

# 视网膜色素上皮细胞表达 IL-1 $\beta$ 和 IL-6 与细胞自噬的关系

罗永锋<sup>1</sup>, 李蓉<sup>2</sup>, 王强<sup>3</sup>, 姚杨<sup>4</sup>

引用:罗永锋,李蓉,王强,等. 视网膜色素上皮细胞表达 IL-1 $\beta$  和 IL-6 与细胞自噬的关系. 国际眼科杂志 2019;19(3):368-372

基金项目:国家自然科学基金项目(No.81500726);西安市科技局医学研究项目[No.201805097YX5SF31(4)];陕西省普通高校“青年杰出人才”支持计划

作者单位:<sup>1</sup>(467100)中国河南省郑县光明眼科医院;(710077)中国陕西省西安市,西安医学院第一附属医院<sup>2</sup>眼科;<sup>3</sup>感染控制科;<sup>4</sup>中心实验室

作者简介:罗永锋,男,毕业于哈尔滨医科大学,硕士,主治医师,研究方向:白内障、青光眼、视网膜疾病。

通讯作者:王强,男,毕业于苏州大学,学士,主治医师,主任,研究方向:炎症性疾病的基础与临床研究、感染性疾病防控。fangganke@163.com

收稿日期:2018-08-30 修回日期:2019-01-31

## 摘要

**目的:**研究细胞自噬在缺氧条件下视网膜色素上皮(RPE)细胞表达炎性因子 IL-1 $\beta$  和 IL-6 中的作用。

**方法:**将体外培养的人 RPE 细胞系随机分为缺氧组、3-甲基腺嘌呤(3-MA)+缺氧组、氯喹(CQ)+缺氧组和对照组。培养 24h 后采用 Western blot 法检测各组细胞的自噬关键蛋白微管相关蛋白 1 轻链 3B(LC3B)、Beclin-1 及 p62 的相对表达水平;采用 ELISA 法检测各组细胞上清液中 IL-1 $\beta$  和 IL-6 的浓度。

**结果:**缺氧组 IL-1 $\beta$  和 IL-6 的浓度明显高于对照组、3-MA+缺氧组和 CQ+缺氧组(均  $P < 0.01$ )。缺氧组细胞中 LC3B-II/I 和 Beclin-1 的相对蛋白表达量均明显高于对照组和 3-MA+缺氧组,缺氧组中 LC3B-II/I 的相对蛋白表达量低于 CQ+缺氧组(均  $P < 0.01$ )。缺氧组细胞中 p62 相对蛋白表达量明显低于对照组、3-MA+缺氧组和 CQ+缺氧组(均  $P < 0.01$ )。

**结论:**缺氧使 RPE 细胞 LC3B-II/I、Beclin-1 表达增强,p62 表达减弱,并促进细胞分泌 IL-1 $\beta$  和 IL-6,自噬抑制剂 3-MA 和 CQ 能够减少 RPE 细胞表达 IL-1 $\beta$  和 IL-6。

**关键词:**自噬;炎症;IL-1 $\beta$ ;IL-6;视网膜色素上皮;缺氧  
DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.3.04

## Study on the relationship between the expression of IL-1 $\beta$ and IL-6 by retinal pigment epithelium cells and cellular autophagy

Yong - Feng Luo<sup>1</sup>, Rong Li<sup>2</sup>, Qiang Wang<sup>3</sup>, Yang Yao<sup>4</sup>

**Foundation items:** National Nature Science Foundation of China (No.81500726); Medical Research Project of Xi'an Science and

Technology Bureau [No.201805097YX5SF31(4)]; Young Talent Training Plan in Regular Colleges and Universities of Shaanxi

<sup>1</sup>Guang Ming Eye Hospital, Jia County 467100, Henan Province, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology; <sup>3</sup>Department of Infection Control; <sup>4</sup>Department of Central Laboratory, the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an 710077, Shaanxi Province, China

**Correspondence to:** Qiang Wang, Department of Infection Control, the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an 710077, Shaanxi Province, China. fangganke@163.com

Received:2018-08-30 Accepted:2019-01-31

## Abstract

• **AIM:** To investigate the role of cellular autophagy in the expression of IL-1 $\beta$  and IL-6 by retinal pigment epithelium (RPE) cells under hypoxia.

