

血管内皮生长因子、转化生长因子- β 1 与早产儿视网膜病变的研究进展

付立成 徐国兴

摘要 早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP)是一种发生于低体重早产儿的视网膜血管性疾病,主要是由于早产儿出生时视网膜发育仍不完善,在多种因素影响下,视网膜形成新生血管,这种新生血管易向玻璃体内增殖,并牵拉视网膜引起视网膜脱离,是导致婴幼儿视力损伤和失明的重要原因之一。近年来,多种因子共同作用促进早产儿视网膜新生血管形成已成共识。其中血管内皮生长因子和转化生长因子- β 1 成为研究热点,本文就早产儿视网膜病变与血管内皮生长因子和转化生长因子- β 1 的最新研究进行综述。

关键词 早产儿视网膜病变 血管内皮生长因子 转化生长因子- β 1

[中图分类号] R774 [文献标识码] A

早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP)是一种增殖性视网膜病变,视网膜血管发育不全和病理性新生血管的形成是导致早产儿视网膜病变的主要病理因素。大量的实验和临床表明,早产、低出生体重、吸氧、局部缺血、围生期感染等都可以导致发育不成熟的视网膜新生血管的形成,在局部缺血和缺氧的微环境下,会表达多种病理因子。了解和确定相关的因子对认识新生血管形成的病理机制和探索新的治疗药物和方法提供理论依据。

一、血管内皮生长因子

1. 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的来源:VEGF 是一种具有自分泌和旁分泌功能的内皮细胞特异有丝分裂原,1989 年 Ferrara 等最早从牛垂体滤泡星型细胞体外培养液中分离纯化出来。1991 年 Tischer 等首先报道了人 VEGF 的基因结构,其基因家族有 5 个成员,VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D 及胎盘生长因子,其中 VEGF-A 活性最强,其与血管生成和血管闭锁中的新生血管化和血管渗漏密切相关^[1]。VEGF 基因转录的 mRNA 以多种剪切方式形成的异构体包括 VEGF121、VEGF145、VEGF165、VEGF189 和 VEGF206 5 个亚型,通过与内皮细胞上

酪氨酸激酶家族的 VEGFR-1 和 VEGFR-2 相结合发挥生物效应^[2]。VEGF 可在很多正常人体组织中表达,但在眼部的视网膜周细胞、色素上皮细胞、内皮细胞以及神经节细胞、无长突细胞和 Muller 细胞表达 VEGF 的水平较低。

2. VEGF 与 ROP 形成的机制:在共同影响 ROP 发展的诸多因子中,VEGF 是促进血管发育和新生血管形成的最重要物质,VEGF 起着关键作用^[3]。尽管在 ROP 患者血浆里,病理性促血管生长因子还未完全确定,但在 ROP 进展中,VEGF 的水平不断升高。Pieh 等^[2]发现不但在患者血中,VEGF-A、sTie2 和 sVEGFR-1 和 sVEGFR-2 都有较高的表达,在 ROP 动物模型中 VEGF-A、VEGFR-2 和 Tie2 也有表达,且 VEGF-A 表达越多,ROP 的高发生率、病理性新生血管越多。同时其表达还受支气管和肺脏的发育不良和过度氧疗的导致局部相对缺氧的影响。黎晓新^[1]认为早产儿视网膜病变的发病机制是 VEGF 高表达的结果。视网膜 VEGF 的表达受氧的调节,在 ROP 的第一阶段,胎儿在相对缺氧的子宫内,生理水平的 VEGF 影响视网膜血管的形成,出生后在较高的氧环境下,抑制 VEGF 的表达,中止血管形成。在 ROP 的第二阶段,视网膜有无血管交界区出现相对缺氧,增加 VEGF 的表达^[4],诱导新生血管形成和增生性视网膜病变,由于新生血管管壁薄,仅仅有内皮细胞构成,且内皮细胞之间紧密连接形成不良和病理性新生血管的紧密连接蛋白 Occludin 和 Claudin-5 分布异常,易发生视网膜新生血管出血渗漏等,最终

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81271026);福建省创新平台基金资助项目(2010Y2003)

作者单位:350001 福州,福建医科大学附属第一医院、福建省眼科研究所

通讯作者:徐国兴,电子信箱:fjmuxgx@163.com

导致失明^[4,5]。有研究表明,VEGF 具有遗传多态性,VEGF - A +405 和 VEGF - A936 基因位点与 ROP 的发生发展密切相关,VEGF - A +405 和 VEGF - A936 基因多态性差异可能是 ROP 病情发展及影响其预后的高危因素^[6]。

