

色素上皮衍生因子在 DR 中的抗氧化应激作用

赵春会, 吕红彬, 周琦

作者单位: (646000) 中国四川省泸州市, 泸州医学院附属医院眼科

作者简介: 赵春会, 泸州医学院在读硕士研究生, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 吕红彬, 博士, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 眼底病. 250512120@qq.com

收稿日期: 2013-11-06 修回日期: 2014-03-10

Research advances on pigment epithelium derived factor of resisting oxidative stress in diabetic retinopathy

Chun-Hui Zhao, Hong-Bin Lü, Qi Zhou

Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Hong-Bin Lü. Department of Ophthalmology, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 250512120@qq.com

Received: 2013-11-06 Accepted: 2014-03-10

Abstract

• Diabetic retinopathy (DR) is one of the most serious and common microvascular complications of diabetes, and it is a major cause of blindness all over the world. However, its exact pathogenesis is complicated and not entirely clear. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) is a kind of multifunctional protein. Many studies showed that its protective effects were done by antioxidant properties in the DR. This paper summarized the mechanism of protective effect of antioxidant properties of PEDF in DR.

• KEYWORDS: pigment epithelium - derived factor; oxidative stress; diabetic retinopathy; gene therapy

Citation: Zhao CH, Lü HB, Zhou Q. Research advances on pigment epithelium derived factor of resisting oxidative stress in diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(4):657-659

摘要

糖尿病性视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病最严重和常见的微血管并发症之一, 也是一种世界范围内的主要致盲性眼病。其发病机制相当复杂, 目前尚未完全明确。色素上皮衍生因子 (pigment epithelium-derived factor, PEDF) 是一多功能蛋白质, 研究表明它在 DR 中的保护作用是通过抗氧化应激特性来实现的。本文就 PEDF 在 DR 中的抗氧化应激的作用机制做一综述。

关键词: 色素上皮衍生因子; 氧化应激; 糖尿病性视网膜病变; 基因治疗

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.04.22

引用: 赵春会, 吕红彬, 周琦. 色素上皮衍生因子在 DR 中的抗氧化应激作用. *国际眼科杂志* 2014;14(4):657-659

0 引言

糖尿病性视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病最严重和最常见微血管并发症之一, 也是一种世界范围内主要的致盲性眼病^[1]。大量研究证实氧化应激在 DR 的发生发展中起重要作用, 但高血糖引起 DR 的分子机制尚不完全清楚。2001 年, Brownlee^[2] 对糖尿病的各大并发症的发病机制进行总结, 认为四条经典通路—多元醇通路激活、晚期糖基化终末产物增加、蛋白激酶 C 激活和氨基己糖途径实质上都是高糖诱导过氧化物过度表达的结果。色素上皮衍生因子 (pigment epithelium-derived factor, PEDF) 是一种 50kDa 的分泌糖蛋白, 最近研究表明它在 DR 中的保护作用是通过抗氧化应激特性来实现的。本文就 PEDF 的抗氧化应激特性在 DR 中的保护作用机制做一综述。

1 PEDF 的生物学特性

PEDF 是 1989 年 Tombran-Tink 等^[3] 从胎儿视网膜色素上皮细胞的体外培养液中分离纯化的一种可溶性糖蛋白, 属于丝氨酸蛋白酶抑制剂超家族。它在整个体内广泛表达, 尤其是在神经系统及视网膜, 是一种有效的内生性多功能因子。一些新兴的证据表明在 DR 中, PEDF 可以针对多种途径发挥神经营养、神经保护、抗血管生成、抗血管通透性、抗炎、抗血栓和抗氧化作用, 而抗氧化应激作用是其众多性能的作用枢纽^[4]。

2 PEDF 在 DR 中的抗氧化性能

2.1 抑制晚期糖基化终末产物诱导的损伤 晚期糖基化终末产物 (advanced glycation end products, AGEs) 是指在非酶促条件下, 蛋白质、氨基酸、脂类或核酸等的游离氨基与葡萄糖或其它还原糖的醛基通过 Maillard 反应系列产生一组稳定的终末产物^[5]。Amano 等^[6] 进行的细胞培养研究表明, PEDF 可以保护培养的视网膜周细胞免受 AGEs 的损伤; Yamagishi 等^[7] 的研究发现 AGEs 或活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 可显著降低视网膜周细胞内 PEDF mRNA 的表达, 造成 PEDF 水平下降, 而 PEDF 水平的下降又可以进一步加剧氧化应激诱导的周细胞凋亡及功能障碍, 促进 DR 的发展。PEDF 保护 AGEs 诱导培养的视网膜周细胞免受损伤, 可能是通过 PEDF 的抗氧化应激特性产生的^[8], 其可能机制如下: 众所周知, DR 的发生源于视网膜毛细血管周细胞的减少、血管通透性的增加以及视网膜微血管闭塞。Amano 等^[6] 采用高糖和 H₂O₂ 诱导视网膜周细胞发生氧化应激模型发现 PEDF 通过抗氧化应激特性发挥抗凋亡作用, 具体机制尚不明确。晚期糖基化终末产物受体 (receptor for advanced glycation end