• **METHODS:** A cultured human RPE cell line was randomly divided into the hypoxia group, 3-methyladenine (3-MA) + hypoxia group, chloroquine (CQ) + hypoxia group and the control group. Cells incubated in a hypoxic incubator were set as the hypoxia group. After culture for 24h, western blot was used to analyze the relative expression of autophagy-associated key proteins in each group, including microtubule associated protein 1 light chain 3B (LC3B), Beclin-1 and p62. Then, ELISA was applied to detect the concentration of IL-1 $\beta$  and IL-6 in the cell culture supernatants.

• **RESULTS:** The concentration of IL-1 $\beta$  and IL-6 in the hypoxia group was significantly higher than that in the control group 3-MA+ hypoxia group and CQ+ hypoxia group (all  $P < 0.01$ ). The relative expression of LC3B-II/I and Beclin-1 in the hypoxia group was significantly higher than that in the control group and 3-MA+ hypoxia group. The relative expression of LC3B-II/I in the hypoxia group was significantly lower than that in the CQ+ hypoxia group (all  $P < 0.01$ ). The relative expression of p62 in the hypoxia group was significantly lower than that in the control group, 3-MA+ hypoxia group and CQ+ hypoxia group (all  $P < 0.01$ ).

• **CONCLUSION:** Hypoxia can enhance the expression of LC3B-II/I and Beclin-1 in RPE cells, weaken the expression of p62, and promote the secretion of IL-1 $\beta$  and IL-6. Autophagy inhibitors 3-MA and CQ can reduce the expression of IL-1 $\beta$  and IL-6 in RPE cells.

• **KEYWORDS:** autophagy; inflammation; IL-1 $\beta$ ; IL-6; RPE; hypoxia

**Citation:** Luo YF, Li R, Wang Q, et al. Study on the relationship between the expression of IL-1 $\beta$  and IL-6 by retinal pigment epithelium cells and cellular autophagy. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2019;19(3):368-372

## 0 引言

细胞自噬是一种普遍存在于真核生物中的溶酶体降解途径,能对损伤的细胞器和毒性蛋白聚合物等细胞内产物进行包裹、消化、降解和再利用,以满足细胞自身的代谢需要以及细胞器的更新<sup>[1-2]</sup>。自噬在衰老、肿瘤、炎症、神经退行性疾病中起重要作用,故已成为目前生物学领域的研究热点。炎症反应的发生在很大程度上与细胞自噬存在密切关联,其机制涵盖多个方面,并且在眼科疾病中可能发挥重要作用<sup>[3]</sup>。

视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)是一种具有多种复杂生理生化功能的色素细胞,分泌的多种生长因子可影响神经视网膜细胞及其自身的生理特性,也与眼部疾病的发生密切相关<sup>[4]</sup>。在正常生理条件下,炎性细胞因子主要由单核巨噬细胞产生,病理条件下神经胶质细胞、RPE细胞等也可分泌<sup>[5]</sup>。炎性因子IL-1 $\beta$ 和IL-6具有多种生物功能活性,与机体免疫、各种器官的生理功能有关,目前对于RPE细胞表达IL-1 $\beta$ 和IL-6与细胞自噬的关系尚不清楚。LC3、Beclin-1和p62等是参与自噬体或自噬溶酶体形成的关键蛋白,近年来作为自噬标记物被广泛用于相关研究中<sup>[6-7]</sup>。3-甲基腺嘌呤(3-MA)和氯喹(CQ)是两种应用广泛的自噬抑制剂,分别作用于自噬的早期和晚期阶段。基于此,本研究观察细胞自噬在缺氧条件下RPE细胞表达IL-1 $\beta$ 和IL-6中的作用。

## 1 对象和方法

**1.1 对象** ARPE-19细胞系(武汉普诺赛生命科技有限公司);DMEM/F12培养基(美国Gibco公司);3-MA(美国Selleck公司);CQ(美国Sigma公司);兔抗人LC3B多克隆抗体(美国CST公司);兔抗人Beclin-1多克隆抗体(美国CST公司);兔抗人p62多克隆抗体(美国CST公司);兔抗人GAPDH多克隆抗体(杭州贤至生物有限公司);HRP标记羊抗兔二抗(武汉博士德生物工程有限公司);人IL-1 $\beta$ 和IL-6 ELISA试剂盒(欣博盛生物科技有限公司)。三气培养箱(上海力申科学仪器有限公司, HF-100型);倒置相差显微镜(日本Olympus公司, IX51型);全自动酶标仪(美国Thermo scientific公司, Multiskan MK3型)。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养及分组** 用不含EDTA的0.25%胰酶消化ARPE-19细胞,用含10% FBS+1%青霉素和链霉素的DMEM/F12培养基终止消化,轻轻吹打混匀成单细胞悬液,传代至培养皿中,在37 $^{\circ}$ C、5% CO $_2$ 及饱和湿度条件下培养。取对数生长期、生长状态良好的细胞(5~10代)接种于6孔板,每孔 $5 \times 10^5$ 个细胞。待细胞贴壁后将细胞分为缺氧组、3-MA+缺氧组、CQ+缺氧组、正常对照组,其中缺氧组细胞置于O $_2$ :CO $_2$ :N $_2$ 体积比为1:5:94的培养箱中培养24h;3-MA+缺氧组细胞先用10mmol/L 3-MA预处理2h,然后处理方法同缺氧组;CQ+缺氧组细胞先用50 $\mu$ mol/L CQ预处理2h,然后处理方法同缺氧组。对照组细胞在正常氧条件下培养。

