

糖尿病性视网膜病变基因多态性的研究进展

周真宝, 徐国兴

基金项目:福建省自然科学基金资助项目(No. 2012J01344)
作者单位:(350005)中国福建省福州市,福建医科大学附属第一医院眼科 福建省眼科研究所
作者简介:周真宝,男,眼科学硕士研究生,研究方向:晶状体与视网膜疾病的基础与临床。
通讯作者:徐国兴,男,教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:晶状体与视网膜疾病的基础与临床. fjmuxuguoxing@hotmail.com
收稿日期:2013-04-18 **修回日期:**2013-07-15

Progress on genetic polymorphism associated with diabetic retinopathy

Zhen-Bao Zhou, Guo-Xing Xu

Foundation item: Natural Science Foundation of Fujian Province, China (No. 2012J01344)

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China

Correspondence to: Guo-Xing Xu. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China. fjmuxuguoxing@hotmail.com

Received:2013-04-18 Accepted:2013-07-15

Abstract

• Diabetic retinopathy (DR) is one of the most serious complications of diabetes, as the second general blindness disease in the world currently. The development of procedures for prevention and treatment of DR is one of the most important problems that should be solved currently. A lot of researches show that the development of DR is determined by genetics. The current research advance in DR relevant gene is reviewed in this article.

• **KEYWORDS:** diabetic retinopathy; gene polymorphism; gene

Citation: Zhou ZB, Xu GX. Progress on genetic polymorphism associated with diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2013;13(8):1575-1578

摘要

糖尿病性视网膜病变作为目前全球第二大致盲性疾病,是糖尿病最严重的并发症之一。寻找有效的预防和治疗方法,是目前急需解决的问题。有研究表明,糖尿病性视网膜病变的发病与遗传因素密切相关。本文主要对糖尿病性视网膜病变的相关基因的研究现状进行综述。

关键词:糖尿病性视网膜病变;基因多态性;基因

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2013.08.17

引用:周真宝,徐国兴.糖尿病性视网膜病变基因多态性的研究进展.国际眼科杂志 2013;13(8):1575-1578

0 引言

糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病最常见和最严重的微血管并发症之一,其病理基础主要是视网膜缺血、缺氧,诱导新生血管形成,最终玻璃体积血、机化,形成牵拉性视网膜脱离。DR作为一种多因素作用的疾病,与多元醇代谢异常、蛋白质非酶糖化、自由基作用、糖化血红蛋白、细胞因子有关。迄今为止,对DR发病机制尚未完全阐明,通常认为与糖尿病病程及糖尿病控制情况有关,但临床中发现一些糖尿病病程不长、病情控制良好的患者仍出现DR,在排除了其他因素的影响后,发现其与遗传因素存在一定联系。现将与DR相关基因的研究现状进行概述。

1 糖尿病性视网膜病变相关候选基因

1.1 血管内皮生长因子基因 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种具有高度特异性的血管内皮细胞有丝分裂素,具有促进内皮细胞增殖、诱导血管形成、增加血管通透性等多种生物学功能。其发挥生物学功能的分子生物学基础是通过与特异性受体(VEGF receptor, VEGFR)结合,介由蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)途径,而发挥其生物学功能。生理状态下,视网膜的周细胞、色素上皮细胞和内皮细胞低表达VEGF,维持眼部血管的完整性。缺氧等多种因素影响下,则诱导VEGF过表达。临床研究发现DR患者眼内及血清中VEGF表达量明显升高,而玻璃体切割术后VEGF表达量明显减少^[1],提示VEGF在DR发生中的重要作用。