products, RAGE)是 AGEs 的信号转导受体,参与由 AGEs 引发的血管炎症反应,改变视网膜血管内皮细胞的基因表达,从而参与 DR 的发生发展。Yamagishi 等^[9]在糖尿病大鼠眼中发现 PEDF 对抑制 RAGE 基因表达方面具有重要作用。PEDF 通过阻断超氧化物的产生及其介导的核转录因子(nuclear factor kappa, NF- κ B)的激活,抑制 RAGE 基因的表达。PEDF 还可通过抑制细胞内 ROS 的产生防止微血管内皮细胞中 AGEs 诱导的单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)的生成^[10]。研究发现玻璃体液中 MCP-1 水平的高低与增生型糖尿病性视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)的严重程度相关^[11]。当采用 AGEs 刺激人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)生成 ROS,引起内皮型一氧化氮合酶(endothelial NO synthase, eNOS)减少,但可通过 PEDF 的抗氧化性能阻止这一情形的发生^[12]。PEDF 通过其抗氧化性能可防止糖尿病大鼠源于 AGEs 有毒物质所致的血小板活化和聚集,其可能的机制是 PEDF 通过其抗氧化特性抑制还原型辅酶 II(NADPH)的活化,进而减少 ROS 的生成来实现抗血小板聚集及血栓形成,从而阻止 AGEs 的有害影响^[13]。PEDF 尚可通过磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶(PI3K/Akt)信号通路抑制 AGEs-BSA 诱导的内皮细胞(endothelial cells, EC)通透性增加。AGEs-BSA 通过 NADPH 氧化酶的激活和 Akt 在 Ser473 中的磷酸化介导 ROS 的产生,增加 EC 的通透性。PEDF 则通过抑制 NADPH 氧化酶的活性,减少暴露于 AGEs-BSA 诱导的内皮细胞中 ROS 的产生,下调 Thr147 中 p22phox 的磷酸化,阻止 AGEs 诱导的 PI3K/Akt 信号通路激活的 EC 通透性。此外, PEDF 通过闭合小环蛋白 1(zona occludens-1, ZO-1)表达增加抑制 AGEs-BSA 诱导的通透性,这与内皮细胞单层的阻隔性能增加相一致^[14]。

2.2 抑制瘦素损伤 瘦素(leptin)是一种主要由脂肪组织分泌的循环激素,参与体重的调控。最近研究发现它是一种促血管生成因子,存在于 DR 患者的玻璃体中,可以通过提高微血管 EC 内 ROS 的生成来促进血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达,引起新生血管形成, PEDF 具有抗氧化作用,可以抑制瘦素引起的 ROS 生成,并抑制 EC 中 VEGF mRNA 的表达,最终抑制新生血管的形成^[15]。研究还发现,玻璃体中瘦素水平的高低与 PDR 的发生、发展有关^[16]。

2.3 抑制糖化低密度脂蛋白诱导的损伤 氧化和/或糖化低密度脂蛋白(glycated low density lipoprotein cholesterol, HOG-LDL)可能介导 DR 毛细血管损伤,其机制可能包括促炎症和视网膜毛细血管周细胞氧化作用。Zhang 等^[17]研究表明, PEDF 通过抑制 NF- κ B 的活化,减轻 HOG-LDL 诱导的 MCP-1 的过度表达。PEDF 通过上调超氧化物歧化酶-1(superoxide dismutase, SOD-1)的表达显著改善 HOG-LDL 诱导的 ROS 的产生,发挥对巨噬细胞系统的抗炎作用以及在 DR 中的抗血管生成作用,这项研究代表了一种新的机制即 PEDF 对 DR 的有益的影响。

