

二甲双胍在眼科的应用前景

王旭, 齐艳华

作者单位: (150000) 中国黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学附属第二医院眼科

作者简介: 王旭, 哈尔滨医科大学在读硕士研究生, 研究方向: 白内障。

通讯作者: 齐艳华, 毕业于哈尔滨医科大学, 博士, 教授, 主任医师, 研究方向: 白内障. qyh86605643@126.com

收稿日期: 2016-11-18 修回日期: 2017-03-01

Application prospects of metformin in ophthalmology

Xu Wang, Yan-Hua Qi

Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Yan-Hua Qi. Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China. qyh86605643@126.com

Received: 2016-11-18 Accepted: 2017-03-01

Abstract

• Metformin is a drug commonly prescribed to treat patients with type 2 diabetes, which leads to a burst of interest because of lifespan-extending properties. The key molecular of health-promoting properties as yet remained elusive. In this paper, we make a brief review of mechanisms about how metformin acting on human body, and make a forecast about the application prospect of metformin in the treatment of the aging in ophthalmology.

• KEYWORDS: metformin; senescence; oxidative stress

Citation: Wang X, Qi YH. Application prospects of metformin in ophthalmology. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2017;17(4):673-676

摘要

二甲双胍作为治疗 2 型糖尿病的一线用药, 因其具有延长寿命的特性, 越来越引起人们的关注。然而到目前为止人们对其延长寿命的作用机制仍然不是很清楚。本文主要就二甲双胍对人体的作用机制做一简要综述, 并在此基础上, 对二甲双胍延缓衰老的作用在眼科的应用前景进行了展望。

关键词: 二甲双胍; 衰老; 氧化应激

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2017.4.21

引用: 王旭, 齐艳华. 二甲双胍在眼科的应用前景. 国际眼科杂志 2017;17(4):673-676

0 引言

如今, 关于双胍类药物二甲双胍的研究日趋火热, 人们发现二甲双胍除了有降血糖、预防大血管和微血管病变、改善高胰岛素血症和胰岛素抵抗的功效外, 还表现出

延缓衰老和抗年龄相关性病理改变、减少氧化应激损伤的作用。虽然衰老进程本身不能被认为是一种疾病, 但它与预期寿命以及推动年龄相关性疾病之间确有联系。在过去的几年间, 关于抗衰老治疗的研究发现了很多可以延长寿命的药物, 其中最引人注意的就是二甲双胍。如果能够把二甲双胍的作用机制阐述清楚, 就可以扩大其在临床医学的应用范围, 有助于治疗某些疾病以及增加预期寿命。

1 二甲双胍延缓衰老概念的提出

2015-12-02 占据英国主流媒体的爆炸性新闻是: “世界首例抗衰老药将临床试验, 或让人轻松到 120 岁”。科学家从没有像现在这样坚定地认为, 延缓人的衰老速度并让他们健康活到 110 岁, 甚至 120 多岁是完全有可能的。获得此项惊人发现的是比利时科学家, 他们在秀丽隐杆线虫的身上进行二甲双胍测试时, 发现这些线虫不仅衰老速度变慢, 而且保持更健康状态的时间也变长了; 但它们的活动速度却没有减慢, 与没有接受二甲双胍测试的秀丽隐杆线虫形成鲜明对照。接着他们又对老鼠使用二甲双胍, 发现老鼠的寿命竟然延长了近 40%, 骨骼也变得更加结实。无独有偶, 英国加的夫大学的科研人员发现, 糖尿病患者服用二甲双胍后, 比非糖尿病患者的寿命更长了——虽然理论上认为糖尿病会让他们平均减寿 8a^[1]。因此, 人们又把注意力集中到了二甲双胍延缓衰老的机制上, 以期找到药物作用的理论依据。

