

年龄相关性黄斑变性遗传学研究进展

许晶晶 综述 胡运韬 审校

清华大学附属北京清华长庚医院眼科 清华大学临床医学院, 北京 102218

通信作者: 胡运韬, Email: ythu203@163.com

【摘要】 年龄相关性黄斑变性(AMD)是50岁以上人群致盲的重要原因之一。AMD可使中心视力进行性、不可逆性丧失,其发病机制尚不明确。近年来,研究人员已通过全基因组关联分析(GWAS)筛选出一系列AMD相关基因(*CFH*、*ARMS2*、*HTRA1*等)和相应的单核苷酸多态性(SNP)位点。通过检测这些位点,我们可以预测高危人群的AMD发生风险、AMD疾病亚型和进展情况,以及患者对治疗的敏感性。基因治疗方面,目前针对发病机制的研究突破较少,基因治疗集中在抗血管内皮生长因子(VEGF)治疗和补体通路的抑制、RNA干扰技术等方面,通过腺相关病毒载体递送和表达相应功能蛋白,从而抑制AMD的进展,但其安全性和有效性仍有待进一步评估。就AMD相关基因的SNP、基因诊断和基因治疗研究进展进行综述。

【关键词】 年龄相关性黄斑变性; 单核苷酸多态性; 基因诊断; 基因治疗

基金项目: 国家自然科学基金项目(81641080)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200509-00324

Advances of genetics of age-related macular degeneration

Xu Jingjing, Hu Yuntao

Department of Ophthalmology, Beijing Tsinghua Changgung Hospital, School of Clinical Medicine, Tsinghua University, Beijing 102218, China

Corresponding author: Hu Yuntao, Email: ythu203@163.com

【Abstract】 Age-related macular degeneration (AMD) is one of the leading causes of blindness for the elderly over 50, characterized by loss of central vision irreversibly. The mechanism of AMD is not clear. In recent years, researchers have screened a variety of AMD-related genes (*CFH*, *ARMS2*, *HTRA1*, etc.) and single nucleotide polymorphisms (SNPs) through genome-wide association study (GWAS). By testing these specific loci in high-risk populations, we can predict the risk of AMD, the subtypes, how AMD would develop, and how patients would react to treatment. There are few breakthroughs in the pathogenesis of the disease. Gene therapy focuses on anti-vascular endothelial growth factor (VEGF), complement pathway inhibition and RNA interference, by expressing functional proteins through transfection of adeno-associated virus vectors, but the safety and efficacy remains to be further evaluated.

【Key words】 Age-related macular degeneration; Single nucleotide polymorphism; Genetic diagnosis; Gene therapy

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81641080)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200509-00324

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是50岁以上人群致盲的重要要原因之一^[1]。AMD表现为中心视力进行性、不可逆性丧失,主要累及黄斑、视网膜色素上皮(retina pigment epithelium, RPE)、脉络膜等部位。临床上早期AMD以视网膜下玻璃膜疣沉积为主要特征,而晚期AMD分为干性及湿性2种类型。干性AMD又称为萎缩型AMD,其主要病理改变为RPE层地图状萎缩和脱离,患眼视力缓慢、渐进性丧失;湿性AMD又称为新生血管型或渗出型AMD,其主要病理改变为脉络膜新生血管(choroidal neovascular, CNV)以

及继发的液体积聚及出血。与干性AMD相比,其临床特征为数周至数月内迅速出现视物变形及中心视力丧失^[2-3]。AMD的发病机制尚不明确,可能涉及RPE损伤、线粒体功能障碍、氧化应激、炎症、补体途径激活等^[4-6]。目前普遍认为AMD的发生是遗传和环境因素共同作用的结果。AMD存在多种危险因素,包括年龄、吸烟、药物、体质量指数、遗传因素等。研究显示,遗传因素占整个AMD归因风险的40%~60%^[7],遗传因素可影响AMD的发生和发展,以及对治疗选择的不同反应。本文就AMD的遗传学研究进展进行综述。

1 AMD 相关基因的单核苷酸多态性

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)是人类基因组中常见的变异形式,包括单个碱基的插入、缺失、置换等。一般认为,SNP 可能影响个体对某种疾病的易感性。科学家先后采用家系研究、遗传连锁研究、全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)等方法进行筛选,目前已发现多个 AMD 相关基因及 SNP 位点。

1.1 补体因子 H 编码基因

最早发现与 AMD 相关的基因是补体因子 H(complement factor H, CFH)的编码基因。*CFH* 基因位于 1q32 区,其中第 9 个外显子的 SNP,即 rs1061170(Y420H)被证实与 AMD 有关^[8]。rs1061170 是由于编码 *CFH* 基因的第 1 227 个碱基 T 突变为 C,从而导致相应的第 402 个氨基酸由酪氨酸(Y)变为组氨酸(H),携带有该变异的个体患 AMD 的风险相对于正常人显著升高。Jabbarpoor 等^[9]进行的 meta 分析研究表明,杂合子(CT)患病概率约为正常人(TT)的 1.94 倍,而纯合子(CC)患病概率约为正常人的 4.89 倍。

