

2 型糖尿病患者血清中 Opticin 蛋白的表达与视网膜病变的相关性研究*

邵娜¹, 张晗², 冯洁^{1△}

(1. 济宁市第一人民医院眼科, 山东济宁 272100; 2. 山东大学附属第二医院眼科, 山东济南 250000)

摘要:目的 探究 2 型糖尿病患者血清中 Opticin 蛋白的表达与糖尿病视网膜病变(DR)的相关性。方法 选择 2015 年 1 月至 2017 年 1 月济宁市第一人民医院收治的 2 型糖尿病患者 120 例作为研究对象, 依据散瞳后直接眼镜、眼底照相或眼底荧光造影检查结果将患者分为糖尿病无 DR(NDR)组、非增殖期 DR(NPDR)组、增殖期 DR(PDR)组, 每组 40 例。比较 3 组患者高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)水平, 并采用免疫组织化学法检测患者血清中 Opticin 蛋白表达情况, 以及 1 年后 3 组患者视力变化。结果 3 组患者 HDL-C、LDL-C、TC、TG 水平比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$); 3 组患者血清肌酐(Scr)、尿素氮(UN)、肾小球滤过率估计值(eGFR)水平比较, 差异均有统计学意义($P<0.05$); PDR 组患者 Scr、UN 水平最低, eGFR 水平最高。PDR 组患者血清 Opticin 蛋白水平明显低于 NDR 组、NPDR 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。血清 Opticin 蛋白水平与 DR、Scr、UN 呈负相关($r=-0.311$ 、 -0.357 、 -0.029 ; $P<0.05$); 与 eGFR 呈正相关($r=0.302$, $P<0.05$)。血清 Opticin 蛋白、eGFR 水平降低为 DR 的独立危险因素($P<0.05$)。随访 1 年 PDR 组患者视力下降率均高于 NDR 组、NPDR 组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 Opticin 蛋白在糖尿病患者血清中表达水平较低, 且随视网膜病变程度加重而逐渐降低, 为 DR 的独立危险因素, Opticin 蛋白与患者预后有关, 可成为评估 DR 患者预后指标之一。

关键词:糖尿病, 2 型; 糖尿病视网膜病变; 酶联免疫吸附测定; Opticin 蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.10.006

中图法分类号:R587.1;R446.61

文章编号:1673-4130(2019)10-1174-04

文献标识码:A

Correlation research of Opticin protein expression and retinopathy in serum of type 2 diabetic patients*

SHAO Na¹, ZHANG Han², FENG Jie^{1△}

(1. Department of Ophthalmology, Jining No. 1 People's Hospital, Jining, Shandong 272100, China;

2. Department of Ophthalmology, the Second Hospital of Shandong University, Jinan, Shandong 250000, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between the expression of Opticin protein and diabetic retinopathy (DR) in serum of type 2 diabetic patients. **Methods** From January 2015 to January 2017, 120 type 2 diabetic patients received in department of ophthalmology Jining No. 1 People's hospital, were selected as research subject. According to the results directly after the glasses, or fundus photography, fundus fluorescein angiography, the patients were divided into diabetic patients without retinopathy (NDR group), non proliferative diabetic retinopathy (NPDR group) and proliferative diabetic retinopathy (PDR group), 40 cases in each group. The levels of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), total cholesterol (TC) and triacylglycerol (TG) in the three groups were compared, the expression of Opticin protein in the serum of patients was detected by immunohistochemical method, and the changes of vision after 1 year in the three groups were also observed. **Results** There was no statistically significant difference in HDL-C, LDL-C, TC and TG levels among the three groups ($P>0.05$). The levels of serum creatinine (Scr), urea nitrogen (UN) and estimated glomerular filtration rate (eGFR) among the three groups had statistically significant difference ($P<0.05$); the PDR group had the lowest level of Scr and UN, the highest level of eGFR. The difference of serum Opticin protein expression between the three groups was statistically significant

