

## 细胞因子与糖尿病视网膜病变的研究进展

蒋 玲 综述 吕红彬 审校

### Recent progress in the investigation of cytokine and diabetes retinopathy

Jiang Ling, Lü Hongbin. Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Luzhou Medical University, Luzhou 646000, China

**Abstract** Diabetic retinopathy is a progressive vision-threatening complication of diabetes mellitus. The characters of diabetic retinopathy include capillary occlusion, microcirculation disturbance and retina neovascularization near ischemic areas of the retina. The exact pathogenic mechanism is still unclear. Recent studies showed that it may be related to vascular inflammation of the retina. Cytokines can cause induction of proinflammatory and adhesion molecules and thereby increase monocyte-endothelial cell adhesion, which is now accepted as the early key event in the development of diabetic retinopathy. The functions of many cytokines such as vascular endothelial growth factor, transforming growth factor- $\beta$ , basic fibroblast growth factor and ideas for medicine therapeutic to diabetic retinopathy are summarized in this review.

**Key words** diabetic retinopathy; diabetes mellitus; cytokine

**摘要** 糖尿病视网膜病变(DR)是一种发生进行性视力损害的糖尿病(DM)并发症,其特征是毛细血管闭锁、微循环障碍和局部缺血性视网膜新生血管形成,其确切的发病机制尚不清楚。最近有研究认为 DR 可能与视网膜毛细血管炎症反应有关。由于细胞因子能引起炎症反应和黏附分子表达,因此细胞因子增加单核细胞和内皮细胞黏附的过程被认为是 DR 发生发展过程中的关键事件。就血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)等多种细胞因子在 DR 中的作用进行综述。

**关键词** 糖尿病视网膜病变; 糖尿病; 细胞因子

分类号 R 774.1 文献标识码 A 文章编号 1003-0808(2009)12-1165-04

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病(diabetes mellitus, DM)最常见和最严重的微血管并发症之一,其已成为大多数发达国家工作年龄人群致盲的首要原因,据估计,美国 40 岁以上人群约有 40% 患有 DM,其中 8% 的患者因 DR 引起视觉损害<sup>[1]</sup>。随着我国人民生活水平的提高,DR 的发病率也逐年增加。我国 DM 防治协作组普查 19 个省市后表明,DM 患病率为 2.51%,其中 DR 患病率为 21% ~ 30%<sup>[2]</sup>。因此,对 DR 的发病机制和相关因素进行研究十分必要。近年来,许多研究发现细胞因子(cytokines, CK)与 DR 的发生发展密切相关,现将多种 CK 在 DR 中的作用进行综述,为 DR 的防治提供依据。

### 1 DR 的发病机制

DR 早期的病理改变有毛细血管内皮细胞基底膜增厚,周细胞丧失,毛细血管自动调节功能失代偿,随后出现内皮细胞屏障功能损害,血液成分渗出,毛细血管闭塞,导致广泛的视网膜缺血,引起视网膜水肿和新生血管形成。其中,慢性黄斑囊样水肿和新生血管引起的并发症,如玻璃体积血和牵拉性视网膜脱离是造成视力下降或丧失的主要原因。迄今为止,关于 DR 发病机制的研究主要有多元醇通路、非酶糖基化学说、氧化应激和蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)的活化等。多元醇通路是当今研究最广泛的有关 DM 并发症生化基础理论的假说:在高糖条件下,葡萄糖代谢失衡,周细胞内醛糖还原转化为山梨醇和果糖增加,并在细胞内聚集,引起细胞的渗透性损伤。同时,高糖还可以激活细胞内的 PKC 和磷脂酶 A2 通路,使肌醇耗竭,引起视网膜周细胞  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活性降低, DNA 合成下降,导致周细胞损伤和消失,降低了毛细血管的收缩力和自身调节血流量的作用。最近有关 DR 的发病

