

肾素-血管紧张素系统在糖尿病视网膜病变中的研究进展

卢欣阳, 陈晓隆

作者单位: (110001) 中国辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属盛京医院眼科

作者简介: 卢欣阳, 女, 硕士, 研究方向: 玻璃体视网膜手术的临床研究。

通讯作者: 陈晓隆, 男, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向: 玻璃体视网膜手术的临床研究. chenxl@sj-hospital.org

收稿日期: 2011-09-06 修回日期: 2011-09-23

Research progress of renin-angiotensin system in diabetic retinopathy

Xin-Yang Lu, Xiao-Long Chen

Department of Ophthalmology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Xiao-Long Chen. Department of Ophthalmology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. chenxl@sj-hospital.org

Received: 2011-09-06 Accepted: 2011-09-23

Abstract

• Diabetic retinopathy (DR) is a microvascular complication of diabetes, and the main reason for adult blindness in developed countries. Along with social progress and people's living standards improving, the incidence of diabetes is increasing. And it has become a hazard to human health, a serious violation of multiple body systems and metabolic diseases. The ocular complications caused by it has become one of the world's major blinding eye diseases. Therefore, the study of DR in the pathogenesis and its therapeutic approach is currently an important issue in the field of ophthalmology research. The latest research shows that eye tissues are with independent synthetic renin-angiotensin system (RAS) capabilities, but also RAS participates in the occurrence and development of DR, so preventing and blocking the RAS may have important therapeutic value of DR.

• KEYWORDS: diabetic retinopathy; pathogenesis; renin-angiotensin system

Lu XY, Chen XL. Research progress of renin-angiotensin system in diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011;11(11):1941-1944

摘要

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病严重的微血管并发症之一, 是目前发达国家成人致盲的主要原因。随着社会的进步和人民生活水平的提高, 糖尿病的发病率日趋增多, 已经成为危害人类健康的一种严重的侵犯全身多个系统的代谢病, 其所引起的眼部并发症成为目前世界上主要的致盲眼病之一。因此, 研究 DR 的发病机制, 探讨其治疗途径, 是当前眼科领域攻关的重要课题。最新的研究表明, 眼部组织具有独立合成肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS) 的能力, 而且 RAS 参与了 DR 的发生发展, 阻断 RAS 对于阻止和治疗 DR 可能具有重要价值。

关键词: 糖尿病视网膜病变; 发病机制; 肾素-血管紧张素系统

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2011.11.021

卢欣阳, 陈晓隆. 肾素-血管紧张素系统在糖尿病视网膜病变中的研究进展. *国际眼科杂志* 2011;11(11):1941-1944

0 引言

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是严重的致盲性眼底病变, 其发病机制尚未完全阐明, 大量研究表明血管活性物质在 DR 中起着重要的作用, 随着眼局部肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS) 在基因水平得到证实, 眼局部尤其是其中主要活性物质—血管紧张素在发病机制中的作用已日渐引起国内外学者的关注。有研究表明, 可以通过应用血管紧张素转换酶抑制剂 (ACEI) 后间接指标的变化来反映其对 DR 发生的作用, 但目前尚缺乏 ACEI 在 DR 中直接定位的报道以及其应用后某些血管活性物质变化的定量分析报道, 本文就 DR 发病机制中 RAS 方面做一简要综述。

1 糖尿病视网膜病变的发病机制

DR 是糖尿病严重眼部并发症之一^[1], 微血管细胞功能障碍和死亡以及细胞外基质蛋白产生和降解失衡是 DR 的一个典型特征^[2]。DR 的病理改变主要为视网膜微血管周细胞消失、微血管瘤形成、微血管基底膜增厚^[3], 病变进一步发展造成血-视网膜屏障破裂、毛细血管闭塞、视网膜无灌注区形成、新生血管增殖, 最终导致视功能损害^[4], 由此引起的眼底表现为视网膜微血管瘤、出血斑、硬性渗出、棉絮斑、黄斑水肿或缺血、玻璃体出血、增生性玻璃体视网膜病变、牵拉性视网膜脱落、视网膜血管病变和视神经病变等。

