

糖尿病视网膜病变中周细胞的药物治疗进展

朱传艳 朱 妍 蒋 沁 姚 进

摘 要 周细胞是位于毛细血管外表面的特殊壁细胞,参与血管形成,维护血管稳定。近年来,随着对周细胞生物学功能的深入探索,其在眼部血管性疾病中的作用受到极大的关注。糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病常见的并发症之一,其主要病理特点是微血管功能紊乱,其中周细胞丢失是 DR 的早期标志。研究发现,多种西药及中药可在糖尿病应激条件下保护周细胞,调节周细胞功能,对 DR 的早期病变及预后方面具有潜在的治疗作用。本文就眼部周细胞的基本概况、DR 中周细胞的药物治疗研究进展两方面进行系统性综述。

关键词 周细胞 糖尿病视网膜病变 西药 中药 靶向药物

中图分类号 R77 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2022.01.003

周细胞是位于微血管外表面的特殊壁细胞,通过物理接触和旁分泌信号通路与内皮细胞相互作用,共同参与血管形成、维护血管稳定^[1]。DR 是糖尿病的常见并发症,是导致患者视力损害和失明的主要原因之一^[2]。视网膜周细胞的脱落是 DR 早期可观察到的形态学改变。周细胞丢失可导致毛细血管稳定性下降,血管通透性增加,诱导毛细血管闭塞、微动脉瘤形成。DR 晚期视网膜缺血、缺氧,病理性新生血管生成,最终导致出血和失明^[3]。因此周细胞可能与 DR 的发生、发展密切相关,探索保护周细胞的药物,可能在 DR 的早期控制病变发展,改善患者的预后。

一、周细胞基本概述

1. 周细胞的形态及分布:通过透射电子显微镜技术,研究者观察到周细胞的细胞核大而圆,具有不均匀的电子致密区。胞质较小具有很多长突起,可纵向横跨多个内皮细胞表面,偶尔可连接临近的毛细血管分支。在毛细血管的分支点通常可见周细胞胞体,而胞质的初级突起沿着血管分支延伸,进一步产生与之相垂直的次级突起,其尖端部位与内皮细胞相连,并环绕毛细血管^[3]。周细胞在不同时期呈现不同的形态。在视网膜血管生成过程中,覆盖未成熟血管的周细胞呈星形,拥有较多的胞质突起。成熟的周细胞胞体细长,胞质突起相对较少,具有较高的血管覆盖率^[4]。周细胞在组织中的分布也存在差异。周细胞与内皮细胞的比例在脑和视网膜组织中为 1:1,在肾

脏中为 1:2.5,在皮肤和肝脏中为 1:10,在骨骼肌中比值最低,为 1:100^[3]。周细胞在视网膜中的分布比例最高,提示周细胞在视网膜中具有特殊的功能。

2. 周细胞的功能:在视网膜中,周细胞与内皮细胞、神经元、神经胶质细胞等一起构成血-视网膜屏障,共同维护组织稳态。视网膜血管发育过程中周细胞覆盖率降低,会导致视网膜表层和深层严重出血、深层血管丛形成中断和大量炎性细胞浸润^[5]。这表明周细胞覆盖率减少可导致微血管屏障的破坏,视网膜血管渗透性增加,导致视功能损害。

大量研究发现,内皮细胞与周细胞之间的多种信号通路在血管生成和维护血管稳定方面发挥重要的作用^[6]。在血管生成过程中,周细胞表面的血小板源生长因子受体 β (platelet-derived growth factor receptor- β , PDGFR β) 可与内皮细胞分泌的 PDGF β 相结合,招募周细胞黏附到内皮细胞上,促进血管成熟。周细胞分泌的血管紧张素 1,与内皮细胞表面 Tie-2 受体相结合,维护血管的稳定。另外,周细胞还可表达多种收缩蛋白,在多种血管活性介质和电生理刺激作用下收缩或舒张^[3]。但是由于缺乏对周细胞的正确鉴别及研究的微血管的局限性,因此有关周细胞在血管中的功能,仍有待于进一步的探索。

二、DR 与周细胞

DR 是糖尿病常见微血管病变之一,可严重危害患者的视力,影响患者的日常生活。DR 早期,周细胞丢失,内皮细胞损伤,基膜增厚,造成毛细血管闭塞,血-视网膜屏障被破坏,随病情发展最终可导致患者失明。目前 DR 的治疗手段主要包括激光光凝术、玻璃体切除手术及玻璃体腔药物注射等。但是这

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81970823)