机制研究焦点已经转移至对 DR 发病过程分子基础的研究。在 DM 条件下,血糖增高导致视网膜血管系统代谢功能紊乱,控制视网膜血流状态的调节因子分泌失衡,造成视网膜血流动力学的改变,引起局部组织缺血缺氧;同时,高血糖使氨基酸的氨基端非酶性糖基化,形成晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)。组织缺血缺氧和 AGEs 堆积均可导致 CK 释放,而 CK 在 DR 的发生发展过程中发挥着重要作用,如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、胰岛素样生长因子-I(insulin-like growth factors-I, IGF-I)、色素上皮衍生因子(pigment epithelium-derived factor, PEDF)等与相应的受体结合,构成信号传导通路,从而导致疾病的发生发展。

## 2 CK 在 DR 中的作用

### 2.1 VEGF

VEGF 是一种有效的血管生成因子,可刺激血管内皮细胞分化、移行、增生和管腔形成,对视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)细胞也有促增生作用,并可使血管通透性增加。VEGF 广泛分布于人和其他动物体内的脑、肾、肝、眼等多种组织。正常情况下,视网膜周细胞、内皮细胞和 RPE 细胞内存在较低水平的 VEGF,这对维持眼部血管的完整性是必要的,然而 VEGF 的过度表达将促进血管的增生。临床研究及动物实验均证实,在 DR 眼内,特别是视网膜局部,存在高水平的 VEGF,随着病程的延长,其表达量有逐渐增加的趋势,表达范围也明显扩大<sup>[3]</sup>。

VEGF 表达增强可促使血管内皮细胞和周细胞凋亡,从而导致毛细血管通透性增强,引起视网膜渗出、出血及水肿<sup>[4]</sup>。在 VEGF 引发的血管渗漏机制中,PKC 途径逐渐明确。Harhaj 等<sup>[5]</sup>研究表明,VEGF 通过激活 PKC,导致紧密连接处的闭锁蛋白磷酸化,从而调节内皮细胞的通透性;VEGF 作为血管内皮细胞特异的促有丝分裂素与表面相应受体结合,激活细胞内的一系列信号转导途径,造成内皮细胞增生、迁移,最终形成新生血管<sup>[6]</sup>。此外,VEGF 可以上调细胞间黏附分子-1 的 mRNA 和蛋白质水平,引起白细胞黏附于视网膜血管系统,导致早期血-视网膜屏障破坏,毛细血管无灌注以及内皮细胞的损伤及死亡<sup>[7]</sup>。由此可见,VEGF 是 DR 发生发展过程中一个关键性的调节因子,通过抑制 VEGF 的表达、阻止 VEGF 与受体结合以及 VEGF 下游信号途径,可作为治疗 DR 的靶方向。已有研究表明,应用 VEGF 抑制剂可以抑制视网膜新

生血管的形成<sup>[8]</sup>,减少 DR 黄斑水肿的发生<sup>[9]</sup>,从而对 DR 起到一定的治疗作用。

### 2.2 转化生长因子-β

转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)因具有使正常小鼠成纤维细胞表型发生转化的能力而得名。根据其结构相似性,TGF 超家族分为 TGF-β、骨形成蛋白家族、激活素/抑制素家族及米勒抑制物家族<sup>[10]</sup>。TGF-β 是由淋巴细胞、血小板、单核细胞和肝枯否细胞等多种细胞分泌的一类具有多重生物学效应的因子,广泛存在于动物正常组织细胞和转化细胞中,对细胞的作用因细胞的种类、细胞周围环境及细胞自身状态的不同而表现出刺激或抑制效应。