3. VEGF 在 ROP 中的表达及调控:在 ROP 中,病理性新生血管的形成和 VEGF 的表达受到多方面的影响,其中新生血管主要受到以 VEGF 为主的血管生成刺激因子和以 PEDF 为主的血管生成抑制因子的平衡来调节的,当平衡异常,新生血管就会生长。色素上皮细胞衍生因子(PEDF)是视网膜色素上皮分泌的蛋白因子,存在于眼组织新生血管中,与视网膜的生长、发育、成熟和新生血管的形成和进展密不可分,PEDF 浓度的升高,VEGF 的表达受到抑制,其诱导的视网膜内皮细胞生长和游走以及视网膜的新生血管形成生物学效能降低。PEDF 还能阻止 VEGF 在 T 细胞中的表达,使 Ang II 介导的活性氧簇在 MOLT23 T 细胞中的产生能够显著的提高 VEGF 的水平,而 H₂O₂ 能够上调 VEGF mRNA 在 MOLT - 3 细胞中的水平并有一定的剂量依赖性。

Ma 等^[7]发现缺氧诱导因子 - 1 α (HIF - 1 α) 与 VEGF 关系密切,VEGF 5'增强子存在着 HIF - 1 α 的结合位点,在缺氧的环境下,HIF - 1 α 和 VEGF 的表达都有上调,HIF - 1 α 和 VEGF 5'增加 VEGF 的转运和表达,有动物研究表明,雌二醇(E₂)也可以增加 VEGF 的 DNA 表达。Miyamoto 等^[8]发现 E₂ 可以通过缺氧下的 HIF - 1 α 减少 VEGF 的 mRNA 的表达,而在常氧条件下,可以增加 mRNA 的表达和 VEGF 蛋白水平。其可能原因为相对缺氧的条件下,E₂ 直接抑制和减少 HIF - 1 α 的 mRNA 表达,进而抑制 VEGF 的表达,同时 E₂ 还可以减少 HIF - 1 α 和 VEGF 低氧反应元件结合^[12]。而 Bcl - 2 的表达也与 VEGF 表达的增加有密切关系,Bcl - 2 可以通过调节内皮细胞和增加病理因子的生成影响新生血管的生成,并且 Bcl - 2 和 VEGFs 功能相互依赖相互影响^[9]。有研究表明,在基因敲除的小鼠缺乏胰岛素生长因子 - I (IGF - I) 时,即使有 VEGF 存在,正常视网膜血管也难以生长发育和形成,只有 IGF - I 存在时,在血管内皮增殖和存活途径中,VEGF 才能发挥最大作用,生理学和病理性新生血管可以生长,可见 IGF - I 是影响 VEGF 功能的重要因素,源于丝裂原活化蛋白激酶家族的 JUN 激酶可以诱导 VEGF 的产生,而注射 JUN 激酶抑制剂可减少视网膜 VEGF 的表达进

而减少视网膜病理性新生血管的形成^[10]。

4. VEGF 与 ROP 的治疗:近年来,ROP 的治疗取得了突破性进展。由于 VEGF 的高表达,病理性新生血管的形成,因此降低血 VEGF 水平为治疗 ROP 最直接最根本的方法,目前多常规使用贝伐单抗和玻璃体内注射较小剂量雷珠单抗,贝伐单抗作为重组人完全抗体,可结合 VEGF - A,能有效地抑制 VEGF 的生物活性,广泛的用于治疗病理性新生血管性疾病(年龄相关性黄斑变性,糖尿病视网膜病变,早产儿视网膜病变,视网膜静脉阻塞性疾病等),其治疗 ROP 的最佳适应证是 3 期病变,而 Csak 等^[11]认为其 ROP 在 4、5 期效果比雷珠单抗效果更好。但 McCloskey 等^[12]认为,抑制 VEGF 的表达虽然能改善成年人视网膜脉络膜新生血管性疾病,但在早产儿视网膜病变中却可以导致玻璃体新生血管的反复出现,视网膜无血管区的形成和视网膜脱离,通过延长 E₂ 的使用,可以减少 HIF - 1 α 和 VEGF 的 mRNA 的表达来抑制视网膜新生血管化。VEGF Trap 可以抑制新生血管的形成,VEGF Trap 阻碍 VEGF - A 的形成,选择性抑制病理性新生血管的生长和形成,但是高剂量或长时间的应用会抑制视网膜正常血管发育和生长。尽管抗 VEGF 治疗存在争议,但国外也有研究表明关于 ROP 采用抗 VEGF(贝伐单抗或雷珠单抗)治疗同时行激光治疗术或激光治疗术后进行抗 VEGF 的治疗。

