

本文引用格式:王慧,纪风涛,李永蓉,等.增生期糖尿病性视网膜病变血清 LCN2 和 VEGF 的表达情况分析[J].  
安徽医学,2024,45(5):578-581.DOI:10.3969/j.issn.1000-0399.2024.05.009

## 增生期糖尿病性视网膜病变血清 LCN2 和 VEGF 的表达情况分析

王 慧 纪风涛 李永蓉 魏 科

**[摘要]** 目的 研究增生期糖尿病性视网膜病变(PDR)患者血清脂质运载蛋白 2(LCN2)和血管内皮生长因子(VEGF)的表达变化及 LCN2 和 VEGF 相关性分析。方法 选择 2021 年 1 月至 2023 年 1 月就诊于合肥市第二人民医院 51 例无糖尿病性视网膜病变的糖尿病患者作为对照组,43 例 PDR 患者作为 PDR 组,PDR 组按照是否术前进行抗 VEGF 进一步分组。采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清 LCN2 和 VEGF 的浓度。比较对照组和 PDR 组患者血清 LCN2 和 VEGF 表达水平差异,并分析 LCN2 和 VEGF 相关性。结果 对照组血清 LCN2 浓度为(1 330±659)pg/mL,PDR 组为(30 550±11 093)pg/mL,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。对照组血清 VEGF 浓度未检出,PDR 组为(985±669)pg/mL。抗 VEGF 的 PDR 组血清 LCN2 的表达水平较未行抗 VEGF 的 PDR 组降低[(24 984±9 749)pg/mL 比(34 957±10 221)pg/mL, $P=0.002$ ],抗 VEGF 的 PDR 组患者血清 VEGF 水平较未行抗 VEGF 的 PDR 组降低[(513±227)pg/mL 比(1 359±669)pg/mL, $P<0.001$ ],差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。PDR 组血清 LCN2 和 VEGF 表达水平的相关性分析显示,二者相关性较低( $r=0.007$ , $P=0.598$ )。结论 PDR 患者血清 LCN2 和 VEGF 的水平增高,但 LCN2 和 VEGF 的表达水平无明显相关性。抗 VEGF 治疗的 PDR 组 LCN2 和 VEGF 表达均降低,抗 VEGF 可能抑制 PDR 进展。

**[关键词]** 增生期糖尿病性视网膜病变;脂质运载蛋白 2;血管内皮生长因子  
doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2024.05.009

增生期糖尿病性视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)是严重影响视力的晚期视网膜病变<sup>[1]</sup>,患者视网膜出现了新生血管、玻璃体积血或视网膜前增殖膜等改变,视力急剧下降,手术以后入路玻璃体切割术为主,术后视力很难完全恢复正常,因此,避免糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)发展为 PDR,探索 PDR 进展的发病机制至关重要。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和炎症因子是 DR 病变进展的重要因子<sup>[2-4]</sup>,抗 VEGF 药物已成为 PDR 患者抗新生血管形成的一线治疗用药<sup>[5-6]</sup>。同时,DR 发病过程中,常伴随脂质代谢异常,脂质运载蛋白 2(lipocalin-2, LCN2)是一种新型的脂肪细胞因子<sup>[7]</sup>,其水平增高和多种炎症疾病、代谢性疾病密切相关<sup>[8-12]</sup>。在糖尿病患者中血清 LCN2 表达水平亦增高<sup>[13]</sup>,增高的 LCN2 在 PDR 的进展中是否有潜在的作用值得进一步研究。PDR 患者血清 LCN2 和 VEGF 表达水平的相关报道较少。本研究纳入 94 例 PDR 患者,检测血清 LCN2 和 VEGF 的表达水平,并按照 PDR 患者玻璃体切割术前是否行抗 VEGF 预处理进一步分组分析,探讨血清 LCN2 和 VEGF 与 PDR 的相关性,旨在发现新的治疗靶点及为临床治疗 PDR 提

