

福辛普利、转化生长因子 β_1 与糖尿病视网膜病变

李春霞 陈海冰 肖文玮 吉红云 郑志

【摘要】 目的 探讨血清转化生长因子 β_1 (TGF β_1) 在糖尿病视网膜病变 (DR) 发病中的意义以及血管紧张素转化酶抑制剂 (ACEI) 福辛普利对 DR 患者的治疗效果及对 DR 患者血清 TGF β_1 水平的影响。方法 将 80 例 2 型糖尿病 (2-DM) 患者及 20 例健康人群分为 5 组, 采用双抗体夹心酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测其血清 TGF β_1 水平并进行比较。将 45 例背景型 DR 患者分为 2 组, 25 例福辛普利治疗组给予福辛普利治疗 6 个月, 行眼底荧光造影 (FFA) 检查观察患者治疗前后眼底病变的变化并与药物对照组比较, 同时检测患者治疗前后血清 TGF β_1 水平的改变。结果 糖尿病组与正常对照组比较, 血清 TGF β_1 水平升高, 差异有显著性意义 ($P < 0.01$)。糖尿病三组之间比较, PDR 组血清 TGF β_1 水平高于背景型 DR 组; 背景型 DR 组血清 TGF β_1 水平高于 NoDR 组, 三组之间差异均有显著性意义 ($P < 0.05$)。福辛普利治疗背景型 DR 患者血清 TGF β_1 水平及 UAER 降低, 与治疗前比较, 差异均有显著性意义 ($P < 0.05$)。福辛普利治疗组治疗前后 DR 眼底的变化与药物对照组比较, 无显著性差异 ($P > 0.05$)。结论 DR 患者血清 TGF β_1 水平显著升高, 且随病变进展进一步升高, TGF β_1 可能在 DR 发病及其进展中发挥重要作用。福辛普利通过抑制背景型 DR 患者产生 TGF β_1 , 从而发挥可能对视网膜的保护作用, 但短期内观察眼底的病变无明显改善。

【关键词】 血管紧张素转化酶抑制剂; 转化生长因子 β_1 ; 糖尿病视网膜病变

Fosinopril and serum transforming growth factor-beta 1 and diabetic retinopathy LI Chunxia, CHEN Haibing, XIAO Wenwei, et al. Department of Ophthalmology, Shanghai TCM-Integrated Hospital, Shanghai, 200082, China

【Abstract】 Objective To discuss the effect of serum transforming growth factor-beta 1 (TGF β_1) and angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI) (Fosinopril) to diabetic retinopathy (DR). Methods 80 patients with type 2 diabetes and 20 health controls were divided into 5 groups and serum TGF β_1 levels were detected with double-antibody enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). 45 patients with background DR were divided into 2 groups and investigated the effect of Fosinopril to treat the patients in 6 months with fundus fluorescein angiography (FFA). Results Serum TGF β_1 levels increased significantly in diabetic patients compared with those in health controls ($P < 0.01$). When compared with each other, there were significant differences in serum TGF β_1 levels in three diabetic groups ($P < 0.05$, respectively). Serum TGF β_1 levels and urinary albumin excretion rate (UAER) decreased significantly in patients with background DR after Fosinopril treatment ($P < 0.05$). However, there were no significant difference in fundus compared with medical controls. Conclusion Serum TGF β_1 levels were elevated in the patients with DR and may play a role in pathogenesis of DR. Fosinopril may be protective effect on the patients with background DR by suppressing the production of TGF β_1 , but there was no significant progress in fundus in short periods.

【Key words】 Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor; Transforming Growth Factor-beta 1; Diabetic Retinopathy

作者单位: 200082 上海, 上海市中西医结合医院眼科 (李春霞, 肖文玮, 吉红云); 上海交通大学附属第六人民医院内分泌科博士生 (陈海冰); 上海交通大学附属第一人民医院眼科 (郑志)

通讯作者: 李春霞, E-mail: cxli0515@mail.hf.an.cn

糖尿病视网膜病变 (DR) 是糖尿病的并发症之一, 它和糖尿病的另一并发症糖尿病肾病 (DN) 的共同病理基础均是微血管病变, 即内皮细胞损害、基底膜增厚和细胞外基质积聚等^[1]。动物实验和临

