

自噬在青光眼发病机制中的研究进展

许瑶函 综述 韩伟 审校

浙江大学医学院附属第一医院眼科, 杭州 310003

通信作者: 韩伟, Email: eyehanwei@163.com

【摘要】 青光眼是一组以视网膜神经节细胞(RGCs)渐进性死亡及其轴突慢性退化为特征的神经退行性疾病, 主要与病理性眼压升高有关。自噬, 即细胞自我“消化”, 是一种细胞降解、回收机制。过度自噬或自噬受损均可能导致细胞功能障碍, 甚至死亡。近年的研究表明, 自噬与不同因素导致的青光眼小梁网细胞功能异常和 RGCs 凋亡及视神经退行性改变密切相关, 其中主要包括氧化应激、机械性刺激、眼压升高、轴突损伤、遗传因素等。调控自噬保护 RGCs 可能为青光眼的治疗提供新的方法。本文就自噬的定义及分类、自噬的调控、自噬在氧化应激及机械性刺激过程中对小梁网细胞的作用、自噬在高眼压环境下及 RGCs 轴突损伤后对 RGCs 的作用和自噬在 RGCs 中与凋亡的关系、自噬与遗传性视神经变性、基因及药物调控自噬治疗青光眼的最新研究结果进行综述。

【关键词】 自噬; 青光眼; 小梁网细胞; 视网膜神经节细胞; 凋亡

DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-20210712-00407

Research progress of autophagy in the pathogenesis of glaucoma

Xu Yaohan, Han Wei

Department of Ophthalmology, The First Affiliated Hospital of Zhejiang University, Hangzhou 310003, China

Corresponding author: Han Wei, Email: eyehanwei@163.com

[Abstract] Glaucoma, a neurodegenerative disease characterized by progressive death of retinal ganglion cells (RGCs) and chronic axonal degeneration, is often associated with elevated intraocular pressure. Autophagy, which means self-eating, is a mechanism of cell degradation and recycling. Excessive autophagy or impaired autophagy may lead to cell dysfunction and even cell death. Recent studies have shown that autophagy is closely related to trabecular meshwork cell dysfunction, RGCs apoptosis and optic nerve degeneration caused by different factors, including oxidative stress, mechanical stimulation, high intraocular pressure, axon injury, genetic factors and so on. Regulating autophagy to protect RGCs may provide new ideas for glaucoma treatments. In this article, the definition and classification of autophagy, the regulation of autophagy, the role of autophagy in the process of oxidative stress and mechanical stimulation on the function of trabecular meshwork cells, and the impact of autophagy on RGCs under high intraocular pressure and RGCs axonal injury, the relationship between autophagy and apoptosis in RGCs, as well as the latest research results on autophagy and hereditary optic nerve degeneration, regulation of autophagy via gene and drug for the treatment of glaucoma were reviewed.

[Key words] Autophagy; Glaucoma; Trabecular meshwork cells; Retinal ganglion cells; Apoptosis

DOI: 10. 3760/cma. j. cn115989-20210712-00407

青光眼是以视网膜神经节细胞 (retinal ganglion cells, RGCs) 进行性死亡及其轴突慢性退化为特征的神经退行性疾病, 是全球主要的致盲眼病之一^[1]。原发性开角型青光眼 (primary open-angle glaucoma, POAG) 是常见的青光眼类型, 常伴有眼压升高, 小梁网功能障碍导致房水流出受阻是其致病因素之一^[2]。病理性眼压升高是青光眼发生视神经损害的主要危险因素。眼压升高通过直接压迫视盘区域对其造成机械性损害, 同时导致该区域血流灌注减少, 发生氧化应激和能量供应障碍等。降低眼压是目前临床上延缓青光眼病程的有效治

疗手段^[3]。然而现有的临床资料表明, 青光眼患者眼压即使正常或通过治疗得到良好控制后, 仍会发生持续性视神经损伤, 这说明青光眼不仅与眼压升高有关, 还可能包含独立的神经变性成分^[3-5]。近年来自噬受到研究者的广泛关注, 其在青光眼相关领域的研究也逐渐增多^[6-8]。本文对自噬在青光眼发病机制中的最新研究进展进行综述。

1 自噬

1.1 自噬的定义及分类

自噬是在进化上高度保守的复杂生理过程,是一种细胞降解、回收机制。自噬可以降解异常的细胞器及长寿蛋白,并将氨基酸、脂肪酸等大分子成分回收利用作为新的能源供应,从而维持细胞稳态。在饥饿、缺氧等条件刺激下,自噬会被迅速激活^[9]。过度自噬或自噬受损均可能导致细胞功能障碍,甚至死亡^[10]。自噬在哺乳动物细胞中根据底物与溶酶体结合方式的不同分为经典自噬(巨自噬)、微自噬、分子伴侣介导自噬(chaperon-assisted autophagy, CASA)和 RNA 自噬等。本文中所指自噬为巨自噬,以形成双层膜自噬体为特征^[11]。随着对自噬研究的不断深入,研究者发现自噬对降解底物具有高度选择性,除非选择性自噬外,自噬可特异性作用于多种细胞器和细胞质成分,如线粒体、核糖体及错误折叠的蛋白等^[12]。