TGF-β 眼内来源广泛,已知眼前后段组织中角膜、虹膜、晶状体上皮细胞(lens epithelial cells, LECs)、小梁网细胞、睫状体上皮细胞和 RPE 细胞均能合成和分泌。TGF-β 可由压力负荷、高血糖、血管紧张素 II 等多种因素刺激产生<sup>[11]</sup>。DR 患者血清中 TGF-β 含量明显高于健康人群,并随病程的延长及眼部病情的加重而增高<sup>[12]</sup>。其参与 DR 发生的可能机制:(1)促进内皮细胞的增生、黏附及细胞外基质的沉积<sup>[13-14]</sup>。(2)激活丝裂原活化蛋白激酶,诱导人 RPE 细胞表达 VEGF 增加,促进 DR 新生血管形成<sup>[15]</sup>。(3)增加纤维连接蛋白的合成,导致血管纤维化<sup>[16]</sup>。

### 2.3 碱性成纤维细胞生长因子

碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)是成纤维细胞生长因子家族的成员之一,是成纤维细胞的有丝分裂原,因其等电点为碱性,称之为 bFGF。bFGF 是一种强效促血管形成因子,几乎作用于新生血管形成的各个环节。在眼中,bFGF 广泛分布于眼肌、角膜、虹膜、睫状体、LECs 及视网膜等眼组织中,是 RPE 细胞、视网膜神经胶质细胞、成纤维细胞和内皮细胞的促有丝分裂原,对维持眼组织的正常生理功能具有重要作用。

bFGF 促进 DR 发展的具体机制尚不明确,目前认为 bFGF 可通过旁分泌途径和自分泌途径作用于视网膜的各层细胞,并促进其他生长因子的分泌,因而与 DR 密切相关。在 DR 的发病过程中,缺血、缺氧导致视网膜释放的 bFGF 增多,刺激 RPE 细胞和内皮细胞增生,造成血管狭窄和闭塞,加重 DR 血液循环障碍,使 DR 向增生型糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)发展。Beranek 等<sup>[17]</sup>应用酶联免疫吸附测定法分别测定 PDR 组、非 PDR 组、非 DM 组血清中的 bFGF 水平,结果显示 PDR 组中 bFGF 血清水平显著高于非 PDR 组和非 DM 组。Song 等<sup>[18]</sup>

采用原位杂交和免疫组织化学方法分析对照组及 DM 1、3、5 个月组小鼠视网膜血管上 VEGF 和 bFGF 的表达情况,发现 VEGF 在 DM 5 个月组小鼠的视网膜血管上阳性表达,而 bFGF 在 DM 3 个月组和 5 个月组的小鼠视网膜血管均阳性表达,表明 bFGF 在 DR 早期即有表达。此外,bFGF 还可诱导毛细血管内皮细胞产生和分泌纤溶酶激活物与胶原酶,分解基底膜和细胞质等大分子,使形成毛细血管的细胞能穿过这些结构进行迁移和增生,导致新生毛细血管的形成和增生。总之,bFGF 在 PDR 的病理过程尤其是视网膜新生血管的形成过程中起重要作用。

#### 2.4 IGF-I

IGF-I 是一种多功能细胞增生调控因子,是眼组织正常发育并完成其生理功能所必需的重要因子,也是一种主要的致炎性细胞因子,在 DR 发病机制中的作用一直受到关注。Ruberte 等<sup>[19]</sup>发现如使具有正常血糖和正常血胰岛素水平的转基因小鼠过度表达 IGF-I,则过度表达 IGF-I 转基因小鼠的眼部改变与糖尿病性眼病极其相似。研究还发现糖尿病鼠视网膜中 IGF-I mRNA 的表达显著高于正常对照组<sup>[20]</sup>。在 DM 条件下,IGF 网络系统的作用明显增强<sup>[21]</sup>,可以促进视网膜新生血管的形成<sup>[22]</sup>。其作用机制:(1)调节视网膜微血管基底膜合成,促进内皮细胞增生、新生血管形成及纤维增生、基底膜增厚及相应结构异常。(2)通过激活蛋白激酶 B、核因子- $\kappa$ B 和缺氧诱导因子-1 $\alpha$  等途径促进细胞生长。(3)其他一些生长因子参与 IGF-I 诱导的细胞生长,如 VEGF、血小板衍生因子和 bFGF<sup>[23]</sup>。此外,Spoerri 等<sup>[24]</sup>研究发现当 IGF-I 与 IGF-I 受体结合时可减少闭锁蛋白的表达,从而破坏内皮细胞的紧密连接,这可能是 DR 血-视网膜屏障功能障碍发生的一个重要机制。

