

早产儿视网膜病变研究进展

底煜, 陆岩, 王爱媛, 杨颢, 杨宏伟, 陈晓隆

作者单位: (110004) 中国辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属盛京医院眼科

作者简介: 底煜, 女, 博士, 医师, 研究方向: 眼底病、眼外伤。

通讯作者: 陈晓隆, 男, 博士, 教授, 研究方向: 眼底病、眼外伤。
zhangyiou78@126.com

收稿日期: 2011-02-28 修回日期: 2011-05-20

Research advance of retinopathy of prematurity

Yu Di, Yan Lu, Ai-Yuan Wang, Yang Yang, Hong-Wei Yang, Xiao-Long Chen

Department of Ophthalmology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China

Correspondence to: Xiao-Long Chen, Department of Ophthalmology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning Province, China. zhangyiou78@126.com

Received: 2011-02-28 Accepted: 2011-05-20

Abstract

• Retinopathy of prematurity (ROP) is a ambi-eyes disease of abnormal retina blood capillary growth that happens at premature and especially at low weight premature infants. It manifests as retinal ischemia, retinal neovascularization and proliferative retinopathy, seriously it can cause retinal detachment and lead to permanent blindness. In recent years, with the perinatology level improving, the livability of premature is also increasing, while the rate of ROP is also increasing. Because its consequence is serious and it causes tremendous harm to sick children and families, people pay attention to ROP increasingly. At present, true pathogenesis of ROP is still not distinct and genuine pathogenesis of ROP is not clear and it is short of efficient preventive measurement. This article makes a review in etiological factor, pathogenesis, intervention as well as recent studies for ROP.

• KEYWORDS: premature infant; retinopathy; retinal neovascularization

Di Y, Lu Y, Wang AY, et al. Research advance of retinopathy of prematurity. *Gujji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011; 11(7): 1172-1175

摘要

早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP)是早产儿尤其是伴有低体重儿发生的一种视网膜毛细血管发育异常化的双侧性眼病,表现为视网膜缺血、新生血管形

成和增生性视网膜病变,重者可以引起视网膜脱离而导致永久性失明。近年来,随着围产医学的进步,早产儿成活率逐渐增加,相应 ROP 发生率也呈增加趋势。由于其后果严重,对患儿及其家庭造成巨大伤害,ROP 也日益引起人们的重视。目前 ROP 的确切病因仍未明确,真正的发病机制尚不十分清楚,亦缺乏有效的预防措施。本文从 ROP 的发病因素、发病机制及干预措施三方面对其新近研究进展作一综述。

关键词: 早产儿; 视网膜病变; 视网膜新生血管
DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2011.07.014

底煜, 陆岩, 王爱媛, 等. 早产儿视网膜病变研究进展. 国际眼科杂志 2011; 11(7): 1172-1175

0 引言

对早产儿视网膜病变 (retinopathy of prematurity, ROP) 的最早认识是在 1940 年代,当时称为晶状体后纤维增生症^[1]。随着我国围产医学和新生儿学突飞猛进的发展,早产儿经抢救存活率明显提高,但很多早产儿的眼睛还没有发育成熟,造成 ROP 不断增加。如未得到及时治疗,可影响儿童的视觉发育,甚至致盲。

1 ROP 发病的基本因素

ROP 的病因是多方面的,目前尚不能用任何一个单一的病因解释。而视网膜不成熟程度与视网膜组织缺氧是 ROP 发病及其严重程度的两大重要因素。

1.1 早产 大量研究显示,ROP 发病的根本原因是早产儿视网膜发育未成熟,与早产儿视网膜结构直接相关。正常足月儿视网膜血管发育非常完善,完全血管化。而早产儿视网膜血管发育不完善,存在无血管区,胎龄越小,视网膜无血管区越大。大片无血管区视网膜处于缺氧状态,缺氧的视网膜会产生血管生长因子,从而刺激新生血管生长。

