

# IL-8 与糖尿病视网膜病变

陈晓曦, 张学东

作者单位:(400016) 中国重庆市, 重庆医科大学附属第一医院眼科

作者简介:陈晓曦,女,在读硕士研究生,研究方向:糖尿病视网膜病变。

通讯作者:张学东,女,教授,硕士研究生导师,研究方向:眼底病、糖尿病视网膜病变。zxued@sina.com

收稿日期:2010-03-24 修回日期:2010-05-12

## Interleukin-8 and diabetic retinopathy

Xiao-Xi Chen, Xue-Dong Zhang

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Correspondence to: Xue-Dong Zhang. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China. zxued@sina.com

Received: 2010-03-24 Accepted: 2010-05-12

### Abstract

• Diabetic retinopathy (DR) is one of the frequent chronic microvascular complications associated with diabetes mellitus, and it is a leading cause of blindness, but the specific mechanism of DR is not very clear. Now inflammatory reaction as one of the pathogeneses of DR has become the main concern for a growing number of scholars. In the following sections, we will review the function of IL-8 as a inflammatory factor in DR.

• KEYWORDS: diabetic retinopathy; interleukin-8

Chen XX, Zhang XD. Interleukin-8 and diabetic retinopathy. *Int J Ophthalmol (Guji Yanke Zazhi)* 2010;10(6):1106-1108

### 摘要

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是最常见的糖尿病微血管并发症之一,然而其具体机制尚不清楚。现在炎症反应作为DR发病机制之一而被越来越多的学者关注,并提出DR是一种炎症性疾病。我们就炎症因子IL-8的特征及其在DR发生发展过程中的作用加以综述。

关键词:糖尿病视网膜病变;白介素-8

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2010.06.026

陈晓曦,张学东. IL-8与糖尿病视网膜病变. 国际眼科杂志 2010; 10(6):1106-1108

### 0 引言

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病微血管的严重并发症之一,其发生涉及高血糖、多元醇-肌醇代谢异常、血流动力学障碍、凝血机制异常、蛋白质的非酶糖基化、氧化应激等多种因素,但关于DR的具体发病机制目前尚未完全阐明。现有观点认为长期慢性炎症反应贯穿DR的全过程<sup>[1]</sup>。白介素-8(interleukin-8, IL-8)

作为炎症因子之一在炎症发生发展过程中起重要作用。我们以回顾文献的方式,就IL-8与DR的关系综述如下。

### 1 IL-8的结构和产生及作用

IL-8是由Yoshimura等<sup>[2]</sup>在1987年首次从脂多糖刺激人单核细胞培养上清液中提取出。根据其N端差异,IL-8可分为多种亚型,其中以72,77个氨基酸残基组成的生物活性活跃。许多细胞在适当刺激后能产生IL-8,主要包括:LPS或IL-1, TNF- $\alpha$ 激活的单核/巨噬细胞、成纤维细胞、内皮细胞或上皮细胞;血小板、中性粒细胞、各种肿瘤细胞株;抗原或PHA激活的T淋巴细胞。IL-8受体属于视紫红质样G蛋白偶联受体家族,广泛存在于体内多种细胞表面。IL-8与靶细胞受体结合后,通过第二信使介导的一系列级联反应使丝裂原活化蛋白激酶磷酸化,细胞内Ca<sup>2+</sup>释放,从而引起白细胞的运动、游走,促进炎症感染中白细胞的黏附以及趋化运动<sup>[3]</sup>。IL-8主要生物学活性是趋化中性粒细胞,促进中性粒细胞的溶酶体酶活化和吞噬作用,同时也可趋化嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞及部分T淋巴细胞,研究发现IL-8还参与新生血管形成及肿瘤发展的病理过程<sup>[4,5]</sup>。