**1.2.2 ELISA** 所有分组的细胞因子均采用酶联免疫吸附剂测定分析方法(ELISA)进行检测,具体参照说明书进行操作。分别设空白孔、标准孔、待测样品孔。空白孔加标准品和样品稀释液100 $\mu$ L,余孔分别加标准品或待测样

品100 $\mu$ L。酶标板覆膜,36 $^{\circ}$ C孵育90min。充分洗板后空白孔加入生物素化抗体稀释液,其余孔中加入生物素化抗体工作液100 $\mu$ L,覆膜后36 $^{\circ}$ C温育1h。充分洗板后向空白孔加入酶结合稀释液,其余孔加酶结合物工作液100 $\mu$ L,覆膜后36 $^{\circ}$ C温育30min。洗板后每孔加显色剂(TMB)100 $\mu$ L,酶标板上覆膜在37 $^{\circ}$ C避光孵育15min,每孔加终止液100 $\mu$ L,终止反应,用酶标仪在450nm波长测量各孔的光密度(OD值)。

**1.2.3 Western blot** 细胞处理完成之后,弃培养液,预冷PBS漂洗3次,加400 $\mu$ L含PMSF的裂解液使细胞充分裂解,离心提取细胞总蛋白,通过BCA法测定蛋白浓度。30%丙烯酰胺SDS-PAGE凝胶电泳后将蛋白转至PVDF膜,5%脱脂奶粉封闭液常温封闭2h;一抗孵育:将膜分别放入稀释好的抗体LC3B(1:1000)、Beclin-1(1:1000)、p62(1:1000)及GAPDH(1:1000)中,4 $^{\circ}$ C摇床过夜。用TBST洗膜3次,每次10min;二抗孵育:将膜放入用稀释液稀释好的HRP标记的二抗(1:50000)中避光常温孵育1~2h。用TBST洗膜3次,每次10min;ECL显色曝光,扫描胶片后使用BandScan系统软件分析蛋白条带。将目的蛋白LC3B、Beclin-1和p62与内参GAPDH灰度的比值作为目的蛋白的相对表达量。实验均在不同时间3次生物学重复。

统计学分析:采用统计软件SPSS20.0对数据进行处理及分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,计量资料均符合正态分布,方差齐,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 ARPE-19细胞形态** 培养24h在倒置显微镜下观察,ARPE-19细胞形态呈现扁圆形、梭形、多角形或者不规则形,贴壁良好,胞浆内未见明显黑色素颗粒。不同组之间的细胞形态未见明显差异,见图1。

**2.2 各组RPE细胞表达IL-1 $\beta$ 及IL-6的浓度比较** IL-1 $\beta$ 和IL-6浓度的标准曲线(图2)及相应的浓度方程为: $y = (-0.2463 + 311.0454x) / (1 + 0.1937x - 0.1366x^2)$ ,  $y = (0.9089 + 117.3496x) / (1 - 0.4715x + 0.0727x^2)$ ,获得各组细胞上清液中IL-1 $\beta$ 和IL-6的浓度。ELISA结果显示培养的细胞在未受到刺激的情况下仅仅产生少量的IL-1 $\beta$ 和IL-6。缺氧刺激之后,上清液中IL-1 $\beta$ 和IL-6的产量迅速增加,3-MA或CQ可以明显抑制IL-1 $\beta$ 和IL-6的产生(图3)。缺氧组、3-MA+缺氧组、CQ+缺氧组及对照组的IL-1 $\beta$ 浓度分别为 $195.01 \pm 5.62$ 、 $167.80 \pm 3.15$ 、 $131.78 \pm 5.38$ 、 $98.37 \pm 5.49$ pg/mL,总体比较差异有统计学意义( $F = 211.89$ ,  $P < 0.01$ )。两两比较发现,缺氧组的IL-1 $\beta$ 浓度明显高于对照组、3-MA+缺氧组和CQ+缺氧组,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。缺氧组、3-MA+缺氧组、CQ+缺氧组及对照组的IL-6浓度分别为 $252.32 \pm 12.48$ 、 $165.45 \pm 10.13$ 、 $90.07 \pm 5.37$ 和 $53.13 \pm 2.60$ pg/mL,总体比较差异有统计学意义( $F = 317.15$ ,  $P < 0.01$ )。两两比较发现,缺氧组的IL-6浓度明显高于对照组、3-MA+缺氧组和CQ+缺氧组,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ),见图3。