补体系统是天然免疫的重要组成部分,广泛参与机体防御反应以及免疫调节,也可介导免疫病理的损伤性反应。补体系统中大多以酶的前体形式存在于血清中,需要通过激活才能发挥生物活性,其激活途径包括经典激活途径、旁路激活途径等。补体因子 H 是调节旁路补体途径的重要分子,由 20 个重复的氨基酸序列构成。其中 rs1061170 所在的 SCR7 结构域,具有与肝素、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)和 M 蛋白的结合位点。研究证明,补体因子 H 在 RPE 和脉络膜组织中广泛表达^[10],而携带有 rs1061170 的 *CFH* 蛋白与 CRP 的结合减少,导致 CRP 在视网膜中积聚^[11]。CRP 是经典补体途径的激活剂,其积聚导致异常补体激活,从而介导 AMD 相关慢性炎症和组织损伤的发生^[11]。也有研究认为,*CFH* 可通过识别细胞表面的糖胺聚糖来抑制替代补体途径的异常激活,而 Y420H 变异影响了 *CFH* 与糖胺聚糖的结合能力,从而导致异常的补体激活和慢性炎症^[12]。

1.2 *ARMS2* 和 *HTRA1* 编码基因

ARMS2 基因是继 *CFH* 基因之后发现的 AMD 的第 2 个重要易感基因。*ARMS2* 基因位于 10q26 区域,近期一项归纳了 6 676 例新生血管性 AMD 病例和 7 668 例对照的 meta 分析表明,与野生型(GG)相比,携带 rs10490924(A69S)的杂合子(GT)可使 AMD 发病风险增加 2.35 倍,而纯合子(TT)发病风险增加 8.57 倍^[9]。Jabbarpoor 等^[13]研究认为,rs10490924 和吸烟在 AMD 发病中存在协同作用,这种协同作用可能与 AMD 发病机制和补体途径的参与有关。

HTRA1 基因同样位于 10q26 区域上,与 *ARMS2* 基因紧密连锁。Yang 等^[14]研究表明,在犹他州的高加索人中 *HTRA1* 基因的启动子区域中出现的 SNP rs11200638 与 AMD 的发病高度相关。但由于 *HTRA1* 基因与 *ARMS2* 基因存在高度连锁不平衡性,二者是否均与 AMD 独立相关有待进一步研究。多项研究表明,*ARMS2* 基因的 rs10490924 突变和 *HTRA1* 基因的

rs11200638 突变在亚洲人群中的致 AMD 的发病风险更高^[15-16]。

ARMS2 基因和 *HTRA1* 基因的功能目前尚不明确。研究表明,*ARMS2* 是一种分泌蛋白,主要聚集在人眼脉络膜的细胞外基质中,而与细胞外某些黄斑营养相关的蛋白产生相互作用,可能与 AMD 的进展有关^[17]。*HTRA1* 蛋白可能通过与胰岛素样生长因子 1 结合或调控转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)传导通路起作用^[18],但具体作用有待进一步研究。

1.3 其他基因

CFH 基因和 *ARMS2* 基因是目前已知对 AMD 有显著影响的 2 个基因。与 AMD 相关的还有其他补体途径的相关基因,如补体因子 B(complement factor B, CFB)、补体成分 2(component 3, C2)和 C3、C5、CFI 编码基因等。

CFB 和 C2 的基因均位于 6p21 区域上,相距约 500 bp^[19]。Thakkinstian 等^[20]发现 *CFB* 基因和 C2 基因的 SNP 与 AMD 发病密切相关,其中 *CFB* 基因上的 rs4151667(L9H)、rs641153(R32Q)和 C2 基因上的 rs547154(IVS10)、rs9332739(E318D)显示对 AMD 有保护作用,相比而言正常基因型的个体则显示出更高的 AMD 发病率。但由于 *CFB* 基因与 C2 基因的位点相近,具有较强的连锁不平衡性,二者是否能独立降低 AMD 发病率尚有待进一步研究。CFB 蛋白和 C2 蛋白分别是旁路和经典补体途径的激活剂。研究证实,*CFB* 基因和 C2 基因可以在 RPE 层及脉络膜中表达,且 *CFB* 和 C2 基因产物在玻璃膜疣和 Bruch 膜中的免疫活性高于脉络膜基质中的活性,另外确诊为 AMD 患者血浆中 CFB 蛋白的浓度也远高于正常人^[19]。

