

抗 VEGF 辅助治疗增殖性糖尿病视网膜病变对眼内炎症因子水平的影响

罗金秀¹, 胡仔仲², 刘庆淮², 方 圆²

引用: 罗金秀, 胡仔仲, 刘庆淮, 等. 抗 VEGF 辅助治疗增殖性糖尿病视网膜病变对眼内炎症因子水平的影响. 国际眼科杂志 2023;23(5):827-832

基金项目: 2021 年江苏省“双创博士”项目 (No. JSSCBS20211460); 2021 年南京市留学人员科技创新项目择优资助计划 (No.2021BSH3002)

作者单位:¹(210000) 中国江苏省南京市浦口区中医院眼科;
²(210000) 中国江苏省南京市, 南京医科大学第一附属医院眼科

作者简介: 罗金秀, 副主任医师, 研究方向: 视网膜疾病。

通讯作者: 方圆, 博士研究生, 主治医师, 研究方向: 玻璃体视网膜疾病. fystudy2013@126.com

收稿日期: 2022-09-11 修回日期: 2023-04-04

摘要

目的: 探讨玻璃体切除 (PPV) 术前辅助应用抗血管内皮生长因子 (VEGF) 药物 (康柏西普) 对增殖性糖尿病视网膜病变 (PDR) 患者玻璃体液中炎症细胞因子水平的影响。

方法: 收集 2017-06/2018-01 于南京医科大学第一附属医院眼科就诊并确诊的 PDR 患者 49 例 49 眼, 随机分为两组, no-IVC 组患者 25 例 25 眼 PPV 术前未接受玻璃体腔注射治疗, IVC 组患者 24 例 24 眼 PPV 术前 5~7d 接受玻璃体腔注射康柏西普治疗。纳入患者均于 PPV 术前收集玻璃体液样本, 并采用 Luminex 液相悬浮芯片技术检测血管内皮生长因子 A (VEGF-A)、单核细胞趋化因子 (MCP-1) 及炎症细胞因子的水平。

结果: 与 no-IVC 组相比, IVC 组患者玻璃体液中 VEGF-A 水平显著降低 ($P < 0.001$), 炎症细胞因子 IL-6 ($P = 0.004$)、IL-8 ($P = 0.002$)、IL-18 ($P = 0.04$)、TNF- α ($P = 0.03$) 水平显著升高, 其余炎症细胞因子水平均无显著差异。

结论: PPV 术前辅助玻璃体腔注射康柏西普可有效降低 PDR 患者玻璃体液中 VEGF-A 水平, 但对炎症细胞因子水平的影响有限。

关键词: 抗血管内皮生长因子 (VEGF) 治疗; 增殖性糖尿病视网膜病变; 细胞因子; 炎症; 玻璃体液

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2023.5.22

Effect of anti-vascular endothelial growth factor therapy on intraocular inflammatory cytokine levels in the treatment of proliferative diabetic retinopathy

Jin-Xiu Luo¹, Zi-Zhong Hu², Qing-Huai Liu², Yuan Fang²

Foundation items: Jiangsu Innovation and Entrepreneurial Talent

Program in 2021 (No. JSSCBS20211460); Nanjing Scientific and Technological Innovation Program for Overseas Students (No. 2021BSH3002)

¹Department of Ophthalmology, Nanjing Pukou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China; ²Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Yuan Fang, Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University, Nanjing 210000, Jiangsu Province, China. fystudy2013@126.com

Received: 2022-09-11 Accepted: 2023-04-04

Abstract

• **AIM:** To explore the effects of anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) agents (Conbercept) before pars plana vitrectomy (PPV) on inflammatory cytokine levels of patients with proliferative diabetic retinopathy (PDR).

• **METHODS:** A total of 49 patients (49 eyes) who diagnosed with PDR at the First Affiliated Hospital with Nanjing Medical University from June 2017 to January 2018 were recruited and randomly divided into two groups. A total of 25 cases (25 eyes) who did not receive intravitreal injection before PPV were included in no-intravitreal injection of Conbercept (IVC) group, and 24 cases (24 eyes) who received IVC 5~7d before PPV were included in IVC group. The vitreous samples were collected from all the patients at the start of PPV. Levels of VEGF-A, monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) and inflammatory cytokines in the vitreous humor were measured using Luminex technology.

• **RESULTS:** Compared with the no-IVC group, the level of VEGF-A decreased significantly ($P < 0.001$), the concentration of IL-6 ($P = 0.004$), IL-8 ($P = 0.002$), IL-18 ($P = 0.04$) and TNF- α ($P = 0.03$) increased remarkably in the IVC group. The other inflammatory cytokines in the vitreous humor showed no significant difference between the IVC and no-IVC groups.