近年来抗VEGF蛋白产物已应用于临床,并取得了一定的疗效。但是从基因层面来阻断DR的进展,尚未见报道。为此,VEGF基因多态性与DR的相关性的研究倍受关注。目前对VEGF基因多态性的研究,主要集中于+405G/C和-634C/G位点。Fegghi等^[2]对伊朗人群中119例PDR患者与279例NPDR患者的+405 G/C VEGF基因多态性进行分析,发现VEGF +405 GG基因多态性可能与伊朗人群的PDR的发生发展有关。Szaflik等^[3]则发现+405基因的C等位点是DR发生的危险因素。而在西班牙裔高加索人群中,未发现VEGF+405基因多态性与DR存在相关性^[4]。Awata等^[5]针对日本人群70例PDR患者和118例单纯糖尿病患者进行比较,未能发现VEGF-634C/G基因多态性的CC基因型与PDR的进展存在联系($P=0.081$),但与DR和糖尿病黄斑病变的进展相关^[5,6]。同时,在印度人群及高加索人群中也未能证实VEGF-634C/G基因多态性的CC基因型与DR的进展存在联系^[7,8]。而Yang等^[9]进一步对中国汉族人群的VEGF启动区-634 C/G位点的基因多态性进行分析,发现中国汉族人群中2型糖尿病患者VEGF启动区-634 C/G位点基

因多态性 DR 发生密切相关,而且此位点可能是促使血浆中 VEGF 升高的主要原因。

1.2 醛糖还原酶基因 醛糖还原酶(aldehyde reductase, AR)是一种存在于细胞质中的以 NADPH 为辅酶的单体酶,隶属于醛酮还原酶超家族,大量存在于周细胞中。研究显示,高糖条件下,AR 高表达,诱导葡萄糖大量转化为山梨醇,山梨醇在山梨醇脱氢酶作用下,转化为果糖。山梨醇、果糖极性差,渗透性差,不能自由穿过细胞膜,在细胞内大量堆积,造成细胞内高渗环境,细胞外液渗入,细胞水肿、代谢紊乱、结构功能受损,进而造成微血管病变。亦有研究显示,AR 可促使大量的 NADPH 转化成 NADP⁺,减少细胞内谷胱甘肽等抗氧化物质的生成^[10]。针对 AR 的特性,许多文献报道利用醛糖还原酶抑制剂治疗 DR,取得了一定的疗效^[11,12],但缺乏一定的可行性,目前尚不能广泛应用于临床。

人类 AR 基因定位于染色体 7q35,目前针对 AR 基因多态性与 DR 相关性的研究,主要集中在 C(-106)T 多态 CT/TT 基因型及 Z-2 等位基因。据 Uthra 等^[13]报道 Z-2 等位基因是印度人群中 2 型糖尿病患者 DR 进展的一种危险因素。这点在高加索人群中得到了验证^[14]。Flavio 等也发现在巴西人群中,Z 等位基因是 1 型糖尿病患者 PDR 进展的危险因素,而 C(-106)T 基因多态性在与 Z 等位基因一起分析时,其也是 PDR 进展的危险因素,然而单独考虑时,则与糖尿病的微血管病变不相关^[15]。据 dos Santos 等^[16]报道,C(-106)T 基因多态性则与高加索裔巴西人群中 2 型糖尿病患者 PDR 的进展相关。在日本人群中,C(-106)T 基因多态性与 DR 进展的严重程度亦得到了验证^[17]。而在我国,尹虹等^[18]报道,在甘肃地区回族人群中存在 AR 基因启动子区 C(-106)T 多态性,且 T 等位基因可能与 DR 的发生相关。

1.3 糖基化终末产物受体 糖基化终末产物受体(advanced glycosylation end product-specific receptor,AGER 或 RAGE)是一种多配体受体,属于免疫球蛋白超家族的细胞表面分子,不仅可与糖基化终末产物(advanced glycosylation end products,AGEs)结合,还可与其他配体如两性素、S100/钙粘蛋白等结合而发挥作用。AGEs 可增加血管通透性,促进细胞因子释放,诱导炎症反应,减轻 NO 的舒张血管作用和增加氧压力、促进低密度脂蛋白的氧化等作用。AGEs 与 RAGE 结合,通过(1) JAK-STAT;(2) MAPKs;(3) Ras-Rac-Cdc42;(4) (PI3-K)-Akt/PKB 旁路途径而发挥作用。研究发现 RAGE 亚型的失调可导致阿尔兹海默病、动脉粥样硬化、风湿性关节炎、血管性疾病、1 型或 2 型糖尿病及糖尿病并发症^[19]。

