

引文格式:董志章,李娟,孙雪荣,葛坚. 高强度光照损伤致 TgAPPswePS1 转基因鼠脉络膜新生血管形成[J].
眼科新进展,2017,37(2):101-105. doi:10. 13389/j. cnki. rao. 2017. 0027

【实验研究】

高强度光照损伤致 TgAPPswePS1 转基因鼠脉络膜新生血管形成[△]

董志章 李娟 孙雪荣 葛坚

作者简介:董志章,男,1984年12月出生,浙江温州人,博士,主治医师。研究方向:青光眼、葡萄膜炎及视网膜疾病防治。联系电话:0577-88002603; E-mail:416898460@qq.com; ORCID:0000-0001-5150-8750

About DONG Zhi-Zhang: Male, born in December, 1984. Doctor degree, attending doctor. Tel: + 86-577-88002603; E-mail: 416898460@qq.com; ORCID:0000-0001-5150-8750

收稿日期:2016-11-10
修回日期:2016-12-10
本文编辑:盛丽娜

[△]基金项目:国家自然科学基金资助(编号:81400424);陕西省科学技术研究发展计划项目(编号:2014K11-03-07-04);温州市科技计划项目(编号:Y20140140)

作者单位:325200 浙江省温州市,温州医科大学附属第二医院眼科(董志章); 710004 陕西省西安市,西安市第四医院眼科(李娟); 523000 广东省湛江市,广东医科大学衰老研究所东莞校区(孙雪荣); 510060 广东省广州市,中山大学中山眼科中心,眼科学国家重点实验室(葛坚)

通讯作者:葛坚, E-mail: gejian@mail. sysu. edu. cn; ORCID:0000-0001-5165-3368

Received date: Nov 10, 2016
Accepted date: Dec 10, 2016

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No: 81400424); Science and Technology Research and Development Project of Shaanxi Province (No: 2014K11-03-07-04); Science and Technology Research and Development Project of Wenzhou (No: Y20140140)

From the Department of Ophthalmology, the 2nd Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University (DONG Zhi-Zhang), Wenzhou 325200, Zhejiang Province, China; Department of Ophthalmology, the Fourth Hospital of Xi'an (LI Juan), Xi'an 710004, Shaanxi Province, China; the Institute of Aging, Guangdong Medical University Dongguan Campus (SUN Xue-Rong), Zhanjiang 523000, Guangdong Province, China; State Key Laboratory of Ophthalmology, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University (GE Jian), Guangzhou 510060, Guangdong Province, China

Responsible author: GE Jian, E-mail: gejian@mail. sysu. edu. cn; ORCID:0000-0001-5165-3368

Intensive light exposure inducing choroidal neovascularization in TgAPPswe/PS1 transgenic mice

DONG Zhi-Zhang, LI Juan, SUN Xue-Rong, GE Jian

【Key words】 light injury; transgenic mouse; choroidal neovascularization; age-related macular degeneration

【Abstract】 Objective To research the choroidal neovascularization (CNV) in TgAPPswePS1 transgenic mice after intensive light exposure injury. **Methods** Twenty TgAPPswe/PS1 transgenic mice at the age of 6 months were grouped for experiments. The treated groups of 12 mice were treated by a source of 10 000 lux cool full spectrum light for 6 months, 12 hours per day; While the control groups of 8 mice were kept in normal conditions. The mice eyes of the experimental group and control group were examined with HE/Toluidin blue staining, the retinal structure was observed, and the number of CNV was counted. The expression of VEGF and A β were examined with immunofluorescence on the retinal pigment epithelial (RPE) flat mount. All of the results were quantified and statistically analyzed. **Results** After treated by 6 months of intensive light exposure in the experimental group, histopathological analysis has found significant loss of outer nuclear layer/photoreceptor out segment and outer plexiform layer as compared with the control group; At the same time, abnormal hypo- and hyper-pigmentation, vacuoles and disruption in the RPE layer, remarkable CNV were found in the experiment group by Toluidin blue staining, and the incidence of CNV was 18. 75%. The VEGF expression demonstrated a diffusive and deposition pattern along the neovessels which showed a significant increase of (6. 59 \pm 1. 14) fold changes as compared with the control group. The difference was statistical significant ($P < 0. 05$). Then the A β deposits were positive expressed in the RPE layers after intensive light exposure treatment, and pathological deposition of A β in the RPE showed plaque like displayed by confocal Z-stack microscopy, and the drusenoid A β deposits were found alone with the neovessels on the RPE flat mount. The deposition of A β protein increased with (6. 45 \pm 2. 93) fold changes as compared with the control group, and the difference was statistical significant. **Conclusion** CNV with degenerative changes in the outer retina can be induced by intensive light exposure in the APPswe/PS1 transgenic mouse. These results suggest that an Alzheimer's transgenic animal model might be an alternative animal model for CNV if combined with intensive light exposure.