### 2 IL-8的来源

2.1 视网膜色素上皮细胞 视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelial, RPE)作为眼内最重要的一种细胞,具有屏障、输送营养等重要作用。RPE之间存在紧密连接,构成视网膜与脉络膜之间的外屏障,RPE细胞萎缩、增生或功能异常可导致多种视网膜病变。在高糖环境、缺氧状态、炎症刺激及一些细胞因子,如IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ 等多种因素刺激下,RPE可以表达多种不同的细胞因子,其中包括IL-8、单核细胞趋化因子-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)等<sup>[6,7]</sup>。这些因子通过与受体结合,作用于视网膜、脉络膜的上皮细胞、内皮细胞及胶质细胞,通过MAPK, P38及ERK1/2信号通路激活细胞,从而使细胞产生多种炎症因子及生长因子,如IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , MCP-1, VEGF<sup>[8,9]</sup>,而各因子之间又可协同或拮抗作用形成复杂的网络,从而对视网膜病变形成重要的作用。

2.2 小胶质细胞 小胶质细胞起源于血循环中的单核细胞,后者迁移至大脑及视网膜形成具有吞噬能力的小胶质细胞。大量形态学及功能学研究表明:视网膜小胶质细胞和大脑小胶质细胞具有相似性<sup>[10]</sup>,属于神经系统游走巨噬细胞中单独的一群,其功能相当活跃。小胶质细胞可作为免疫效应细胞,吞噬杀伤异己成分,发挥非特异免疫功能,或者摄取、加工、处理、递呈抗原并激发特异性免疫应答。一般认为小胶质细胞可启动并调节视网膜和中枢神经系统中其他胶质细胞活化<sup>[11]</sup>。在正常视网膜内,小胶质细胞一般处于静止状态,但易被微小的病理变化所激活。激活状态的小胶质细胞可表达大量与炎症及吞噬作用密切相关的受体和因子,它们会很快增生并消化和降解微生物、死亡的细胞及胶质细胞碎片、促进组织修复。DR时,小胶质细胞处于激活状态,细胞数量增加,参与了发病过程<sup>[12]</sup>。病程中小胶质细胞被激活并释放NO和基质金属蛋白酶,细胞因子如TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, VEGF,而这些

因子可加重局部炎症反应及血-视网膜屏障(blood-retinal barrier, BRB)的破坏,促进视网膜新生血管的形成。

**2.3 血管内皮细胞** 内皮细胞表面表达多种受体,它不但相应活性分子的靶细胞,也是活跃的效应细胞。血管内皮细胞受刺激活化后,其结构和功能发生明显改变,可分泌大量活性物质。内皮细胞在正常情况下表达补体受体,在某些病理过程和细胞因子作用下其表达可以增加,C1q, C5b 和 C5b-9 复合物均能直接激活内皮细胞,激活的内皮细胞能产生多种活性分子,参与炎症反应、促进血管内凝血、调节血管紧张性和通透性。晚期糖基化终末产物是蛋白质氨基组与糖的醛基组之间非酶性氧化反应的终产物,与其特异性受体 RAGE 相互作用,可促进内皮细胞分泌细胞间黏附分子、血管细胞黏附分子-1、MCP-1 及 IL-8 等细胞因子<sup>[13]</sup>,增强炎症细胞的吸附,增加内皮通透性,引起内皮细胞的损伤,促进血小板聚集,破坏血管舒张节律。

**2.4 Müller 细胞** Müller 细胞是星形胶质细胞在视网膜上表达的特殊类型,该细胞从内界膜延伸到外界膜,贯穿整个视网膜,其突起附着于血管外作为支架参与 BRB 的构成,Müller 细胞可分泌神经营养物质如胶质细胞源性神经生长因子和 neurturin,这两种营养因子均可增强内皮细胞的屏障功能,在组成 BRB 的血管内皮细胞中含有这些神经物质的受体。另一方面,异常状态的 Müller 细胞也可通过分泌某些物质来影响 BRB 的功能。DR 时发现 Müller 细胞数量减少,谷氨酸转运障碍,醛糖还原酶表达量增加,血管内皮生长因子表达量增加。研究发现鼠 Müller 细胞分泌 IL-8,且 Müller 细胞表达 IL-8 受体<sup>[14,15]</sup>,表示 Müller 细胞是 IL-8 作用的靶细胞之一。在增生性玻璃体视网膜病变动物模型中,Müller 细胞表达 IL-8 受体及蛋白的作用增强,表明 Müller 细胞参与了 DR 的病理过程,并分泌炎症因子及促血管生成因子参与病情发展。