**2.3 各组RPE细胞自噬水平的比较** Western blot实验结

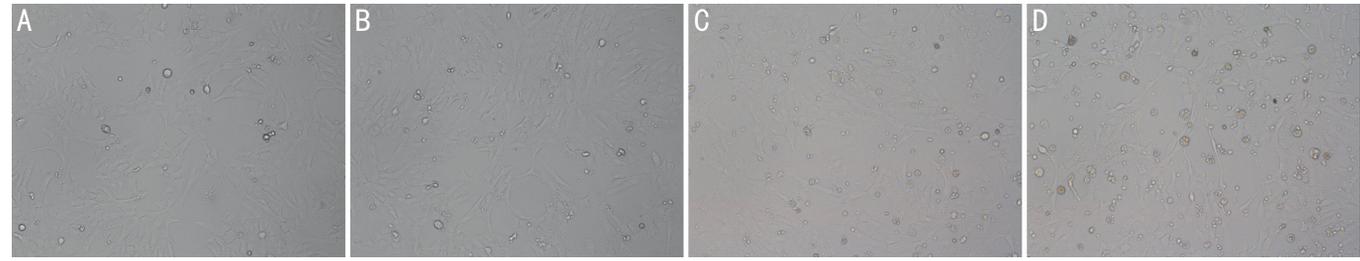


图1 倒置显微镜下观察 ARPE-19 细胞形态( $\times 100$ ) A:对照组;B:缺氧组;C:3-MA+缺氧组;D:CQ+缺氧组。

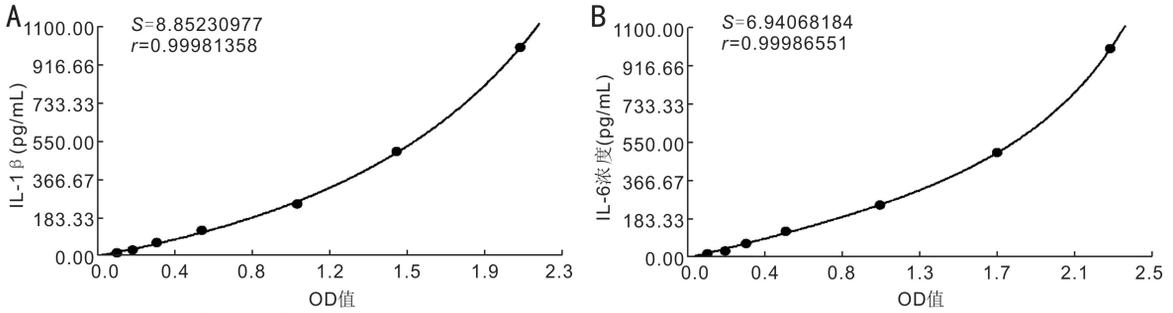


图2 IL-1 $\beta$  及 IL-6 的浓度标准曲线 A:IL-1 $\beta$ ;B:IL-6。

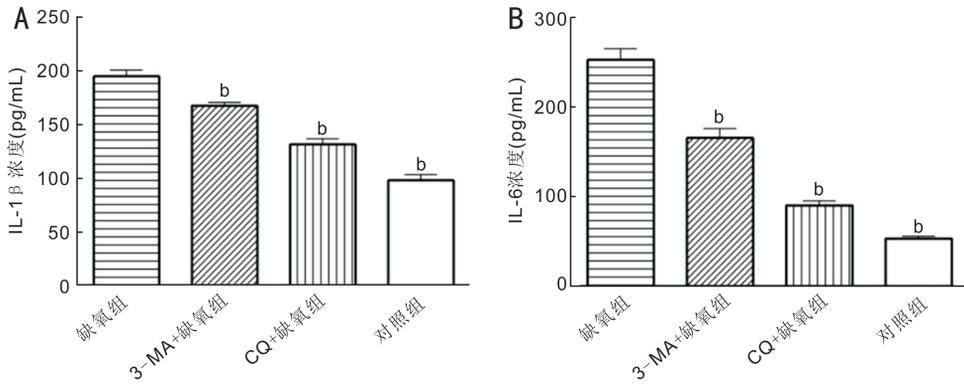


图3 ELISA 检测 IL-1 $\beta$  及 IL-6 浓度的统计柱状图 A:IL-1 $\beta$ ;B:IL-6。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 缺氧组。

