

- [6] LARDONE MC, ORTEGA V, ORTIZ E, et al. Partial-AZFc deletions in Chilean men with primary spermatogenic impairment: gene dosage and Y-chromosome haplogroups[J]. J Assist Reprod Genet, 2020, 37(12): 3109-3119.
- [7] LIU X, LI Z S, SU Z, et al. Novel Y-chromosomal microdeletions associated with non-obstructive azoospermia uncovered by high throughput sequencing of sequence-tagged sites (STSs)[J]. Sci Rep, 2016; 6: 21831
- [8] YANEZ J R, MONTOYA R S, GONZALEZ E P. AZFa, AZFb, AZFc and gr/gr Y-chromosome microdeletions in azoospermic and severe oligozoospermic patients, analyzed from a neural network perspective[J]. Cir Cir, 2022, 90(2): 202-209.
- [9] BUNYAN D J, SARAN M, HOBBS J I. Apparent homozygosity for a gr/gr AZFc deletion in a 47, XYY man with oligozoospermia and secondary infertility[J]. J Reprod Infertil, 2022, 23(4): 296-302.
- [10] RABINOWITZ M J, HUFFMAN P J, HANEY N M, et al. Y-chromosome microdeletions: a review of prevalence, screening, and clinical considerations[J]. Appl Clin Genet, 2021, 14: 51-59.
- [11] ROGERS M J. Y chromosome copy number variation and its effects on fertility and other health factors: a review
- [J]. Transl Androl Urol, 2021, 10(3): 1373-1382.
- [12] LIU C L, ZHAO X Y, MU C L, et al. The association of partial azoospermia factor C deletions and male infertility in Northwestern China[J]. Hum Hered, 2019, 84(3): 144-150.
- [13] ATAEI M, AKBARIAN F, TALEBI M A, et al. Analysis of partial AZFc (gr/gr, b1/b3, and b2/b3) deletions in Iranian oligozoospermia candidates for intracytoplasmic sperm injection (ICSI)[J]. Turk J Med Sci, 2018, 48(2): 251-256
- [14] COLACO S, MODI D. Genetics of the human Y chromosome and its association with male infertility[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2018, 16(1): 14.
- [15] HIBI H, SUGIE M, SONOHARA M, et al. Infertility treatment for patients having a microdeletion of azoospermic factor (AZF)[J]. Nagoya J Med Sci, 2023, 85(2): 233-240.
- [16] RANI D S, RAJENDER S, PAVANI K, et al. High frequencies of non-allelic homologous recombination (NAHR) events at the AZF loci and male infertility risk in Indian men [J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 6276.

(收稿日期: 2024-07-19 修回日期: 2024-09-09)

• 短篇论著 •

## 2 型糖尿病患者血清 SP1 和 Robo4 水平与糖尿病视网膜病变的关系

常青青, 尚绪丽

山东第一医科大学附属人民医院内分泌代谢病科, 山东济南 271100

**摘要:**目的 探讨 2 型糖尿病(T2DM)患者血清特异性蛋白 1(SP1)和 Roundabout4(Robo4)表达与糖尿病视网膜病变(DR)的关系。**方法** 选取 2019 年 1 月至 2022 年 1 月在该院住院治疗的 80 例 DR 患者(DR 组)和 60 例无 DR 的 T2DM 患者(无 DR 组)作为研究对象,根据眼底检查结果将 DR 患者分为非增殖性 DR 组(49 例)和增殖性 DR 组(31 例)。收集各组基线资料及血清 SP1 和 Robo4 水平等实验室检查数据。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 SP1、Robo4 水平对 T2DM 患者发生 DR 的诊断价值,采用多因素 Logistic 回归分析 T2DM 患者发生 DR 的影响因素。**结果** 无 DR 组、非增殖性 DR 组和增殖性 DR 组体重指数、糖尿病病程、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、糖化血红蛋白(HbA1c)、空腹血糖(FPG)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)及血清 SP1、Robo4 水平依次升高,高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平依次降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。ROC 曲线分析结果显示,血清 SP1、Robo4 单独及联合预测 T2DM 患者发生 DR 的曲线下面积(AUC)分别为 0.852、0.907、0.947。多因素 Logistic 回归分析结果显示,SP1、Robo4、FPG、HOMA-IR 均是影响 T2DM 患者发生 DR 的危险因素( $P < 0.05$ )。**结论** 血清 SP1、Robo4 高表达可能增加 T2DM 患者 DR 的发生风险,二者有望作为预测 T2DM 患者发生 DR 的辅助指标。