**2.5 单核-巨噬细胞** 单核-巨噬细胞是体内 IL-8 的主要来源,IL-8 是具有广泛生物活性的多肽细胞因子。单核-巨噬细胞在 IL-1, TNF- $\alpha$ 、植物血凝素、脂多糖等诱导剂作用下能合成并释放一定形式的 IL-8。而 Hatice 等在对 PDR 患者玻璃体液进行细胞学检查时发现巨噬细胞为其优势细胞,亦表明巨噬细胞为局部分泌 IL-8 的主要细胞之一<sup>[16]</sup>。

### 3 IL-8 在糖尿病视网膜病变患者中含量的变化

**3.1 血清水平** Doganay 等<sup>[17]</sup>将 53 例糖尿病患者分为无糖尿病视网膜病变(NDR)组、单纯性糖尿病视网膜病变(NPDR)组和增生性糖尿病视网膜病变(PDR)组,测定患者血清中 IL-8 含量,结果显示 PDR 组水平高于 NPDR 组、NDR 组及正常对照组,提示血清高表达 IL-8 可能是疾病进程中的病理生理表现。Lee 等<sup>[18]</sup>的研究结果也显示 IL-8 的血清水平随着 DR 病情进展而呈增高趋势。国内外还有许多研究资料表明,有糖尿病早期并发症者 IL-8, IL-1, TNF- $\alpha$  等细胞因子的血清浓度均显著高于正常组。但也有实验结果显示,IL-8 在 PDR 者与非炎症性视网膜病变者、非糖尿病视网膜病变患者之间的血清水平并无差异<sup>[19]</sup>。故对于 PDR 患者血中 IL-8 水平的变化结论不一。

**3.2 眼内水平** Hernández 等<sup>[20]</sup>测定 22 例 PDR 患者及 16 例 NDR 患者玻璃体中 IL-8 水平,结果 PDR 组 IL-8 水平较 NDR 组明显增高,且活动期 PDR 组 IL-8 水平也较静止期 PDR 组增高明显,提示 IL-8 与 DR 新生血管的形成及病情程度相关。国内外均有研究资料显示在 PDR 患者玻璃体液中 IL-8 水平较对照组明显增高,Petrovic 等<sup>[21]</sup>研究也表明增生性糖尿病视网膜病变血管闭塞程度越重者玻璃体内 IL-8 水平越高。以上研究均提示随着 DR 的发展,

IL-8 含量逐渐增加,因此 IL-8 可作为判断糖尿病增生性视网膜病变严重程度的指标之一。局部 IL-8 水平升高可能通过趋化活化白细胞,使其释放活性细胞因子而诱导血管生成,从而参与 PDR 的发生和发展。

### 4 IL-8 在糖尿病视网膜病变中的作用机制

**4.1 破坏血-视网膜屏障** 视网膜为了有效地发挥其功能,需要一个稳定的内环境,这一内环境稳定性的维持依赖于 BRB。而高糖环境引起视网膜微血管系统的损害,毛细血管肿胀变形,BRB 破坏,引起血管通透性增加,血流动力学发生改变,破坏了视网膜毛细血管的结构和功能,造成视网膜的损害,使视网膜处于缺血缺氧状态。这种高糖、缺血缺氧刺激打破了视网膜血管生长因子和抑制因子间的平衡,促使血管生成因子 IL-8, TNF- $\alpha$  增加<sup>[22]</sup>,而这些细胞因子通过打开视网膜血管内皮细胞、色素上皮细胞的紧密连接引起进一步 BRB 破坏<sup>[23]</sup>。炎症细胞浸润,玻璃体中细胞因子水平增高,BRB 的破坏及血管通透性进行性增加是使 DR 从非增生性状态向视网膜新生血管形成发展的重要因素。