二、转化生长因子 - β 1

由于 ROP 是发生在未成熟或低体重出生儿的增生性视网膜病变,除了病理性新生血管的形成外,ROP 后期视网膜呈增生性改变不可忽视,临床 ROP 病程中在视网膜缺血区和非缺血区分界线处,常有纤维性血管增殖,由于增殖具有不可逆性,易进入瘢痕期并诱发牵拉性视网膜脱离而严重影响视力^[13]。转化生长因子 - β 1 (transforming growth factors - β 1, TGF - β 1) 是目前已知与纤维增殖关系最密切的细胞因子之一,能促进成纤维细胞增殖分化,胶原成分和基质金属蛋白酶抑制剂的合成,与 ROP 的增殖性病变密不可分^[14]。

1. 转化生长因子 - β 1 来源:转化生长因子 - β 是许多具有共同生物学特性的信号分子组成的大家族,称为 TGF - β 超家族(transforming growth factor - β superfamily),是 1978 年由 Delaro 等首先从小鼠肉瘤病毒转化的常大鼠肾成纤维细胞的培养液中发现,1985 年 TGF - β 的基因克隆成功,并在大肠杆菌内得到表达。在哺乳动物至少发现有 TGF - β 1、TGF -

$\beta 2$ 、TGF- $\beta 3$ 、TGF- $\beta 1\beta 2$ 4 个亚型。TGF- $\beta 1$ 基因定位于染色体 19q3, 含有 7 个外显子, 人和小鼠 TGF- $\beta 1$ 的同源性高达 99%, 表明在不同种属中 TGF- β 都具有重要的生物学功能。通过对人 TGF- $\beta 1$ 基因调控区进行了研究, 发现该基因 5' 端序列包含 5 个明显的调控区: 1 个类增强子 (enhancer-like) 活性区, 2 个负调控区和 2 个启动子区。TGF- $\beta 1$ 主要通过与其相应受体结合发挥其生物学效应, TGF- $\beta 1$ 及其受体在人眼角膜、睫状体上皮、晶状体上皮、视网膜和血管均有不同程度的表达^[15]。

TGF- $\beta 1$ 能促进成纤维细胞合成胶原蛋白、纤维黏蛋白及蛋白多糖等细胞外基质, 同时促进细胞外基质蛋白特异性表面膜受体的表达。TGF- $\beta 1$ 还可诱导蛋白水解酶对细胞外基质的降解。因此, TGF- $\beta 1$ 在炎症、组织损伤的修复及胚胎发育中有重要作用。但是, TGF- $\beta 1$ 的过度表达以及靶细胞对其敏感度增加, 亦是某些纤维增生性疾病发病的重要机制之一。在大多数情况下, TGF- $\beta 1$ 对细胞增殖发挥作用的同时伴有对细胞分化发生的作用, 也包括促进和抑制两个方面。TGF- $\beta 1$ 可直接诱导细胞分化, 还可以通过阻止细胞的进一步增殖而起到稳定分化的作用, 相反, TGF- $\beta 1$ 通过抑制细胞的进一步分化来实现抗增殖的结果, 如 B 淋巴细胞在 TGF- $\beta 1$ 的作用下, 不能分化为成熟的浆细胞, 细胞的增殖作用受到抑制, 但有时, TGF- $\beta 1$ 对细胞产生分化作用的同时, 对细胞增殖无影响。对于一些间充质细胞如成纤维细胞及成骨细胞, TGF- $\beta 1$ 促进其增殖反应。TGF- $\beta 1$ 对大多数间充质细胞的促进增殖作用取决于细胞类型、培养条件及其他一系列生长因子的功能。如血小板衍化生长因子 (PDGF) 存在时, TGF- $\beta 1$ 刺激 myc 基因转染成纤维细胞在软琼脂中的生长, 而当表皮生长因子 (EGF) 存在时, 则抑制其生长。

2. TGF- $\beta 1$ 与 ROP 的关系: TGF- $\beta 1$ 作为一种多功能细胞因子, 控制细胞生长、分化和细胞外基质沉积, 主要参与纤维化, 激活成纤维细胞, 并能加速创伤愈合, 但其过度表达会导致组织器官纤维化。TGF- $\beta 1$ 的生物效应受其微环境的影响, 如果在适当和效应细胞存在的条件下, 可以参与血管形成。在 ROP 的相对低氧期及其后, 即增殖期及增殖后期, 从高氧环境撤退后。从脉络膜弥散来的氧减少及视网膜血管闭合, 使其内层视网膜处于低氧状态, 引起血管生成因子大量释放, 后者刺激内层视网膜血管异常过度生长, 并侵入玻璃体, 使玻璃体内纤维化膜形成,