**关键词:** 2 型糖尿病; 糖尿病视网膜病变; 特异性蛋白 1; Roundabout4**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2025.02.026**中图法分类号:** R587.2; R446.1**文章编号:** 1673-4130(2025)02-0253-04**文献标志码:** A

2 型糖尿病(T2DM)是一种代谢性疾病,糖尿病视网膜病变(DR)是其并发症之一。DR 以视网膜血管改变为病理特征,威胁患者的视觉健康。尽管目前

已经使用多种方式治疗 DR,但发病率仍在上升<sup>[1-2]</sup>。特异性蛋白 1(SP1)是一种核转录因子,具有调节基因转录的功能。Robo4 是一种在脉管系统中特异性

表达的基因,参与调节血管生成和血管完整性。暴露于高血糖的人视网膜内皮细胞中,由 SP1 转录增强介导的 Robo4 表达上调<sup>[3]</sup>。在 DR 模型大鼠和高血糖/缺氧诱导的视网膜色素上皮细胞中,SP1、Robo4 水平上调,敲低二者的表达可以延缓 DR 的进展<sup>[4]</sup>。本研究拟探讨 T2DM 患者血清 SP1 和 Robo4 水平与 DR 发生的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2019 年 1 月至 2022 年 1 月在本院住院治疗的 80 例发生 DR 的 T2DM 患者作为 DR 组,其中男 44 例、女 36 例,平均年龄(56.15±7.69)岁。另选取同期 60 例未发生 DR 的 T2DM 患者作为无 DR 组,其中男 32 例、女 28 例,平均年龄(54.43±6.15)岁。纳入标准:(1)符合 T2DM 诊断标准<sup>[5-6]</sup>;(2)年龄>18 岁;(3)临床资料完整,接受视力、裂隙灯显微镜、荧光素眼底血管造影检查。排除标准:(1)1 型糖尿病(T1DM);(2)合并心、肝、肾、肺等重要脏器功能障碍;(3)合并代谢疾病、急慢性感染、神经系统疾病、恶性肿瘤等;(4)有眼外伤、青光眼或眼部手术史;(5)妊娠、哺乳期女性。本研究已通过伦理委员会审核(批号:20181121003),所有参与者及家属均已签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 资料收集

收集两组性别、年龄、体重指数、病程、高血压史、高脂血症史、吸烟史、饮酒史,以及丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、空腹血糖(FPG)、空腹胰岛素(Fins)、胰岛素抵抗指数[HOMA-IR=(FPG×Fins)/22.5]、糖化血红蛋白(HbA1c)、SP1、Robo4 等临床资料。

#### 1.2.2 眼底检查

使用眼底检查仪采集 DR 患者入院时双眼 6 个视野的 45°眼底像。根据眼底检查仪成

像结果,将患者分为非增殖性 DR 组(49 例)及增殖性 DR 组(31 例)。非增殖性 DR:可见微动脉瘤或 4 个象限内可见 2 处及以上视网膜内出血,或 2 个以上象限视网膜静脉串珠样改变,或 1 个以上象限有明显视网膜内微血管异常;增殖性 DR:有明显新生血管,视网膜前出血或晶状体出血<sup>[7]</sup>。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS25.0 软件分析数据,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组比较采用方差分析,两两比较采用 SNK-*q* 检验;计数资料以例数或百分率表示,采用  $\chi^2$  检验;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 SP1、Robo4 水平预测 T2DM 患者发生 DR 的价值,采用 Z 检验进行曲线下面积(AUC)比较;采用多因素 Logistic 回归分析 T2DM 患者发生 DR 的影响因素。以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 无 DR 组、非增殖性 DR 组和增殖性 DR 组基线资料比较

无 DR 组、非增殖性 DR 组和增殖性 DR 组年龄、性别、高血压史、高脂血症史、吸烟史、饮酒史,以及 AST、ALT、TC 水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );无 DR 组、非增殖性 DR 组和增殖性 DR 组体重指数、糖尿病病程、TG、LDL-C、HbA1c、FPG 和 HOMA-IR 水平依次升高( $P < 0.05$ )。HDL-C 水平依次降低( $P < 0.05$ )。见表 1。

### 2.2 无 DR 组、非增殖性 DR 组和增殖性 DR 组血清 SP1、Robo4 水平比较

无 DR 组、非增殖性 DR 组和增殖性 DR 组血清 SP1、Robo4 水平依次升高( $P < 0.05$ )。见表 2。

### 2.3 多因素 Logistic 回归分析

以 T2DM 患者是否发生 DR(是=1;否=0)为因变量,以体重指数、糖尿病病程、TG、HDL-C、LDL-C、HbA1c 和 HOMA-IR、SP1、Robo4 为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,SP1、Robo4 和 HOMA-IR 是影响 T2DM 患者发生 DR 的独立危险因素( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 1 无 DR 组、非增殖性 DR 组和增殖性 DR 组基线资料比较[ $\bar{x} \pm s$  或  $n(\%)$ ]

