

年龄相关性黄斑变性体外细胞模型的研究进展

陈鑫,莫亚欣,刘新宇,陈强

引用:陈鑫,莫亚欣,刘新宇,等. 年龄相关性黄斑变性体外细胞模型的研究进展. 国际眼科杂志, 2025,25(9):1460-1465.

基金项目:中国中医科学院眼科医院高水平中医医院课题(No. GSP3-09, GSP5-32)

作者单位:(100040)中国北京市,中国中医科学院眼科医院

作者简介:陈鑫,在读硕士研究生,研究方向:眼部疾病的基础研究。

通讯作者:陈强,博士,研究员,硕士研究生导师,研究方向:眼部疾病的基础研究. qiangchen2015@sina.com

收稿日期:2025-02-28 修回日期:2025-07-22

摘要

年龄相关性黄斑变性(ARMD)是导致老年人不可逆视力丧失的主要原因,其病理机制复杂,涉及氧化应激、炎症反应、代谢失衡等多种因素。近年来,体外细胞模型在ARMD研究中发挥了重要作用,通过模拟视网膜微环境来探讨疾病机制、筛选潜在药物,并评估治疗策略。文章系统综述了ARMD不同类型的体外细胞模型的研究进展,包括视网膜色素上皮细胞模型、3D细胞打印模型、类器官模型等,分析其构建方法、应用场景及各模型优缺点,并探讨当前研究中的争议与挑战。未来,随着微流控技术、基因编辑技术及3D打印技术的发展,这些模型有望朝着更加精准、个性化的方向发展,从而推动ARMD的早期诊断和个性化治疗的实现。

关键词:年龄相关性黄斑变性;体外细胞模型;模型构建

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2025.9.13

Research advances in *in vitro* cellular models for age-related macular degeneration

Chen Xin, Mo Yaxin, Liu Xinyu, Chen Qiang

Foundation items: Central High - Level Traditional Chinese Medicine Hospital Project of Eye Hospital China Academy of Chinese Medical Sciences (No. GSP3-09, GSP5-32)

Eye Hospital China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100040, China

Correspondence to: Chen Qiang, Eye Hospital China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100040, China. qiangchen2015@sina.com

Received:2025-02-28 Accepted:2025-07-22

Abstract

• Age-related macular degeneration (ARMD) is a leading cause of irreversible vision loss in the elderly, characterized by complex mechanisms such as oxidative

stress, inflammation, and metabolic dysregulation. *In vitro* cellular models have become indispensable in ARMD research, enabling the study of ARMD pathogenesis, drug screening, and treatment evaluation through retinal microenvironment simulation. This review provides a systematic overview of recent advances in various *in vitro* models for ARMD research, encompassing retinal pigment epithelium (RPE) cell cultures, 3D bioprinted retinal constructs, and organoid technologies. We critically examine their development methodologies, experimental applications, as well as comparative strengths and weaknesses. The review also addresses ongoing debates and technical challenges in this research domain. In the future, continued progress in microfluidic platforms, gene - editing tools, and 3D bioprinting technologies promises to enhance the precision and patient - specific relevance of these models, ultimately facilitating earlier diagnosis and more tailored therapeutic interventions for ARMD.

• KEYWORDS: age-related macular degeneration; *in vitro* cellular model; model construction

Citation: Chen X, Mo YX, Liu XY, et al. Research advances in *in vitro* cellular models for age-related macular degeneration. Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci), 2025,25(9):1460-1465.

0 引言

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, ARMD)是一种严重威胁老年人视力健康的眼底疾病。随着全球人口老龄化的加剧,ARMD的发病率逐年上升,已成为老年人不可逆性视力丧失的主要原因之一^[1]。ARMD的发病机制尚未完全阐明,受到遗传、环境、代谢失衡等复杂性多因素影响使得基础研究与临床治疗面临巨大挑战^[2]。因此,构建合适的体外细胞模型成为研究ARMD发病机制和治疗方法的关键环节。

体外细胞模型能够在体外模拟ARMD患者眼部细胞的生理和病理状态,为研究人员提供一个可控的实验平台,有助于深入探究疾病的发病机制,筛选和评价潜在的治疗药物和治疗策略。与动物模型相比,体外细胞模型具有实验条件可控性强的优势,能够更精准地解析疾病在分子层面的病理机制。因此,构建理想的ARMD体外细胞模型具有重要意义。

1 ARMD常用体外细胞模型及构建方法

1.1 视网膜色素上皮细胞模型 视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞具有维持视网膜结构稳定、支持光感受器功能及参与视觉信号传导等关键生理功能^[3]。目前常用的RPE细胞模型主要包括原代细胞培养和永生化细胞系培养两种方法,不同的方法各有其特点和适用范围^[4]。