【中图分类号】 R774. 1

【关键词】 光照损伤; 转基因鼠; 脉络膜新生血管; 年龄相关性黄斑病变

【摘要】 目的 研究在光照损伤作用下 TgAPPswePS1 转基因鼠脉络膜新生血管形成情况。 **方法** 以 20 只 6 个月龄阿尔茨海默病转基因鼠(TgAPPswePS1 鼠)为研究对象, 其中 12 只行 10 000 lux 光照处理, 每天光照 12 h、连续光照 6 个月为实验组, 余 8 只不作处理为对照组, 实验组与对照组小鼠在实验结束时进行取材, 切片行 HE 染色及甲苯胺蓝染色观察视网膜各层结构改变, 测量新生血管形成数量, 同时检测实验组与对照组视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE) 铺片上 β -淀粉样蛋白(β -amyloid protein, A β) 与血管内皮生长因子表达情况, 予以定量并进行统计学分析。 **结果** 与对照组比较, 光照 6 个月后, 实验组小鼠视网膜发生明显改变, 其中以外核层与光感受器层变化最明显; RPE 细胞出现空泡、色素不均一、细胞间的连接断裂等改变, 视网膜切片上可见脉络膜新生血管突破 RPE 进入视网膜内, 对新生血管进行统计, 发现脉

络膜新生血管发生率为18.75%。光照损伤后,血管内皮生长因子在实验组RPE上呈阳性表达,可见细胞浆内弥散性表达和沿血管壁的阳性染色,较对照组表达量增加(6.59 ± 1.14)倍,差异有统计学意义($P < 0.05$)。A β 在实验组的RPE铺片上存在强阳性表达,通过Z-stack检测发现A β 沉积类似Drusen状,位于RPE下;而对照组中未见此类免疫阳性反应,与对照组比较A β 沉积增加(6.45 ± 2.93)倍,差异存在统计学意义($P < 0.05$)。结论 强光光照损伤TgAPPswePS1鼠后,视网膜存在明显变化,可发生脉络膜新生血管,提示阿尔茨海默病转基因鼠在光照损伤下可以作为脉络膜新生血管的一种动物研究模型。

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)与老年性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)都是年龄相关的退行性疾病, β -淀粉样蛋白(β -amyloid protein, A β)是AD关键致病因子^[1-2];研究者们发现AD患者存在视功能障碍及视网膜结构改变^[3-4],但不存在AMD的特征性脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)性改变,考虑到AMD疾病中的高危因素如光损伤,那么给予AD模型鼠AMD高危因素刺激是否会导致AMD相关的特征性改变?为此,本实验选择AD转基因鼠TgAPPswePS1为研究对象,探讨在光照损伤作用下TgAPPswePS1转基因鼠视网膜病理变化,为AMD的CNV发生机制研究提供新的模型。

1 材料与方法

1.1 实验动物 TgAPPswePS1小鼠[B6C3-Tg(APswe, PSEN1dE9)85Dbo/J(Tg)]由Jackson Laboratory实验室(Bar Harbor, ME, 美国)引进并繁殖。本研究对所有转基因鼠都进行了基因型鉴定。选择6个月大小APPswe(+)与PSEN1dE9(+)的AD转基因鼠20只为研究对象。

1.2 实验仪器与试剂 切片机Cm1850-1-1(德国Leica公司),蔡司体式显微镜(德国Zeiss公司),荧光显微镜(德国蔡司Axioylan2),共聚焦显微镜(德国蔡司LSM510MEH)。A β 抗体(美国新泽西州Covance公司),新生血管生长因子(武汉Beyotime公司),甲苯胺蓝染色试剂、40 g·L⁻¹多聚甲醛(美国Sigma公司),抗体封闭液、抗体稀释液(武汉Boster公司),抗荧光淬灭封片剂H-1200(美国Vector Labs公司),DAPI(美国Invitrogen公司),复方托吡卡胺(沈阳兴齐制药公司)。