• **CONCLUSION:** IVC before PPV can effectively decrease the concentration of VEGF-A, but had limited influence on the level of inflammatory cytokines in the vitreous humor of patients with PDR.

• **KEYWORDS:** anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) therapy; proliferative diabetic retinopathy; cytokines; inflammation; vitreous humor

Citation: Luo JX, Hu ZZ, Liu QH, et al. Effect of anti-vascular endothelial growth factor therapy on intraocular inflammatory cytokine levels in the treatment of proliferative diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023;23(5):827-832

0 引言

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病的主要并发症之一。目前,全球约4.63亿成年人患有糖尿病^[1],而DR总体患病率接近糖尿病患病人群的35%^[2]。DR早期阶段为非增殖性糖尿病视网膜病变(non-proliferative diabetic retinopathy, NPDR),以眼底微动脉瘤为主要特征,继而发展为增殖性糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)。PDR的主要特征为眼底硬性及软性渗出、新生血管和出血^[3]。其中持续性玻璃体出血、广泛性纤维血管增生或牵拉性视网膜脱离是玻璃体切除术(pars-plana vitrectomy, PPV)的适应证。

高血糖代谢作用导致视网膜微血管损伤,引起血管通透性增加,视网膜缺血缺氧,促血管生成和炎症因子随之上调,如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血管生成素、肝细胞生长因子、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)和白细胞介素(interleukin, IL)-6等^[4]。其中VEGF作为PDR的主要血管生成因子,其水平已被证明与PPV手术难度^[5]以及PPV术后早期^[6]或晚期玻璃体积血^[7]的复发有关。抗VEGF治疗可有效降低玻璃体腔VEGF水平,减少视网膜血管渗漏,促进新生血管消退,从而减少PPV术中出血风险,降低手术难度,有利于手术预后^[8]。炎症与视网膜新生血管亦密切相关。炎症细胞在高糖环境中分泌生长因子、细胞因子及蛋白酶等,以介导新生血管形成^[9]。激活的内皮细胞表达促炎因子,介导激活白细胞^[10-11]。促炎细胞因子包括IL-6、IL-1 α 、IL-1 β 、TNF- α 等可通过作用于内皮细胞直接激活血管生成,还可通过激活白细胞和内皮细胞产生更多的促血管生成因子间接促进血管生成。此外,PDR患者玻璃体中促炎细胞因子和趋化因子浓度显著升高^[12]。研究表明,PPV术前联合抗VEGF注射后,眼内血管内皮生长因子A(vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A)水平显著快速下降^[13]。然而,随着VEGF-A水平的下降和新生血管的退化,炎症因子在眼微环境中的变化仍不清楚。既往研究通常检测抗VEGF治疗后数周或数月眼内炎症因子的变化,但研究结果仍存在争议^[14-17]。本研究通过检测玻璃体腔炎症因子水平,探讨PPV术前联合玻璃体腔注射康柏西普(intravitreal injection of Conbercept, IVC)早期对视网膜炎症状态的作用,为临床治疗提供依据。

1 对象和方法

1.1 对象

前瞻性随机对照研究。收集2017-06/2018-01于南京医科大学第一附属医院眼科就诊并确诊的PDR患者49例49眼为研究对象,随机分为两组,no-IVC组患者25例25眼PPV术前未接受玻璃体腔注射治疗,IVC组患者24例24眼PPV术前接受玻璃体腔注射康柏西普治疗。纳入标准:(1)年龄18岁以上;(2)根据2014年中华医学会眼科学分会眼底病学组提出的DR分期方法^[18]确诊为PDR(IV~V期);(3)符合PPV和玻璃体腔注射康柏西普治疗适应证。排除标准:(1)既往有内眼手术史;(2)合并其他玻璃体视网膜疾病或合并眼前节新生血管;(3)临床资料不全者。本研究遵循《赫尔辛基宣言》,符合医学伦理学原则并获得南京医科大学第一附属医院医学伦理委员会批准(No.2017-SR-283)。所有患者均对本研究知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 手术方法

IVC组患者于PPV术前5~7d接受玻璃体腔注射康柏西普治疗(其中PPV术前5、6、7d接受玻璃体腔注射治疗者均为8例8眼)。IVC手术方法:常规内眼手术消毒铺单,表面麻醉后,将27G 1mL一次性无菌注射器于颞上方角巩膜缘后4mm处穿刺入玻璃体腔注射康柏西普0.5mg/0.05mL(成都康弘生物科技有限公司,10mg/mL),拔出注射器后用棉签按压30~60s,观察有无出血、切口渗漏,注药后予左氧氟沙星滴眼液预防感染。PPV手术方法:由同一名资深眼科医生完成所有患者的PPV手术。常规距角膜缘3.5~4.0mm扁平部行三通道23G穿刺,颞下方穿刺套管放置灌注。行23G闭合式后入路全玻璃体切除,如果出血则采用玻切头压迫、提高灌注压、眼内电凝等方法,对未处理的视网膜区域进行激光光凝,以完成全视网膜光凝。如果出现视网膜裂孔,选择硅油行眼内填充,无视网膜裂孔则灌注液填充。术闭,可吸收缝线缝合巩膜切口。