1.1.1 原代 RPE 细胞模型 原代 RPE 细胞培养是从动物或人体眼球组织中直接获取 RPE 细胞进行培养的方法。原代 RPE 细胞能够较好地保留细胞的原始生物学特性,更接近体内的生理状态^[5],但其培养过程较为复杂,细胞来源有限,且传代次数有限,一般在 3-5 代后,细胞的生物学特性会逐渐发生改变,限制了其在大规模实验中的应用。原代 RPE 细胞在体外培养中可形成分化良好的单层结构,具有紧密连接和极化表型,跨膜电阻(trans epithelial electrical resistance, TER)值通常超过 300 Ω/cm^2 (表 1)。研究表明,不同物种来源的 RPE 细胞具有显著差异:猪源性 RPE 细胞表现出优异的屏障功能特性,TER 值超过 400 Ω/cm^2 ,细胞连接蛋白 ZO-1 呈现特征性分布;然而在传代培养过程中,其特征性蛋白(RPE-65 和 CRALBP)表达水平会逐渐降低,该模型特别适用于构建炎症相关的退行性病变研究体系,在 ARMD 等疾病机制研究中具有重要价值^[6-9]。小鼠源性细胞则展现出良好的稳定性,TER 值可维持维持在 200 Ω/cm^2 以上达 2 wk(表 1),这一特性使其成为研究药物作用机制、自噬过程及炎症反应的理想实验模型^[10]。值得注意的是,研究人员新近建立的牛源性永生生化细胞系有效克服了传统培养中增殖受限的问题,在长期传代后仍能保持关键的生物学特征^[11]。此外,研究显示老年灵长类动物的 RPE 细胞在屏障功能方面显著弱于年轻个体,这一发现为深入探讨视网膜病变的表观遗传调控机制提供了新的研究思路^[12]。

1.1.2 RPE 细胞系模型

1.1.2.1 hTERT-RPE1 细胞系 hTERT-RPE1 是通过引入端粒酶逆转录酶构建的永生生化 RPE 细胞系,具有良好的体外增殖能力,能够在长期培养过程中保持部分 RPE 细胞的生物学特性,包括色素沉积特征及相关基因的表达特征^[13]。然而,该细胞系在体外分化过程中难以形成典型的鹅卵石样形态结构,因此主要用于细胞应激反应、氧化应激损伤以及基因表达调控等方面的机制研究。相关研究表明,外源性补充谷胱甘肽可显著调控该细胞系在微波辐射下的基因转录水平变化^[14]。

1.1.2.2 ARPE-19 细胞系 ARPE-19 是一种自发永生化的 RPE 细胞系,具有典型的 RPE 细胞形态特征和部分生理功能。该细胞在低血清培养条件下可形成鹅卵石样单层结构,并表现出良好的细胞极化和紧密连接特性,其 TER 值可维持在 50-100 Ω/cm^2 ,适用于研究 RPE 细胞的吞噬功能、炎症反应和补体系统激活^[15]。该细胞系已广泛应用于 ARMD 的发病机制研究,包括上皮-间质转化过程、炎症反应、吞噬功能障碍以及补体系统异常激活等关键病理环节(表 1)^[16-20]。通过基因编辑技术,研究人员已成功在该细胞系中构建了显性遗传性黄斑变性相关基因突变模型^[21]。然而,该细胞模型存在一定的局限性,随着传代次数增加,其分化能力呈现逐渐减弱的趋势(表 2)。与干细胞来源的 RPE 相比,其在研究相关性和实验可重复性方面存在不足^[22]。尽管如此,在标准培养条件下,该细胞系仍能维持基本的上皮分化特性,因此可作为 ARMD 研究的有效实验模型^[23]。

1.2 脉络膜血管内皮细胞模型 脉络膜血管内皮细胞(choroidal vascular endothelial cells, CVECs)是构成脉络膜血管内壁的单层扁平上皮细胞,具有独特的生理特性,在维持眼部正常生理功能和内环境稳定中发挥着关键作用^[24-25]。

1.2.1 原代脉络膜血管内皮细胞模型 脉络膜血管内皮原代细胞培养模型是通过从动物或人类眼球脉络膜组织中分离培养获得的实验体系,能够较好地模拟体内脉络膜血管内皮细胞的生物学特性。该模型在探究脉络膜新生血管(choroidal neovascularisation, CNV)的形成机制及开发相关治疗策略方面具有独特优势,但由于组织来源有限、体外培养条件严苛以及细胞分离纯度控制困难等因素,其应用受到一定限制^[26]。

