

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.13.053

视网膜微血管内皮细胞在糖尿病视网膜病变中的研究现状*

刘子睿 张丽琼[△] 高丽园 马海燕 周媛 金鑫

(哈尔滨医科大学第一附属医院眼科医院 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要: 糖尿病视网膜疾病是导致成年人失明的主要因素,是糖尿病的一种令人恐惧的并发症,高血糖被认为是促进其发展的主要原因。高血糖不断地破坏视网膜的微血管系统最终导致视网膜的许多代谢,结构和功能的紊乱。视网膜微血管内皮细胞在微脉管系统中形成树枝状供应视网膜神经,这些内皮细胞的解剖和生理符合重要视觉保护的营养需求^[1]。一方面,内皮组织务必确保氧的供应和代谢活跃的视网膜营养供应;另一方面,内皮细胞有助于血-视网膜屏障将循环产生的毒素分子,白细胞促炎性物质排出体外来保护视网膜,这种特性也可能引起疾病,比如:视网膜血管的渗漏和新生血管,炎性物质转移,因此,视网膜内皮细胞在视网膜缺血性病变,血管炎中起到重要作用,包括糖尿病视网膜病变和视网膜炎症或感染尤其是后葡萄膜炎。使用基因表达和蛋白质组学分析等研究方法,有助于了解这些疾病的发病机制。为了进一步开展对糖尿病视网膜疾病的研究,有必要就目前有关糖尿病视网膜病变患者微血管内皮细胞的研究进展予以综述,旨在为糖尿病视网膜病变的深入研究提供参考依据。

关键词: 视网膜微血管内皮细胞;血管内皮生长因子;糖尿病视网膜病变

中图分类号: R77, R587.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)13-2590-03

The Progress of the Retinal Vascular Endothelial Cell in Diabetic Retinopathy*

LIU Zi-rui, ZHANG Li-qiong[△], GAO Li-yuan, MA Hai-yan, ZHOU Yuan, JIN Xin

(Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 1510001, China)

ABSTRACT: Diabetic retinopathy, the leading cause of acquired blindness in young adults, is one of the most feared complications of diabetes, and hyperglycemia is considered as the major trigger for its development. The microvasculature of the retina is constantly bombarded by high glucose, and this insult results in many metabolic, structural and functional changes. Retinal endothelial cells line the arborizing microvasculature that supplies and drains the neural retina. The anatomical and physiological characteristics of these endothelial cells are consistent with nutritional requirements and protection of a tissue critical to vision. On the one hand, the endothelium must ensure the supply of oxygen and other nutrients to the metabolically active retina, and allow access to circulating cells that maintain the vasculature or survey the retina for the presence of potential pathogens. On the other hand, the endothelium contributes to the blood-retinal barrier that protects the retina by excluding circulating molecular toxins, microorganisms, and pro-inflammatory leukocytes. Features required to fulfill these functions may also predispose to disease processes, such as retinal vascular leakage and neovascularization, and trafficking of microbes and inflammatory cells. Thus, the retinal endothelial cell is a key participant in retinal ischemic vasculopathies that include diabetic retinopathy and retinopathy of prematurity, and retinal inflammation or infection, as occurs in posterior uveitis. Using gene expression and proteomic profiling, it has been possible to contribute to understanding of the pathogenesis of these diseases. This article reviewed the progression in research on the retinal vascular endothelial cell in diabetic retinopathy.

Key words: Retinal vascular endothelial cell; Vascular endothelial growth factor; Diabetic retinopathy

Chinese Library Classification(CLC): R77, R587.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)13-2590-03

前言

眼底新生血管性疾病是糖尿病视网膜疾病中的常见类型,也是世界范围内最严重的致盲性眼病,该病是指由于新生血管生长伴随出血、渗出、增殖等病理性改变造成的缺血性视网膜疾病^[2],在新生血管形成过程中,血管内皮细胞的增殖和迁移是较为重要的环节之一,阻断此过程的发生能有效地抑制新生血