* 基金项目:济宁市科技发展计划(济科字【2016】56号-31)。

作者简介:邵娜,女,硕士研究生,主治医师,主要从事眼底病方向的研究。△ 通信作者, E-mail:13387515267@qq.com。

本文引用格式:邵娜,张晗,冯洁. 2 型糖尿病患者血清中 Opticin 蛋白的表达与视网膜病变的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40

($P < 0.05$). The serum Opticin protein level in PDR group was obviously lower than that in the NDR group and NPDR group with statistically significant difference ($P < 0.05$). There was a negative correlation between serum Opticin protein level and DR, Scr and UN ($r = -0.311, -0.357, -0.029, P < 0.05$), and positively correlated with glomerular filtration rate ($r = 0.302, P < 0.05$). The decrease of serum Opticin protein and the decrease of eGFR level were independent risk factors for DR ($P < 0.05$). After 1 years of follow-up, the decrease rate of visual acuity in group PDR was higher than that in NDR group and NPDR group with statistically significant difference ($P < 0.05$). **Conclusion** Serum Opticin protein in the patients with diabetes is in lower expression, with the severity of retinopathy decreased gradually, as the independent risk factors of diabetic retinopathy, and Opticin protein, which could be one of the indicators of patients with diabetic retinopathy after assessment, is associated with the prognosis of the patients.

Key words: diabetes mellitus, type 2; diabetic retinopath; enzyme-linked immunosorbent assay; opticin protein

糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病最常见、最严重的慢性微血管并发症之一,也是目前导致中老年人视力损害及丧失的主要原因^[1]。有研究表明,糖尿病性黄斑水肿是引起视力损伤的主要原因,可能与组织缺氧、血-视网膜屏障破坏及玻璃体对黄斑的机械性牵引密切相关,利用光学相干断层成像术(OCT)对糖尿病性黄斑水肿进行追踪随访发现,玻璃体对视网膜的机械性牵引是诱发黄斑水肿的主要诱因^[2-3]。但其具体分子发病机制尚不清楚,成为临床研究热点之一。Opticin 蛋白是一种新发现的富含亮氨酸的非胶原蛋白,为细胞外基质家族的一员,对维持玻璃体胶原纤维特定空间排列、避免胶原的相互聚集和凝胶塌陷具有重要作用。有研究还发现,Opticin 蛋白对血管内皮生长因子-A 和纤维生长因子-2 引起的牛血管内皮细胞增殖、转移具有显著抑制效应^[4]。因此,本研究探究了 2 型糖尿病患者血清中 Opticin 蛋白的表达与视网膜病变的相关性,旨在了解 Opticin 蛋白表达与

DR 的相关性及其与预后的关系,为临床提供理论依据。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2015 年 1 月至 2017 年 1 月济宁市第一人民医院眼科收治的 2 型糖尿病患者 120 例作为研究对象。纳入标准:(1)符合 2002 年 DR 诊断标准^[5];(2)空腹血糖小于 8 mmol/L;(3)同意参与本研究。排除标准:(1)伴严重基础性疾病,如心肌梗死、脑卒中、全身感染等;(2)其他原因引起的视网膜脉络膜病变;(3)有眼部激光及手术史者。本研究通过济宁市第一人民医院伦理委员会审核批准,获得患者及家属同意,均签订知情同意书。依据散瞳后直接眼镜、眼底照相或眼底荧光造影检查结果将患者分为糖尿病患者无 DR(NDR)组、非增殖期 DR(NPDR)组、增殖期 DR(PDR)组。3 组患者性别、年龄等一般资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。见表 1。

表 1 3 组患者一般资料比较

项目	NDR 组(n=40)	NPDR 组(n=40)	PDR 组(n=40)	U/F	P
性别(n)				1.965 3	0.075 6
男	23	24	22		
女	17	16	18		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	55.11 ± 4.34	54.12 ± 4.25	56.74 ± 4.37	1.747 9	0.089 2
体质量指数($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	23.94 ± 3.06	24.15 ± 3.65	24.83 ± 3.59	1.384 3	0.115 6
病程($\bar{x} \pm s$, 年)	15.52 ± 3.06	16.69 ± 3.13	16.24 ± 3.67	1.602 7	0.095 7
空腹血糖($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	7.50 ± 1.02	8.70 ± 1.23	8.35 ± 1.17	1.527 7	0.103 4