1.2.2 脉络膜血管内皮细胞系模型 细胞系培养是利用已建立的永生生化脉络膜血管内皮细胞系(如 RF/6A 猴脉络膜视网膜血管内皮细胞系)^[27]。该模型具有操作简便、重复性良好等技术优势,但需注意长期传代可能导致细胞遗传学特征改变及表型漂移,使其与原发细胞在生物学行为上产生差异。为模拟 ARMD 特征性病理改变,研究团队通过建立低氧培养体系或外源性添加血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等干预手段,构建 CNV 体外模型。实验证实,低氧条件可显著上调 VEGF 等促血管生成因子的表达,进而促进内皮细胞增殖、迁移及管腔形成能力;而外源性 VEGF 则通过激活特定信号通路诱导血管生成表型^[28]。

1.3 其他相关细胞模型

1.3.1 光感受器细胞模型 光感受器细胞(视锥/视杆细胞)是视网膜中将光信号转化为神经冲动的关键细胞。利用 661W 小鼠光感受器细胞系可构建损伤模型,通过氧化应激剂或炎症因子模拟 ARMD 病理环境。研究表明,氧化应激会显著增加细胞内活性氧水平,损害线粒体功能并诱导细胞凋亡^[29]。光感受器细胞的存活高度依赖 RPE 细胞的支持功能。在 ARMD 病程中,RPE 细胞功能障碍导致其无法有效清除光感受器细胞脱落的外节盘膜,造成代谢产物堆积并引发炎症反应,最终加速光感受器细胞退变^[30]。

1.3.2 神经胶质细胞模型 视网膜中的神经胶质细胞主要包括 Müller 细胞和小胶质细胞^[31]。在 ARMD 研究中,可利用 Müller 细胞模型研究其在视网膜损伤和修复过程中的作用。研究人员利用原代培养的人 Müller 细胞构建炎症模型,通过添加脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激 Müller 细胞,模拟 ARMD 中的炎症微环境。结果发现,LPS 刺激后,Müller 细胞分泌大量白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等炎症因子,同时细胞内的抗氧化酶活性降低,氧化应激水平升高^[32]。

小胶质细胞作为视网膜中免疫细胞,在 ARMD 发病中起重要作用^[33]。研究人员利用小鼠小胶质细胞 BV2 构建小胶质细胞激活模型,通过添加炎症因子或损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs),模拟 ARMD 中的免疫微环境。结果发现,在炎症刺激下 BV2 细胞被激活,形态发生改变,由静息态转变为活化态,分泌大量炎症因子和细胞毒性物质对视网膜组织造成损伤^[34]。小胶质细胞的过度活化还会导致炎症反应的放大和持续,进一步破坏视网膜的结构和功能。在 ARMD 患者的视网膜中,小胶质细胞的数量和活性明显增加,它们聚集在病变区域,参与炎症反应和免疫调节,与 ARMD 的病情发展密切相关。

尽管传统体外模型为 ARMD 的研究提供了基础平台,但其在模拟复杂视网膜微环境方面和病理特征等方面

表1 ARMD常用体外细胞模型比较

模型类型	构建难度	成本	适用场景	优点	缺点	参考文献
原代 RPE 细胞	高	高	模拟生理状态、炎症/氧化应激研究	高度保留原始生物学特性,紧密连接和极化表型,TER 值高(>300 Ω/cm ²)	来源有限,传代次数少(3-5代),培养复杂,动物源与人类基因差异可能影响结果	5,6,10
hTERT - RPE1 细胞系	低	中	氧化应激、基因转录研究	永生化细胞,适合长期培养,保留部分 RPE 细胞特征(如色素沉着)	分化能力弱,形态不典型,无法模拟完整 RPE 细胞功能(如吞噬功能缺失)	13,14
ARPE-19 细胞系	低	低	吞噬功能、补体激活研究	操作简便,可形成极化单层结构,适用于高通量药物筛选	传代后分化能力下降,与体内 RPE 细胞功能差异较大,无法模拟布鲁赫膜结构	15,22
原代 CVECs 模型	高	高	CNV 机制研究	真实反映内皮细胞特性,适用于血管生成和缺氧响应研究	细胞获取难度大、纯度低,培养条件苛刻,难以长期维持功能	24, 26
光感受器细胞模型	中等	中等	光感受器细胞损伤机制、与 RPE 细胞的相互作用、药物对光感受器细胞的保护作用	具有光感受器细胞的特性,可模拟光感受器细胞的损伤和保护机制,适用于相关药物筛选和细胞功能研究	模型相对单一,难以完全模拟体内光感受器细胞与 RPE 细胞等其他细胞的复杂相互作用,可能影响对某些病理机制的研究	29
神经胶质细胞模型	中等	中等	视网膜损伤与修复、炎症反应	可模拟神经胶质细胞在视网膜损伤和炎症中的作用,利于研究视网膜的神经保护和免疫调节机制	原代 Müller 细胞培养条件较复杂,BV2 细胞与原代小胶质细胞在某些生物学特性上存在差异,可能影响对小胶质细胞功能研究的准确性	31,32
RPE-CC 复合体三维模型	极高	极高	血管生成、微环境互作研究	模拟三维结构,整合 RPE 细胞与脉络膜互作,适用于动态微环境研究(如缺氧环境)	技术复杂,细胞成熟度不足,维护成本高,标准化困难	37,38
iPSCs-RPE 类器官模型	高	中	遗传机制、药物筛选	个体特异性强,可模拟遗传变异,分化后功能接近天然 RPE 细胞	分化标准化困难,长期稳定性差,培养周期长	35,36
器官芯片模型	极高	高	动态微环境模拟(缺氧、VEGF 分泌)	高精度控制微环境参数(如流体剪切力、氧浓度),支持多细胞共培养	设备依赖性强,难以模拟全身免疫交互,成本高昂	39, 42