床治疗结果显示, 血管紧张素转化酶抑制剂 (ACEI) 能显著降低早期糖尿病肾病 (DN) 的尿蛋白 (UAER) 排泄率 ($\mu\text{g}/\text{min}$), 延缓 DN 的发展^[2]; 转化生长因子 $\beta 1$ (TGF $\beta 1$) 是一种重要的致组织纤维化的细胞因子, 与 DN 发生发展密切相关, 可作为 DN 发病早期的敏感诊断指标^[3]; 应用 ACEI 治疗 DN 患者后病情好转的同时血清转化生长因子 $\beta 1$ 水平下降^[4]。本文旨在探讨 TGF $\beta 1$ 与 DR 发病的关系以及血管紧张素转化酶抑制剂福辛普利 (蒙诺) 对 DR 的治疗效果及其治疗后血清 TGF $\beta 1$ 水平的变化。

对象和方法

1. 对象

80 例 2 型糖尿病 (2-DM) 患者均为住院病人, 诊断符合 1999 年 WHO 公布的 2-DM 诊断标准。男 37 例, 女 43 例。全部患者均排除继发性 DM、高血压、肝病、其它原因肾病和其它原因玻璃体视网膜病变等, 既往无服用 ACEI 和血管紧张素 II 受体拮抗剂病史。从在本院进行健康体检的人中选取葡萄糖耐量实验正常同时排除了高血压、肾病、肝病病史者 20 例作为正常对照。按照我国 1984 年制订的糖尿病视网膜病变 (DR) 分期标准进行分期, 实验分 5 组: (1) 无糖尿病视网膜病变组 (NoDR): 16 例, 男 7 例, 女 9 例, 平均年龄 (59 ± 13.2) 岁, 平均病程 (6.3 ± 7.2) 年。(2) DR 组: 64 例, 根据 DR 分期标准, 又分为三组: 背景型 DR 福辛普利治疗组 (简称福辛普利治疗组), 25 例, 男 13 例, 女 12 例, 平均年龄 (63.3 ± 10.6) 岁, 平均病程 (12.6 ± 7.2) 年, 给予福辛普利 10mg/d 治疗, 疗程半年 (患者出院后门诊随访观察); 背景型 DR 药物对照组 (简称药物对照组), 20 例, 男 8 例, 女 12 例, 平均年龄 (60.6 ± 9.8) 岁, 平均病程 (11.3 ± 6.3) 年; 增生型 DR 组 (PDR 组), 19 例, 男 9 例, 女 10 例, 平均年龄 (61.8 ± 12.7) 岁, 平均病程 (16.1 ± 9.6) 年。(3) 正常对照组: 20 例, 男 11 例, 女 9 例, 平均年龄 (60.5 ± 12.1) 岁。

2. 测量仪器和方法

尿蛋白试剂盒由中国医学科学院核医学技术中心协和医学科技有限公司生产, DFM-96 型 10 管放射免疫 γ 计数器; TGF $\beta 1$ 试剂盒购自深圳晶美生物工程有限公司, DG-3022A 型酶联免疫检测仪、英国 DREW 公司 DS-5 型糖化血红蛋白检测仪及全自动生化分析仪。福辛普利由中美上海施贵宝

制药有限公司生产。

3. 统计学处理

计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 或中位数表示, 采用 SPSS11.0 统计软件, 进行 t 检验、方差分析及直线相关分析。

所有患者均测血压、体重指数 [体重 (kg) / 身高 (m)] (BMI), 收集受试者 24 小时尿, 准确记录尿量, 混匀后留取 8ml, 保存于 -40°C 冰箱待测尿蛋白 (Alb)。24 小时 UAER $\geq 20\mu\text{g}/\text{min}$ 为蛋白尿阳性。同时留取清晨空腹静脉血, 检测空腹血糖 (FBG) 和糖化血红蛋白 (HbA1c), 另将标本离心后留取血清置于 -40°C 冰箱待测血清 TGF $\beta 1$ 。扩瞳眼底检查及眼底荧光造影 (FFA)。

结果

1. 一般临床资料的比较 (表 1)

