

· 实验研究 ·

载脂蛋白 A- I 对高糖环境下人视网膜血管内皮细胞生物行为及 VEGF 表达的抑制作用

谭澄焯 邵珺 庄淼 姚勇

214023 无锡,南京医科大学附属无锡人民医院眼科

通信作者:姚勇,Email: pard1@126. com

DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2017. 07. 003

【摘要】 背景 视网膜血管内皮细胞(RVECs)是视网膜微血管的主要成分,通过增生、迁移以及血管发生等生物行为在糖尿病视网膜病变(DR)的发生和发展中发挥关键作用。载脂蛋白 A- I (ApoA- I)是高密度脂蛋白中主要的载脂蛋白,既往研究表明 ApoA- I 在糖尿病患者视网膜组织内呈高表达,且在不同微环境中对 RVECs 发挥不同作用,但其在高糖环境下与 RVECs 生物学行为的关系仍不清楚。目的 研究 ApoA- I 对高糖环境下培养的人 RVECs (hRVECs)生物行为及血管内皮生长因子(VEGF)表达的抑制作用。方法 用含体积分数 10% 胎牛血清的 DMEM 体外培养 hRVECs 并传代,取 3~6 代细胞用于实验。将培养的细胞分为低糖组、低糖+ApoA- I 组、高糖组和高糖+ApoA- I 组,按照分组分别在 DMEM 中添加葡萄糖和 ApoA- I,低糖浓度为 5 mmol/L,高糖浓度为 25 mmol/L, ApoA- I 终质量浓度为 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。采用细胞计数试剂盒-8、CCK-8 法检测细胞增殖能力(吸光度, A 值);采用细胞划痕法检测细胞的迁移率;采用管腔形成实验检测培养细胞的体外成管能力;分别采用实时荧光定量 PCR 法和 Western blot 法检测各组细胞中 VEGF mRNA 及其蛋白的相对表达量。结果 高糖组细胞增殖值(A 值)和细胞迁移率明显高于低糖组,高糖+ApoA- I 组细胞增殖值和细胞迁移率明显低于高糖组,差异均有统计学意义(A 值: $P=0.001, 0.033$;迁移率: $P=0.001, 0.010$)。低糖组、低糖+ApoA- I 组、高糖组和高糖+ApoA- I 组管腔数分别为(7.250 \pm 2.217)、(9.250 \pm 2.630)、(19.000 \pm 3.916)和(11.500 \pm 3.697)个,组间总体比较差异有统计学意义($F=10.335, P=0.001$)。高糖组管腔数较低糖组显著增加,高糖+ApoA- I 组较高糖组管腔数显著减少,差异均有统计学意义($P=0.001, 0.037$)。低糖组、低糖+ApoA- I 组、高糖组和高糖+ApoA- I 组细胞中 VEGF mRNA 相对表达量分别为 0.944 \pm 0.083、1.117 \pm 0.204、1.768 \pm 0.164 和 1.301 \pm 0.077, VEGF 蛋白相对表达量分别为 1.000 \pm 0.130、1.217 \pm 0.152、1.871 \pm 0.101 和 1.609 \pm 0.087,组间总体比较差异均有统计学意义(mRNA: $F=18.640, P=0.001$;蛋白: $F=10.335, P=0.001$),其中高糖组细胞中 VEGF mRNA 及其蛋白的相对表达量均明显高于低糖组和高糖+ApoA- I 组,差异均有统计学意义(mRNA: $P=0.000, 0.004$;蛋白: $P=0.000, 0.029$)。结论 ApoA- I 对高糖环境下 hRVECs 的增生、迁移及管腔形成具有抑制作用,可能与其下调细胞 VEGF 的表达有关。

【关键词】 载脂蛋白 A- I; 糖尿病视网膜病变; 血管内皮细胞; 人; 细胞培养; 葡萄糖/应用和剂量; 血管内皮生长因子

基金项目: 国家自然科学基金项目(81400415); 江苏省卫生厅面上科研课题项目(H201449)

Inhibitory effects of apolipoprotein A- I on biological behavior and VEGF expression of human retinal epithelial cells in high glucose environment