1.2 吸氧 以往认为,吸高浓度氧是引起 ROP 的主要原因。有学说认为,发育未成熟的视网膜血管对氧极为敏感,相对高浓度氧即可使视网膜血管收缩或阻塞,引起视网膜缺氧,由于缺氧而产生血管新生因子,刺激视网膜生成新生血管;另有学说认为,视网膜无血管区存在原始梭形细胞,在子宫内低氧环境中,梭形细胞先增殖成条索状,进一步管道化形成毛细血管。当早产儿突然暴露在高氧环境中,梭形细胞受损,刺激血管异常增生而产生病变。目前,越来越多的学者研究认为,ROP 的发生与相对缺氧有关,即高浓度给氧后,氧气迅速停止使用,从而造成组织相对缺氧,而与吸氧时间无关^[2]。国内外众多关于与吸氧关系的报道表明,给氧浓度、给氧持续时间、相对缺氧和给氧方式等均可能是引起的原因^[3,5]。

1.3 抗氧化剂缺乏 早产儿相对缺乏抗氧化剂如维生素 E (VitE)、谷胱甘肽。Johns 等^[6] 动物实验表明:水溶性

VitE 的类似物 trolox 拮抗氧自由基损害,减轻由氧疗诱发的视网膜病变,其在一定程度上可使 ROP 新生血管增殖得到明显改善。而 Papp 等^[7]在关于 ROP 中谷胱甘肽状况的研究中发现,活动期 ROP 患者的红细胞内还原型谷胱甘肽(GSH)的水平降低,而氧化型谷胱甘肽(GSSG)的水平增高,导致 GSH/GSSG 的比值降低,从而揭示 GSH/GSSG 的比值可作为活动期 ROP 患者的生化筛选指标。

1.4 个体差异和基因异常 临床观察显示,有些早产儿较长时间吸氧,但不发生 ROP,而有些早产儿仅吸低浓度氧数天就发生 ROP,这可能与个体、种族、疾病状态等差异有密切关系。白种人发病率远高于黑人,程度亦更重^[8];复发性贫血、血液黏稠、体温变化、光、多胎妊娠以及利用体外受精技术受孕等均可能与 ROP 有一定的关系。采用基因芯片技术研究发现,ROP 的发生与基因表达异常密切相关。

2 ROP 的发病机制

大量的动物实验和临床实验观察已经证明:胚胎早期视网膜没有血管,胎龄 4mo 时,视网膜血管自视盘起开始发育,以后逐渐向周边发展,8mo 时达鼻侧周边,到胎儿足月时,视网膜颞侧血管才发育完全,因此,早产儿视网膜血管尚未发育完全是 ROP 的发病基础。

2.1 公认的学说 有学者认为,未成熟的视网膜血管对氧气极为敏感,高浓度氧致使视网膜血管痉挛收缩发生缺氧,缺氧可诱导视网膜产生血管生长因子,进而刺激新生血管形成,最后机化形成瘢痕甚至牵拉视网膜,造成视网膜脱离,发展为重度 ROP;梭形细胞学说认为,周边视网膜无血管区存在着原始梭形细胞,它们是视网膜毛细血管的前身,在子宫内低氧环境下,梭形细胞先增殖成条索块,条索块进一步管道化而形成毛细血管,当早产儿突然暴露在高氧环境下时,梭形细胞遭受损害,刺激血管增生而产生病变。“氧自由基学说”^[9]认为:过多的氧自由基可引起早产儿 ROP,其毒理作用是氧自由基和同期反应的氧化代谢产物形成过快,使得组织内抗氧化防御机制无法同步,在缺氧——再给氧的相对缺氧状态下更易产生过多的氧自由基,而氧自由基过多可导致反应性氧化产物的产生,造成组织过氧化损伤,最终导致 ROP 的发生和发展。

