

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

王新婷, 李甦雁, 范巍, 李婕, 冯瑞芳, 张正培, 季苏娟

引用: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

基金项目:江苏省卫生计生委科研课题(No.H201672);徐州市科技计划项目(No.KC16SL116)

作者单位:(221116) 中国江苏省徐州市第一人民医院眼科 徐州医科大学附属徐州市立医院眼科 徐州市眼病防治研究所

作者简介:王新婷,硕士研究生,主治医师,研究方向:玻璃体视网膜疾病。

通讯作者:李甦雁,硕士研究生,教授,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:玻璃体视网膜疾病. lisuyan1226@126.com

收稿日期:2020-04-09 修回日期:2020-06-08

摘要

目的:比较增生型糖尿病视网膜病变(PDR)行玻璃体切割术前用雷珠单抗或曲安奈德玻璃体腔内注射前后玻璃体腔内细胞因子的变化。

方法:前瞻性研究。将2015-05/2017-02我院收治的PDR患者88例112眼纳入研究。依照随机方法分为行玻璃体切割术前玻璃体腔注射0.5mg/0.05mL雷珠单抗组(43例57眼)、行玻璃体切割术前玻璃体腔注射4mg/0.1mL曲安奈德组(45例55眼),两组患者分别在玻璃体腔注射药物前抽取0.5mL玻璃体液后于玻璃体腔内注射雷珠单抗或曲安奈德。注药后7d行玻璃体切割术术前再次抽取玻璃体液0.5mL。采用双抗酶联免疫吸附试验(ELISA)测定玻璃体液的胎盘生长因子(PIGF)。用Luminex200液相芯片分析系统检测单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)、单核细胞趋化蛋白3(MCP-3)、白介素-6(IL-6)、白介素-8(IL-8)、血小板源性生长因子-AB/BB(PDGF-AB/BB)和血管内皮生长因子-A(VEGF-A)浓度。

结果:雷珠单抗组玻璃体腔内PIGF与VEGF-A水平注射后较注射前均明显降低,而IL-6、IL-8水平增高(PIGF: 65.36 ± 15.16 vs 19.42 ± 6.34 pg/mL; VEGF-A: 315.16 ± 14.34 vs 21.32 ± 2.54 pg/mL, IL-6: 37.32 ± 4.04 vs 52.42 ± 5.32 pg/mL; IL-8: 111.723 ± 21.32 vs 198.73 ± 19.03 pg/mL, $P < 0.001$)。而MCP-1、MCP-3及PDGF-AB/BB的水平无明显变化($P > 0.05$)。曲安奈德组玻璃体腔内PIGF水平显著增加(74.28 ± 17.34 vs 136.12 ± 15.34 pg/mL, $P < 0.05$)。而MCP-1水平明显减少(2789.32 ± 143.54 vs 2038.21 ± 105.34 pg/mL, $P < 0.05$)。MCP-3、IL-6、IL-8、PDGF-AB/BB、VEGF-A表达均无明显改变($P > 0.05$)。两组患者治疗后进行对比,雷珠单抗注射后玻璃体中PIGF、VEGF-A含量明显低于曲安奈德注射后含量($P < 0.01$),IL-8、MCP-1水平则显著增加

($P < 0.05$)。此外,雷珠单抗组术中出血情况明显低于曲安奈德组($P < 0.05$)。

结论:玻璃体腔注射雷珠单抗能显著降低PIGF、VEGF-A表达,同时促进IL-6、IL-8水平增加;而玻璃体腔内注射曲安奈德能减少MCP-1表达,促进PIGF水平增加。

关键词:增生型糖尿病视网膜膜病变;玻璃体;细胞因子;雷珠单抗;曲安奈德;玻璃体切割术

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.7.09

Changes of vitreous cytokine levels in eyes with PDR after intravitreal injection of Ranibizumab or Triamcinolone acetonide

Xin-Ting Wang, Su-Yan Li, Wei Fan, Jie Li, Rui-Fang Feng, Zheng-Pei Zhang, Su-Juan Ji

Foundation items: Scientific Research Project of Jiangsu Health and Family Planning Commission (No.H201672); Xuzhou Science and Technology Project (No.KC16SL116)

Department of Ophthalmology, Xuzhou First People's Hospital; Department of Ophthalmology, the Affiliated Xuzhou Municipal Hospital of Xuzhou Medical University; Xuzhou Eye Disease Prevention and Control Institute, Xuzhou 221116, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Su-Yan Li. Department of Ophthalmology, Xuzhou First People's Hospital; Department of Ophthalmology, the Affiliated Xuzhou Municipal Hospital of Xuzhou Medical University; Xuzhou Eye Disease Prevention and Control Institute, Xuzhou 221116, Jiangsu Province, China. lisuyan1226@126.com

Received:2020-04-09 Accepted:2020-06-08

Abstract

• AIM: To observe the changes of vitreous concentrations of cytokines in eyes with proliferative diabetic retinopathy (PDR) after intravitreal injection of ranibizumab or triamcinolone acetonide.

