

不同波长的蓝光对人视网膜色素上皮细胞的影响

鞠雅晗*, 汤志敏*, 王宇瑶, 代小婵, 罗敏, 谷平

引用: 鞠雅晗, 汤志敏, 王宇瑶, 等. 不同波长的蓝光对人视网膜色素上皮细胞的影响. 国际眼科杂志 2020;20(8):1315-1319

基金项目: 国家自然科学基金项目(No.81870687)

作者单位: (200011) 中国上海市, 上海交通大学医学院附属第九人民医院眼科 上海市眼耳鼻喉眼肿瘤重点实验室

*: 鞠雅晗和汤志敏对本文贡献一致。

作者简介: 鞠雅晗, 在读硕士研究生, 研究方向: 眼底病; 汤志敏, 在读博士研究生, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 罗敏, 硕士研究生导师, 主任医师, 研究方向: 白内障、眼底病. luomin621124@126.com; 谷平, 博士研究生导师, 教授, 研究方向: 干细胞和眼组织修复. guping2009@126.com

收稿日期: 2019-11-25 修回日期: 2020-07-01

摘要

目的: 探讨不同波长的蓝光对人视网膜色素上皮细胞(RPE)的影响。

方法: 将体外培养的 ARPE-19 细胞随机分为对照组、447nm 蓝光组、456nm 蓝光组、468nm 蓝光组, 对照组细胞于常规条件下培养, 蓝光组细胞使用光强为 200Lx 的 OLED 蓝光背光源照射 72h, 利用细胞活/死染色实验、CCK-8 实验、Real-time PCR 等方法比较不同波长的蓝光对细胞形态、细胞活性、增殖能力及视循环功能指标和炎症指标 mRNA 表达的影响。

结果: 蓝光照射后, ARPE-19 细胞的形态发生变化, 细胞融合减少。蓝光波长越短, 对细胞增殖抑制作用越明显, 细胞内增殖标志物 Ki-67 mRNA 表达越少, 视循环功能指标卵磷脂视黄醇酰基转移酶(LRAT)、视黄醛结合蛋白(CRALBP)、视黄醛脱氢酶(RDH)、光受体视黄醇类结合蛋白(IRBP) mRNA 表达下调越明显, 细胞内炎症因子单核细胞趋化因子(MCP-1)、白介素-6(IL-6) mRNA 表达水平上调越明显。

结论: 不同波长蓝光对 RPE 细胞均有损害作用, 且蓝光波长越短, 其损害作用越大。

关键词: 蓝光; 视网膜色素上皮细胞; 增殖; 视循环; 炎症

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.8.04

Effects of different wavelengths of blue light on human retinal pigment epithelial cells

Ya-Han Ju*, Zhi-Min Tang*, Yu-Yao Wang, Xiao-Chan Dai, Min Luo, Ping Gu

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No.81870687)

Department of Ophthalmology, Ninth People's Hospital, Shanghai

Jiao Tong University School of Medicine; Shanghai Key Laboratory of Orbital Diseases and Ocular Oncology, Shanghai 200011, China
Co-first authors: Ya-Han Ju and Zhi-Min Tang

Correspondence to: Min Luo. Department of Ophthalmology, Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine; Shanghai Key Laboratory of Orbital Diseases and Ocular Oncology, Shanghai 200011, China. luomin621124@126.com; Ping Gu. Department of Ophthalmology, Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine; Shanghai Key Laboratory of Orbital Diseases and Ocular Oncology, Shanghai 200011, China. guping2009@126.com

Received: 2019-11-25 Accepted: 2020-07-01

Abstract

• AIM: To investigate the effects of different wavelength of blue light on human retinal pigment epithelial (RPE) cells.

• METHODS: ARPE-19 cells cultured *in vitro* were randomly divided into four groups, which were control group, 447nm blue light group, 456nm blue light group and 468nm blue light group. The cells in control group were cultured under normal conditions whereas the cells in blue light group were irradiated with different wavelengths of OLED blue light with the illumination intensity of 200Lux for 72h. Live/Dead staining assay, CCK-8 assay and real-time PCR were performed to compare the effects of different wavelengths of blue light on the morphology, cell viability, proliferation capacity, mRNA expression level of visual cycle biomarkers and inflammatory biomarkers of ARPE-19 cells, respectively.