RAGE 基因定位于染色体的 6p21.3,目前对 RAGE 基因与 DR 进展的相关性研究最多的位点主要是 Gly82Ser。Gly82Ser 基因多态性与 DR 严重程度在高加索人、马来西亚人群中已得到否定^[20,21]。Uthra 等^[13]亦报道 Gly82Ser 基因多态性与印度人群中 2 型糖尿病患者 DR 的进展不相关,而 Balasubbu 等^[22]在印度南部人群中重复相同的研究,则发现其与 DR 的进展密切相关。在中国人群中,Zhang 等^[23]报道 Gly82Ser 基因多态性是 2 型糖尿病患者 DR 的危险因素。另外还可见到关于 RAGE 基因另外一些位点与 DR 相关性的报道。Lindholm 等^[24]研究报道在日耳曼人群中,1 型糖尿病患者 RAGE 基因-374T/A 等位点是 DR 进展的危险因素,并与 HLA-DQB-1 有关。2011

年,Ng 等^[25]在马来西亚人群中,第一次报道了 2245G/A 基因多态性与 2 型糖尿病患者 DR 的发生发展密切相关。**1.4 色素上皮衍生因子基因** 色素上皮衍生因子(pigment epithelial derived factor, PEDF)是一种含 418 个氨基酸的糖蛋白,属于丝氨酸蛋白酶抑制剂超家族。正常人体内都可检测到 PEDF,但主要存在于神经系统和视网膜,房水和玻璃体腔中也有较高浓度的 PEDF^[26]。PEDF 不仅能抑制视网膜血管内皮细胞的增殖与迁徙,减少眼内的血管性出血,还能抑制缺氧诱导的视网膜新生血管化^[27],促进视网膜的修复^[1]。在眼内,PEDF 含量与 VEGF 含量保持着一个动态平衡的关系。VEGF 通过与 VEGFR-1 的集合,而上调 PEDF 的表达。亦有研究显示,在高血糖条件下,眼内 Müller 细胞中的 PEDF 能诱导谷氨酰胺合成酶的高表达,谷氨酰胺合成酶可抑制 IL-1 β 的表达,从而起到抗炎的作用^[28]。

作为一种保护性细胞因子,PEDF 编码基因定位于染色体 17p13,其基因的表达受血糖、胰岛素、VEGF 等的负性调节。目前相对于 VEGF,PEDF 基因多态性与 DR 关系的研究相对较少。据 Iizuka 等^[29]的报道,日本人群 2 型糖尿病患者 rs12150053 位点的 TC 或 CC 基因型(OR 2.40 P=0.0004)和 rs12948385 位点的 GA 或 AA 基因型,与 VEGF 在 DR 的进展中有交互作用。然而在印度人群的研究中则发现 rs12150053 和 rs12948385 位点与 DR 发生发展不相关^[22]。同时 Yamagishi 等^[30]针对 143 例糖尿病患者(10 例 1 型糖尿病患者与 133 例 2 型糖尿病患者),未发现 PEDF 的 Met72Thr 基因多态性与 DR 的进展存在相关性。Uthra 等^[31]则发现 T130T 位点的基因多态性对 DR 有一定的保护作用。

1.5 血管紧张素转换酶基因 血管紧张素转换酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)是一种 Zn²⁺ 依赖型羧基二肽酶,为膜整合的单链糖蛋白,其发挥功能主要通过肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)介导。ACE 可水解血管紧张素 I(Ang I),产生血管紧张素 II(Ang II)。Ang II 与其受体结合,介导肾素原的分泌,参与控制视网膜血液循环,还可通过直接或间接地上调 VEGF 水平,介导结缔组织生长因子的过表达,促进纤维增殖,参与 PDR 的进展。已有报道,血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)能有效促进糖尿病导致的视网膜血管、神经元及神经胶质细胞的功能修复,有效改善 1 型及 2 型糖尿病合并 DR 患者的眼部情况^[32,33]。