1.3 方法

1.3.1 光照处理 在SPF级饲养环境里进行本研究。研究所需的水均经高压灭菌,每天换垫料;随机选取12只小鼠为实验组,均应用动物光损伤装置(专利ZL201620227064.X)给予光照干预,设光照度为10 000 lux,每天光照12 h,光照处理6个月,在光照过程中保持小鼠瞳孔散大;剩余8只无光照小鼠为对照组。

1.3.2 石蜡切片和免疫组织化学染色 光照6个月(即小鼠鼠龄为12个月)时终止实验。对照组和实验组各随机取4只小鼠,100 g·L⁻¹水合氯醛(0.05 mL·g⁻¹)腹腔注射麻醉,预冷PBS心脏灌注后取眼球,40 g·L⁻¹多聚甲醛常温下固定24 h,置于4℃储存备用。进行石蜡切片:常规漂洗后,梯度乙

醇脱水(体积分数50%、70%、80%、90%、95%、100%乙醇各2 h);然后二甲苯浸泡45 min;在熔点为52~56℃的软蜡中浸泡15 min×2次;浸蜡的组织块放入包埋框中,硬蜡(熔点为60~62℃)包埋,蜡块备用。切片机连续切片,厚约4 μm,贴附于载玻片上,常规石蜡切片脱腊至水;二甲苯洗10 min×2次,然后体积分数100%、100%、95%、95%、90%、80%、70%乙醇各2 min;双蒸水泡片5 min,以保持最好细胞形态;切片再分别进行以下两种染色:(1)苏木精-伊红染色(HE染色):苏木素染料中浸泡15 s;流水下冲片直至深紫色变为浅紫色;在体积分数1%的稀氨水-HCL中停留60 s,使苏木素着色区变为淡蓝色;流水冲片,双蒸水中浸泡5 min;5 g·L⁻¹伊红2~3 min染细胞浆,流水洗;(2)甲苯胺蓝染色:3 g·L⁻¹甲苯胺蓝溶液浸染(55℃保温箱)3 min,双蒸水清洗2~3次,在体积分数0.15%的盐酸乙醇中分色30 s,流水洗40 s。

两种染色后,常规依次经体积分数80%(1 min×2次)、95%(3 min×2次)、100%(5 min×2次)乙醇脱水;二甲苯透明;中性树胶封片,显微镜下观察,并采集图像。

1.3.3 视网膜色素上皮铺片和免疫荧光化学检测

在光照6个月后,对剩余的4只对照组和8只实验组小鼠给予100 g·L⁻¹水合氯醛(0.05 mL·g⁻¹)小鼠腹腔注射麻醉后,将获得的眼球组织用40 g·L⁻¹多聚甲醛于常温下固定4 h,在蔡司体式显微镜下,沿角巩膜缘剪开眼球,去除眼前段(包括角膜、虹膜眼前段、晶状体),将眼杯呈放射状剪8刀至视盘处,分成8瓣,小心分离去除视网膜,保留视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞层,铺于玻片上,RPE铺片用PBS漂洗5 min×3次,抗体封闭液封闭45 min;一抗孵育:将组织切片于稀释的一抗溶液中4℃孵育过夜,其中一抗A β 按照1:100比例稀释,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)按照1:500比例稀释,PBS洗5 min×3次;二抗及DAPI室温孵育60 min,PBS洗8 min×3次;滴加含防荧光淬灭剂的封片剂,盖上盖玻片,封片,在共聚焦显微镜下观察并采集图像,并应用共聚焦Z轴立体观察技术(Z-stack)观察RPE铺片上相应荧光表达。

1.4 图像采集及数据获得 视网膜切片HE染色、甲苯胺蓝染色和RPE铺片免疫荧光采集图像都由同一人在相同实验条件下完成。A β 和VEGF铺片免疫反应强度:每组取6~8个眼球,在每个铺片上离视神经约500 μm处,400倍放大倍率下随机观察

4~6 张切片,在 Image Pro Plus5 软件中统计 A β 、VEGF 免疫反应强度。CNV 发生率:每组统计发现 CNV 的眼球数,对每个眼球取经视盘非连续性切片 3 张,计数每张片子上的所有 CNV 数目,取平均值为各组 CNV 的发生率。

1.5 统计学分析 所有数值型实验数据均以均数 \pm 标准差表示($\bar{x} \pm s$),组间均数两两比较采用 SPSS 19.0 软件中 *Student's t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 光照前后 TgAPPswePS1 鼠视网膜结构改变