引起反应性视网膜牵拉, 造成 ROP 的临床表现的决定因子, 此阶段 VEGF 不再是 ROP 形成的关键因子, 而主要参与纤维化增殖的 TGF- $\beta 1$ 可能为此期的重要因子^[16]。其可能原因包括: ①由于此期的血管成增殖状态, 新生血管容易渗漏, 侵入玻璃体和视网膜组织的血小板及单核细胞可引起转化生长因子- $\beta 1$ 释放, 刺激 Muller 细胞及纤维母细胞产生 VEGF 及细胞外基质, 趋化诱导吞噬细胞释放 VEGF, 间接促进新生血管的形成; ②缺氧增加 TGF- $\beta 1$ 活性, 促进纤维因子和胶原在视网膜的沉着; ③TGF- $\beta 1$ 和低氧协同诱导 VEGF 启动子活性, 在转录水平促进人类 VEGF mRNA 表达, 促进血管生成。高氧饲养环境中的新生鼠视网膜周边部血管有 TGF- $\beta 1$ 的表达, 表明 TGF- $\beta 1$ 的高表达及其促纤维化作用可能是 ROP 向瘢痕化, 纤维增殖化发展的关键因素。并且随着吸入氧的浓度波动增加, TGF- $\beta 1$ 的表达也增加。

随着对 ROP 的基础与临床研究的不断深入, 人们对 ROP 的危险因素, 发病机制和最新治疗技术的认识不断增加。ROP 的形成不仅与低出生体重、早产、氧气疗法、多胎、脓毒症 (败血症)、糖皮质激素治疗、呼吸暂停、肺表面活性剂、血红素的应用、全身炎症反应等有关, 还与许多病理因子如 VEGF、IGF-1、HIF、NO、PEDF、MMPs、Ang、PDGF、EPO、E₂、hFGF 等密切相关。ROP 的视网膜新生血管的形成涉及眼内及全身多种细胞和细胞因子之间错综复杂的相互调节, 但各因子在 ROP 中具体机制尚不清楚, 众多因子之间的关系和相互作用如何? 各因子在 ROP 病程中的表达及调控如何? 调控各因子的表达 ROP 的治疗是否有效? 还需要进行大量深入的研究, 揭示 ROP 中视网膜新生血管形成和纤维增殖的机制, 为寻找有效的治疗方法提供理论依据和防治途径。

参考文献

- 黎晓新. 眼内抗血管生成药物临床应用的利与弊[J]. 中华眼科杂志, 2012, 10(48): 870-873
- Pieh C, Agostini H, Buschbeck C, *et al.* VEGF-A, VEGFR-1, VEGFR-2, and Tie2 levels in plasma of premature infants: relationship to retinopathy of prematurity[J]. Br J Ophthalmol, 2008, 92: 689-693
- Dieudonne SC, La Heij EC, Diederens RM, *et al.* Balance of vascular endothelial growth factor and pigment epithelial growth factor prior to development of proliferative vitreoretinopathy[J]. Ophthalmic Res, 2007, 39: 148-154
- Chen J, Smith L. Retinopathy of prematurity [J]. Angiogenesis, 2007, 10: 133-140

(下转第 172 页)

他部位的感染、外科手术等导致的全身炎症反应也影响 ApoE 水平。此外,患者的免疫功能状态也是影响 ApoE 的一个重要因素^[7]。因此,采用 ApoE 判断皮肤炎时需要考虑其他影响因素,需结合患者的临床特点进行综合判断。疾病严重程度的评估以及预后的预测有助于医生及患者家属客观的认识患者的病情。有研究发现肿瘤患者 ApoE 水平显著高于正常对照组,且随病情加重而上升,提示 ApoE 可能是一种瘤性介质,其变化趋势能反映病情转归^[5]。但探讨 ApoE 水平与皮肤炎疾病严重程度及预后相关性的研究不多。

本研究结果显示,皮肤炎伴肿瘤组治疗后未好转组血清 ApoE 水平持续维持在较高水平,而好转组出现下降。皮肤炎组也有相似的变化。这也表明动态观察 ApoE 水平可以帮助判断皮肤炎患者的病情及预测患者预后。对于皮肤炎患者,如 ApoE 水平持续不下降或进行性增高,则提示病情未趋于控制或有新的感染发生,治疗效果差,需要调整治疗方案。反之,如果 ApoE 水平进行性下降,则提示病情逐步好转,治疗有效。