2.4 抑制血管生成素-2 诱导的损伤 VEGF 和血管生成素(angiotensin, Ang)主要调节血管的完整性,并参与了 DR 的发生发展。Yamagishi 等^[18]的研究发现,在 HUVEC 中,Ang-2 能明显诱导 NF- κ B 的激活和 MCP-1 的表达,但两者都可被 PEDF 完全抑制。PEDF 抑制 Ang-2 诱导的

p22phox, NOX4, gp91PHOX/Nox2(NADPH 氧化酶的膜组成部分)中 mRNA 水平的上调,从而抑制 NADPH 氧化酶的活性,降低 AGEs 暴露下的 EC 中 ROS 生成。PEDF 通过抑制 NADPH 氧化酶介导的 ROS 的产生,抑制 Ang-2 诱导的内皮细胞激活。VEGF 和 Ang 是已知的在 DR 中保持血管完整性的主要监管机构^[19]。

2.5 抑制高糖诱导的酪氨酸激酶 2/信号转导与转录激活因子 3 的激活 最近的一份报告表明,血管紧张素转换酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitors, ACEI)对 DR 有保护作用,这种保护作用可能是通过降低 VEGF-PEDF 比值反映,这是由于 ACEI 可通过降低线粒体 ROS 的生成而降低视网膜毛细血管内皮细胞中 VEGF/PEDF 的比值(降低 VEGF, 升高 PEDF), ROS 降低的原因是 ACEI 上调引起增殖物激活受体- γ (peroxisome proliferator activated receptor- γ , PPAR- γ)诱导的增加和随后的解耦联蛋白-2(uncoupling protein-2, UCP-2)表达上调^[20]。其进一步研究指出, PEDF 通过线粒体途径及 NADPH 氧化酶途径抑制高糖诱导的 ROS 的生成,阻抑 Janus 蛋白酪氨酸激酶 2/信号转导与转录激活因子 3(JAK2/STAT3)信号通路的活化,从而部分下调 VEGF 的表达^[21], 现今发现 STAT3 与天然及适应性免疫反应密切相关,这也是 PEDF 通过其抗氧化应激性调节炎症反应的一个重要途径,为未来治疗 DR 提供了一种新的治疗方式。

总之, PEDF 通过其抗氧化应激的作用延缓了 DR 的发生发展,在未来基因或药物治疗眼科疾病上存在着不可忽视的潜力。

3 PEDF 在 DR 中的应用前景

控制血糖可降低 DR 的发生率和 DR 的进展,但严格控制血糖往往难以把握,并且增加糖尿病患者发生低血糖的风险。临床上,有效的视网膜激光光凝及玻璃体手术已成为 PDR 的常规治疗手段,但这些方法对眼局部均具有不同程度的损伤。基于上述 PEDF 在 DR 中的作用和调控机制,研究的热点将逐渐从血管生成因子转移到血管生成因子与抑制因子的网络调控上, PEDF 比其它的血管生成抑制因子具更有效的功能,有望成为治疗 DR 的一种新方法。基因治疗涉及更换有缺陷的基因或插入一个新的基因,通过对玻璃体、视网膜下注射插入基因编码的抗血管生成的蛋白质/肽实现治疗视网膜新生血管性疾病。在介导抗血管生成的 DNA 中,腺病毒和腺相关病毒已经显示了肯定的效果。Park 等^[22]在用 PEDF 转基因(PEDF-transgene, PEDF-Tg)小鼠探讨 PEDF 在体内表达对眼部新生血管形成的影响研究结果表明:过量表达 PEDF 抑制伴氧诱导的小鼠和激光诱导小鼠的 CNV 模型上的视网膜炎和新生血管。PEDF-Tg 小鼠为研究血管生成抑制剂在新生血管性疾病如 DR 中的作用提供了一个有用的模型。这些对基因疗法治疗 DR 提供了有价值的信息。

4 展望

PEDF 的抗氧化应激机制在 DR 的发生、发展中起着重要作用。PEDF 通过抑制 NADPH 氧化酶、减少 ROS 的产生、保护周细胞免受 AGEs 的不良影响等作用机制来抑制氧化应激反应,而氧化应激水平的上调则可抑制视网膜细胞内 PEDF 的表达。本文着重介绍了 PEDF 如何通过它的抗氧化特性阻止 DR 发生发展的可能机制以及作为 DR 的一种新的治疗方法的应用前景。基因疗法将被越来越多的人接受,并广泛的应用于临床实践中。然而,目前对

