

# 血清中 VEGF 和 bFGF 水平与糖尿病视网膜病变关系的临床研究

单俊杰<sup>1</sup>, 袁志兰<sup>2</sup>, 曹国平<sup>1</sup>

作者单位:<sup>1</sup> (225300) 中国江苏省泰州市人民医院眼科;  
<sup>2</sup> (210029) 中国江苏省南京市, 江苏省人民医院眼科  
作者简介: 单俊杰, 毕业于南京医科大学, 硕士, 主治医师, 研究方向: 白内障。

通讯作者: 单俊杰. chengzhanxiao@163. com

收稿日期: 2011-08-18 修回日期: 2011-10-26

## Relationship between serum level of the basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor and proliferative diabetic retinopathy

Jun-Jie Shan<sup>1</sup>, Zhi-Lan Yuan<sup>2</sup>, Guo-Ping Cao<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, People's Hospital of Taizhou City, Taizhou 225300, Jiangsu Province, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Jiangsu Provincial People's Hospital, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Jun-Jie Shan. Department of Ophthalmology, People's Hospital of Taizhou City, Taizhou 225300, Jiangsu Province, China. chengzhanxiao@163. com

Received: 2011-08-18 Accepted: 2011-10-26

### Abstract

• AIM: To explore the changes of the serum level of basic fibroblast growth factor (bFGF), vascular endothelial growth factor (VEGF) in diabetic patients and to investigate the role of bFGF, VEGF in the pathogenesis of diabetic retinopathy (DR).

• METHODS: Serum samples of DR patients with cataract were collected. The serum samples from the non-diabetic patients with cataract were chosen as the control. The serum level of the bFGF, VEGF protein was analysed by ELISA method.

• RESULTS: The levels of serum VEGF and bFGF were significantly higher in patients with DR than those in controls ( $P < 0.01$ ); The serum levels of VEGF and bFGF in patients with proliferative diabetic retinopathy (PDR) were significantly higher than those in non-PDR patients ( $P < 0.05$ ). The serum levels of VEGF and bFGF were associated with the severity degree of DR. Positive correlations were found between bFGF and VEGF ( $r = 0.419, P < 0.01$ ).

• CONCLUSION: bFGF and VEGF play an active role in the generation and development of DR and has a close relation with the neovascularization of the advanced stage of DR.

• KEYWORDS: basic fibroblast growth factor; vascular endothelial growth factor; retinopathy; diabetes mellitus; serum

Shan JJ, Yuan ZL, Cao GP. Relationship between serum level of the basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor and proliferative diabetic retinopathy. *Guji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011;11(12):2097-2098

### 摘要

目的: 探讨糖尿病视网膜病变患者血清中血管内皮细胞生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)水平与糖尿病视网膜病变的关系。

方法: 收集患有糖尿病视网膜病变白内障患者的血清样本, 并以无糖尿病白内障患者的血清样本作为对照, 用 ELISA 方法测定血清中 bFGF, VEGF 的含量。

结果: 对照组 12 例血清样本 bFGF 含量为  $(34.95 \pm 9.62)$  ng/L, VEGF 含量为  $(150 \pm 20)$   $\mu$ g/L; 单纯型 DR 组中 10 例 bFGF 含量为  $(52.6 \pm 7.54)$  ng/L, VEGF 含量为  $(330 \pm 50)$   $\mu$ g/L; 增生型 DR 组 7 例 bFGF 含量为  $(64.929 \pm 11.917)$  ng/L, VEGF 含量为  $(580 \pm 50)$   $\mu$ g/L。和对照组相比糖尿病患者血清中 bFGF, VEGF 的含量均显著增加 ( $P < 0.01$ ), 并且随着 DR 病情的进展而增高 ( $P < 0.05$ ); 血清中 VEGF 与 bFGF 之间呈正相关 ( $r = 0.419, P < 0.01$ )。

