,临床上以 TAMs 为靶向的治疗能使肿瘤体积减小^[12]。然而,巨噬细胞也能抑制新生血管形成,有研究发现,在敲除巨噬细胞趋化因子单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) 造成巨噬细胞不能募集至眼内时,小鼠更易产生 CNV^[13]。激光诱导的 CNV 模型与临床上 AMD 中 CNV 的产生原理不尽相同,但由于其可及性和稳定性好,是目前 CNV 研究领域的最常用模型。在这一模型中,不同的研究也得到了不同的结果。有些研究显示,证明减少巨噬细胞可缩小 CNV 面积,巨噬细胞能促进 CNV 形成^[10]。然而巨噬细胞也能抑制 CNV 形成。Apte 等^[14]将巨噬细胞注入小鼠眼中,观察到激光诱导的 CNV 面积较对照组小。此外,在 *IL-10* 基因缺陷鼠中,新生血管区堆积了大量巨噬细胞,但 CNV 面积减小也提示其可能具有抑制新生血管的作用。巨噬细胞促新生血管还是抑新生血管,与巨噬细胞的极化密切相关,而极化的方向取决于其所处的微环境^[14-15]。在 *IL-10*、*IL-4* 和/或 *IL-13* 存在的情况下,巨噬细胞朝着促新生血管方向极化,表现为高表达 *IL-10*,低表达 *IL-6* 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α);而在 IFN- γ 、脂多糖或粒细胞-巨噬细胞克隆刺激因子 (granulocyte macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF) 存在的情况下,巨噬细胞向着抗新生血管方向极化,高表达 *IL-12*、*IL-23*、*IL-6* 和 TNF- α ,而低表达 *IL-10*。

3 巨噬细胞极化与 AMD 相关危险因素

3.1 巨噬细胞极化与年龄

随着年龄增长,有害代谢产物在体内不断沉积,最终造成

不可逆性损伤。巨噬细胞不仅与病理状态下的 AMD 有关,与正常生理状态下的老化也是密切相关的。Herrero 等^[16]证实,老龄者体内 II 型组织相容性复合物表达减少,使巨噬细胞清除病原体的功能减弱。此外眼内 *IL-10* 表达增高,诱导巨噬细胞向 M2 型极化^[14,17]。在激光诱导的小鼠 CNV 模型中,年龄是其重要的影响因素,老年鼠模型中 CNV 面积较幼年鼠明显增大;若将来源于老年鼠和幼年鼠的巨噬细胞分别注入模型鼠眼内,发现前者不能有效抑制 CNV 形成,而后者则相反,提示不同年龄个体的巨噬细胞功能是不同的,推测其可能与巨噬细胞表型的变化有关^[17]。Cao 等^[18]研究发现年轻人中巨噬细胞以 M1 型为主, M1/M2 值较高,而老年人中巨噬细胞则以 M2 型为主, M1/M2 值降低。他们还发现患有 AMD 的老年人中巨噬细胞虽也以 M2 型为主,但 M1/M2 比值却与年轻人无差别,提示在 AMD 发生及发展过程中巨噬细胞产生了异常的极化改变。M1/M2 的比例失调与 AMD 形成密切相关,但具体机制尚不清楚。

3.2 巨噬细胞极化与缺氧

局部脉络膜和视网膜组织的缺氧是 AMD 发生发展的重要因素之一。作为非特异性免疫细胞,巨噬细胞总是在第一时间被募集到缺氧组织并发挥功能。巨噬细胞如何快速适应低氧状态,适时转换表型以完成一系列复杂功能,已成为目前研究的焦点。研究显示巨噬细胞是通过细胞转录和代谢水平的调节来适应低氧的,其中低氧诱导因子 (hypoxia-inducible factors, HIF) 和氧依赖酶 (prolyl hydroxylases, PHD) 信号通路是其调节通路的关键。除缺氧外,一些细胞因子也可触发此通路来应对组织低氧,如脂多糖和 Th1 细胞因子在诱导巨噬细胞向 M1 型极化的同时,通过上调 HIF1 α 使其应对低氧^[19];而 Th2 因子则使 HIF2 α 表达增加,促进巨噬细胞向 M2 方向极化^[20]。低氧还可通过改变巨噬细胞的物质代谢过程来调控其极化。研究表明, M1 型巨噬细胞主要以无氧酵解为主, M2 型巨噬细胞则以有氧氧化为主^[21]。巨噬细胞在肿瘤和炎症部位极化为 M1 型,通过增加糖酵解来促进自身在低氧状态下的存活。此外, M1、M2 型巨噬细胞可通过表达不同的酶来调控氨基酸代谢、脂代谢及铁代谢^[22]。老年人中视网膜和脉络膜血流量减少,不可避免地出现低氧现象。目前已明确 AMD 患者视网膜黄斑区处于低氧状态,巨噬细胞极化与 AMD 的发生和发展可能有着密切联系。