PEDF 的作用机制及氧化应激如何抑制 PEDF 表达的具体机制有待进一步研究,而且药物筛选和选择最佳途径进入人体还需要大量的研究。

参考文献

- 1 El-Asrar AM. Role of inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Middle East Afr J Ophthalmol* 2012;19(1):70-74
- 2 Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001;414(6865):813-820
- 3 Tombran - Tink J, Johnson LV. Neuronal differentiation of retinoblastoma cells induced by medium conditioned by human RPE cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30(8):1700-1707
- 4 Liu X, Chen HH, Zhang LW. Potential therapeutic effects of pigment epithelium-derived factor for treatment of diabetic retinopathy. *Int J Ophthalmol* 2013;6(2):221-227
- 5 Huebschmann AG, Regensteiner JC, Vlassara H, et al. Diabetes and advanced glycoxidation end products. *Diabetes Care* 2006;29(6):1420-1432
- 6 Amano S, Yamagishi S, Inagaki Y, et al. Pigment epithelium-derived factor inhibits oxidative stress - induced apoptosis and dysfunction of cultured retinal pericytes. *Microvasc Res* 2005;69(1-2):45-55
- 7 Yamagishi S, Matsui T, Inoue H. Inhibition by advanced glycation end products (AGEs) of pigment epithelium-derived factor (PEDF) gene expression in microvascular endothelial cells. *Drugs Exp Clin Res* 2005;31(5-6):227-232
- 8 Yamagishi S, Inagaki Y, Amano S, et al. Pigment epithelium-derived factor protects cultured retinal pericytes from advanced glycation end product-induced injury through its antioxidative properties. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;296(4):877-882
- 9 Yamagishi S, Matsui T, Nakamura K, et al. Pigment-epithelium-derived factor suppresses expression of receptor for advanced glycation end products in the eye of diabetic rats. *Ophthalmic Res* 2007;39(2):92-97
- 10 Inagaki Y, Yamagishi S, Okamoto T, et al. Pigment epithelium-derived factor prevents advanced glycation end products - induced monocyte chemoattractant protein - 1 production in microvascular endothelial cells by suppressing intracellular reactive oxygen species generation. *Diabetologia* 2003;46(2):284-287
- 11 Mitamura Y, Takeuchi S, Matsuda A, et al. Monocyte chemotactic protein - 1 in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmologica* 2001;215(6):415-418
- 12 Yamagishi S, Ueda S, Matsui T, et al. Pigment epithelium-derived

- factor (PEDF) prevents advanced glycation end products (AGEs) - elicited endothelial nitric oxide synthase (eNOS) reduction through its anti-oxidative properties. *Protein Pept Lett* 2007;14(8):832-835
- 13 Yamagishi S, Matsui T, Takenaka K, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) prevents platelet activation and aggregation in diabetic rats by blocking deleterious effects of advanced glycation end products (AGEs). *Diabetes Metab Res Rev* 2009;25(3):266-271
 - 14 Sheikpranbabu S, Haribalaganesh R, Banumathi E, et al. Pigment epithelium-derived factor inhibits advanced glycation end - product - induced angiogenesis and stimulates apoptosis in retinal endothelial cells. *Life Sci* 2009;85(21-22):719-731
 - 15 Yamagishi S, Amano S, Inagaki Y, et al. Pigment epithelium-derived factor inhibits leptin - induced angiogenesis by suppressing vascular endothelial growth factor gene expression through anti-oxidative properties. *Microvasc Res* 2003;65(3):186-190
 - 16 Gariano RF, Nath AK, D'Amico DJ, et al. Elevation of vitreous leptin in diabetic retinopathy and retinal detachment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(11):3576-3581
 - 17 Zhang SX, Wang JJ, Dashti A, et al. Pigment epithelium-derived factor mitigates inflammation and oxidative stress in retinal pericytes exposed to oxidized low-density lipoprotein. *J Mol Endocrinol* 2008;41(3):135-143
 - 18 Yamagishi S, Nakamura K, Ueda S, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) blocks angiotensin II signaling in endothelial cells via suppression of NADPH oxidase: a novel anti-oxidative mechanism of PEDF. *Cell Tissue Res* 2005;320(3):437-445
 - 19 Lu M, Adamis AP. Vascular endothelial growth factor gene regulation and action in diabetic retinopathy. *Ophthalmol Clin North Am* 2002;15(1):69-79
 - 20 Zheng Z, Chen H, Ke G, et al. Protective effect of perindopril on diabetic retinopathy is associated with decreased vascular endothelial growth factor-to-pigment epithelium-derived factor ratio: involvement of a mitochondria-reactive oxygen species pathway. *Diabetes* 2009;58(4):954-964
 - 21 Zheng Z, Chen H, Zhao H, et al. Inhibition of JAK2/STAT3-mediated VEGF upregulation under high glucose conditions by PEDF through a mitochondrial ROS pathway *in vitro*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(1):64-71
 - 22 Park K, Jin J, Hu Y, et al. Overexpression of pigment epithelium-derived factor inhibits retinal inflammation and neovascularization. *Am J Pathol* 2011;178(2):688-698