• METHODS: A total of 88 PDR patients (112 eyes) with PDR from May 2015 to February 2017 in our hospital were enrolled in this study. The patients were randomly divided into ranibizumab group (57 eyes) and triamcinolone acetonide group (55 eyes). Ranibizumab (0.5mg/0.05mL) or triamcinolone acetonide (4mg/0.1mL) were given intravitreal respectively, after vitreous samples (0.5mL) were collected before the injection. Vitreous samples (0.5mL) were collected again 7d after the injection right before the PPV operation. The concentration of placental growth factor (PIGF) was measured by enzyme-linked

immunosorbent assays (ELISA); the concentrations of monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1) and monocyte chemotactic protein 3 (MCP-3), interleukin 6 (IL-6) and interleukin 8 (IL-8), platelet-derived growth factor-AB/BB (PDGF-AB/BB) and vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) were detected by Luminex200.

• **RESULTS:** After ranibizumab injection, the concentrations of PIGF and VEGF decreased significantly (PIGF: 65.36 ± 15.16 vs 19.42 ± 6.34 pg/mL; VEGF-A: 315.16 ± 14.34 vs 21.32 ± 2.54 pg/mL, $P < 0.001$), whereas those of IL-6, IL-8 increased significantly (IL-6: 37.32 ± 4.04 vs 52.42 ± 5.32 pg/mL; IL-8: 111.723 ± 21.32 vs 198.73 ± 19.03 pg/mL, $P < 0.001$). There were no remarkable changes in MCP-1, MCP-3, and PDGF-AB/BB levels after ranibizumab injection ($P > 0.05$). In triamcinolone acetonide group, the concentration of PIGF increased significantly after injection (74.28 ± 17.34 vs 136.12 ± 15.34 pg/mL, $P < 0.05$), while that of MCP-1 decreased significantly (2789.32 ± 143.54 vs 2038.21 ± 105.34 pg/mL, $P < 0.05$). There were no remarkable changes in the expression of MCP-3, IL-6, IL-8, PDGF-AB/BB and VEGF-A ($P > 0.05$). In addition, the concentrations are lower for PIGF and VEGF-A ($P < 0.01$) and higher for IL-8 and MCP-1 ($P < 0.05$) in eyes treated with ranibizumab, compared with those treated with triamcinolone acetonide. The incidence of intraoperative bleeding was significantly lower for ranibizumab group than that for triamcinolone acetonide group ($P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** The levels of PIGF and VEGF-A decreased, while those of IL-6 and IL-8 increased in eyes with PDR after ranibizumab injection. After triamcinolone acetonide injection, the concentration of MCP-1 decreased, while that of PIGF increased.

• **KEYWORDS:** proliferative diabetic retinopathy; vitreous; cytokine; ranibizumab; triamcinolone acetonide; PPV

Citation: Wang XT, Li SY, Fan W, *et al.* Changes of vitreous cytokine levels in eyes with PDR after intravitreal injection of Ranibizumab or Triamcinolone acetonide. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020;20(7):1158-1163

0 引言

增生型糖尿病视网膜病变 (proliferative diabetic retinopathy, PDR) 是糖尿病重要的微血管并发症之一,也是造成视力损伤的主要致盲眼病。玻璃体切割术 (pars plana vitrectomy, PPV) 是目前治疗严重 PDR 的主要方法,但由于新生血管膜以及视网膜前增殖膜与视网膜的连接较为紧密,剥离困难,术中活动性出血和医源性裂孔增加了手术难度,严重影响手术疗效。近年来研究发现,抗 VEGF 药物能够降低眼内 VEGF 的表达,不仅能抑制新生血管形成,而且还可以促进已形成的新生血管消退,从而减轻新生血管渗漏、加快出血吸收^[1-2]。雷珠单抗是一种人源化抗 VEGF Fab 段单克隆抗体,具有相对分子质量小、易穿透视网膜和生物利用率高等特点,能够非特异性的结合多个具有生物学活性的 VEGF-A 异构体,通过降低 VEGF 的表达,从而减低血管的通透性并抑制病理性新生血管产生,玻璃体腔注射抗 VEGF 药物作为 PDR 玻璃体切割术前的辅助治疗,能有效降低手术中及手术后并

发症^[1]。曲安奈德 (TA) 属于非水溶性含氟长效糖皮质激素,局部用药吸收较为缓慢,具有较强的抗炎作用,能够减轻细胞的免疫反应,从而降低血管通透性、减少异常新生血管的增加,TA 具有抑制炎症因子和血管生成因子的双重作用,玻璃体腔注射糖皮质激素也在 PDR 的治疗中表现出了较好的抗炎、抑制细胞增生的效果,TA 作为玻璃体手术中的染色剂已经广泛应用于临床,也有少数学者将其作为 PDR 玻璃体切割术前的辅助用药取得较好的疗效^[3-4]。尽管雷珠单抗和 TA 都可作为 PDR 患者术前的辅助药物,但二者作用机制并不完全相同,既往研究发现, PDR 患者玻璃体腔中多种细胞因子,如单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1)、单核细胞趋化蛋白 3 (MCP-3)、白介素-6 (IL-6)、胎盘生长因子 (PIGF)、血小板源性生长因子-AB/BB (PDGF-AB/BB) 及血管内皮生长因子-A (VEGF-A) 等水平明显增加,提示以上因子在参与和推动 PDR 发生发展中起重要作用^[5-8],这些细胞因子是否对雷珠单抗和曲安奈德的治疗具有不同影响值得进一步探究,因此我们进行了一项前瞻性临床研究,对比分析了 PDR 患者玻璃体手术前用雷珠单抗和曲安奈德预处理后各类细胞因子的变化,并且对术中出血情况进行了比较。现将结果报告如下。