Tan Chengye, Shao Jun, Zhuang Miao, Yao Yong

Department of Ophthalmology, Wuxi People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China

Corresponding author: Yao Yong, Email: pard1@126. com

[Abstract] **Background** As a main cellular component of retinal microvascular, retinal vascular endothelial cells (RVECs) play critical roles in the occurrence and development of diabetic retinopathy (DR) by proliferating, migrating and angiogenesis. Apolipoprotein A- I (ApoA- I) is the major apolipoprotein of high density lipoprotein. ApoA- I is overexpressed in the retina of diabetic patients and plays different effects on RVECs upon different microenvironments, but its relationship with RVECs in high glucose environment is still not elucidated. **Objective** This study was to investigate the effects of ApoA- I on proliferation, migration, tubulogenesis and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human RVECs (hRVECs) in high glucose environment. **Methods** hRVECs were cultured with DMEM containing 10% fetal bovine serum and passaged, and the cells at generation 3 to 6 were used in the study. The cells were divided into low-glucose group, low-glucose+ApoA- I group, high-glucose group and high-glucose+ApoA- I group, and the low concentration glucose (5 mmol/L), high contraction glucose (25 mmol/L)

and ApoA-I (30 $\mu\text{g/ml}$) was added separately according to grouping. The proliferation and migration rate of the cells were evaluated by cell counting kit-8 (CCK-8) assay and scratch wound test respectively. The tubulogenesis of the cells was examined by tube formation test. The mRNA and protein expression of VEGF in the cells was detected by using real-time fluorescence quantitative PCR and Western blot. **Results** The proliferative value (absorbancy) and migration rate of the cells in the high-glucose group were significantly higher than those in the low-glucose group, and those in the high-glucose+ApoA-I group were significantly reduced in comparison with the high-glucose group (A value: $P=0.001, 0.033$; migration rate: $P=0.001, 0.010$). The number of tubes in the low-glucose group, low-glucose+ApoA-I group, high-glucose group and high-glucose+ApoA-I group was $7.250 \pm 2.217, 9.250 \pm 2.630, 19.000 \pm 3.916$ and 11.500 ± 3.697 , showing a significant difference among the groups ($F=10.335, P=0.001$). The number of tubes in the high-glucose group was more than that in the low-glucose group, and the number of tubes in the high-glucose+ApoA-I group was less than that in the high-glucose group ($P=0.001, 0.037$). The relative expression levels of VEGF mRNA were $0.944 \pm 0.083, 1.117 \pm 0.204, 1.768 \pm 0.164$ and 1.301 ± 0.077 , and those of VEGF protein were $1.000 \pm 0.130, 1.217 \pm 0.152, 1.871 \pm 0.101$ and 1.609 ± 0.087 in the low-glucose group, low-glucose+ApoA-I group, high-glucose group and high-glucose+ApoA-I group, respectively, with significant differences among the groups (mRNA: $F=18.640, P=0.001$; protein: $F=10.335, P=0.001$), and the expressions of VEGF mRNA and protein in the high-glucose group were significantly higher than those in the low-glucose group and high glucose+ApoA-I group (mRNA: $P=0.000, 0.004$; protein: $P=0.000, 0.029$). **Conclusions** ApoA-I plays inhibitory effects on the proliferation, migration and tubulogenesis of hRVECs in high glucose environment, which may be associated with the downregulation of VEGF expression.

[Key words] Apolipoprotein A-I; Diabetic retinopathy; Vascular endothelial cells; Humans; Cells, cultured; Glucose/administration & dosage; Vascular endothelial growth factor

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81400415); Health Department Scientific Research Program of Jiangsu Province (H201449)