C3 是补体系统中含量最高的成分,对膜攻击复合物(membrane attack complex, MAC)的形成和细胞裂解至关重要。其中 C3 基因的 rs2230199 变异导致第 80 个氨基酸由带正电荷的精氨酸被替换为中性甘氨酸(A80G),可能导致 C3 蛋白的性质和功能发生改变。携带 rs2230199 的杂合子可使 AMD 的发病风险增加至 1.7 倍,而纯合子可使 AMD 的发病风险增加至 2.6 倍^[21-22]。rs1047286(P314L)是与 rs2230199 存在连锁效应的 1 个 SNP,有研究认为它也与 AMD 的发生相关^[23],但另一些研究则认为这种相关性来自其与 rs2230199 的连锁效应,rs1047286 本身并不是 AMD 的独立发病因素^[21]。

除补体通路之外,其他可能与 AMD 相关的通路和基因包括脂质代谢(*MMP9* 基因、*TIMP3* 基因、*APOE* 基因、*CETP* 基因、*LIPC* 基因等)、血管生成(*VEGFA* 基因等)和细胞外基质相关途径(*COLSA1*、*COL10A1* 基因等)^[8-9, 14, 19, 21, 24-29](表 1)。2016 年国际 AMD 基因组联盟(International Age-related macular degeneration Genomics Consortium, IAMDC)在一项涉及 43 566 个受试者的 GWAS 研究中,确定了分布于 34 个位点的 52 个独立相关变异,其中有 16 个位点为新发现的 AMD 相关位点^[30]。这些基因和基因多态性位点的发现为我们研究相应基因的功能和 AMD 的发病机制提供了更多信息,也为其基因诊断和治疗提供了可能。

表 1 AMD 相关信号通路和基因
Table 1 Signaling pathways and genes related to AMD

信号通路	基因	位置	主要 SNPs	核苷酸变异	氨基酸变异	对 AMD 的贡献	文献
补体途径	<i>CFH</i>	1q32	rs1061170	T→C	Y402H	致病作用	[8]
	<i>CFB</i>	6p21.3	rs4151667	T→A	L9H	保护作用	[19]
			rs641153	G→A	R32Q	保护作用	[19]
	<i>C2</i>	6p21.3	rs9332739	G→C	E318D	保护作用	[19]
	<i>C3</i>	19p13.3- p13.2	rs2230199	C→G	A80G/ R102G	致病作用	[21]
rs1047286			G→A	P314L	致病作用		
	<i>CFI</i>	4q25	rs10033900	T→C	内含子	保护作用	[24]
脂质代谢	<i>MMP9</i>	20p12	rs3918242	C→T	启动子	致病作用	[25]
	<i>TIMP3</i>	22q12.3	rs9621532	A→C	内含子	致病作用	[26]
	<i>APOE</i>	19q	rs429358	T→C	C112R	ε4 保护作用	[27]
			rs7412	C→T	R158C	ε2 致病作用	
	<i>CETP</i>	16q21	rs3764261	C→A	无	致病作用	[26]
<i>LIPC</i>	15q22	rs493258	T→C	内含子	致病作用	[28]	
		rs10468017	C→T	内含子	保护作用		
血管生成	<i>VEGFA</i>	6p12	rs833070	T→C	内含子	致病作用	[29]
			rs4711751	T→C	内含子	致病作用	
细胞外基质	<i>COL8A1</i>	3p12	rs13095226	C→T	内含子	致病作用	[29]
相关	<i>COL10A1</i>	6q21- q22.3	rs1999930	C→T	内含子	保护作用	[29]
未知途径	<i>ARMS2</i>	10q26	rs10490924	G→T	A69S	致病作用	[9]
	<i>HTRA1</i>	10q26	rs11200638	G→A	启动子	致病作用	[14]

注:AMD:年龄相关性黄斑变性;SNPs:单核苷酸多态性

Note:AMD:age-related macular degeneration;SNPs:single nucleotide polymorphisms

2 AMD 相关基因诊断研究

2.1 预测 AMD 发生风险

一些专家认为提前对人群进行 AMD 相关基因检测可以预测疾病风险,利于采取预防措施。目前已有的试剂盒可检测 *CFH* (Y420H)、*ARMS2* (A69S)、*C2* (E318D) 等位点^[31-32]。在中国,也有一些基因预测的临床研究正在进行。中国科学院四川转化医学研究院通过一项针对 370 例 AMD 患者和 632 例正常对照的研究开发了基因检测试剂盒,对 5 个保护性 SNP 位点 (*SKIV2L* 基因位点 rs429608、rs2075702, *RDBP* 基因位点 rs760070、rs3880457、rs9501161) 的检测,主要用于 AMD 抗性人群的早期诊断和分型参考^[33]。多个研究小组也致力于根据遗传因素建立逻辑回归模型,从而计算 AMD 的遗传风险评分,但由于样本量不足、未充分考虑非遗传因素,以及受尚未发现的遗传变异的影响,这些估计方法可能并不十分准确,且相互之间存在显著差异。目前,这些风险评估模型可预测约 50% AMD 的疾病风险,但只有约 10% 的病例具有合理的高信度,仍有待进一步优化。