1.2 自噬的调控

自噬信号通路的精细调控在细胞应对不同的环境变化时起重要作用。自噬相关基因(autophagy-related gene, Atg)的编码蛋白参与自噬诱导、起始、延伸、自噬体形成及与溶酶体融合的全部步骤^[13]。此外,自噬的分子机制复杂,可与其他相关信号通路发生相互作用。例如当哺乳动物雷帕霉素受体(mammalian target of rapamycin, mTOR)被抑制时,其下游的 ULK1(UNC51-like kinase,与酵母中的 Atg1 同源)可被激活,启动自噬^[14]。再如,beclin-1(Atg6)可接受多种信号调节自噬通路。生理条件下,抗凋亡蛋白 bcl-2 或 bcl-XL 与 beclin-1 的结合能力强,通过负调控 Vps34/PI3K-beclin-1 复合体的形成,抑制了依赖 beclin-1 的自噬通路^[15]。当自噬被诱导时,beclin-1 发生蛋白磷酸化,与 bcl-2 或 bcl-XL 解离,进而启动自噬^[16]。

自噬体膜的延长与闭合阶段涉及 2 类泛素样蛋白结合系统:(1) Atg12 与 Atg5 通过 E1、E2 泛素样酶形成共价结合,进而与 Atg16 发生相互作用形成 Atg12-Atg5-Atg16 复合体。同时该复合体也为微管相关蛋白的轻链 3(LC3/Atg9)与磷脂酰乙醇胺的共价结合提供了平台。(2) LC3 蛋白被 Atg4B 切割后,产生定位于细胞质的 LC3 I, LC3 I 被包括 Atg7 和 Atg3 在内的泛素样体系修饰加工脂化,产生 LC3 II,并定位在自噬体^[6,17]。LC3 II 被认为是自噬的特异性标志物,因此也被广泛应用于自噬流水平的检测^[18]。p62(sequestosome 1, SQSTM1)是一种重要的自噬接头蛋白,含有与 LC3 相互作用的结构域,可将泛素化底物带入自噬体内,最终在溶酶体内降解^[19]。p62 积累增多意味着自噬过程受到阻滞,所以 p62 蛋白水平常作为自噬流的检测指标之一^[19]。

2 自噬与小梁网细胞

小梁网是位于前房角的角膜和巩膜之间的网状结构,主要由内皮样细胞包裹的小梁弹性蛋白、胶原蛋白及小梁网细胞组成^[20]。小梁网细胞分化成熟后增生能力较低,因此有效清除细胞内的受损蛋白和错误折叠蛋白对小梁网细胞的生存非常关键^[20]。小梁网细胞可通过诱导或抑制自噬应对不同压力刺激,从而维持细胞稳态。

2.1 自噬在氧化应激过程中对小梁网细胞的作用

Saccà 等^[21]研究表明,POAG 患者小梁网组织 DNA 氧化性

损伤程度明显,说明氧化应激参与了青光眼的发病过程。与其他眼前房组织相比,小梁网细胞抗氧化能力低,对氧化自由基敏感性更高^[22]。当小梁网细胞处在高氧条件下,长期氧化应激使溶酶体碱化及其蛋白水解酶活性降低,导致自噬-溶酶体途径的降解过程被阻滞及自噬流减少^[23],最终造成小梁网细胞功能受损,诱发 POAG。抗坏血酸是一种抗氧化剂,同时具有降眼压效果,血浆中抗坏血酸浓度低可增加 POAG 的患病风险^[24]。Xu 等^[25]研究发现,一定浓度的抗坏血酸可激活小梁网细胞自噬,增加其溶酶体活性。最近,He 等^[26]发现在慢性氧化应激环境下,通过自噬诱导剂雷帕霉素激活自噬可有效降低活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)水平,减少小梁网细胞凋亡。以上结果表明自噬在氧化应激过程中对小梁网细胞起保护作用。

小梁网组织对自噬及氧化应激的敏感度随着年龄的增加而升高。Pulliero 等^[27]收集了 28 例健康捐献者的新鲜小梁网组织,通过检测发现年龄大于 60 岁捐献者的 p62 蛋白水平低于 40~59 岁捐献者,而 LC3 II/LC3 I 蛋白水平及 DNA 氧化损伤水平增高,表明人小梁网组织中自噬与氧化应激水平均随年龄的增加呈升高趋势。此外,衰老相关 β 半乳糖苷酶(senescence-associated-beta-galactosidase, SA-β-Gal)随着年龄的增加在溶酶体中积累增多^[28]。Porter 等^[23]发现在慢性氧化应激环境下,小梁网细胞中 SA-β-Gal 活化增多,而用自噬抑制剂 3-甲基腺嘌呤(3-methyladenine, 3-MA)可减少 SA-β-Gal 的活化,说明自噬参与调控 SA-β-Gal 的活性。以上研究结果表明,氧化应激造成的自噬受损可能是导致小梁网细胞随着年龄增长功能逐渐失调的因素之一,是重要的 POAG 发病机制。近来,Porter 等^[29]发现青光眼患者的小梁网细胞在慢性氧化应激环境下直接作用于 mTOR 磷酸化位点 Thr389(pRPS6KB-T389),其下游底物 RPS6KB 磷酸化水平显著提高,并且 LC3 II 及 p62 蛋白表达水平下降,说明青光眼患者小梁网中自噬活动被抑制,甚至被破坏。以上实验的结论虽然看似矛盾,实际可能互为补充性实验结果,氧化应激诱导的自噬可能是正常小梁网细胞中的一种早期保护性机制。随着长期的氧化应激反应,发生溶酶体碱化及自噬功能下降,最终导致小梁网细胞功能失调。

