

色素上皮衍生因子在糖尿病血管并发症中的潜在治疗作用

盛 霞 黄国良

糖尿病血管并发症 (diabetic vascular complications, DVC) 是糖尿病致残和高致死率的重要原因。临床研究表明严格控制糖尿病患者血糖和血压能够降低糖尿病血管并发症 (DVC) 发生的风险。由于各种原因,临床上很难做到血糖和血压的严格控制,目前临床上对 DVC 的防治仍不理想。70% 的 2 型糖尿病患者死于心血管疾病,且糖尿病致终末期肾病与继发性失明的患者数目仍在不断增加。因此,进一步探索和寻找新的针对 DVC 的防治策略是极其必要的。

色素上皮衍生因子 (pigment epithelium - derived factor, PEDF) 最初是在视网膜色素上皮细胞中发现的,一种属于丝氨酸蛋白酶抑制剂超基因家族但无抑制蛋白水解酶活性的糖蛋白,可以诱导视网膜母细胞瘤细胞 Y2 - 79 向成熟的神经元分化。胎儿和年轻人的视网膜色素上皮有较高水平 PEDF 基因表达,而衰老的细胞 PEDF 表达下调。随着对 PEDF 的深入认识,发现 PEDF 在糖尿病视网膜病、糖尿病肾病、糖尿病心血管疾病均起着有益的作用,可能成为防治 DVC 的新策略。本文就 PEDF 在 DVC 中的潜在治疗作用及研究进展做一综述。

一、PEDF 对糖尿病视网膜病 (DR) 的保护作用

1. PEDF 对视网膜细胞的保护作用:视网膜微血管主要由外膜细胞 (pericytes) 和内皮细胞 (endothelial cells, EC) 组成。DR 早期病理组织学标志是外膜细胞的缺失,EC 的过度增殖,与之伴随的基膜增厚,血管通透性增高,和微动脉瘤的形成。外膜细胞不仅抑制 EC 的过度生长,也能够保持前列环素的产生和保护过氧化氢所致 EC 的损伤。

氧化应激被认为与 DR 早期外膜细胞的丢失和功能障碍,及 EC 的损伤密切相关。最近研究证明 PEDF 能够增加抗氧化物质如超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽 (GSH),减少活性氧簇 (ROS) 的产

生,抑制血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor - VEGF) 的表达,抑制高糖介导视网膜 EC 增生和损伤,抑制 caspase - 3 的活化,抑制晚期糖基化终产物 (AGEs) 介导的外膜细胞凋亡和功能障碍^[1,2]。研究提示 PEDF 通过抗氧化应激作用,抗外膜细胞损伤、抑制 EC 增生,对早期 DR 起着保护作用。

2. 抗血管生成和调节血管通透性:视网膜血管增生和血管高通透性在许多危害视力的疾病如 DR 的发病中起着重要的作用。既往研究表明糖尿病视网膜病变,老年人的房水和脉络膜,及视网膜血管生成病变中 PEDF 表达减少,VEGF 高表达。VEGF 是体内重要促血管生成和调节血管通透性的因子。最近 Cai 等^[3,4]研究发现, PEDF 通过调节膜内蛋白水解和抑制 VEGFR - 1 磷酸化作用,有效抑制 VEGF 诱导的新生血管生成和血管高通透性。

Gehlbach 等^[5]研究发现在玻璃体内注入腺病毒载体编码的 PEDF (Ad - PEDF) 可显著上调体内 PEDF 水平,抑制视网膜和脉络膜的血管再生。另外, Park 等^[6]最新研究证明,伴氧诱导的视网膜病变 (OIR) 的 PEDF 转基因 (PEDF - Tg) 鼠中,视网膜血管生成密度显著低于未转基因组, PEDF - Tg 能够抑制激光诱导的脉络膜血管生成,降低血管高通透,抑制促血管生成因子和炎症因子如 VEGF、转化生长因子 - β (TGF - β)、肿瘤坏死因子 - α (TNF - α) 的表达,在正常 PEDF - Tg 鼠中未发现任何视网膜组织学或视力功能异常。

