

NVG 患者房水和血清中 VEGF-A 和 PDGF 及 PEDF 的临床意义

李钰洁¹, 侯旭², 张茜¹

引用:李钰洁,侯旭,张茜. NVG 患者房水和血清中 VEGF-A 和 PDGF 及 PEDF 的临床意义. 国际眼科杂志 2020; 20(12): 2151-2154

作者单位:¹(710002) 中国陕西省西安市第一医院眼科;
²(710032) 中国陕西省西安市,空军军医大学西京医院眼科

作者简介:李钰洁, 硕士, 住院医师, 研究方向: 青光眼、视神经损害。

通讯作者: 张茜, 硕士, 住院医师, 研究方向: 青光眼。
zhangqian2014@lzu.cn

收稿日期: 2020-03-12 修回日期: 2020-10-23

摘要

目的:检测新生血管性青光眼(NVG)患者房水和血清中血管内皮生长因子-A(VEGF-A)、血小板源性生长因子(PDGF)、色素上皮衍生因子(PEDF)的含量,并分析其意义。

方法:前瞻性临床研究。采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测 2015-12/2016-12 在西京医院眼科住院的 NVG 患者 23 例及年龄相关性白内障患者 23 例房水及血清中 VEGF-A、PDGF、PEDF 的含量并定量分析。

结果:NVG 患者房水中 VEGF-A、PDGF 的含量分别为 1130.56 ± 69.32 、 221.95 ± 56.08 ng/L, 均显著高于年龄相关性白内障患者组 (226.45 ± 37.46 、 36.25 ± 7.12 ng/L) (均 $P < 0.01$); NVG 患者房水中 PEDF 的含量为 195.69 ± 42.00 ng/L, 低于年龄相关性白内障患者组 (497.89 ± 12.52 ng/L) ($P < 0.01$); NVG 组血清中 VEGF-A、PDGF 及 PEDF 的含量分别为 226.45 ± 37.46 、 29.57 ± 6.31 及 13.24 ± 1.76 ng/L, 均与年龄相关性白内障患者组 (219 ± 34.89 、 28.28 ± 7.24 、 12.96 ± 2.08 ng/L) 无差异 (均 $P > 0.05$)。NVG 患者房水中 VEGF-A 和 PDGF 含量呈正相关 ($r = 0.502$, $P = 0.015$), 而 VEGF-A 与 PEDF 含量呈负相关 ($r = -0.480$, $P = 0.020$)。

结论:NVG 患者房水中 VEGF-A、PDGF 的含量显著升高, 而 PEDF 的含量显著降低, 且 VEGF-A 的含量与 PDGF 含量呈正相关、与 PEDF 含量呈负相关。联合使用 VEGF-A、PDGF 抑制剂及 PEDF 可能为 NVG 治疗提供新的思路。

关键词:新生血管性青光眼; 血管内皮生长因子-A/分析; 血小板源性生长因子/分析; 色素上皮衍生因子/分析; 房水; 酶联免疫吸附测定

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.12.27

Comparison of VEGF-A, PDGF and PEDF levels in aqueous humor and serum of patients with neovascular glaucoma

Yu-Jie Li¹, Xu Hou², Qian Zhang¹

¹Department of Ophthalmology, the First Hospital of Xi'an, Xi'an 710002, Shaanxi Province, China; ²Department of Ophthalmology,

Xijing Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Qian Zhang. Department of Ophthalmology, the First Hospital of Xi'an, Xi'an 710002, Shaanxi Province, China. zhangqian2014@lzu.cn

Received: 2020-03-12 Accepted: 2020-10-23

Abstract

• **AIM:** To quantitatively measure and evaluate the VEGF-A, platelet derived growth factor (PDGF) and pigment epithelium derived factor (PEDF) in the aqueous humor of patients with neovascular glaucoma (NVG).

• **METHODS:** Prospectively clinical study. This study involved 23 eyes of 23 patients with advanced NVG and 23 control subjects with age related cataract. Protein concentrations of VEGF-A, PDGF and PEDF in aqueous humor and plasma were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) tests.