1.2.2 玻璃体液收集及细胞因子检测

纳入患者均于PPV手术开始时,即眼内灌注开始前用玻璃体切割器收集0.5~0.8mL未稀释的玻璃体液样本。将样品收集至无菌试管中,立即置于冰上,离心(4 $^{\circ}$ C, 1500r/min, 5min)以去除细胞和碎片,然后于-80 $^{\circ}$ C保存备用。本研究检测的细胞因子包括VEGF-A和炎症相关细胞因子IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12、IL-13、IL-17A、IL-18、TNF- α 、单核细胞趋化因子(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)。利用Luminex液相悬浮芯片技术,在Wayen生物技术公司(上海)的协助下完成以上细胞因子水平的检测。所有步骤严格按照产品说明书操作,在96孔微孔板每孔上加50 μ L玻璃体液样品或标准品,室温孵育后用稀释后的生物素抗体与样品孵育,加入PE标记的链霉亲和素进一步孵育,再加入洗涤缓冲液,最后将平板送入Bio-Plex MAGPIX系统读取。

统计学分析:所有数据均采用SPSS 26.0软件进行统计分析。计量资料采用Kolmogorov-Smirnov检验变量的正态性,服从正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用独立样本 t 检验,多组间比较使用单因素方差分析(ANOVA);不服从正态分布的计量资料以中位数(四分位间距)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示,两组间比较采用Mann-Whitney U 检验,多组间比较采用Kruskal-Wallis H 检验。计数资料采用 $n(\%)$ 表示,两组间比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者基线资料比较

no-IVC组和IVC组患者年龄、性别构成、PDR类型、视力下降持续时间、糖尿病病程、术前视力、糖化血红蛋白(HbA1c)水平和既往行全视网膜激光光凝情况比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

2.2 两组患者玻璃体液细胞因子水平比较

与no-IVC组相比,IVC组患者玻璃体液中VEGF-A水平显著降低($P < 0.001$),炎症细胞因子IL-6($P = 0.004$)、IL-8($P = 0.002$)、IL-18($P = 0.04$)、TNF- α ($P = 0.03$)水平显著升高,见表2。IVC组康柏西普注射后5、6、7d的患者玻璃体液中炎症细胞因子水平差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表3。

表1 两组患者基线资料比较

组别	例数	男/女 (例)	年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	PDR 类型(眼,%)		
				玻璃体积血	纤维血管增殖膜	玻璃体积血合并纤维血管增殖膜
no-IVC 组	25	12/13	50.36±15.27	9(36)	6(24)	10(40)
IVC 组	24	14/10	48.62±0.94	5(21)	7(29)	12(50)
t/χ^2		0.53	-0.46		1.38	
<i>P</i>		0.47	0.65		0.50	

组别	例数	糖尿病病程 ($\bar{x}\pm s$, a)	HbA1c ($\bar{x}\pm s$,%)	视力下降持续时间 ($\bar{x}\pm s$, mo)	术前视力 ($\bar{x}\pm s$, LogMAR)	既往行全视网膜激光光凝(眼,%)
IVC 组	24	11.33±7.93	6.99±0.85	2.86±3.44	1.63±0.83	7(29)
t/χ^2		-0.73	-0.31	-0.25	-0.69	0.008
<i>P</i>		0.47	0.76	0.81	0.49	0.93

表2 纳入患者玻璃体液中细胞因子水平比较

细胞因子	no-IVC 组(<i>n</i> =25)	IVC 组(<i>n</i> =24)	<i>U/t</i>	<i>P</i>
VEGF-A [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	80.52(26.62,801.95)	0(0,0)	-4.77	<0.001
IL-1β [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	0.18(0.14,0.27)	0.24(0.14,0.43)	-0.73	0.46
IL-2 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	0.61(0.55,0.98)	0.99(0.61,1.63)	-1.75	0.81
IL-4 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	0.53(0.43,0.70)	0.53(0.36,0.79)	-0.06	0.95
IL-6 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	2.44(0.97,6.95)	7.72(3.33,23.34)	-2.86	0.004
IL-8 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	61.53(26.89,79.08)	110.65(61.06,251.55)	-3.06	0.002
IL-10 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	0.26(0.09,0.53)	0.29(0.03,0.67)	-0.04	0.97
IL-12($\bar{x}\pm s$)	0.32±0.21	0.26±0.24	-0.90	0.37
IL-13 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	0.14(0.0750,0.23)	0.09(0.0075,0.28)	-0.98	0.33
IL-17A($\bar{x}\pm s$)	2.06±0.71	1.98±0.78	-0.39	0.70
IL-18($\bar{x}\pm s$)	75.89±26.03	92.33±29.34	2.08	0.04
TNF-α [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	7.21(5.79,8.59)	8.78(6.91,12.49)	-2.12	0.03
MCP-1($\bar{x}\pm s$)	657.52±227.95	728.62±238.31	1.07	0.29