2.2 预测 AMD 疾病亚型和进展情况

根据 2016 年 IAMDC 的研究报告,多数 AMD 相关基因对 2 种 AMD 亚型(萎缩型和新生血管型)的致病风险相同,但新

发现的个别蛋白 (*ARMS2-HTRA1*、*CETP*、*MMP9* 和 *SYN3-TIMP3*) 的基因变异仅与其中 1 种 AMD 亚型有关;而另一些蛋白 (*COL15A1*、*COL8A1*、*MMP9* 等) 的基因变异则可能与没有早期表现就进展到晚期 AMD 或进展极快的 AMD 亚型有关^[30]。未来,通过对高危人群的基因检测或可预测 AMD 的亚型和进展情况,并针对性地进行预防和治疗。

2.3 预测抗 VEGF 治疗敏感性

目前玻璃体腔注射抗血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的药物是新生血管型 AMD 有效的治疗手段之一,但临床应用中发现 AMD 患者对治疗应答的效果存在个体性差异,许多研究认为基因型可能与治疗反应有关。一项涉及 168 例汉族 AMD 患者的基因多态性研究表明,携带有 *HTRA1* 基因多态性 rs11200638 的杂合子和纯合子对抗 VEGF 治疗均表现出比野生型更好的治疗效果,而携带有 *CFH* 基因的 rs1061170 和 *VEGF* 基因的 rs1413711 则未发现对治疗反应有

显著影响^[34]。另一项 meta 分析中,研究者发现抗 VEGF 治疗在携带有 *VEGF-A* 基因多态性 rs833061 的新生血管性 AMD 患者中更有效 (CC vs. TT; OR = 2.222; CT vs. TT; OR = 2.537)^[35]。因此,治疗前对患者进行基因检测有可能预测患者对治疗的反应性及预后。

2.4 基因预测目前存在的问题

(1) 尽管越来越多的 AMD 相关基因和位点被发现,但 AMD 的发生机制仍未能得到一个清楚的解释。AMD 的发生和发展可能是一个复杂的过程,涉及补体通路、脂质代谢、血管生成等多种途径以及相关的多个基因,包括一些尚未被发现而可能对 AMD 有较大影响的基因,建立预测模型的难度较大。(2) 目前大多数预测模型都是基于已患病人群和正常人的基因组对比,是否适用于前瞻性预测疾病风险仍有待进一步证据。(3) 即便基因预测可以实现,但目前 AMD 尚未发现明确有效的预防措施。有研究认为戒烟,低糖低脂饮食,以及增加类胡萝卜素、维生素 D、抗氧化剂等的摄入等可能对预防 AMD 起到一定效果,但仍有待进一步研究。(4) 基因检测可能对高危人群有益,但对中低危人群的益处较小,过度预测可能会产生误导和恐慌。

2.5 其他分子诊断手段

除了 SNP 之外,其他可能影响疾病易感性的遗传学改变还

可能有基因的插入、缺失和重排、非编码 DNA 的调节作用、mRNA 的选择性剪接、microRNA 和其他非转录 RNA 的调控等。但目前 AMD 在这些方面尚未有突破性的发现。另外也尚未能发现明确与 AMD 相关的生物标志物。

3 AMD 相关基因治疗研究

3.1 抑制补体途径

许多 AMD 的易感基因都与补体通路有关,如 CFH、CFB、C2、C3、C5 等,补体途径可能是 AMD 致病机制中的重要组成部分。因此,抑制补体途径的激活一定程度上可能抑制 AMD 的发生和进展。

膜攻击复合物(membrane attack complex, MAC)的形成是补体系统激活并导致细胞溶解的关键物质,而 CD59 是天然存在的 MAC 膜结合抑制剂。Cashman 等^[36]利用小鼠模型证实,通过腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)载体递送和表达 CD59 可减少激光诱导的 CNV 和小鼠眼内 MAC 的沉积。该途径若被证实能通过抑制补体途径来治疗 AMD,则不仅可应用于新生血管型 AMD,而且同样可应用于萎缩型 AMD。

其他补体途径抑制剂包括 POT-4(抑制 C3 转化为 C3a 和 C3b)、ARC1905(抑制 C5a 产生和膜攻击复合物激活)、依库单抗(C5 抑制剂)等,目前在美国已进入临床试验阶段,但其安全性和效果有待进一步验证^[37-38]。

由于 AMD 的发生涉及多种信号通路及相关基因,其机制尚未明确,若能明确其机制,则基因治疗的选择会有更大余地。

3.2 抑制血管生成

由于 AMD 的机制研究进展缓慢,目前新生血管性 AMD 的治疗仍以玻璃体腔注射针对 VEGF 的抗体(雷珠单抗)为主。但是由于抗体注射一段时间后会降解,需要反复注射,给患者带来了极大的不便和痛苦,因此研究者试图寻找替代雷珠单抗的治疗方式。