供参考。

### 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021 年 1 月至 2023 年 1 月就诊于合肥市第二人民医院 94 例患者。对照组 51 例,为无 DR 的糖尿病患者;PDR 组 43 例,根据后入路玻璃体切割术前行抗 VEGF 的 PDR 组 19 例和未行抗 VEGF 的 PDR 组 24 例。PDR 组在玻璃体切割术前 1 周行 1 次玻璃体药物注射术(康柏西普注射液,0.05 mL)纳入抗 VEGF 预处理的 PDR 组。对照组和 PDR 组性别、年龄、空腹血糖水平比较,差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。患者均已签署知情同意书,该研究通过医院伦理委员会审批(编号:2023-科研-079)。

表 1 两组对象一般资料比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	年龄(岁)	性别(男/女,例)	FBG(mmol/L)
PDR 组	43	56.74±10.79	23/20	7.79±1.94
对照组	51	54.98±8.49	27/24	7.55±2.36
$t/\chi^2$ 值		0.893	0.012	0.541
P 值		0.382	0.959	0.592

注:FBG 为空腹血糖。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:①PRR 组患者符合我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南(2022 年)<sup>[14]</sup>中的 PDR 的诊断诊断;②经过散瞳眼底检查、光学相干断层扫描(optical coherence tomography, OCT)检查、扫描激光眼底检查等明确新生血管形成、玻璃体积血或视网膜脱离,需行后入路玻璃体切割术者。排除标准:①非眼病患者,合并有胰腺疾病、肠道炎症和乳腺癌者;②近期玻璃体积血(<1 个月)者;③既往有眼病治疗史者。

### 1.3 方法

1.3.1 血清 LCN2 和 VEGF 水平检测 真空采血管抽取 PDR 组和对照组清晨空腹外周血 2 mL,离心机离心,12 000 r/min 离心 5 min,取其血清,放入-80 °C 冰箱保存。使用 LCN2 酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(捷克 BioVendor 公司)检测血清 LCN2 水平,使用 VEGF ELISA 试剂盒(美国 R&D Systems 公司)检测血清 VEGF 水平。LCN2 和 VEGF 通过标准方法连续稀释以获得标准图。样本均一式两份进行分析。步骤如下:①室温下解冻血清样本,设置空白孔、标准孔和待测样本孔,按顺序做标记。②每孔加入 1:500 的马抗人 IgE 抗体 0.25 mL,37 °C 孵育 2.5 h,洗板 6 次。③每孔加入 1% BSA 0.3 mL,4 °C 冰箱中过夜,洗板同上。④每孔加入待检测的血清样本 0.1 mL,37 °C 孵育 60 min,洗板同上。⑤每孔加入 1:200 的酶标记抗体 0.25 mL,37 °C 孵育 60 min,洗板同上。⑥每孔加入邻苯二胺溶液 0.2 mL,室温下放置 25 min。⑦迅速在反应孔中加入终止液 0.15 mL,混合均匀。⑧酶标仪测定 OD 值,波长是 495 nm。

1.3.2 血液指标检测 采用全自动生化分析仪检测血清糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1c)、三酰甘油(triglycerides, TG)、总胆固醇(cholesterol, CHOL)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)、极低密度脂蛋白(very low-density lipoprotein, VLDL)、载脂蛋白 A(apolipoprotein A, ApoA)及载脂蛋白 B(apolipoprotein B, ApoB)的表达水平。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 17.0 进行统计学分析。符合正态分布的计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以频数表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;血清 LCN2 和 VEGF 表达水平的相关性分析采用 Pearson 检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 对照组和 PDR 组临床指标比较 PDR 组患者身体质量指数(body mass index, BMI)低于对照组,HbA1c

高于对照组,差异有统计学意义(*P*>0.05)。见表 2。

表 2 对照组和 PDR 组临床指标比较( $\bar{x} \pm s$ )