表3 IVC 组康柏西普注射后 5~7d 患者玻璃体液中细胞因子水平比较

细胞因子	IVC-5d(<i>n</i> =8)	IVC-6d(<i>n</i> =8)	IVC-7d(<i>n</i> =8)	<i>H/F</i>	<i>P</i>
IL-1β [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	0.26(0.17,0.43)	0.30(0.15,0.45)	0.15(0.13,0.29)	2.14	0.34
IL-2 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	0.99(0.69,1.79)	1.09(0.48,1.81)	0.85(0.48,1.17)	0.50	0.78
IL-4 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	0.53(0.42,0.81)	0.60(0.41,0.86)	0.43(0.31,0.57)	1.49	0.47
IL-6 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	5.86(3.33,16.77)	8.79(4.19,21.01)	6.60(2.58,28.01)	0.18	0.91
IL-8 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	110.65(76.12,246.28)	135.09(36.46,248.66)	119.44(63.44,311.68)	0.97	0.62
IL-10 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	0.32(0.0300,0.99)	0.45(0.0900,0.67)	0.09(0.0075,0.63)	0.84	0.66
IL-12($\bar{x}\pm s$)	0.39±0.22	0.38±0.18	0.33±0.24	0.13	0.88
IL-13 [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	0.14(0.0450,0.32)	0.06(0.0075,0.18)	0.03(0,0.31)	1.56	0.46
IL-17A($\bar{x}\pm s$)	2.25±0.57	2.09±0.78	1.59±0.89	1.64	0.22
IL-18($\bar{x}\pm s$)	95.78±30.91	83.42±25.32	96.62±33.21	0.49	0.62
TNF-α [<i>M</i> (<i>P</i> ₂₅ , <i>P</i> ₇₅)]	10.66(9.02,16.34)	9.16(6.91,12.49)	7.41(5.89,8.29)	4.38	0.11
MCP-1($\bar{x}\pm s$)	757.79±211.23	834.16±292.01	598.92±155.20	2.23	0.38

3 讨论

康柏西普是 VEGF 受体与人免疫球蛋白 Fc 段基因重组的融合蛋白,对 VEGF-A、VEGF-B 及胎盘生长因子(PlGF)具有高度亲和力,竞争性抑制 VEGF 与其受体结合,从而抑制内皮细胞增殖及新生血管生成^[19]。PPV 治疗 PDR 术前抗 VEGF 治疗的目的是诱导视网膜新生血管消退,减少术中出血,使纤维血管膜更易被剥离,减少医源性视网膜裂孔,使 PPV 手术更顺利^[20]。本研究发现,玻璃

体腔注射康柏西普后玻璃体液中 VEGF-A 水平快速下降,但抗 VEGF 治疗早期对多数炎症细胞因子的表达影响甚微。

在 DR 中,视网膜缺血缺氧通过激活缺氧诱导因子 1(HIF-1)诱导 VEGF 表达上调^[21]。糖尿病患者外周血中磷脂酶 A2(PLA2)升高也会引起 VEGF 表达上调^[22]。VEGF 通过诱导细胞间紧密连接蛋白磷酸化,增加毛细血管通透性^[23]。VEGF 激活 VEGFR-1 和 VEGFR-2 两种酪

氨酸激酶受体,刺激内皮细胞增殖、迁移,促进新生血管形成^[24]。这些血管分布不规则,血管结构不良,易发生渗漏,导致视网膜内液体积聚。血管渗漏增加是糖尿病性黄斑水肿(diabetic macular edema, DME)的严重危险因素。因此,抗 VEGF 治疗已成为 DME 的一线治疗方案^[25]。尽管如此,仍有部分 DME 患者对抗 VEGF 治疗反应不佳,这也说明除 VEGF 外还有其他机制参与 DR 及 DME 的发生发展。慢性低度炎症被证实存在于 DR 的各个阶段^[26]。炎症细胞因子 IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-17A 和 TNF- α 水平与 DR 的严重程度和预后相关^[27]。PDR 患者玻璃体中炎症细胞因子 IL-6、IL-17A 和 TNF- α 等水平显著升高,诱导白细胞的活化和迁移,并引起白细胞淤积,进而导致毛细血管闭塞、视网膜缺氧和内皮细胞损伤^[28]。上调的 TNF- α 导致细胞间黏附分子 1(ICAM-1)介导的内皮细胞黏附和内皮功能障碍,增加血-视网膜屏障的渗透性,加速 DME 的发生发展^[29]。此外,炎症因子高表达亦能促进 VEGF 表达。高血糖介导 IL-17A 表达,促进视网膜炎症及血管通透性增高,同时还能增强 VEGF 表达,间接促进视网膜血管增殖和新生血管形成^[30]。