载脂蛋白 A-I (apolipoprotein A-I, ApoA-I) 是载脂蛋白 A 家族中含量最高的成员,也是高密度脂蛋白中主要的载脂蛋白,具有运输血胆固醇至肝脏、抗氧化及抗炎等作用^[1-2]。糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病性微血管病变中严重的并发症之一^[3],其中增生性糖尿病视网膜病变 (proliferative DR, PDR) 对视功能危害更为严重,治疗效果和预后较差^[4]。因此如何防控 PDR 的发生和发展具有重要意义。研究表明, PDR 患者玻璃体中 ApoA-I 含量较非糖尿病患者明显增高,甚至在疾病早期即有此表现^[5-6]。进一步研究显示,糖尿病患者神经视网膜和视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 中 ApoA-I mRNA 表达明显上调^[7],以 RPE 内的表达最为丰富^[8]。然而,关于眼内 ApoA-I 升高与 DR 关系的研究少见报道。本研究拟探讨 ApoA-I 对人视网膜血管内皮细胞 (human retinal vascular endothelial cells, hRVECs) 增生、迁移、管腔形成等生物学行为的影响及其与血管内皮细胞生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 表达的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞来源 hRVECs 系购自中科院上海细胞库。

1.1.2 主要试剂及仪器 胎牛血清、低糖 DMEM 培

养基 (美国 Gibco 公司); D-葡萄糖、ApoA-I (美国 Sigma 公司); 细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) 试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司); Matrigel 基质胶 (美国 Corning 公司); 兔抗人 VEGF-A 多克隆抗体 (ab46154)、兔抗人 β -Tubulin 多克隆抗体 (ab6046) (美国 Abcam 公司)。CO₂ 培养箱 (德国 Heraeus 公司); 倒置相差显微镜 (日本 OLYMPUS 公司); 凝胶成像系统 (美国 ProteinSimple 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及分组 hRVECs 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数 5% CO₂、饱和湿度培养箱中进行培养,待细胞生长至 80% 融合时,按照 1:2 ~ 1:4 传代培养,取 3 ~ 6 代细胞用于实验。将细胞分为低糖 (5 mmol/L) 培养组、低糖+ApoA-I 组、高糖培养组和高糖+ApoA-I 组,分别在 DMEM 培养基中添加低糖 (葡萄糖终浓度为 5 mmol/L)、ApoA-I (终质量浓度为 30 $\mu\text{g/ml}$) 和高糖 (葡萄糖终浓度为 25 mmol/L)。

1.2.2 CCK-8 法检测细胞增生能力 取对数生长期的细胞制备成细胞悬液并接种至 96 孔板,细胞密度为 4×10^3 /孔,每组设 5 个复孔,常规培养过夜后分组并更换条件培养基孵育 24 h,加入 CCK-8 试剂继续孵育 3 h,用酶标仪于波长 450 nm 处检测每孔吸光度 (A) 值。

1.2.3 细胞划痕法检测细胞的迁移能力 将细胞接

种至 6 孔培养板,待细胞生长至 90% 融合后用 10 μ l 枪头划痕,用 PBS 漂洗以去除漂浮细胞,将细胞分组加入条件培养基,置于培养箱中继续培养 24 h。分别于划痕后 0 h 和 24 h 在 100 倍倒置显微镜下观察并用 Image J 图像分析软件测量划痕距离。每一划痕区任意取 5 个视野,每一视野等分为 20 个点,测量每个点的划痕宽度,取平均值,并计算细胞迁移率。细胞迁移率 = (0 h 划痕宽度 - 24 h 划痕宽度) / 0 h 划痕宽度 \times 100%。每组细胞设 3 个样本,实验重复 3 次。

1.2.4 培养的 hRVECs 管腔形成实验 将 -20 $^{\circ}$ C 保存的 Matrigel 基质胶置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱中过夜,使其完全溶解。向预冷的 48 孔板中加入 Matrigel 基质胶,每孔 150 μ l, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min 使胶凝固。将接种于培养皿中的细胞分组消化,用各组条件培养基重悬,以 3×10^4 / 孔接种于已铺好胶的 48 孔板中,置于细胞培养箱中继续培养 8 h,在 200 倍倒置显微镜下观察各组细胞并进行照相,任意选取 5 个视野计算血管腔形成数目,并取平均值。