2 二甲双胍延缓衰老的作用机制

大量研究已经证实, 二甲双胍除了在治疗糖尿病方面有增强胰岛素敏感性, 诱导糖酵解, 抑制肝脏糖异生等作用外, 其自身还有激活 AMPK、线粒体低毒兴奋效应、影响微生物代谢、自体吞噬和介导 mRNA 表达等作用。

2.1 激活 AMPK AMPK 是一种与能量代谢有关的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶^[2], 其活化有利于细胞内的动态平衡和预防衰老, 二甲双胍激活 AMPK 是延长寿命的主要因素之一。Han 等^[3]研究发现, 自体吞噬功能紊乱和 NAD⁺ 的减少是氧化应激引起的衰老细胞的两大特征, 而 AMPK 的激活可以恢复自噬通量和 NAD⁺ 合成, 抑制细胞的衰老。AMPK 在衰老细胞中不活泼, 然而被二甲双胍和黄连素在药理学方面活化了 AMPK 能明显抑制衰老的发展过程, 这一观点与 Steinberg 等^[4]以及 Mo 等^[5]研究结果一致。AMPK 的活化阻止了过氧化氢诱导的衰老细胞中自噬通量的损伤, 通过 NAD⁺ 合成补救途径, 恢复了衰老细胞中 NAD⁺ 水平^[3]。尽管二甲双胍可以激活 AMPK, 具体是怎样激活的却不得而知。为此, Wouter 等提取了线虫体内的线粒体, 经二甲双胍作用过后明确观察到了线粒体电子传递链复合物 I 上的电子流被阻断的现象, 由此导致线虫呼吸次数增加、能量消耗和 AMPK 激活^[6-9]。因此我们认为, 二甲双胍治疗后, 其介导的复合物 I 的阻断致使没有足够的 NADH 向 NAD⁺ 的转化循环, 通路的活性受到限制, 氧化磷酸化无法进行, 使 NADH/NAD⁺ 比值增加, 代谢降低。

2.2 线粒体低毒兴奋效应 大量的活性氧对于细胞而言是有毒物质, 而少量活性氧却对细胞有益。过氧化氢就是最常见的一种活性氧, 高浓度可以促进细胞凋亡, 而低浓度将诱导抗氧化酶表达, 反而提高细胞的抗氧化能力。这

就是活性氧介导“低毒兴奋效应”的简单内涵。Schulz等^[10]在限制秀丽隐杆线虫葡萄糖摄入,观察线粒体呼吸及氧化应激的实验中,将低毒兴奋效应在衰老进程中定义为一个短期、不致命的应激物诱导的有机体应激反应机制,可以增加对应激的抵抗和整体寿命。

Ingram等^[11]研究发现,热量限制(限食)可以通过减少线粒体内ATP合成导致AMP/ATP比值升高,由此激活AMPK,促进代谢和线粒体呼吸^[2],使线粒体产生大量活性氧,继而诱导抗氧化酶表达,最终可以清除活性氧,避免细胞的氧化损伤。这就是过氧化氢作用于线粒体引起的所谓“线粒体低毒兴奋效应”。

二甲双胍是AMPK的激活剂,因此它可作为热量限制的模拟化合物发挥延寿效果^[11]。也就是说,二甲双胍也应该能促进活性氧产生,以及诱导抗氧化酶表达,从而发挥“线粒体低毒兴奋效应”。随着抗氧化能力的增强,DNA氧化损伤程度下降,这就使得一些参与DNA损伤修复的基因显著下调。Libby等^[12]在关于小鼠模型的研究中发现,热量限制可以大幅下调肿瘤抑制基因表达,其他参与DNA修复的基因表达水平也明显下降。说明DNA损伤减少,DNA修复合活性主动下降,也说明长寿细胞的显著特征之一是氧化应激的程度降低。