2.2 自噬在机械性刺激过程中对小梁网细胞的作用

小梁网细胞可以感知和适应眼压波动带来的机械性刺激,从而维护细胞功能及眼内环境稳态。自噬在小梁网细胞被拉伸后 30 min 即被激活,说明自噬可能是小梁网细胞受到机械刺激后诱发的生理反应,而不是由于细胞形态变化后产生的继发性反应^[29]。机械拉伸小梁网细胞可激活 mTOR 通路,抑制自噬。由此推断,小梁网细胞中还存在另一种非 mTOR 通路依赖的自噬途径,可以抵消由于 mTOR 活化产生的抑制自噬作用^[30]。Shim 等^[31]进一步研究发现初级纤毛可作为循环机械拉伸诱导自噬的机械感受器,主要通过 AKT1 及非经典 SMAD2/3 信号通路相互作用参与调节自噬。CASA 是一种选择性自噬,其中 CASA 复合物由 HSC7、HSPB8 和 BAG3 组成。研究发现,静态双轴拉伸不能激活 CASA^[30],而在循环机械拉伸(伸长 20%,1 个循环/s)的环境中 CASA 被激活^[32]。此外,

BAG3 参与了经典自噬和非经典自噬,这说明机械刺激诱导可同时诱导发生了经典和非经典自噬^[33]。

机械压力诱导发生自噬在病理生理学方面的意义尚不清楚。自噬可能通过增加蛋白质和细胞器通量,同时影响其他代谢过程,共同维持细胞和组织功能,帮助小梁网细胞及小梁组织应对机械压力^[33]。自噬通常被当作一种保护性机制,然而,当机械压力超过正常眼压波动范围,造成病理性高眼压环境,则会导致自噬功能失调,造成细胞凋亡,甚至发生自噬性细胞死亡^[24]。此外,有研究发现 CASA 有补偿性降压功能,但持续激活 CASA 可能造成小梁网细胞硬度增加,影响房水回流^[34-36]。

3 自噬与视神经

RGCs 是视网膜上唯一的投射神经元,其轴突构成视神经,视网膜产生的视觉信息经视神经传送到大脑。眼压升高、视神经区域血流灌注减少等病理变化均会导致 RGCs 凋亡及其轴突慢性退化,最终造成不可逆的视野缺损及视力下降。近年来,青光眼中自噬与 RGCs 胞体及其轴突的关系也受到广泛关注。

3.1 自噬在高眼压环境下对 RGCs 的作用

缺血-再灌注动物模型可以模拟前房急性眼压升高。Piras 等^[37]和 Produit-Zengaffinen 等^[38]在缺血-再灌注动物模型中发现,抑制自噬对 RGCs 有保护作用。Russo 等^[39]在实验中发现视网膜急性缺血-再灌注引起的自噬反应是双相的。视网膜缺血损伤后可诱导自噬水平升高,这一现象可持续至再灌注后 1 h,之后自噬水平逐渐下降。通过雷帕霉素增加自噬水平可减少 RGCs 死亡。Lee 等^[40]通过角膜缘缝线建立大鼠高眼压模型,并在实验中发现不同时间点自噬活性不同,早期自噬受损,1~4 周自噬通量增加。同时,早期在玻璃体腔内注射雷帕霉素可提高 RGCs 存活率。在慢性眼压升高时,自噬在轴突和胞体内扮演的角色不同。Park 等^[41]在大鼠中通过灼烧巩膜上静脉建立慢性高眼压模型,结果发现 LC3 II 及自噬体在造模后 1~4 周逐渐增多,并且 RGCs 轴突先于胞体出现自噬现象。通过玻璃体腔内注射 3-MA 可使 RGCs 凋亡显著减少^[42]。与之相反,Kitaoka 等^[43]在大鼠小梁区域行激光手术使眼压慢性升高,结果发现使用雷帕霉素可以显著减少眼压升高所致的轴突变性,而 3-MA 则加重了轴突变性。由于二者所用实验模型不同,上述结论还有待进一步研究证明。因此,自噬在 RGCs 死亡中的作用尚无统一的观点。值得注意的是,青光眼的发生和发展不仅与眼压升高相关,还与 RGCs 内在分子水平的变化有关。

3.2 自噬在 RGCs 轴突损伤后对 RGCs 的作用

RGCs 轴突损伤可导致其发生自噬和凋亡。Sternberg 等^[44]在切断新生大鼠 RGCs 轴突后 24 h 观察到 RGCs 自噬及凋亡。采用 3-MA 抑制自噬则进一步加重 RGCs 损伤,说明自噬可以延缓,甚至阻止细胞退化,是轴突损伤后 RGCs 的保护性反应。但由于该实验为体外实验,并不能完全反映自噬在体内的真实作用。Knöferle 等^[45]构建了视神经夹持型急性青光眼大鼠模型,通过简单的外科手术及特有的成像方法在活体大鼠中观察到 RGCs 变性轴突中自噬体增多,钙流增加。应用 3-MA