1.2.5 实时荧光定量 PCR 法检测 hRVECs 中 VEGF mRNA 的表达 培养的 hRVECs 按 3×10^5 / 孔的密度接种至 6 孔培养板中培养 24 h。更换无血清培养液饥饿培养 12 h,分组并加入条件培养基继续培养 24 h,每组设 3 个复孔。收集各组细胞,Trizol 法提取总 RNA,紫外分光光度计测定总 RNA 的浓度和纯度,分别测定波长为 260 nm 和 280 nm 时 A 值, $A_{260 \text{ nm}} / A_{280 \text{ nm}}$ 应为 1.8 ~ 2.2。将总 RNA 逆转录合成 cDNA,于 -20 $^{\circ}$ C 保存。取 1 μ l cDNA 构成 20 μ l 的反应体系,行实时荧光定量 PCR 扩增,反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s;95 $^{\circ}$ C 变性 5 s;60 $^{\circ}$ C 退火 30 s,73 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,共 40 个循环。VEGF 上游引物:5' -CTTGCTGCTGTACCTCCACCAT-3',下游引物:5' -TTGTGTGCTGTAGGAAGCTCAT-3'; β -actin 上游引物:5' -AGATTACTGCCCTGGCTCCTAG-3',下游引物:5' -CCTGCTTGCTGATCCACATCT-3',以 β -actin 作为内参,应用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达量。

1.2.6 Western blot 法检测 hRVECs 中 VEGF 蛋白表达情况 培养的 hRVECs 按 4×10^5 / 孔的密度接种至 6 孔培养板过夜,然后更换无血清培养液饥饿培养 12 h,分组并加入条件培养基,每组设 3 个复孔,继续培养 24 h。PBS 冲洗细胞 3 次,加入裂解液裂解细胞,低温离心后收集上清,用 BCA 法测定蛋白浓度,加入上样缓冲液后煮沸。每孔蛋白上样量为 50 μ g,100 V 恒压下行聚丙烯酰胺凝胶电泳,半干法 100 V 恒压下转膜 120 min。将转膜后的 PVDF 膜置质量分数 5% 脱脂奶粉中室温封闭 1 h。一抗稀释液稀释兔抗人 VEGF-A 多克隆抗体 (1 : 1 000) 和 β -Tubulin 抗体 (1 : 2 000),

PVDF 膜放入含相应抗体的孵育盒,水平摇床上 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。TBST 室温摇洗 3 次,每次 15 min;再加入 TBST 稀释的山羊抗兔 IgG,室温下孵育 2 h。TBST 室温摇洗 3 次,每次 15 min,ECL 显色。以 β -Tubulin 为内参,计算目的蛋白的表达。目的蛋白相对表达量 = VEGF-A 灰度值 / β -Tubulin 灰度值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件进行统计分析。本研究中测量指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验证实呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用均衡分组四水平实验设计,低糖组、低糖+ApoA-I 组、高糖组和高糖+ApoA-I 组间 hRVECs 增值值(A 值)、细胞迁移率、管腔形成数目、细胞中 VEGF mRNA 及其蛋白相对表达量的总体差异比较均采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-t 检验。采用双尾检测法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 hRVECs 增生能力的比较

低糖组、低糖+ApoA-I、高糖组、高糖+ApoA-I 组细胞增值值(A 值)总体比较,差异有统计学意义 ($F = 8.728, P = 0.001$),其中高糖组 A 值明显高于低糖组,差异有统计学意义 ($P = 0.001$),高糖+ApoA-I 组 A 值明显低于高糖组,差异有统计学意义 ($P = 0.033$) (表 1)。

表 1 各组细胞增值值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本量	A 值
低糖组	5	0.603 \pm 0.035
低糖+ApoA-I 组	5	0.647 \pm 0.033
高糖组	5	0.716 \pm 0.043 ^a
高糖+ApoA-I 组	5	0.664 \pm 0.053 ^b
F 值		8.728
P 值		0.001