#### 2.5 PEDF

PEDF 最早是从人胎儿 RPE 细胞培养调理液中纯化分离出来的,是一种多功能蛋白,具有神经营养、亲神经元、神经保护、抗肿瘤、抗新生血管、抗血管通透性等特性<sup>[25]</sup>。正常情况下,血管的生成及其稳定性均受到促血管生长因子和抗血管生长因子的精确调控。而许多血管增生性疾病,如 DR 的发生,正是这种促血管生长因子和抗血管生长因子之间平衡破坏的结果。PEDF 被认为是最有效的天然血管抑制因子,在减少血管渗漏和新生血管形成等病理过程中发挥着重要作用。研究发现,重组 PEDF 蛋白可以有效地抑制缺血诱导的视网膜新生血管的形成<sup>[26]</sup>。Zhang 等<sup>[27]</sup>认为 PEDF 可竞争性地抑制 VEGF 与 VEGF 受体-2 结合从

而抑制由 VEGF 介导的视网膜新生血管的发生。Yamagishi 等<sup>[28]</sup>研究表明,PEDF 可以通过抑制细胞间黏附分子-1 的表达从而阻止 AGEs 引起的视网膜白细胞停滞。此外,在高糖环境中,PEDF 还可以保护视网膜血管周细胞免受 AGEs 的损伤,而这一过程是通过 PEDF 的抗氧化特性来实现的<sup>[29]</sup>。以上这些研究均表明,在 DR 的早、中、晚期 PEDF 的保护性作用持续存在。

#### 2.6 肿瘤坏死因子

肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)是一种多功能炎性细胞因子,参与机体免疫和炎症反应,具有极强的生物学效应。其以自分泌、旁分泌和外分泌的方式作用于靶细胞及靶器官,与相应的特异性受体结合,产生特有的生物学效应。TNF 过量表达可作为炎症介质引起炎症损伤及免疫抑制反应。PDR 患者玻璃体中 TNF- $\alpha$  含量明显高于正常者,提示 TNF- $\alpha$  可能在 DR 的发生发展过程中发挥着重要作用<sup>[30]</sup>。TNF- $\alpha$  引起 DR 的可能机制:(1)活化核转录因子(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)。NF- $\kappa$ B 活化后促进凋亡小体的表达,引起视网膜血管周细胞凋亡和无细胞的毛细血管增加,导致视网膜局部微循环障碍<sup>[31]</sup>。(2)促进 Core2N-乙酰葡萄糖胺转移酶(glycosylation enzyme core 2 GlcNAc-T, Core2GlcNAc-T)的活化。Core2GlcNAc-T 的活化增加了视网膜毛细血管内皮细胞和白细胞之间的黏附以及毛细血管的无灌注,促进 DR 的发生<sup>[32]</sup>。(3)增加 VEGF 的表达。VEGF 的亚型可特异性地促进血管内皮细胞的有丝分裂并增加血管和组织屏障的通透性;干扰视网膜细胞和毛细血管内皮细胞之间相互作用,引起毛细血管通透性增高、血栓形成以及新生血管形成,导致 DR 的发生。

### 3 结语

多数学者认为在 DR 的发病机制中,炎症和免疫反应贯穿 DR 的全过程,其中细胞因子介导的炎症反应在 DR 的发生发展过程中发挥着重要作用。近年来研究表明,细胞因子具有抑制性和刺激性功能,正常状态下各种细胞因子的表达处于平衡状态,在各种病理因素的刺激下,这种平衡状态被破坏,多种细胞因子相互诱导、协调,通过一个复杂的网络系统共同参与 DR 的发生发展。因此,随着对多种细胞因子在 DR 发病机制中的具体作用及相互关系的进一步研究,除积极控制血糖外,寻找能影响或阻止细胞因子的表达及功能,如内皮细胞保护剂或拮抗剂的使用,是从根本上阻断 DM 并发症与其他相关循环障碍性疾病的有效