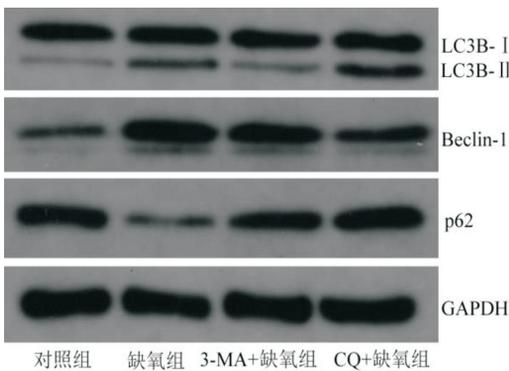


图4 Western blot 检测各组细胞 LC3B、Beclin-1 和 p62 的蛋白条带图。

果显示,与对照组比较,缺氧组细胞自噬激活,表现为 LC3B- II / I 比值、Beclin-1 这两种蛋白条带增强和 p62 蛋条带减弱。与缺氧组比较,当采用自噬抑制剂 3-MA 预处理细胞,LC3- II / I 及 Beclin-1 的表达则明显降低,p62 的表达明显升高;采用自噬抑制剂 CQ 预处理细胞,Beclin-1 的表达明显降低,LC3- II / I 及 p62 的表达明显升高,见图 4。缺氧组、3-MA+缺氧组、CQ+缺氧组及对照组细胞中的 LC3B-II/I、Beclin-1 及 p62 的相对蛋白表达量分别为(0.50 $\pm$ 0.05、0.34 $\pm$ 0.01、0.67 $\pm$ 0.05 和 0.24 $\pm$ 0.02)、

(0.97 $\pm$ 0.05、0.78 $\pm$ 0.06、0.54 $\pm$ 0.01 和 0.32 $\pm$ 0.03)和(0.32 $\pm$ 0.10、0.78 $\pm$ 0.08、0.96 $\pm$ 0.02 和 1.03 $\pm$ 0.02)。组间总体比较差异均有统计学意义(LC3B-II/I;  $F = 80.65$ ,  $P < 0.01$ ; Beclin-1;  $F = 139.29$ ,  $P < 0.01$ ; p62;  $F = 70.64$ ,  $P < 0.01$ )。之后两两比较发现,缺氧组细胞中 LC3B-II/I 和 Beclin-1 的相对蛋白表达量均明显高于对照组和 3-MA+缺氧组,缺氧组中 LC3B-II/I 的相对蛋白表达量低于 CQ+缺氧组,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。缺氧组细胞中 p62 相对蛋白表达量明显低于对照组、3-MA+缺氧组和 CQ+缺氧组,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ),见图 5。

### 3 讨论

RPE 细胞是一种具有多种复杂生理生化功能的色素细胞,在眼的发育和视觉功能中起着非常重要的作用<sup>[8]</sup>。在疾病状态下,视网膜细胞的结构和功能会发生改变,其中 RPE 细胞是病变的中心环节,其结构或功能异常会导致视网膜感光细胞功能受损、视网膜退化等疾病的发生。研究证实,RPE 细胞是参与增生性玻璃体视网膜病变、年龄相关性黄斑变性及糖尿病视网膜病变等的主要细胞,它分泌的 IL-1 $\beta$ 、IL-6 等炎症因子在趋化细胞移动、启动细胞增生、分泌胶原和纤维血管膜形成中可能发挥重要作用<sup>[9-12]</sup>。RPE 受刺激后能分泌 IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、干扰素- $\gamma$  和单核细胞趋化蛋白-1 等多种炎症细胞因