结论: VEGF, bFGF 参与了 DR 的发生发展, 并与 DR 后期新生血管形成关系密切。

关键词: 碱性成纤维细胞生长因子; 血管内皮细胞生长因子; 视网膜病变; 糖尿病; 血清

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2011.12.012

单俊杰, 袁志兰, 曹国平. 血清中 VEGF 和 bFGF 水平与糖尿病视网膜病变关系的临床研究. 国际眼科杂志 2011;11(12):2097-2098

### 0 引言

糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病常见和严重的并发症之一, 影响糖尿病患者的身心健康和生活质量。DR 是一个复杂的病理过程, 目前有大量研究显示研究表明碱性成纤维细胞生长因子(bFGF), 血管内皮细胞生长因子(VEGF)是能特异性促进血管内皮细胞生长的细胞因子, 在视网膜缺血缺氧性病变形成新生血管的过程中起重要作用。研究发现体外培养的人 ARPE-19 细胞能分泌 bFGF<sup>[1]</sup>。目前未有糖尿病患者血清 bFGF 变化以及上述变化与糖尿病患者 VEGF 相关性的研究报导。本研究运用分子生物学技术, 与临床研究相结合, 检测糖尿病患者血清 bFGF, VEGF 浓度的变化, 并探讨两者间是否存在相关性, 进一步探讨其在 DR 发病机制中的作用。

## 1 对象和方法

**1.1 对象** 血浆样本 29 例 29 眼全部采自泰州市人民医院眼科 2008-08/2010-04 行白内障超声乳化手术的部分患者。对照组 12 例 12 眼,男 6 例 6 眼,女 6 例 6 眼,年龄 56 ~ 82(平均 69.6)岁。对照组身体健康,均为成熟期或近成熟期的老年性白内障,无其他眼部疾病史。糖尿病患者组 17 例 17 眼,男 10 例 10 眼,女 7 例 7 眼,年龄 48 ~ 81(平均 64.3)岁。患者均经内科明确诊断为 2 型糖尿病 17 例 17 眼,因糖尿病性白内障而行手术治疗,手术前血糖均控制在 8.3mmol/L 以下,全身检查无其他特殊病变,亦无其他眼病史。人 bFGF, VEGF ELISA 试剂盒(均购自美国 R&D 公司)。采用美国  $\Sigma$ 550 型酶标仪。

## 1.2 方法

**1.2.1 标本采集** 术前检查血清样本移至已消毒并硅化的 0.5mL Eppendorf 管,放入液氮中,然后存放于 -70℃ ~ -80℃ 冰箱中待分析。

**1.2.2 ELISA 法测定前房液中 bFGF 含量** 从冰箱中取出样本,置于室温下 10min 待测。根据试剂盒说明,将标准品用稀释液定比稀释,充分混匀。将酶标板各孔依次编号,每孔中加入样品 200 $\mu$ L,并加入标准稀释液 50 $\mu$ L,混匀封口。室温下孵育 2h,弃液,冲洗液冲洗 3 次。在各孔中加入辣根过氧化氢酶标记的抗 bFGF 多克隆抗体 200 $\mu$ L,室温下孵育 2h。弃液,用冲洗液冲洗 3 次,在各孔中加入底物显色溶液 200 $\mu$ L,混匀。室温下放置 20min,避光保存。然后在各孔中加入反应终止液 50 $\mu$ L,混匀。酶标仪 450nm 处读数,在 30min 内测定各孔吸光度值(A 值)。根据定比稀释标准品的 A 值绘制标准曲线。根据样品 A 值和标准曲线,算出样本中 bFGF 的含量(ng/L), VEGF 的含量( $\mu$ g/L)。

统计学分析:每个样本作两个孔取其 A 值的平均数,以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。采用 SPSS 10.0 统计软件包对结果进行单因素方差分析及采用 F 检验的方差分析及 t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

正常及不同眼底病情糖尿病患者血清 VEGF, bFGF 浓度变化。对照组:血清样本 bFGF 含量为(34.95  $\pm$  9.615) ng/L, VEGF 含量为(150  $\pm$  20)  $\mu$ g/L。根据患者手术后眼底检查及眼底荧光血管造影,患者组可分为:(1)单纯型 DR 组:眼底出现微血管瘤和(或)出血点、斑和(或)硬性渗出及软性渗出。共 10 例 10 眼,单纯型 DR 组中 10 例 bFGF 含量为(52.6  $\pm$  7.54) ng/L, VEGF 含量为(330  $\pm$  50)  $\mu$ g/L;(2)增生型 DR 组:眼底有新生血管和(或)纤维增生。共 7 例 7 眼,7 例 bFGF 含量为(64.929  $\pm$  11.917) ng/L, VEGF 含量为(580  $\pm$  50)  $\mu$ g/L;对照组与单纯型 DR 组、增生型 DR 组之间血清样本 bFGF, VEGF 浓度均有显著差异,呈明显增加趋势(P < 0.01)。单纯型 DR 组与增生型 DR 组血清样本 bFGF, VEGF 浓度有显著差异(P < 0.05)。血清中 VEGF 与 bFGF 之间呈正相关(r = 0.419, P < 0.01)。

