

老年性黄斑变性病因研究新进展

潘俊如^{1,2}, 余其林², 张述², 李斌¹, 胡军^{1,2}

作者单位:(430030) 中国湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属同济医院¹眼科; ²生物医学中心

作者简介:潘俊如, 在读硕士研究生, 研究方向: 白内障。

通讯作者:胡军, 副主任医师, 副教授, 研究方向: 白内障. hu-jun525@hotmail.com

收稿日期: 2013-01-04 修回日期: 2013-04-22

Advance in etiology of age - related macular degeneration

Jun-Ru Pan^{1,2}, Qi-Lin Yu², Shu Zhang², Bin Li¹, Jun Hu^{1,2}

¹Department of Ophthalmology; ²The Center for Biomedical Research, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Jun Hu. Department of Ophthalmology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China. hu-jun525@hotmail.com

Received:2013-01-04 Accepted:2013-04-22

Abstract

• Age-related macular degeneration (AMD) is the most common cause of blindness in developed countries. Meanwhile, over the past decade, the incidence increases year by year in China. AMD is classified as atrophic macular degeneration and exudative macular degeneration, always leading to severe central vision loss even blindness in the late stage of AMD. As a degenerative disorder the pathogenesis of AMD remains unclear. Many possible causative factors have been implicated including oxidative stress, lipofuscin accumulation, chronic inflammation, mutation in the complement system, and dysfunctional ocular microcirculation. This review will shed light on the pathogenesis of the disease, especially elaborate the relationship between epigenetic regulation and AMD.

• **KEYWORDS:** age - related macular degeneration; pathogenesis; epigenetic regulation

Citation: Pan JR, Yu QL, Zhang S, et al. Advance in etiology of age-related macular degeneration. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2013;13(5):905-908

摘要

老年性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)

是发达国家首要致盲眼病, 在我国的发病率也呈逐年上升的趋势。AMD 主要分为干性(地图样萎缩)及湿性(新生血管性)两类, 极大的影响了患者的视功能, 晚期 AMD 常导致严重的中心视力下降甚至失明。作为环境因素与遗传基因共同作用的复杂眼底病变, AMD 的明确病因尚不完全清楚, 近年来研究指出遗传基因、表观遗传、氧化应激、炎症反应、脉络膜血流动力学等均参与了 AMD 的病变过程, 本文就老年性黄斑变性的可能病因做一系统阐述并重点指出表观遗传调控与眼部疾病特别是 AMD 的密切联系。

关键词: 老年性黄斑变性; 发病机制; 表观遗传调控

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2013.05.18

引用: 潘俊如, 余其林, 张述, 等. 老年性黄斑变性病因研究新进展. *国际眼科杂志* 2013;13(5):905-908

0 引言

老年性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是中央区视网膜慢性进展性疾病, 是发达国家常见的致盲眼病, 在我国的发病率也逐年上升, 具有明显的年龄相关性, 且常发生于 55 岁以上的老年人群。早期的 AMD 以视网膜色素上皮层脂质沉积及色素紊乱为特征, 此期并未导致严重的视野缺损和视力障碍, 随着疾病的进展, 视网膜色素上皮细胞功能障碍, 玻璃膜疣增多, 脉络膜新生血管形成等现象加重了 AMD 的发生, 此期可出现明显的中心视野缺损及周边视野低分辨率。十年前, 人们对于 AMD 尚无有效的治疗方法, 当前的 AMD 治疗主要包括应用抗氧化维生素类药物、激光治疗及光动力疗法等。最新的研究认为, 针对血管生长因子 VEGF 的新药如 avastin 极大的改善了 AMD 患者的预后, 有研究认为在一些国家地区应用 VEGF 拮抗剂后 AMD 所引起的法定盲较前下降了 50%^[1,2]。

1 AMD 流行病学研究

AMD 病因及发病机制被认为是环境与遗传基因相互作用的复杂结果。年龄是 AMD 的最重要影响因素之一, 常伴随着眼部各种生物学改变^[3], 比佛-达姆眼科研究认为在 AMD 中出现的标志性改变如软性渗出及色素紊乱情况与不断增长的年龄密切相关, 对晚期 AMD 的预测提供了强有力的证据。近年来流行病学的研究显示吸烟可使患 AMD 风险增加 2~4 倍, 而且吸烟可直接介导氧化应激, 抗氧化保护机制损伤, 免疫系统活化及动脉粥样硬化血管改变等损伤过程, 在促进脉络膜新生血管的发生及发展中也发挥了重要作用^[4]。其他的危险因子如营养因素、高血压或全身心血管疾病等都可能 AMD 的发生中发挥重要作用^[5]。