**4.2 激活小胶质细胞** 小胶质细胞作为视网膜固有免疫细胞,在诱导炎症方面和感染代谢方面始终处于重要地位。糖尿病导致视网膜血管渗漏,小胶质细胞功能失常,神经细胞凋亡。免疫组化研究显示位于神经节细胞层和内丛状层的视网膜小胶质细胞在 DR 早期被激活并分泌炎症前因子及细胞毒素,如 IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , VEGF, 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs), NO 和活性氧<sup>[24]</sup>。TNF- $\alpha$ , NO 和活性氧可直接杀死视网膜神经元,且促糖尿病视网膜神经细胞凋亡。VEGF, IL-8 和 MMPs 可以减弱 BRB 功能,加重视网膜微血管损害,参与视网膜新生血管的形成<sup>[25,26]</sup>。有研究表明<sup>[27]</sup>在 DR 的动物模型上米诺环素可减少炎症前因子及细胞毒性物质表达,抑制小胶质细胞、凋亡蛋白酶激活,提示米诺环素对维持 BRB 的稳定有一定作用。

**4.3 诱导炎症反应** IL-8 有中性粒细胞趋化剂的所有特性,可诱导细胞形态改变、趋化;促进白细胞黏附分泌 Mac-1 (CD<sub>11b</sub>/CD<sub>18</sub>) 的表达,激活白细胞黏附;能导致胞质游离 Ca<sup>2+</sup> 浓度迅速而短暂的升高,脱颗粒反应、黏附蛋白上调,生物活性脂质形成和呼吸爆发,释放超氧化物和溶酶体酶,从而促进炎症反应,发挥对视网膜的毒害作用<sup>[28]</sup>。IL-8 及其受体广泛存在于不同的组织和细胞中,且被认为与新生血管形成、肿瘤生长及脑病理相关。视网膜上皮细胞、内皮细胞分泌 IL-8 可调控血管黏附分子表达 CD<sub>11</sub>/CD<sub>16</sub>,并加强淋巴细胞和巨噬细胞与血管内皮细胞及 RPE 细胞表面的粘附分子的黏附、聚集,增多的细胞因子使小胶质细胞活化,从而刺激炎症循环而使白细胞增加,以致血管破坏,直接通过释放细胞毒性物质诱导细胞死亡。有研究<sup>[29]</sup>表明 C 肽可通过抑制 NK- $\kappa$ B 激活而降低高糖诱导的内皮细胞功能紊乱,减轻炎症反应。

**4.4 引起视网膜血管病变** IL-8 存在于 PDR 患者 RPE、视网膜血管内皮细胞中,提示其在 PDR 新生血管形成过程中起重要作用。NK- $\kappa$ B 是重要的核转录因子,参与多种基因表达的调控,包括促血管形成因子如 VEGF, IL-8 等。在许多视网膜疾病发生新生血管之前都存在缺氧,缺氧可激活核转录因子蛋白,而 NK- $\kappa$ B 促神经胶质细胞、血管内皮细胞及 RPE 分泌 IL-8<sup>[30]</sup>,IL-8 则趋化免疫细胞如巨噬细胞降解 Bruch 膜,促视网膜新生血管形成及眼内增殖膜的扩大<sup>[31,32]</sup>。IL-8 含量增加可导致视网膜血管通透性增高,使血清蛋白持续向血管外渗漏,导致玻璃体血清蛋