可将轴突开始变性的时间由原来的 30 min 延迟到 90 min,其作用可持续至 360 min,且该模型中自噬的发生是钙依赖性的。然而,由于该实验持续时间较短,所以未能观察到 RGCs 胞体中的自噬情况。Kim 等^[46]研究发现,LC3 II 蛋白表达量在轴突损伤后第 3 天达峰值,同时相关 Atg 蛋白表达水平升高,并且自噬水平上调时间先于凋亡。由此推测,轴突损伤后自噬增强,且对 RGCs 起保护作用。

3.3 自噬在 RGCs 中与凋亡的关系

细胞自噬与凋亡之间的关系非常复杂。尽管二者有各自标志性的形态学和生化特征,但其调控和执行蛋白网络之间存在重叠以及相互作用。凋亡是青光眼 RGCs 损伤的主要病理形式^[47]。在青光眼大鼠模型中,受损的 RGCs 里可出现自噬标志物 LC3 及凋亡标志物 TUNEL 染色双阳性的现象,即自噬与凋亡同时被激活^[37,42]。进一步研究发现,自噬对凋亡有一定的调控作用,在青光眼中,自噬参与胶质细胞活化、氧化应激等环节所诱导的细胞凋亡,起到促进或抑制的作用。

自噬参与胶质细胞活化诱导的 RGCs 凋亡。视网膜包含 3 种类型的胶质细胞,即星形胶质细胞、小胶质细胞和 Müller 细胞。小胶质细胞活化会产生肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、NO 等神经毒性介质,造成线粒体损伤,从而诱导神经元发生凋亡^[48]。Su 等^[49]在慢性高眼压小鼠模型中发现,使用自噬诱导剂雷帕霉素可抑制小胶质细胞活化,并减少 TNF- α 和 NO 的产生,提示自噬可能通过阻止视网膜小胶质细胞活化抑制外源性细胞凋亡。此外,视网膜上的 Müller 细胞活化可导致 RGCs 发生谷氨酸摄取障碍,从而刺激 N-甲基-D-天冬氨酸受体大量释放,使 Ca^{2+} 内流增加,诱发钙依赖的细胞凋亡^[50-51]。Piras 等^[37]研究发现,在慢性青光眼模型中 3-MA 可抑制 Müller 细胞活化,同时 RGCs 凋亡减少。上述研究结果提示自噬可能参与了胶质细胞活化诱导的 RGCs 凋亡。

自噬参与氧化应激诱导的 RGCs 凋亡。ROS 可造成 RGCs 线粒体损伤。线粒体损伤后,一方面,其外膜发生赖氨酸 63 位连接的泛素化,诱导线粒体自噬;另一方面,线粒体膜通透性增加,释放细胞色素 C,引发细胞凋亡^[52]。现有的研究认为线粒体自噬可能是自噬抑制凋亡的主要机制,其原因是线粒体损伤后更倾向于发生细胞凋亡,通过自噬清除功能受损的线粒体可降低凋亡的发生率^[47]。Rodríguez-Muela 等^[53]切断小鼠视神经后观察到线粒体受损且 ROS 产生增多。体外实验中使用雷帕霉素诱导自噬,RGC-5 线粒体跨膜电位保持不变,ROS 产生减少,采用 3-MA 抑制自噬则效果相反。该研究表明自噬可能通过清除 RGCs 中的受损线粒体,减少细胞凋亡发生,从而对发生氧化应激的 RGCs 起到一定的保护作用。

3.4 自噬与遗传性视神经变性

由于基因突变导致青光眼发病的研究相对少见,现有的研究表明,该过程中常涉及自噬机制失调。常染色体显性视神经萎缩 (autosomal dominant optic atrophy, ADOA) 是常见的原发性遗传性视神经病变。视神经萎缩基因 1 (optic atrophy 1, *OPA1*) 突变可导致 ADOA。*OPA1* 突变的小鼠主要表现为 RGCs 数量减少,同时在 RGCs 及其轴突中出现大量自噬体。此外,自噬体

增多的时间早于线粒体损伤和轴突退化,这说明在 ADOA 发病早期自噬具有重要作用^[54]。Sarzi 等^[55]在 *OPA1^{delTTAC}* 突变的小鼠模型中也观察到了类似的现象。ADOA 中自噬激活是否有利于 RGCs 及其机制均有待进一步研究。

OPTN 基因编码 optineurin/OPTN 蛋白, *OPTN* 基因突变与正常眼压性青光眼的发生有关。与野生型 *OPTN* 相比,突变型 E50K 和 M98K 可诱导更多的 RGCs 死亡。OPTN 蛋白可作为受体直接与 LC3 结合参与自噬的调控^[56]。目前对 E50K-OPTN 的研究较多,雷帕霉素可减少 E50K 突变导致的 RGCs 凋亡^[57-58]。Liu 等^[59]通过生物信息学研究发现 E50K-OPTN 小鼠存在蛋白质合成失调、自噬-溶酶体通路功能障碍等问题。与 E50K-OPTN 不同,在 M98K-OPTN 相关实验中发现,敲除 *Atg5* 可减少 RGCs 凋亡^[60]。二者导致 RGCs 凋亡的机制不同,这也反映了青光眼发病机制的复杂性。