SFLT-1 是一种内源性表达的 VEGF 抑制剂,能够结合并中和 VEGF-A,阻止 VEGF 与其内皮受体的正常结合。通过向玻璃体腔注射 AAV 来表达 sFLT-1 蛋白,可能起到抗 VEGF 的作用,并且减轻频繁注射带来的痛苦。澳大利亚一项为期 3 年的研究表明,注射 rAAV.sFLT-1 的患者需要注射雷珠单抗的次数减少,且未发生明显不良反应,但由于该研究样本量较小(8 例),因此无法对视觉或解剖结果进行统计学分析^[39]。另一项美国的研究对 19 例患者进行了单次 AAV2-sFLT01 注射和 1 年的随访,其中 4 例患者观察到明显的视力改善,但另有 2 例患者出现了短暂的发热和眼内炎等不良反应^[40]。尽管多个国家的科研人员已开展 AAV 携带 sFLT-1 进行表达的小样本研究,但其疗效和安全性仍有待扩大样本量进一步验证。

色素上皮衍生生长因子(pigment epithelial-derived growth factor, PEDF)是一种天然抗血管生成肽,在激光诱导下 Bruch 膜破裂的小鼠模型中,玻璃体腔注射 PEDF 载体被证明可有效预防和抑制 CNV 的形成^[41]。美国约翰霍普金斯大学的一项研究同样利用腺病毒载体在眼内表达 PEDF,28 例患者中多数观察到病灶缩小,仅有 25% 的患者出现短暂性眼内炎症^[42]。

另外有研究通过注射 AAV 在眼内表达血管抑制素和内皮抑素,但尚未得到令人满意的结果^[43]。

3.3 RNA 干扰技术

RNA 干扰(RNA interference, RNAi)技术是利用小分子干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA)与 mRNA 的结合,抑制靶基因的表达。最早被纳入研究的 siRNA 分子包括 bevasiranib(靶基因为 VEGF)、Sirna-027(靶基因为 VEGF 的受体 VEGFR1)等,均在临床试验中显示出较好的安全性、耐受性和疗效^[44-45]。但随后 Kleinman 等^[46]研究发现,任何 ≥ 21 nt 的外源性 siRNA,无论其序列和靶目标如何,都能够与细胞表面 Toll 样受体 3(Toll-like receptor 3, TLR3)结合,通过激活 γ 干扰素和白细胞介素 12 途径来抑制 CNV 的生成,而并不是通过 RNAi 作用来起效。更进一步的研究发现,21 nt 以上的 siRNA 对 TLR3 的激活可导致小鼠 RPE 细胞的凋亡^[47]。

为了提高治疗特异性并避免 siRNA 对 RPE 的毒性,应考虑使用长度低于 21 nt 的 siRNA。PF-04523655 是一种长度为 19 nt 的 siRNA,可抑制低氧诱导基因 RTP801 的表达,同时避免了对 RPE 的破坏作用^[48]。低氧诱导基因 RTP801 在缺氧和/或氧化应激反应中的过度表达可诱导神经元的凋亡,从而在视网膜疾病发生过程中起关键作用^[48]。一项针对 13 例 AMD 患者的研究表明,玻璃体腔注射 PF-04523655 后 2 周,未发生严重不良事件,且 80% 的受试者视力得到改善^[49]。一项涉及 151 例患者的玻璃体腔注射 PF-04523655 与雷珠单抗的对照研究表明,在治疗后 16 周,单用 PF-04523655 治疗的 AMD 患者最佳矫正视力低于雷珠单抗组,而雷珠单抗/PF-655 联合治疗组的平均最佳矫正视力较雷珠单抗治疗组明显提高^[50]。

综上所述,目前有越来越多的 AMD 相关基因和位点被发现,但这些基因和位点在 AMD 发生过程中的作用尚不明确。通过检测这些位点,我们可能预测高危人群的 AMD 发生风险,进行早期诊断和分型,并预测患者对治疗的敏感性和预后。基因治疗集中在抗 VEGF 治疗和补体通路的抑制方面,目前有许多研究小组通过 AAV 递送和表达 CD59、SFLT-1、PEDF、PF-04523655 等功能蛋白,以期抑制补体通路的激活或新生血管的形成,从而抑制 AMD 的进展,但其安全性和有效性仍有待进一步评估。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wong WL, Su X, 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 [J/OL]. Lancet Glob Health, 2014, 2(2): e106-116 [2019-05-13]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214109X13701451>. DOI: 10.1016/S2214-109X(13)70145-1.
- [2] Lim LS, Mitchell P, Seddon JM, et al. Age-related macular degeneration [J]. Lancet, 2012, 379(9827): 1728-1738. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60282-7.
- [3] Buckley K. Age-related macular degeneration [J]. Insight, 2011, 36(4): 10-12.
- [4] Parmeggiani F, Sorrentino FS, Romano MR, et al. Mechanism of inflammation in age-related macular degeneration: an up-to-date on genetic landmarks [J/OL]. Mediators Inflamm, 2013, 2013: 435607