措施。

## 参考文献

- Kempen JH, O' Colmain BJ, Leske MC, et al. The prevalence of diabetic retinopathy among adults in the United States [J]. *Arch Ophthalmol*, 2004, 122(4): 552 - 563
- 全国糖尿病防治协作组. 1994年中国糖尿病患病率及其危险因素[J]. *中华内科杂志*, 1997, 36(6): 384 - 389
- Funatsu H, Yamashita H, Nakanishi Y, et al. Angiotensin II and vascular endothelial growth factor in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy [J]. *Br J Ophthalmol*, 2002, 86(3): 311 - 315
- El-Remessy AB, Behzadian MA, Abou-Mohamed G, et al. Experimental diabetes causes breakdown of the blood-retina barrier by a mechanism involving tyrosine nitration and increases in expression of vascular endothelial growth factor and urokinase plasminogen activator receptor [J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(6): 1995 - 2004
- Harhaj NS, Felinski EA, Wolpert EB, et al. VEGF activation of protein kinase C stimulates occludin phosphorylation and contributes to endothelial permeability [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(11): 5106 - 5115
- Lebherz C, Maguire AM, Auricchio A, et al. Nonhuman primate models for diabetic ocular neovascularization using AAV2-mediated overexpression of vascular endothelial growth factor [J]. *Diabetes*, 2005, 54(4): 1141 - 1149
- Joussen AM, Poulaki V, Qin W, et al. Retinal vascular endothelial growth factor induces intercellular adhesion molecule-1 and endothelial nitric oxide synthase expression and initiates early diabetic retinal leukocyte adhesion in vivo [J]. *Am J Pathol*, 2002, 160(2): 501 - 509
- Adamis AP, Altaweel M, Bressler NM, et al. Changes in retinal neovascularization after pegaptanib (Macugen) therapy in diabetic individuals [J]. *Ophthalmology*, 2006, 113(1): 23 - 28
- Cunningham ET, Jr, Adamis AP, Altaweel M, et al. A phase II randomized double-masked trial of pegaptanib, an anti-vascular endothelial growth factor aptamer, for diabetic macular edema [J]. *Ophthalmology*, 2005, 112(10): 1747 - 1757
- Bartram U, Speer CP. The role of transforming growth factor beta in lung development and disease [J]. *Chest*, 2004, 125(2): 754 - 765
- Li JH, Huang XR, Zhu HJ, et al. Role of TGF-beta signaling in extracellular matrix production under high glucose conditions [J]. *Kidney Int*, 2003, 63(6): 2010 - 2019
- 叶健华, 林晓峰, 马承红, 等. 转化生长因子  $\beta 1$  在非增殖型糖尿病视网膜病变中的变化 [J]. *眼科学报*, 2006, 22(1): 14 - 16
- Gacka M, Adamiec J. The role of transforming growth factor-beta in the pathogenesis of diabetic retinopathy [J]. *Przegl Lek*, 2006, 63(5): 296 - 298
- Takamura Y, Tomomatsu T, Kubo E, et al. Role of the polyol pathway in high glucose-induced apoptosis of retinal pericytes and proliferation of endothelial cells [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(7): 3216 - 3223
- Naginei CN, Samuel W, Naginei S, et al. Transforming growth factor-beta induces expression of vascular endothelial growth factor in human retinal pigment epithelial cells; involvement of mitogen-activated protein kinases [J]. *J Cell Physiol*, 2003, 197(3): 453 - 462
- Verrecchia F, Mauviel A. Transforming growth factor-beta signaling through the Smad pathway; role in extracellular matrix gene expression and regulation [J]. *J Invest Dermatol*, 2002, 118(2): 211 - 215