• RESULTS: After blue light irradiation, the abnormal morphology and the decrease of cell confluence of ARPE-19 cells were observed. Furthermore, with the decrease in the wavelength of blue light, the inhibition effect of blue light on RPE proliferation was enhanced, and the mRNA expression of the proliferation marker Ki-67 and visual cycle biomarkers LRAT, CRALBP, RDH and IRBP decreased. In addition, the mRNA expression levels of inflammatory factors MCP-1 and IL-6 in RPE cells were up-regulated with the decrease in the wavelength of blue light.

• CONCLUSION: Our data demonstrated that blue light in different wavelengths exerted detrimental effects on RPE cells. The shorter the wavelength of blue light was, the more severe damage it caused on the RPE cells.

• KEYWORDS: blue light; retinal pigment epithelial cell; proliferation; visual cycle; inflammation

Citation: Ju YH, Tang ZM, Wang YY, et al. Effects of different wavelengths of blue light on human retinal pigment epithelial cells. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2020;20(8):1315-1319

0 引言

现代社会中,人们的工作和生活高度依赖于手机、电脑、电视等电子设备的使用,来源于这些电子设备显示屏的光给人们的视觉健康带来了极大的挑战^[1]。蓝光(400~500nm)广泛存在于电子显示屏的显示光谱(400~800nm)之中,是其主要的短波光谱^[2]。近年来,蓝光的视觉安全问题已经引起了人们的广泛关注。研究表明,蓝光对调节人体神经内分泌和昼夜节律有重要的影响^[3],然而,蓝光对视觉系统安全性的影响也不容忽视。在眼内,低于400nm的短波紫外线可大部分被角膜和晶状体吸收,而蓝光可穿透晶状体到达视网膜,造成视网膜的损伤^[4-5]。年龄相关性黄斑变性(ARMD)是中老年人致盲的首要疾病^[6],研究表明,慢性光损伤是ARMD发病的重要高危因素之一^[7],然而视网膜光损伤与ARMD发病之间的具体联系尚不明确。视网膜是视觉系统的核心组织,而视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelial cells, RPE)是整个视网膜功能正常运行的后勤保障细胞,RPE的功能障碍可随后导致感光细胞的受损,进而导致视网膜病变^[8-9]。因此,我们认为,RPE的损伤是整个视网膜光损伤的核心和源头环节,所以深入探讨RPE的损伤及其机制是研究视网膜光损伤的最佳切入点。本研究通过模拟电子显示屏的低光强蓝光照射体外RPE细胞,评估和比较不同波长的蓝光对RPE细胞的活性、增殖能力、视循环功能相关指标及炎症指标水平的影响,为今后蓝光损伤研究和干预提供理论依据和基础。

1 材料和方法

1.1 材料

人视网膜色素上皮细胞(ARPE-19细胞系)购于中科院细胞库;DMEM培养基、胎牛血清、青霉素/链霉素、胰蛋白酶(Gibco,美国),CCK-8(cell-counting kit-8)试剂(Dojindo,日本),活/死细胞染色试剂盒(Invitrogen,美国),RNA提取试剂盒(EZ bioscience,中国),反转录试剂盒(Takara,日本);光学显微镜(Olympus,日本),Real-time PCR仪(Applied Biosystems 7500,美国),酶标仪(BioTek Instruments,美国),CO₂培养箱(Thermo Fisher Scientific,中国),超净工作台(BIO-HAZARD, VCM-420,中国台湾)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

用含有10%胎牛血清和1%青霉素/链霉素的DMEM培养基培养ARPE-19细胞株,将细胞培养于37℃,5% CO₂的培养箱中,待细胞融合后用0.25%胰蛋白酶进行消化及传代,取状态良好的细胞用于实验。

1.2.2 细胞分组及蓝光损伤模型建立

将细胞随机分为对照组和蓝光组,其中对照组细胞进行正常培养;蓝光组细胞暴露于可发出3个不同波段蓝光的有机发光二极管(OLED)显示设备下,3个波段蓝光的峰值波长分别为447、456、468nm,蓝光照度约为200Lx,光照距离为2cm,在细胞融合度为60%~70%时进行蓝光照射,实验过程中使用隔板避免不同波长的蓝光之间的干扰。处理完成后显微镜下观察细胞形态并摄片记录。