2 AMD 的发病机制

关于 AMD 流行病学研究、组织病理学及生物化学研

究显示 AMD 与 VEGF、氧化应激、脂褐素沉积^[6]、慢性炎症及补体系统突变等密切相关。在 AMD 中,氧化应激将导致 RPE 或是脉络膜微血管损伤^[7],而 RPE 损伤又进一步介导 Bruch 膜及脉络膜的炎症反应,并且因 RPE 功能障碍及促发的炎症反应使 ECM 异常沉积,转而影响 RPE 生物功能加重 AMD 进展。虽然现阶段 AMD 发病机制并未完全清晰,但上述影响因素被证实参与 AMD 的发病过程并相互联系共同促进 AMD 的发生进展^[8]。

2.1 血管内皮生长因子 老年性黄斑变性的发展常伴随着脉络膜微循环的障碍。研究表明,随着年龄的增长,脉络膜微血管密度及管腔直径也随之下降;在 AMD 患者眼部多普勒检查中发现黄斑处脉络膜血流量减少^[9],吲哚菁绿造影后出现脉络膜充盈拖延及黄斑处低荧光的现象。脉络膜血流量减低,低灌注的状态导致了组织细胞的缺血、缺氧,促进了 VEGF 的表达。同时,氧化应激及炎症过程促使细胞(巨噬细胞、RPE 细胞等)活化及炎症因子的释放^[10],使 VEGF 表达量增高。新生血管与多种疾病如肿瘤、糖尿病肾病、风湿性关节炎及老年性黄斑变性的发展密切相关。VEGF 是影响新生血管形成的关键调控因子。VEGF 的过度表达导致新生血管的形成,但此新生血管周细胞数量减少且常常过度迂曲,研究证实了湿性 AMD 中脉络膜新生血管膜 VEGF 的定位表达,其结果直接导致了眼底出血及大量渗出物沉积,严重的损害了患者的视力^[11]。阻断 VEGF 的表达可使血管重塑,促使不成熟的新生血管回退。因此 VEGF 被认为是治疗脉络膜及视网膜新生血管最具潜力的靶点^[12]。随着抗新生血管药物雷珠单抗、贝伐单抗应用于临床,各种临床数据显示抗新生血管药物可恢复正常眼底解剖结构,安全有效的稳定了患者的视力^[13, 14]。

2.2 氧化应激 流行病学调查结果认为年龄及吸烟是 AMD 发生最主要的危险因素,并且相关抗氧化治疗如维生素 C、维生素 E 及氧化锌可以减少 AMD 患者眼底脂质沉积、地图样萎缩及脉络膜新生血管等病变发生^[15],因此人们开始越来越多关注氧化应激在 AMD 中的作用。氧化应激通常指体内的氧化及抗氧化系统失衡,高活性分子氧自由基(ROS)及氮自由基产生增多,继而导致组织细胞损伤。伴随着年龄的增长,氧化损伤也逐渐增加,而视网膜由于其自身的因素成为产生 ROS 的理想场所:视网膜代谢旺盛,是耗氧量较高的组织;视网膜长期处于光损伤状态;RPE 细胞本身的吞噬功能可产生较多氧自由基;光感受器外节盘膜富含多不饱和脂肪酸,易被氧化并且可启动细胞毒性链式反应;视网膜神经感觉层及色素上皮层含有丰富的光敏剂。视网膜对氧化损伤的易感性促进了 ROS 在视网膜的堆积,随着 ROS 产生增多,氧化应激对 AMD 的影响日渐突出。

RPE 损伤是 AMD 中最重要的影响因素之一,氧化应激作用于细胞线粒体,致其释放细胞色素 C 及凋亡蛋白酶活化,最终导致 RPE 细胞凋亡,这可能解释了在 AMD 早期 RPE 细胞数较少的原因,同时抗氧化剂谷胱甘肽及诱导的保护通路(P13K) AKT 及 Nrf2 则可保护 RPE 细胞免受氧化应激损伤,减少凋亡^[16, 17]。并且氧化应激可导致视网膜功能细胞数量下降,RPE 细胞内脂褐素沉积,玻璃膜疣及玻璃膜空泡及脉络膜微血管改变,最终促进了 AMD 的发生^[18]。在 AMD 中,氧化应激所导致的炎症反应往往是疾病发生的始动因素^[19]。