仍存在些许不足。随着技术的发展,新型的体外细胞模型不断涌现为 ARMD 研究提供了更多的可能性,下文将介绍干细胞、3D 细胞及类器官等前沿模型,探讨其在机制研究和治疗探索中的潜力。

2 新型体外细胞模型

2.1 干细胞模型

干细胞凭借其自我更新和多向分化潜能,已成为获取 RPE 细胞的重要来源。胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)和诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)均具有分化为 RPE 细胞和光感受器细胞的能力^[35]。其中,iPSCs 因其来源广泛,且具有供体特异性等优势,便于开展健康与疾病状态的比较研究。自 2004 年首次实现人类胚胎干细胞向 RPE 细胞分化以来,该技术的分化效率已显著提升至 60%-80%。然而,iPSCs 分化为 RPE 细胞的过程仍面临标准化难题,其分化效果受多种因素影响,因此需要通过形态学特征观察、特定基因表达谱分析以及跨膜电阻值测定等方法进行

严格的功能验证^[23]。此外,iPSCs 来源的 RPE (iPSCs-RPE)细胞的功能与供体基因型和 ARMD 风险相关,这种个体特异性的评估体系可能为疾病预测提供新思路^[36]。相比 ESCs,iPSCs 技术具有伦理接受度高、可规模化扩增并定向分化等优势。通过结合基因编辑技术,研究人员能够在 iPSCs-RPE 细胞中引入特定基因突变,从而深入探究遗传变异在疾病发生发展中的作用机制。

2.2 三维细胞模型

基于三维(3D)打印技术、生物支架材料和细胞自组装原理构建的三维细胞培养体系,能够更好地模拟体内生理微环境及细胞间相互作用,为 ARMD 研究提供了更具生理相关性的实验平台^[37]。近期研究进展显示,采用 iPSCs 成功构建了视网膜色素上皮-脉络膜复合体(retinal pigment epithelium-choriocapillaris complex, RPE-CC)三维模型,该模型通过水凝胶包裹的内皮细胞和间充质干细胞,有效模拟脉络膜毛细血管网络的结构特征,为探究疾病发病机制提供新型研究工具^[38]。在血管

表 2 ARMD 病理机制与不同体外细胞模型应用的关联

ARMD 病理机制	关键分子/通路	适用体外细胞模型	研究应用	参考文献
氧化应激	NRF2、ROS、线粒体自噬	iPSCs-RPE、原代 RPE	iPSCs-RPE 验证 NRF2 激活剂减少 ROS 积累	43,44
补体系统激活	C3a、C5a、VEGF	ARPE-19、小胶质细胞 BV2	在 ARPE-19 中验证抗 C5 抗体抑制 VEGF 分泌	48,50
脉络膜新生血管	VEGF、HIF-1 α	3D RPE-CC、器官芯片	3D 模型中贝伐单抗抑制缺氧诱导的血管渗漏	38,39
胆固醇代谢异常	ABCA1 APOE、LXRs	iPSCs-RPE、3D 共培养模型	LXR 激动剂提升 ABCA1 表达,减少脂质沉积	51,52
光感受器退变	Caspase-3、外节吞噬缺陷	661W 细胞、视网膜类器官	槲皮素减轻蓝光诱导的 661W 细胞凋亡	30
炎症反应	IL-6、TNF- α 、NF- κ B	原代 CVECs、Müller 细胞模型	LPS 刺激 Müller 细胞分泌 IL-6,模拟 ARMD 炎症微环境	32,34