项目	无 DR 组( $n=60$ )	非增殖性 DR 组( $n=49$ )	增殖性 DR 组( $n=31$ )	$F/\chi^2$	$P$
年龄(岁)	54.43±6.15	55.10±7.59	57.81±8.67	2.275	0.107
男性	32(53.33)	25(51.02)	19(61.29)	0.845	0.655
体重指数(kg/m <sup>2</sup> )	24.05±2.57	26.12±2.62 <sup>a</sup>	26.33±2.58 <sup>a</sup>	11.892	<0.001
糖尿病病程(年)	6.34±1.22	9.14±2.35 <sup>a</sup>	13.29±2.46 <sup>ab</sup>	127.304	<0.001
高血压史	26(43.33)	21(42.86)	13(41.94)	0.016	0.992
高脂血症史	12(20.00)	10(20.41)	7(22.58)	0.087	0.957
吸烟史	14(23.33)	13(26.53)	10(32.26)	0.838	0.658
饮酒史	9(16.00)	9(14.29)	6(19.35)	0.352	0.838
ALT(U/L)	23.41±4.97	25.49±4.08	24.86±4.25	3.013	0.052
AST(U/L)	21.50±2.76	22.04±3.12	22.55±2.78	1.407	0.248

续表 1 无 DR 组、非增殖性 DR 组和增殖性 DR 组基线资料比较[ $\bar{x} \pm s$  或  $n(\%)$ ]

项目	无 DR 组( $n=60$ )	非增殖性 DR 组( $n=49$ )	增殖性 DR 组( $n=31$ )	$F/\chi^2$	$P$
TC(mmol/L)	4.85±0.52	4.91±0.48	4.98±0.51	0.695	0.501
TG(mmol/L)	1.76±0.21	1.84±0.19 <sup>a</sup>	1.94±0.21 <sup>ab</sup>	8.153	<0.001
HDL-C(mmol/L)	1.11±0.12	1.06±0.13 <sup>a</sup>	0.97±0.12 <sup>ab</sup>	13.118	<0.001
LDL-C(mmol/L)	2.41±0.25	2.53±0.23 <sup>a</sup>	2.63±0.25 <sup>ab</sup>	9.563	<0.001
HbA1c(%)	9.25±1.29	10.43±1.24 <sup>a</sup>	11.14±1.27 <sup>ab</sup>	25.541	<0.001
FPG(mmol/L)	5.04±0.73	8.34±0.90 <sup>a</sup>	8.47±0.98 <sup>b</sup>	266.155	<0.001
HOMA-IR	1.69±0.38	4.05±0.47 <sup>a</sup>	4.97±0.55 <sup>ab</sup>	653.663	<0.001

注:与无 DR 组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与非增殖性 DR 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

表 2 无 DR 组、非增殖性 DR 组和增殖性 DR 组血清 SP1、Robo4 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$n$	SP1( $\mu\text{g/mL}$ )	Robo4( $\text{pg/mL}$ )
无 DR 组	60	109.21±11.49	566.58±61.72
非增殖性 DR 组	49	122.63±13.45 <sup>a</sup>	673.01±65.80 <sup>a</sup>
增殖性 DR 组	31	147.14±16.58 <sup>ab</sup>	747.62±73.10 <sup>ab</sup>
$F$		81.509	84.772
$P$		<0.001	<0.001

注:与无 DR 组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与非增殖性 DR 组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ 。

表 3 Logistic 多因素回归分析

因素	$\beta$	$SE$	Wald $\chi^2$	OR	95%CI	$P$
SP1	1.047	0.271	14.925	2.849	1.675~4.846	<0.001
Robo4	1.075	0.335	10.297	2.930	1.520~5.650	<0.001
HOMA-IR	0.881	0.308	8.179	2.413	1.319~4.413	0.004
体重指数	0.103	0.101	1.031	0.108	0.909~1.351	0.310
糖尿病病程	0.055	0.119	0.217	1.057	0.837~1.335	0.641
TG	0.101	0.215	0.220	1.106	0.726~1.686	0.639
HbA1c	0.634	0.346	3.357	1.885	0.957~3.714	0.067
HDL-C	-0.294	0.334	0.777	0.745	0.387~1.434	0.378
LDL-C	0.287	0.32	0.803	1.332	0.711~2.494	0.370