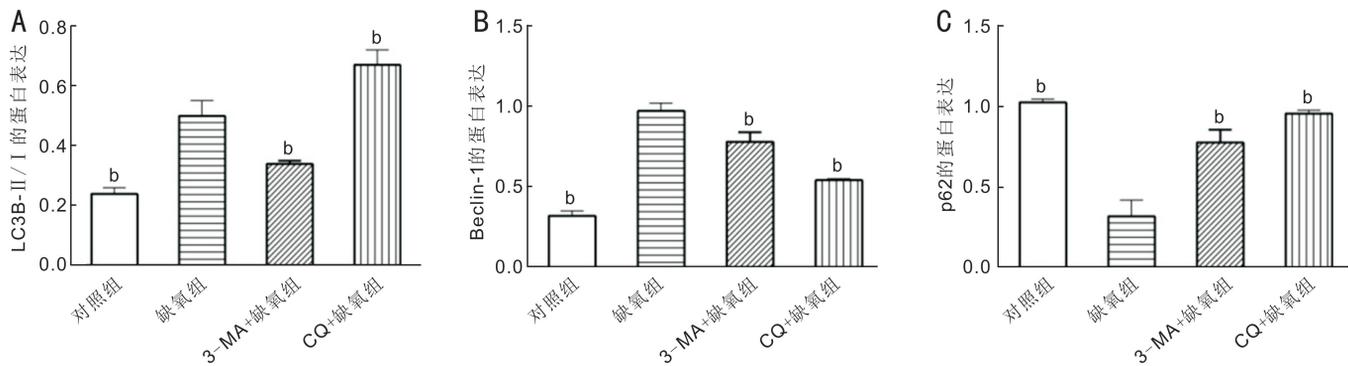


图5 各组细胞 LC3B-II/I、Beclin-1 和 p62 蛋白相对表达量的统计柱状图 A:LC3B-II/I 蛋白;B:Beclin-1 蛋白;C:p62 蛋白。  
<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 缺氧组。

子<sup>[13]</sup>。上述眼底疾病的发生与缺氧、慢性炎症密切相关。本研究以 ARPE-19 细胞(广泛用于眼底疾病研究的一种细胞模型)为研究对象,也发现在缺氧刺激条件下,RPE 细胞分泌 IL-1 $\beta$ 、IL-6 的水平升高,与上述文献报道的结果相符。

作为普遍存在于真核生物细胞内的一种机制,细胞自噬能对内环境稳定进行自我维持,且在生长、发育等多种生理活动中发挥重要作用,多种代谢应激可诱导自噬激活<sup>[1]</sup>。作为自噬标记蛋白,LC3、Beclin-1 和 p62 等被广泛用于自噬的研究中。LC3 是自噬相关蛋白 ATG8 在哺乳动物的类似物,参与前体膜的延长和闭合,也参与自噬体的形成,故 ATG8/LC3 是自噬的重要分子标记物<sup>[14]</sup>。LC3 在其 C 末端被 ATG4 剪切,形成 LC3-I。LC3-I 通过 ATG7 和 ATG3 与磷脂酰乙醇胺相结合形成酯化产物 LC3-II,特异性结合于自噬体膜上。LC3-II 始终稳定地保留在自噬体膜上直到与溶酶体融合。Beclin-1 是自噬相关蛋白 ATG6 在哺乳动物的类似物,是其他自噬蛋白基因参与自噬形成过程的必须成分<sup>[15]</sup>,当自噬被抑制时,Beclin-1 的表达降低。p62/SQSTM1 蛋白是一种同 LC3 相互作用的蛋白,对降解底物的识别和包裹起着关键作用,p62 的蛋白表达越低,说明底物降解越少,则自噬活性越强,即 p62 的水平与自噬活性呈负相关<sup>[16]</sup>。由于 LC3 抗体对 LC3-II 具有更高的亲和力,会造成假阳性结果,因此判断自噬活性的强弱还需同时考虑溶酶体活性的影响。在研究中需要结合 LC3-II 及 p62 的蛋白表达综合判断自噬活性的强弱。本研究发现在缺氧条件下,RPE 细胞的 LC3B-II/I (LC3B 是 LC3 的主要亚型)、Beclin-1 蛋白表达增加及 p62 蛋白表达下降,证实缺氧诱导了 RPE 细胞的自噬激活。

众所周知,视网膜对缺氧及继发的氧化应激高度敏感,故各种缺血性视网膜疾病,如糖尿病视网膜病变、视网膜静脉阻塞等都与缺氧密切相关。因此,本研究将缺氧作为刺激条件,观察 RPE 细胞功能与其自噬水平的关系。鉴于不同自噬抑制剂的作用机制存在差异,在本研究中我们采用了两种自噬抑制剂对 RPE 细胞进行了干预,以避免使用某一种抑制剂可能带来的结果偏差。其中,3-MA 是一种应用广泛的自噬抑制剂,它作用于自噬诱导阶段,特异性阻断自噬体的形成<sup>[17]</sup>,故作用后 LC3-II/I 及 Beclin-1 的表达降低,p62 的表达升高(不能被降解);CQ 是一种溶酶体自噬抑制剂,可以阻止晚期阶段自噬体与溶酶体的结合,抑制自噬的降解,使得自噬体在细胞内增加,