4 自噬与青光眼的治疗

4.1 基因调控自噬保护 RGCs

有相关报道在细胞中可通过调控 *Atg* 保护 RGCs。Chalasanani 等^[57]通过突变 LC3 与 E50K-OPTN 的结合位点,使 E50K-OPTN 不能参与自噬过程,结果发现 RGC-5 死亡减少。Sirohi 等^[60]发现在 LC3 与 M98K-OPTN 的结合位点突变后,得到了同样的结论。同时,敲除 RGC-5 中的 *Atg5* 也可减少由 M98K-OPTN 诱导的 RGC-5 死亡。在动物实验中也有研究发现,调控 *Atg* 可减少 RGCs 死亡。Rodríguez-Muela 等^[53]在 *Atg4B^{-/-}* 及特异性敲除 RGCs *Atg5* 的小鼠中切断其视神经,实验组视神经切断小鼠较野生型视神经切断小鼠 RGCs 的存活率高。以上结果表明,干预 *Atg* 是一种保护 RGCs 的潜在治疗手段。

4.2 药物调控自噬保护 RGCs

研究发现自噬诱导剂可延缓或减少 RGCs 损伤。(1)常用的自噬诱导剂雷帕霉素除能够直接作用于哺乳动物 mTOR 位点诱导自噬外,还能影响 Akt 信号通路,增加其磷酸化蛋白,有利于 RGCs 存活^[39,49]。有报道发现雷帕霉素可以清除积累的 E50K 突变蛋白,可能有助于治疗 E50K 突变诱发的正常眼压性青光眼^[56]。(2)褪黑素可通过抑制 mTOR 通路诱导自噬,减少外伤性视神经损伤中的 RGCs 凋亡,对神经元有保护作用^[61]。(3) β 肾上腺素受体阻断剂普萘洛尔是临床一线抗青光眼降眼压药物。有研究显示,普萘洛尔亦可诱导自噬并减少 RGCs 凋亡^[62]。(4)在大鼠青光眼模型中,玻璃体腔内注射别孕烷醇酮或雷帕霉素均可通过提高自噬水平减少 RGCs 凋亡^[63]。

另一方面,抑制自噬在一定程度上也可以减少 RGCs 凋亡。自噬抑制剂 3-MA 是一种 PI3K 蛋白的选择性抑制剂,PI3K 蛋白与 beclin-1 结合召集自噬泡形成所需的吞噬泡膜。研究发现 3-MA 有阻断凋亡信号通路的作用,因此推测 3-MA 可能通过阻止早期自噬来减少 RGCs 凋亡^[64]。

综上所述,自噬与青光眼的发生和发展密切相关。自噬在青光眼发病机制中的复杂作用与多种因素有关,仍不能得出系统性的结论。目前,自噬调控 RGCs 凋亡的具体分子机制、调控

自噬是否会影响到其他视网膜细胞存活、小分子自噬抑制剂或诱导剂的最佳治疗时间等问题仍有待进一步研究阐明。因此,如何通过调控自噬减少青光眼视神经损伤仍需进一步研究探索,加强对自噬在青光眼发病机制中的认识为临床治疗青光眼提供了新的思路。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Quigley HA, Broman AT. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020 [J]. Br J Ophthalmol, 2006, 90(3): 262-267. DOI: 10.1136/bjo.2005.081224.
- [2] Frost LS, Mitchell CH, Boesze-Battaglia K. Autophagy in the eye: implications for ocular cell health [J]. Exp Eye Res, 2014, 124: 56-66. DOI: 10.1016/j.exer.2014.04.010.
- [3] Chang EE, Goldberg JL. Glaucoma 2.0: neuroprotection, neuroregeneration, neuroenhancement [J]. Ophthalmology, 2012, 119(5): 979-986. DOI: 10.1016/j.ophtha.2011.11.003.
- [4] Jindal V. Glaucoma: an extension of various chronic neurodegenerative disorders [J]. Mol Neurobiol, 2013, 48(1): 186-189. DOI: 10.1007/s12035-013-8416-8.
- [5] Jiang S, Kametani M, Chen DF. Adaptive immunity: new aspects of pathogenesis underlying neurodegeneration in glaucoma and optic neuropathy [J/OL]. Front Immunol, 2020, 11: 65 [2021-06-01]. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32117239/. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00065.
- [6] 傅诗雅, 张旭. 青光眼动物模型中自噬与视网膜神经节细胞的关系 [J]. 中华实验眼科杂志, 2017, 35(2): 180-183. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.02.018.
Fu SY, Zhang X. Relationship between autophagy and retinal ganglion cells in animal models of glaucoma [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2017, 35(2): 180-183. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.02.018.
- [7] 许毓鹏, 许迅. 自噬与青光眼视神经病变相关性研究进展 [J]. 中华实验眼科杂志, 2015, 33(3): 284-288. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.03.020.
Xu YP, Xu X. Current researches in correlation between autophagy and glaucomatous optic neuropathy [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2015, 33(3): 284-288. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.03.020.
- [8] 王余萍, 王靖, 袁源智. 压力升高诱导的视网膜神经节细胞-5 的凋亡和自噬 [J]. 中华实验眼科杂志, 2017, 35(4): 293-298. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.04.002.
Wang YP, Wang J, Yuan YZ. Apoptosis and autophagy of retinal ganglion cell-5 cells induced by hydrostatic pressure [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2017, 35(4): 293-298. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.04.002.
- [9] Rubinsztein DC, Mariño G, Kroemer G. Autophagy and aging [J]. Cell, 2011, 146(5): 682-695. DOI: 10.1016/j.cell.2011.07.030.
- [10] Shen S, Kepp O, Kroemer G. The end of autophagic cell death? [J]. Autophagy, 2012, 8(1): 1-3. DOI: 10.4161/auto.8.1.16618.
- [11] Wang Y, Huang C, Zhang H, et al. Autophagy in glaucoma: crosstalk with apoptosis and its implications [J]. Brain Res Bull, 2015, 117: 1-9. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2015.06.001.
- [12] Khaminets A, Behl C, Dikic I. Ubiquitin-dependent and independent signals in selective autophagy [J]. Trends Cell Biol, 2016, 26(1): 6-16. DOI: 10.1016/j.tcb.2015.08.010.
- [13] Lin WJ, Kuang HY. Oxidative stress induces autophagy in response to multiple noxious stimuli in retinal ganglion cells [J]. Autophagy, 2014, 10(10): 1692-1701. DOI: 10.4161/auto.36076.
- [14] Mizushima N, Yoshimori T, Levine B. Methods in mammalian autophagy research [J]. Cell, 2010, 140(3): 313-326. DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.028.