• **RESULTS:** The VEGF-A and PDGF concentrations in aqueous humor from NVG patients were (1130.56 ± 69.32) ng/L and (221.95 ± 56.08) ng/L, respectively. Both of them were significantly higher than control subject (226.45 ± 37.46) ng/L, (36.25 ± 7.12) ng/L ($P < 0.01$). Aqueous PEDF was significantly lower in the NVG group (195.69 ± 42.00) ng/L than that in controls (497.89 ± 12.52) ng/L ($P < 0.01$). However, levels of VEGF-A, PDGF and PEDF in the serum of NVG were (226.45 ± 37.46) ng/L, (29.57 ± 6.31) ng/L and (13.24 ± 1.76) ng/L, respectively, which were similar with control subjects (219 ± 34.89) ng/L, (28.28 ± 7.24) ng/L and (12.96 ± 2.08) ng/L ($P > 0.05$). The concentrations of VEGF-A were closely positive correlated with levels of PDGF in the aqueous humor of patients with NVG ($r = 0.502$, $P = 0.015$). However, the concentrations of VEGF-A were closely negative correlated with levels of PEDF in the aqueous humor of patients with NVG ($r = -0.480$, $P = 0.020$).

• **CONCLUSION:** There were higher levels of VEGF-A and PDGF, and lower level of PEDF in the aqueous humor of patients with NVG. There was a positive correlation between VEGF-A and PDGF, a negative correlation between VEGF-A and PEDF. The combination of anti-VEGF agent, PDGF inhibitor and PEDF may provide a new idea for the treatment of NVG.

• **KEYWORDS:** neovascular glaucoma; vascular endothelial growth factor-A/analyze; platelet-derived growth factor/analyze; pigment epithelium derived factor/analyze; aqueous humor; enzyme-linked immunosorbent assay

Citation: Li YJ, Hou X, Zhang Q. Comparison of VEGF-A, PDGF and PEDF levels in aqueous humor and serum of patients with neovascular glaucoma. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020; 20(12):2151-2154

0 引言

新生血管性青光眼(neovascular glaucoma, NVG)是一种常见的继发性青光眼,其虹膜表面和房角新生血管的形成导致小梁网与周边的虹膜组织相粘连,进而导致进行性眼压升高,是一种临床治疗较为棘手的严重致盲性眼病^[1]。NVG多继发于视网膜缺血、炎症及手术外伤等疾病,其中糖尿病性视网膜疾病(diabetic retinopathy, DR)及视网膜中央静脉阻塞(central retinal vein occlusion, CRVO)占到其病因的近70%^[2]。

目前,NVG具体的发病机制尚未明确,但普遍认为视网膜缺氧、炎症导致多种细胞因子的过量表达是NVG形成的主要原因,其中血管内皮生长因子-A(vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A)被认为是最为关键的血管生成因子,抗VEGF制剂也广泛应用于眼部新生血管性疾病的治疗^[3-4]。但单独抗VEGF治疗并不能完全抑制NVG新生血管的形成,有研究发现血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)也参与了眼内病理性新生血管的形成^[5]。而色素上皮衍生因子(pigment epithelium derived factor, PEDF)是一种重要的血管生成抑制剂,可抑制多种新生血管的形成^[6-7]。本研究通过定量测定NVG及年龄相关性白内障患者房水和血清中VEGF-A、PDGF及PEDF的含量并分析其意义,探索治疗NVG的新方法。