3.3 巨噬细胞极化与 para-inflammation

para-inflammation 指机体在长期高氧化代谢产物、高糖血症、高胆固醇血症等因素的刺激下,免疫系统功能处于非活化与活化之间的类似炎症的状态。长期 para-inflammation 会导致免疫功能紊乱并产生年龄相关性疾病,如 2 型糖尿病、动脉粥样硬化、神经退行性病变、肿瘤和黄斑变性等^[23]。巨噬细胞极化与 para-inflammation 密切相关,如动脉粥样硬化早期巨噬细胞表现为 M2 表型,促进组织重塑及血管生成,之后转化为 M1 表型,形成泡沫细胞。泡沫细胞分泌促炎介质及基质金属蛋白酶,破坏了斑块稳定性,使斑块脱落,存在血栓栓塞的风险。因此,通过抑制巨噬细胞从 M2 向 M1 型转换或者减少 M1 型巨噬细胞可以达到稳定斑块的作用^[24]。长期 para-inflammation 也

被认为是肿瘤形成、转移及恶化的关键环节。肿瘤形成早期巨噬细胞以 M1 型为主,促进了癌细胞增生、存活并表达肿瘤基因,产生免疫抑制因子,而成熟肿瘤中则以 M2 型巨噬细胞为主,能产生大量 IL-10、少量炎症细胞及活性氧中物,降低抗原提呈能力,有利于肿瘤生长和转移^[25]。因此,肿瘤的发生和发展可以看作是巨噬细胞 M1 型向 M2 型转化的过程,关于其具体机制目前还不清楚,但抑制 M1 向 M2 转换可能会成为抗肿瘤药物的新靶点。视网膜老化会导致视网膜死亡细胞数量增加、免疫赦免消失、氧化应激和糖基化产物增多,诸多因素使视网膜组织处于长期低程度的炎症状态即 para-inflammation,从而激活补体系统,促使小神经胶质细胞活化,巨噬细胞富集,成为 AMD 发展的关键环节。

4 小结

AMD 的发病机制目前还不甚清楚,治疗湿性 AMD 以抗 VEGF 药物为主,但需要长期治疗,反复注射,且治疗后存在易复发、易纤维化等问题。从 AMD 的发病机制来看,老龄、缺氧、炎症、新生血管形成等均与巨噬细胞及其异常极化密切相关。进一步研究巨噬细胞及其极化在 AMD 中的作用可为治疗该病和改善其预后提供新的药物靶点。