作用后会 LC3-I 向 LC3-II 的转换增加更为明显<sup>[18]</sup>,故作用后 LC3-II/I 及 p62 的表达升高,而 Beclin-1 的表达降低(自噬过程被抑制)。10mmol/L 是用 3-MA 处理 ARPE-19 细胞的常用浓度<sup>[19-20]</sup>,故本研究也采用了这一浓度。此外,有研究发现,10~30 $\mu$ g/mL CQ 不会影响细胞活力和代谢,且 10~20 $\mu$ g/mL 的浓度对细胞活力的影响无明显差异<sup>[21]</sup>。另一研究提示,10 $\mu$ mol/L CQ 作用于 ARPE-19 细胞 24h 不会导致细胞死亡,而在 250 $\mu$ mol/L 时几乎 100% 的细胞死亡,预测 LD50 介于 100~120 $\mu$ mol/L 之间<sup>[22]</sup>。因此,本研究选择 50 $\mu$ mol/L(即 16 $\mu$ g/mL)浓度的 CQ 来抑制自噬也是合理的。本研究发现缺氧刺激可促进 RPE 细胞表达 IL-1 $\beta$ 、IL-6,3-MA 或 CQ 处理后减少了二者的表达。3-MA 和 CQ 预处理得到的结果一致,证明抑制自噬能减少 RPE 细胞表达 IL-1 $\beta$  和 IL-6。

IL-1 $\beta$  是 IL-1 家族成员之一,是细胞间信号传递的基本的介质,具有多种生物功能活性,例如促进成纤维细胞增生、透明质酸酶和前胶原的合成等<sup>[5,23]</sup>。IL-6 是一种单链糖蛋白,是与机体免疫、各种器官生理功能有关的多向性细胞因子,调节细胞生长、分化、凋亡、转化及免疫反应<sup>[24-25]</sup>。目前,越来越多的研究认为自噬与机体免疫和炎症有着密切的关系,但在眼科的相关研究较少<sup>[3,26]</sup>。因此,本研究观察了不同刺激条件下 RPE 细胞分泌 IL-1 $\beta$  和 IL-6 的情况及其与细胞自噬的联系。结果表明,在缺氧刺激条件下 RPE 细胞自噬激活,表现为 LC3B-II/I、Beclin-1 表达增强,p62 表达减弱,同时细胞分泌 IL-1 $\beta$  和 IL-6 的水平升高,且采用自噬抑制剂 3-MA 和 CQ 能够减少 IL-1 $\beta$  和 IL-6 的表达。鉴于 IL-1 $\beta$  和 IL-6 在纤维增生等病理过程中起重要作用<sup>[27-28]</sup>,我们推测缺氧诱导自噬激活并促进 RPE 细胞分泌 IL-1 $\beta$  和 IL-6,可能是这些炎症因子参与多种眼底疾病病理过程的重要机制。不过,自噬对 RPE 细胞分泌 IL-1 $\beta$  和 IL-6 的具体调控机制,以及对纤维增生性眼病的确切影响还需进一步研究。

#### 参考文献

- 1 Parzych KR, Klionsky DJ. An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation. *Antioxid Redox Signal* 2014; 20(3):460-473
- 2 Zeng X, Ju D. Hedgehog Signaling Pathway and Autophagy in Cancer. *Int J Mol Sci* 2018; 19(8):2279
- 3 杜军辉,李蓉,马艳艳,等.自噬与炎症的关系及其在眼科疾病中的相关研究进展. *临床眼科杂志* 2017; 25(1):91-94
- 4 Araujo RS, Santos DF, Silva GA. The role of the retinal pigment

epithelium and Müller cells secretome in neovascular retinal pathologies. *Biochimie* 2018; 155:104-108

5 金伯泉. 细胞和分子免疫学. 北京: 世界图书出版社 1995:103-149

6 Du JH, Li X, Li R, *et al.* Role of autophagy in angiogenesis induced by high glucose condition in RF/6A cells. *Ophthalmologica* 2017; 237(2):85-95