高血糖是糖尿病视网膜微血管损害的首要致病因素^[5], 但对于 DR 发生的确切机制尚存争议, 目前认为主

要是高血糖诱发的一系列生化代谢异常,有多种假说:(1)多元醇通路激活学说:多元醇通路是组织细胞葡萄糖代谢的途径之一,血糖浓度升高时,超过葡萄糖代谢通路的运转负荷,过量的葡萄糖在醛糖还原酶的作用下转变成山梨醇。细胞中山梨醇代谢缓慢,累积进而引起渗透压增高,细胞结构和功能完整性受损,还与蛋白质非酶促糖化、自由基的形成与清除失调、蛋白激酶C(PKC)信号转导通路障碍密切相关,是DR发生机制的研究热点。(2)PKC的激活:高血糖使细胞内甘油二酯(DAG)合成增加,DAG激活PKC,PKC是体内重要的第二信使,是许多血管活性物质和细胞因子的共同信号转导途径,从而进一步影响血管细胞中包括生化代谢和基因调节在内的多个通路,进而促进DR的发展。(3)糖基化终末产物的过量生成:葡萄糖及其它糖类对大分子物质具有非酶糖化而形成共价产物即糖基化终末产物(AGES)的功能。AGES大量堆积可直接改变视网膜微血管内皮细胞中蛋白质的结构和功能、信号传递途径,特异性受体改变细胞基因表达等病理改变,进而导致内皮细胞功能紊乱,AGES还可导致毛细血管周细胞衰亡^[6],与DR的发生和发展密切相关。(4)氨基己糖途径活性增强:活性氧(reactive oxygen species, ROS)抑制3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH),导致所有糖酵解的产物转向氨基己糖途径,产生二磷酸尿嘌呤-N-乙酰葡萄糖胺(UDP-Glc-NAc),而UDP-Glc-NAc是包括转录因子在内的细胞内因子转录后修饰的底物。激活的氨基己糖途径产生的氨基葡萄糖可增加H₂O₂水平,但是目前关于氨基己糖途径在DR发生发展过程中发挥作用的研究仍然较少。

众多研究结果表明,DR是多种因素相互作用相互影响的结果。高血糖、蛋白质非酶糖基化、氧自由基的形成、多元醇-肌醇代谢异常、血流动力学障碍、凝血机制异常、各种增生性细胞因子的产生等,都与DR的发生发展有关。近年来,人们从分子水平上进一步揭示DR的发病机制,随着研究的不断深入,RAS与DR的关系日益受到人们的广泛关注,且取得了一定的进展。

2 RAS在眼部组织的独立性

RAS在控制血压和水电解质平衡等方面起到很重要的作用。肾素是一种酸性蛋白酶,可使血管紧张素原水解成为一个十肽的血管紧张素I(Ag I)。Ag I再在血管紧张素转化酶(ACE)的作用下,水解成为一个八肽的血管紧张素II(Ag II)。RAS所发挥的生理作用主要是通过Ag II与其受体(AT1R和AT2R)结合来实现的,首先是肾素将血管紧张素原转化为Ag I,再由血管紧张素酶将其转化为Ag II,然后分别发挥生理作用。早期发现DR患者血中ACE水平显著升高,随后许多学者就ACE基因多态性在不同种族的糖尿病患者中进行研究,结果发现ACE基因多态性与DR发病率和严重程度之间有明显相关性,在大样本中国人中作的调查也支持上述观点^[7]。Kida等^[8]实验研究发现,RAS基因可以通过培养的人的Müller细胞来表达,结果证实,RAS在眼局部被激活,Müller细胞在此局部激活过程中发挥作用,由此推测眼部存在独立完整的RAS系统,它不依赖于全身的RAS而存在,即它包含

了RAS的各个成分——血管紧张素原、Ag I, Ag II, 肾素及肾素-ACE。这一体系中,各种成分受其基因调控。Wagner等^[9]进一步研究了肾素mRNA、血管紧张素mRNA和ACE mRNA在人眼视网膜组织中的表达,发现肾素mRNA只存在于视网膜色素上皮层、脉络膜和视网膜,而不存在于前部葡萄膜和巩膜。用反转录多聚酶链反应技术检测发现,在肾素mRNA阳性表达的组织中,血管紧张素原和ACE 2种基因的表达也呈阳性,通过这2种基因调控血浆中其产物的浓度再影响血管系统的改变,进一步从基因水平证实眼部组织有独立合成RAS的能力。