指标	PDR 组 ( <i>n</i> =43)	对照组 ( <i>n</i> =51)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	21.40±1.90	25.34±1.07	-12.081	<0.001
HbA1c (%)	8.85±1.79	7.87±1.85	2.609	0.009
TG (mmol/L)	2.03±1.43	1.98±1.11	0.161	0.882
CHOL (mmol/L)	4.84±1.29	4.39±1.06	1.872	0.069
HDL (mmol/L)	1.19±0.30	1.11±0.23	1.468	0.151
LDL (mmol/L)	2.93±0.96	2.67±0.86	1.409	0.158
VLDL (mmol/L)	0.40±0.29	0.39±0.22	0.119	0.843
ApoA (g/L)	1.17±0.23	1.11±0.18	1.602	0.109
ApoB (g/L)	0.92±0.25	0.85±0.22	1.334	0.188

注: BMI 为身体质量指数, HbA1c 为糖化血红蛋白, TG 为三酰甘油, CHOL 为总胆固醇, HDL 为高密度脂蛋白, LDL 为低密度脂蛋白, VLDL 为极低密度脂蛋白, ApoA 为载脂蛋白 A, ApoB 为载脂蛋白 B。

2.2 对照组和 PDR 组血清 LCN2 和 VEGF 的表达水平比较 PDR 组患者血清 LCN2 和 VEGF 的表达水平均高于对照组(*P*<0.05)。见表 3。对照组患者血清未检测到 VEGF 的表达, 低于检测试剂盒的灵敏度极限。

表 3 对照组和 PDR 组对象血清 LCN2、VEGF 的表达水平比较( $\bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$ )

组别	例数	LCN2	VEGF
对照组	51	1 330±659	-
PDR 组	43	30 550±11 093	985±669
<i>t</i> 值		17.250	-
<i>P</i> 值		<0.001	-

注: LCN2 为脂质运载蛋白 2, VEGF 为血管内皮生长因子。

2.3 抗 VEGF 治疗对 LCN2 和 VEGF 表达水平的影响 抗 VEGF 治疗的 PDR 组对象血清 LCN2 的表达水平较未行抗 VEGF 的 PDR 组降低, 分别为(24 984±9 749)pg/mL 和(34 957±10 221)pg/mL, 差异有统计学意义(*t*=3.261, *P*=0.002)。抗 VEGF 治疗的 PDR 组对象血清 VEGF 的表达水平较未行抗 VEGF 的 PDR 组降低, 分别为(513±227)pg/mL 和(1 359±669)pg/mL, 差异有统计学意义(*t*=5.788, *P*<0.001)。