作者单位:210029 南京医科大学附属眼科医院

通信作者:姚进,教授,主任医师,博士生导师,电子邮箱:dryaojin@

些治疗方式主要应用于疾病晚期,且存在组织创伤大,易发生眼内出血、视网膜损伤等并发症,患者经济负担重等诸多缺点^[7]。另外,DR 进展到疾病晚期,患者的视力难以得到有效改善,所以仍然需要积极探索 DR 中新的治疗靶点,在早期延缓病变发展。近年来大量研究表明,DR 过程中周细胞的丢失与微血管病变的发展相关,如微动脉瘤形成、毛细血管高渗透性、血-视网膜屏障破坏、病理性新生血管生成等^[8]。因此,探索有效作用于周细胞的药物可能在保护周细胞、控制 DR 早期病变发展中具有重要意义。

三、西药对 DR 中周细胞的治疗

1. 抗血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 药物: VEGF 是调节血管新生和血管通透性的重要因子,可以直接刺激内皮细胞的增殖和迁移,但是它在周细胞生物学中的作用尚不明确。既往研究表明,VEGF 可能负性调控周细胞功能,减少新生血管周细胞的覆盖,从而破坏新生血管的稳定性^[9]。另一方面,抗 VEGF 药物经玻璃体腔注射、扩散到视网膜血管壁时,它先到达血管外层的周细胞,然后再到达内层的内皮细胞。因此抗 VEGF 药物也可能作用于周细胞,在早期减少血管破坏、延缓疾病进展。

Giordanella 等^[10]通过 Western blot 法检测发现,高糖培养下原代人视网膜周细胞中磷脂酶 A₂ (phospholipase A₂, PLA₂) 的磷酸化和环氧化酶 2 (cyclooxygenase - 2, COX - 2) 的表达增加,前列腺素 (prostaglandins, PG) 的释放增多,进而促进 VEGF 的表达。而 VEGF 表达上调进一步诱导 PLA₂/COX - 2/PG 轴的活化,进一步降低周细胞的活力。阿柏西普、贝伐珠单抗和雷珠单抗是常见的 3 种抗 VEGF 药物,它们可能通过抑制 PLA₂/COX - 2/PG 轴,预防高糖诱导的周细胞损伤,提高细胞活力。研究者使用链脲佐菌素 (streptozotocin, STZ) 诱导的糖尿病小鼠模型,对实验组小鼠进行每周 1 次、连续 4 周腹腔注射阿柏西普,结果发现,阿柏西普对糖尿病小鼠的血糖水平或者体质量并没有显著影响。免疫荧光染色结果显示,与对照组比较,阿柏西普治疗组小鼠的视网膜周细胞的丢失减少,血管的渗漏降低,视网膜无灌注区域面积减小以及周边的白细胞招募减少^[11]。这表明 DR 早期抗 VEGF 治疗可能是保护周细胞、延缓病变进展的治疗策略。

2. 抗氧化应激类药物: DR 是一个复杂的病理过程,其病变机制尚未被完全阐明,其中氧化应激已被

证明是参与这一过程的关键因素。在全身各个器官组织中,视网膜中的不饱和脂肪酸含量最高,并且耗氧量及葡萄糖氧化最多,因此易受到活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 的损害^[12]。高糖条件下的周细胞线粒体可产生过多的 ROS, caspase - 3 的活性增加,提示氧化应激在周细胞凋亡过程中的作用。

抗坏血酸是一种较强的抗氧化剂,正常血浆浓度的抗坏血酸可抑制晚期糖基化终末产物受体 (receptor for advanced glycation end products, RAGE) 的激活,它能够有效清除氧自由基或超氧化物。研究发现,抗坏血酸可减少高糖诱导的微血管视网膜周细胞凋亡。TUNEL 实验结果显示,同时给予抗坏血酸和 α - 生育酚治疗可抑制糖尿病大鼠中视网膜周细胞的凋亡^[13]。维生素 B₁, 又称硫胺素,是生物体内参与葡萄糖代谢的重要辅助因子,也可作为一种抗氧化剂减少高糖引起的损伤。研究者在高糖条件下人脐静脉内皮细胞产生的细胞外基质中培养人视网膜周细胞,发现周细胞的黏附能力下降,凋亡数量增多。硫胺素及其脂溶性衍生物苯磷硫胺可以逆转这一变化,提示硫胺素类药物可能在 DR 过程中减少周细胞从视网膜毛细血管的脱离,是减少 DR 引起的视网膜损伤的有效药物^[14]。非诺贝特是一种过氧化物酶体增殖激活受体 α (peroxisome proliferator - activated receptor α , PPAR α) 激动剂类药物,常用于治疗血脂异常,具有抗炎和抗氧化作用。Mazzeo 等^[15]通过流式细胞术和酶联免疫吸附实验发现,非诺贝特可以减少高糖、低氧等糖尿病应激条件下人视网膜周细胞中整合素 β 1、单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP1)、基质金属蛋白酶 9 (matrix metalloproteinase 9, MMP9) 的表达。该研究提示,非诺贝特可减轻 DR 中周细胞的损伤,减少视网膜无细胞毛细血管形成。