对照组转基因鼠的视网膜各层结构无缺失,排列无明显紊乱:神经节细胞层结构清晰,内外核层排列无紊乱,内外丛状层及外节未见明显异常(图 1A-B,图 2A、E)。

光照 6 个月后,实验组视网膜切片经 HE 染色检查发现视网膜发生剧烈变化:视网膜厚度明显变薄(图 1C),视网膜的改变主要体现在外核层(outernu-

clear layer, ONL)与光感受器外节(out segment, OS), ONL 明显变薄并且排列紊乱,甚至发现 ONL 仅剩下一两层结构,同时 OS 变短甚至消失,结构紊乱(图 1D)。甲苯胺蓝染色发现实验组 RPE 存在明显改变:包括空泡样改变(图 2B 箭头),RPE 细胞间的连接断裂(图 2C 箭头),RPE 细胞内色素不均一,既有色素增生(图 2C 短箭头所示)又有色素脱失(图 2D 短箭头所示)与血管样组织(图 1D,图 2F-G);出现的新生血管伴随 RPE 细胞增生迁移,血管样组织与 RPE 紧密相连并形成花蕾样外观(图 2F 短箭头),形成的血管样组织包含大量色素并形成管腔(图 2G),可以观察到红细胞在管腔内,新生血管从脉络膜长入,并突破 RPE 层而进入内层视网膜结构(图 1D,图 2G)。统计 CNV 的发生率结果示,实验组 CNV 的发生率约为 18.75%,全层视网膜切片上有 1~2 个新生血管组织结构。

在所有实验鼠光照前后,视网膜各层都没有发现 Drusen 或者黄白色沉积物存在。

图 1 实验组和对照组视网膜切片 HE 染色。A:对照组;B:A 图黑色方框内局部放大显示;C:实验组;D:C 图黑色方框局部放大显示,可见新生血管长入(箭头)。RGC:神经节细胞层;INL:内核层;IPL:内丛状层;OPL:外丛状层

2.2 A β 与 VEGF 的表达 对照组仅见背景荧光表达。实验组光照 6 个月后可见 A β 在 RPE 铺片上存在表达(图 3),且显示为强阳性反应(图 3B)。不同于视网膜切片的单一二维结构,RPE 铺片显示 A β 在 RPE 沉积的立体形态,包括多种形式:弥散型、点状、斑块状存在(图 3B、E);通过 Z-stack 图像可以看出 A β 斑块聚集出现在 RPE 层,类似 Drusen 样沉积;但从位置角度来说,A β 聚集斑块偏位于 RPE 下(图 3E)。对 A β 表达量进行定量统计,发现免疫反应表达量较对照组(基数为 1)增加(6.45 ± 2.93)倍,与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$;

图 3C)。

对照组 RPE 为单一细胞层,在铺片上 RPE 细胞核显示为近圆形。实验组 DAPI 染色后在 RPE 细胞层上发现较多的扁平型细胞核,这类细胞核完全不同于圆形 RPE 细胞的细胞核(图 3E 箭头),将扁平细胞核勾勒出来,形成条索样形态。进一步用 VEGF 特异染色检测 RPE 铺片,结果发现 VEGF 在对照组呈阴性表达,而在实验组呈阳性表达,可见细胞浆内弥散性表达与沿血管壁的阳性染色,在 RPE 铺片上发现 VEGF 阳性表达位置同扁平的细胞核重叠,形成明显的血管样结构(图 3E);对 VEGF 表达进行定

量,实验组表达量较对照组增加(6.59 ± 1.14)倍,与对照组(基数为1)比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

用 Z-stack 检测血管组织与 $A\beta$ 的关系,在图 3E、F 中, $A\beta$ 红色与 VEGF 绿色存在重叠,形成黄色管腔, $A\beta$ 与 VEGF 存在同染共表达。

图 2 实验组和对照组小鼠光照后视网膜切片甲苯胺蓝染色。图 A、E 为对照组,B、C、D、F、G 为实验组,其中图 B 箭头所示为 RPE 空泡样改变;图 C 箭头所示为 RPE 细胞间的连接断裂,短箭头所示为 RPE 细胞色素增生;图 D 箭头所示为 RPE 细胞色素脱失;图 F 箭头所示为新生血管长入,短箭头所示为突入的色素团块,并形成花蕾样外观;图 G 箭头所示为新生血管长入,可见空腔改变,伴色素增生