注:与低糖组比较,^a $P < 0.01$;与高糖组比较,^b $P < 0.05$ (单因素方差分析,LSD-t 检验) ApoA-I:载脂蛋白 A-I

2.2 各组 hRVECs 迁移率的比较

划痕后 0 h,低糖组、低糖+ApoA-I、高糖组和高糖+ApoA-I 组划痕宽度相同。细胞干预后 24 h,各组细胞均向划痕中迁移(图 1)。低糖组、低糖+ApoA-I 组、高糖组和高糖+ApoA-I 组细胞的迁移率分别为 (0.247 \pm 0.047)%、(0.283 \pm 0.032)%、(0.417 \pm 0.057)% 和 (0.348 \pm 0.041)%,组间总体比较差异有统计学意义 ($F = 11.000, P = 0.001$),其中高糖组细胞迁移率较低糖组明显升高,高糖+ApoA-I 组较高糖组细胞迁移率明显降低,差异均有统计学意义 ($P = 0.001, 0.010$)。

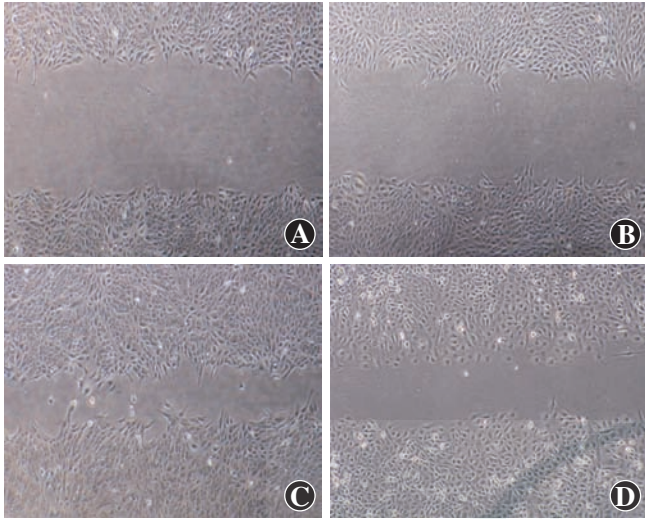


图 1 划痕后 24 h 各组细胞迁移情况 (×200) A: 低糖组划痕边缘细胞向划痕中央迁移一定距离 B: 低糖+ApoA-I 组划痕中央无细胞区宽度与低糖组接近 C: 高糖组划痕中央无细胞区宽度明显小于低糖组 D: 高糖+ApoA-I 组划痕中央无细胞区宽度小于低糖组, 而稍大于高糖组

2.3 各组 hRVECs 体外管腔形成能力的比较

应用 Matrigel 基质胶可诱导体外培养的 hRVECs 形成管腔结构。细胞在培养后 4 h 开始形成管腔结构, 培养后 8 h 即可建立稳定的管腔形成模型 (图 2)。低糖组、低糖+ApoA-I 组、高糖组和高糖+ApoA-I 组的管腔数分别为 (7.250±2.217)、(9.250±2.630)、(19.000±3.916) 和 (11.500±3.697) 个, 组间总体比较差异有统计学意义 ($F=10.335, P=0.001$)。高糖组管腔数较低糖组显著增加, 高糖+ApoA-I 组较高糖组管腔数显著减少, 差异均有统计学意义 ($P=0.001, 0.037$)。

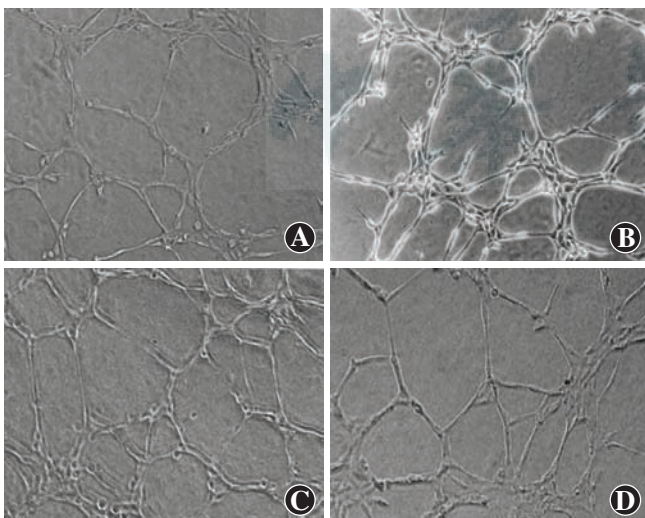


图 2 Matrigel 诱导培养的各组成细胞管腔形成情况 (×200) 高糖组管腔数多于低糖组, 高糖+ApoA-I 组管腔数低于高糖组 A: 低糖组 B: 低糖+ApoA-I 组 C: 高糖组 D: 高糖+ApoA-I 组