ApoE 在一定程度上可以判断皮肤炎严重程度以及患者的预后。然而,由于影响患者 ApoE 的因素较多,ApoE 变化及病情转归是个动态的过程,因此,单一 ApoE 检测并不能有效预测预后,而动态的观察 ApoE 的变化,并结合临床其他生物指标和临床信息

将有助于皮肤炎患者的诊断和治疗。

参考文献

- Ghazi E, Sontheimer RD, Werth VP. The importance of including amyopathic dermatomyositis in the idiopathic inflammatory myositis spectrum[J]. Clin Exp Rheumatol, 2013, 31(1):128-134
- Vitek MP, Brown CM, Colton CA. APOE genotype - specific differences in the innate immune response[J]. Neurobiol Aging, 2009, 30(9):1350-1360
- 付盼,王传清,王爱敏,等. 血清载脂蛋白 E 在儿童感染性疾病中的变化[J]. 中华传染病杂志, 2012, 30(4):221-225
- 刘玉华. 血清病毒特异性 IgM 抗体检测对小儿病毒感染性疾病早期诊断的临床意义[J]. 中国临床医生, 2012, 47(10):18
- Chen J, Wu W, Zhen C, *et al.* Expression and clinical significance of complement C3, complement C4b1 and apolipoprotein E in pancreatic cancer[J]. Oncol Lett, 2013, 6(1):43-48
- 何兆春. 范永升治疗皮肤炎经验摘要[J]. 浙江中西医结合杂志, 2009, 19(9):530-531
- 杨澜波,舒晓明,彭清林,等. 血清抗转录中介因子 1- γ 抗体在多发性肌炎/皮肤炎合并肿瘤诊断中的价值[J]. 中华风湿病学杂志, 2013, 17(1):10-15
- Chuang K, Elford EL, Tseng J, *et al.* An expanding role for apolipoprotein E in sepsis and inflammation[J]. Am J Surg, 2010, 200(3):391-397
- Li L, Thompson PA, Kitchens RL. Infection induces a positive acute phase apolipoprotein E response from a negative acute phase gene: role of hepatic LDL receptors[J]. J Lipid Res, 2008, 49(8):1782-1793
(收稿日期:2013-10-28)
(修回日期:2013-11-20)
- (上接第 175 页)
- Raleigh DR, Boe DM, Yu D, *et al.* Occludin S408 phosphorylation regulates tight junction protein interactions and barrier function[J]. J Cell Bi, 2011, 193:565-582
- 王平,叶志纯,高喜容,等. 早产儿视网膜病变易感性与血管内皮生长因子 - A + 405 和 - A9 3 6 基因多态性的相关性[J]. 中华眼底病杂志, 2011, 27(5):423-426
- Ma XH, Bi HS, Qu Y, *et al.* The contrasting effect of estrogen on mR-NA expression of VEGF in bovine retinal vascular endothelial cells under different oxygen conditions[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2011, 249:871-877
- Miyamoto N, Mandai M, Takagi H, *et al.* Contrasting effect of estrogen on VEGF induction under different oxygen status and its role in murine ROP[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2002, 43(6):2007-2014
- Iervolino A, Trisciungio D, Ribatti D, *et al.* Bcl-2 overexpression in human melanoma cells increases angiogenesis through VEGF mRNA stabilization and HIF-1-mediated transcriptional activity[J]. FASEB J, 2002, 16:1453-1455
- Darlow BA, Gilbert C, Quinn GE. Promise and potential pitfalls of anti-VEGF drugs in retinopathy of prematurity[J]. Br J Ophthalmol, 2009, 93:986
- Csak K, Szabo V, Vannay A, *et al.* Pathogenesis and genetic basis for retinopathy of prematurity[J]. Front Biosci, 2006, 11:908-920
- McCloskey M, Wang H, Jiang Y, *et al.* Anti-VEGF antibody leads to later atypical intravitreal neovascularization and activation of angiogenic pathways in a rat model of ROP[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, ARVO
- 张承芬主编. 眼底病学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2010:300-302
- 何航,徐宏平,华海婴. 姜黄素对四氯化碳诱导肝纤维化大鼠肝组织 TGF- β 1 Caspase23 表达的影响[J]. 第四军医大学学报, 2009, 30(2):100-103
- Barouch FC, Miller JW. Potential future targets for treating ocular neovascularization[J]. Ophthalmol Clin North Am, 2006, 19:401-409
- 封志纯,陈佳. 早产儿视网膜病变的抗血管内皮细胞生长因子治疗[J]. 中华妇幼临床医学杂志, 2011, 7(5):412-415
(收稿日期:2013-11-14)
(修回日期:2014-02-24)