## 3 讨论

bFGF 又名 FGF-2 或肝磷脂结合生长因子 2 (HBGF-2)。在体外可促进内皮细胞的有丝分裂和内皮细胞的趋化性移动,诱导内皮细胞产生某些因子以破坏基底膜和促进毛

细血管内皮细胞的迁移形成胶原基质,形成毛细管状微管<sup>[2]</sup>最终形成新生血管。新生血管的形成包括血管内皮细胞基底膜的降解,内皮细胞的趋化,迁移,增生,新生血管腔形成及新生血管成熟等几个步骤<sup>[3]</sup>。新生血管化受多个因子如 VEGF, bFGF, EGF 等调控,他们之间可能存在协同作用。bFGF 是一种强效促新生血管形成生长因子,它作用于新生血管形成的每一环节。bFGF 以直接和间接方式(上调 VEGF)促进血管内皮细胞增殖, bFGF 和低氧对促进血管内皮细胞增殖有协同增强作用<sup>[4]</sup>。在低氧和正常氧气情况下 bFGF 均能促进牛脉络膜毛细血管内皮细胞的迁移和微血管腔的形成<sup>[5,6]</sup>。bFGF 和 VEGF 在牛毛细血管内皮细胞的增殖和微血管腔形成有协同增强作用<sup>[6]</sup>。本实验中发现血清中 VEGF 与 bFGF 之间呈正相关(r = 0.419, P < 0.01)恰恰印证了上述结论。

临床中发现,在 AMD,增殖性糖尿病视网膜病变(PDR),非缺血性增殖性视网膜病变的视网膜和脉络膜的新生血管膜上都有 bFGF 和 VEGF 的表达<sup>[7]</sup>,与上述实验室结果相互印证。在 PDR 的玻璃体液中血管生长因子如 bFGF 和 VEGF, EGF 的水平与不同的病程(活动期,纤维化期)和接受胰岛素治疗与否有关<sup>[8]</sup>。缺血的视网膜分泌生长因子如 bFGF, PDGF, VEGF, IGF 使残留的血管增殖,在 PDR 患者的视网膜前膜及玻璃体中发现有上述因子的表达增加<sup>[9]</sup>,说明 VEGF, bFGF 在增殖性视网膜病变中可能具有重要作用。VEGF, bFGF 与 DR 的发生发展关系密切,本研究提示,除了积极控制血糖和进行视网膜保护之外,在糖尿病早期有效地影响或阻止 VEGF, bFGF 的过度表达和作用,将会是 DR 的预防和治疗一个新的有效途径。

## 参考文献

- 1 单俊杰,袁志兰,王斌.金雀异黄素对缺氧诱导的人 ARPE-19 细胞内碱性成纤维细胞生长因子蛋白表达的影响.国际眼科杂志 2004;4(6):994-997
- 2 Burgess WH, Maciag T. The heparin-binding (fibroblast) growth factor family of proteins. *Annu Rev Biochem* 1989;58(2):575-606
- 3 Seki M, Toi M, Kobayashi K, et al. Differential behavior of VEGF receptor expression and response to TNP-470 in two immortalized human endothelial cell lines. *Int J Oncol* 2000;17(3):525-533
- 4 Watanabe A, Kurabayashi M, Arai M, et al. Combined effect of retinoic acid and basic FGF on PAI-1 gene expression in vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* 2001;51(1):151-159
- 5 Wang YS, Friedrichs U, Eichler W, et al. Inhibitory effects of triamcinolone acetonide on bFGF-induced migration and tube formation in choroidal microvascular endothelial cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002;240(1):42-48
- 6 Spraul CW, Baldysiak-Figiel A, Lang GK, et al. Octreotide inhibits growth factor-induced bovine choriocapillary endothelial cells *in vitro*. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2002;240(3):227-231
- 7 Frank RN, Amin RH, Elliott D, et al. Basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor are present in epiretinal and choroidal neovascular membranes. *Am J Ophthalmol* 1996;122(3):393-403
- 8 Boulton M, Gregor Z, McLeod D, et al. Intravitreal growth factors in proliferative diabetic retinopathy: correlation with neovascular activity and glycaemic management. *Br J Ophthalmol* 1997;81(3):228-233
- 9 Paques M, Massin P, Gaudric A. Growth factors and diabetic retinopathy. *Diabetes Metab* 1997;23(2):125-130