2.4 各组 hRVECs 中 VEGF mRNA 相对表达量的比较

实时荧光定量 PCR 检测结果显示, 低糖组、低糖+ApoA-I 组、高糖组和高糖+ApoA-I 组细胞中 VEGF mRNA 相对表达量分别为 0.944 ± 0.083 、 1.117 ± 0.204 、 1.768 ± 0.164 和 1.301 ± 0.077 , 组间总体比较差异有统计学意义 ($F=18.640, P=0.001$)。高糖组细胞中 VEGF mRNA 的相对表达量明显高于低糖组, 高糖+ApoA-I 组细胞中 VEGF mRNA 的相对表达量明显低于高糖组, 差异均有统计学意义 ($P=0.000, 0.004$) (图 3)。

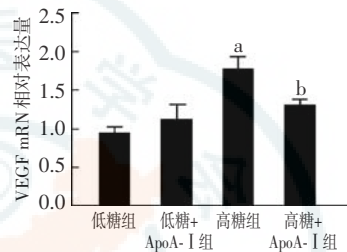


图 3 各组 hRVECs 中 VEGF mRNA 相对表达量的比较 $F=18.640, P=0.001$. 与低糖组比较, $^a P<0.01$; 与高糖组比较, $^b P<0.01$ (单因素方差分析, LSD- t 检验, $n=3$) VEGF: 血管内皮生长因子; ApoA-I: 载脂蛋白 A-I

2.5 各组 hRVECs 中 VEGF 蛋白相对表达量的比较

低糖组细胞中 VEGF 蛋白表达条带微弱, 高糖组细胞中 VEGF 蛋白表达条带最强, 高糖+ApoA-I 组细胞中 VEGF 蛋白表达条带强于低糖组, 但弱于高糖组 (图 4A)。各组细胞中 VEGF 蛋白相对表达量分别为 1.000 ± 0.130 、 1.217 ± 0.152 、 1.871 ± 0.101 和 1.609 ± 0.087 , 组间总体比较差异有统计学意义 ($F=10.335, P=0.001$)。高糖组细胞中 VEGF 蛋白相对表达量明显高于低糖组, 高糖+ApoA-I 组细胞中 VEGF 蛋白相对表达量明显低于高糖组, 差异均有统计学意义 ($P=0.000, 0.029$) (图 4B)。

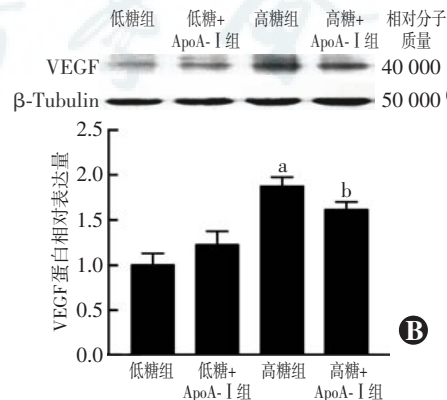


图 4 Western blot 法检测各组 hRVECs 中 VEGF 蛋白的表达 A: 各组细胞中 VEGF 表达电泳图 可见低糖组细胞中 VEGF 蛋白表达条带最弱, 高糖组最强, 高糖+ApoA-I 组细胞中 VEGF 蛋白表达条带强于低糖组, 弱于高糖组 B: 各组细胞中 VEGF 蛋白相对表达量的量化比较 $F=10.335, P=0.001$. 与低糖组比较, $^a P<0.01$; 与高糖组比较, $^b P<0.05$ (单因素方差分析, LSD- t 检验, $n=3$) VEGF: 血管内皮生长因子; ApoA-I: 载脂蛋白 A-I