3. β 肾上腺素能受体 (β - adrenergic receptor, β - AR) 激动剂: β - AR 激动剂是一类拟交感神经药物,具有激活多种细胞的生存和增殖能力的作用。Yun 等^[16]通过 MTT 实验发现, β - AR 激动剂如异丙肾上腺素、沙丁胺醇和多巴酚丁胺可显著提高胎盘组织源的原代周细胞活力。进一步研究发现,其均可激活磷酸肌醇 3 - 激酶 (phosphoinositide 3 - kinase, PI₃K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 信号通路和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen - activated protein kinases, MAPK)/细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal - regulated kinase 1/2, ERK1/2) 信号通

路,促进正常条件和高糖条件下周细胞的增殖和生存能力。另外还有研究发现,与 $\beta 1$ -AR 激动剂多巴酚丁胺比较, $\beta 2$ -AR 激动剂沙丁胺醇能更有效地保护周细胞,增加周细胞的生存和增殖能力,这可能与高糖作用下周细胞 $\beta 1$ -AR 的表达降低相关。渗透性检测实验和免疫荧光染色实验结果显示,沙丁胺醇可减少 STZ 诱导糖尿病小鼠视网膜血管渗漏和周细胞的丢失。这些结果提示 β -AR 激动剂,尤其是 $\beta 2$ -AR 激动剂在预防 DR 早期周细胞的损伤方面的潜在治疗作用。

4. 其他:Hu 等^[17]研究发现,可溶性环氧化物酶(soluble epoxide hydrolase, sEH)在糖尿病小鼠和糖尿病患者的视网膜和玻璃体中表达增多,并随着病变的加重而增加。视网膜消化血管实验结果显示,sEH 抑制剂 t-AUCB 可以减少糖尿病小鼠视网膜中无细胞血管数量以及血管外的周细胞数量。视网膜外植体实验结果也进一步发现,sEH 降解产物加速了周细胞向血管外的迁移,导致周细胞丢失,加重血管损伤。Lin 等^[18]通过免疫荧光染色和 Western blot 法检测到周细胞中胰高血糖素样肽-1 受体(glucagon-like peptide-1 receptor, GLP-1R)的表达。GLP-1 类似物利拉鲁肽可发挥 GLP-1R 拮抗剂作用,抑制晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)诱导的原代胎牛视网膜周细胞迁移,维护血-视网膜屏障的稳定性,从而可能在早期延缓 DR 的进展。周细胞向血管外的迁移可能是周细胞丢失的一种潜在机制,这些研究为预防早期糖尿病血管病变的进展提供了新的治疗思路。

利鲁唑是治疗肌萎缩性侧索硬化症的有效药物。研究发现,它可通过对蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)的直接抑制作用减少 STZ 诱导的糖尿病小鼠视网膜周细胞的损伤^[19]。维甲酸是维生素 A 的代谢产物之一,以 9-顺式维甲酸、13-顺式维甲酸等异构体的形式存在。研究发现,9-顺式维甲酸通过维甲酸 X 受体 α (retinoic X receptor α , RXR α),下调周细胞中 Src 同源 2 结构域蛋白酪氨酸磷酸酶 1(Src homology 2 domain-containing phosphatase 1, SHP1)的表达发挥抑制周细胞的凋亡的作用,提高周细胞对 PDGF-BB 的敏感度^[20]。肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)在 DR 患者的血清和玻璃体液中增多,它可通过 PI₃K/AKT 信号通路调节人胎盘源周细胞的生存,从而预防 DR 过程中周细胞的丢失^[21]。当细胞内质网功能被破坏,未折叠或错误折

叠的蛋白质积聚在细胞器内,这种情况被称为内质网应激。长期的血糖波动易引起视网膜周细胞发生内质网应激,这可能与 DR 早期的周细胞的损伤相关。熊去氧胆酸可显著减轻内质网应激,减少 STZ 诱导的小鼠视网膜中周细胞的丢失,可能在 DR 的早期防治过程中发挥潜在作用^[22]。