生成研究方面,利用微流控技术建立的 RPE 细胞与血管内皮细胞三维共培养系统证实,在低糖或缺氧条件下,RPE 细胞中 VEGF 的表达显著上调,这一现象与湿性 ARMD 的病理特征高度吻合^[39]。然而,三维细胞模型的构建与维持仍存在技术难点,包括细胞来源的限制以及培养条件的优化等关键问题亟待解决。

2.3 类器官模型 类器官技术作为新兴的体外研究模型,是通过干细胞或祖细胞体外定向分化形成的具有三维结构的微型功能组织(表 2)。该技术利用 ESCs 或 iPSCs 成功构建了视网膜类器官模型,能够较好地模拟视网膜组织发育过程及疾病发生发展机制。视网膜类器官模型凭借其接近真实组织的组织结构和细胞组成多样性,为研究 ARMD 的病理特征提供了理想平台(表 2)。研究表明,基于 iPSCs 的视网膜类器官可用于探究遗传因素对疾病易感性的影响及药物干预效果评估^[40]。通过建立包含不同遗传背景的疾病模型库,研究人员成功模拟了 ARMD 不同阶段的病理变化。值得注意的是,在疾病类器官模型中观察到 NRF2 抗氧化信号通路异常与线粒体自噬功能障碍存在显著相关性。基因编辑激活 NRF2 表达可有效降低活性氧积累,延缓 RPE 细胞的凋亡进程^[41]。但该模型的构建和培养条件复杂,目前仍面临细胞成熟度不足、长期培养稳定性差和体内相关性验证等挑战。

2.4 器官芯片模型 基于微流控技术构建的器官芯片模型是一种创新的体外实验系统,通过在微型芯片上精确调控细胞培养微环境,有效模拟体内器官的生理功能和组织微环境特征。该技术为 ARMD 等眼科疾病的研究提供了突破性的技术手段,在模拟 RPE 细胞与脉络膜组织间的相互作用机制方面展现出显著优势^[42]。器官芯片模型能够精确再现 RPE 细胞在不同病理微环境下的功能变化,包括低糖和缺氧应激条件下的适应性反应,以及促 VEGF 分泌调控对血管内皮细胞迁移行为的影响。通过微流控通道的精确控制,研究人员可实现对细胞微环境的动态调控,从而更准确地模拟疾病发生发展过程中的关键病理生理变化。

3 体外细胞模型在 ARMD 发病机制研究中的应用

体外培养细胞模型为阐明 ARMD 的发病机制提供了重要研究工具。在氧化应激研究方面,体外实验证实 RPE 细胞的氧化还原失衡是疾病发生的关键环节。iPSCs-RPE 细胞模型显示,患者来源细胞存在线粒体功能障碍,表现为线粒体自噬相关通路活性降低。同时,随着年龄增长,NRF2 活性逐渐减弱,导致氧化应激和炎症反应加剧,这提示增强 NRF2 的活性可能成为潜在治疗靶点^[43-44]。在德鲁森样沉积物形成机制研究中,多种 RPE 细胞模型(包括永生化细胞系、原代细胞和干细胞分化细胞)均证实,氧化应激可诱导产生与临床病变相似的沉积物。通过 CRISPR/Cas9 技术构建特定基因突变的细胞模型,进一步揭示了脂质代谢紊乱与补体系统激活之间的内在联系^[45-47]。补体系统异常在疾病发生发展中起重要作用。体外实验表明,在炎症或缺氧条件下,RPE 细胞的补体因子表达显著增加,这些补体成分可调控 VEGF 的表达并影响细胞代谢功能(表 2)。值得注意的是,补体抑制剂的体外实验结果与临床试验存在差异,这可能与体外模型未能完全模拟体内复杂的免疫调节网络有关^[48-50]。此外,胆固醇代谢异常与 ARMD 密切相关,研究发现特定基因变异可影响 RPE 细胞的胆固醇外排功能,而肝 X 受体激动剂能显著提升胆固醇转运蛋白表达,有效减少细胞内脂质蓄积。3D 共培养模型进一步证实,高胆固醇微环境可促进病理性血管生成^[51-52]。这些研究为 ARMD 的机制探索和治疗策略提供了重要依据。