- [2019-05-13]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24369445/>. DOI: 10.1155/2013/435607.
- [5] Karunadharma PP, Nordgaard CL, Olsen TW, et al. Mitochondrial DNA damage as a potential mechanism for age-related macular degeneration [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(11): 5470-5479. DOI: 10.1167/iovs.10-5429.
- [6] Mitchell P, Liew G, Gopinath B, et al. Age-related macular degeneration [J]. *Lancet*, 2018, 392(10153): 1147-1159.
- [7] Fritsche LG, Fariss RN, Stambolian D, et al. Age-related macular degeneration: genetics and biology coming together [J]. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2014, 15: 151-171. DOI: 10.1146/annurev-genom-090413-025610.
- [8] Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, et al. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration [J]. *Science*, 2005, 308(5720): 385-389. DOI: 10.1126/science.1109557.
- [9] Jabbarpoor BMH, Yaseri M, Nikkiah H, et al. Comparison of ARMS2/LOC387715 A69S and CFH Y402H risk effect in wet-type age-related macular degeneration: a meta-analysis [J]. *Int Ophthalmol*, 2019, 39(4): 949-956. DOI: 10.1007/s10792-018-0853-y.
- [10] Hageman GS, Anderson DH, Johnson LV, et al. A common haplotype in the complement regulatory gene factor H (HF1/CFH) predisposes individuals to age-related macular degeneration [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(20): 7227-7232. DOI: 10.1073/pnas.0501536102.
- [11] Laine M, Jarva H, Seitonen S, et al. Y402H polymorphism of complement factor H affects binding affinity to C-reactive protein [J]. *J Immunol*, 2007, 178(6): 3831-3836. DOI: 10.4049/jimmunol.178.6.3831.
- [12] Clark SJ, Bishop PN, Day AJ. Complement factor H and age-related macular degeneration: the role of glycosaminoglycan recognition in disease pathology [J]. *Biochem Soc Trans*, 2010, 38(5): 1342-1348. DOI: 10.1042/BST0381342.
- [13] Jabbarpoor BMH, Yaseri M, Bonyadi M, et al. Association of combined cigarette smoking and ARMS2/LOC387715 A69S polymorphisms with age-related macular degeneration: A meta-analysis [J]. *Ophthalmic Genet*, 2017, 38(4): 308-313. DOI: 10.1080/13816810.2016.1237664.
- [14] Yang Z, Camp NJ, Sun H, et al. A variant of the HTRA1 gene increases susceptibility to age-related macular degeneration [J]. *Science*, 2006, 314(5801): 992-993. DOI: 10.1126/science.1133811.
- [15] Yang X, Hu J, Zhang J, et al. Polymorphisms in CFH, HTRA1 and CX3CR1 confer risk to exudative age-related macular degeneration in Han Chinese [J]. *Br J Ophthalmol*, 2010, 94(9): 1211-1214. DOI: 10.1136/bjo.2009.165811.
- [16] Jiang H, Qu Y, Dang G, et al. Analyses of single nucleotide polymorphisms and haplotype linkage of LOC387715 and the HTRA1 gene in exudative age-related macular degeneration in a Chinese cohort [J]. *Retina*, 2009, 29(7): 974-979. DOI: 10.1097/IAE.0b013e3181a3b90e.
- [17] Kortvely E, Hauck SM, Duetsch G, et al. ARMS2 is a constituent of the extracellular matrix providing a link between familial and sporadic age-related macular degenerations [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(1): 79-88. DOI: 10.1167/iovs.09-3850.
- [18] Friedrich U, Datta S, Schubert T, et al. Synonymous variants in HTRA1 implicated in AMD susceptibility impair its capacity to regulate TGF- β signaling [J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(22): 6361-6373. DOI: 10.1093/hmg/ddv346.
- [19] Gold B, Merriam JE, Zernant J, et al. Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration [J]. *Nat Genet*, 2006, 38(4): 458-462. DOI: 10.1038/ng1750.
- [20] Thakkinian A, McEvoy M, Chakravarthy U, et al. The association between complement component 2/complement factor B polymorphisms and age-related macular degeneration: a HuGE review and meta-analysis [J]. *Am J Epidemiol*, 2012, 176(5): 361-372. DOI: 10.1093/aje/kws031.
- [21] Yates JR, Sepp T, Matharu BK, et al. Complement C3 variant and the risk of age-related macular degeneration [J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(6): 553-561. DOI: 10.1056/NEJMoa072618.
- [22] Thakkinian A, McKay GJ, McEvoy M, et al. Systematic review and meta-analysis of the association between complement component 3 and age-related macular degeneration: a HuGE review and meta-analysis [J]. *Am J Epidemiol*, 2011, 173(12): 1365-1379. DOI: 10.1093/aje/kwr025.
- [23] Despret DD, van Duijn CM, Oostra BA, et al. Complement component C3 and risk of age-related macular degeneration [J]. *Ophthalmology*, 2009, 116(3): 474-480. DOI: 10.1016/j.ophtha.2008.09.055.
- [24] Ennis S, Gibson J, Cree AJ, et al. Support for the involvement of complement factor I in age-related macular degeneration [J]. *Eur J Hum Genet*, 2010, 18(1): 15-16. DOI: 10.1038/ejhg.2009.113.
- [25] Liutkeviciene R, Lesauskaite V, Sinkunaite-Marsalkiene G, et al. The role of matrix metalloproteinases polymorphisms in age-related macular degeneration [J]. *Ophthalmic Genet*, 2015, 36(2): 149-155. DOI: 10.3109/13816810.2013.838274.
- [26] Chen W, Stambolian D, Edwards AO, et al. Genetic variants near TIMP3 and high-density lipoprotein-associated loci influence susceptibility to age-related macular degeneration [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(16): 7401-7406. DOI: 10.1073/pnas.0912702107.
- [27] McKay GJ, Patterson CC, Chakravarthy U, et al. Evidence of association of APOE with age-related macular degeneration: a pooled analysis of 15 studies [J]. *Hum Mutat*, 2011, 32(12): 1407-1416. DOI: 10.1002/humu.21577.
- [28] Neale BM, Fagerness J, Reynolds R, et al. Genome-wide association study of advanced age-related macular degeneration identifies a role of the hepatic lipase gene (LIPC) [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(16): 7395-7400. DOI: 10.1073/pnas.0912019107.
- [29] Yu Y, Bhargale TR, Fagerness J, et al. Common variants near FRK/COL10A1 and VEGFA are associated with advanced age-related macular degeneration [J]. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(18): 3699-3709. DOI: 10.1093/hmg/ddr270.
- [30] Fritsche LG, Igl W, Bailey JN, et al. A large genome-wide association study of age-related macular degeneration highlights contributions of rare and common variants [J]. *Nat Genet*, 2016, 48(2): 134-143. DOI: 10.1038/ng.3448.
- [31] Allikmets RL, Hageman GS, Dean MC, et al. Variants in complement regulatory genes predict age-related macular degeneration; US, US8,012,683B2 [P/OL]. 2011-09-06 [2020-05-06]. <https://ir.uiowa.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1549&context=patents>.
- [32] Seddon JM. Polynucleotides associated with age-related macular degeneration and methods for evaluating patient risk; US, US20090111708A1 [P/OL]. 2009-04-30 [2020-05-06]. https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?FT=D&date=20090430&DB=&locale=en_EP&CC=US&NR=2009111708A1&KC=A1&ND=2#.
- [33] 四川省医学科学院(四川省人民医院). 一种老年黄斑变性疾病的筛查试剂盒: 中国, CN201310176231.3 [P/OL]. 2013-7-24 [2020-05-06]. <http://d.old.wanfangdata.com.cn/Patent/CN201310176231.3/>.
- [34] Yuan D, Yuan D, Liu X, et al. Genetic association with response to intravitreal ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration in the Han Chinese population [J]. *Ophthalmologica*, 2013, 230(4): 227-232. DOI: 10.1159/000355068.
- [35] Wu M, Xiong H, Xu Y, et al. Association between VEGF-A and VEGFR-2 polymorphisms and response to treatment of neovascular AMD with anti-VEGF agents: a meta-analysis [J]. *Br J Ophthalmol*, 2017, 101(7): 976-984. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2016-309418.
- [36] Cashman SM, Ramo K, Kumar-Singh R. A non membrane-targeted human soluble CD59 attenuates choroidal neovascularization in a model of age related macular degeneration [J/OL]. *PLoS One*, 2011, 6(4): e19078 [2019-05-07]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3084256/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0019078.
- [37] Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Fleckenstein M. Recent developments