管生成,侯培等人^[3]对苹果酸舒尼替尼(Sunitinib)对视网膜微血管内皮细胞增殖和迁移的影响进行了研究。苹果酸舒尼替尼是一种多靶点小分子酪氨酸激酶抑制剂,通过抑制血管内皮生长因子受体及血小板衍生生长因子受体等达到抗血管生成和抗肿瘤增殖的作用,实验证实了Sunitinib能够抑制视网膜微血管内皮细胞的增殖和迁移,这可能是其抑制血管生成的途径,Sunitinib很可能会成为治疗眼底新生血管性疾病的一种潜在

* 基金项目:黑龙江省自然科学基金项目(D200949);哈尔滨市科技局资助项目(2007RFQXS090);

黑龙江省教育厅科学技术研究项目(11541219);黑龙江省卫生厅科研项目(2007-222)

作者简介:刘子睿(1987-),女,硕士研究生,主要研究方向:视网膜病,电话:18249513768, E-mail:liuzirui1987@yahoo.cn

[△] 通讯作者:张丽琼, E-mail:zhanglq600@sina.com

(收稿日期:2013-08-11 接受日期:2013-09-10)

药物,但其治疗价值需要进一步评价。由于目前缺少针对眼底新生血管的有效的早期治疗手段,一系列下调或阻断血管内皮细胞生长因子或其受体的药物和抑制二者结合后发挥生物学效应的药物已成为治疗眼底新生血管研究的热点之一。黄敏丽^[4]等人也研究了相关内容,他们对 Tumstatin 肽对视网膜微血管内皮细胞增殖和迁移的影响进行研究,Tumstatin 是新近发现的血管生成抑制因子,能特异地抑制内皮细胞蛋白的合成,且只作用于分裂型内皮细胞。证实了 Tumstatin 能够抑制 RF/6A 细胞的增生和迁移,可能是其抑制血管生成的途径。

1 糖尿病视网膜病变的可能机制

糖尿病视网膜病变是引起视力丧失和失明的主要原因,以微血管障碍为主要特点,但其发病机制目前尚未完全阐明,大剂量葡萄糖可诱导人视网膜内皮细胞凋亡^[5],这有可能是促进糖尿病性视网膜病变发展的原因;血液的高凝状态,蛋白激酶 C 的激活及肌醇代谢的减低,氧化应激等参与相关发生机制,许世清^[6]等人为了研究糖尿病患者血清对培养的人视网膜内皮细胞凝血纤溶活性和氧化应激的影响,将人胚胎视网膜组织内皮细胞分离,用糖尿病患者的血清和正常人得血清分别培养 48 小时,通过化学检测等方法得出结论:糖尿病患者的血清诱导视网膜内皮细胞出现高凝血,低纤溶和氧化应激的功能改变,并且蛋白激酶 C 激活在氧化应激反应中发挥重要作用;也有学者^[7]将具有调节血脂作用的辛伐他丁类药物应用于糖尿病视网膜病变的研究中,由于祖内皮细胞的循环在出生后的血管形成和减少内皮损伤中起到了重要作用,所以主要研究辛伐他丁对内皮祖细胞循环的影响,从而研究其对糖尿病视网膜病变的形成和发展速率的影响,实验证实:辛伐他汀能增加视网膜组织中内皮细胞的循环和 NO 水平,减少诱导型一氧化氮合酶的表达和 Ang-1,Ang-2 的 mRNA 的表达,与此同时,增加内皮型 NO 合酶的表达,抑制糖尿病视网膜病变的形成和发展。一直以来,高血糖被认为是糖尿病视网膜病变的主要因素^[8],与视网膜中氧化/硝酸化压力有关,有研究者将血红素氧合酶用于视网膜内皮细胞的研究,血红素氧合酶是一种抗氧化的酶,将这种酶暴露在高糖环境下和硝酸化压力毒性条件下,观察其对视网膜内皮细胞的潜在保护作用,由于视网膜的微血管系统不断的被高浓度的葡萄糖所袭击^[9],这种损害导致了代谢,结构和功能的改变,视网膜线粒体发生改变,DNA 被破坏,编码的蛋白质也相应减少,电子传递链系统受到影响,进一步产生超氧化物,从而产生连续的破坏,这与视网膜内皮细胞的氧化/硝酸化有关,视网膜内皮细胞被暴露在高糖、NO、H₂O₂ 中,细胞的生长和凋亡通过 MTT 实验观察,HO 的活性通过产生胆红素表现出来,实验证明:细胞暴露于这些环境中,增加了其死亡率,血红素氧化酶对暴露于这些条件下的视网膜血管内皮细胞发挥了保护作用。与此相关的研究还有对银杏叶提取物 GBE 的研究,其主要药效成分是黄酮类和内酯类,具有强大的清除自由基,抗氧化作用,研究证实 GBE 具有保护血管内皮细胞的功能^[10]。GBE 能促进高糖条件下视网膜微血管内皮细胞的增殖,抑制其凋亡,增强视网膜微血管内皮细胞在高糖条件下的生存活力,使视网膜微血管内皮细胞的增殖和凋亡处于正常的动态平衡,有利于血管内皮正常生理功能的恢复、稳定;此外也