- Beranek M, Kolar P, Tschoplova S, et al. Genetic variation and plasma level of the basic fibroblast growth factor in proliferative diabetic retinopathy [J]. *Diabet Res Clin Pract*, 2008, 79(2): 362 - 367
- Song E, Dong Y, Han LN, et al. Diabetic retinopathy: VEGF, bFGF and retinal vascular pathology [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2004, 117(2): 247 - 251
- Ruberte J, Ayuso E, Navarro M, et al. Increased ocular levels of IGF-1 in transgenic mice lead to diabetes-like eye disease [J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(8): 1149 - 1157
- Kuang H, Zou W, Liu D, et al. The potential role of IGF-I receptor mRNA in rats with diabetic retinopathy [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2003, 116(3): 478 - 480
- Bergman PB, Moravski CJ, Edmondson SR, et al. Expression of the IGF system in normal and diabetic transgenic (mRen-2)27 rat eye [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46(8): 2708 - 2715
- Kondo T, Vicent D, Suzuma K, et al. Knockout of insulin and IGF-1 receptors on vascular endothelial cells protects against retinal neovascularization [J]. *J Clin Invest*, 2003, 111(12): 1835 - 1842
- Chantelau E, Kimmerle R, Meyer-Schwickerath R. Insulin, insulin analogues and diabetic retinopathy [J]. *Arch Physiol Biochem*, 2008, 114(1): 54 - 62
- Spoerri PE, Afzal A, Li Calzi S, et al. Effects of VEGFR-1, VEGFR-2, and IGF-IR hammerhead ribozymes on glucose-mediated tight junction expression in cultured human retinal endothelial cells [J]. *Mol Vision*, 2006, 12: 32 - 42
- Tombran-Tink J, Johnson LV. Neuronal differentiation of retinoblastoma cells induced by medium conditioned by human RPE cells [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1989, 30(8): 1700 - 1707
- 刘辉, 苏冠芳. 色素上皮衍生因子及其治疗视网膜新生血管性疾病的研究进展 [J]. *中华眼科杂志*, 2007, 43(11): 1043 - 1047
- Zhang SX, Wang JJ, Gao G, et al. Pigment epithelium-derived factor downregulates vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and inhibits VEGF-VEGF receptor 2 binding in diabetic retinopathy [J]. *J Mol Endocrinol*, 2006, 37(1): 1 - 12
- Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) prevents diabetes- or advanced glycation end products (AGE)-elicited retinal leukostasis [J]. *Microvasc Res*, 2006, 72(1-2): 86 - 90
- Yokoi M, Yamagishi S, Saito A, et al. Positive association of pigment epithelium-derived factor with total antioxidant capacity in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy [J]. *Br J Ophthalmol*, 2007, 91(7): 885 - 887
- Demircan N, Safran BG, Soylu M, et al. Determination of vitreous interleukin-1 (IL-1) and tumour necrosis factor (TNF) levels in proliferative diabetic retinopathy [J]. *Eye*, 2006, 20(12): 1366 - 1369
- Behl Y, Krothapalli P, Desta T, et al. Diabetes-enhanced tumor necrosis factor-alpha production promotes apoptosis and the loss of retinal microvascular cells in type 1 and type 2 models of diabetic retinopathy [J]. *Am J Pathol*, 2008, 172(5): 1411 - 1418
- Ben-Mahmud BM, Chan WH, Abdulhad RM, et al. Clinical validation of a link between TNF-alpha and the glycosylation enzyme core 2 GlcNAc-T and the relationship of this link to diabetic retinopathy [J]. *Diabetologia*, 2006, 49(9): 2185 - 2191

(收稿: 2009-02-11 修回: 2009-08-23)

(本文编辑: 尹卫靖)