- in the treatment of age-related macular degeneration[J]. J Clin Invest, 2014, 124(4): 1430-1438. DOI: 10.1172/JCI71029.
- [38] Velez-Montoya R, Oliver SC, Olson JL, et al. Current knowledge and trends in age-related macular degeneration: genetics, epidemiology, and prevention[J]. Retina, 2014, 34(3): 423-441. DOI: 10.1097/IAE.0000000000000036.
- [39] Constable IJ, Lai CM, Magno AL, et al. Gene therapy in neovascular age-related macular degeneration: three-year follow-up of a phase 1 randomized dose escalation trial[J]. Am J Ophthalmol, 2017, 177: 150-158. DOI: 10.1016/j.ajo.2017.02.018.
- [40] Heier JS, Kherani S, Desai S, et al. Intravitreal injection of AAV2-sFLT01 in patients with advanced neovascular age-related macular degeneration: a phase 1, open-label trial[J]. Lancet, 2017, 390(10089): 50-61. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)30979-0.
- [41] Mori K, Gehlbach P, Ando A, et al. Regression of ocular neovascularization in response to increased expression of pigment epithelium-derived factor[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2002, 43(7): 2428-2434.
- [42] Campochiaro PA, Nguyen QD, Shah SM, et al. Adenoviral vector-delivered pigment epithelium-derived factor for neovascular age-related macular degeneration: results of a phase I clinical trial[J]. Hum Gene Ther, 2006, 17(2): 167-176. DOI: 10.1089/hum.2006.17.167.
- [43] Campochiaro PA, Lauer AK, Sohn EH, et al. Lentiviral vector gene transfer of endostatin/angiostatin for Macular Degeneration (GEM) Study[J]. Hum Gene Ther, 2017, 28(1): 99-111. DOI: 10.1089/hum.2016.117.
- [44] Singerman L. Combination therapy using the small interfering RNA bevasiranib[J]. Retina, 2009, 29(6 Suppl): S49-50. DOI: 10.1097/IAE.0b013e3181ad2341.
- [45] Kaiser PK, Symons RC, Shah SM, et al. RNAi-based treatment for neovascular age-related macular degeneration by Sirna-027[J]. Am J Ophthalmol, 2010, 150(1): 33-39. DOI: 10.1016/j.ajo.2010.02.006.
- [46] Kleinman ME, Yamada K, Takeda A, et al. Sequence- and target-independent angiogenesis suppression by siRNA via TLR3[J]. Nature, 2008, 452(7187): 591-597. DOI: 10.1038/nature06765.
- [47] Kleinman ME, Kaneko H, Cho WG, et al. Short-interfering RNAs induce retinal degeneration via TLR3 and IRF3[J]. Mol Ther, 2012, 20(1): 101-108. DOI: 10.1038/mt.2011.212.
- [48] Rittenhouse KD, Johnson TR, Vicini P, et al. RTP801 gene expression is differentially upregulated in retinopathy and is silenced by PF-04523655, a 19-Mer siRNA directed against RTP801[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55(3): 1232-1240. DOI: 10.1167/iovs.13-13449.
- [49] Nguyen QD, Ong T, Shah SM; the B0451008 Study Group. Interim results of the phase 1, open-label, dose-escalation study of intravitreal siRNA PF-04523655 in patients with choroidal neovascularization secondary to exudative age-related macular degeneration: safety, tolerability, and bioactivity[J/OL]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50: 3092[2019-05-16]. <http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2365484>.
- [50] Nguyen QD, Schachar RA, Nduaka CI, et al. Evaluation of the siRNA PF-04523655 versus ranibizumab for the treatment of neovascular age-related macular degeneration (MONET Study)[J]. Ophthalmology, 2012, 119(9): 1867-1873. DOI: 10.1016/j.ophtha.2012.03.043.