2.3 影响微生物代谢 Filipe等将大肠杆菌及其宿主线虫用不同浓度的二甲双胍处理后发现,二甲双胍诱导了线虫5-甲基-四氢叶酸累积,使蛋氨酸合成酶活性减低,由此引发蛋氨酸生物合成的减少^[13]。Mato等^[14]研究发现二甲双胍能够增加细菌S-腺苷甲硫氨酸的水平,阻断蛋氨酸生物合成基因的转录。在对哺乳动物肝脏细胞进行研究时发现,S-腺苷甲硫氨酸既可以作为S-腺苷甲硫氨酸合酶的变构激活剂,也可以作为使蛋氨酸水平减少的亚甲基四氢叶酸还原酶的反馈抑制剂,还可以增加5-甲基-四氢叶酸甲基转移酶的水平,这对二甲双胍除了抑制蛋氨酸以外,还使S-腺苷甲硫氨酸增加提供了一个潜在的解释,提示二甲双胍减少了细菌蛋氨酸水平。此外,Nijhout等^[15]在关于线虫的叶酸代谢研究中观察到线虫蛋氨酸基因metr-1的突变增强了二甲双胍介导的寿命延长,再次与Filipe等观察到的二甲双胍处理的大肠杆菌蛋氨酸的抑制作用相一致。

此外,S-腺苷甲硫氨酸/S-腺苷高半胱氨酸比值的改变作为一个减少蛋白质甲基化的方法,可以通过组蛋白甲基化调节预期寿命。其中一个可能性是,代谢产物的相对丰度允许细胞来评估其能量状态并作出相应的反应,在饮食、代谢和基因表达之间构建了一种联系,由此调节生理机能和预期寿命。

2.4 自体吞噬 生理学的衰老过程与发生在自溶酶体和自噬流中的自体吞噬的有效性发生退化有关。应用二甲双胍的细胞中自噬流减少,自溶酶体下调^[2]。对于二甲双胍与自体吞噬之间的联系,齐赫等^[2]研究认为二甲双胍激活AMPK后,AMPK即通过多种方式抑制mTOR通路^[16-17]:(1)AMPK可以磷酸化TSC-2,使得Rheb失活,进而抑制了mTOR信号通路的激活;(2)AMPK可以直接磷酸化raptor亚基,从而抑制TORC1^[9,18]。

Settembre等^[19]在研究转录因子EB(TFEB)与自噬及溶酶体生物合成之间关系时发现,TFEB是溶酶体和自噬功能主要的调控物质。根据mTOR-TFEB轴理论,mTOR介导的失活TFEB的脱磷酸作用,导致TFEB核迁移,激活了特定溶酶体基因的转录。这一观点与Han等^[3]一致,都认为TFEB大量累积在过氧化氢诱导的衰老细胞核内,损害了溶酶体的功能和自噬通量,从而减少了细胞的自体吞噬,增加了寿命。

2.5 介导microRNA表达 Noren Hooten等^[20]通过检测二

甲双胍治疗后上调的miRNA,观察到其中的一部分涉及细胞衰老或老化,比如miR-125。miR-125是假定的线虫miRNA lin-4的同族体,miRNA lin-4是一个完善的线虫寿命调控剂^[21-22],控制着线虫幼虫由L1期向L2期的转化。Boehm等^[21]、Mori等^[23]和Martin-Montalvo等^[24]均认为miR-125水平的提高与二甲双胍使大鼠寿命延长的反应相一致。此外还有miR-34,miR-34在应对DNA损伤、防止骨质疏松和神经退行性变方面可能起着重要作用^[25-27]。除了miR-125和miR-34,Abdelmohsen等^[28]在关于非编码RNA控制细胞衰老进程的研究中发现,其他miRNA包括miR-20a,miR-30,miR-106b,miR-30a/b和let-7家族成员对调控细胞衰老都有重要作用。

3 眼科疾病与氧化应激

在身体的众多器官中,眼睛是暴露于体表的器官之一,常年受到阳光的直接照射,易受到多种理化因素影响,相对的活性氧产生较多,因此眼部的许多相关疾病都要考虑氧化应激因素的影响。