1 对象和方法

1.1 对象 本研究为前瞻性研究,经医院伦理委员会批准 (批号:20140004),患者均获知情并签署知情同意书。将 2015-05/2017-02 在我院确诊的 88 例 112 眼 PDR 患者纳入研究。采用 ETDRS 视力表对患者进行最佳矫正视力 (BCVA) 检查,行裂隙灯显微镜、间接检眼镜、眼压、B 超等相关辅助检查。所有患者临床表现均符合 PDR 国际临床诊断标准^[9]。纳入标准:(1) 大于 18 周岁的 2 型糖尿病患者,自愿参与且可定期随访者;(2) 确诊为 PDR,符合手术适应证;(3) 空腹血糖 ≤ 8 mmol/L,糖化血红蛋白值 $\leq 8\%$;(4) 除患糖尿病外全身情况良好,无手术禁忌证者。排除标准:(1) 1 型糖尿病;(2) 内眼手术史、外伤史以及伴其它各类视网膜疾病如 ARMD、CRVO 等;(3) B 超或 OCT 显示视网膜脱离累及黄斑区者;(4) 血糖控制不佳、肾功能不全、心功能不全、脑梗、凝血功能障碍者。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 按照随机数表法分为雷珠单抗组和曲安奈德组,采用推荐安全注射剂量雷珠单抗 0.5mg/0.05mL,曲安奈德 4mg/0.1mL^[4]。玻璃体腔注射术:常规内眼手术消毒铺巾,表面麻醉后,自颞上角巩膜缘后 3.5mm 用 25G 穿刺刀穿刺后放置 trocar (套管针),25G 玻璃体切割头抽取玻璃体液 0.5mL,随后向玻璃体腔注射雷珠单抗 0.5mg/0.05mL 或曲安奈德 4mg/0.1mL,再向玻璃体腔内注入 BSS (平衡液) 维持眼内压,拔出 trocar 后用棉签按压 30~60s,观察有无出血、切口渗漏,注药后给予左氧氟沙星滴眼液预防感染。将抽取的玻璃体液放入无菌 EP 管进行离心 (温度 4℃,转速 3000r/min,10min),-80℃ 冰箱保存。

玻璃体手术:两组患者均于玻璃体腔注药后 7d 行 25G PPV 手术,手术开始打开内眼灌注前再次抽取玻璃体液 0.5mL,离心后放 -80℃ 冰箱保存。两组患者手术均由同一位玻璃体手术经验丰富的医师完成。

1.2.2 检测方法 (1) 双抗体酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测:采用 ELISA 检测玻璃体中 PIGF 的浓度。按照试剂

表1 两组患者一般临床资料比较

分组	眼数	年龄	性别	糖尿病病程	糖化血红蛋白	ETDRS 字母数	眼压	PDR 分期(眼)		
		($\bar{x}\pm s$,岁)	(男,%)	($\bar{x}\pm s$,a)	($\bar{x}\pm s$,%)	($\bar{x}\pm s$,个)	($\bar{x}\pm s$,mmHg)	IV	V	VI
雷珠单抗治疗组	57	53.78±9.67	21(36.8)	11.52±5.36	7.06 ± 0.73	21.23±2.46	14.90±3.00	2	32	23
曲安奈德治疗组	55	55.89±8.12	26(47.3)	12.98±7.38	7.14 ± 0.64	25.42±4.31	14.60±2.68	2	37	16
$t/\chi^2/U$		-0.98	1.25	-1.32	-0.56	-0.43	-0.55			-1.17
P		0.33	0.26	0.24	0.57	0.61	0.59			0.24

表2 玻璃体腔注射雷珠单抗前后细胞因子浓度

时间	PIGF	MCP-1	MCP-3	IL-6	IL-8	PDGF-AB/BB	VEGF-A
注药前	65.36±15.16	2652.36±112.83	8.03±3.10	37.32±4.04	111.723±21.32	8.33±6.85	315.16±14.34
注药 1wk 后	19.42±6.34	2831.21±101.23	7.73±4.26	52.42±5.32	198.73±19.03	7.65±7.83	21.32±2.54
t	5.324	0.564	0.672	-2.342	-5.321	0.621	3.451
P	0.001	0.324	0.501	0.003	<0.001	0.573	0.001