人 ACE 基因定位于染色体 17q23,ACE 基因第 16 内含子有一段 287bp 的 Alu 重复序列,存在 I/D(插入/缺失)多态性,导致三种基因型,II 型:490bp;DD 型:190bp;DI 型:490bp/190bp。关于 ACE 基因多态性与 DR 相关性的研究可见大量报道。Degirmenci 等^[34]报道在土耳其 2 型糖尿病患者中,ACE DD 基因型是引起肾脏病变和视网膜病变的危险因素,II 基因型则是保护因素,同时 ID 基因型可能是引起肾脏病变的危险因素。大量的 Meta 分析也报道在中国汉族人群中,ACE I/D 基因多态性与 PDR 患者显著相关,而与背景型 DR 不相关^[35]。Globocnik-Petrovic 等^[36]在高加索人群中也未能发现 ACE I/D 基因多态性与 DR 进展存在相关性。2010 年 Nikzamir 等^[37]重复相似的研究,仍然未发现 ACE 的 D 等位基因与伊朗人群 2 型糖尿病患者 DR 存在相关性。与此同时,在 2012 年 Liang 等^[38]则发现了 ACE 的 2350G/A 基因多态性与中国

汉族人群 2 型糖尿病患者 DR 的发生发展密切相关。

1.6 一氧化氮合酶基因 一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS) 是一氧化氮 (NO) 合成的关键酶, NO 是一种重要的血管活性物质, 可调节眼底微循环血流动力学, 维持视网膜血管的张力还可以使血管舒张, 阻止白细胞和血小板侵犯血管壁, 保护血管内皮细胞。在人体内, NOS 包含 3 种亚型: 神经型 (NOS1, nNOS)、诱导型 (NOS2, iNOS) 和内皮细胞型 (NOS3, eNOS)。相关研究表明, 糖尿病早期血管中血流加快、血管通透性增加与 NO 增多密切相关, 高糖环境, 能诱导 iNOS 表达, 并抑制 eNOS 表达, 从而产生过多的 NO。

目前对 NOS 基因与 DR 进展相关性研究最多的 eNOS 亚型基因。eNOS 基因位于染色体 7q-35-26, 其基因变异, 主要有以下几种: (1) 第 4 内含子处 27bpVNTR, 据此又可将 eNOS 分为 3 种基因型: 4a (缺失)/b (插入), 4a/a, 4b/b; (2) 第 7 外显子处 Glu298Asp; (3) 启动子区 T⁻⁷⁸⁶→C; (4) 第 13 内含子处 (CA)_n 的多态重复; (5) 启动子区 A⁻⁹²²→G; (6) 启动子区 T⁻¹⁴⁶⁸→A; (7) 第 18 内含子 A→C 替代; (8) 第 23 内含子处的 G→T 替代。eNOS 基因 4b/b 基因型与 DR 进展的相关性在突尼斯人及中国汉族人种已得到肯定^[39,40]。Chen 等^[41]报道 4a/b 使西非人群 DR 发生的风险明显增加。Cilensek 等^[42]则发现 4a/b 是高加索人群 DR 发生的危险因素。然而在巴西白种人、印度人群中^[43,44], 则未发现 eNOS 基因型与 DR 发生存在相关性。这说明人种、地域等因素也参与了对 DR 发生的影响。另有研究结果显示, eNOS 基因 T-786C, Glu298Asp 基因多态性与 DR 进展密切相关^[39]。

1.7 促红细胞生成素基因 促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO) 是一种单链的酸性糖蛋白, 包括 α, β 两种类型, 两者生物学特性、抗原性及临床效果均相同。EPO 除了具有促进红系祖细胞的增生, 诱导分化, 调节红细胞生成外, 近年来还发现其在缺血、缺氧状态下, 具有神经元保护作用及促进神经系统发育^[45]。EPO 通过与其受体结合, 依赖蛋白酪氨酸磷酸激酶 (JAK-2) 级联信号转导途径的激活来发挥其作用。研究发现在 PDR 等缺血性视网膜病变患者的玻璃体中, EPO 表达高度上调^[46], 说明 EPO 参与了 DR 的发生, 而目前 EPO 运用于 DR 的治疗, 也处于起步阶段。

EPO 基因位于染色体的 7q22, 已有报道在高加索人群 EPO 基因启动子区的 rs1617640 与 DR 有强相关^[47]。Abhary 等^[48]基于澳大利亚人群的一项临床多中心研究显示, EPO 基因的 rs507392, rs1617640, rs551238 位点及其 GCC 单体型与 2 型糖尿病患者合并 PDR 和糖尿病性黄斑水肿显著相关, 而与 1 型糖尿病患者不相关。Balasubbu 等^[22]在印度人群的研究中却未发现相似结果。然而 Williams 等^[49]对先前相关 1 型糖尿病性血管性疾病有关基因研究报道的文献进行 meta 分析, 发现 EPO 基因启动子区的 rs1617640 位点与英国人群中 1 型糖尿病合并 PDR 和终末期肾脏疾病患者有一定的相关性。