2.2 细胞因子学说 视网膜血管新生的起始刺激为缺血或缺氧,从而引起血管生长因子的表达上调,血管内皮细胞、ECM 降解,血管内皮细胞移行和增殖,管腔结构形成以及细胞外膜形成,导致血管新生^[10]。研究显示,视网膜新生血管形成在 ROP 的发病机制中起主导作用。新生血管的生成是一个复杂的众多血管因子之间相互作用、相互调节的结果。现已发现多种与血管生成相关的物质,其中促进血管增生的因子有:血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、血管紧张素(angiotensin, Ang)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、表皮生长因子、血小板衍生的血管内皮生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)等,抑制血管增生的因子有:色素上皮衍生因子(pigment epithelium derived factor, PEDF)以及一氧化氮(nitric oxide, NO)等。当血管生成物质与抗血管生

成物质达到平衡时,血管生成的“开关”关闭;若这一平衡被打破,血管生成物质占优势,“开关”打开,于是血管生成^[11]。

2.2.1 VEGF VEGF 是血管内皮特异性的生长因子^[12],是血管内皮细胞强有力的有丝分裂原,可促进血管生成的每一步:蛋白酶降解血管基底膜,内皮细胞趋化、迁移、有丝分裂,内皮细胞和周皮细胞相互作用,形成血管管腔和新的基膜,对大量的生理性和病理性的新生血管都起重要作用。而且,它还可增加血管渗透性,这在视网膜病的病理生理过程中也是重要的一环,一度被称为“血管渗透因子”。近来发现,VEGF 的表达水平受氧浓度的调节,是视网膜血管发育中必须的氧调节因子^[13]。VEGF 参与调节正常视网膜血管化过程。由于视网膜 VEGF 的正常表达,血管可长到最初的无血管区和缺氧区,任何扰乱 VEGF 正常表达的因素均可破坏视网膜血管化,而恢复 VEGF 表达不仅无助于解决问题,反而使情况进一步恶化,最终导致视网膜功能破坏^[14]。足月儿出生后 VEGF 血浆浓度逐渐升高,而 ROP 患儿 VEGF 一直处于低水平。暴露于高氧时,高氧环境可能通过抑制 VEGF mRNA 表达,减少了 VEGF 的生成,从而使正常的视网膜血管发育受到抑制^[15];停止吸氧后,VEGF 逐渐增加,刺激视网膜血管的异常增生,同时增加血管的通透性,促进血浆纤维蛋白原外渗,导致纤维蛋白原沉积^[14]。Konopatskaya 等^[16]通过向高氧诱导鼠视网膜病的眼内注射一种 VEGF 亚型的抑制剂 VEGF165b,能显著减少视网膜新生血管的过度增生。以上表明,VEGF 在 ROP 的发病机制中起着重要作用,其在视网膜表达水平的变化导致了视网膜血管质和量的变化,从而导致 ROP。

2.2.2 bFGF bFGF 是目前已知的仅次于 VEGF 的有丝分裂原,能刺激细胞的增殖、移行和分化,可促进血管生成,对视网膜有神经营养作用,减少视网膜细胞的死亡。Mandriota 等^[17]研究显示,bFGF 有调节 VEGF 活性的作用,bFGF 的中和抗体以剂量依赖方式抑制 VEGF 的促血管生成作用,提示内源性的 bFGF 参与了 VEGF 的促血管生成作用,该作用可能是通过磷脂酰肌醇-3 激酶信号通路来诱导 Müller 细胞分泌 VEGF^[18]。但 Ozaki 等^[19]使转基因鼠缺乏 bFGF 基因或过量表达 bFGF,与正常儿童对照组相比,正常氧供下视网膜血管的外观及分布区域无差异,吸氧后血管的 ROP 改变亦无差异,提示 bFGF 在视网膜新生血管化的发展过程中并不重要。关于 bFGF 在 ROP 中的发病机制还有待进一步探讨。