表3 玻璃体腔注射曲安奈德前后细胞因子浓度

时间	PIGF	MCP-1	MCP-3	IL-6	IL-8	PDGF-AB/BB	VEGF-A
注药前	74.28±17.34	2789.32±143.54	6.89±2.88	41.34±10.37	104.34±14.24	9.45±2.45	362.65±89.35
注药 1wk 后	136.12±15.34	2038.21±105.34	6.32±1.39	61.32±13.64	108.32±20.31	9.72±4.21	351.35±82.34
t	-2.815	4.236	0.872	-1.782	-3.211	-0.063	-2.342
P	0.007	0.001	0.782	0.063	0.821	0.871	0.980

盒说明书将标准品按照 200、100、50、25、12.5、6.25、3.13、0.16pg/mL 的不同浓度配置好后加入孔中,样品孔中加入待测样本玻璃体。通过加入一抗、孵育、洗涤等步骤,再加入底物试剂 A、B 后 37℃ 恒温培养箱中孵育 15min 加入终止液进行终止。孵育 10min 之内采用 ELX808 酶标仪测定各孔 450nm 吸光度值,绘制标准曲线,计算样品 PIGF 浓度;(2)液相芯片分析检测:96 孔板中每孔分别加入标准品缓冲液、质控品以及患者玻璃体液后加入混匀稀释好的微球,经过室温震荡孵育、离心、洗涤微球,所有操作严格按照试剂说明书进行,最终采用 Luminex200 多功能流式点阵仪测定样品孔荧光强度中位值,使用 5-parameter logistic 方式计算标准品曲线,通过 MILLIPLEX Analyst V5.1 软件计算样品中 MCP-1、MCP-3、PDGF-AB/BB、IL-6、IL-8 和 VEGF-A 的浓度。阴性质控品、阳性质控品的检测结果均在 QC Range 范围之内。(3)观察两组患者术中出血情况。

根据术中出血程度分为:(1)无或轻度出血:术中无出血或者点状出血且能够在短时间内自凝不影响手术操作,无需处理者;(2)中度出血:术中片状出血,能自凝,但影响手术操作需要用玻璃体切割头或笛针吸除;(3)重度出血:出血量较大,不能自行停止,影响手术视野,需要电凝止血。

统计学分析:通过 SPSS19.0 统计学软件进行统计学处理,所有数据进行正态性检验,均符合正态分布,用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。组内的差异比较采用配对样本 t 检验,组间的差异比较采用独立样本 t 检验或 χ^2 检验,组间等级资料的差异比较采用 Mann-Whitney U 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者基线资料比较

本研究中共 88 例 112 眼,

其中男 47 例 59 眼,女 41 例 53 眼;年龄 31~73 岁。雷珠单抗治疗组 43 例 57 眼,曲安奈德治疗组 45 例 55 眼。两组患者年龄、性别、糖尿病病程、糖化血红蛋白、视力、眼压及 PDR 分期差异均无统计学意义($P > 0.05$,表 1),具有可比性。

2.2 两组患者玻璃体腔注药前后玻璃体中细胞因子含量的比较 两组患者玻璃体腔注射药物前后,玻璃体细胞因子 PIGF、MCP-1、MCP-3、IL-6、IL-8、PDGF-AB/BB、VEGF-A 浓度见表 2、3。与注药前比较,雷珠单抗组注药 1wk 后 PIGF、VEGF-A 表达明显降低,差异有统计学意义($t = 5.324, 3.451, P = 0.001$),而 IL-6 和 IL-8 表达显著增加,差异有统计学意义($t = -2.342, -5.321, P = 0.003, P < 0.001$);MCP-1、MCP-3 和 PDGF-AB/BB 的表达在雷珠单抗玻璃体腔注射前后的玻璃体中无显著改变,差异无统计学意义($t = 0.564, 0.672, 0.621, P = 0.324, 0.501, 0.573$)。

曲安奈德组,与注药前比较,注药 1wk 后 MCP-1 的表达明显降低,差异有统计学意义($t = 4.236, P = 0.001$),同时 PIGF 的表达增加,差异有统计学意义($t = -2.815, P = 0.007$)。而 MCP-3、IL-6、IL-8 和 PDGF-AB/BB、VEGF-A 细胞因子的表达在接受曲安奈德玻璃体腔注射前后无明显变化,差异无统计学意义($t = 0.872, -1.782, -3.211, -0.063, -2.342, P = 0.782, 0.063, 0.821, 0.871, 0.980$)。

雷珠单抗组和曲安奈德组注药 1wk 后,雷珠单抗组 PIGF、VEGF-A 的表达较曲安奈德组显著降低,差异有统计学意义($t = -5.731, -4.443, P < 0.001$),IL-8 和 MCP-1 的表达较曲安奈德组增加,差异有统计学意义($t = 2.382, 3.320, P = 0.009, 0.008$)。IL-6、MCP-3 和 PDGF-AB/BB 在两组间无明显改变,差异无统计学意义($t = -0.872, 1.762, -1.621, P = 0.671, 0.382, 0.521$),见图 1。