7 李蓉, 杜军辉, 姚杨, 等. 缺氧条件下自噬在视网膜血管内皮细胞血管生成中的作用. *中华实验眼科杂志* 2018; 36(3):187-193

8 王海青, 牛国桢, 张晓波, 等. RPE 细胞的正常功能及其在眼科疾病中的作用. *生命科学* 2013; 25(9):878-882

9 Chen H, Wang H, An J, *et al.* Plumbagin induces RPE cell cycle arrest and apoptosis via p38 MARK and PI3K/AKT/mTOR signaling pathways in PVR. *BMC Complement Altern Med* 2018; 18(1):89

10 Fisher CR, Ferrington DA. Perspective on AMD Pathobiology: A Bioenergetic Crisis in the RPE. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59(4):41-47

11 Feng S, Yu H, Yu Y, *et al.* Levels of inflammatory cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-17A, and TNF- $\alpha$  in aqueous humour of patients with diabetic retinopathy. *J Diabetes Res* 2018; 2018:8546423

12 Tsai T, Kuehn S, Tsiampalis N, *et al.* Anti-inflammatory cytokine and angiogenic factors levels in vitreous samples of diabetic retinopathy patients. *PLoS One* 2018; 13(3):e0194603

13 Leung KW, Barnstable CJ, Tombran-Tink J. Bacterial endotoxin activates retinal pigment epithelial cells and induces their degeneration through IL-6 and IL-8 autocrine signaling. *Mol Immunol* 2009; 46(7):1374-1386

14 Bansal M, Moharir SC, Swarup G. Autophagy receptor optineurin promotes autophagosome formation by potentiating LC3-II production and phagophorematuration. *Commun Integr Biol* 2018; 11(2):1-4

15 Zheng T, Li D, He Z, *et al.* Prognostic and clinicopathological significance of Beclin-1 in non-small-cell lung cancer: a meta-analysis. *Oncotargets Ther* 2018; 11:4167-4175

16 Battista RA, Resnati M, Facchi C, *et al.* Autophagy mediates epithelial cancer chemoresistance by reducing p62/SQSTM1 accumulation. *PLoS One* 2018; 13(8):e0201621

17 Li R, Tian J, Du J, *et al.* Manipulation of autophagy: a novel

potential therapeutic strategy for retinal neovascularization. *BMC Ophthalmol* 2018; 18:110

18 Mitter SK, Rao HV, Qi X, *et al.* Autophagy in the retina: a potential role in age-related macular degeneration. *Adv Exp Med Biol* 2012; 723:83-90

19 Szatmari-Toth M, Kristof E, Vereb Z, *et al.* Clearance of autophagy-associated dying retinal pigment epithelial cells - a possible source for inflammation in age-related macular degeneration. *Cell Death Dis* 2016; 7(9):e2367

20 Mitter SK, Song C, Qi X, *et al.* Dysregulated autophagy in the RPE is associated with increased susceptibility to oxidative stress and AMD. *Autophagy* 2014; 10(11):1989-2005

21 Chen PM, Gombart ZJ, Chen JW. Chloroquine treatment of ARPE-19 cells leads to lysosome dilation and intracellular lipid accumulation: possible implications of lysosomal dysfunction in macular degeneration. *Cell Biosci* 2011; 1(1):10

22 Yoon YH, Cho KS, Hwang JJ, *et al.* Induction of lysosomal dilatation, arrested autophagy, and cell death by chloroquine in cultured ARPE-19 cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(11):6030-6037

23 周延冲. 多肽生长因子基础与临床. 北京: 中国科学技术出版社 1993:253-267

24 Schett G. Physiological effects of modulating the interleukin-6 axis. *Rheumatology(Oxford)* 2018; 57(suppl2):43-50

25 Ghanemi A, St-Amand J. Interleukin-6 as a "metabolic hormone". *Cytokine* 2018; 112:132-136

26 Ge Y, Huang M, Yao YM. Autophagy and proinflammatory cytokines: Interactions and clinical implications. *Cytokine Growth Factor Rev* 2018; 43:38-46

27 Mao C, Yan H. Roles of elevated intravitreal IL-1 $\beta$  and IL-10 levels in proliferative diabetic retinopathy. *Indian J Ophthalmol* 2014; 62(6):699-701

28 Symeonidis C, Papakonstantinou E, Androudi S, *et al.* Comparison of interleukin-6 and matrix metalloproteinase expression in the subretinal fluid and the vitreous during proliferative vitreoretinopathy: correlations with extent, duration of RRD and PVR grade. *Cytokine* 2014; 67(2):71-76