4 小结

ARMD 体外细胞模型在研究中取得了重要进展,但仍存在局限性。体外模型难以完全还原视网膜微环境的复杂性,尽管 3D 和类器官模型部分模拟了三维结构,但仍无法完全重现体内条件。原代细胞培养虽保留原始特性,但来源有限、培养复杂且传代次数受限,而细胞系培养虽操作简便,但长期培养可能导致基因突变和表型改变。不同实验室在细胞来源、培养条件和实验方法上的差异,导致模型标准化和重复性不足^[53-54]。未来,结合微流控技

术、生物材料和基因编辑技术构建更接近体内环境的复合模型,以及应用多组学分析方法揭示 ARMD 的分子机制,将是发展方向。类器官技术可能成为 ARMD 研究的主流模型,凭借其高度的生物学相似性,能够更好地模拟复杂的 ARMD 病理特征,尤其在药物筛选和疾病机制研究中具有巨大的潜力。人工智能与大数据的结合将大幅提升模型的预测能力,通过机器学习筛选出更具生物学意义的治疗靶点,推动个性化治疗的发展,特别是在药物筛选中帮助识别潜在的候选药物。基因编辑技术如 CRISPR 的应用将允许精确修改模型细胞的基因组,模拟不同 ARMD 亚型和个体差异,为精准诊断和治疗提供新方向。而 3D 细胞打印技术的进步将使细胞模型更加贴近真实的组织结构,在组织工程和疾病研究中发挥重要作用,为药物筛选和治疗策略优化提供更多数据。总的来说,未来的 ARMD 细胞模型将朝着多元化、精准化和个性化的方向发展,推动 ARMD 的早期诊断、药物研发和个性化治疗策略的形成,通过整合先进技术,有望建立更完善的 ARMD 体外模型,推动基础研究和临床治疗的突破。

利益冲突说明:本文不存在利益冲突。

作者贡献说明:陈鑫论文选题与修改,初稿撰写;莫亚欣、刘新宇文献检索;陈强选题指导,论文修改及审阅。所有作者阅读并同意最终的版本。

参考文献

- [1] Guymer RH, Campbell TG. Age-related macular degeneration. *Lancet*, 2023,401(10386):1459-1472.
- [2] Wong JHC, Ma JYW, Jobling AI, et al. Exploring the pathogenesis of age-related macular degeneration: a review of the interplay between retinal pigment epithelium dysfunction and the innate immune system. *Front Neurosci*, 2022,16:1009599.
- [3] Wang SS, Li WH, Chen M, et al. The retinal pigment epithelium: Functions and roles in ocular diseases. *Fundam Res*, 2024,4(6):1710-1718.
- [4] Fronk AH, Vargis E. Methods for culturing retinal pigment epithelial cells: a review of current protocols and future recommendations. *J Tissue Eng*, 2016,7:2041731416650838.
- [5] Fernandez-Godino R, Garland DL, Pierce EA. Isolation, culture and characterization of primary mouse RPE cells. *Nat Protoc*, 2016,11(7):1206-1218.
- [6] Paterson CA, Weatherston D, Teeple T, et al. Isolation of primary porcine retinal pigment epithelial cells for *in vitro* modeling. *J Vis Exp*, 2024,(207).
- [7] Zhou D, Petersen A, Adelöf J, et al. A novel primary porcine retinal pigment epithelium cell model with preserved properties. *Curr Eye Res*, 2024,49(1):97-107.
- [8] Fietz A, Schnichels S, Hurst J. Co-cultivation of primary porcine RPE cells and neuroretina induces inflammation: a potential inflammatory AMD-model. *Sci Rep*, 2023,13(1):19345.
- [9] Armento A, Murali A, Marzi J, et al. Complement factor H loss in RPE cells causes retinal degeneration in a human RPE-porcine retinal explant co-culture model. *Biomolecules*, 2021,11(11):1621.
- [10] Shang P, Stepicheva NA, Liu HT, et al. A novel method of mouse RPE explant culture and effective introduction of transgenes using adenoviral transduction for *in vitro* studies in AMD. *Int J Mol Sci*, 2021,22(21):11979.
- [11] Liggett TE, Griffiths TD, Gaillard ER. Isolation and