(收稿日期:2020-01-18 修回日期:2020-06-24)

(本文编辑:刘艳)

读者·作者·编者

本刊对来稿中作者署名的著录要求

作者向本刊投稿时署名应符合以下条件:(1)参与课题的选题和实验设计,参与实验资料的收集、分析和论证。(2)参与论文的起草或能够对论文中的方法学或关键部分进行修改。(3)能对审稿专家和编辑提出的修改意见进行核修,能够答辩并承担责任。(4)对论文的诚信负责。仅参与筹得资金或收集资料者以及仅对科研小组进行一般管理者均不宜署名为作者。文中如有外籍作者,应附外籍作者亲笔签名的在本刊发表的同意函。集体署名的文章应于题名下列出署名单位,于文末列出论文整理者的姓名,并须明确该文的主要责任者。

作者署名的名次应按对论文贡献大小顺序排列于文题下方,每篇论文须列出通信作者1名。如无特殊约定,则视第一作者为通信作者。作者(包括通信作者)的署名及其排序应在投稿前由所有研究者共同讨论确定,在编排过程中不宜变更或增减,尤其是通信作者和前三名作者,若确需变动者须提供所有署名作者的签名同意函并出示单位证明。有英文文题的论著和综述应有全部作者姓名的汉语拼音,列于英文文题之下。

本刊对存在科研诚信问题或发表流程中存在严重缺陷稿件的撤稿及其流程

依据中华医学会系列杂志论文发表后撤稿的推荐规范,如发生下列情况本刊将予以撤稿处理:(1)编辑部收到举报并已经证实论文存在较严重的不可信、学术不端或非主观的错误,以致于该论文所报道的发现和结果不可信。(2)论文存在剽窃问题。(3)论文所报道的研究违反医学伦理规范。(4)未被允许的重复发表。(5)在稿件发表流程中存在严重缺陷。上述问题经编辑部严格调查属实后,本刊编辑部将按照撤稿流程分别在纸版期刊、本刊网站刊登撤稿声明,刊登前编辑部和所有作者就撤稿声明的内容达成一致,以保证各方利益。但在无法就撤稿声明的内容与作者达成一致时,如已有充足证据表明必须撤稿,本刊将尽快刊出撤稿声明。撤稿声明对所有读者免费开放,以最大限度地减少该论文发表带来的负面影响。编辑对存在科研诚信问题或发表流程中存在严重缺陷稿件的撤稿拥有最终决定权。

(本刊编辑部)