3 RAS系统参与糖尿病视网膜病变的进展

3.1 RAS与血管内皮细胞 血管内皮细胞对于维持血管完整性具有重要作用,它通过释放或激活某些物质来调节细胞的生长、死亡、移行和细胞间质的构成,内皮细胞损伤后功能紊乱,导致血管痉挛、血栓形成等。糖尿病时,视网膜的RAS活性增强,Ag II参与内皮细胞功能的紊乱。它通过血管紧张素受体I型通道增加单核细胞黏滞性,使得血管内皮细胞上形成单细胞层。同时促进内皮细胞与白细胞的结合反应,并增加局部分泌的细胞因子如组织坏死因子等,这些均可导致血管内皮功能紊乱、血管痉挛、血栓形成、视网膜组织缺血缺氧、新生血管形成,出现增殖性病变。另外,Ag II结合于内皮细胞而刺激I型纤溶酶原激活物抑制剂的产生,引起凝血机制平衡失调,导致血管性疾病发生。

3.2 RAS与VEGF 许多研究发现,在增殖性DR患者玻璃体中ACE,Ag II和VEGF等血管生成因子水平显著升高,提示DR时眼睛局部RAS激活。免疫组织化学研究显示糖尿病大鼠视网膜组织中有ACE和VEGF的表达,ACE表达定位于视网膜血管壁,而且ACE和VEGF表达显著高于正常对照组。Hammes等^[10]通过对PDR患者视网膜Müller细胞进行培养,发现细胞中有肾素、血管紧张素原、I型血管紧张素受体和ACE的表达,这证实了DR时眼组织局部RAS处于激活状态,并推测RAS可能通过促进新生血管形成参与DR的进展。Ag II的非血液动力效应包括细胞生长的调控和生长因子的表达,如VEGF,bFGF,胰岛素样生长因子和各种黏附分子等间接促进新生血管的形成,尤其是VEGF。VEGF被认为是目前最强的新生血管生长因子,是各种新生血管性视网膜病变的核心作用因子,各种致病因子都是通过VEGF促进新生血管形成的,而VEGF又能刺激各种细胞因子或生长因子的表达。最近研究还表明,VEGF不仅是新生血管生长因子,还是血管渗漏因子,血浆渗漏积聚于视网膜的神经纤维层,形成早期DR的硬性渗出或黄斑水肿。Funatas等^[11]一临床研究发现,糖尿病黄斑水肿(DME)患者伴有或不伴有玻璃体后脱离(PVI)者玻璃体液中Ag II与VEGF浓度比非糖尿病患者及不伴有视网膜病变的糖尿病患者明显升高,而伴有及不伴有PVI的DME患者,玻璃体液中Ag II与VEGF水平无明显差异,高荧光DME比低荧光DME患者玻璃体液中Ag II与VEGF浓度明显升高,而且玻璃体液中Ag II与VEGF水平比其各自的血清水平也有明显增加。进一步研究证实,DR患者玻璃体液中Ag II与VEGF

在 PDR 的激活阶段比静止阶段浓度明显升高,表明 Ag II 联合 VEGF 与 PDR 的形成及进展有关。DR 中 VEGF 与 Ag II 呈显著的相关性,而且 Ag II 可以刺激 VEGF 及其受体在转录水平上的表达。Okada 等^[12]利用免疫组织化学证实,ACE 表达在视网膜血管壁上,ACE 阳性血管的比率在 3 ~ 5mo 糖尿病鼠模型视网膜上明显增加,VEGF 和 Flk-1 信号随着 ACE 免疫活性的增加同时增加,结果表明,上调的 ACE 通过 VEGF/VEGFR 系统在 DR 的发生发展过程中发挥作用。研究发现,循环血液中的 VEGF 与 I 型糖尿病患者的风险因子及微血管疾病无明显关系,也不受 ACEI 的影响。

3.3 RAS 与血管生成素 血管生成素(Ang)家族参与血管重塑、胚胎血管发育、癌症等疾病的发生和发展。其中 Ang I 有抗内皮细胞凋亡作用和促进内皮细胞迁移作用。AngI 通过促进内皮细胞和周围细胞的交互作用维持和稳定成熟血管。研究发现 Ang I 和 Ang II 可竞争性地与 Tie2 受体结合,阻断 Ang I 的作用导致血管内皮细胞凋亡,血管稳定性降低。Peter 等^[13]发现在牛视网膜内皮细胞培养液里加入 Ag 可以刺激 Ang 的表达。由此推测 Ag 也可能通过上调 Ang 参与 DR 的发生发展。因此,我们有理由推测 RAS 更重要的是通过 VEGF 参与了 DR 的发展,而 AgII 是 RAS 系统的最活跃分子。血管内皮细胞损伤是 DR 的重要标志,它的发生是新生血管形成所必须的。