2.3 炎症 老龄、氧化应激及光损伤可导致视网膜光感受器及 RPE 细胞受损,目前的观点认为 RPE 细胞的功能障碍导致了 AMD 的慢性炎症过程。组织学检测证实了 AMD 的眼底炎症改变:首先玻璃膜疣是早期 AMD 病变的主要特征,关于其成分的分析显示了玻璃膜疣中含有多种炎症因子:淀粉样蛋白 b、脂质、载脂蛋白 B、E 及补体等^[20]。有研究认为增多的玻璃膜疣作为炎症刺激因子趋化白细胞聚集参与 AMD 炎症及免疫介导的病变过程。其次 Bruch 膜组织学分析发现各种炎症细胞浸润;在 AMD 患者脉络膜血管及玻璃膜疣周检测出大量巨噬细胞及白细胞聚集,伴细胞外基质增多,同时巨噬细胞起源的细胞因子如肿瘤坏死因子 α 、干扰素-1 等促进 RPE 及血管内皮细胞中 ICAM-1 表达增加,从而导致更多的炎症细胞浸润。研究认为巨噬细胞在 AMD 纤维血管组织增生中扮演了重要角色,通过炎症因子诱导血管内皮细胞活化及迁徙,加速了血管生成及脉络膜新生血管的形成^[21]。最后补体系统是天然免疫的重要组成部分,在 AMD 炎症反应中起了主要作用,研究发现玻璃膜疣及脉络膜新生血管膜中含有较多补体成分,如在玻璃膜疣检测到 C3, C5, C5b-9 膜攻击复合物及 CD46 表达^[22],同时,在湿性 AMD 患者人中,外周血白细胞 CD46 及 CD59 的表达均有改变^[23];补体蛋白编码基因的突变与 AMD 密切相关,如 CFHR1, CHFR3, CFB 等;而 C3aR 及 C5aR 介导的信号通路对于维持正常的视网膜功能及结构发挥了重要的功能^[24]。

其他的炎症通路也参与了 AMD 的发展,单核苷酸多态性 SNPs 可增加或减少炎症的风险,包括 CX3CR1, IL-8, CFH^[25] 及涉及到先天性免疫系统的 TLR3, TLR4;慢性感染启动炎症过程可能导致黄斑损伤,肺炎衣原体被认为在 AMD 的发展起了一定作用;C 反应蛋白与 AMD 患者中血管内皮细胞功能障碍,脂质水平失调,氧化应激及 ROS 生成密切相关^[26];与此同时,自身免疫中抗羧乙基吡咯及抗星形胶质细胞抗体也参与了 AMD 发病, Morohoshi 等^[27]认为 94% AMD 早期患者及 83% 晚期患者血清中含有视网膜自身抗体,而正常对照组人群中仅为 9%,其他自身抗体如晶体蛋白 α 等作为潜在的调控者参与了 AMD 进展。

2.4 AMD 相关基因调控 家族聚集性及对双胞胎研究等证实了基因对于 AMD 发病发挥了重要作用^[28],目前研究较多的是 CFH 基因及 ARMS2/HTRA1 基因。2005-04-15, Science 杂志连续发表了三篇关于 AMD 基础遗传机制的论文,其结论均认为补体因子 H(CFH)基因的多态性位点是 AMD 的重要遗传因素。CFH 及相关基因 CFHR1 ~ CFHR5 位于染色体 1q31,在病例-对照的人群中通过精细扫描,直接锁定了 CFH 与 AMD 发生密切相关^[29, 30]。全基因组关联分析显示 CFH 最主要的 SNP 变体位于第 9 号外显子, FH 及 FHL1 基因 Y420H 变异表现为变体型组氨酸替代酪氨酸, H420 可使患 AMD 风险提高 2 ~ 7 倍,并促进了玻璃膜疣及脉络膜新生血管的发生^[31]。同时,作为 AMD 两大危险因素年龄及吸烟均可影响血清中 CFH 水平,CFH 是天然免疫补体系统的调控者,可避免 C3 活化,较少 C3a, C3b 及 C5b-9 复合物的产生。在 AMD 患者 Bruch 膜及玻璃膜疣中均可检测出 C5b-9,研究认为不适当的补体活化参与机体的炎症反应共同促进了 AMD 的发展^[32]。