1 对象和方法

1.1 对象 本研究为前瞻性临床试验,通过空军军医大学西京医院伦理委员会的批准,并遵守《赫尔辛基宣言》关于人体受试者研究的规定。所有受试者均书面签署知情同意书。收集2015-12/2016-12在西京医院眼科住院的NVG患者23例23眼。所有患者均为汉族,其中男13例,女10例,年龄32~76(平均 56.1 ± 15.7)岁,病程2~18(平均 6.5 ± 2.8)mo,术前眼压35~50(平均 40.5 ± 5.7)mmHg。其中原发病为DR 13例,CRVO 9例,Eales 1例。纳入标准:(1)裂隙灯及房角镜检查虹膜表面、房角有新生血管,非接触眼压计测量眼压 ≥ 21 mmHg;(2)患者因角膜水肿或玻璃体混浊无法行视网膜激光光凝治疗;(3)常规抗青光眼药物治疗无效、患者及家属同意接受抗VEGF联合抗青光眼手术治疗。排除标准:(1)3mo内曾行抗VEGF药物治疗的患者;(2)曾行眼科手术治疗的(包括白内障手术);(3)既往或目前患有眼部炎症、年龄相关性黄斑变性等与VEGF相关疾病的患者;(4)全身合并其他疾病的患者:包括高血压、脑栓塞、充血性心衰、肾功能异常、全身肿瘤;(5)孕期及哺乳期患者。年龄相关性白内障患者组的纳入标准:选择同时期在空军军医大学西京医院眼科住院的年龄相关性白内障汉族患者23例23眼作为对照组,其中男12例,女11例,年龄57~73(平均 62.4 ± 3.5)岁,病程3~36(平均 12.5 ± 9.8)mo,术前眼压12~18(平均 13.8 ± 2.4)mmHg。排除眼部其他疾病、全身性疾病、孕期及哺乳期患者。NVG组和年龄相关性白内障患者组的性别、年龄基本一致($\chi^2 = 0.09, P > 0.05; t = -13.57, P > 0.05$),具有可比性,而年龄相关性白内障患者组的病程高于NVG组,差异有统计学意义($t = 10.42, P < 0.01$)。

1.2 方法 NVG患者行玻璃体内注射雷珠单抗注射液0.5mg,年龄相关性白内障患者行白内障超声乳化联合人

工晶状体植入术。房水标本于手术操作前25G针头行前房穿刺抽取房水100 μ L、放置于无菌离心管并于-80℃冷冻保存。血清标本于患者手术前抽取空腹静脉血5mL,1000r/min 离心15min提取血清,并于-80℃冷冻保存。酶联免疫吸附实验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)分析:人VEGF-A、PDGF、PEDF的ELISA试剂盒均由上海朗顿科技生物有限公司提供,ELISA检测均严格按照说明书操作。

统计学分析:采用SPSS 23.0统计学软件进行统计分析。计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两两比较采用独立样本 t 检验,相关性分析采用Pearson相关检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者房水和血清中VEGF-A和PDGF及PEDF的含量分析 NVG患者房水中VEGF-A、PDGF的含量显著高于年龄相关性白内障患者组, PEDF的含量显著低于年龄相关性白内障患者组,差异具有统计学意义(均 $P < 0.01$)。NVG、年龄相关性白内障患者血清中VEGF-A、PDGF及PEDF的含量均无明显变化,差异无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表1。

2.2 NVG患者房水和血清中VEGF-A、PDGF及PEDF含量之间的相关性分析 NVG患者房水中VEGF-A与PDGF含量呈正相关($r = 0.502, P = 0.015$), VEGF-A与PEDF含量呈负相关($r = -0.480, P = 0.020$),见图1、2。而NVG患者房水中PDGF与PEDF含量无明显相关性($P > 0.05$);NVG患者房水中VEGF-A、PDGF及PEDF的含量与血清中的含量均无明显相关性($P > 0.05$)。