1.2.3 CCK-8法检测细胞增殖活性

取状态良好的细胞消化并离心后,使用含10%胎牛血清的DMEM培养基重悬细胞,制成细胞悬液,以每孔 8×10^3 个细胞接种于96孔板,对照组细胞进行正常培养,蓝光组细胞分别经相应波长的蓝光照射0、24、48、72h,处理结束后,每孔加入10 μ L

CCK-8溶液,在37℃细胞培养箱中孵育,4h后用酶标仪检测450nm波长处的吸光度值(A)。细胞增殖活性 = $A_{\text{实验组}}/A_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。

1.2.4 活/死细胞染色检测细胞活性

取状态良好的细胞接种于24孔板中,每孔 4×10^4 个细胞,将蓝光组细胞置于447、456、468nm蓝光下照射72h后,用PBS润洗细胞,根据说明书配置活/死细胞染色试剂培养基,以每孔覆盖细胞为准,孵育30min后,荧光显微镜下观察检测,显示绿色荧光的为活细胞,显示红色荧光的为死细胞。

1.2.5 Real-time PCR检测细胞mRNA表达变化

对照组细胞进行正常培养,蓝光组细胞置于447、456、468nm蓝光下照射72h后,按照RNA抽提试剂盒说明书提取总RNA,利用Nanodrop2000c测定RNA浓度后根据逆转录试剂盒说明书操作,将RNA逆转录成cDNA。根据PubMed检索的核苷酸序列进行引物设计,引物由生工生物有限公司合成,引物序列见表1。反应条件:95℃预变性10min,95℃变性15s,60℃退火1min,95℃延伸15s,扩增40个循环。Ki-67、单核细胞趋化因子(MCP-1)、白介素-6(IL-6)、卵磷脂酰黄醇酰基转移酶(LRAT)、视黄醛结合蛋白(CRALBP)、视黄醛脱氢酶(RDH)、光受体视黄醇类结合蛋白(IRBP)mRNA的相对表达量以GAPDH的表达为内部参照,结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算,以对照组表达量的倍数形式呈现。

统计学分析:运用SPSS 23.0软件对数据进行统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间的比较采用单因素方差分析,若存在统计学差异后进一步采用LSD-*t*检验进行组间两两比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同波长的蓝光对细胞增殖活性的影响

CCK-8检测结果显示,将各时间点的检测数据根据各组细胞蓝光照射0h测得的吸光度值进行归一化处理,与正常培养的对照组相比,光照24h后,各蓝光组细胞的增殖活性略有减弱,但差异无统计学意义(均 $P > 0.05$);光照48、72h后,蓝光组各组细胞均有明显的增殖活性抑制现象,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。不同波长的蓝光照射细胞不同时间(24、48、72h)后,细胞的生长速率和增殖活性均受到不同程度的影响,其中波长越短,对细胞的增殖抑制越明显,细胞生长速率越缓慢(图1A)。

增殖标志物Ki-67的表达水平可间接反应细胞的增殖能力。Real-time PCR结果显示,蓝光照射细胞72h后,蓝光组各组细胞Ki-67 mRNA表达水平均降低,与对照组相比,447nm蓝光组细胞Ki-67 mRNA表达下降最明显,其次为456nm蓝光组、468nm蓝光组(图1B)。综上所述,提示波长越短的蓝光对ARPE-19细胞的增殖活性影响越大。

2.2 不同波长的蓝光导致细胞形态的变化

显微镜下对细胞形态进行观察,正常培养的ARPE-19细胞形态规则,细胞融合度良好,细胞之间紧密连接(图2A),蓝光组细胞在不同波长的蓝光照射72h后,细胞的形态发生变化,细胞融合不佳,细胞密度稀疏,其中447nm蓝光组细胞形态变化最明显(图2B),其次为456nm蓝光组(图2C)和468nm蓝光组(图2D)。