3. 抗氧化应激和抗炎反应:炎症反应在 DR 起着十分重要的作用。体外实验证明, PEDF 通过阻断 AGEs 介导的细胞内 NADPH 氧化酶活性,下调 p22PHOX 和 gp91PHOX mRNA 水平,减少活性氧簇 (ROS) 的生成及下游的 VEGF、单核细胞趋化蛋白 - 1 (MCP - 1)、细胞黏附因子 - 1 (ICAM - 1) 的高表达,起到保护内皮细胞、降低血管通透性和抗炎反应的作用^[7]。NF - κ B 是介导炎症反应的一个关键性的因子,近年研究发现 PEDF 通过抑制晚期糖基化

作者单位:350001 福州,福建医科大学协和临床医学院 (盛霞);
福建医科大学附属协和医院内分泌科 (黄国良)

通讯作者:黄国良,教授,电子信箱:hglendo@163.com

终产物受体(RAGE)在大鼠眼内的表达,阻断 AGE - RAGE 介导的 NF - κ B 的活化,抑制视网膜炎症反应^[8]。在糖尿病大鼠或氧诱导的视网膜病变中也证实了, PEDF 降低视网膜血管高通透性的作用与其抑制炎症反应相关^[9]。以上研究均提示 PEDF 的降低与 DR 密切相关, PEDF 是一种高效的, 抗炎因子和血管生成抑制因子。

二、PEDF 对 DN 保护作用

1. 抗血管生成和调节血管通透性: 肾毛细血管通透性增加, 出现微量尿蛋白, 是 DM 早期肾脏损伤的重要标志。近年研究发现正常状态下 PEDF 在肾脏的表达高于视网膜, 主要表达于肾小球系膜和基膜, 而链尿毒素(STZ -)诱导的 DM 大鼠 2 周、4 周、6 个月及非糖尿病对照组肾组织的表达, 结果发现糖尿病后两周 PEDF 的表达显著下调, 提示 PEDF 的表达下降在 DN 早期就已存在^[10]。而给予腺病毒载体编码的 Ad - PEDF 有效降低血管通透性, 减少 DM 鼠 24 尿白蛋白水平^[11]。以上研究提示 PEDF 在肾组织的降低与 DN 早期通透性增加相关, PEDF 可能通过抑制 VEGF 的作用、或直接抑制血管内皮细胞的移行, 抗新生血管生成和降低血管通透性, 维持肾脏内环境的稳定, 对 DN 起着保护作用。

2. 抗纤维化和抗 ECM 积聚: 糖尿病肾病(DN)主要病理特征为肾小球系膜细胞(RMC)增生肥大, 系膜外基质(ECM)沉积和基膜增厚等导致肾小球纤维化。TGF - β 、CTGF、VEGF 被认为是重要的促纤维因子, 在肾小球纤维化中发挥了重要作用。各种系膜外基质胶原蛋白(CO II、CO III、CO IV)和纤维连接蛋白(FN)在系膜外沉积及降解减少, 是导致 ECM 积聚的重要原因。基质金属蛋白酶-2(MMP-2)是降解 ECM 的重要蛋白酶。在正常肾组织, MMP-2 在肾小球系膜细胞和上皮细胞中有很高的表达, 而在高糖条件下, MMP-2 的表达和活性明显减少, 从而引起 ECM 降解减少和肾小球系膜增厚。研究发现给予 Ad - PEDF 干预或外源性 PEDF 蛋白可上调 PEDF 在 DM 大鼠肾组织和高糖诱导的 RMC 水平, 下调 CTGF、TGF - β 、VEGF、FN 的表达, MMP-2 恢复到正常水平, 最近国内研究也证明 PEDF 能够抑制高糖介导的 HMC 纤维因子的高表达^[12,13]。研究表明 PEDF 是一种有力的 ECM 产生的抑制剂, 降低 CTGF、TGF - β 、FN 和 VEGF 的过量表达, 从而缓解这些病理因子导致的纤维化。

3. 抗炎反应、抗氧化应激: 越来越多的研究表明炎症因子在 DN 发病中起着重要的作用。腺病毒介导的 PEDF(Ad - PEDF)转染大鼠的干预研究证实

PEDF 抑制 NF - κ B 活化和 VEGF 表达的激动因子 HIF - 1 的激活, 抑制了促炎性因子如 TNF - α 、ICAM - 1、MCP - 1、VEGF 在肾脏组织的过表达^[14]。最近 Ide 等^[14]研究发现, 给予外源性 PEDF 重组蛋白通过抑制细胞内 ROS 的产生, 完全阻滞 AGEs 诱导的 NF - κ B 的活化, 从而抑制 AGEs 对系膜细胞的损伤, 下调 ECM 基质蛋白 FN、COIIV 和炎症因子 ICAM - 1、MCP - 1、TNF - α 、VEGF 的表达。提示 PEDF 是内源性的抗炎性因子, 通过抑制氧化应激作用抑制肾脏纤维因子和炎症因子的表达。