2.2.3 血管紧张素 Ang 也是血管内皮特异性的生长因子。Ang 家族有 4 个成员:Ang1, 2, 3, 4, 它们均与受体 Tie2 结合而发挥作用。Tie2 选择性地血管内皮中表达。Ang3, 4 可能是同一个基因的不同产物,对其了解极少。Ang1 由内皮细胞下的支持细胞产生,与 Tie2 结合后发挥血管重建功能,增粗血管、稳定血管壁、减少渗出、使血管进一步成熟。Ang2 由内皮细胞自主分泌,是 Ang1 的同源物质,与 Tie2 结合后,可阻断 Ang1 的稳定血管功能,使内皮细胞处于去稳定状态。这些去稳定的血管在没有生长因子时可能退化,而在生长因子如 VEGF 的刺激下,更易出现新生血管的变化^[20]。研究证实^[21],给予缬沙坦(Tie2 抑制剂)可明显减少 ROP 模型鼠新生血管数量。

2.2.4 MMPs MMPs 是分解细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的蛋白酶类中最重要的一类,存在于正常人体中,参与多种生理和病理过程,如伤口愈合、新生血管形成、肿瘤浸润及转移、炎症反应、缺血缺氧损伤等。在正常组织中,MMPs 的水平较低并且活性受其天然抑制物——金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs) 抑制。近来研究表明,MMPs 与新生血管产生密切相关。许多促进血管形成的生长因子都可影响 MMPs 表达,如 VEGF, FGF-2 和 TNF- α ^[22]。Pournaras 等研究表明,缺氧是导致视网膜 VEGF 高水平表达的主要刺激因素,并有主控作用,MMP-2 和 MMP-9 在基底膜上能够表达它的蛋白水解活性,通过对 ECM 的改建,促使新生血管的形成,这同时成为内皮细胞趋化、迁移通过基底膜的先决条件^[23]。最新的研究^[24,25]表明,存在于 ECM 的 VEGF 能够通过存在于血管平滑肌细胞上的 VEGFR-1 受体调解 MMPs 的表达。而 MMPs 又能降解 ECM 释放更多的 VEGF,这便建立了一个正反馈调节环路来促进新生血管的形成。李贞等^[26]研究表明,GM6001 (MMPs 抑制剂) 可抑制视网膜新生血管形成和 VEGF 的水平。有研究表明,通过玻璃体内注射 MMPs 抑制剂能增强 ROP 模型中 PEDF 的表达,抑制新生血管的增长。故局部应用 MMPs 抑制剂可能会为防治 ROP 带来广阔前景。

2.2.5 PEDF PEDF 是由视网膜色素上皮细胞等产生的一种血管生成抑制因子,被公认为目前最有效的血管抑制剂。PEDF 仅抑制进展中的病理新生血管内皮细胞,而对其它的内皮细胞和正常的已经形成的血管内皮细胞则无明显的抑制作用,而且还可以逆转已形成的病理新生血管。动物实验表明:体外细胞培养发现加入 PEDF 组内皮细胞的凋亡较治疗对照组明显增多,因此, PEDF 主要通过抑制激活的内皮细胞的凋亡而抑制血管增生^[27]。有研究表明^[28],腺病毒介导 PEDF 基因转移治疗可有效抑制 ROP 动物模型视网膜新生血管形成。可见, PEDF 可能会有效地防治 ROP 的发生。

2.2.6 NO Ghiso 等^[29]在人视网膜上皮细胞实验中证实 NO 抑制缺氧诱导的 VEGF 基因表达,并呈剂量依赖性和时间相关性,提示 NO 在 ROP 的发病中可能起一定作用。Brooks 等^[30]在新生鼠 ROP 实验中证实,NO 合成酶(NOS) 抑制剂可显著减少视网膜血管收缩,若用 eNOS 基因缺乏小鼠制备 ROP 模型,视网膜血管收缩和玻璃体内新生血管均显著减少,认为这一保护作用是由于 NO 介导的氧化反应减弱以及 NO 与 VEGF 之间的负反馈调节,从而提高发育中的视网膜对氧耐受性所致。