2.3 不同波长的蓝光对细胞活性的影响

活/死细胞染色

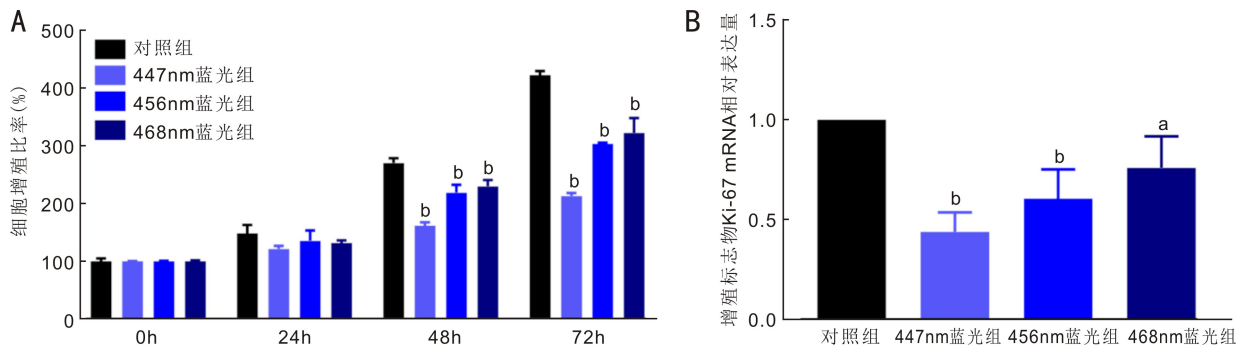


图1 不同波长的蓝光对细胞增殖活性的影响 A: CCK-8法检测不同波长的蓝光照射不同时间对细胞增殖活性的影响(0h: $F=0$, $P=1$; 24h: $F=2.629$, $P=0.122$; 48h: $F=57.080$, $P<0.001$; 72h: $F=117.989$, $P<0.001$); B: 不同波长的蓝光照射细胞72h后对其增殖标志物 Ki-67 mRNA 相对表达量的影响 ($F=12.167$, $P=0.002$)。* $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 对照组。

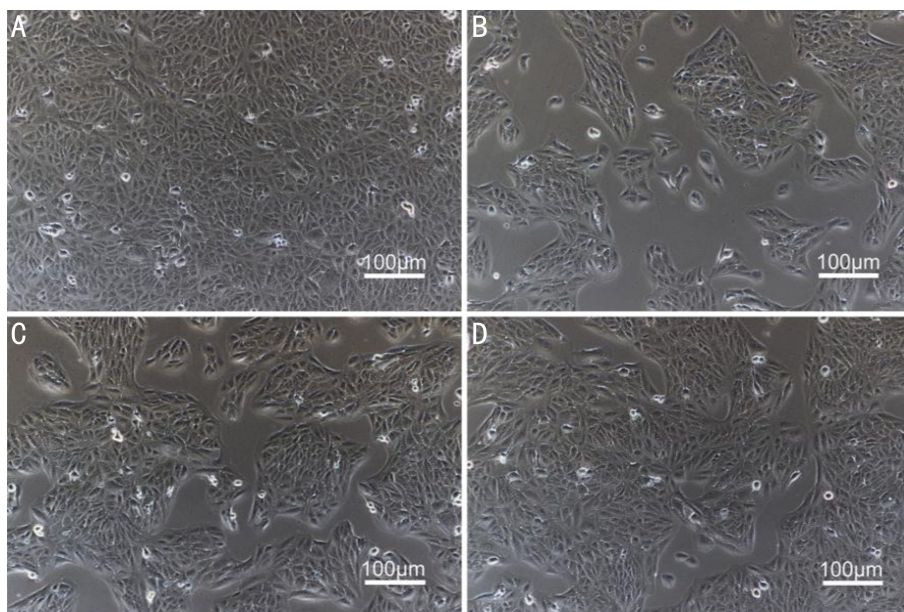


图2 不同波长蓝光照射后细胞的形态学改变($\times 100$) A: 对照组; B: 447nm 蓝光组; C: 456nm 蓝光组; D: 468nm 蓝光组。