1.8 其他基因 除上述与糖尿病性视网膜病变密切相关的基因外, 对氧磷脂酶基因、细胞黏附分子-1 (ICAM-1) 基因等基因多态性与 DR 的相关性, 也可见大量报道。

2 结语

目前国际上研究 DR 基因多态性的方法主要有直接测序、限制性片段长度多态分析 (PCR-RFLP) 和单核苷酸

多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 标记, SNP 是近年来兴起的应用于基因遗传学的方法, 并被逐渐应用于 DR 基因多态性的研究中, 但仍缺乏基因个体多样性的研究。此外, 还有一些方法也被应用于相关候选基因的研究中, 如全基因组关联研究 (genomewide association study, GWA)^[50]。GWA 可于大样本中针对共同疾病的相同因素发现一些可疑基因, 但对影响疾病发展的个别因素不能被纳入研究。然而这种方法在 DR 相关候选基因多态性研究中的应用和实用性还有待进一步验证。

从上述与糖尿病性视网膜病变相关候选基因中可以发现, 不同基因的表达在 DR 的发病中存在地域与种族的差异性, 不同基因在 DR 发病的不同阶段也存在差异性。虽然对糖尿病性视网膜病变相关基因多态性的研究已取得可喜的进展, 但其研究结果对解释 DR 的发病机制及各相关基因在 DR 疾病过程中所发挥的作用, 仍有待深入探索。

参考文献

- Li S, Fu XA, Zhou XF, et al. Angiogenesis-related cytokines in serum of proliferative diabetic retinopathy patients before and after vitrectomy. *Int J Ophthalmol* 2012;5(6):726-730
- Feghli M, Nikzami A, Esteghamati A, et al. Relationship of vascular endothelial growth factor (VEGF) + 405 G/C polymorphism and proliferative retinopathy in patients with type 2 diabetes. *Transl Res* 2011;158(2):85-91
- Szaflik JP, Wysocki T, Kowalski M, et al. An association between vascular endothelial growth factor gene promoter polymorphisms and diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008;246(1):39-43
- Bleda S, De Haro J, Varela C, et al. Vascular endothelial growth factor polymorphisms are involved in the late vascular complications in Type II diabetic patients. *Diab Vasc Dis Res* 2012;9(1):68-74
- Awata T, Kurihara S, Takata N, et al. Functional VEGF C-634G polymorphism is associated with development of diabetic macular edema and correlated with macular retinal thickness in type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;333(3):679-685
- Awata T, Inoue K, Kurihara S, et al. A common polymorphism in the 5'-untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51(5):1635-1639
- Suganthalakshmi B, Anand R, Kim R, et al. Association of VEGF and eNOS gene polymorphisms in type 2 diabetic retinopathy. *Mol Vis* 2006;12:336-341
- Petrovic MG, Korosec P, Kosnik M, et al. Local and genetic determinants of vascular endothelial growth factor expression in advanced proliferative diabetic retinopathy. *Mol Vis* 2008;14:1382-1387
- Yang Y, Andresen BT, Yang K, et al. Association of vascular endothelial growth factor - 634C/G polymorphism and diabetic retinopathy in type 2 diabetic Han Chinese. *Exp Biol Med (Maywood)* 2010;235(10):1204-1211
- Tang WH, Martin KA, Hwa J. Aldose reductase, oxidative stress, and diabetic mellitus. *Front Pharmacol* 2012;3:87
- Kumar H, Shah A, Sobhia ME. Novel insights into the structural requirements for the design of selective and specific aldose reductase inhibitors. *J Mol Model* 2012;18(5):1791-1799
- Veeresham C, Swetha E, Rao AR, et al. In Vitro and In Vivo aldose reductase inhibitory activity of standardized extracts and the major constituent of andrographis paniculata. *Phytother Res* 2013;27(3):412-416
- Uthra S, Raman R, Mukesh BN, et al. Diabetic retinopathy: Validation study of ALR2, RAGE, iNOS and TNFB gene variants in a south Indian cohort. *Ophthalmic Genet* 2010;31(4):244-251
- Petrovic MG, Peterlin B, Hawlina M, et al. Aldose reductase (AC)n gene polymorphism and susceptibility to diabetic retinopathy in Type 2