染色体 10q26 编码了独立于补体系统但与 AMD 发展密切相关的两种基因, ARMS2 (rs10490924; A69S) 与 HTRA1 基因 (rs1120638, 启动子多态性) AMD 相关多态性呈明显连锁不平衡, 在统计学上两者的作用效果并不能区分。ARMS2 基因 SNP 序列比 HTRA1 基因表现出更强的 AMD 相关性, 也解释了 10q26 在 AMD 中的重要作用。ARMS2 蛋白参与形成细胞骨架微管及线粒体外膜, 但在 AMD 患者中, S69 变体未表达, 因此进一步研究 ARMS2 生物学功能对于深入了解 AMD 发展有较大意义。10q26 染色体的 HTRA1 基因调节了细胞外基质蛋白多糖的降解并且利于其他降解基质的酶类如胶原酶及金属蛋白酶的生物效用。HTRA1 基因启动子区域 rs1120638 的单核苷酸多态性与脉络膜新生血管密切相关, 高水平的 HTRA1 蛋白表达影响了 Bruch 膜的完整性, 利于脉络膜新生血管的长入发生临床上常见的渗出性黄斑变性^[33]。

其他补体通路中的基因包括 C2, C3, CFI 及 CFB; CFB/C2 基因四个位点单核苷酸多态性在 AMD 中发挥保护作用^[34]; 相关 AMD 易感基因也逐渐被认识^[35]。有研究认为高密度脂蛋白代谢通路基因 LIPC, CETP^[36]; 低密度脂蛋白通路 APOE 均与 AMD 病变相关; 与产生胶原及细胞外基质有关的基因 COL10A1, COL8A1 及 TIMP3^[37] 也被认为参与了黄斑变性过程; Meta 分析显示促血管生成基因 VEGF 与 AMD 中脉络膜新生血管形成显著相关。

2.5 表观遗传调控与 AMD

2.5.1 表观遗传调控

1930 年代末, Waddington^[38] 首次提出表观遗传学这一概念, 1942 年他将表观遗传学定义为研究基因及基因表型之间关系的一门生物学分支学科。1972 年, Holliday 对表观遗传学进行了较为系统的描述。他认为表观遗传学应在发育及成体阶段研究可遗传的基因表达及调控, 表观遗传是非 DNA 序列差异的核遗传。表观遗传学研究 DNA 序列不变条件下发生的可遗传的基因表达改变, 内容主要包括基因选择性转录表达调控 (DNA 甲基化, 组蛋白共价修饰, 基因印记及染色质重塑) 及转录后的调控 (MiRNA, 基因组中非编码 RNA 等)。发挥主要作用的是甲基化、组蛋白修饰及 MiRNA 调控。表观遗传参与个体发育、细胞分化、基因转录等多个方面^[39], 若出现功能紊乱可导致各种眼病的发生, 如研究较早的视网膜母细胞瘤、原发性开角型青光眼等均涉及到基因和表观遗传学的相关机制。

缺氧诱导的新生血管化是增生性糖尿病视网膜病变、青光眼等眼部疾病中的共同病变基础。在视网膜疾病中, 缺氧诱导的视网膜色素上皮细胞中组蛋白赖氨酸去甲基化酶 (KDMs), JMJD1A 表达增高, 并且缺氧条件下 KDMs 依赖的促血管生成前因子如 ADM, GDF15 等上调, 相反的, 特异的 KDM 抑制剂将减少缺氧诱导的新生血管形成^[40]。线粒体超氧化物歧化酶可减轻线粒体氧化应激反应, SOD2 过表达保护线粒体 DNA 的损伤减缓糖尿病视网膜病变的发展, 高糖可上调视网膜 SOD2 启动子及增强子区域 H4K20me3, H3K9 乙酰化及 NF- κ B P65, 若 SOD2 的 H4K20 甲基化增加可导致 SOD2 表达下降, 从而加速糖尿病视网膜病变的发生, 因此研究糖尿病