表1 引物序列

引物名称	引物序列(F)	引物序列(R)
Ki-67	5'-TCCAGACACCAGACCACACTGAG-3'	5'-GTTCTTGGCTGCCTCTTGCTACC-3'
MCP-1	5'-CCTTCTGTGCCTGCTGCTCATAG-3'	5'-TTGCTTGCCAGGTGCTCCATG-3'
IL-6	5'-GGTGTTCCTGCTGCCTTCC-3'	5'-GCTCTGGCTTGTTCCTCACTACTC-3'
RDH	5'-GTCCAGCAGGCAGCCAAGTG-3'	5'-AGACTCTCCAGGTGCTCACAGG-3'
IRBP	5'-GCTCATGTCCGTGCTGCTCTG-3'	5'-ATAGGAGATGACCAGGCGAGGATC-3'
LRAT	5'-GCTGCTCCTCATCTCCAACCTCAC-3'	5'-TGACCAGGATGTTAGCTCCGTAGG-3'
CRALBP	5'-CCAACCTGGAGCAGCTCACAACC-3'	5'-TTCAATGGTGCAGCGGACAGC-3'
GAPDH	5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3'	5'-GGCTGTTGCATACTTCTCATGG-3'

结果显示,与对照组相比,蓝光组细胞在不同波长蓝光照射72h后可引起细胞不同程度的死亡(图3)。在447、456、468nm波段中,蓝光的波长越短,细胞的死亡数量越多,其中447nm蓝光组细胞活性最差,提示短波长蓝光对ARPE-19细胞活性影响最大。

2.4 不同波长蓝光对细胞视循环功能相关指标的影响

Real-time PCR检测各组细胞中卵磷脂视黄醇酰基转移酶(LRAT)、视黄醛结合蛋白(CRALBP)、视黄醛脱氢酶(RDH)、光受体视黄醇类结合蛋白(IRBP) mRNA表达,结果显示,蓝光照射72h后,各视循环功能相关指标的基因表达均呈现不同程度的下降,其中最短波长447nm蓝

光照射后对细胞视循环功能指标的抑制作用最显著(图4),表明短波长蓝光对细胞的视循环功能影响最大。

2.5 不同波长蓝光诱导细胞炎症因子表达的变化 Real-time PCR检测结果显示,蓝光照射72h后,ARPE-19细胞中MCP-1和IL-6 mRNA表达水平均上调,其中447nm波长蓝光照射后细胞中促炎因子上调最明显(图5)。

3 讨论

随着电子技术的发展,人们的工作和生活中越来越离不开手机、电脑、电视等电子设备的使用,来自这些显示设备中的光,尤其是其中的蓝光对人类健康的影响已经引起了广泛关注。既往研究表明,蓝光可以调节人的生物节

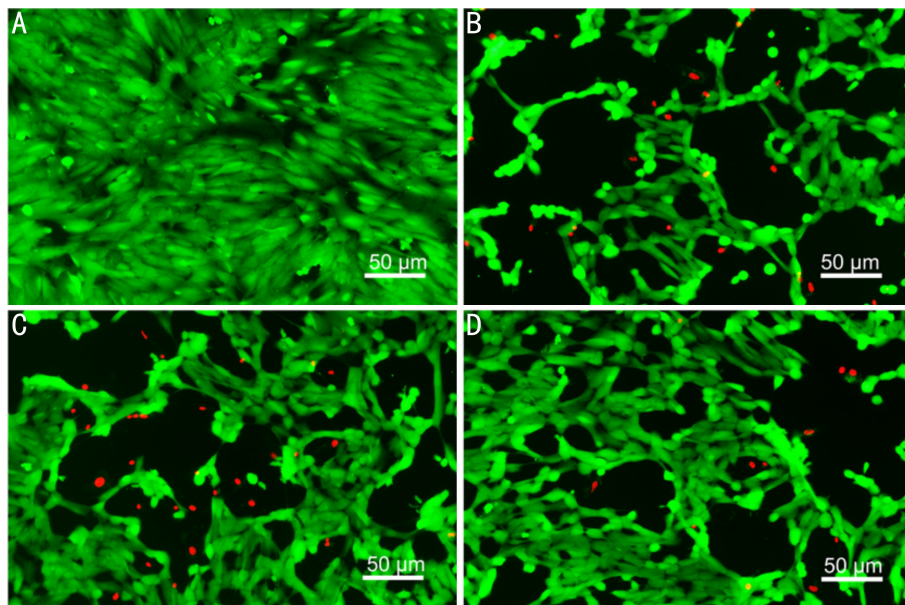


图3 不同波长的蓝光照射对细胞活性的影响($\times 200$) A:对照组;B:447nm 蓝光组;C:456nm 蓝光组;D:468nm 蓝光组。绿色荧光:活细胞;红色荧光:死细胞。