- characterization of a spontaneously immortalized bovine retinal pigmented epithelial cell line. *BMC Cell Biol*, 2009,10(1):33.
- [12] Jang HY, Cho CS, Shin YM, et al. Isolation and characterization of the primary marmoset (*Callithrix jacchus*) retinal pigment epithelial cells. *Cells*, 2023,12(12):1644.
 - [13] Adjianto J, Philp NJ. Cultured primary human fetal retinal pigment epithelium (hFRPE) as a model for evaluating RPE metabolism. *Exp Eye Res*, 2014,126:77-84.
 - [14] Hong LX, Hong S, Liang SY, et al. Effects of glutathione on gene transcription changes in human retina pigment epithelial cell by the microwaves radiation. *Journal of The Fourth Military Medical University*, 2003,24(15):1345-1348.
 - [15] Trakkides TO, Schäfer N, Reichenthaler M, et al. Oxidative stress increases endogenous complement-dependent inflammatory and angiogenic responses in retinal pigment epithelial cells independently of exogenous complement sources. *Antioxidants (Basel)*, 2019,8(11):548.
 - [16] Fasler-Kan E, Aliu N, Wunderlich K, et al. The retinal pigment epithelial cell line (ARPE-19) displays mosaic structural chromosomal aberrations. *Methods Mol Biol*, 2018,1745:305-314.
 - [17] Yang IH, Lee JJ, Wu PC, et al. Oxidative stress enhanced the transforming growth factor- β -induced epithelial-mesenchymal transition through chemokine ligand 1 on ARPE-19 cell. *Sci Rep*, 2020,10(1):4000.
 - [18] Uozumi H, Kawakami S, Matsui Y, et al. Passion fruit seed extract protects hydrogen peroxide-induced cell damage in human retinal pigment epithelium ARPE-19 cells. *Sci Rep*, 2025,15(1):1715.
 - [19] Miyatani T, Tanaka H, Numa K, et al. Clustered ARPE-19 cells distinct in mitochondrial membrane potential may play a pivotal role in cell differentiation. *Sci Rep*, 2024,14(1):22391.
 - [20] Wilke GA, Apte RS. Complement regulation in the eye: implications for age-related macular degeneration. *J Clin Invest*, 2024,134(9):e178296.
 - [21] Cheng L, Chen C, Guo WK, et al. EFEMP1 overexpression contributes to neovascularization in age-related macular degeneration. *Front Pharmacol*, 2020,11:547436.
 - [22] Pfeffer BA, Fliesler SJ. Reassessing the suitability of ARPE-19 cells as a valid model of native RPE biology. *Exp Eye Res*, 2022,219:109046.
 - [23] Bharti K, den Hollander AI, Lakkaraju A, et al. Cell culture models to study retinal pigment epithelium-related pathogenesis in age-related macular degeneration. *Exp Eye Res*, 2022,222:109170.
 - [24] Brinks J, van Dijk EHC, Klaassen I, et al. Exploring the choroidal vascular labyrinth and its molecular and structural roles in health and disease. *Prog Retin Eye Res*, 2022,87:100994.
 - [25] Wang QY, Zhu MH, Li WD, et al. CBX7 promotes choroidal neovascularization by activating the HIF-1 α /VEGF pathway in choroidal vascular endothelial cells. *Exp Eye Res*, 2024,247:110057.
 - [26] Muranyi W, Schwerk C, Herold R, et al. Immortalized human choroid plexus endothelial cells enable an advanced endothelial-epithelial two-cell type *in vitro* model of the choroid plexus. *iScience*, 2022,25(6):104383.
 - [27] Gore M, Tiwari A, Jahagirdar D, et al. Three-dimensional spheroids of choroid-retinal vascular endothelial cells as an *in vitro* model for diabetic retinopathy: Proof-of-concept investigation. *Curr Res Pharmacol Drug Discov*, 2022,3:100111.
 - [28] Kim SJ, Lim JS, Park JH, et al. Molecular, cellular, and functional heterogeneity of retinal and choroidal endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2023,64(10):35.