3 讨论

VEGF是一种多功能的细胞因子,在血管生成及淋巴管的生成中有着直接和间接的调控作用,VEGF家族包括VEGF-A、VEGF-B、胎盘生长因子(placental growth factor, PIGF)、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F,其中VEGF-A、PIGF主要参与血管的生成,VEGF-A被认为是最关键的血管生成因子,且VEGF-A具有多种亚型,其中VEGF-A165是最主要的亚型。研究已证实VEGF通过与VEGFR结合激活多种信号级联进而聚集血管前体细胞和单核细胞,促进血管内皮细胞的增殖、迁移和存活,同时还可以增加血管通透性、扩张血管^[8-9]。本研究中NVG患者房水中VEGF-A的含量显著高于对照组,与Chen等^[10]及Zhou等^[11]的研究相一致,再次证实了VEGF-A在NVG发病机制中起着至关重要的作用。有研究发现NVG患者玻璃体内注射抗VEGF制剂,注射后1d即可出现虹膜荧光素血管造影渗漏减少、并可持续1mo余^[12]。也有研究证实抗VEGF制剂通过显著降低NVG患者房水中VEGF的含量进而减少虹膜和房角的新生血管生成^[11]。目前,已知的抗VEGF制剂包括哌加他尼钠—特异性结合VEGF-A165,贝伐单抗、雷珠单抗—结合所有的VEGF-A,阿柏西普、康柏西普—结合VEGF-A、VEGF-B和PIGF。抗VEGF制剂已应用于NVG患者的临床治疗中,然而,单独抗VEGF治疗并不能完全消除虹膜新生血管,推测其他细胞因子也可能参与了眼内病理性新生血管的生成。

PDGF家族包括PDGF-A、B、C、D四种亚基,分别组合成PDGF-A、PDGF-B、PDGF-AB、PDGF-C及PDGF-D

表 1 两组患者房水及血清中 VEGF-A、PDGF 及 PEDF 含量的比较

($\bar{x} \pm s$, ng/L)

组别	房水			血清		
	VEGF-A	PDGF	PEDF	VEGF-A	PDGF	PEDF
NVG 组	1130.56±69.32	221.95±56.08	195.69±42.00	226.45±37.46	29.57±6.31	13.24±1.76
年龄相关性白内障组	226.45±37.46	36.25±7.12	497.89±12.52	219±34.89	28.28±7.24	12.96±2.08
<i>t</i>	24.15	20.63	-19.45	13.49	14.78	13.48
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05	>0.05	>0.05