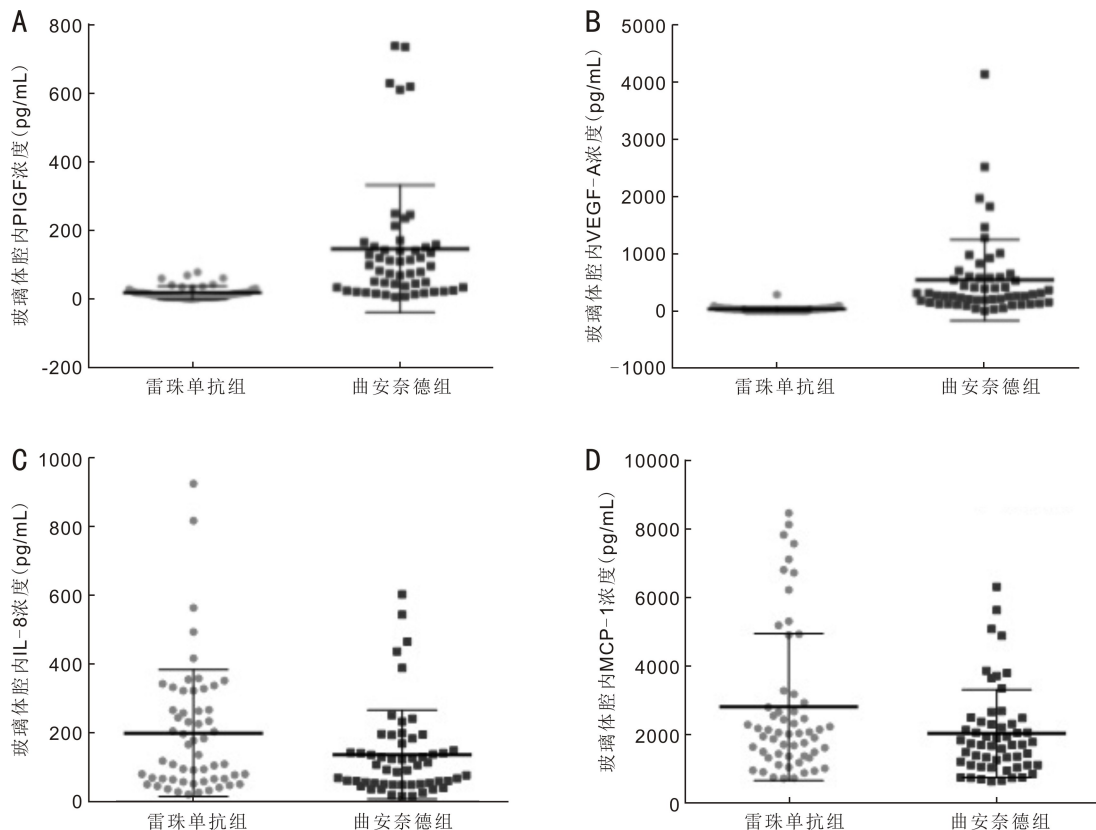


图1 雷珠单抗组和曲安奈德组玻璃体腔内细胞因子浓度变化 A:PIGF; B:VEGF-A; C:IL-8; D:MCP-1。

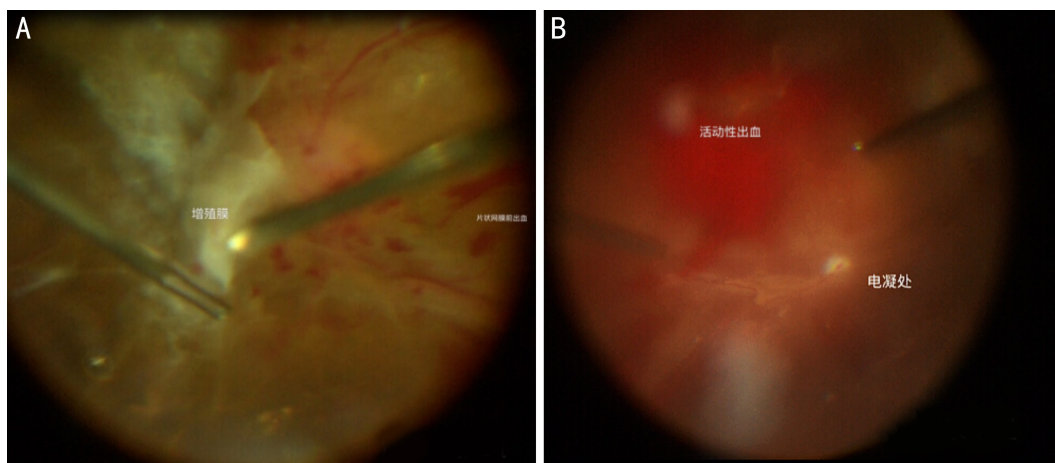


图2 两组患者手术中照片 A:雷珠单抗组;B:曲安奈德组。

表4 两组患者术中出血比较 眼(%)

分组	眼数	无或轻度	中度	重度
雷珠单抗组	57	41(71.9)	13(22.8)	3(5.3)
曲安奈德组	55	27(49.1)	21(38.2)	7(12.7)