视网膜病变进展中表观遗传学改变可作为治疗糖尿病视网膜病变的潜在靶点^[41]。

2.5.2 AMD 中相关表观遗传调控机制

单卵双胞胎研究发现较多年龄相关性疾病, 包括 AMD 呈现一种非基因性改变现象, 这种现象常与 DNA 甲基化及基因表达模式相关, 并且呈现一种随年龄增加而更加明显的趋势^[42]。AMD 病变过程中, 视网膜色素上皮细胞下的脂质沉积是其主要特点, Clusterin/apo J 是一种多功能分子伴侣也是脂质沉积物的组成部分, 作为补体抑制剂参与减轻炎症反应并较少新生血管形成, 其 CpG 岛更是富含甲基化区域。丙戊酸是传统的抗癫痫药物也是组蛋白去乙酰化抑制剂, ARPE-19 是常用来研究 RPE 细胞功能的常用细胞培养模型, 实验给予丙戊酸, DNA 甲基化抑制剂 AZA (5-氮杂-2-脱氧胞苷) 及去乙酰化酶抑制剂 (TSA) 刺激后 ARPE-19 细胞凝集素的表达均增高, 凝集素可减轻 AMD 中炎症反应, 通过清道夫受体作用加强 RPE 细胞对于细胞残片的清除, 也就是说表观遗传学可通过 DNA 甲基化和组蛋白乙酰化修饰调控 Clusterin/apo J 表达从而改善玻璃膜上脂质沉积^[43], 改善 AMD 的病变进展。关于 AMD 的炎症过程, 我们的研究在建立了老年性黄斑变性小鼠模型的基础上, 证明了甲基化结合蛋白 (MBD2) 可能参与脉络膜内皮细胞的活化, 加重了 AMD 发展过程中的炎症反应。目前较多观点认为氧化应激的发生在 AMD 的形成中扮演了重要角色 (见前), 为评价 AMD 中相关抗氧化基因的表观遗传调控的潜在影响, Hunter 等^[44] 在 AMD 及匹配组人群视网膜色素上皮细胞甲基化测序后发现: 谷胱甘肽-s-转移酶 (GSTM1 和 GSTM5) 启动子区均发生高甲基化改变, 与之相对应在 mRNA 及蛋白水平上表达降低, 受表观遗传因素的调控, GSTM1 和 GSTM5 甲基化改变可能增加了黄斑部对氧化应激的易感性。

3 小结

本综述中总结了老年性黄斑变性的相关发病机制, AMD 是环境及遗传因素共同作用的结果, 与氧化应激, RPE 细胞脂褐素沉积, 慢性炎症, 补体系统基因突变及表观遗传学调控密切相关。表观遗传学是近年来研究较广泛的学科, 其在眼部发育及疾病发展过程的重要作用也日益显现, 本文联系了表观遗传调控与眼部疾病 AMD 的研究进展, 为更深入的了解 AMD 及其他眼科疾病发生提供了新的观点, 同时为进一步治疗奠定了基础。

参考文献

- 1 Bloch SB, Larsen M, Munch IC. Incidence of legal blindness from age-related macular degeneration in denmark: year 2000 to 2010. *Am J Ophthalmol* 2012;153(2):209-213
- 2 Lim LS, Mitchell P, Seddon JM, et al. Age-related macular degeneration. *Lancet* 2012;379(9827):1728-1738
- 3 Smith W, Assink J, Klein R, et al. Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents. *Ophthalmology* 2001;108(4):697-704
- 4 Jonas JB, Xu L. Smoking and age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2009;127(6):826-827
- 5 van de Ven JP, Smailhodzic D, Boon CJ, et al. Association analysis of genetic and environmental risk factors in the cuticular drusen subtype of age-related macular degeneration. *Mol Vis* 2012;18:2271-2278

6 Delori FC, Goger DG, Dorey CK. Age-related accumulation and spatial distribution of lipofuscin in RPE of normal subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(8):1855-1866

7 Boltz A, Luksch A, Wimpfing B, et al. Choroidal blood flow and progression of age-related macular degeneration in the fellow eye in patients with unilateral choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(8):4220-4225

8 Zarbin MA. Current concepts in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 2004;122(4):598

9 Grunwald JE, Metelitsina TI, Dupont JC, et al. Reduced foveolar choroidal blood flow in eyes with increasing AMD severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(3):1033-1038

10 Grossniklaus HE, Ling JX, Wallace TM, et al. Macrophage and retinal pigment epithelium expression of angiogenic cytokines in choroidal neovascularization. *Mol Vis* 2002;8:119-126

11 Jager RD, Mieler WF, Miller JW. Age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2008;358(24):2606-2617

12 Ferrara N. Vascular endothelial growth factor and age-related macular degeneration: from basic science to therapy. *Nat Med* 2010;16(10):1107-1111

13 Martin DF, Maguire MG, Ying GS, et al. Ranibizumab and bevacizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2011;364(20):1897-1908

14 Chakravarthy U, Harding SP, Rogers CA, et al. Ranibizumab versus bevacizumab to treat neovascular age-related macular degeneration: one-year findings from the IVAN randomized trial. *Ophthalmology* 2012;119(7):1399-1411

15 Rockville M. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E and beta carotene for age-related cataract and vision loss: AREDS report no. 9. *Arch Ophthalmol* 2001;119(10):1439-1452