3.1 白内障与氧化应激 白内障是眼科最常见的疾病之一,而白内障的发生发展与晶状体氧化应激有密切的联系。许多研究指出,老化与自由基有关,急剧的氧化应力导致细胞机能障碍,细胞代谢过程和外部因子都可以使细胞不断形成会毒害细胞的自由基,如羟基自由基、超氧阴离子和过氧自由基等。紫外线和可见光能诱发晶状体产生自由基,是导致年龄相关性白内障的主要因素。晶状体内也有捕捉自由基的系统,如抗坏血酸、维生素E、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽及谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化剂,但随着年龄的增加,当自由基与抗氧化系统之间的平衡被打破时便产生氧化应力攻击细胞膜,使脂质过氧化,损伤DNA和细胞内蛋白质,导致晶状体混浊,发生年龄相关性白内障^[29]。

3.2 青光眼与氧化应激 青光眼是眼压升高导致眼底视神经损害的疾病。在青光眼的发病过程中,小梁网的功能是研究重点。近年来越来越多的证据表明线粒体损伤和氧化应激参与了青光眼小梁网细胞的损伤^[30]。小梁网内皮细胞与血管内皮细胞相似,小梁网内皮细胞损害直接影响滤过功能。Li等^[31]研究认为,由于房水中存在一些氧自由基,小梁网内皮细胞长期受到这些自由基的影响,发生了氧化应激损害。长期的慢性氧化应激导致小梁网内皮细胞线粒体损害,并释放出内源性的活性氧,进一步加重了组织受损的程度。在青光眼患者的房水中,房水蛋白发生动态改变,房水中抗氧化蛋白含量下降,导致小梁网内皮细胞的损害。Izzotti等^[32]发现,在原发性开角型青光眼患者及假性囊膜剥脱性青光眼患者中,小梁网细胞丢失,而这种细胞的丢失与氧化应激、细胞线粒体损伤、线粒体丢失有关。

3.3 年龄相关性黄斑变性氧化应激 Suter等^[33]研究发现,人视网膜色素上皮(RPE)细胞的慢性、蓄积性的氧化损伤与年龄相关性黄斑变性的发生、发展密切相关。生理状态下,RPE细胞处于富含血管的脉络膜和视网膜神经上皮层之间,吞噬清除含有大量不饱和脂肪酸的光感受器外节碎片,本身又含有大量的黑色素颗粒,是吸收眼底光线的主要部位。正是由于人RPE细胞的特殊位置和作用,导致其特别容易受到氧自由基的攻击。Jin等^[34]研究发现H₂O₂干预RPE细胞后使其线粒体呼吸链的功能显著下降,而凋亡前蛋白(P53、P21和caspase-3)的表达增加,同时,抗凋亡蛋白Bcl-2却下降,这说明随着年龄的增长,蓄积性的氧化损伤导致RPE细胞的mtDNA损伤,引起线粒体功能障碍,最终激发RPE细胞的凋亡。由于RPE细胞与光感受器细胞在营养和代谢方面都存在着密切关系,故RPE细胞进行性的功能障碍和死亡会引起视

锥、视杆细胞继发性的变性,加速年龄相关性黄斑变性的发生和发展^[35]。

3.4 糖尿病视网膜病变与氧化应激 糖尿病视网膜病变(DR)早期主要是视网膜血管病变,目前研究已证实DR与细胞凋亡和炎症损伤有密切关系。虽然其确切发病机制目前尚未完全明了,但研究人员一致认为氧化应激状态是糖尿病慢性并发症发生发展的共同土壤^[36],长期高血糖及其引起的眼部组织氧化应激状态使血管生成的促进因子表达增加,并减少抑制因子的表达,使血管生成调节失衡,最终导致糖尿病视网膜病变。