- diabetes in Caucasians. *J Diabetes Complications* 2005;19(2):70-73
- 15 Richeti F, Noronha RM, Waetge RT, et al. Evaluation of AC(n) and C(-106)T polymorphisms of the aldose reductase gene in Brazilian patients with DM1 and susceptibility to diabetic retinopathy. *Mol Vis* 2007;13:740-745
- 16 dos Santos KG, Canani LH, Gross JL, et al. The -106CC genotype of the aldose reductase gene is associated with an increased risk of proliferative diabetic retinopathy in Caucasian-Brazilians with type 2 diabetes. *Mol Genet Metab* 2006;88(3):280-284
- 17 Katakami N, Kaneto H, Takahara M, et al. Aldose reductase C-106T gene polymorphism is associated with diabetic retinopathy in Japanese patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;92(3):57-60
- 18 尹虹, 张莹丽, 陈华琴, 等. 醛糖还原酶基因启动子区 C(-106)T 多态性与 2 型糖尿病视网膜病的相关性. *中华临床医师杂志* 2010;4(10):1881-1884
- 19 Kalea AZ, Schmidt AM, Hudson BI. RAGE: a novel biological and genetic marker for vascular disease. *Clin Sci (Lond)* 2009;116(8):621-637
- 20 Kang P, Tian C, Jia C. Association of RAGE gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus, diabetic retinopathy and diabetic nephropathy. *Gene* 2012;500(1):1-9
- 21 Ng ZX, Kuppusamy UR, Poh R, et al. Lack of association between Gly82Ser, 1704G/T and 2184A/G of RAGE gene polymorphisms and retinopathy susceptibility in Malaysian diabetic patients. *Genet Mol Res* 2012;11(1):455-461
- 22 Balasubbu S, Sundaresan P, Rajendran A, et al. Association analysis of nine candidate gene polymorphisms in Indian patients with type 2 diabetic retinopathy. *BMC Med Genet* 2010;11:158
- 23 Zhang HM, Chen LL, Wang L, et al. Association of 1704G/T and G82S polymorphisms in the receptor for advanced glycation end products gene with diabetic retinopathy in Chinese population. *J Endocrinol Invest* 2009;32(3):258-262
- 24 Lindholm E, Bakhtadze E, Sjogren M, et al. The -374 T/A polymorphism in the gene encoding RAGE is associated with diabetic nephropathy and retinopathy in type 1 diabetic patients. *Diabetologia* 2006;49(11):2745-2755
- 25 Ng ZX, Kuppusamy UR, Tajunisah I, et al. Association analysis of -429T/C and -374T/A polymorphisms of receptor of advanced glycation end products (RAGE) gene in Malaysian with type 2 diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2012;95(3):372-377
- 26 Ide Y, Matsui T, Ishibashi Y, et al. Pigment epithelium-derived factor inhibits advanced glycation end product-elicited mesangial cell damage by blocking NF-kappaB activation. *Microvasc Res* 2010;80(2):227-232
- 27 Haurigot V, Villacampa P, Ribera A, et al. Long-term retinal PEDF overexpression prevents neovascularization in a murine adult model of retinopathy. *PLoS One* 2012;7(7):e41511
- 28 Shen X, Xie B, Cheng Y, et al. Effect of pigment epithelium derived factor on the expression of glutamine synthetase in early phase of experimental diabetic retinopathy. *Ocul Immunol Inflamm* 2011;19(4):246-254
- 29 Iizuka H, Awata T, Osaki M, et al. Promoter polymorphisms of the pigment epithelium-derived factor gene are associated with diabetic retinopathy. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;361(2):421-426
- 30 Yamagishi S, Amano S, Inagaki Y, et al. Pigment epithelium-derived factor Met72Thr polymorphism in patients with diabetic microangiopathy. *Int J Clin Pharmacol Res* 2002;22(3-4):67-71
- 31 Uthra S, Raman R, Mukesh BN, et al. Protein kinase C beta (PRKCB1) and pigment epithelium derived factor (PEDF) gene polymorphisms and diabetic retinopathy in a south Indian cohort. *Ophthalmic Genet* 2010;31(1):18-23
- 32 Wright AD, Dodson PM. Diabetic retinopathy and blockade of the renin-angiotensin system: new data from the DIRECT study programme. *Eye (Lond)* 2010;24(1):1-6