参考文献

- [1] Coleman HR, Chan CC, Ferris FL, et al. Age-related macular degeneration[J]. *Lancet*, 2008, 372 (9652) : 1835 - 1845. DOI: 10.1016/S0140-6736(08)61759-6.
- [2] Dastgheib K, Green WR. Granulomatous reaction to Bruch's membrane in age-related macular degeneration[J]. *Arch Ophthalmol*, 1994, 112(6) : 813-818. DOI: 10.1001/archoph.1994.01090180111045.
- [3] Penfold PL, Killingsworth MC, Sarks SH. Senile macular degeneration: the involvement of immunocompetent cells[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1985, 223(2) : 69-76. DOI: 10.1007/BF02150948.
- [4] Liu G, Yang H. Modulation of macrophage activation and programming in immunity[J]. *J Cell Physiol*, 2013, 228(3) : 502-512. DOI: 10.1002/jcp.24157.
- [5] Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(12) : 958-969. DOI: 10.1038/nri2448.
- [6] Chan CC, Ardeljan D. Molecular pathology of macrophages and interleukin-17 in age-related macular degeneration[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2014, 801 : 193-198. DOI: 10.1007/978-1-4614-3209-8_25.
- [7] Grossniklaus HE, Miskala PH, Green WR, et al. Histopathologic and ultrastructural features of surgically excised subfoveal choroidal neovascular lesions; submacular surgery trials report no. 7. [J]. *Arch Ophthalmol*, 2005, 123(7) : 914-921. DOI: 10.1001/archoph.123.7.914.
- [8] Ding X, Patel M, Chan CC. Molecular pathology of age-related macular degeneration[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2009, 28(1) : 1-18. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2008.10.001.
- [9] Killingsworth MC, Sarks JP, Sarks SH. Macrophages related to Bruch's membrane in age-related macular degeneration[J]. *Eye (Lond)*, 1990, 4(Pt 4) : 613-621. DOI: 10.1038/eye.1990.86.
- [10] Espinosa-Heidmann DG, Suner IJ, Hernandez EP, et al. Macrophage depletion diminishes lesion size and severity in experimental choroidal neovascularization[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44(8) : 3586-3592. DOI: 10.1167/iovs.03-0038.
- [11] Pinhal-Enfield G, Ramanathan M, Hasko G, et al. An angiogenic switch in macrophages involving synergy between Toll-like receptors 2, 4, 7, and 9 and adenosine A(2A) receptors[J]. *Am J Pathol*, 2003, 163(2) : 711-721. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63698-X.
- [12] Bingle L, Brown NJ, Lewis CE. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression; implications for new anticancer therapies[J]. *J Pathol*, 2002, 196(3) : 254-265. DOI: 10.1002/path.1027.
- [13] Ambati J, Anand A, Fernandez S, et al. An animal model of age-related macular degeneration in senescent Ccl-2- or Ccr-2-deficient mice[J]. *Nat Med*, 2003, 9(11) : 1390-1397. DOI: 10.1038/nm950.
- [14] Apte RS, Richter J, Herndon J, et al. Macrophages inhibit neovascularization in a murine model of age-related macular degeneration[J/OL]. *PLoS One*, 2006, 3(8) : e310 [2015-10-22]. <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pmed.0030310>. DOI: 10.1371/journal.pmed.0030310.
- [15] Stout RD, Suttles J. Immunosenescence and macrophage functional plasticity: dysregulation of macrophage function by age-associated microenvironmental changes[J]. *Immunol Rev*, 2005, 205 : 60-71. DOI: 10.1111/j.0105-2896.2005.00260.x.
- [16] Herrero C, Sebastian C, Marques L, et al. Immunosenescence of macrophages: reduced MHC class II gene expression[J]. *Exp Gerontol*, 2002, 37(2-3) : 389-394. DOI: 10.1016/S0531556501002054.
- [17] Kelly J, Ali Khan A, Yin J, et al. Senescence regulates macrophage activation and angiogenic fate at sites of tissue injury in mice[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(11) : 3421-3426. DOI: 10.1172/JCI32430.
- [18] Cao X, Shen D, Patel MM, et al. Macrophage polarization in the maculae of age-related macular degeneration: a pilot study[J]. *Pathol Int*, 2011, 61(9) : 528-535. DOI: 10.1111/j.1440-1827.2011.02695.x.
- [19] Blouin CC, Page EL, Soucy GM, et al. Hypoxic gene activation by lipopolysaccharide in macrophages: implication of hypoxia-inducible factor 1alpha[J]. *Blood*, 2004, 103(3) : 1124-1130. DOI: 10.1182/blood-2003-07-2427.
- [20] Takeda N, O'Dea EL, Doedens A, et al. Differential activation and antagonistic function of HIF-alpha isoforms in macrophages are essential for NO homeostasis[J]. *Gene Dev*, 2010, 24(5) : 491-501. DOI: 10.1101/Gad.1881410.
- [21] Roiniotis J, Dinh H, Masendycz P, et al. Hypoxia prolongs monocyte/macrophage survival and enhanced glycolysis is associated with their maturation under aerobic conditions[J]. *J Immunol*, 2009, 182(12) : 7974-7981. DOI: 10.4049/jimmunol.0804216182/12/7974.
- [22] Cairo G, Recalcati S, Mantovani A, et al. Iron trafficking and metabolism in macrophages: contribution to the polarized phenotype[J]. *Trends Immunol*, 2011, 32(6) : 241-247. DOI: 10.1016/j.it.2011.03.007.
- [23] Xu H, Chen M, Forrester JV. Para-inflammation in the aging retina[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2009, 28(5) : 348-368. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2009.06.001.
- [24] Pello OM, Silvestre C, De Pizzol M, et al. A glimpse on the phenomenon of macrophage polarization during atherosclerosis[J]. *Immunobiology*, 2011, 216(11) : 1172-1176. DOI: 10.1016/j.imbio.2011.05.010.
- [25] Brown BN, Ratner BD, Goodman SB, et al. Macrophage polarization: an opportunity for improved outcomes in biomaterials and regenerative medicine[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(15) : 3792-3802. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.02.034.

(收稿日期: 2015-11-23)

(本文编辑: 尹卫靖 杜娟)