**2.4 血清 SP1、Robo4 水平对 T2DM 患者发生 DR 的预测价值** 绘制 ROC 曲线分析结果显示,血清 SP1、Robo4 单独及联合预测 T2DM 患者发生 DR 的 AUC 分别为 0.852、0.907、0.947。见表 4、图 1。

表 4 血清 SP1、Robo4 水平对 T2DM 患者发生 DR 的预测价值

指标	AUC	95%CI	灵敏度 (%)	特异度 (%)	截断值
SP1	0.852	0.782~0.907	68.75	90.00	121.48 $\mu\text{g/mL}$
Robo4	0.907	0.846~0.949	85.00	83.33	613.79 $\text{pg/mL}$
二者联合	0.947	0.896~0.978	86.25	91.67	—

注:—表示无数据。

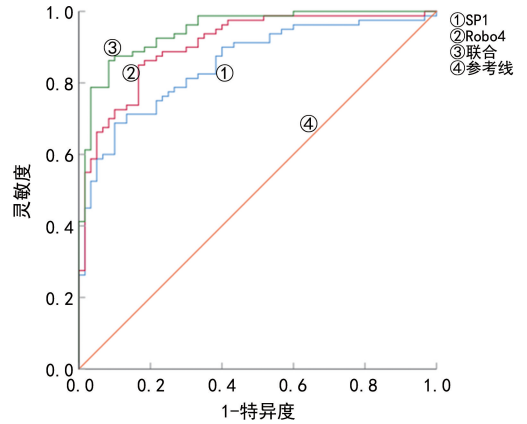


图 1 血清 SP1、Robo4 水平对 T2DM 患者发生 DR 的 ROC 曲线

### 3 讨论

DR 是 T2DM 的常见并发症之一,表现为血管通透性增加,出现视网膜增厚或渗出液,引起视力下降甚至致盲<sup>[8-9]</sup>。DR 的发病与视网膜屏障受损有关,T2DM 患者一旦出现 DR,短时间内视网膜屏障难以修复完全,寻找 DR 早期生物标志物对于 DR 患者的一般管理尤为重要<sup>[2]</sup>。

SP1 与基因调控区域中富含 GC 的基序结合,参与细胞增殖、凋亡、分化以及血管生成的调节,在肿瘤、先天性心脏病以及神经退行性疾病细胞中高表达<sup>[10]</sup>。SP1 通过替代聚腺苷酸化缩短 3'UTR 增加 mRNA 转录本的多样性,增强基因调控潜力和翻译后修饰引起的异常转录活性,进而增加细胞活性<sup>[11]</sup>。葡萄糖通过增加启动子处的 SP1 转录因子结合增加葡萄糖诱导的 KELCH 样 ECH 关联蛋白 1 的上调,并减少核因子红细胞系 2 相关因子 2 介导的抗氧化防御基因,促进糖尿病小鼠和患有 DR 患者视网膜微血管细胞病变<sup>[12]</sup>。本研究检测到 SP1 在 DR 患者中高表达,与杜洋等<sup>[13]</sup>研究结果中 SP1 在糖尿病患者眼内、DR 动物/细胞模型中的表达趋势一致,且 SP1 是影响 T2DM 患者发生 DR 的独立危险因素;这也提示 SP1 高表达可能促进 DR 的发生和发展,推测长期高血糖引发机体生理过程异常,病理条件下 SP1 的高表

达增加对目的基因转录和翻译的调控,增强病理细胞的活性,与此同时抗氧化防御基因减少,氧化应激刺激加剧了视网膜微血管细胞病变。

Robo4 是一种内皮特异性受体,参与内皮细胞迁移、增殖和血管生成以及维持脉管系统稳态,正常状态下 Robo4 与其下游因子相互作用维持血管完整性,而炎症或肿瘤环境中的紊乱流动和转录因子的表达会改变 Robo4 的表达水平,Robo4 也成为眼部新生血管病变和血管生成发育缺陷疾病中具有潜在价值的治疗靶点<sup>[14]</sup>。Robo4 可以通过多种机制加快病理性血管生成,在增殖性 DR 患者眼内纤维血管膜和新生血管内皮细胞中高表达,抑制 Robo4 的表达可以增强细胞活力,降低细胞通透性,改善低氧引起细胞增殖和迁移能力的异常,保护紧密连接蛋白,从而延缓 DR 的发展<sup>[15]</sup>。本研究中,发生 DR 的 T2DM 患者血清中 Robo4 水平较高,且 Robo4 是 DR 发生的危险因素,提示可能是 Robo4 的高表达促进眼内纤维血管以及新生血管内皮细胞活力,促进细胞迁移和增殖,加快了病理性血管的生成。此外,在高血糖刺激下,SP1 表达增加,其与 Robo4 启动子的结合增强,导致视网膜内皮细胞迁移、通透性和血管生成异常,增加 Robo4 的表达并加速 DR 的进展<sup>[16]</sup>,这与本研究结果一致。