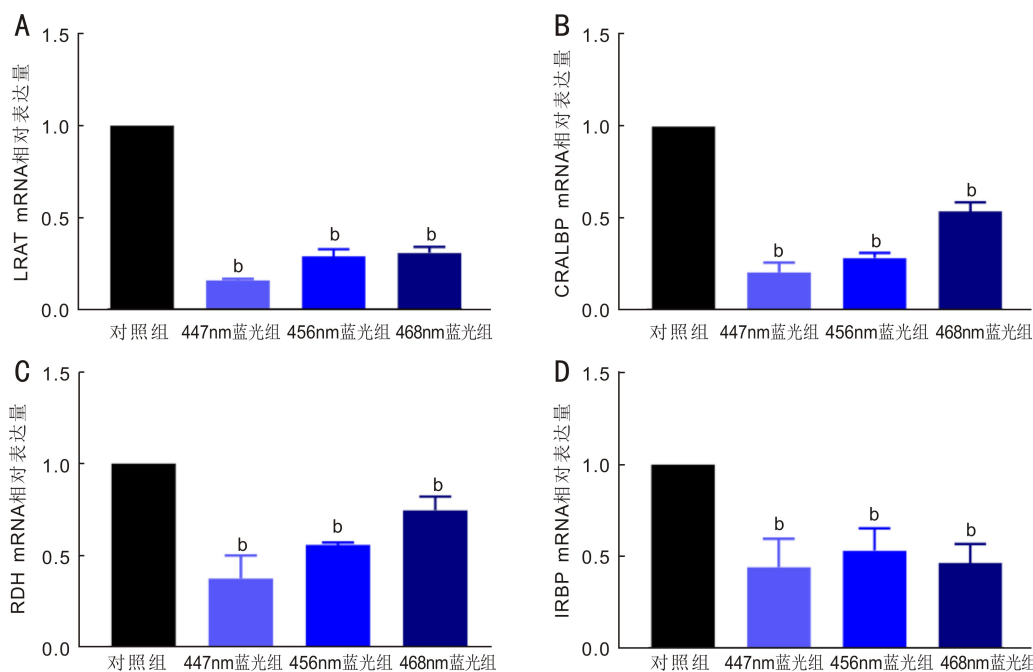


图4 不同波长的蓝光对细胞视循环功能指标 mRNA 表达的影响 A:LRAT($F=652.329, P<0.001$);B:CRALBP($F=489.962, P<0.001$);C:RDH($F=40.038, P<0.001$);D:IRBP($F=16.979, P=0.001$)。^b $P<0.01$ vs 对照组。

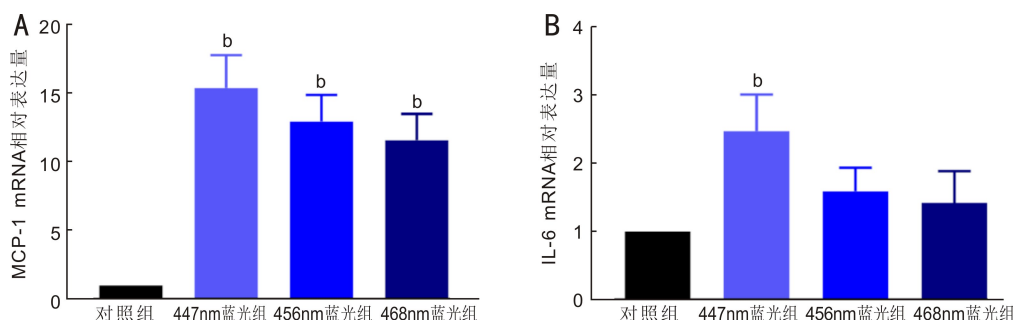


图5 不同波长的蓝光对细胞炎症因子 MCP-1 和 IL-6 mRNA 表达水平的影响 A:MCP-1 mRNA 表达水平($F=36.851, P<0.001$);B:IL-6 mRNA 表达水平($F=7.484, P=0.01$)。^b $P<0.01$ vs 对照组。