3 ROP 的治疗进展

ROP 中第 1、第 2 期病变有一部分可不治自愈,只需密切观察即可,第 3 期是治疗的关键期。若病变发展到第 3 期阈值并出现附加病变时则需进行治疗,72h 内采用激光或冷凝疗法灭活周边区域的梭形细胞,但是这两种方法都存在视网膜剥离、出血及损伤等副作用,从而导致不良的结局。到了第 4 期或第 5 期,已有视网膜脱离,只能采用手术治疗,如巩膜外扣带术、玻璃体切割术、晶状体切除 + 玻璃体切割术,以及这些手术方式的联合应用^[31]。过去认为给予 VitE 可以预防 ROP 或者减轻 ROP 的严重性,但是近来的研究表明 VitE 对预防和治疗 ROP 是无效

的。而且周围环境光刺激的减少同样不能减少 ROP 的发生率^[32]。L-NNA 作为 NOS 活性调节剂对预防 ROP 具有广泛的运用前景。别嘌呤醇可以通过抑制氧化剂诱导的细胞因子(主要是 VEGF)的产生而发挥作用,防止内皮细胞凋亡而预防 ROP。别嘌呤醇预防视网膜损伤的作用大多限于动物实验,临床试验较少,其使用剂量、使用时间、疗程及副作用尚需进一步进行临床对照研究。总之,目前 ROP 的治疗方法仍以手术治疗为主,内科治疗还不成熟,基因治疗还处于动物实验阶段。

4 展望

近几年,参与视网膜新生血管形成的细胞因子成为眼科研究的热点,这些细胞因子所具有的生物学特性为进一步治疗眼内新生血管开创了新途径,不久我们会进入一个抗血管新生治疗的新时代,并减少当前治疗方法所带来的副作用。

参考文献

- 1 Terry TL. Extreme prematurity and fibroplastic overgrowth of persistent vascular sheath behind each crystalline lens. *Am J Ophthalmol* 1942;25 (4):203-209
- 2 Modrzejewska M. Retinopathy of prematurity-pathogenesis and prevalence. *Ann Acad Med Stetin* 2006;52(1):67-72
- 3 Wallace DK, Veness-Meehan KA, Miller WC, et al. Incidence of severe retinopathy of prematurity before and after a modest reduction in target oxygen saturation levels. *J AAPOS* 2007;11(2):170-174
- 4 Engel RR, Oden NL, Cohen GR, et al. Influence of prior assignment on refusal rates in a trial of supplemental oxygen for retinalopathy of prematurity. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2006;20(4):348-359
- 5 Ozdemir M, Koylu S. Ocular growth and morbidity in preterm children without retinopathy of prematurity. *Jpn J Ophthalmol* 2009;53(6):623-628
- 6 Penn JS, Tolman BL, Ballard LE. Effect of a water-soluble vitamin E analog, trolox C, on retinal vascular development in an animal model of retinopathy of prematurity. *Free Radic Biol Med* 1997;22(6):977-984
- 7 Papp A, Nemeth I, Karg E, et al. Glutathione status in retinopathy of prematurity. *Free Radic Biol Med* 1999;27(7-8):738-743
- 8 Chen J, Smith LE. Retinopathy of prematurity. *Angiogenesis* 2007;10(2):133-140
- 9 Hardy P, Dumont I, Bhattacharya M, et al. Oxidants, nitric oxide and prostanoids in the developing ocular vasculature: a basis for ischemic retinopathy. *Cardiovasc Res* 2000;47(3):489-509
- 10 Heidary G, Vanderveen D, Smith LE. Retinopathy of prematurity: current concepts in molecular pathogenesis. *Semin Ophthalmol* 2009;24(2):77-81
- 11 Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000;407(6801):249-257
- 12 Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, et al. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000;407(6801):242-248
- 13 Jakobsson L, Bentley K, Gerhardt H. VEGFRs and Notch: a dynamic collaboration in vascular patterning. *Biochem Soc Trans* 2009;37(Pt6):1233-1236
- 14 Kim WT, Suh ES. Retinal protective effects of resveratrol via modulation of nitric oxide synthase on oxygen-induced retinopathy. *Korean J Ophthalmol* 2010;24(2):108-118
- 15 Kwinta P, Bik-Multanowski M, Mitkowska Z, et al. The clinical role of vascular endothelial growth factor (VEGF) system in the pathogenesis of retinopathy of prematurity. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008;246(10):1467-1475
- 16 Konopatskaya O, Churchill AJ, Harper SJ, et al. VEGF165b, an