- [15] Chang TK, Shrivage BV, Hayes SD, et al. Uba1 functions in Atg7- and Atg3-independent autophagy [J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(9): 1067-1078. DOI: 10.1038/ncb2804.
- [16] Maiuri MC, Le Toumelin G, Criollo A, et al. Functional and physical interaction between Bcl-X_L and a BH3-like domain in Beclin-1 [J]. *EMBO J*, 2007, 26(10): 2527-2539. DOI: 10.1038/sj.emboj.7601689.
- [17] Ohsumi Y. Molecular dissection of autophagy: two ubiquitin-like systems [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001, 2(3): 211-216. DOI: 10.1038/35056522.
- [18] Mizushima N, Yoshimori T. How to interpret LC3 immunoblotting [J]. *Autophagy*, 2007, 3(6): 542-545. DOI: 10.4161/autophagy.4600.
- [19] Bjørkøy G, Lamark T, Pankiv S, et al. Monitoring autophagic degradation of p62/SQSTM1 [J]. *Methods Enzymol*, 2009, 452: 181-197. DOI: 10.1016/S0076-6879(08)03612-4.
- [20] Liton PB, Lin Y, Gonzalez P, et al. Potential role of lysosomal dysfunction in the pathogenesis of primary open angle glaucoma [J]. *Autophagy*, 2009, 5(1): 122-124. DOI: 10.4161/autophagy.5.1.7304.
- [21] Saccà SC, Pascotto A, Camicione P, et al. Oxidative DNA damage in the human trabecular meshwork: clinical correlation in patients with primary open-angle glaucoma [J]. *Arch Ophthalmol*, 2005, 123(4): 458-463. DOI: 10.1001/archoph.123.4.458.
- [22] Izzotti A, Saccà SC, Longobardi M, et al. Sensitivity of ocular anterior chamber tissues to oxidative damage and its relevance to the pathogenesis of glaucoma [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(11): 5251-5258. DOI: 10.1167/iovs.09-3871.
- [23] Porter K, Nallathambi J, Lin Y, et al. Lysosomal basification and decreased autophagic flux in oxidatively stressed trabecular meshwork cells: implications for glaucoma pathogenesis [J]. *Autophagy*, 2013, 9(4): 581-594. DOI: 10.4161/autophagy.23568.
- [24] Liton PB. The autophagic lysosomal system in outflow pathway physiology and pathophysiology [J]. *Exp Eye Res*, 2016, 144: 29-37. DOI: 10.1016/j.exer.2015.07.013.
- [25] Xu P, Lin Y, Porter K, et al. Ascorbic acid modulation of iron homeostasis and lysosomal function in trabecular meshwork cells [J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2014, 30(2-3): 246-253. DOI: 10.1089/jop.2013.0183.
- [26] He JN, Zhang SD, Qu Y, et al. Rapamycin removes damaged mitochondria and protects human trabecular meshwork (TM-1) cells from chronic oxidative stress [J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(9): 6586-6593. DOI: 10.1007/s12035-019-1559-5.
- [27] Pulliero A, Seydel A, Camoirano A, et al. Oxidative damage and autophagy in the human trabecular meshwork as related with ageing [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): e98106 [2021-06-03]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24945152/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0098106.
- [28] Kurz DJ, Decary S, Hong Y, et al. Senescence-associated (beta)-galactosidase reflects an increase in lysosomal mass during replicative ageing of human endothelial cells [J]. *J Cell Sci*, 2000, 113(Pt 20): 3613-3622.
- [29] Porter K, Hirt J, Stamer WD, et al. Autophagic dysregulation in glaucomatous trabecular meshwork cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852(3): 379-385. DOI: 10.1016/j.bbdis.2014.11.021.
- [30] Porter KM, Jeyabalan N, Liton PB. MTOR-independent induction of autophagy in trabecular meshwork cells subjected to biaxial stretch [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(6): 1054-1062. DOI: 10.1016/j.bbamer.2014.02.010.
- [31] Shim MS, Nettesheim A, Dixon A, et al. Primary cilia and the reciprocal activation of AKT and SMAD2/3 regulate stretch-induced autophagy in trabecular meshwork cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, 118(13): e2021942118 [2021-08-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33753495/>. DOI: 10.1073/pnas.2021942118.
- [32] Bradley JM, Kelley MJ, Rose A, et al. Signaling pathways used in trabecular matrix metalloproteinase response to mechanical stretch [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44(12): 5174-5181. DOI: 10.1167/iovs.03-0213.
- [33] Hirt J, Liton PB. Autophagy and mechanotransduction in outflow pathway cells [J]. *Exp Eye Res*, 2017, 158: 146-153. DOI: 10.1016/j.exer.2016.06.021.
- [34] Acott TS, Kelley MJ, Keller KE, et al. Intraocular pressure homeostasis: maintaining balance in a high-pressure environment [J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2014, 30(2-3): 94-101. DOI: 10.1089/jop.2013.0185.
- [35] Arndt V, Dick N, Tawo R, et al. Chaperone-assisted selective autophagy is essential for muscle maintenance [J]. *Curr Biol*, 2010, 20(2): 143-148. DOI: 10.1016/j.cub.2009.11.022.
- [36] Raghunathan VK, Morgan JT, Dreier B, et al. Role of substratum stiffness in modulating genes associated with extracellular matrix and mechanotransducers YAP and TAZ [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(1): 378-386. DOI: 10.1167/iovs.12-11007.
- [37] Piras A, Gianetto D, Conte D, et al. Activation of autophagy in a rat model of retinal ischemia following high intraocular pressure [J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22514 [2021-06-07]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3142183/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0022514.
- [38] Prodit-Zengaffinen N, Pournaras CJ, Schorderet DF. Autophagy induction does not protect retina against apoptosis in ischemia/reperfusion model [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2014, 801: 677-683. DOI: 10.1007/978-1-4614-3209-8_85.
- [39] Russo R, Varano GP, Adornetto A, et al. Rapamycin and fasting sustain autophagy response activated by ischemia/reperfusion injury and promote retinal ganglion cell survival [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(10): 981 [2021-06-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33753495/>. DOI: 10.1038/s41419-018-1044-5.
- [40] Lee SH, Shim KS, Kim CY, et al. Characterization of the role of autophagy in retinal ganglion cell survival over time using a rat model of chronic ocular hypertension [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 5767 [2021-08-01]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33707562/>. DOI: 10.1038/s41598-021-85181-x.
- [41] Park HY, Kim JH, Park CK. Activation of autophagy induces retinal ganglion cell death in a chronic hypertensive glaucoma model [J]. *Cell Death Dis*, 2012, 3: e290 [2021-06-07]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3358006/>. DOI: 10.1038/cddis.2012.26.
- [42] Park HL, Kim JH, Park CK. Different contributions of autophagy to retinal ganglion cell death in the diabetic and glaucomatous retinas [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 13321 [2021-06-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30190527/>. DOI: 10.1038/s41598-018-30165-7.
- [43] Kitaoka Y, Munemasa Y, Kojima K, et al. Axonal protection by Nmnat3 overexpression with involvement of autophagy in optic nerve degeneration [J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4: e860 [2021-06-07]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3920931/>. DOI: 10.1038/cddis.2013.391.
- [44] Sternberg C, Benchimol M, Linden R. Caspase dependence of the death of neonatal retinal ganglion cells induced by axon damage and induction of autophagy as a survival mechanism [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2010, 43(10): 950-956. DOI: 10.1590/s0100-879x2010007500082.
- [45] Knöferle J, Koch JC, Ostendorf T, et al. Mechanisms of acute axonal degeneration in the optic nerve *in vivo* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(13): 6064-6069. DOI: 10.1073/pnas.0909794107.
- [46] Kim SH, Munemasa Y, Kwong JM, et al. Activation of autophagy in retinal ganglion cells [J]. *J Neurosci Res*, 2008, 86(13): 2943-2951. DOI: 10.1002/jnr.21738.
- [47] Qu J, Wang D, Grosskreutz CL. Mechanisms of retinal ganglion cell injury and defense in glaucoma [J]. *Exp Eye Res*, 2010, 91(1): 48-53. DOI: 10.1016/j.exer.2010.04.002.
- [48] 薛博, 季敏, 管怀进. 青光眼疾病中视网膜胶质细胞的作用 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2016, 34(7): 649-653. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.07.016.