表 1 各组一般临床资料

	正常对照组	NoDR 组	药物对照组	福辛普利治疗组	PDR 组
病例数	20	16	20	25	19
性别(男/女)	11/9	7/9	8/12	13/12	9/10
年龄(岁)	60.5 ± 12.1	59 ± 13.2	60.6 ± 9.8	63.3 ± 10.6	61.8 ± 12.7
病程(年)		6.3 ± 7.2	11.3 ± 6.5	12.6 ± 7.2	16.1 ± 9.6
BMI(kg/m)	23.7 ± 2.0	23.3 ± 2.6	24.6 ± 3.6	24.1 ± 3.0	23.9 ± 4.3
FBG(mmol/L)	4.86 ± 0.60	10.28 ± 3.54	12.56 ± 2.32	9.86 ± 1.13	11.47 ± 4.06
HbA1c(%)		10.17 ± 2.84	11.36 ± 1.89	9.52 ± 2.56	10.34 ± 3.31
UAER($\mu\text{g}/\text{min}$)	7.17 ± 3.81	8.28 ± 7.28	68.35 ± 51.28	72.14 ± 40.63	411.28 ± 144.94

各组年龄、性别、BMI、FBG 及 HbA1c 之间比较均无统计学差异 ($P > 0.05$), 具有可比性。NoDR 组、背景型 DR 组及 PDR 组之间病程比较, 均有显著性差异 ($P < 0.05$); NoDR 组、背景型 DR 组及 PDR 组之间 UAER 比较, 均有非常显著性差异 ($P < 0.01$)。药物对照组与福辛普利治疗组之间病程和 UAER 比较, 无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2. 糖尿病组和对照组血清 TGF $\beta 1$ 水平比较

80 例糖尿病患者血清 TGF $\beta 1$ 水平 [(46.72 ± 22.02) mg/ml] 高于 20 例健康对照者 [(24.58 ± 12.61) mg/ml], 两者比较, 有统计学意义 ($P < 0.01$)。

3. 糖尿病患者各组与对照组之间血清 TGF $\beta 1$ 水平比较 (表 2)

与对照组比较, NoDR 组、背景型 DR 组和 PDR 组血清 TGF $\beta 1$ 水平分别高于对照组, 且均有统计学意义 ($P < 0.01$)。糖尿病三组之间比较, PDR 组血清 TGF $\beta 1$ 水平高于背景型 DR 组, 背景型 DR 组血清 TGF $\beta 1$ 水平高于 NoDR 组, 三组之间差异

均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

4. 福辛普利治疗组治疗前后血清 TGF β 1 水平及 UAER 的变化 (表 3)

表 2 糖尿病各组与对照组血清 TGF β 1 水平

	正常对照组	NoDR 组	背景型 DR 组	PDR 组
病例数	20	16	45	19
TGF β 1 (ng/ml)	24.58 \pm 12.61	39.27 \pm 11.02	51.46 \pm 18.48	63.11 \pm 21.78

表 3 福辛普利治疗前后血清 TGF β 1 水平及 UAER

	治疗前	治疗后
TGF β 1 (ng/ml)	52.28 \pm 19.75	35.65 \pm 10.12
UAER	72.14 \pm 40.63	32.43 \pm 12.76

福辛普利治疗后血清 TGF β 1 水平及 UAER 降低, 与治疗前比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

5. 福辛普利治疗组治疗前后 DR 的眼底变化与药物对照组比较

福辛普利治疗组 25 例患者中, DR I 期者 16 例, DR II 期者 7 例, DR III 期者 2 例; 福辛普利治疗后有 2 例患者 DR 进展一级: 1 例 DR I 期者转为 II 期, 1 例 DR II 期者转为 III 期。药物对照组 20 例患者中, DR I 期者 10 例, DR II 期者 9 例, DR III 期者 1 例; 半年后有 3 例患者 DR 进展一级: 1 例 DR I 期者转为 II 期, 1 例 DR II 期者转为 III 期, 1 例 DR II 期者转为 IV 期。福辛普利治疗组治疗前后 DR 眼底的变化与药物对照组比较, 无统计学意义 ($P > 0.05$)。

6. 血清 TGF β 1 水平与 UAER 的相关关系

Pearson 相关关系分析显示, 2-DM 患者血清 TGF β 1 水平与 UAER 呈现非常显著性正相关 ($r = 0.625$, $P < 0.01$), UAER 的增加, 血清 TGF β 1 水平随之显著升高。DR 患者应用福辛普利治疗后血清 TGF β 1 水平与 UAER 均呈现非常显著性减少 ($P < 0.01$), 且两者差异具有统计学意义 ($r = 0.723$, $P < 0.01$)。