有学者实验研究证实羟基红花黄色素 A(HSYA)这种传统活血化瘀类中药红花的主要水溶性组分^[11],其不同浓度对高糖培养的恒河猴脉络膜血管内皮细胞(RF/6A)细胞增殖均有不同程度的抑制作用,随时间延长,其抑制作用越明显;有研究者为了观察糖尿病大鼠视网膜 VEGF 的表达及早期血-视网膜屏障的改变^[12],分别行 RT-PCR 及 Western Blot 等实验方法,从 mRNA 及蛋白水平检测健康大鼠及患有糖尿病大鼠视网膜 VEGF 的表达程度,结果显示糖尿病大鼠视网膜血管渗漏较正常大鼠增强,随病程延长,渗漏逐渐增强。

VEGF 参与 DR 时视网膜新生血管形成的各个环节。视网膜内皮细胞和周细胞 VEGF mRNA 表达增加^[13],使细胞内蛋白酪氨酸磷酸化,促进内皮细胞增殖形成新生血管。抑制 VEGF 的产生及其受体的过度表达可以延缓 DR 病变的发生发展,从而找到更有效的防治 DR 的途径;有实验表明^[14],VEGF 在糖尿病大鼠视网膜早期病变组织中起重要的介导作用,并反映了视网膜病变的严重程度;抗血管内皮细胞生长因子的药物在近几年被用于增殖型糖尿病视网膜病变的围手术期^[15],然而,这类药物治疗效果的机制仍然不清楚,有人对此进行了研究,主要研究玻璃体内注射贝伐单抗对 VEGF 和 HIF-1 α 的表达的作用,其方法是将 24 名增殖型糖尿病视网膜病变的患者被分成两组,每组的 12 名患者的 12 只眼睛玻璃体内注射 1.23mg 的贝伐单抗另外的假装注射 6 天在玻璃体切除手术之前。新生血管细胞膜在玻璃体手术的平坦部被收集,在收集的新生血管细胞膜中大量的血管内皮细胞在用苏丹红和伊红染色后被计数,其中 VEGF and HIF-1 α 的表达通过免疫组化学所获得,结果显示注射贝伐单抗的患者中的血管内皮细胞比对照组有所降低,对 VEGF 和 HIF-1 α 的表达起到抑制的作用。此外,玻璃体腔注射血管生成素 -1 能明显减低 VEGF 的表达^[16],减少视网膜新生血管芽的生成,视网膜缺血诱导血管生长因子释放是视网膜增殖性反应的启动因素^[17],而 VEGF 是一种特异性刺激血管内皮细胞增殖及新生血管形成的细胞因子。视网膜血管内皮细胞存在 VEGF 高亲和受体,而且受体数目较其他组织内皮细胞多。这些研究进一步支持在增殖型糖尿病视网膜病变的患者术前应用此类药物。有望成为糖尿病视网膜病变的有效治疗药物。