- Xue B, Ji M, Guan HJ. Current researches on effects of retinal neuroglial cells in glaucoma [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2016, 34(7): 649-653. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 07. 016.
- [49] Su W, Li Z, Jia Y, et al. Rapamycin is neuroprotective in a rat chronic hypertensive glaucoma model [J/OL]. PLoS One, 2014, 9(6): e99719 [2021-06-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30830938/>. DOI: 10. 1371/journal.pone. 0099719.
- [50] Bringmann A, Wiedemann P. Müller glial cells in retinal disease [J]. Ophthalmologica, 2012, 227(1): 1-19. DOI: 10. 1159/000328979.
- [51] Lee S, Van Bergen NJ, Kong GY, et al. Mitochondrial dysfunction in glaucoma and emerging bioenergetic therapies [J]. Exp Eye Res, 2011, 93(2): 204-212. DOI: 10. 1016/j. exer. 2010. 07. 015.
- [52] Mariño G, Niso-Santano M, Baehrecke EH, et al. Self-consumption; the interplay of autophagy and apoptosis [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(2): 81-94. DOI: 10. 1038/nrm3735.
- [53] Rodríguez-Muela N, Germain F, Mariño G, et al. Autophagy promotes survival of retinal ganglion cells after optic nerve axotomy in mice [J]. Cell Death Differ, 2012, 19(1): 162-169. DOI: 10. 1038/cdd. 2011. 88.
- [54] White KE, Davies VJ, Hogan VE, et al. OPA1 deficiency associated with increased autophagy in retinal ganglion cells in a murine model of dominant optic atrophy [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2009, 50(6): 2567-2571. DOI: 10. 1167/iovs. 08-2913.
- [55] Sarzi E, Angebault C, Seveno M, et al. The human OPA1^{delTTAG} mutation induces premature age-related systemic neurodegeneration in mouse [J]. Brain, 2012, 135(Pt 12): 3599-3613. DOI: 10. 1093/brain/aw3303.
- [56] Swarup G, Sayyad Z. Altered functions and interactions of glaucoma-associated mutants of optineurin [J/OL]. Front Immunol, 2018, 9: 1287 [2021-06-07]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6008547/>. DOI: 10. 3389/fimmu. 2018. 01287.
- [57] Chalasani ML, Kumari A, Radha V, et al. E50K-OPTN-induced retinal cell death involves the Rab GTPase-activating protein, TBC1D17 mediated block in autophagy [J/OL]. PLoS One, 2014, 9(4): e95758 [2021-06-07]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3994150/>. DOI: 10. 1371/journal.pone. 0095758.
- [58] Chi ZL, Akahori M, Obazawa M, et al. Overexpression of optineurin E50K disrupts Rab8 interaction and leads to a progressive retinal degeneration in mice [J]. Hum Mol Genet, 2010, 19(13): 2606-2615. DOI: 10. 1093/hmg/ddq146.
- [59] Liu X, Wang Q, Shao Z, et al. Proteomic analysis of aged and OPTN E50K retina in the development of normal tension glaucoma [J]. Hum Mol Genet, 2021, 30(11): 1030-1044. DOI: 10. 1093/hmg/ddab099.
- [60] Sirohi K, Chalasani ML, Sudhakar C, et al. M98K-OPTN induces transferrin receptor degradation and RAB12-mediated autophagic death in retinal ganglion cells [J]. Autophagy, 2013, 9(4): 510-527. DOI: 10. 4161/auto. 23458.
- [61] Wei J, Ma LS, Liu DJ, et al. Melatonin regulates traumatic optic neuropathy via targeting autophagy [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(21): 4946-4951.
- [62] Cammalleri M, Locri F, Catalani E, et al. The beta adrenergic receptor blocker propranolol counteracts retinal dysfunction in a mouse model of oxygen induced retinopathy; restoring the balance between apoptosis and autophagy [J/OL]. Front Cell Neurosci, 2017, 11: 395 [2021-06-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29375312/>. DOI: 10. 3389/fncel. 2017. 00395.
- [63] Ishikawa M, Takaseki S, Yoshitomi T, et al. The neurosteroid allopregnanolone protects retinal neurons by effects on autophagy and GABRs/GABAA receptors in rat glaucoma models [J]. Autophagy, 2021, 17(3): 743-760. DOI: 10. 1080/15548627. 2020. 1731270.
- [64] Wang Y, Dong XX, Cao Y, et al. p53 induction contributes to excitotoxic neuronal death in rat striatum through apoptotic and autophagic mechanisms [J]. Eur J Neurosci, 2009, 30(12): 2258-2270. DOI: 10. 1111/j. 1460-9568. 2009. 07025. x.