VEGFR-1 主要由单核细胞和巨噬细胞表达,参与白细胞在炎症部位的募集^[24]。VEGFR-2 仅在内皮细胞中表达。VEGF 与 VEGFR-2 的结合启动信号传导,不仅增加血管通透性,而且通过核因子活化 B 细胞 κ 轻链增强子(NF- κ B)上调炎症细胞因子(如 MCP-1、ICAM-1)的表达^[31-32]。在 DME 中,可溶性 VEGFR-2 的水平与 IL 和 MCP-1 等炎症因子的水平显著相关,这些炎症因子诱导白细胞趋化,促进炎症细胞黏附到血管内皮,导致血管通透性进一步增加^[33]。因此,VEGF 与血管内皮细胞、单核细胞和巨噬细胞上的受体结合进一步促进黄斑水肿。VEGF 对炎症细胞具有趋化性^[34],VEGF 除了增加血管通透性外,还可能促进炎症。Yoshimura 等^[35]研究发现 PDR 患者玻璃体中 VEGF、MCP-1、IL-8、IL-6 水平显著升高,且 VEGF 水平与 MCP-1、IL-8、IL-6 水平呈正相关。此外,抑制 Müller 细胞来源的 VEGF 可显著降低糖尿病小鼠 TNF- α 、ICAM-1 和 NF- κ B 的表达^[36]。

抗 VEGF 治疗抑制 VEGFR-1 和 VEGFR-2 的信号传导,是否能够抑制炎症因子,下调眼内炎症因子水平有待进一步研究。本研究主要观察康柏西普注射 5~7d 后,即抗 VEGF 治疗早期玻璃体液中细胞因子的变化。结果发现,玻璃体腔注射康柏西普 5~7d 后,玻璃体液中 IL-6、IL-8、IL-18 及 TNF- α 水平显著增高,其余炎症因子(IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-10、IL-12、IL-13、IL-17A 和 MCP-1)水平无显著变化。康柏西普特异性结合 VEGF-A,竞争性抑制 VEGF 与其受体结合,但在治疗早期对炎症细胞因子水平无明显抑制作用。IL-18 作为促炎细胞因子,最初被描述为干扰素- γ 诱导因子,表达于活化的自然杀伤(natural killer, NK)细胞、T 淋巴细胞、上皮细胞等^[37]。VEGF 与 IL-18 相互抑制^[38]。随着 DR 病程的进展,血清 IL-18 水平呈逐渐下降趋势,对 VEGF 抑制作用减弱,导致血管内皮细胞增生,新生血管形成。本研究发现康柏西普抑制 VEGF 表达,玻璃体液中 IL-18 水平升高。这与视网膜新生血管模型中,VEGF 和 IL-18 水平呈负相关的观察结果一致^[39]。既往研究发现注射雷珠单抗

7d 后玻璃体内 IL-6、IL-8 水平显著升高^[40],玻璃体内注射贝伐单抗 3~7d 后房水中 IL-8 水平显著升高,IL-6 及 MCP-1 水平高于治疗前,但差异均无统计学意义^[41]。相似地,本研究发现玻璃体腔注射康柏西普 5~7d,玻璃体液中 IL-6 及 IL-8 水平较未注药组显著升高。IL-6 作为一种多功能促炎因子,广泛作用于炎症的各级反应,可以诱导炎症急性期反应,增加血管通透性^[42]。慢性高糖刺激可显著促进缺血的视网膜、血管内皮细胞及平滑肌细胞分泌 IL-6^[42],这可能是本研究中应用康柏西普抑制 VEGF 表达后,IL-6 水平升高的原因之一。IL-8 则是由缺血视网膜的内皮细胞和胶质细胞产生的促炎和血管生成细胞因子^[43],其分泌受 IL-6 调节,并进一步加重炎症反应^[44]。IL-6 及 IL-8 眼内水平均与黄斑水肿的严重程度相关^[45-46]。此外,Roh 等^[47]研究发现抗 VEGF 治疗 DME 后,DME 复发与房水中 IL-6 升高有关,而与 VEGF 无关,这可能也是部分 DME 患者抗 VEGF 治疗后应答不佳的原因之一。TNF- α 作为非糖基化蛋白,由单核细胞、巨噬细胞等多种炎症细胞合成和分泌,可促进淋巴细胞增生,趋化并活化中性粒细胞和单核细胞释放炎性介质,诱发炎症反应。既往研究发现雷珠单抗注射 1d 后眼内 IL-6、IL-8 水平骤升,IL-2、TNF- α 水平升高,但差异无统计学意义^[48]。本研究比较了玻璃体腔注药后 5、6、7d 玻璃体液中炎症细胞因子水平,发现这些细胞因子水平无明显波动。推测本研究中 IL-6、IL-8、IL-18 及 TNF- α 升高的过程短暂而急剧,可能发生于注射后 1~4d。这些炎症因子水平的升高也可能与注射穿刺或药物作用过程中的急性反应或视网膜缺血缺氧^[48]有关。上述研究结果表明,抗 VEGF 治疗早期对眼内炎症因子水平影响甚微。