3.5 脉络膜新生血管与氧化应激 Das等^[37]提出,脉络膜新生血管(CNV)是正常脉络膜毛细血管在各种病理因素的刺激下经出芽、迁移、增生、基质重塑等而逐渐形成的新生毛细血管床,是湿性年龄相关性黄斑变性、病理性近视、中心性渗出性脉络膜病变等眼病的首要致病因素。在CNV生成的网络化调控过程中,RPE作为主要组织参与其生成的全过程。RPE广泛参与视网膜的代谢和生理功能,其氧化损伤是CNV生成的重要触发因素,随着年龄增长,RPE吞噬活性氧的能力逐渐减退,活性氧与溶酶体融合成吞噬小体后,不完全降解的酸性溶酶体构成脂褐素前体,其向基底部排出的代谢废物逐渐增多,当脉络膜毛细血管细胞无法将其通过血液循环代谢清除时,Bruch膜逐渐增厚,形成玻璃膜疣,引起氧化损伤的恶性循环,产生一系列促血管生成因子、基质金属蛋白酶、炎症因子等,导致或促进CNV的发生及发展^[38-39]。

3.6 眼表疾病与氧化应激 眼表疾病包括干眼症、结膜炎、翼状胬肉等。由于眼表长期暴露于体外,最易受到各种理化因素的攻击,而这众多攻击导致的共同结果是细胞内活性氧物质的增多。Cejková等^[40]研究发现,在干眼症患者的结膜上皮细胞组织中,黄嘌呤氧化还原/氧化酶能富集一些活性氧成分,导致眼表组织的氧化应激,进而加重干眼症的症状;Balci等^[41]通过研究证实,在翼状胬肉患者的胬肉组织中,各种过氧化物酶含量较正常眼结膜组织低,差异具有统计学意义。说明过多的紫外线照射而导致的氧化/抗氧化系统失衡在翼状胬肉的发病机制中有重要的作用——阳光的照射刺激眼表血管内皮细胞释放NO,过大剂量的NO对细胞有诱导氧化应激及凋亡的能力,除此之外,它能诱导产生VEGF,进而促进毛细血管增生,这种不正常的增生血管形成了胬肉组织。

4 二甲双胍在眼科应用的前景

二甲双胍是AMPK的激活剂,可以使线粒体产生大量活性氧,进而诱导抗氧化酶表达,最终可以清除活性氧,避免细胞的氧化损伤。Alejandro等研究发现,二甲双胍在分子层面上增加了AMPK酶活性并且增加了抗氧化的保护,减少氧化损伤的积累和慢性炎症的发生^[42]。Hardie等^[43]研究认为,连接AMPK活化与抗衰老之间的分子机制,最广为人知的是源于细胞内AMPK的首要功能,因为它虽然下调蛋白质、脂酸和胆固醇等生物合成进程,但是开启与ATP产生相关的分解代谢通路,如脂酸氧化、血糖合成和糖酵解等。这说明AMPK的活化可以产生一种快速的适应或对外压力的抵抗,从而出现抗衰老的保护效果。Alejandro等发现,正常C57BL/6小鼠的白内障会随着年龄的增长而发生,但是经二甲双胍作用后的小鼠晶状体混浊明显减少,同时其寿命也有了整体的提高^[42]。该研究领导者Rafael de Cabo表示:“衰老是代谢综合征和糖尿病背后的一个驱动力。鉴于临床证实二甲双胍能减轻这些疾病的症状,减少患癌风险,可以认为它是一个很好的候选药物,可以用来研究其对于健康及寿命的更广泛影响。”

目前已知哺乳动物有9种关于衰老的实验标志物,能够代表不同组织中常见的衰老的共同特性,它们分别是:

基因不稳定性,端粒损耗,表观遗传变异,蛋白平衡缺失,营养感受器损害,线粒体功能紊乱,细胞衰老,干细胞衰竭,细胞间联系改变。二甲双胍似乎能够对以上提及的标志物均产生影响^[44]。