另外, Maeda 等^[15]研究发现, PEDF 通过抑制肾小管上皮细胞 RAGE 的表达, 显著抑制 ROS 的产生, 抑制 NF - κ B 的活性, 下调 MCP - 1、COIIV、TGF - β_1 的过表达。研究表明 AGEs 通过与细胞表面糖基化终产物受体(RAGE)结合激活一系列细胞信号途径, 如氧化应激、P38MAPK 磷酸化等, 促进糖尿病血管并发症的发生^[17]。因此进一步深入研究 PEDF 对 AGE - RAGE 轴的抑制及其作用机制是非常有意义的, 有望成为防治 DN 及其他糖尿病血管并发症的重要途径。

三、PEDF 的神经营养和保护作用

既往大量研究表明, PEDF 是一种特有的神经营养和保护作用因子, 对中枢及周围神经细胞都有着重要的保护及营养作用。PEDF 在培养的小脑颗粒细胞、海马神经元、脊髓运动神经元, 包括缺乏视网膜上皮细胞的两栖类感光器中被证明具有神经营养和神经保护作用。但目前尚未见 PEDF 在糖尿病神经病变中的作用的研究报道。

四、PEDF 抗血栓形成作用

大多数糖尿病患者死于心脑血管动脉粥样硬化。血小板功能的改变导致微血栓形成, 促动脉粥样硬化, 致糖尿病心脑血管病的发生。大量研究表明氧化应激与血小板的活化和聚集密切相关。最近研究表明 Ad - PEDF 通过阻断 STZ - 或 AGEs 介导的糖尿病大鼠体内 NADPH 氧化酶活性, 抑制 ROS 的产生, 抑制血小板性选择蛋白、血小板的激活和聚集, 抗体内血栓形成^[18]。Ueda 等^[18]研究发现在急性左室梗塞(AMI)大鼠模型中梗塞部位的 PEDF 表达下调, 而未梗塞部位 PEDF 表达显著升高, 给予 PEDF 后能够抑制未梗塞部位氧化应激, 抑制心肌纤维化, 抑制细胞死亡作用, 抑制心室重构和改善心脏功能。研究发现 PEDF 通过抗氧化活性, 抑制血小板源性生长因子(PDGF)介导的平滑肌细胞的增殖和迁移, 及血管损伤后新内膜的形成, 可能成为球囊扩张术后再狭窄的治疗策略。以上研究结果提示 PEDF 抗动脉血栓形

成与其抗氧化性能相关,并有望成为糖尿病心血管疾病一种新的防治。

六、展 望

综上所述, PEDF 是一种内源性抑制因子,使用有效量最低,具有抗氧化应激、抗血管生成、抗纤维化、抗炎症、抗血栓形成及神经营养和保护等综合特性的糖蛋白,给予外源性 PEDF 来补充内源性 PEDF 的不足有望成为 DVC 新的治疗方向。许多研究表明 PEDF 的抗血管生成作用,在抑制肿瘤新生血管中也起着重要的作用。PEDF 在糖尿病神经病变、糖尿病相关或胰岛素相关性肿瘤方面的防治尚未见相关报道。对 PEDF 及其诱导剂在治疗糖尿病慢性并发症方面的研究具有非常广阔的应用前景。

运用 PEDF 的腺病毒载体或腺相关病毒载体注入肾脏局部进行基因转导,能避免反复注射和全身的不良反应。PEDF 真正用于临床还需要进一步探讨。目前,对于 PEDF 的研究大部分基于体外和动物实验,其给药剂量和不良反应有待进一步研究,以便今后推广至临床。PEDF 将为临床防治糖尿病血管并发症开拓一条新途径。