- endogenous C-terminal splice variant of VEGF, inhibits retinal neovascularization in mice. *Mol Vis* 2006;12:626-632
- 17 Mandriota SJ, Pepper MS. Vascular endothelial growth factor-induced *in vitro* angiogenesis and plasminogen activator expression are dependent on endogenous basic fibroblast growth factor. *J Cell Sci* 1997; 110 (Pt18):2293-2302
- 18 Budd S, Byfield G, Martiniuk D, *et al.* Reduction in endothelial tip cell filopodia corresponds to reduced intravitreal but not intraretinal vascularization in a model of ROP. *Exp Eye Res* 2009;89(5):718-727
- 19 Ozaki H, Okamoto N, Ortega S, *et al.* Basic fibroblast growth factor is neither necessary nor sufficient for the development of retinal neovascularization. *Am J Pathol* 1998;153(3):757-765
- 20 刘鹤南,陈晓隆. 血管紧张素 II 和血管内皮生长因子在视网膜新生血管中的表达及意义. 国际眼科杂志 2010;10(8):1481-1484
- 21 Downie LE, Pianta MJ, Vingrvs AJ, *et al.* AT1 receptor inhibition prevents astrocyte degeneration and restores vascular growth in oxygen-induced retinopathy. *Glia* 2008;56(10):1076-1090
- 22 Hoffmann S, He S, Ehren M, *et al.* MMP-2 and MMP-9 secretion by rpe is stimulated by angiogenic molecules found in choroidal neovascular membranes. *Retina* 2006;26(4):454-461
- 23 Notari L, Miller A, Martinez A, *et al.* Pigment epithelium-derived factor is a substrate for matrix metalloproteinase type 2 and type 9: implications for downregulation in hypoxia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(8):2736-2747
- 24 底煜,陈晓隆. MMP-2 和 VEGF 在视网膜新生血管中的表达及意义. 眼科研究 2009;27(12):1089-1093
- 25 Barnett JM, McCollum GW, Fowler JA, *et al.* Pharmacologic and genetic manipulation of MMP-2 and -9 affects retinal neovascularization in rodent models of OIR. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(2):907-915
- 26 李贞, 坭卫杰. GM6001 抑制视网膜新生血管形成 VEGF 和 MMP2 的表达. 国际眼科杂志 2008;8(2):268-271
- 27 Stellmach V, Crawford SE, Zhou W, *et al.* Prevention of ischemia-induced retinopathy by the natural ocular antiangiogenic agent pigment epithelium-derived factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98(5):2593-2597
- 28 王爱媛,谷瑞东,陈晓隆,等. 腺病毒介导色素上皮衍生因子基因转移治疗早产儿视网膜病变的实验研究. 实用儿科临床杂志 2008;23(10):779-781
- 29 Ghiso N, Rohan RM, Amano S, *et al.* Suppression of hypoxia-associated vascular endothelial growth factor gene expression by nitric oxide via cGMP. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(6):1033-1039
- 30 Brooks SE, Gu X, Samuel S, *et al.* Reduced severity of oxygen-induced retinopathy in eNOS-deficient mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(1):222-228
- 31 Azad R, Chandra P. Retinopathy of prematurity. *J Indian Med Assoc* 2005;103(7):370-372
- 32 Mantagos IS, Vanderveen DK, Smith LE. Emerging treatments for retinopathy of prematurity. *Semin Ophthalmol* 2009;24(2):82-86