鉴于二甲双胍与氧自由基及线粒体等眼部疾病发展过程中起重要作用的物质相关,我们可以推断,二甲双胍在对于眼病的预防和延缓发展等方面可能有着不为大众所知的功效。例如,通过二甲双胍诱导的低毒兴奋效应可以清除机体老化过程中产生和积累的活性氧及氧自由基,避免细胞的氧化损伤,从而延缓年龄相关性白内障的发生和发展。此外,由于内源性活性氧主要由线粒体氧化呼吸链的活动产生,而二甲双胍可以部分阻断线粒体电子传递链上的复合物I^[3],阻止了活性氧的产生,减少其对小梁网细胞的损伤,在一定程度上阻止了青光眼的发生。

除了年龄相关性白内障和青光眼以外,线粒体功能障碍及氧化应激在许多眼病进程中均起到重要作用,如糖尿病性视网膜病变、年龄相关性黄斑变性、原发性视网膜色素变性等^[45]。根据二甲双胍对活性氧和线粒体的作用原理我们可以猜测,对于上述疾病的治疗,二甲双胍很有可能有着重大意义。

与眼科应用的其他抗氧化剂如谷胱甘肽、吡诺克辛等相比,二甲双胍除了能够清除氧自由基,抑制氧化中间产物产生,避免细胞氧化损伤之外,还有其独特的作用和功效。二甲双胍自1957年问世以来,已经在国际上使用了近60a,在我国也已有近20a的使用经验,甚至被认可在妊娠期高血糖患者和10岁以上糖尿病儿童中使用,可以说是一种非常安全的临床药物。而且,降糖还不是它能力的全部,越来越多的流行病学和实验室研究表明,二甲双胍在多种疾病如肺癌、胃癌、胰腺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、结直肠癌等癌症中具有潜在的治疗和预防作用。一项纳入18万人的大规模研究发现^[46],长期服用二甲双胍的2型糖尿病患者的平均寿命可能高于非糖尿病患者,且二甲双胍对非糖尿病患者的健康也有益处。Bannister表示:“二甲双胍具有抗癌作用,也可帮助人们抵御心血管疾病的侵扰,还能够降低糖尿病高风险人群的发病率,降低风险效果可达1/3。”不仅如此,随着小鼠年龄增长,二甲双胍似乎还可以促进其利用脂肪生成能量的效率,帮助机体维持体质量,这一特征与生存期延长有关^[42]。

综上所述,二甲双胍可能在激活信号通路、降低氧化应激损伤程度、影响微生物代谢、减少细胞自噬和介导基因表达等方面发挥作用,从而减缓衰老,延长预期寿命。据悉,世界上首例“用二甲双胍对抗衰老”的临床试验计划将于今年冬天在美国开始。目前,来自多家机构的科学家正在筹集资金并招募志愿者。我们期待能借此证明,二甲双胍可以延缓衰老并阻止疾病的发生与发展。虽然二甲双胍在眼科的应用并未见报导,也没有直接的证据证明二甲双胍与眼科疾病有关联,但我们相信,在二甲双胍长期临床应用的历史基础上,随着动物和人体实验的进展,二甲双胍对于人类眼病的预防和治疗会有不错的前景。

参考文献

- 卓然. 二甲双胍真是长寿灵药吗. 科学养生 2016;5:46
- 齐赫,刘亭亭,李国荣. 二甲双胍延长寿命的作用及其作用机制. 中国临床药理学与治疗学 2012;17(11):1295-1301
- Han X, Tai H, Wang X, et al. AMPK activation protects cells from oxidative stress-induced senescence via autophagic flux restoration and intracellular NAD⁺ elevation. *Aging Cell* 2016;15(3):416-427
- Steinberg GR, Kemp BE. AMPK in health and disease. *Physiol Rev* 2009;89(3):1025-1078
- Mo C, Wang L. The Cross talk between Nrf2 and AMPK signal pathways

is important for the anti-inflammatory effect of berberine in LPS-stimulated macrophages and endotoxin-shocked mice. *Antioxid Redox Signal* 2014;20(1):574-588