白含量增高刺激血管外基质过量产生和血管内皮细胞的增殖,导致眼内新生血管形成。DR过程中存在细胞外基质(ECM)和基膜成分的异常改变,MMP-9作为MMPs的主要成员,又称IV型胶原酶,可以降解IV型胶原及许多ECM成分,其降解是视网膜内皮细胞迁徙新生血管形成的前提条件。IL-8可诱导MMP-9的产生。已有研究表明,合成的MMP-9抑制剂能够有效减少新生血管形成。

## 5 展望

IL-8是一种来源广泛、生物功能多样的趋化因子。糖尿病状态下多种因素可调控IL-8的合成、分泌,而IL-8通过对白细胞的趋化活化、诱导炎症反应、破坏BRB、促新生血管形成等参与DR的发生、发展。但IL-8在DR中作用机制仍需进一步研究,而其作为炎症因子、促血管生成因子所引起的视网膜血管屏障受损、新生血管形成机制,为治疗DR提供了新思路。

## 参考文献

- 1 卢百阳,武志峰.糖尿病视网膜病变发病机制研究进展.国际眼科杂志 2008;8(11):2308-2311
- 2 Yoshimura T, Matsushima K, Tanaka S, et al. Purification of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor that has peptide sequence similarity to other host defense cytokines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84(24):9233-9237
- 3 Hoch RC, Schraufstatter IU, Cochrane CG. *In vivo, in vitro*, and molecular aspects of interleukin-8 and the interleukin-8 receptors. *J Lab Clin Med* 1996;128(2):134-145
- 4 Xie LQ, Bian LJ, Li Z, et al. Co-elevated expression of hepatocyte growth factor and interleukin-8 contributes to poor prognosis of patients with primary nasopharyngeal carcinoma. *Oncol Rep* 2010;23(1):141-150
- 5 Wente MN, Keane MP, Burdick MD, et al. Blockade of the chemokine receptor CXCR2 inhibits pancreatic cancer cell-induced angiogenesis. *Cancer Lett* 2006;241(2):221-227
- 6 Bian ZM, Elner VM, Yoshida A, et al. Signaling pathways for glycosylated human serum albumin-induced IL-8 and MCP-1 secretion in human RPE cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(7):1660-1668
- 7 Leung KW, Barnstable CJ, Tombran-Tink J. Bacterial endotoxin activates retinal pigment epithelial cells and induces their degeneration through IL-6 and IL-8 autocrine signaling. *Mol Immunol* 2009;46(7):1374-1386
- 8 Elner VM, Strieter RM, Elner SG, et al. Neutrophil chemotactic factor (IL-8) gene expression by cytokine-treated retinal pigment epithelial cells. *Am J Pathol* 1990;136(4):745-750
- 9 Forooghian F, Das B. Anti-angiogenic effects of ribonucleic acid interference targeting vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor-1alpha. *Am J Ophthalmol* 2007;144(5):761-768
- 10 Chen L, Yang P, Kijlstra A. Distribution, markers, and functions of retinal microglia. *Ocul Immunol Inflamm* 2002;10(1):27-39
- 11 Wang X, Tay SS, Ng YK. An immunohistochemical study of neuronal and glial cell reactions in retinae of rats with experimental glaucoma. *Exp Brain Res* 2000;132(4):476-484
- 12 Franciosi S, Choi HB, Kim SU, et al. IL-8 enhancement of amyloid-beta (Abeta 1-42) induced expression and production of pro-inflammatory cytokines and COX-2 in cultured human microglia. *J Neuroimmunol* 2005; 159(1-2):66-74
- 13 Crane IJ, Wallace CA, McKillop-Smith S, et al. Control of chemokine production at the blood-retina barrier. *Immunology* 2000;101(3):426-433
- 14 Goczalik I, Ulbricht E, Hollborn M, et al. Expression of CXCL8, CXCR1, and CXCR2 in neurons and glial cells of the human and rabbit retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(10):4578-4589
- 15 Malgorzata GI, Raap M, Weick M, et al. The activation of IL-8

receptors in cultured guinea pig Müller glial cells is modified by signals from retinal pigment epithelium. *J Neuroimmunol* 2005;161(1-2):49-60