2.4 PDR 组血清 LCN2 和 VEGF 表达水平的相关性分析 Pearson 相关性分析显示, PDR 组血清 LCN2 和 VEGF 表达水平的相关性较低(*r*=0.007, *P*=0.598)。见图 1。

## 3 讨论

PDR 是糖尿病晚期视网膜病变。高血糖状态下的慢性低度亚临床炎症持续对视网膜微血管造成影响, 据文献报道, 15% 的轻度非增生期 DR 发展为 PDR, 伴

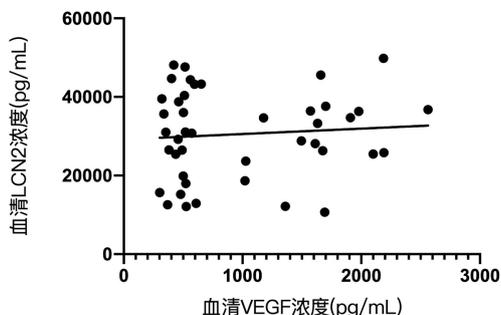


图1 PDR患者 LCN2与 VEGF的相关性分析

随 DR 的进展,患者失明的风险增高。因此,PDR 的临床防治已经成为急需解决的重要公共卫生健康问题。

LCN2 亦称中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL) 或 sidrocalin,是具有亲脂性的小分子转运蛋白,易于在血浆和体液中检测到。作为一种新的脂肪细胞因子,能够结合类固醇和脂多糖,在细胞凋亡、炎症、免疫及代谢稳态方面具有重要作用<sup>[7]</sup>。LCN2 在肾、肺、脂肪组织、巨噬细胞等组织中表达,眼内主要是视网膜 Müller 细胞和视网膜色素上皮细胞 (retinal pigment epithelium, RPE) 产生 LCN2<sup>[15-17]</sup>。LCN2 在年龄相关性黄斑变性中表达水平较高<sup>[18]</sup>。亦在慢性肾脏疾病中表达水平增高,与炎症因子表达升高呈正相关<sup>[19]</sup>,表明 LCN2 促进炎症进展。糖尿病患者,慢性缺氧诱导 VEGF 表达,激活 Müller 细胞,LCN2 和 VEGF 表达水平增高进一步加重 DR<sup>[17]</sup>。炎症因子和 VEGF 促进了 DR 进展,笔者推测 LCN2 在 PDR 发病中可能起到重要作用。罗千军等<sup>[20]</sup>研究发现血清 LCN2 在 DR 中表达增高。前期研究已证实了,PDR 患者玻璃体中 LCN2 和 VEGF 的高表达,玻璃体 LCN2 和 VEGF 的表达水平存在相关性<sup>[21]</sup>。本研究结果显示,PDR 组患者血清 LCN2 和 VEGF 的表达水平高于对照组,提示 LCN2 在 PDR 发病过程中起到重要作用。本研究发现,PDR 患者血清 LCN2 和 VEGF 水平之间相关性较低,可能是由于血视网膜屏障作用,LCN2 在血清的表达水平低于其在玻璃体的含量。PDR 患者血清 LCN2 和 VEGF 表达水平较高,促进了 PDR 进展。抗 VEGF 治疗的 PDR 组血清 LCN2 和 VEGF 表达水平均较低,可以有效减轻视网膜炎症反应,有利于延缓 PDR 的进展。同时本研究发现,PDR 组患者 BMI 低于对照组,推测可能是由于 PDR 患者血糖控制不理想,体形偏瘦的缘故。PDR 组 HbA1c 高于对照组,提示 PDR 患者血糖控制不理想,DR 易进展为 PDR,因此,有必要加强糖尿病患者血糖的控制,降低 HbA1c,延缓 PDR 的进展<sup>[22]</sup>。

本研究虽然初步探索了 LCN2 在 PDR 发展中的作

用,但是并未建立 LCN2 和 VEGF 之间的确定因果关系,仍需进一步研究。PDR 发病机制复杂,糖脂代谢异常和炎症反应是 PDR 进展的重要因素,本研究结果显示,PDR 组血清 LCN2 和 VEGF 的表达水平增高,PDR 抗 VEGF 治疗组 LCN2 和 VEGF 表达水平均降低,初步提示 LCN2 可能在 PDR 进展有潜在作用。同时需要监测糖尿病患者血清 HbA1c,对 DR 进行密切随访,对防止出现 PDR 具有重要临床意义。