图 3 实验组和对照组小鼠光照后 RPE 铺片荧光染色。图 A、D 为对照组,图 B、E 为实验组光照 6 个月后。其中图 B 红色染色为 $A\beta$ 荧光表达;图 C 为 RPE 中 $A\beta$ 沉淀统计图(*; $P < 0.05$);图 E 红色染色为 $A\beta$ 荧光表达,绿色染色指示 VEGF 染色,上方和侧边方框内为立体 Z-stack 轴扫描图,红色和绿色线指示扫描的位置,箭头所示为新生血管的扁平细胞核;图 F 为 VEGF 与 $A\beta$ 荧光共表达情况,形成类似 Drusen 的斑块,沉积在新生血管上

3 讨论

3.1 光照损伤下的 AD 转基因鼠视网膜结构改变

许多研究都证实了异常光照损伤是许多视网膜疾病的重要影响因素^[5-6],光照损伤尤其可以引起视网

膜炎症与 RPE 损伤^[7-8]。本研究发现光照损伤导致视网膜外侧结构尤其是 OS 和 ONL 明显改变,同已有的研究报道基本一致^[5,9-10],但本研究个别小鼠里发现 ONL 仅剩下一两层结构,OS 变短甚至消失,如此严重损伤与本研究设定的高强度光照存在一定的关联性;考虑到既往研究报道 AD 模型鼠视网膜

里的 A β 沉积本身就对视网膜产生毒性作用^[11], 所以可能是 AD 模型鼠的协同作用加重了光照因素对视网膜结构的破坏, 但是具体在哪个环节起作用, 仍有待进一步研究。

3.2 光照致 AD 转基因鼠 CNV 形成 本研究发现, AD 转基因鼠经过高强度光照损伤后, 在视网膜切片上存在新生血管, 根据新生血管的位置、形态和结构以及细胞核形态推断为 CNV。虽然近年来许多实验报道 AMD 与 AD 可能存在相关性, 但是目前仍没有直接证据证明 AD 与 AMD 直接相关^[4, 12-13], 也没有在 AD 模型上发现 CNV^[14], 而本实验第一次报道了给予 AD 转基因小鼠强光损伤导致 CNV 的发生, 具体的原因分析为: (1) 有研究报道 AD 患者脑部的 VEGF 表达增加引起新生血管化性病变^[15], 而本研究也发现 VEGF 的高强度表达, 这些结果强烈提示光照损伤 AD 转基因鼠引起 CNV 的发生同 VEGF 的表达增加有关系; (2) 正常的 RPE 外屏障保证了视网膜结构的完整性, 当 RPE 被破坏时, 脉络膜血管突破 RPE 形成 CNV 就尤为容易^[16], 而本研究发现 RPE 细胞存在明显改变, 如空泡样改变、RPE 细胞间的连接断裂、RPE 细胞色素增生及色素脱失等, 所以本研究出现的 CNV 同 RPE 的结构破坏也存在一定的关系; (3) 既往有研究报道, 光照损伤可以引起正常的小鼠视网膜外层损伤, 但是甚少在正常小鼠上发现新生血管的存在^[17], 考虑到除研究的对象不同外, 在光照条件上也存在差异, 故本研究结果提示高强度光照损伤也在新生血管形成中发挥作用; (4) 有研究表明, A β 沉积可引起 RPE 功能障碍^[11, 18], 甚至影响血管生成环境而起到促进 CNV 形成的作用, 而本研究中发现 RPE 铺片里存在大量的 A β 沉积, 且倾向聚集在血管周围, 所以本研究中发现的新生血管可能是在 A β 与 VEGF 等多方面作用下导致 RPE 功能破坏、屏障障碍的结果。

综上所述, 强光光照损伤 TgAPPswePS1 鼠后, 视网膜存在明显变化, 可发生 CNV, 提示 AD 转基因鼠在光照损伤下可以作为 CNV 的一种动物研究模型, 为研究新生血管的发生机制提供新视角, 为 AMD 疾病的治疗提供新思路。