- 33 Harindhanavudhi T, Mauer M, Klein R, et al. Benefits of Renin-Angiotensin blockade on retinopathy in type 1 diabetes vary with glycemic control. *Diabetes Care* 2011;34(8):1838-1842
- 34 Degirmenci I, Kebapci N, Basaran A, et al. Frequency of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in Turkish type 2 diabetic patients. *Int J Clin Pract* 2005;59(10):1137-1142
- 35 Lu Y, Ge Y, Hu Q, et al. Association between angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and diabetic retinopathy in the Chinese population. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2012;13(2):289-295
- 36 Globocnik - Petrovic M, Hawlina M, Peterlin B, et al. Insertion/deletion plasminogen activator inhibitor 1 and insertion/deletion angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms in diabetic retinopathy in type 2 diabetes. *Ophthalmologica* 2003;217(3):219-224
- 37 Nikzamir A, Rashidi A, Esteghamati A, et al. The relationship between ACE gene insertion/deletion polymorphism and diabetic retinopathy in Iranian patients with type 2 diabetes. *Ophthalmic Genet* 2010;31(3):108-113
- 38 Liang S, Pan M, Hu N, et al. Association of angiotensin-converting enzyme gene 2350 G/A polymorphism with diabetic retinopathy in Chinese Han population. *Mol Biol Rep* 2013;40(1):463-468
- 39 Ezzidi I, Miraoui N, Mohamed MB, et al. Endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp, 4b/a, and T-786C polymorphisms in type 2 diabetic retinopathy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008;68(4):542-546
- 40 岳枚, 喻晓兵, 戴虹, 等. 内皮型一氧化氮合酶基因第 4 内含子中 27 碱基对重复序列多态性与糖尿病视网膜病变的相关性研究. *中华眼底病杂志* 2011;27(3):214-217
- 41 Chen Y, Huang H, Zhou J, et al. Polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with diabetic retinopathy in a cohort of West Africans. *Mol Vis* 2007;13:2142-2147
- 42 Cilensek I, Mankoc S, Globocnik Petrovic M, et al. The 4a/4a genotype of the VNTR polymorphism for endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene predicts risk for proliferative diabetic retinopathy in Slovenian patients (Caucasians) with type 2 diabetes mellitus. *Mol Biol Rep* 2012;39(6):7061-7067
- 43 Petrovic MG, Cilensek I, Petrovic D. Manganese superoxide dismutase gene polymorphism (V16A) is associated with diabetic retinopathy in Slovene (Caucasians) type 2 diabetes patients. *Dis Markers* 2008;24(1):59-64
- 44 Santos KG, Crispim D, Canani LH, et al. Relationship of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene polymorphisms with diabetic retinopathy in Caucasians with type 2 diabetes. *Ophthalmic Genet* 2012;33(1):23-27
- 45 Fisher JW. Landmark advances in the development of erythropoietin. *Exp Biol Med (Maywood)* 2010;235(12):1398-1411
- 46 Garcia - Ramirez M, Hernandez C, Simo R. Expression of erythropoietin and its receptor in the human retina: a comparative study of diabetic and nondiabetic subjects. *Diabetes Care* 2008;31(6):1189-1194
- 47 Tong Z, Yang Z, Patel S, et al. Promoter polymorphism of the erythropoietin gene in severe diabetic eye and kidney complications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105(19):6998-7003
- 48 Abhary S, Burdon KP, Casson RJ, et al. Association between erythropoietin gene polymorphisms and diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 2010;128(1):102-106
- 49 Williams WW, Salem RM, McKnight AJ, et al. Association testing of previously reported variants in a large case-control meta-analysis of diabetic nephropathy. *Diabetes* 2012;61(8):2187-2194
- 50 Fugger L, McVean G, Bell JL. Genomewide association studies and common disease-realizing clinical utility. *N Engl J Med* 2012;367(25):2370-2371