#### 参考文献

- [1] PITALE P M, GORBATYUK M S. Diabetic retinopathy: from animal models to cellular signaling[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3):1487-1496.
- [2] SPENCER B G, ESTEVEZ J J, LIU E, et al. Pericytes, inflammation, and diabetic retinopathy[J]. *Inflammopharmacology*, 2020, 28(3):697-709.
- [3] YOUNGBLOOD H, ROBINSON R, SHARMA A, et al. Proteomic biomarkers of retinal inflammation in diabetic retinopathy[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(19):4755-4761.
- [4] BISWAS S, SARABUSKY M, CHAKRABARTI S. Diabetic retinopathy, incRNAs, and inflammation: a dynamic, interconnected network[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(7):1033-1041.
- [5] LIU H, LESSIEUR E M, SAADANE A, et al. Neutrophil elastase contributes to the pathological vascular permeability characteristic of diabetic retinopathy[J]. *Diabetologia*, 2019, 62(3):2365-2374.
- [6] GAONKAR B, PRABHU K, RAO P, et al. Plasma angiogenesis and oxidative stress markers in patients with diabetic retinopathy[J]. *Biomarkers*, 2020, 25(1):397-401.
- [7] JABERI S A, COHEN A, DSOUZA C, et al. Lipocalin-2: structure, function, distribution and role in metabolic disorders [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 142(1):112002-112011.
- [8] SHIBATA K, SATO K, SHIRAI R, et al. Lipocalin-2 exerts pro-atherosclerotic effects as evidenced by in vitro and in vivo experiments[J]. *Heart Vessels*, 2020, 35(7):1012-1024.
- [9] GUMPPER K, DANGEL A W, PITA GRISANTI V, et al. Lipocalin-2 expression and function in pancreatic diseases[J]. *Pancreatology*, 2020, 20(3):419-424.
- [10] GHOSH S, STEPICHEVA N, YAZDANKHAH M, et al. The role of lipocalin-2 in age-related macular degeneration (AMD) [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(5):835-851.
- [11] YU L, ZHOU L, LI Q, et al. Elevated urinary lipocalin-2, interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 levels in children with congenital ureteropelvic junction obstruction [J]. *J Pediatr Urol*, 2019, 15(1):44.e1-44.e7.
- [12] BICHAYA E G, GROSS P S, ESTRADA D J, et al. Lipocalin-2 is dispensable in inflammation-induced sickness and depression-like behavior[J]. *Psychopharmacology*, 2019, 236

- (10):2975-2982.
- [13] WU C, WANG Q Y, LV C, et al. The changes of serum sklotho and NGAL levels and their correlation in type 2 diabetes mellitus patients with different stages of urinary albumin[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014, 106(2):343-350.
- [14] 中华医学会眼科学分会眼底病学组, 中国医师协会眼科医师分会眼底病学组. 我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南(2022年)-基于循证医学修订[J]. *中华眼底病杂志*, 2023, 39(2):99-124.
- [15] PARMAR T, PARMAR V M, PERUSEK L, et al. Lipocalin 2 plays an important role in regulating inflammation in retinal degeneration[J]. *J Immunol*, 2018, 200(9):3128-3141.
- [16] TANG W, MA J, GU R, et al. Lipocalin 2 suppresses ocular inflammation by inhibiting the activation of NF- $\kappa$ B pathway in endotoxin-induced uveitis[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(1):375-388.
- [17] ARRIGO A, ARAGONA E, BANDELLO F. VEGF-targeting drugs for the treatment of retinal neovascularization in diabetic retinopathy[J]. *Ann Med*, 2022, 54(1):1089-1111.
- [18] GUPTA U, GHOSH S, WALLACE C T, et al. Increased LCN2 (lipocalin 2) in the RPE decreases autophagy and activates inflammasome-ferroptosis processes in a mouse model of dry AMD[J]. *Autophagy*, 2023, 19(3):92-111.
- [19] GUILLAUME C, CONNOR F, CLAIRE G, et al. Lipocalin 2 stimulates bone broblast growth factor 23 production in chronic kidney disease[J]. *Bone Res*, 2021, 9(2):35-41.
- [20] 罗千军, 陈传琦, 鄢燕琼. 血清 LCN2、CTRP3 在糖尿病视网膜病变中水平及其临床意义[J]. *标记免疫分析与临床*, 2021, 8(1):85-89.
- [21] WANG H, LOU H, LI Y Y, et al. Elevated vitreous lipocalin-2 levels of patients with proliferative diabetic retinopathy[J]. *BMC Ophthalmol*, 2020, 20(1):260-265.
- [22] PEGAH K, REIHANE Q, SOGHRA R, et al. Nitric oxide and TNF- $\alpha$  are correlates of diabetic retinopathy independent of hs-CRP and HbA1c[J]. *Endocrine*, 2020, 69(3):536-541.

(2023-07-17 收稿)

(本文编校:张迪,周雪春)