- [29] Deng LT, Gupta V, Abyadeh M, et al. Oxidative stress induced dysfunction of protein synthesis in 661W mice photoreceptor cells. *Proteomes*, 2023,11(2):12.
- [30] Zhang Z, Shan XQ, Li SJ, et al. Retinal light damage: From mechanisms to protective strategies. *Surv Ophthalmol*, 2024,69(6):905–915.
- [31] Marchese NA, Ríos MN, Guido ME. Müller glial cell photosensitivity: a novel function bringing higher complexity to vertebrate retinal physiology. *J Photochem Photobiol*, 2023,13:100162.
- [32] Chen YY, Zhang T, Zeng SX, et al. Transketolase in human Müller cells is critical to resist light stress through the pentose phosphate and NRF2 pathways. *Redox Biol*, 2022,54:102379.
- [33] Guo L, Choi S, Bikkannavar P, et al. Microglia: key players in retinal ageing and neurodegeneration. *Front Cell Neurosci*, 2022,16:804782.
- [34] Pan ML, Ahmad Puzi NN, Ooi YY, et al. Response profiles of BV2 microglia to IFN- γ and LPS co-stimulation and priming. *Biomedicines*, 2023,11(10):2648.
- [35] Fisher CR, Ebeling MC, Geng Z, et al. Human iPSC- and primary-retinal pigment epithelial cells for modeling age-related macular degeneration. *Antioxidants (Basel)*, 2022,11(4):605.
- [36] Li HR, Sharma R, Bharti K. iPSC-derived retinal pigment epithelium: an in vitro platform to reproduce key cellular phenotypes and pathophysiology of retinal degenerative diseases. *Stem Cells Transl Med*, 2025,14(3):szae097.
- [37] 3D vascularized eye tissue models age-related macular degeneration. *Nat Meth*, 2023,20(1):46–47.
- [38] Manian KV, Galloway CA, Dalvi S, et al. 3D iPSC modeling of the retinal pigment epithelium-choriocapillaris complex identifies factors involved in the pathology of macular degeneration. *Cell Stem Cell*, 2021,28(5):846–862.e8.
- [39] Wu A, Lu R, Lee E. Tissue engineering in age-related macular degeneration: a mini-review. *J Biol Eng*, 2022,16(1):11.
- [40] Deng YH, Qiao LF, Du MY, et al. Age-related macular degeneration: epidemiology, genetics, pathophysiology, diagnosis, and targeted therapy. *Genes Dis*, 2022,9(1):62–79.
- [41] Ghetti S, Burigotto M, Mattivi A, et al. CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein-mediated knockin generation in hTERT-RPE1 cells. *STAR Protoc*, 2021,2(2):100407.
- [42] Arik YB, Buijsman W, Loessberg-Zahl J, et al. Microfluidic organ-on-a-chip model of the outer blood-retinal barrier with clinically relevant read-outs for tissue permeability and vascular structure. *Lab Chip*, 2021,21(2):272–283.
- [43] Yu Y, Wang G, Liu Y, et al. Potential application of traditional Chinese medicine in age-related macular degeneration – focusing on mitophagy. *Front Pharmacol*, 2024,15:1410998.
- [44] Bhattacharya S, Yin JG, Huo WH, et al. Modeling of mitochondrial bioenergetics and autophagy impairment in MELAS-mutant iPSC-derived retinal pigment epithelial cells. *Stem Cell Res Ther*, 2022,13(1):260.
- [45] Gong J, Cai H, NYSCF Global Stem Cell Array Team, et al. Stem cell-derived retinal pigment epithelium from patients with age-related macular degeneration exhibit reduced metabolism and matrix interactions. *Stem Cells Transl Med*, 2020,9(3):364–376.
- [46] Kurzawa-Akanbi M, Tzoumas N, Corral-Serrano JC, et al. Pluripotent stem cell-derived models of retinal disease: Elucidating pathogenesis, evaluating novel treatments, and estimating toxicity. *Prog Retin Eye Res*, 2024,100:101248.
- [47] Usui H, Nishiwaki A, Landiev L, et al. *In vitro* drusen model—three-dimensional spheroid culture of retinal pigment epithelial cells. *J Cell Sci*, 2018,132(4):jcs215798.
- [48] Geerlings MJ, de Jong EK, den Hollander AI. The complement system in age-related macular degeneration: a review of rare genetic variants and implications for personalized treatment. *Mol Immunol*, 2017,84:65–76.
- [49] Ah-Pine F, Malaterre-Septembre A, Bedoui Y, et al. Complement activation and up-regulated expression of anaphylatoxin C3a/C3aR in glioblastoma: deciphering the links with TGF- β and VEGF. *Cancers (Basel)*, 2023,15(9):2647.
- [50] Kim BJ, Mastellos DC, Li YF, et al. Targeting complement components C3 and C5 for the retina: key concepts and lingering questions. *Prog Retin Eye Res*, 2021,83:100936.
- [51] Gnanaguru G, Wagschal A, Oh J, et al. Targeting of miR-33 ameliorates phenotypes linked to age-related macular degeneration. *Mol Ther*, 2021,29(7):2281–2293.
- [52] Peters F, Ebner LJA, Atac D, et al. Regulation of ABCA1 by AMD-associated genetic variants and hypoxia in iPSC-RPE. *Int J Mol Sci*, 2022,23(6):3194.
- [53] Chakrabarty K, Nayak D, Debnath J, et al. Retinal organoids in disease modeling and drug discovery: Opportunities and challenges. *Surv Ophthalmol*, 2024,69(2):179–189.
- [54] Lee S, Kim S, Jeon JS. Microfluidic outer blood-retinal barrier model for inducing wet age-related macular degeneration by hypoxic stress. *Lab Chip*, 2022,22(22):4359–4368.