律^[10]。然而,蓝光亦可损害我们的视觉系统。近年来,视网膜退行性疾病尤其是 ARMD 在发达国家的发病率正在逐年攀升^[11],这或许与人口老龄化的发展态势有关,但也

与人们对电子设备日益严重的依赖性有着不可分割的关系,增长的屏幕使用时长使视网膜暴露在更多的蓝光之下,带来潜在的视觉安全隐患。本研究使用模拟电子设备

显示屏照度的蓝光进行体外研究,可有效评估日常工作生活中显示屏蓝光对人类视觉安全的影响。

RPE 细胞是视网膜中最重要的细胞之一,具有多种生理功能,如分泌、吞噬、屏障功能等,其负责保障视网膜正常功能的运行^[12]。RPE 细胞的损伤或死亡通常被认为是 ARMD 等视网膜退行性疾病的核心环节^[13]。本研究结果表明,蓝光可造成 RPE 细胞的异常,包括形态改变,细胞活性下降,细胞增殖能力减弱,甚至可造成细胞的死亡,且随着蓝光波长的变短,其对 RPE 细胞的损伤作用越显著。我们观察到在短波长蓝光照射下,RPE 细胞显示出更为稀疏的细胞融合度,这也从侧面体现了 RPE 细胞的增殖能力减弱,通过 CCK-8 实验以及增殖标志物 Ki-67 mRNA 水平的检测结果加以证实,随着蓝光波长变短,蓝光对 RPE 细胞的增殖抑制作用越强。此外,利用活/死细胞染色实验清楚地看到不同波长的蓝光照射下 RPE 细胞的存活情况,蓝光的照射波长越短,RPE 细胞中死细胞占总细胞的比例越大。

RPE 的重要生理功能之一是视循环功能^[14],即视蛋白视黄醛的代谢,这是眼睛能感知到光的生理基础。RPE 细胞中表达多种关键的视循环功能基因,如 RDH^[15]、CRALBP^[16]、LRAT^[17]、IRBP^[18]等,这些视循环功能蛋白均参与视黄醛代谢,负责其合成与转运,RPE 既是视黄醛的储存场所又是其合成场所,因此,一旦这些关键的视循环蛋白发生异常,视黄醛的正常转运和代谢就无法完成,视觉功能将因此受到损害。本研究发现,蓝光照射后,RPE 细胞视循环功能指标的基因表达水平明显下降,意味着 RPE 细胞的视循环功能受损,其异常可能导致视觉障碍甚至失明。虽然 ARMD 病因仍然不明确,但是视黄醛代谢的障碍可能是其重要的诱导因素之一^[19]。此外,RPE 作为血-视网膜屏障的外部屏障起着重要的作用,因此 RPE 的功能障碍直接影响血-视网膜屏障的完整性,而 RPE 功能受损后继而将受到炎症攻击,导致 RPE 炎症指标的异常,从而诱导 ARMD 等视网膜退行性疾病的进展^[20]。既往研究表明,RPE 功能异常引起的炎症反应是导致 ARMD 等视网膜退行性疾病的关键诱发因素^[21]。本研究中发现,蓝光可在体外诱导 RPE 细胞促炎因子 MCP-1 和 IL-6 mRNA 表达明显上调,表明 RPE 的光损伤确实可造成其炎症水平的异常。研究报道,促炎因子 MCP-1 等在视网膜退行性疾病(如 ARMD)的发生发展中发挥了重要的作用^[22],提示光损伤后 RPE 异常的炎症因子水平可能会导致 ARMD 等视网膜退行性疾病的发生。然而,本研究尚未对炎症因子的异常表达机制进行研究,将在今后的研究中进行深入探讨。

综上所述,本研究结果表明蓝光照射可引起 RPE 细胞的异常,包括细胞活性下降、细胞增殖能力减弱甚至细胞死亡。此外,蓝光下调了 RPE 细胞视循环功能相关基因的表达,同时可引起 RPE 细胞的炎症指标水平异常,表现为促炎因子 IL-6 和 MCP-1 的基因表达升高。与长波长蓝光相比,短波长蓝光对 RPE 细胞的损伤作用更明显。本研究旨在观察不同波长的蓝光对维持视网膜功能的 RPE 细胞的损伤作用,探讨对视觉系统损害的蓝光波长的特点,为视网膜的蓝光损伤研究提供了新的实验依据,也为今后显示