- 16 Canataroglu H, Varinli I, Ozcan AA, et al. Interleukin (IL)-6, interleukin (IL)-8 levels and cellular composition of the vitreous humor in proliferative diabetic retinopathy, proliferative vitreoretinopathy, and traumatic proliferative vitreoretinopathy. *Ocular Immunology and Inflammation* 2005;13(5):375-381
- 17 Doganay S, Evereklioglu C, Er H, et al. Comparison of serum NO, TNF-alpha, IL-1beta, sIL-2R, IL-6 and IL-8 levels with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus. *Eye* 2002;16(2):163-170
- 18 Lee JH, Lee W, Kwon OH, et al. Cytokine profile of peripheral blood in type 2 diabetes mellitus patients with diabetic retinopathy. *Ann Clin Lab Sci* 2008;38(4):361-367
- 19 Yuuki T, Kanda T, Kimura Y, et al. Inflammatory cytokines in vitreous fluid and serum of patients with diabetic vitreoretinopathy. *J Diabetes Complications* 2001;15(5):257-259
- 20 Hernández C, Segura RM, Fonollosa A, et al. Interleukin-8, monocyte chemoattractant protein-1 and IL-10 in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabet Med* 2005;22:719-722
- 21 Petrovic MG, Korosec P, Kosnik M, et al. Vitreous levels of interleukin-8 in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 2007; 143(1):175-176
- 22 Bian ZM, Elner SG, Strieter RM, et al. Synergy between glycosylated human serum albumin and tumor necrosis factor-alpha for interleukin-8 gene expression and protein secretion in human retinal pigment epithelial cells. *Lab Invest* 1998;78(3):335-344
- 23 Relvas LJ, Bouffieux C, Marcet B, et al. Extracellular nucleotides and interleukin-8 production by ARPE cells: potential role of danger signals in blood-retinal barrier activation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50(3):1241-1246
- 24 Yoshida S, Yoshida A, Ishibashi T. Induction of IL-8, MCP-1, and bFGF by TNF-alpha in retinal glial cells: implications for retinal neovascularization during post-ischemic inflammation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004;42(5):409-413
- 25 Rao NA, Kimoto T, Zamir E. Pathogenic role of retinal microglia in experimental uveoretinitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(1):22-31
- 26 Joussen AM, Murata T, Tsujikawa A, et al. Leukocyte-mediated endothelial cell injury and death in the diabetic retina. *Am J Pathol* 2001;158(1):147-152
- 27 Krady JK, Basu A, Allen CM, et al. Minocycline reduces proinflammatory cytokine expression, microglial activation, and caspase-3 activation in a rodent model of diabetic retinopathy. *Diabetes* 2005;54(5):1559-1565
- 28 Schröder JM. The monocyte-derived neutrophil activating peptide (NAP/interleukin 8) stimulates human neutrophil arachidonate-5-lipoxygenase, but not the release of cellular arachidonate. *J Exp Med* 1989;170(3):847-863
- 29 Luppi P, Cifarelli V, Tse H, et al. Human C-peptide antagonises high glucose-induced endothelial dysfunction through the nuclear factor-kappaB pathway. *Diabetologia* 2008;51(8):1534-1543
- 30 Yoshida A, Yoshida S, Hata Y, et al. The role of NF-kappaB in retinal neovascularization in the rat. Possible involvement of cytokine-induced neutrophil chemoattractant (CINC), a member of the interleukin-8 family. *J Histochem Cytochem* 1998;46(4):429-436
- 31 Higgins GT, Wang JH, Dockery P, et al. Induction of angiogenic cytokine expression in cultured RPE by ingestion of oxidized photoreceptor outer segments. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(4):1775-1782
- 32 Harada C, Harada T, Mitamura Y, et al. Diverse NF-kappaB expression in epiretinal membranes after human diabetic retinopathy and proliferative vitreoretinopathy. *Mol Vis* 2004;10(1):31-36