本研究采用患者玻璃体液作为标本以检测各因子水平,玻璃体液较房水能够更好地反映视网膜病变情况^[49]。本研究为前瞻性随机对照研究,随机分组可减少一定的选择偏倚,所有患者均严格按照纳入标准选择。但本研究仍具有一定的局限性,如纳入样本量有限,纳入患者的 PDR 类型较复杂,且本研究未在随机研究中评估假处理对照组,这可能会影响研究结果。

抗 VEGF 药物作为 PDR 及 DME 的一线治疗方法已被广泛研究,但仍有相当一部分患者对抗 VEGF 治疗反应不佳。DR 的病因是多因素的,DR 的发病机制涉及多种细胞因子,如炎症、氧化应激、细胞凋亡等^[50],通过拮抗单一细胞因子治疗 DR 存在一定困难。本研究证实,玻璃体腔注药后视网膜仍处于炎症状态。既往研究表明,眼内炎症细胞因子水平与 PPV 术后远期视力具有相关性^[51]。玻璃体注射曲安奈德联合 PPV 对 PDR 患者术后炎症有显著抑制作用,可减少术后早期黄斑水肿的发生^[52]。缓释地塞米松植入物、氟轻松玻璃体内植入物也能有效降低 PPV 术后 DME 的发生^[53-54]。因此,我们认为 PPV 术前抗 VEGF 治疗联合 PPV 术后抗炎治疗对 PDR 的预后具有重要临床意义。未来可进一步研究 DR 的免疫炎症机制,为深入了解 DR 相关靶向治疗提供思路。本研究结果也提示针对炎症机制治疗及联合治疗(如抗 VEGF 治疗联合抗炎治疗)的开发,将为 DR 患者的综合和个性化治疗提供希望。