2.3 两组患者术中出血比较 与曲安奈德组相比,雷珠单抗组术中出血情况明显低于曲安奈德组,差异有统计学意义($U=2.50, P=0.012$),见表4,图2。

3 讨论

DR 是一种病理过程较为复杂的病变,炎性细胞因子的释放和 VEGF 的过度分泌在该过程中发挥重要作用^[10-11],且目前有研究观察到玻璃体切割术前应用糖皮质激素或抗 VEGF 药物均可有效增加手术安全性,减少术后并发症的发生,术前玻璃体腔辅助药物的应用已逐渐成

为主要治疗手段^[12-13]。

研究中我们发现玻璃体腔注射雷珠单抗后,VEGF-A、PIGF 的水平显著降低;玻璃体腔注射曲安奈德后,VEGF-A 的水平较注射前并无明显改变,MCP-1 的水平呈降低改变,由此进一步证实,雷珠单抗和曲安奈德分别在降低玻璃体腔内细胞生长因子和炎症因子表达方面具有不同效应。此外,结合两组玻璃体手术中观察到的雷珠单抗组术中出血情况显著低于曲安奈德组,证实玻璃体切割术前使用雷珠单抗比曲安奈德更能减轻术中出血,有利于术者在手术过程中获得清晰的手术视野。这与雷珠单抗本身是一段能够辨识出人 VEGF 全部分异构体的单克隆抗体片段有关,同时由于雷珠单抗其分子量小,因此能够更容易更快地穿透视网膜各层发挥抑制新生血管的作用^[13]。Cui 等^[14]的研究也发现玻璃体手术前3~7d注

射雷珠单抗可明显降低术中出血的发生提高手术安全性和成功率,降低术后并发症的发生,但与本研究不同的是该发现是与术中行TA注射的患者进行对比。术前应用雷珠单抗和曲安奈德对玻璃体手术中效果的差异性仍需进一步进行探讨。

本研究中,我们比较了雷珠单抗和曲安奈德注药前后的玻璃体血管生长因子和炎症因子含量差异以及两组间注药后的各细胞因子的差异。雷珠单抗组玻璃体腔内VEGF-A、PIGF含量较注射前显著降低;而曲安奈德组VEGF-A含量较注射前并无明显改变,PIGF含量较之前有升高趋势。PIGF是VEGF家族的重要成员,能通过VEGFR-1直接作用内皮细胞也可与VEGFR-1结合后抑制VEGF-A与VEGFR-1结合,从而使VEGF-A与VEGFR-2结合发挥其生物学作用。Yu等^[15]研究发现在PDR患者玻璃体腔中VEGF和PIGF的含量均高于正常人。Forooghian等^[16]从行玻璃体切割手术的DR患者中发现,术前注射雷珠单抗后其房水中PIGF的含量明显降低,与我们的研究较为一致。VEGF-A、VEGF-B和PIGF可随DR病程的增加而表现出上升趋势^[17],有研究报道发现曲安奈德可抑制花生四烯酸的产生从而产生抗炎的作用导致血管生长因子的表达减弱^[18],由于作用环节较雷珠单抗更复杂,使得作用时间更缓慢可能是导致PIGF持续增高的原因,在本研究中观察到玻璃体腔注射曲安奈德对PIGF有升高趋势而对VEGF-A无明显影响,由此我们推断PIGF的升高及VEGF-A的持续异常分泌可能是影响曲安奈德有效阻断DR持续发展的可能原因之一。

另外,有研究报道,DR患者房水和玻璃体液中MCP-1、IL-6、IL-8等炎症因子浓度显著增加,且与DR患者黄斑水肿的发生密切相关^[19-24]。MCP-1在部分炎症、免疫疾病中发挥重要作用,是一种重要的炎症因子,可参与多种视网膜疾病病理过程。当视网膜发生炎症反应时,MCP-1表达明显上升,升高的MCP-1可以募集单核-巨噬细胞向炎症部位迁移,促进小胶质细胞活化,在损伤部位吞噬细胞碎片等^[25]。Kunikata等^[26]在孔源性视网膜脱离的研究中发现,玻璃体注射曲安奈德后,增加的MCP-1被明显抑制。在对糖尿病黄斑水肿患者治疗的研究中有报道指出,曲安奈德可能通过降低MCP-1等因子的分泌减少视网膜血管的渗漏^[27]。本研究中也观察到PDR玻璃体腔注射曲安奈德后MCP-1的浓度明显降低,说明MCP-1是曲安奈德在抗炎反应中参与的重要炎症因子。同时,研究中我们还发现,雷珠单抗组IL-6和IL-8较注药前出现明显增加。IL-6属于多功能的细胞因子,是感染和外伤急性期反应中发挥重要作用的主要诱导因子,可引起炎症细胞分泌、刺激内皮细胞增殖、增加内皮细胞通透性等多种病理改变。Naldini等^[28]研究发现IL-6等细胞因子与VEGF有类似特征,均可被低氧所诱导新生血管形成。此外,慢性高血糖刺激可明显促进胰岛细胞分泌IL-6^[29],即使阻断VEGF的分泌,IL-6的表达仍显著增加可能是本研究中使用雷珠单抗后IL-6上调的可能原因之一。IL-8是嗜中性粒细胞的主要趋化因子,可参与促进血管的生成过程。有研究者在使用雷珠单抗玻璃体腔注射后,观察到DR患者房水中IL-8的表达升高,并认为VEGF-A抑制后,IL-8之所以出现升高现象可能不是