参考文献

- Banumathi E, Sheikpranbabu S, Haribalaganesh R, *et al.* PEDF prevents reactive oxygen species generation and retinal endothelial cell damage at high glucose levels[J]. *Experimental Eye Research*, 2010, 90: 89 - 96
- Sheikpranbabu S. Pigment epithelium - derived factor inhibits advanced glycation end - products - induced cytotoxicity in retinal pericytes[J]. *Diabetes Metab*, 2011, 3: 6
- Cai J, Jiang WG, Grant MB, *et al.* Pigment epithelium - derived factor inhibits angiogenesis via regulated intracellular proteolysis of vascular endothelial growth factor receptor 1 [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281: 3604 - 3613
- Cai J, Wu L, Qi X, *et al.* PEDF regulates vascular permeability by a fl - secretase - mediated pathway [J]. *PLoS ONE*, 2011, 6 (6): e21164
- Gehlbach P, Demetridaes AM, Yamamoto S, *et al.* Periocular injection of an adenoviral vector encoding pigment epithelium - derived factor inhibits choroidal neovascularization [J]. *Nature Publishing Group*, 2003, 10: 637 - 646
- Park K, Jin J, Hu Y, *et al.* Overexpression of pigment epithelium - derived factor inhibits retinal inflammation and neovascularization [J]. *Am J Pathology*, 2011, 178 (2): 688 - 698
- Yamashi S, Nakamura K, Matsui T, *et al.* Pigment epithelium - derived factor inhibits advanced glycation end product - induced retinal vascular hyperpermeability by blocking reactive oxygen species - mediated vascular endothelial growth factor expression [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281 (29): 20213 - 20220
- Yamashi S, Matsui T, Nakamura K, *et al.* Pigment epithelium - derived factor suppresses expression of receptor for advanced glycation end product in the eye of diabetic rats [J]. *Ophthalmic Res*, 2007, 39: 92 - 97
- Zhang SX, Wang JJ, Gao G. Pigment epithelium - derived factor (PEDF) is a endogenous antiinflammatory factor [J]. *FASEB J*, 2006, 20: 323 - 325
- Wang JJ, Zhang SX, Lu K, *et al.* Decreased expression of pigment epithelium - derived factor is involved in the pathogenesis of diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*, 2005, 54: 243 - 250
- Wang JJ, Zhang SX, Mort R, *et al.* Salutary effect of pigment epithelium - derived factor in diabetic nephropathy: evidence for antifibrogenic activities [J]. *Diabetes*, 2006, 55: 1678 - 1685
- 毛拓华, 李竞, 李荟芹. 色素上皮衍生因子抑制高糖诱导的人肾小球系膜细胞转化生长因子 $\beta 1$ 、纤连蛋白和 IV 型胶原的表达 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2011, 27: 70 - 71
- Wang JJ, Zhang SX, Mott R, *et al.* Anti - inflammatory effects of pigment epithelium - derived factor in diabetic nephropathy [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 294: F1166 - F1173
- Ide Y, Matsui T, Ishibashi Y, *et al.* Pigment epithelium - derived factor inhibits advanced glycation end product - elicited mesangial cell damage by blocking NF - κ B activation [J]. *Microvascular Research*, 2010, 80: 227 - 232
- Maeda S, Matsui T, Takeuchi M, *et al.* Pigment epithelium - derived factor (PEDF) inhibits proximal tubular cell injury in early diabetic nephropathy by suppressing advanced glycation end products (AGEs) - receptor (RAGE) axis [J]. *Pharmacol Res*, 2010, 11: 1 - 8
- Yamagishi S. Role of advanced glycation end products (AGEs) and receptor for AGEs (RAGE) in vascular damage in diabetes [J]. *Experimental Gerontology*, 2011, 46: 217 - 224
- Yamagishi S, Matsui T, Takenaka K, *et al.* Pigment epithelium - derived factor (PEDF) prevents platelet activation and aggregation in diabetic rats by blocking deleterious effects of advanced glycation end products (AGEs) [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2009, 25: 266 - 271
- Ueda S, Yamagishi S, Matsui T, *et al.* Administration of pigment epithelium - derived factor inhibits left ventricular remodeling and improves cardiac function in rats with acute myocardial infarction [J]. *Am J Pathol*, 2011, 178 (2): 591 - 598
- Nakamura K, Yamagishi S, Matsui T, *et al.* Pigment epithelium - derived factor inhibits neointimal hyperplasia after vascular injury by blocking NADPH oxidase - mediated reactive oxygen species generation [J]. *Am J Pathol*, 2007, 170 (6): 2159 - 2170

(收稿: 2011 - 09 - 08)

(修回: 2011 - 10 - 14)