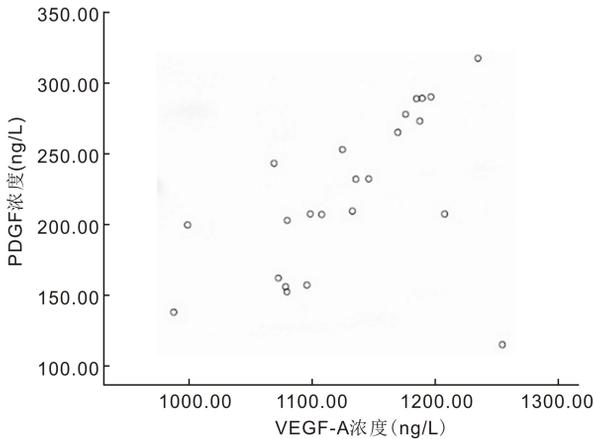


图 1 NVG 患者房水中 PDGF 与 VEGF-A 浓度的相关性分析。

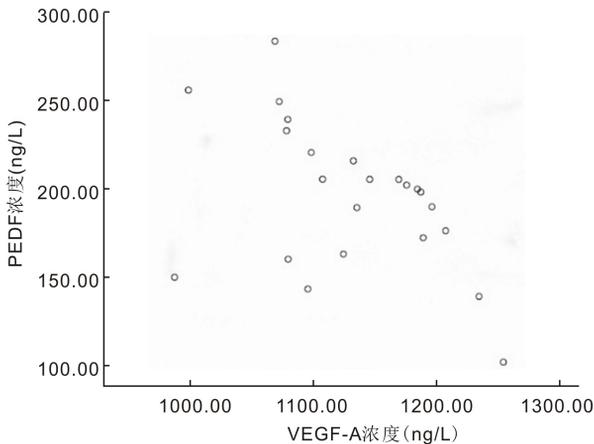


图 2 NVG 患者房水中 PEDF 与 VEGF-A 浓度的相关性分析。

五种类型,其中 PDGF-C 及 PDGF-D 是近年来发现的新成员。PDGF 通过与 PDGFR α 受体或 β 受体结合进而促进多种细胞的增殖、迁移和分化,是一种促进细胞增殖、血管修复新生的生长因子,在血管的生成中起着十分重要的作用^[13-14]。大量研究已经证实,PDGF 与 VEGF 具有显著的同源性,亦在眼内病理性新生血管的形成中发挥着举足轻重的作用^[15]。Simpso 等^[16]在视网膜缺氧的动物模型中发现,PDGF-A、PDGF-B 及 VEGF 的表达水平显著升高。Jo 等^[17]也研究发现联合抑制 PDGF-B 及 VEGF-A 的信号通路比单纯抑制 VEGF-A 更能显著促进眼内病理性新生血管的回归。我们前期从分子机制学方面研究提示,PDGF-C 也参与了眼内病理性新生血管的生成,并通过动物模型进一步证实,阻断 PDGF-C 的表达可以显著减少眼内病理性新生血管的生成^[5]。同时也发现 NVG 患者房水中 PDGF-C 的含量显著高于白内障对照组^[18]。本研究中 NVG 患者房水中 PDGF 的含量显著高于对照组,且 PDGF 的含量与 VEGF 呈正相关,再次证实

了 PDGF 与 NVG 新生血管的形成密切相关,若能抑制 PDGF/PDGFR 的作用,可能为眼内新生血管性疾病的治疗提供一种新的途径,未来若能联合抑制 VEGF 治疗,可能效果更佳。

在健康人正常眼内,促血管生成因子与抑制血管生成因子处于平衡状态,当组织出现缺氧、炎症、外伤等情况时,这种平衡将被破坏,进而出现眼部病理性新生血管。PEDF 是目前发现的最有效的血管生成抑制剂,其不仅能抑制细胞外基质 VEGF 等促血管因子的表达,还能激活细胞内的凋亡通路进而促进内皮细胞的凋亡,从而抑制新生血管的生成^[6-7]。更重要的是, PEDF 抑制新生血管具有选择性,只抑制新生血管的形成,而对已成熟的血管无抑制作用。这一优势大大降低了临床应用的毒副作用,具有很大的应用前景^[19]。本研究中 NVG 患者房水中 PEDF 的含量显著低于年龄相关性白内障组,且 PEDF 与 VEGF 含量呈负相关,这一结果与 Sun 等^[20]的研究相一致。我们还发现 NVG 患者血清中 VEGF-A、PDGF 及 PEDF 的含量与对照组均无明显变化,且 NVG 患者房水中 VEGF-A、PDGF 及 PEDF 的含量与血清中的含量均无明显相关性。有报道,VEGF-A 与糖尿病微血管病变密切相关,糖尿病肾病及糖尿病视网膜病变患者血清中 VEGF-A 的含量显著高于对照组,这一结果与本研究数据不一致,可能由于 NVG 患者的原发疾病除了 DR 外还包括了 CRVO 等疾病,且本研究样本量有限,还有待于后续进一步研究探讨。

众所周知,年龄相关性白内障为老年性生理性疾病,为眼科需要手术的疾病中最接近健康人的一种疾病,且目前尚未发现其与 VEGF、PDGF 及 PEDF 的相关性报道,故本研究中我们选取年龄相关性白内障患者作为对照组。本文通过定量分析 NVG 患者房水中促血管生成因子与抑制血管生成因子的浓度水平,并与国内外相关数据报道相对比,进而探索治疗 NVG 的新方法;尤其是 PDGF 的水平浓度,我们课题组前期从动物试验分子机制方面证实 PDGF 参与了眼内病理性新生血管的生成,本实验客观证实了 NVG 患者房水中 PDGF 的水平亦升高,为后期 NVG 抗新生血管的联合靶向制剂研究提供了新思路。

综上所述我们推测,房水中 VEGF-A、PDGF 与 PEDF 的比例失调在 NVG 新生血管的形成中发挥着重要作用,联合使用 VEGF-A、PDGF 抑制剂及 PEDF 可能为 NVG 治疗提供新的方法,其使用效果还有待于进一步探索。

参考文献

1 Hanna R, Tiosano B, Graffi S, et al. Efficacy and safety of the EX-PRESS filtration device in patients with advanced neovascular glaucoma and proliferative diabetic retinopathy. *Case Rep Ophthalmol* 2018; 9(1): 61-69
 2 Biswal MR, Prentice HM, Smith GW, et al. Cell-specific gene

therapy driven by an optimized hypoxiaregulated vector reduces choroidal neovascularization. *J Mol Med (Berl)* 2018;96(10):1107-1118