设备视觉安全性的发展给予了一定的指导意义。

参考文献

- Lougheed T. Hidden blue hazard? LED lighting and retinal damage in rats. *Environ Health Perspect* 2014; 122(3): A81
- Behar-Cohen F, Martinsons C, Viénot F, et al. Light-emitting diodes (LED) for domestic lighting: any risks for the eye? *Prog Retin Eye Res* 2011; 30(4): 239-257
- Brainard GC, Hanifin JP, Warfield B, et al. Short-wavelength enrichment of polychromatic light enhances human melatonin suppression potency. *J Pineal Res* 2015; 58(3): 352-361
- Dillon J, Zheng L, Merriam JC, et al. Transmission spectra of light to the mammalian retina. *Photochem Photobiol* 2000; 71(2): 225-229
- 秦珊, 卢怡洁, 秦波. 蓝光损伤视网膜的机制及防护. *国际眼科杂志* 2019; 19(10): 1696-1699
- Bourne RRA, Jonas JB, Bron AM, et al. Prevalence and causes of vision loss in high-income countries and in Eastern and Central Europe in 2015: magnitude, temporal trends and projections. *Br J Ophthalmol* 2018; 102(5): 575-585
- Marquioni-Ramella MD, Suburo AM. Photo-damage, photo-protection and age-related macular degeneration. *Photochem Photobiol Sci* 2015; 14(9): 1560-1577
- Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev* 2005; 85(3): 845-881
- Ambati J, Atkinson JP, Gelfand BD. Immunology of age-related macular degeneration. *Nat Rev Immunol* 2013; 13(6): 438-451
- Wahl S, Engelhardt M, Schaupp P, et al. The inner clock-Blue light sets the human rhythm. *J Biophotonics* 2019; 12(12): e201900102
- Colijn JM, Buitendijk GHS, Prokofyeva E, et al. Prevalence of Age-Related Macular Degeneration in Europe: The Past and the Future. *Ophthalmology* 2017; 124(12): 1753-1763
- Ao J, Wood JP, Chidlow G, et al. Retinal pigment epithelium in the pathogenesis of age-related macular degeneration and photobiomodulation as a potential therapy? *Clin Exp Ophthalmol* 2018; 46(6): 670-686
- Mitchell P, Liew G, Gopinath B, et al. Age-related macular degeneration. *Lancet* 2018; 392(10153): 1147-1159
- 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): 878-885
- Sahu B, Maeda A. Retinol Dehydrogenases Regulate Vitamin A Metabolism for Visual Function. *Nutrients* 2016; 8(11): 746
- Xue Y, Shen SQ, Jui J, et al. CRALBP supports the mammalian retinal visual cycle and cone vision. *J Clin Invest* 2015; 125(2): 727-738
- Sears AE, Palczewski K. Lecithin: Retinol Acyltransferase: A Key Enzyme Involved in the Retinoid (visual) Cycle. *Biochemistry* 2016; 55(22): 3082-3091
- Cook JD, Ng SY, Lloyd M, et al. Peropsin modulates transit of vitamin A from retina to retinal pigment epithelium. *J Biol Chem* 2017; 292(52): 21407-21416
- Sparrow JR. Vitamin A-aldehyde adducts: AMD risk and targeted therapeutics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113(17): 4564-4569
- Chen M, Luo C, Zhao J, et al. Immune regulation in the aging retina. *Prog Retin Eye Res* 2019; 69: 159-172
- Datta S, Cano M, Ebrahimi K, et al. The impact of oxidative stress and inflammation on RPE degeneration in non-neovascular AMD. *Prog Retin Eye Res* 2017; 60: 201-218
- Suzuki M, Tsujikawa M, Itabe H, et al. Chronic photo-oxidative stress and subsequent MCP-1 activation as causative factors for age-related macular degeneration. *J Cell Sci* 2012; 125(Pt 10): 2407-2415