四、中药对 DR 中周细胞的治疗

随着对中医学研究的不断深入,越来越多的研究者开始进行中药的探索,积极寻找保护周细胞、减少周细胞凋亡的有效药物。与西药比较,中药具有多靶点、经济等优势,可为 DR 的防治提供新的方向。

1. 中药组方:KIOM-79 是由厚朴、葛根、甘草、大戟这 4 种中草药萃取制成,研究显示它可以阻断核因子 κB (nuclear factor kappa-B, NF- κB)的激活,减少 AGEs 诱导的原代胎牛视网膜周细胞凋亡。视网膜消化血管和 TUNEL 法检测结果显示,KIOM-79 可减少糖尿病大鼠视网膜周细胞的凋亡,从而改善视网膜微血管功能障碍^[23]。周洁等^[24]研究发现,活血化瘀方(黄芪、地黄、枸杞子、决明子、蒲黄、水蛭)在一定浓度范围内可明显抑制高糖培养条件下的大鼠视网膜周细胞凋亡。主要外膜蛋白(major outer membrane proteins, MOMP)/B 细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)信号通路可能是该组方抑制周细胞凋亡的途径之一。研究者通过网络药理学分析预测和筛选双丹明目胶囊(主要成分包括女贞子、墨旱莲等)在 DR 中的潜在靶标。流式细胞术和 Western blot 法检测结果显示,它可激活内源性抗氧化酶,清除过量的 ROS,下调核糖聚合酶[poly(ADP-ribose) polymerase, PARP]的表达,促进抗凋亡基因 Bcl-2 和甘油醛 3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)的表达,从而减少氧化应激诱导的人视网膜微血管周细胞凋亡^[25]。

2. 中药单体及活性成分:知母根茎是中药组方中的常见成分,对于预防糖尿病及其并发症具有较好的疗效。其中芒果苷和新芒果苷是知母根茎提取物的主要活性成分,它们能够有效逆转高糖诱导的原代胎牛视网膜周细胞增殖能力降低^[26]。黄芪是一种常见的中草药,其有效成分具有促进血管修复、改善微循环等作用,被广泛应用于 DR 的治疗。谢俪君等^[27]研究发现,黄芪注射液可以保护高糖培养条件下的大鼠视网膜周细胞,其有效成分可能在促进周细胞生长的同时,还调控 PDGF β 对周细胞的促生长作用。

中药组方、中药单体及活性成分对周细胞的作用

具有较好的应用前景,但是由于面临多成分、多途径等难题,仍缺乏具体的分子调控机制研究。综上所述,中药对于周细胞方面的研究仍需不断探索,进一步寻找高效、特异性强的药物。

五、展 望

综上所述,作为一种特殊的血管壁细胞,周细胞在血管形成及维护血管稳定方面发挥了至关重要的作用。大量研究表明周细胞的丢失发生在 DR 早期,与疾病的发展相关。但一直以来,对于 DR 的研究主要聚焦于内皮细胞,对周细胞的研究尚不充分。近年来有研究发现,多种西药及中药皆能调节周细胞功能,减少视网膜毛细血管壁周细胞的损伤,可能在 DR 病变的早期控制疾病的发展。然而,周细胞相关药物治疗的应用仍有许多的问题亟待解决。由于目前研究的药物对周细胞的作用效果有限,且无法特异性作用于周细胞。此外,药物的作用机制、用法、用量等皆不明确,仍需开展进一步探索。

参考文献

- Huang H. Pericyte – endothelial interactions in the retinal microvasculature[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19): 7413
- Vujosevic S, Aldington SJ, Silva P, *et al*. Screening for diabetic retinopathy: new perspectives and challenges[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2020, 8(4): 337 – 347
- Zhang ZS, Zhou HN, He SS, *et al*. Research advances in pericyte function and their roles in diseases[J]. *Chin J Traumatol*, 2020, 23(2): 89 – 95
- Figueiredo AM, Villacampa P, Dieguez – Hurtado R, *et al*. Phosphoinositide 3 – kinase – regulated pericyte maturation governs vascular remodeling[J]. *Circulation*, 2020, 142(7): 688 – 704
- Trost A, Bruckner D, Rivera FJ, *et al*. Pericytes in the retina[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1122: 1 – 26
- Caporarello N, D'Angeli F, Cambria MT, *et al*. Pericytes in microvessels: from " mural " function to brain and retina regeneration [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(24): 6351
- Wang W, Lo ACY. Diabetic retinopathy: pathophysiology and treatments[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(6): 1816
- Spencer BG, Estevez JJ, Liu E, *et al*. Pericytes, inflammation, and diabetic retinopathy [J]. *Inflammopharmacology*, 2020, 28(3): 697 – 709
- Greenberg JI, Shields DJ, Barillas SG, *et al*. A role for VEGF as a negative regulator of pericyte function and vessel maturation[J]. *Nature*, 2008, 456(7223): 809 – 813
- Giordanella G, Anfuso CD, Olivieri M, *et al*. Aflibercept, bevacizumab and ranibizumab prevent glucose – induced damage in human retinal pericytes in vitro, through a PLA2/COX – 2/VEGF – A pathway[J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, 96(3): 278 – 287
- Seo EJ, Choi JA, Koh JY, *et al*. Aflibercept ameliorates retinal pericyte loss and restores perfusion in streptozotocin – induced diabetic