1.2 方法

1.2.1 生化指标检测 采集 3 组患者清晨空腹静脉血 5 mL, 1 500 r/min(离心半径 6 cm)离心 15 min, 获得血清, 利用全自动生化分析仪检测高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、血清肌酐(Scr)等; 并收集患者清晨尿液, 检测尿素氮(UN)、肾小球滤过率估

计值(eGFR)等。

1.2.2 Opticin 蛋白表达检测 收集入组者空腹静脉血约 5 mL, 1 500 r/min(离心半径 6 cm)离心 15 min, 获得血清, 采用酶联免疫吸附试验测定 Opticin 蛋白表达水平, 试剂盒由 R&D 公司提供, 具体操作步骤参照试剂盒说明书进行。每个样本均检测 3 次, 取平均值。

1.2.3 视力监测 通过门诊对3组患者进行随访1年;视力提高指患者视力提高2行或以上;视力下降指患者视力下降2行或以下;视力不变指患者视力上下波动小于2行。

1.3 统计学处理 采用SPSS22.0统计软件对数据进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用t检验,多组比较采用方差分析;计数资料以率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;单因素相关分析采用

Spearman分析,logistic回归模型分析用于筛查DR的独立危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组患者生化指标检测结果比较 3组患者HDL-C、LDL-C、TC、TG水平比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);3组患者Scr、UN、eGFR水平比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$);PDR组患者Scr、UN水平最低,eGFR水平最高。见表2。

表2 3组患者生化指标检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	Scr ($\mu\text{mol/L}$)	UN (mmol/L)	eGFR ($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^{-2}$)
PDR组	40	1.09±0.29	2.62±0.69	4.26±0.71	1.42±0.38	57.00±3.54	5.30±1.21	116.07±9.91
NPDR组	40	1.07±0.23	2.83±0.81	3.86±0.69	1.33±0.34	77.34±4.97	6.54±1.37	93.18±6.24
NDR组	40	1.12±0.25	3.03±0.98	4.94±0.62	1.41±0.32	95.57±5.86	8.50±1.53	74.12±8.96
F		2.035 1	2.362 7	1.953 4	2.091 7	7.341 8	6.248 1	8.914 4
P		0.069 1	0.062 4	0.074 8	0.067 4	0.000 1	0.000 1	0.000 1

2.2 3组患者Opticin蛋白表达水平比较 PDR组患者血清Opticin蛋白水平明显低于NDR组、NPDR组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 3组患者Opticin蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

组别	n	Opticin蛋白表达
NDR组	40	896.47±63.09
NPDR组	40	768.89±54.43
PDR组	40	566.25±47.15
F		9.316 4
P		0.000 1

2.3 血清Opticin蛋白水平与DR的关系 血清Opticin蛋白水平与DR、Scr、UN呈负相关,与eGFR呈正相关。见表4。

表4 血清Opticin蛋白水平与DR的关系

变量	r	P
DR	-0.311	0.015
Scr	-0.357	0.005
UN	-0.029	0.823
eGFR	0.302	0.019

2.4 logistic回归模型分析筛查DR的独立危险因素 以DR为因变量,以血清Opticin蛋白,以及在NDR、NPDR、PDR组比较具有统计学意义的指标作为自变量进行logistic回归分析。血清Opticin蛋白、eGFR水平降低为DR的独立危险因素($P < 0.05$)。

2.5 3组患者随访1年后视力变化比较 PDR组患者随访1年视力下降率均高于NDR组、NPDR组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表6。

表6 3组患者随访1年后视力变化比较[n(%)]