本研究 ROC 曲线分析结果表明,血清 SP1、Robo4 对 T2DM 患者发生 DR 有重要的预测价值,并且以 SP1>137.13  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、Robo4>725.02  $\text{pg}/\text{mL}$  时预测价值最佳。

综上所述,发生 DR 的 T2DM 患者血清 SP1、Robo4 水平升高,血清 SP1、Robo4 水平高表达可能增加 T2DM 患者 DR 的发生风险,二者有望作为预测 T2DM 患者发生 DR 的辅助指标。然而,DR 是进展性疾病且病程较长,动态检测血清 SP1、Robo4 水平的变化可能更有意义,后续需要增加样本量和监测时间点深入研究。

## 参考文献

[1] IATCU C O, STEEN A, COVASA M. Gut microbiota and complications of Type-2 diabetes [J]. *Nutrients*, 2021,14(1):1-30.

[2] SIMÓ-SERVAT O, HERNÁNDEZ C, SIMÓ R. Diabetic retinopathy in the context of patients with diabetes [J]. *Ophthalmic Res*, 2019,62(4):211-217.

[3] XIE J, GONG Q, LIU X, et al. Transcription factor SP1 mediates hyperglycemia-induced upregulation of round-

about4 in retinal microvascular endothelial cells [J]. *Gene*, 2017,616(1):31-40.

- [4] GONG Q, XIE J, LI Y, et al. Enhanced ROBO4 is mediated by up-regulation of HIF-1 $\alpha$ /SP1 or reduction in miR-125b-5p/miR-146a-5p in diabetic retinopathy [J]. *J Cell Mol Med*, 2019,23(7):4723-4737.
- [5] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2020 年版)(上) [J]. *中国实用内科杂志*, 2021,41(8):668-695.
- [6] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2020 年版)(下) [J]. *中国实用内科杂志*, 2021,41(9):757-784.
- [7] HAO Z, CUI S, ZHU Y, et al. Application of non-mydratic fundus examination and artificial intelligence to promote the screening of diabetic retinopathy in the endocrine clinic: an observational study of T2DM patients in tianjin, china [J]. *Ther Adv Chronic Dis*, 2020,11(1):1-9.
- [8] PEER N, BALAKRISHNA Y, DURAO S. Screening for type 2 diabetes mellitus [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2020,5(5):1-60.
- [9] 邵毅,周琼. 糖尿病视网膜病变诊治规范:2018 年美国眼科学会临床指南解读 [J]. *眼科新进展*, 2019,39(6):501-506.
- [10] IVANENKO K A, PRASSOLOV V S, KHABUSHEVA E R. Transcription factor sp1 in the expression of genes encoding components of MAPK, JAK/STAT, and PI3K/Akt signaling pathways [J]. *Mol Biol (Mosk)*, 2022,56(5):832-847.
- [11] SONG J, NABEEL-SHAH S, PU S, et al. Regulation of alternative polyadenylation by the C2H2-zinc-finger protein Sp1 [J]. *Mol Cell*, 2022,82(17):3135-3150.
- [12] RADHAKRISHNAN R, KOWLURU R A. Long non-coding RNA MALAT1 and regulation of the antioxidant defense system in diabetic retinopathy [J]. *Diabetes*, 2021,70(1):227-239.
- [13] 杜洋. ING4 在糖尿病视网膜病变中的表达及其作用机制的探讨 [D]. 长春:吉林大学,2019.
- [14] DAI C, GONG Q, CHENG Y, et al. Regulatory mechanisms of Robo4 and their effects on angiogenesis [J]. *Bio-sci Rep*, 2019,39(7):1-18.
- [15] 龚巧云. miRNAs 靶向抑制 HIF-1 $\alpha$ /SP1/Robo4 的表达在糖尿病视网膜病变中的保护机制及作用研究 [D]. 长春:吉林大学,2018.
- [16] ZHAO L, XU H, LIU X, et al. The role of TET2-mediated ROBO4 hypomethylation in the development of diabetic retinopathy [J]. *J Transl Med*, 2023,21(1):1-16.