色素上皮衍生物(PEDF)近年来也被人们广泛的研究^[18],它是一种多功能蛋白,通过大量的实验已经证实 PEDF 可以抑制糖尿病视网膜病变的发展,PEDF 及其片段可以通过病毒载体作用于特定部位,达到治疗的目的,基因治疗也逐渐被人们接受,将会广泛的应用于临床研究中。然而药物筛选和选择最好的方式进入人体仍需要大量的实验研究。

2 小结及展望

根据疾病控制中心统计,糖尿病视网膜病变每年导致 12000 至 24000 人失明^[19],是引起 30 岁以内的糖尿病患者失明的主要因素,严格控制血糖、血压来防治糖尿病已被大量临床实践证实^[20],但绝大多数患者很难达到理想指标,并且对于目标血糖值应定位多少也存在一些争议。大多数患者更因无法做到定期的眼底检查而错过了最佳手术时期,并且手术也只能缓解部分症状却无法使视力改善或恢复到病前水平,更不能完全

阻止疾病发展,国内外许多学者对此进行了深入和广泛的研究,通过对不同环境和不同药物作用于视网膜微血管系统,利用现代先进实验仪器和技术,糖尿病视网膜病变外科手术和药物治疗都取得了很大的进步,相信通过这些辅助的治疗手段我们可以延缓以及治愈这种视网膜疾病。

参考文献(References)