参考文献

- 1 Diabetes atlas. 9 ed. International Diabetes Federation 2019. <http://www.diabetesatlas.org/>
- 2 Yau JWY, Rogers SL, Kawasaki R, *et al.* Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2012; 35(3): 556–564
- 3 Bandello F, Lattanzio R, Zucchiatti I, *et al.* Pathophysiology and treatment of diabetic retinopathy. *Acta Diabetol* 2013; 50(1): 1–20
- 4 Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 2005; 54(6): 1615–1625
- 5 Zhang ZH, Liu HY, Hernandez-Da Mota SE, *et al.* Vitrectomy with or without preoperative intravitreal bevacizumab for proliferative diabetic retinopathy: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Ophthalmol* 2013; 156(1): 106–115. e2
- 6 Manabe A, Shimada H, Hattori T, *et al.* Randomized controlled study of intravitreal bevacizumab 0.16 Mg injected one day before surgery for proliferative diabetic retinopathy. *Retina* 2015; 35(9): 1800–1807
- 7 Wakabayashi Y, Usui Y, Tsubota K, *et al.* Persistent overproduction of intraocular vascular endothelial growth factor as a cause of late vitreous hemorrhage after vitrectomy for proliferative diabetic retinopathy. *Retina* 2017; 37(12): 2317–2325
- 8 Smith JM, Steel DHW. Anti-vascular endothelial growth factor for prevention of postoperative vitreous cavity haemorrhage after vitrectomy for proliferative diabetic retinopathy. *Cochrane Database Syst Rev* 2015; 2015(8): CD008214
- 9 Zijlstra A, Seandel M, Kupriyanova TA, *et al.* Proangiogenic role of neutrophil-like inflammatory heterophils during neovascularization induced by growth factors and human tumor cells. *Blood* 2006; 107(1): 317–327
- 10 Pober JS, Sessa WC. Evolving functions of endothelial cells in inflammation. *Nat Rev Immunol* 2007; 7(10): 803–815
- 11 Danese S, Dejana E, Fiocchi C. Immune regulation by microvascular endothelial cells: directing innate and adaptive immunity, coagulation, and inflammation. *J Immunol* 2007; 178(10): 6017–6022
- 12 Tang J, Kern TS. Inflammation in diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res* 2011; 30(5): 343–358
- 13 Hu ZZ, Cao X, Chen L, *et al.* Monitoring intraocular proangiogenic and profibrotic cytokines within 7 days after adjunctive anti-vascular endothelial growth factor therapy for proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol* 2022; 100(3): e726–e736
- 14 Cacciamani A, Esposito G, Scarinci F, *et al.* Inflammatory mediators in the vitreal reflux of patients with diabetic macular edema. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2019; 257(1): 187–197
- 15 Felfeli T, Juncal VR, Hillier RJ, *et al.* Aqueous humor cytokines and long-term response to anti-vascular endothelial growth factor therapy in diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 2019; 206: 176–183
- 16 Mastropasqua R, D'Aloisio R, Di Nicola M, *et al.* Relationship between aqueous humor cytokine level changes and retinal vascular changes after intravitreal aflibercept for diabetic macular edema. *Sci Rep* 2018; 8(1): 16548
- 17 Xavier T, Pallikara S, Saji N, *et al.* Significance of monitoring vascular endothelial growth factor, monocyte chemoattractant protein-1 and Interleukin-8 in diabetic macular edema towards early identification of nonresponders to ranibizumab therapy. *Indian J Ophthalmol* 2021; 69(6): 1475–1481
- 18 中华医学会眼科学会眼底病学组. 我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南(2014年). *中华眼科杂志* 2014; 50(11): 851–865
- 19 Wang Q, Li T, Wu ZG, *et al.* Novel VEGF decoy receptor fusion protein conbercept targeting multiple VEGF isoforms provide remarkable anti-angiogenesis effect *in vivo*. *PLoS One* 2013; 8(8): e70544
- 20 Hernández-Da Mota SE, Nuñez-Solorio SM. Experience with intravitreal bevacizumab as a preoperative adjunct in 23-G vitrectomy for advanced proliferative diabetic retinopathy. *Eur J Ophthalmol* 2010; 20(6): 1047–1052
- 21 Huang H, He JB, Johnson D, *et al.* Deletion of placental growth factor prevents diabetic retinopathy and is associated with Akt activation and HIF1 α -VEGF pathway inhibition. *Diabetes* 2015; 64(1): 200–212
- 22 Lupo G, Motta C, Giurdanella G, *et al.* Role of phospholipases A₂ in diabetic retinopathy: *In vitro* and *in vivo* studies. *Biochem Pharmacol* 2013; 86(11): 1603–1613
- 23 Antonetti DA, Barber AJ, Hollinger LA, *et al.* Vascular endothelial growth factor induces rapid phosphorylation of tight junction proteins occludin and zonula occluden 1. A potential mechanism for vascular permeability in diabetic retinopathy and tumors. *J Biol Chem* 1999; 274(33): 23463–23467
- 24 Shibuya M. Differential roles of vascular endothelial growth factor receptor-1 and receptor-2 in angiogenesis. *J Biochem Mol Biol* 2006; 39(5): 469–478
- 25 Flaxel CJ, Adelman RA, Bailey ST, *et al.* Diabetic retinopathy preferred practice pattern[®]. *Ophthalmology* 2020; 127(1): P66–P145
- 26 Gomułka K, Ruta M. The role of inflammation and therapeutic concepts in diabetic retinopathy—a short review. *Int J Mol Sci* 2023; 24(2): 1024
- 27 Feng S, Yu H, Yu Y, *et al.* Levels of inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17A, and TNF- α in aqueous humour of patients with diabetic retinopathy. *J Diabetes Res* 2018; 2018: 8546423
- 28 Chibber R, Ben-Mahmud BM, Chibber S, *et al.* Leukocytes in diabetic retinopathy. *Curr Diabetes Rev* 2007; 3(1): 3–14
- 29 Kaštelan S, Orešković I, Bišćan F, *et al.* Inflammatory and angiogenic biomarkers in diabetic retinopathy. *Biochem Med (Zagreb)* 2020; 30(3): 030502
- 30 Taylor BE, Lee CA, Zapadka TE, *et al.* IL-17A enhances retinal neovascularization. *Int J Mol Sci* 2023; 24(2): 1747
- 31 Ledebur HC, Parks TP. Transcriptional regulation of the intercellular adhesion molecule-1 gene by inflammatory cytokines in human endothelial cells. Essential roles of a variant NF- κ B site and p65 homodimers. *J Biol Chem* 1995; 270(2): 933–943
- 32 Marumo T, Schini-Kerth VB, Fisslthaler B, *et al.* Platelet-derived growth factor-stimulated superoxide anion production modulates activation of transcription factor NF- κ B and expression of monocyte chemoattractant protein 1 in human aortic smooth muscle cells. *Circulation* 1997; 96(7): 2361–2367
- 33 Noma H, Mimura T, Yasuda K, *et al.* Aqueous humor levels of soluble vascular endothelial growth factor receptor and inflammatory factors in diabetic macular edema. *Ophthalmologica* 2017; 238(1–2): 81–88
- 34 Susumu I, Tomohiko U, Kenji Y, *et al.* VEGF164 is proinflammatory in the diabetic retina. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2003; 44(5): 2155–2162
- 35 Yoshimura T, Sonoda KH, Sugahara M, *et al.* Comprehensive analysis of inflammatory immune mediators in vitreoretinal diseases. *PLoS One* 2009; 4(12): e8158
- 36 Wang JJ, Xu XL, Elliott MH, *et al.* Müller cell-derived VEGF is essential for diabetes-induced retinal inflammation and vascular leakage. *Diabetes* 2010; 59(9): 2297–2305
- 37 Skopiński P, Rogala E, Duda-Król B, *et al.* Increased interleukin-18 content and angiogenic activity of sera from diabetic (Type 2) patients with background retinopathy. *J Diabetes Complicat* 2005; 19(6): 335–338
- 38 Shen JK, Choy DF, Yoshida T, *et al.* Interleukin-18 has antipermeability and antiangiogenic activities in the eye: reciprocal