3 Horsley MB, Kahook MY. Anti-VEGF therapy for glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 2010; 21(2): 112-117

4 Sun C, Zhang H, Tang Y, et al. Aqueous Inflammation and Ischemia-Related Biomarkers in Neovascular Glaucoma with Stable Iris Neovascularization. *Curr Eye Res* 2020; 18: 1-10

5 Hou X, Kumar A, Lee C, et al. PDGF-CC blockade inhibits pathological angiogenesis by acting on multiple cellular and molecular targets. *Proc Natl Acad* 2010; 107(27):12216-12221

6 Yoshida T, Akiba J, Matsui T, et al. Pigment Epithelium-Derived Factor (PEDF) Prevents Hepatic Fat Storage, Inflammation, and Fibrosis in Dietary Steatohepatitis of Mice. *Dig Dis Sci* 2017; 62(6): 1527-1536

7 Matsui T, Nishino Y, Maeda S, et al. PEDF-derived peptide inhibits corneal angiogenesis by suppressing VEGF expression. *Microvasc Res* 2012; 84(1): 105-108

8 Loukovaara S, Sandholm J, Aalto K, et al. Deregulation of ocular nucleotide homeostasis in patients with diabetic retinopathy. *J Mol Med (Berl)* 2017;95(2): 193-204

9 Lie S, Vieira BR, Arruda S, et al. Molecular Basis of The Retinal Pigment Epithelial Changes That Characterize The Ocular Lesion in Toxoplasmosis. *Microorganisms* 2019; 7(10): 405

10 Chen S, Zhou M, Wang W, et al. Levels of angiogenesis-related vascular endothelial growth factor family in neovascular glaucoma eyes. *Acta Ophthalmol* 2015; 93(7): e556-e560

11 Zhou M, Chen S, Wang W, et al. Levels of erythropoietin and vascular endothelial growth factor in surgery-required advanced neovascular glaucoma eyes before and after intravitreal injection of

bevacizumab. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54(6): 3874-3879

12 Grisanti S, Biester S, Peters S, et al. Intracameral bevacizumab for iris rubeosis. *Am J Ophthalmol* 2006; 142(1): 158-160

13 Li X, Eriksson U. Novel PDGF family members: PDGF-C and PDGF-D. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003; 14(2): 91-98

14 Zhang J, Zhang H, Chen Y, et al. Platelet-derived growth factor D promotes the angiogenic capacity of endothelial progenitor cells. *Mol Med Rep* 2019; 19(1): 125-132

15 Tang B, Gong JP, Sun JM, et al. Construction of a plasmid for expression of rat platelet-derived growth factor C and its effects on proliferation, migration and adhesion of endothelial progenitor cells. *Plasmid* 2013; 69(3): 195-201

16 Simpson DA, Murphy GM, Bhaduri T, et al. Expression of the VEGF gene family during retinal vaso-obliteration and hypoxia. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 262(2): 333-340

17 Jo N, Mailhos C, Ju M, et al. Signaling enhances the efficacy of anti vascular endothelial growth factor therapy in multiple models of ocular Neovascularization. *Am J Pathol* 2006; 168(6): 2036-2053

18 Li Y, Hu D, Lv P, et al. Expression of platelet-derived growth factor-C in aqueous humor of patients with neovascular glaucoma and its correlation with vascular endothelial growth factor. *Eur J Ophthalmol* 2020;30(3): 500-505

19 Tombran-Tink J, Barnstable CJ. Therapeutic prospects for PEDF: more than a promising angiogenesis inhibitor. *Trends Mol Med* 2003; 9(6): 244-250

20 Sun Y, Zhao H, Shen Y, et al. Comparison of erythropoietin, semaphorins 3A and pigment epithelium derived factor levels in serum and aqueous humor of patients with neovascular glaucoma and cataract. *J Coll Physicians* 2019; 29(9): 900-901