- mice[J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2020, 8(1): e001278
- Wu MY, Yang GT, Lai TT, *et al*. The oxidative stress and mitochondrial dysfunction during the pathogenesis of diabetic retinopathy[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018: 3420187
- May JM. Ascorbic acid repletion: a possible therapy for diabetic macular edema? [J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 94: 47 – 54
- Beltramo E, Mazzeo A, Porta M. Thiamine and diabetes: back to the future? [J]. *Acta Diabetol*, 2021, 58(11): 1433 – 1439
- Mazzeo A, Gai C, Trento M, *et al*. Effects of thiamine and fenofibrate on high glucose and hypoxia – induced damage in cell models of the inner blood – retinal barrier [J]. *Acta Diabetol*, 2020, 57(12): 1423 – 1433
- Yun JH, Jeong HS, Kim KJ, *et al*. Beta – Adrenergic receptor agonists attenuate pericyte loss in diabetic retinas through Akt activation [J]. *FASEB J*, 2018, 32(5): 2324 – 2338
- Hu J, Dziubla S, Lin J, *et al*. Inhibition of soluble epoxide hydrolase prevents diabetic retinopathy[J]. *Nature*, 2017, 552(7684): 248 – 252
- Lin WJ, Ma XF, Hao M, *et al*. Liraglutide attenuates the migration of retinal pericytes induced by advanced glycation end products [J]. *Peptides*, 2018, 105: 7 – 13
- Choi JA, Chung YR, Byun HR, *et al*. The anti – ALS drug riluzole attenuates pericyte loss in the diabetic retinopathy of streptozotocin – treated mice[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2017, 315: 80 – 89
- Chen Y, Wang W, Liu F, *et al*. 9 – cis – retinoic acid improves sensitivity to platelet – derived growth factor – BB via RXR α and SHP – 1 in diabetic retinopathy[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 465(4): 810 – 816
- Yun JH. Hepatocyte growth factor prevents pericyte loss in diabetic retinopathy[J]. *Microvasc Res*, 2021, 133: 104103
- Chung YR, Choi JA, Koh JY, *et al*. Ursodeoxycholic acid attenuates endoplasmic reticulum stress – related retinal pericyte loss in streptozotocin – induced diabetic mice [J]. *J Diabetes Res*, 2017, 2017: 1763292
- Kim J, Kim CS, Sohn E, *et al*. KIOM – 79 protects AGE – induced retinal pericyte apoptosis via inhibition of NF – κ B activation in vitro and in vivo[J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e43591
- 周洁,倪茂巍,丁旭慧,等. 活血化癥方对糖尿病大鼠视网膜周细胞的保护作用[J]. *中国现代应用药学*, 2019, 36(4): 438 – 443
- Nie F, Yan J, Ling Y, *et al*. Effect of shuangdan mingmu capsule, a Chinese herbal formula, on oxidative stress – induced apoptosis of pericytes through PARP/GAPDH pathway [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2021, 21(1): 118
- Li X, Cui X, Wang J, *et al*. Rhizome of *Anemarrhena asphodeloides* counteracts diabetic ophthalmopathy progression in streptozotocin – induced diabetic rats[J]. *Phytother Res*, 2013, 27(8): 1243 – 1250
- 谢俪君,宫晓红,高颖,等. 不同剂量血小板源性生长因子 – B 及黄芪注射液对体外高糖培养大鼠视网膜毛细血管周细胞的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2020, 29(27): 2979 – 2982, 3002

(收稿日期: 2021 – 08 – 21)

(修回日期: 2021 – 10 – 12)