suppression with VEGF. *J Cell Physiol* 2014; 229(8): 974-983

39 Qiao H, Sonoda KH, Ikeda Y, *et al.* Interleukin - 18 regulates pathological intraocular neovascularization. *J Leukoc Biol* 2007; 81(4): 1012-1021

40 王新婷, 李甦雁, 范巍, 等. PDR 行玻璃体手术前注射雷珠单抗或曲安奈德后玻璃体腔内细胞因子的变化. 国际眼科杂志 2020; 20(7): 1158-1163

41 丁国龙, 谢安明, 雷剑琴, 等. 增生型糖尿病视网膜病变患者玻璃体内注射贝伐单抗后房水中细胞因子的变化及其相关性分析. 眼科新进展 2017; 37(4): 358-361

42 Funatsu H, Yamashita H, Ideda T, *et al.* Vitreous levels of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor are related to diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2003; 110(9): 1690-1696

43 Yoshida A, Yoshida S, Khalil AK, *et al.* Role of NF- κ B-mediated interleukin - 8 expression in intraocular neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998; 39: 1097-106

44 Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Immunotherapeutic implications of IL - 6 blockade for cytokine storm. *Immunotherapy* 2016; 8(8): 959-970

45 Funatsu H, Yamashita H, Noma H, *et al.* Increased Levels of vascular endothelial growth factor and interleukin - 6 in the aqueous humor of diabetics with macular edema. *Am J Ophthalmology* 2000; 133: 70-77

46 Funk M, Schmidinger G, Maar N, *et al.* Angiogenic and inflammatory markers in the intraocular fluid of eyes with diabetic macular edema and influence of therapy with bevacizumab. *Retina* 2010; 30: 1412-1419

47 Roh MI, Kim HS, Song JH, *et al.* Effect of intravitreal bevacizumab

injection on aqueous humor cytokine levels in clinically significant macular edema. *Ophthalmology* 2009; 116: 80-86

48 Jeon S, Lee WK. Intravitreal bevacizumab increases intraocular interleukin-6 levels at 1 day after injection in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Cytokine* 2012; 60(2): 535-539

49 Aljohani S, Alshehri A, Al Taisan A, *et al.* Analysis of complications for epiretinal membrane and macular hole surgery performed by vitreoretinal fellows and consultants. *Clin Ophthalmol* 2021; 15: 1905-1911

50 Nian S, Lo ACY, Mi YJ, *et al.* Neurovascular unit in diabetic retinopathy: pathophysiological roles and potential therapeutic targets. *Eye Vis* 2021; 8(1): 15

51 Petrovič MG, Korošec P, Košnik M, *et al.* Association of preoperative vitreous IL - 8 and VEGF levels with visual acuity after vitrectomy in proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol* 2010; 88(8): e311-e316

52 Takamura Y, Shimura M, Katome T, *et al.* Effect of intravitreal triamcinolone acetonide injection at the end of vitrectomy for vitreous haemorrhage related to proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2018; 102(10): 1351-1357

53 Banerjee PJ, Quartilho A, Bunce C, *et al.* Slow - release dexamethasone in proliferative vitreoretinopathy: a prospective, randomized controlled clinical trial. *Ophthalmology* 2017; 124(6): 757-767

54 Habib MS. ILUVIEN[®] technology in the treatment of center - involving diabetic macular edema: a review of the literature. *Ther Deliv* 2018; 9(8): 547-556