依赖于HIF-1 α 途径而是通过调控NF- κ B的表达引起的^[16]。而有研究指出注射时穿刺或药物作用过程中的急性反应或视网膜缺血缺氧所致的调节结果是导致玻璃体腔注射雷珠单抗后IL-6和IL-8升高的可能原因^[30]。由此可见,玻璃体腔注射雷珠单抗后IL-6和IL-8的升高可能是多种因素作用的共同结果。

此外,在本研究中,无论是组内注药前后对比,还是组间进行比较,均未发现PDGF-AB/BB以及MCP-3的改变。PDGF-AB/BB与VEGF具有显著的同源性,可促进细胞生长并参与细胞运动。有研究发现,PDGF是视网膜色素上皮细胞生长的自分泌刺激物,参与视网膜创伤修复和视网膜前膜形成^[31]。PDGF-AB/BB表达的增高可导致神经胶质细胞的非血管相关增殖,参与调节PDR中血管和非血管细胞的增殖形成^[32]。MCP-3是一种多功能趋化因子,具有促炎症作用,与MCP-1共享MCP-1受体,但亲和力相对较低。有研究表明MCP-1和MCP-3共同参与了受伤部位单核细胞的激活和补充,因此本研究除MCP-1外同时也对MCP-3进行了检测。目前针对MCP-3在眼部的疾病研究中相对较少,近期Wang等^[33]发现原发性闭角型青光眼患者的房水中MCP-3轻度增加,可能参与了病程的进展。研究中,我们观察到PDGF-AB/BB和MCP-3注药前明显低于其他因子分泌,可能是其药物作用不明显的原因之一。此外,PDR患者中未被抑制的PDGF-AB/BB和MCP-3持续分泌可长期对视网膜造成破坏,可能是雷珠单抗和曲安奈德治疗效果不佳的原因。

玻璃体切割手术前联合应用雷珠单抗及曲安奈德玻璃体腔给药可从不同方面减少DR术中出血发生率,提高手术效率,本研究对玻璃体腔注射雷珠单抗及曲安奈德在DR中的调控因素及临床效果进行了初步探索及比较分析,但由于DR发病机制的复杂及药物作用的调控作用,其具体机制仍有待进一步探究。

本研究为前瞻性随机对照非盲研究,虽然不能完全排除干扰因素,但随机分组可减少一些选择偏倚,此外为尽量减少选择偏倚,所有患者均严格按纳入标准选择,所得结果真实可靠。

参考文献

- 1 Simunovic MP, Maberley DA. Anti-vascular endothelial growth factor therapy for proliferative diabetic retinopathy: a systematic review and meta-analysis. *Retina* 2015; 35(10): 1931-1942
- 2 di Lauro R, De Ruggiero P, di Lauro R, et al. Intravitreal bevacizumab for surgical treatment of severe proliferative diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2010; 248(6): 785-791
- 3 Jonas JB, Hayler JK, Sotker A, et al. Intravitreal injection of crystalline ceftriaxone as adjunctive treatment of proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 2001; 131(4): 468-471
- 4 Doi N, Sakamoto T, Sonoda Y, et al. Comparative study of vitrectomy versus intravitreal triamcinolone for diabetic macular edema on randomized paired-eyes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2012; 250(1): 71-78
- 5 Tsai T, Kuehn S, Tsiampalis N, et al. Anti-inflammatory cytokine and angiogenic factors levels in vitreous samples of diabetic retinopathy patients. *PLoS One* 2018; 13(3): e0194603
- 6 Boss JD, Singh PK, Pandya HK, et al. Assessment of Neurotrophins and Inflammatory Mediators in Vitreous of Patients With Diabetic

- Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017; 58(12) : 5594–5603
- 7 Praidou A, Klangas I, Papakonstantinou E, *et al.* Vitreous and serum levels of platelet-derived growth factor and their correlation in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Curr Eye Res* 2009; 34(2) :152–161
- 8 Bromberg – White JL, Glazer L, Downer R, *et al.* Identification of VEGF-independent cytokines in proliferative diabetic retinopathy vitreous. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54(10) :6472–6480
- 9 Wilkinson CP, Ferris FL, Klein RE, *et al.* Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology* 2003; 110(9) : 1677–1682
- 10 Chen B, He T, Xing Y, *et al.* Effects of quercetin on the expression of MCP-1, MMP-9 and VEGF in rats with diabetic retinopathy. *Exp Ther Med* 2017; 14(6) : 6022–6026
- 11 Sassa Y, Yoshida S, Ishikawa K, *et al.* The kinetics of VEGF and MCP-1 in the second vitrectomy cases with proliferative diabetic retinopathy. *Eye (Lond)* 2016; 30(5) : 746–753
- 12 Lu Q, Lu L, Chen B, *et al.* Efficacy comparison of intravitreal injections of conbercept and ranibizumab for severe proliferative diabetic retinopathy. *Can J Ophthalmol* 2019; 54(3) :291–296
- 13 Chen HJ, Wang CG, Dou HL, *et al.* Effect of intravitreal ranibizumab pretreatment on vitrectomy in young patients with proliferative diabetic retinopathy. *Ann Palliat Med* 2020; 9(1) :82–89
- 14 Cui J, Chen H, Lu H, *et al.* Efficacy and Safety of Intravitreal Conbercept, Ranibizumab, and Triamcinolone on 23-Gauge Vitrectomy for Patients with Proliferative Diabetic Retinopathy. *J Ophthalmol* 2018; 2018(11) :4927259
- 15 Yu Y, Zhang J, Zhu R, *et al.* The Profile of Angiogenic Factors in Vitreous Humor of the Patients with Proliferative Diabetic Retinopathy. *Curr Mol Med* 2017; 17(4) :280–286
- 16 Forooghian F, Kertes PJ, Eng KT, *et al.* Alterations in intraocular cytokine levels following intravitreal ranibizumab. *Can J Ophthalmol* 2016; 51(2) : 87–90
- 17 Mesquita J, Castro-de-Sousa JP, Vaz-Pereira S, *et al.* Vascular endothelial growth factors and placenta growth factor in retinal vasculopathies: Current research and future perspectives. *Cytokine Growth Factor Rev* 2018; 39(2) :102–115
- 18 Imai S, Otsuka T, Naito A, *et al.* Triamcinolone Acetonide Suppresses Inflammation and Facilitates Vascular Barrier Function in Human Retinal Microvascular Endothelial Cells. *Curr Neurovasc Res* 2017; 14(3) :232–241
- 19 Wei Q, Wan Z, Hu Y. Cytokine and Chemokine Profile Changes in Patients After Intravitreal Conbercept Injection for Diabetic Macular Edema. *Drug Des Devel Ther* 2019;13(24) :4367–4374
- 20 Chernvkh VV, Varvarinsky EV, Smirnov EV, *et al.* Proliferative and inflammatory factors in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Indian J Ophthalmol* 2015; 63(1) : 33–36
- 21 Wu H, Hwang DK, Song X, *et al.* Association between Aqueous Cytokines and Diabetic Retinopathy Stage. *J Ophthalmol* 2017; 2017: 9402198
- 22 Schoenberger SD, Kim SJ, Shah R, *et al.* Reduction of interleukin 8 and platelet-derived growth factor levels by topical ketorolac, 0.45%, in patients with diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol* 2014; 132(1) : 32–37
- 23 Koskela UE, Kuusisto SM, Nissinen AE, *et al.* High vitreous concentration of IL-6 and IL-8, but not of adhesion molecules in relation to plasma concentrations in proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmic Res* 2013; 49(2) :108–114
- 24 Wu J, Zhong Y, Yue S, *et al.* Aqueous Humor Mediator and Cytokine Aberrations in Diabetic Retinopathy and Diabetic Macular Edema: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Dis Markers* 2019;2019:6928524
- 25 Vessey KA, Waugh M, Jobling AI, *et al.* Assessment of retinal function and morphology in aging CCL2 knockout mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56(2) : 1238–1252
- 26 Kunikata H, Yasuda M, Aizawa N, *et al.* Intraocular Concentrations of Cytokines and Chemokines in Rhegmatogenous Retinal Detachment and the Effect of Intravitreal Triamcinolone Acetonide. *Am J Ophthalmol* 2013; 155(6) : 1028–1037
- 27 Sohn HJ, Han DH, Kim IT, *et al.* Changes in aqueous concentrations of various cytokines after intravitreal triamcinolone versus bevacizumab for diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol* 2011; 152(4) :686–694
- 28 Naldini A, Carraro F, Silvestri S, *et al.* Hypoxia affects cytokine production and proliferative responses by human peripheral mononuclear cells. *J Cell Physiol* 1997; 173(3) : 335–342
- 29 Pilström B, Björk L, Böhme J. Demonstration of a TH1 cytokine profile in the late phase of NOD insulinitis. *Cytokine* 1995; 7(8) :806–814
- 30 王友, 邓铂林, 黄健, 等. 玻璃体腔注射雷珠单抗治疗严重增生型糖尿病视网膜病变后玻璃体细胞因子的变化. *中华眼底病杂志* 2014; 30(5) : 484–487
- 31 Cassidy L, Barry P, Shaw C, *et al.* Platelet derived growth factor and fibroblast growth factor basic levels in the vitreous of patients with vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol* 1998; 82(2) :181–185
- 32 Cox O, Simpson D, Stitt A, *et al.* Sources of PDGF expression in murine retina and the effect of short-term diabetes. *Molec Vis* 2003; 10(9) : 665–672
- 33 Wang Y, Chen S, Liu Y, *et al.* Inflammatory cytokine profiles in eyes with primary angle-closure glaucoma. *Biosci Rep* 2018; 38(6) : BSR20181411