6 De Haes W, Froominckxa L, Van Asschea R, et al. Metformin promotes lifespan through mitohormesis via the peroxiredoxin PRDX-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111(24):E2501-2509

7 Owen MR, Doran E, Halestrap AP. Evidence that metformin exerts its anti-diabetic effects through inhibition of complex I of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem J* 2000;348 (Pt3):607-614

8 El-Mir MY, Nogueira V, Fontaine E, et al. Dimethylbiguanide inhibits cell respiration via an indirect effect targeted on the respiratory chain complex I. *Biol Chem* 2000;275(1):223-228

9 Ota S, Horigome KT. Metformin suppresses glucose-6-phosphatase expression by a complex I inhibition and AMPK activation-independent mechanism. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;388(2):311-316

10 Schulz TJ, Zarse K, Voigt A, et al. Glucose restriction extends *Caenorhabditis elegans* life span by inducing mitochondrial respiration and increasing oxidative stress. *Cell Metab* 2007;6(4):280-293

11 Ingram DK, Zhu M, Mamczarz J, et al. Calorie restriction mimetics: An emerging research field. *Aging Cell* 2006;5(2):97-108

12 Libby G, Donnelly LA, Donnan PT, et al. New users of metformin are at low risk of incident cancer: a cohort study among people with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2009;32(9):1620-1625

13 Cabreiro F, Au C, Leung KY, et al. Metformin retards aging in *C. elegans* by altering microbial folate and methionine metabolism. *Cell* 2013;153(1):228-239

14 Mato JM, Martínezchantar ML, Lu SC. Methionine Metabolism and Liver Disease. *Ann Hepatol* 2013;12(2):183

15 Nijhout Hf, Reed MC, Budu P, et al. A mathematical model of the folate cycle: new insights into folate homeostasis. *J Biol Chem* 2014;279(53):55008-55016

16 Burkewitz K, Zhang Y, Mair WB. AMPK at the nexus of energetic and aging. *Cell Metab* 2014;20(1):10-25

17 Lerner C, Bitto A, Pulliam D, et al. Reduced mammalian target of rapamycin activity facilitates mitochondrial retrograde signaling and increases life span in normal human fibroblasts. *Aging Cell* 2013;12(6):966-977

18 Kimura N, Tokunaga C, Dalal S, et al. A possible linkage between AMP-activated protein kinase (AMPK) and mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway. *Genes Cells* 2003;8(1):65-79

19 Settembre C, Di Malta C, Garcia PV, et al. TFEB links autophagy to lysosomal biogenesis. *Science* 2011;332(11):1429-1433

20 Noren Hooten N, Martin-Montalvo A, Dluzen DF, et al. Metformin-mediated increase in DICER1 regulates microRNA expression and cellular senescence. *Aging Cell* 2016;15(3):572-581

21 Boehm M, Slack F. A developmental timing microRNA and its target regulate life span in *C. elegans*. *Science* 2005;310(5756):1954-1957

22 Ibanez-Ventoso C, Vora M, Driscoll M. Sequence relationships among *C. elegans* D. melanogaster and human microRNAs highlight the extensive conservation of microRNAs in biology. *Plos One* 2008;3(7):e2818

23 Mori MA, Raghavan P, Thomou T, et al. Role of microRNA processing in adipose tissue in stress defense and longevity. *Cell Metabolism* 2012;16(3):336

24 Martin-Montalvo A, Mercken EM, Mitchell SJ, et al. Metformin improves healthspan and lifespan in mice. *Nat Commun* 2013;4(7):2192

25 Kato M, Paranjape T, Muller RU, et al. The mir-34 microRNA is required for the DNA damage response *in vivo* in *C. elegans* and *in vitro* in human breast cancer cells. *Oncogene* 2009;28(25):2419-2424

26 Liu N, Landreh M, Cao K, et al. The microRNA miR-34 modulates ageing and neurodegeneration in *Drosophila*. *Nature* 2012;482(7386):519