组别	n	眼数	视力升高	视力不变	视力降低
NDR组	40	79	14(17.72)	51(64.56)	14(17.72)
NPDR组	40	76	8(10.53)	43(56.58)	25(32.89)*
PDR组	40	78	4(5.13)	42(53.85)	32(41.02)*#

注:与NDR组比较,* $P < 0.05$;与NPDR组比较,# $P < 0.05$

3 讨论

随着人均寿命的延长及饮食结构的改变,我国糖尿病及DR发病率仍在逐年上升,而DR常引起致盲性眼病。有研究表明,DR可分为背景期视网膜病变及增殖性视网膜病变,后者多伴新生血管的形成,主要位于视网膜及玻璃体^[6]。在DR的发生、发展过程中多伴有毛细血管异常、形成新生血管及血-视网膜屏障被破坏等^[7],但其具体机制尚不明,仍是探寻热点之一。

Opticin蛋白为新发现的细胞外基质蛋白,属富含亮氨酸重复序列的间质蛋白质蛋白多糖家族中的第Ⅲ类糖蛋白,广泛分布于人眼玻璃体、角膜、虹膜、睫状体及脉络膜中^[8]。有研究表明,Opticin蛋白可抑制血管内皮生长因子-A、成纤维生长因子-2等血管形成因子,以降低细胞的转移、浸润,减少血管状结构的形成^[9]。因此,Opticin蛋白在一定程度上具有抑制新生血管形成的作用。

LE GOFF等^[10]研究表明,Opticin蛋白能降低31%血管内皮迁移,37%管状结构形成及45%细胞对胶质细胞的入侵,抑制鸡尿囊绒膜血管结构的生长,另外,该蛋白可通过抑制成纤维生长因子-2,进而降低丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)磷酸化,致细胞迁移及管状结构形成受到抑制。因此,Opticin蛋白可能是

一个抑制血管入侵玻璃体的抑制剂。

WILKINSON 等^[11]通过体内、外实验证实, Opticin 蛋白在乳腺癌细胞中具有一定抗血管增殖作用。PATTWELL 等^[12]通过对视网膜增殖疾病的观察发现, 睫状体上皮细胞可继续表达释放 Opticin 蛋白, 并与 2 型胶原蛋白联系, 造成视网膜损伤。LE GOFF 等^[13]研究表明, Opticin 蛋白表达量降低, 并不影响玻璃体血管的消退及视网膜血管的生成, 但通过对比 Opticin 蛋白灭活鼠与野生型鼠发生, 视网膜病变后 Opticin 蛋白灭活鼠的新生血管形成更多, 且在玻璃体内注射 Opticin 蛋白可抑制新生血管的形成, 进一步说明 Opticin 蛋白能抑制视网膜前新生血管形成。因此, Opticin 蛋白与 DR 密切相关。

本研究结果显示, Opticin 蛋白水平在 DR 患者明显降低, 是 DR 一个客观变化指标。内皮功能紊乱是导致糖尿病大血管及微血管并发症发生的主要病理过程, 有研究表明, Opticin 蛋白与内皮功能异常密切相关, 提示 Opticin 蛋白对糖尿病血管并发症具有潜在危险性。

本研究结果显示, 3 组患者血清 Opticin 蛋白表达水平比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 PDR 组患者血清 Opticin 蛋白水平明显低于 NDR 组、NPDR 组; 血清 Opticin 蛋白水平与 DR、SCr、UN 呈负相关, 与 eGFR 呈正相关; 经 logistics 回归模型分析发现, 血清 Opticin 蛋白、eGFR 水平降低为 DR 的独立危险因素。说明 Opticin 蛋白在 DR 患者中的表达水平明显升高, 存在明显相关性, 且随病情程度加重而升高, 说明 Opticin 蛋白表达减少, 可能在一定程度上促进糖尿病视网膜新生血管形成及玻璃体血管的长入, 抑制视网膜前新生血管形成的能力减弱, 引起玻璃体视网膜疾病, 进一步促进 DR 的进展。本研究对 3 组患者随访 1 年发现, PDR 组患者视力下降率均明显高于 NDR 组、NPDR 组; 可能与 Opticin 蛋白表达水平降低, 可能会失去对胶原纤维的保护, 使胶原纤维易受到胶原酶的攻击, 致胶原纤维结合力减弱, 玻璃体稳定性降低, 收缩能力增强, 且 Opticin 蛋白表达水平降低, 可抑制视网膜新生血管形成, 进而引起视网膜疾病, 导致 DR 患者后期视力降低^[14-15]。