参考文献

- [1] PALOP JJ, MUCKE L. Amyloid-beta-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: from synapses toward neural networks[J]. *Nat Neurosci*, 2010, 13(7): 812-818.
- [2] CASTELLANI RJ, SMITH MA. Compounding artefacts with uncertainty, and an amyloid cascade hypothesis that is 'too big to fail' [J]. *J Pathol*, 2011, 224(2): 147-152.
- [3] GUO L, DUGGAN J, CORDEIRO MF. Alzheimer's disease and retinal neurodegeneration [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2010, 7(1): 3-14.
- [4] 刘章, 周琼. 阿尔茨海默病、视神经及特殊蛋白三者关系的研究进展[J]. *眼科新进展*, 2012, 32(12): 1194-1196.
- [5] LIU Z, ZHOU Q. Recent advances in relationship among Alzheimer's disease, optic nerve and especial proteins [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2012, 32(12): 1194-1196.
- [6] ORGANISCIAC DT, VAUGHAN DK. Retinal light damage: mechanisms and protection [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2010, 29(2): 113-134.
- [7] LAVAIL MM, GORRIN GM, REPACI MA, THOMAS LA, GINSBERG HM. Genetic regulation of light damage to photoreceptors [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1987, 28(7): 1043-1048.
- [8] COLLIER RJ, WANG Y, SMITH SS, MARTIN E, ORNBERG R, RHOADES K, et al. Complement deposition and microglial activation in the outer retina in light-induced retinopathy: inhibition by a 5-HT1A agonist [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(11): 8108-8116.
- [9] MARCO-GOMARIZ MA, HURTADO-MONTALBAN N, VIDAL-SANZ M, LUND RD, VILLEGAS-PEREZ MP. Phototoxic-induced photoreceptor degeneration causes retinal ganglion cell degeneration in pigmented rats [J]. *J Comp Neurol*, 2006, 498(2): 163-179.
- [10] GOSBELL AD, STEFANOVIC N, SCURR LL, PETE J, KOLA I, FAVILLA I, et al. Retinal light damage: structural and functional effects of the antioxidant glutathione peroxidase-1 [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(6): 2613-2622.
- [11] WENZEL A, GRIMM C, SAMARDZLIJA M, REME CE. Molecular mechanisms of light-induced photoreceptor apoptosis and neuroprotection for retinal degeneration [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2005, 24(2): 275-306.
- [12] KURJI KH, CUI JZ, LIN T, HARRIMAN D, PRASAD SS, KOJIC L, et al. Microarray analysis identifies changes in inflammatory gene expression in response to amyloid-beta stimulation of cultured human retinal pigment epithelial cells [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(2): 1151-1163.
- [13] 周泽芬, 王凌崎, 杜烨鸿, 刘刚, 徐明亮, 姚秋会, 等. APP/PS1 双转基因小鼠视网膜内 β -淀粉样蛋白及星形胶质细胞的变化 [J]. *中华神经医学杂志*, 2014, 13(8): 768-771.
- [14] ZHOU ZF, WANG LX, DU YH, LIU G, XU ML, YAO QH, et al. Changes of amyloid β -protein level and astrocytes in the retina of APP/PS1 double transgenic mouse models [J]. *Chin J Neuromed*, 2014, 13(8): 768-771.
- [15] 吴越, 卢艳. 阿尔茨海默病眼底改变研究进展 [J]. *中华眼底病杂志*, 2015, 31(6): 610-613.
- [16] WU Y, LU Y. Research progress of fundus changes in Alzheimer's disease [J]. *Chin J Ocul Fundus Dis*, 2015, 31(6): 610-613.
- [17] YOSHIDA T, OHNO-MATSUI K, ICHINOSE S, SATO T, IWATA N, SAIDO TC, et al. The potential role of amyloid beta in the pathogenesis of age-related macular degeneration [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(10): 2793-2800.
- [18] BIRON KE, DICKSTEIN DL, GOPAUL R, JEFFERIES WA. Amyloid triggers extensive cerebral angiogenesis causing blood brain barrier permeability and hypervascularity in Alzheimer's disease [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23789.
- [19] FINE SL, BERGER JW, MAGUIRE MG, HO AC. Age-related macular degeneration [J]. *N Engl J Med*, 2000, 342(7): 483-492.
- [20] TANITO M, KAIJZU S, ANDERSON RE. Delayed loss of cone and remaining rod photoreceptor cells due to impairment of choroidal circulation after acute light exposure in rats [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48(4): 1864-1872.
- [21] BRUBAN J, GLOTTIN AL, DINET V, CHALOUR N, SENNAUB F, JONET L, et al. Amyloid-beta (1-42) alters structure and function of retinal pigmented epithelial cells [J]. *Aging Cell*, 2009, 8(2): 162-177.