7. 福辛普利的副反应

有 1 例患者在治疗过程中出现咳嗽而停药, 停药 3 天后症状消失, 被排除在本治疗组之外。其他患者在治疗过程中未发现明显的药物副反应, 患者依从性良好。

讨 论

1. TGF β 1 与糖尿病视网膜病变

TGF β 属于一个多功能肽家族, 在人类有 3 种异构体, 即 TGF β 1、TGF β 2、TGF β 3。几乎所有研究过的组织细胞都能合成和分泌 TGF β 。

TGF β 参与细胞的分化、生长、凋亡, 组织损伤修复, 调节免疫反应, 调控细胞外基质 (ECM) 的合成与降解等病理生理过程^[5-7]。TGF β 1 是 TGF β 家族中最具特征、分布最广、含量最丰富的分子亚型。

人体眼组织包括角膜、睫状体上皮、晶体上皮、视网膜和血管等均发现有 TGF β 多功能肽家族及其受体的表达, TGF β 超家族在视网膜新生血管的病理过程中发挥重要作用^[8]。2-DM 患者血浆 TGF β 1 显著性增高, 且增高的 TGF β 1 与 DR 和 DN 有关^[9]。我们发现, 2-DM 患者血清 TGF β 1 水平显著高于健康对照组; 2-DM 三组之间比较, PDR 组血清 TGF β 1 水平高于背景型 DR 组; 背景型 DR 组血清 TGF β 1 水平高于 NoDR 组, 三组之间差异均有显著性意义。说明血清 TGF β 1 水平与 DR 的严重程度呈正相关。2-DM 患者微血管功能的紊乱以及缺氧导致视网膜屏障的破坏, 血清高水平的 TGF β 1 可大量进入眼内^[10]; 2-DM 患者代谢的紊乱可促进视网膜内皮细胞本身合成分泌 TGF β 1 及其受体^[11]。关于 TGF β 1 在 DR 中的发病机制, 目前的研究发现, TGF β 1 可引起视网膜内皮细胞的增生、粘连, 促进 ECM 的合成沉积并减少其降解^[8, 11]; TGF β 1 还可诱导人视网膜色素上皮细胞分泌血管内皮生长因子 (VEGF), 而 VEGF 是人们公认的另一个重要的促进 DR 发生发展的细胞因子^[12]。

2. ACEI 与糖尿病视网膜病变

近年来, 有许多研究发现, 肾素-血管紧张素系统 (RAS) 与 DR 的发病有着密切的关系^[13]: (1) RAS 不仅存在于血液循环系统, 而且也存在于眼组织中。(2) DR 患者玻璃体中血管紧张素 II (AT II) 和促进血管紧张素 I 水解成为 AT II 的血管紧张素转化酶 (ACE) 浓度显著性升高, 且与 DR 的病情程度呈显著性正相关。(3) AT II 可提高视网膜血管的通透性, 增加血管内皮的氧分压, 使交感神经系统张力增高, 同时与视网膜血管的紧张度及视网膜间质的变性有关; AT II 可诱导 TGF β 、VEGF、血管生成素 2 等及其受体的表达。(4) ACEI 类药物卡托普利可显著改善背景型 DR 视网膜屏障的功能, 减少白蛋白的渗漏, 改善视网膜局部血流动力学紊乱, 减轻内皮细胞损害, 抑制视网膜微血管基底膜增厚及 ECM 积聚等^[14]; ACEI 类药物利生普利可抑制 DR 的发生和进展, 其进展一级的抑制率达 50%, 其研究结果进一步显示, 有效地控制血糖并联合应用 ACEI 类药物可能是 DR 的最好治疗策略^[15]。

我们的研究结果显示, 应用 ACEI 药物福辛普

利治疗DR患者6个月后,患者血清TGF β 1水平显著性降低。福辛普利通过降低TGF β 1水平达到间接改善早期DR患者病情,从而揭示出ACEI类药物治疗DR的又一分子机制。通过眼底检查及FFA,从形态学上未发现福辛普利有明显的抑制DR进展的临床效果,这可能与用药时间较短、病情随访时间不够长有关。