27 Krzeszinski JY, Wei W, Huynh H, et al. miR-34a blocks osteoporosis and bone metastasis by inhibiting osteoclastogenesis and Tgfr2. *Nature* 2014;512(7515):431

28 Abdelmohsen K, Gorospe M. Noncoding RNA control of cellular Senescence. *Wiley Interdiscip Rev RNA* 2015;6(6):615-629

29 陈翠真, 宋旭东. 年龄相关性白内障发病机制. 国外医学眼科学分册 2003;27(6):332-335

30 Yang XJ, Ge J, Zhou YH. Role of mitochondria in the pathogenesis and treatment of glaucoma. *China Med J (Engl)* 2013;126(22):4358-4365

31 Li G, Luna C, Liton PB, et al. Sustained stress response after oxidative stress in trabecular meshwork cells. *Mol Vis* 2007;13(25):2282-2288

32 Izzotti A, Longobardi M, Cartiglia C, et al. Mitochondrial damage in the trabecular meshwork occurs only in primary open-angle glaucoma and in pseudoexfoliative glaucoma. *PLoS One* 2011;6(1):e14567

33 Suter M, Reme C, Grimm C, et al. Age-related macular degeneration: the lipofusion component N-retinyl-N-retinylidene ethanolamine detaches proapoptotic proteins from mitochondria and induces apoptosis in mammalian retinal pigment epithelial cells. *Biol Chem* 2000;275(50):39625-39630

34 Jin GF, Hurst JS, Godley BF. Hydrogen peroxide stimulates apoptosis in cultured human retinal pigment epithelial cells. *Curr Eye Res* 2001;22(3):165-173

35 牛膺筠, 赵颖, 周占宇, 等. 人视网膜色素上皮细胞累积性氧化损伤的机制探讨. 中华眼科杂志 2006;42(6):507-512

36 Shih CC, Wu YW, Lin WC. Antihyperglycemic and antioxidant properties of *Anoectochilus Formosanus* in diabetic rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2002;29(8):684

37 Das A, McGuire PG. Retinal and choroidal angiogenesis: pathophysiology and strategies for inhibition. *Prog Retin Eye Res* 2003;22(6):721-748

38 Sparrow JR, Hicks D, Hamel CP. The retinal pigment epithelium in health and disease. *Curr Mol Med* 2010;10(9):802-823

39 Dorrell M, Uusitalo-Jarvinen H, Aguilar E, et al. Ocular neovascularization: basic mechanisms and therapeutic advances. *Surv Ophthalmol* 2007;52(suppl 1):S3-S19

40 Cejková J, Ardan T, Jirsová K, et al. The role of conjunctival epithelial cell xanthine oxidoreductase/xanthine oxidase in oxidative reactions on the ocular surface of dry eye patients with Sjögren's syndrome. *Histol histopathol* 2007;22(9):997

41 Balci M, Şahin S, Mutlu FM, et al. Investigation of oxidative stress in pterygium tissue. *Mol Vis* 2011;17:443-447

42 Martin-Montalvo A, Mercken EM, Mitchell SJ, et al. Metformin improves healthspan and lifespan in mice. *Nat Commun* 2013;4(7):2192

43 Hardie DG, Ross FA, Hawley SA. AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012;13(4):251-262

44 Anisimov VN. Metformin: Do we finally have an anti-aging drug. *Cell Cycle* 2013;12(22):3483-3489

45 孙瑞竹, 张绍丹, 梁远波, 等. 线粒体功能失调和氧化应激在小梁网细胞损伤中的作用机制. 国际眼科纵览 2015;39(4):234-238

46 Bannister CA, Holden SE, Jenkins-Jones S, et al. Can people with type 2 diabetes live longer than those without? A comparison of mortality in people initiated with metformin or sulphonylurea monotherapy and matched, non-diabetic controls. *Diabetes Obes Metab* 2014;16(11):1165-1173