4 RAS 基因多态性与糖尿病视网膜病变

由于 RAS 活性抑制剂能够阻止 DR 的进展,因此 RAS 基因多态性的研究引起了广泛的重视。目前,已经初步研究了与 DR 相关的 RAS 的 3 个多态性基因,即 ACE 插入/缺失多态性基因(ACE-I/D)、AGT-M235T 多态性基因(AGT-M235T)、AgII 受体 I -A1166C 多态性基因(AT1-A1166C)。这些基因的变异可能导致该系统不适当的激活,引起其效应产物 Ag II 的增加,从而通过一系列生物效应引发 DR。

Buraczynska 等^[14]通过 PCR 检测此 3 种多态性基因发现,ACE 和 AGT 多态性基因在等位基因频率和基因型分布上无统计学意义,而 AT1R 多态性基因在等位基因和基因型频率上却有明显差异,其中纯和子基因型在 DR 患者发生频率更高,因此,CC 基因型的患者增加了 DR 的易感性。廖岚等^[15]证实,增殖性和非增殖性 DR 患者 ACE-I/D 基因型频率无明显增加($P > 0.05$),血清中 ACE 活性相似($P > 0.05$),由此推断,ACE-I/D 多态性基因与 II 型 DR 的预后无关,ACE 不可能参与 II 型糖尿病患者的 DR 形成。现研究发现,ACE-I/D 的等位基因与 AGT-A1166C 的等位基因间的相互作用与 DR 有关,但仍没有被广泛的研究^[16]。

5 RAS 抑制剂治疗糖尿病视网膜病变的研究

5.1 ACEI 治疗糖尿病视网膜病变的研究 ACEI 为一线抗高血压药物,最近研究表明其对 DR 患者具有保护作用。Zhang 等^[17]研究发现,卡托普利可减少糖尿病大鼠视网膜内皮细胞血糖聚集,减轻内皮细胞损伤,改善病理情况下血管通透性增加。Moravski 等^[18]发现糖尿病大鼠视网膜内皮细胞增殖,视网膜上 VEGF 和 VEGFR-2 mRNA 表达明显增加,应用依那普利后,VEGF 和 VEGFR-2

mRNA 表达减少,视网膜病变的发生率减低,增殖性视网膜病变发生的风险也极大的降低^[19],这些结果显示,AT 所引起的视网膜血管收缩和功能改变等负面效应可被 ACEI 所抑制。同时卡托普利可刺激糖尿病大鼠视网膜神经纤维层的 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶,使其活性增强^[20],进而保护视网膜神经纤维层免受破坏。ACEI 有改善视网膜色素上皮层(RPE)的形态学变化,但引起 RPE 细胞间跨度的增加,这种变化的临床意义虽然不很清楚,但可以推测,这有助于 RPE 屏障功能的改善。

5.2 血管紧张素受体拮抗剂治疗 DR 的研究 目前认为血管紧张素受体拮抗剂可以延缓早期 DR 进展。以坎地沙坦为例,可能机制是:(1)减少 DR 小鼠视网膜血管白细胞聚集^[21];(2)改善视网膜血流动力学,增加糖尿病大鼠视网膜血流量;(3)减少视网膜 VEGF 表达^[22]。有学者就坎地沙坦是否能够改善高血糖导致的视网膜病变进展进行了研究,实验设原发性高血压组、糖尿病合并高血压组,每组分坎地沙坦治疗亚组和安慰剂亚组。该研究以 VEGF 作为 DR 进展的标志,以视网膜震荡电位潜伏期作为视网膜功能的指标。结果显示:与同年龄的原发性高血压组大鼠相比,糖尿病合并高血压组视网膜 VEGF 表达显著增加,视网膜震荡电位潜伏期延长,说明上述变化是由于高血糖而非高血压导致的;与安慰剂组相比,坎地沙坦治疗组视网膜 VEGF 表达降低,但血糖浓度无变化,说明坎地沙坦可能通过阻断眼组织局部的 RAS 起到预防高血糖导致的早期 DR 进展的作用。

6 展望

RAS 在 DR 患者眼组织中局部激活,并参与疾病进展,阻断系统可以延缓进展。目前研究集中在激活导致新生血管形成的机制,旨在为 DR 的治疗提供理论依据。RAS 系统在 DR 中所起的作用已日趋受到重视,应用其抑制剂治疗 DR 在基础及临床实验研究方面也取得了一定的进展,相信随着人们对 RAS 更加深入的探索,它将成为治疗 DR 的新希望。