4 结 论

Opticin 蛋白在糖尿病患者血清中表达水平下降, 随着视网膜病变程度的加重而逐渐降低, 为 DR 的独立危险因素, 且 Opticin 蛋白与患者预后有关, 可成为评估 DR 患者预后的指标之一。

参考文献

[1] 张凤俊, 易敬林, 李晶明, 等. 糖尿病视网膜病变发病机制

研究进展[J]. 眼科新进展, 2016, 36(6): 584-587.

[2] 张宇昕, 张福燕, 李建阳, 等. 糖尿病视网膜病变的临床防治措施探讨[J]. 中国社区医师, 2017, 33(2): 90-91.

[3] DAVID J, MICHAEL W S, CHONG LEE. Diabetic macular edema; evidencebase management[J]. Indian J Ophthalmol, 2018, 66(12): 1736-1750.

[4] KIM A Y, CHU Z, SHAHIDZADEH A, et al. Quantifying microvascular density and morphology in diabetic retinopathy using Spectral-Domain optical coherence tomography angiography[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2016, 57(9): OCT362-370.

[5] 黎晓新. 学习推广中国糖尿病视网膜病变防治指南, 科学规范防治糖尿病视网膜病变[J]. 中华眼底病杂志, 2015, 31(2): 117-120.

[6] 韩立坤, 常宏, 张天资. 非增殖期糖尿病视网膜病变与黄斑水肿相关性观察[J]. 中国实用眼科杂志, 2015, 33(3): 236-239.

[7] 周纯, 牛佳媛, 蔡洁, 等. 糖尿病视网膜病变细胞因子及视网膜血流变化的意义[J]. 国际眼科杂志, 2015, 15(6): 1030-1032.

[8] MATSUNAGA D R, YI J J, DE KOO L O, et al. Optical coherence tomography angiography of diabetic retinopathy in human subjects[J]. Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina, 2015, 46(8): 796-805.

[9] REDDY D, RANI P K, JALALI S, et al. A study of prevalence and risk factors of diabetic retinopathy in patients with non-arteritic anterior ischemic optic neuropathy (NAION)[J]. Semin Ophthalmol, 2015, 30(2): 101-104.

[10] LE GOFF M M, SUTTON M J, SLEVIN M, et al. Opticin exerts its anti-angiogenic activity by regulating extracellular matrix adhesiveness[J]. J Biol Chem, 2012, 287(33): 28027-28036.

[11] WILKINSON C P, FERRIS F L, KLEIN R E, et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales[J]. Ophthalmology, 2003, 110(9): 1677-1682.

[12] PATTWELL D M, SHERIDAN C M, LE GOFF M, et al. Localisation of opticin in human proliferative retinal disease[J]. Exp Eye Res, 2010, 90(3): 461-464.

[13] LE GOFF M M, LU H, UGARTE M, et al. The vitreous glycoprotein opticin inhibits preretinal neovascularization[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(1): 228-234.

[14] 胡丽丽, 艾明. 抗血管内皮生长因子药物在糖尿病视网膜病变中的应用进展[J]. 医学综述, 2016, 22(20): 4053-4056.

[15] 高妍, 王涛. 糖尿病视网膜病变新生血管形成与治疗进展[J]. 糖尿病新世界, 2017, 20(3): 197-198.

(收稿日期: 2018-09-24 修回日期: 2018-12-28)