- [1] Bharadwaj AS, Appukuttan B, Wilmarth PA, et al. Role of the retinal vascular endothelial cell in ocular disease [J]. Prog Retin Eye Res, 2013,32:102-180
- [2] Xu Z, Gong J, Maiti D, et al. MEF2C ablation in endothelial cells reduces retinal vessel loss and suppresses pathologic retinal neovascularization in oxygen-induced retinopathy [J]. Am J Pathol, 2012,180(6):2548-2560
- [3] 侯培, 黄敏丽. Sunitinib 对视网膜微血管内皮细胞增殖和迁移的影响[J]. 眼科新进展, 2010,6(30):508-516
Hou Pei, Huang Min-li. Effects of sunitinib on proliferation and migration of retinal microvascular endothelial cells [J]. Rec Adv Ophthalmol, 2010,6(30):508-516
- [4] 黄敏丽, 罗国荣. Tumstatin 肽对视网膜微血管内皮细胞增殖和迁移的影响[J]. 眼科新进展, 2008,28(9):649-652
Huang Min-li, Luo Guo-rong. Effects of Tumstatin peptide on proliferation and migration of retinal microvascular endothelial cells [J]. Rec Adv Ophthalmol, 2008,28(9):649-652
- [5] 马建芳, 杨中汉, 宋志宏, 等. 大剂量葡萄糖可诱导人视网膜内皮细胞凋亡[J]. 中国临床康复, 2004,8(26):5728-5729
Ma Jian-fang, Yang Wen-zhong, Song Zhi-hong, et al. High-dose glucose induced apoptosis of human retinal endothelial cells [J]. Chinese Journal of Clinical Rehabilitation, 2004,8(26):5728-5729
- [6] 许世清, 刘虹麟, 李宓, 等. 糖尿病患者血清对人视网膜内皮细胞凝血纤溶活性和氧化应激的影响[J]. 中日友好医院学报, 2011,25(1):32-36
Xu Shi-qing, Liu Hong-lin, Li Mi, et al. Effect of diabetic serum on coagulation/fibrinolytic activity and oxidative stress of human retinal microvascular endothelial cells [J]. Journal of China-Japan Friendship Hospital, 2011,25(1):32-36
- [7] Zhang W, Yan H. Simvastatin increases circulating endothelial progenitor cells and reduces the formation and progression of diabetic retinopathy in rats [J]. Exp Eye Res, 2012, S0014-4835(12):291-296
- [8] Castilho Á, Aveleira CA, Leal EC, et al. Endothelial cells against high glucose-and oxidative/nitrosative stress-induced toxicity [J]. PLoS One, 2012,7(8):424-428
- [9] Julia M. Santos, Ghulam Mohammad, Qing Zhong, et al. Diabetic Retinopathy, Superoxide Damage and Antioxidants [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2011,12(3): 352-361
- [10] 燕建军, 彭辉灿, 王俞方, 等. 银杏叶提取物对高糖环境下视网膜血管内皮细胞增殖、凋亡的影响 [J]. 国际眼科杂志, 2008,8(12):2417-2420
Yan Jian-jun, Peng Hui-can, Wang Yu-fang, et al. Effects of ginkgo biloba extract on proliferation and apoptosis of human retinal capillary endothelial cells in high glucose environment [J]. International Journal of Ophthalmology, 2008,8(12):2417-2420
- [11] 黄沁园, 黄敏丽, 何纯刚. 羟基红花黄色素 A 对高糖作用下视网膜微血管内皮细胞增殖的影响 [J]. 国际眼科杂志, 2011,11(8):1324-1326
Huang Qin-yuan, Huang Min-li, He Chun-gang. Effects of hydroxysafflor yellow A on high glucose-induced proliferation of retinal capillary endothelial cells [J]. International Journal of Ophthalmology, 2011,11(8):1324-1326
- [12] 李艳, 王杰, 潘斌, 等. 糖尿病大鼠视网膜 VEGF 表达与血-视网膜屏障损伤的实验研究 [J]. 潍坊医学院学报, 2007,29(01):7-10
Li Yan, Wang Jie, Pan Bin, et al. Experimental study on the experiment of retinopathy VEGF and the harm of blood-retinopathy barriers of retinopathy of diabetic rats [J]. Acta Acad Med Weifang, 2007, 29(01):7-10
- [13] 卢德成, 罗佐杰. 糖尿病视网膜病变血管内皮生长因子及其受体表达的研究进展 [J]. 临床荟萃, 2003, 18(10):598-599
Lu Cheng-jie, Luo Zuo-jie. The research of DR's Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors [J]. Clinical Focus, 2003, 18, (10):598-599
- [14] 郑建秋, 郭庆, 腾岩. 糖尿病大鼠视网膜早期病变组织中生长因子作用的实验研究 [J]. 中国实用眼科杂志, 2001,19(7):495-498
Zheng Jian-qiu, Guo Qing, Teng Yan. Experimental study on growth factor in the early phase of retinopathy of diabetic rats [J]. Chinese Journal of Practical Ophthalmology, 2001,19(7):495-498
- [15] Han Xiao-xia, Guo Chang-mei, Li Yue, et al. Effects of bevacizumab on the neovascular membrane of proliferative diabetic retinopathy: reduction of endothelial cells and expressions of VEGF and HIF-1 α [J]. Molecular Vision, 2012,18: 1-9
- [16] 陈桦, 曾莉. Ang-1 治疗大鼠糖尿病视网膜病变的实验研究 [J]. 南昌大学学报, 2010,50(2):7-12
Chen Hua, Zeng Li. The Study of the Treatment for Diabetic Retinopathy in Rats by Ang-1 [J]. Journal of Nanchang University, 2010,50(2):7-12
- [17] 许爱梅, 庄向华. 血管内皮生长因子与糖尿病视网膜病 [J]. 国际内分泌代谢杂志, 2004,24(1):17-19
Xu Ai-mei, Zhuang Xiang-hua. Vascular endothelial growth factor and Diabetic retinopathy [J]. Section Endocrinol Foreign Med Sci January, 2004,24(1):17-19
- [18] Zhu Xiao-feng, Zou Hai-dong. PEDF in Diabetic Retinopathy: A Protective Effect of Oxidative Stress [J]. Journal of Biomedicine Biotechnol, 2012,10(1155):8-10
- [19] Julia M, Santos. Ghulam Mohammad Diabetic Retinopathy, Superoxide Damage and Antioxidants [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2011,12(3): 352-361
- [20] 谢晚晴, 仝小林. 防治糖尿病视网膜病变新进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2012,14(3):32-34
Xie Wan-qing, Tong Xiao-lin. Advances in the Prevention and Treatment of Diabetic Retinopathy [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, 2012,14(3):32-34