3. 糖尿病视网膜病变与糖尿病肾病

魏玲格等采用普通电镜和免疫组化电镜方法,并经电镜下定量分析视网膜和肾小球毛细血管基底膜的厚度及基底膜上负电荷位点的计数,发现DR和DN的毛细血管基底膜增厚并伴有负电荷的位点的减少,即DR和DN的发生发展有其共同的形态学基础^[6]。我们检测了2-DM患者血清TGF β 1水平和UAER以及福辛普利治疗DR后两者的变化,发现,随着DR病情的进展,UAER也随之增加,即DR与DN呈平行关系,DR和DN均与血清TGF β 1水平呈显著性正相关,且福辛普利治疗后血清TGF β 1水平均显著减少。因此,我们的研究结果进一步揭示了DR和DN共同的分子病理机制及病变早期共同的治疗对策。

参 考 文 献

- 1 Fioretto P, Stehouwer CDA, Mauer M, et al. Heterogeneous nature of microalbuminuria in NIDDM: studies of endothelial function and renal structure. *Diabetologia*, 1998, 41: 223-235
- 2 Bjorck S, Nyberg G, Mulec H, et al. Contrasting effects of enalapril and metoprolol on proteinuria in diabetic nephropathy. *Br Med*, 1990; 300: 904-1003
- 3 Hellmich B, Seclner H, Schatz H, et al. Activation of transforming growth factor-beta1 in diabetic kidney disease. *Metabolism*, 2000; 49: 353-359
- 4 Sharma K, Eltayeb BO, McGowan TA, et al. Captopril-induced reduction of serum levels of transforming growth factor-beta1 correlates with long-term renoprotection in insulin-dependent diabetic patients. *Am J Kidney Dis*, 1999; 34: 818-823
- 5 Sharm K, Ziyadeh FN. Hyperglycemia and diabetic. The case for transforming growth factor-beta as a key mediator. *Diabetes*, 1995; 44: 1130-1146
- 6 Mary E, Choi. Mechanism of transforming growth factor-beta1 signaling: Role of the mitogen-activated protein kinase. *Kidney Int*, 2000; 58: 53-58
- 7 McLennan SV, Fisher E, Martell SY, et al. Effects of glucose on matrix metalloproteinase and plasmin activities in mesangial cell: Possible role in diabetic nephropathy. *Kidney Int*, 2000; 58: 81-87
- 8 Yamashita H, Tobari I, Sawa M, et al. Functions of the transforming growth factor-beta superfamily in eyes. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 1997; 101: 927-947
- 9 Pfeiffer A, Middelber-Bisping K, Drewes C, et al. Elevated plasma levels of transforming growth factor-beta1 in NIDDM. *Diabetes Care*, 1996; 19: 1113-1117
- 10 Pfeiffer A, Spranger J, Meyer-Schwickerath R, et al. Growth factor alterations in advanced diabetic retinopathy; a possible role of blood retina barrier breakdown. *Diabetes*, 1997; 46: S26-30
- 11 Pascal MM, Forrester JV, Knott RM. Glucose-mediated regulation of transforming growth factor-beta (TGF-beta) and TGF-beta receptors in human retinal endothelial cells. *Curr Eye Res*, 1999; 19: 162-170
- 12 Nagineni CN, Samuel W, Nagineni S, et al. transforming growth factor-beta induces expression of vascular endothelial growth factor in human retinal epithelial cells; involvement of mitogen-activated protein kinases. *J Cell PHYSIOL*, 2003; 197: 453-462
- 13 郑志, 张士倩, 孙思勤. 肾素-血管紧张素系统与糖尿病视网膜病变. *中华眼底病杂志*, 2003, 19: 391-393
- 14 Larsen M, Hommel E, Parving HH, et al. Protective effect of captopril on the blood-retina barrier in normotensive insulin-dependent diabetic patients with nephropathy and background retinopathy. *Graefes Arch. Clin Exp Ophthalmol*, 1990, 228: 505-509
- 15 Chaturvedi N, Sjolie AK, Stephenson JM, et al. Effect of lisinopril on progression of retinopathy in normotensive people with type 1 diabetes. *The Lancet*, 1998, 351: 28-31
- 16 魏玲格, 王长龄, 段惠军, 等. 糖尿病大鼠视网膜和肾小球微血管病变的对比研究. *中华眼科杂志*, 1999, 35: 144-146

(收稿时间: 2006-03)