16 Cai J, Nelson KC, Wu M, et al. Oxidative damage and protection of the RPE. *Prog Retin Eye Res* 2000;19(2):205-221

17 Klettner A. Oxidative stress induced cellular signaling in RPE cells. *Front Biosci (Schol Ed)* 2012;4:392-411

18 Jarrett SG, Boulton ME. Consequences of oxidative stress in age-related macular degeneration. *Mol Aspects Med* 2012;33(4):399-417

19 Hollyfield JG, Bonilha VL, Rayborn ME, et al. Oxidative damage-induced inflammation initiates age-related macular degeneration. *Nat Med* 2008;14(2):194-198

20 Anderson DH, Talaga KC, Rivest AJ, et al. Characterization of beta amyloid assemblies in drusen: the deposits associated with aging and age-related macular degeneration. *Exp Eye Res* 2004;78(2):243-256

21 Apte RS. Regulation of angiogenesis by macrophages. *Adv Exp Med Biol* 2010;664:15-19

22 Silva AS, Teixeira AG, Bavia L, et al. Plasma levels of complement proteins from the alternative pathway in patients with age-related macular degeneration are independent of Complement Factor H Tyr (402) His polymorphism. *Mol Vis* 2012;18:2288-2299

23 Singh A, Faber C, Falk M, et al. Altered expression of CD46 and CD59 on leukocytes in neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 2012;154(1):193-199

24 Yu M, Zou W, Peachey NS, et al. A novel role of complement in retinal degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(12):7684-7692

25 Ding X, Patel M, Chan CC. Molecular pathology of age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res* 2009;28(1):1-18

26 Colak E, Majkic-Singh N, Zoric L, et al. The role of CRP and

inflammation in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Biochem Med (Zagreb)* 2012;22(1):39-48

27 Morohoshi K, Patel N, Ohbayashi M, et al. Serum autoantibody biomarkers for age-related macular degeneration and possible regulators of neovascularization. *Exp Mol Pathol* 2012;92(1):64-73

28 Shahid H, Khan JC, Cipriani V, et al. Age-related macular degeneration: the importance of family history as a risk factor. *Br J Ophthalmol* 2012;96(3):427-431

29 Edwards AO, Ritter R 3rd, Abel KJ, et al. Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science* 2005;308(5720):421-424

30 Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, et al. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science* 2005;308(5720):419-421

31 Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, et al. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science* 2005;308(5720):385-389

32 Hageman GS, Luthert PJ, Chong NHV, 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. *Retinal and Eye Research* 2001;20(6):705-732

33 Stanton CM, Chalmers KJ, Wright AF. The chromosome 10q26 susceptibility locus in age-related macular degeneration. *Adv Exp Med Biol* 2012;723:365-370

34 Sun C, Zhao M, Li X. CFB/C2 gene polymorphisms and risk of age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *Curr Eye Res* 2012;37(4):259-271

35 Priya RR, Chew EY, Swaroop A. Genetic Studies of Age-Related Macular Degeneration: Lessons, Challenges, and Opportunities for Disease Management. *Ophthalmology* 2012;119(12):2526-2536

36 Tian J, Yu W, Qin X, et al. Association of genetic polymorphisms and age-related macular degeneration in Chinese population. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(7):4262-4269

37 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. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107(16):7401-7406

38 Waddington C. Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature* 1942;150:563-565

39 Cvekl A, Mitton K. Epigenetic regulatory mechanisms in vertebrate eye development and disease. *Heredity (Edinb)* 2010;105(1):135-151

40 Ponnaluri VK, Vadlapatla RK, Vavilala DT, et al. Hypoxia induced expression of histone lysine demethylases: implications in oxygen-dependent retinal neovascular diseases. *Biochem Biophys Res Commun* 2011;415(2):373-377

41 Zhong Q, Kowluru RA. Epigenetic changes in mitochondrial superoxide dismutase in the retina and the development of diabetic retinopathy. *Diabetes* 2011;60(4):1304-1313

42 Mitton KP, Guzman AE. Focus on molecules: 5-methylcytosine, a possible epigenetic link between ageing and ocular disease. *Exp Eye Res* 2012;96(1):2-3

43 Suuronen T, Nuutinen T, Ryhanen T, et al. Epigenetic regulation of clusterin/apolipoprotein J expression in retinal pigment epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;357(2):397-401

44 Hunter A, Spechler PA, Cwanger A, et al. DNA methylation is associated with altered gene expression in AMD. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(4):2089-2105