(收稿日期: 2021-07-12 修回日期: 2021-08-15)

(本文编辑: 刘艳 施晓萌)

读者 · 作者 · 编者

本刊对基金项目的证明和著录要求

文稿所涉及的课题如为国家级、部级、省级等基金资助项目,请分别用中英文表述并分别列于文章中英文摘要关键词之下,“基金项目:”进行标识,并注明基金项目名称,并在圆括号内注明基金项目编号。基金项目名称应按国家有关部门规定的正式名称填写,多个基金资助的项目请全部列出,按资助机构的等级顺序排列,并以“;”隔开。如:基金项目:国家自然科学基金项目(30271269);国家重点基础研究发展规划(973计划)(2013CB532002);Fund program: National Natural Science Foundation of China(30271269); National Key Basic Research Program of China(973 Program)(2013CB532002)。获得基金项目资助的论文投稿时需提供基金项目资助证明的复印件或扫描后发至编辑部信箱。

本刊对一稿两投的处理

作者投稿请勿一稿两投或一稿多投。本刊编辑部发现一稿两投并经证实后,稿件将不予审理并对作者进行告知。如果发现一稿两用,本刊将做出如下处理:(1)在本刊杂志及网站上刊登撤销该论文及该文系重复发表的声明,并在中华医学会系列杂志上通报。(2)向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。(3)2年内拒绝发表其作为第一作者或通信作者的任何来稿。

文章未在公开发表物上发表者、以不同文字分别投往国外期刊和国内期刊以供不同受众者阅读者不属于一稿两投的行为,但本刊严格遵照国际医学期刊编辑委员会《国际生物医学期刊投稿统一要求》(http://www.icmje.org/urm_main.html),属于以不同语言文字二次发表者,请作者在首次接受稿件的期刊发表后1周再另行投稿,并请提供首次发表期刊同意以不同语言发表的同意函。

(本刊编辑部)