参考文献

- 1 庞东渤,符娟娟,刘学政. 糖尿病性视网膜病变发病机制及治疗研究进展. 眼视光学杂志 2002;4(3):187-189
- 2 Khan ZA, Chakrabarti S. Cellular signaling and potential new treatment targets in diabetic retinopathy. *Exp Diabetes Res* 2007;2007:31867
- 3 Cbung HS, Harri S, Halter P, et al. Regional differences in retinal vascular reactivity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(10):2448-2453
- 4 Armulik A, Abramsson A, Betsholtz Z. Endothelial/pericyte interactions. *Circ Res* 2005;97(6):512-523
- 5 Franc RN. Potential new medical therapies for diabetic retinopathy: protein kinase C inhibitors. *Am J Ophthalmol* 2002;133(5):693-698
- 6 Alan W, Silt T. The role of Mvanced glycation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Exp Mol Pathology* 2003;75(1):952-958
- 7 Thomas GN, Critchley JA, Tomlinson B, et al. Renin-angiotensin system gene ploymorphisms and retinopathy in Chinese patients with type2 diabetes. *Diabetes Care* 2003;26(5):1643-1644
- 8 Kida T, Ikeda T, Smith IR, et al. Primary antiphospholipid syndrome masquerading as diabetic retinopathy. *Jpn J Ophthalmol* 2001;45(1):105-108
- 9 Wagner J, Jan-danser AH, Derkx FH, et al. Demonstration of renin

- mRNA, angiotensinogen mRNA, and angiotensin converting enzyme mRNA expression in the human eye; evidence for an intraocular renin-angiotensin system. *Br J Ophthalmol* 1996;80(10):159-163
- 10 Hammes HP, Lin J, Wagner P, *et al.* Renin angiotensin system in proliferative diabetic retinopathy and its gene expression in cultured human muller cells. *Jpn J Ophthalmol* 2003;47(1):36-41
- 11 Funatsu H, Yalnashita H, Ikeda T, *et al.* Relation of diabetic macular edema to cytokines and posterior vitreous detachment. *Am J Ophthalmol* 2003;135(3):321-327
- 12 Okada Y, Yanmnka I, Sakamoto T, *et al.* Increased expression of angiotensin converting enzyme in retinas of dlabetic rats T 1. *Jpn J Ophthalmol* 2001;45(6):585-591
- 13 Peter H, Ji HL, Patrick W, *et al.* Angiopietin-2 causes pericyte drop out in the normal retina. *Diabetes* 2004;53(4):1104-11101
- 14 Buraczynska M, Kslazek P, Lopatynski T, *et al.* Association of the renin angiotensin system gene polynomials with nephropathy in type II diabetes. *Am J Pol Arch Med Wewn* 2002;108(2):725-730
- 15 廖岚,雷闽湘,陈慧玲,等. II型糖尿病视网膜病变与血管紧张素转换酶基因多态性及其酶活性的研究. 湖南医科大学学报 1999;24(1):33-35
- 16 Marre M, Jeunemaitre X, Gallois Y, *et al.* Contribution of genetic polymorphism in the renin-angiotensin system to the development of renal complications in insulin-dependent diabetes; Genetique de la Nephropathie Dlabetique study group. *J Clin Invest* 1997;99(7):1585-1595
- 17 Zhang JZ, Gao L, Widness M, *et al.* Captopril inhibits glucose accumulation in retinal cells in diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(9):4001-4005
- 18 Moravski GT, Skinner SL, Stubbs AJ, *et al.* The rennin-angiotensin system influences ocular endothelial all proliferation in diabetes; transgenic and Interventional studies. *Am J Ophthalmol* 2003;162(1):151-160
- 19 Sjolie A, Chaturvedi N. The retinal renin-angiotensin system : implications for therapy in diabetic retinopathy. *J Hum Hypertens* 2002;16(Suppl 3):S42-46
- 20 Bensaoula T, Otliecz A. Biochemical and ultrastructural studies in the neural retina and retinal pigment epithelium of STZ-diabetic rat; effect of captopril. *J Ocul Pharmacol Ther* 2007;17(6):573-586
- 21 Mori F, Hikichi T, Nagaoka T, *et al.* Inhibitory effect of losartan, an AT1 angiotensin receptor antagonist, on increased leucocyte entrapment in retinal microcirculation of diabetic rats. *Br J Pathol* 2002;86(4):1172-1174
- 22 Du Y, Miller CM, Kern TS. Hyperglycemia increases mitochondrial superoxide in retina and retinal cells. *Free Radical Biol Med* 2003;35(11):1491-1499