3 讨论

RVECs 是视网膜微血管的主要组成细胞,其功能的异常是 DR 重要的发病机制之一。研究发现,RVECs 的异常增生参与微血管瘤的形成^[9],RVECs 的异常迁移是新生血管形成的重要因素^[10]。本研究结果显示,高糖环境可以促进 hRVECs 的增生、迁移和管腔形成,但这些作用可被 ApoA-I 所抑制,即 ApoA-I 对高糖环境下的 hRVECs 有一定的保护作用。

视网膜新生血管形成是 DR 发展的重要标志,而 DR 的发展过程受众多调控因子和调控通路的影响^[11],其中 VEGF 则被认为是重要的促血管生成因子,可直接诱导眼内新生血管形成,破坏血-视网膜屏障,增加视网膜血管的通透性^[12]、毛细血管微血栓形成及闭塞,引起组织缺血缺氧,最终导致视网膜渗出、出血及黄斑水肿^[13]。本研究中观察低糖组、低糖+ApoA-I 组、高糖组和高糖+ApoA-I 组 hRVECs 中 VEGF 蛋白及其 mRNA 的表达变化,结果发现高糖组较低糖组细胞中 VEGF 表达量升高,而高糖+ApoA-I 组较高糖组细胞中 VEGF 表达量降低,说明高糖环境可上调 hRVECs 中 VEGF 的表达,增强细胞的增生、迁移和管腔形成能力,ApoA-I 则通过下调 VEGF 的表达来抑制细胞的上述能力。

ApoA-I 是视网膜内脂质逆转运的关键因子,具有较强的活性氧清除能力,能够防止脂质在视网膜中的堆积^[14-15]。研究表明在糖尿病患者视网膜中氧化应激和脂质过氧化过程增强^[16],ApoA-I 代偿性生成增加。有研究表明,ApoA-I 可以激活缺氧环境中冠状动脉内皮细胞 PI3K/Akt 信号通路,上调缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α),使 VEGF、VEGF 受体 2 和趋化因子 CXCL12 等血管新生关键因子的表达增加,进而增强血管内皮细胞的增生和迁移,促进新生血管的形成^[17-18]。然而,在炎症条件下,ApoA-I 则通过血管内皮细胞核转录因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路下调 HIF-1 α 、TNF- α 、VEGF、VEGFR2 及 CC 趋化因子配体 2 (CC chemokine ligand 2, CCL2) 等血管新生因子的表达,从而抑制炎症诱导的新生血管形成^[19-20]。可见 ApoA-I 在不同微环境中对血管内皮细胞发挥多重调控作用。结合本研究结果表明,ApoA-I 能够抑制高糖环境下 RVECs 中 VEGF 的表达,从而抑制 HRECs 的增生、迁移和管腔形成,对高糖环境中的 RVECs 发挥保护作用,为 DR 的预防和治疗提供新的思路。由于 DR 的发病机制较为复杂,本研究阐述了 ApoA-I 对体外高糖环境中

hRVECs 的影响,尚不能全面阐述 ApoA-I 在 DR 发病中的作用。此外,本研究仅比较了细胞中 VEGF 的表达,而 ApoA-I 影响 hRVECs 的具体机制应该是多重的,尚待进一步研究。

参考文献

- [1] 王云龙,卢想来,陈保生. 载脂蛋白 A-I 结构及其功能[J]. 生命的化学,2008,28(3):279-282. Wang YL, Lu SL, Chen BS. Struct and Funtion of ApoA-I [J]. Chem Life, 2008, 28(3): 279-282.
- [2] Davidson MH. Apolipoprotein measurements: is more widespread use clinically indicated? [J]. Clin Cardiol, 2009, 32(9): 482-486. DOI: 10.1002/clc.20559.
- [3] Al-Shabrawey M, Zhang W, McDonald D. Diabetic retinopathy: mechanism, diagnosis, prevention, and treatment [J/OL]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 854593 [2016-09-10]. https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/854593/. DOI: 10.1155/2015/854593.
- [4] Stefánsson E, Bek T, Porta M, et al. Screening and prevention of diabetic blindness [J]. Acta Ophthalmol Scand, 2000, 78(4): 374-385.
- [5] García-Ramírez M, Canals F, Hernández C, et al. Proteomic analysis of human vitreous fluid by fluorescence-based difference gel electrophoresis (DIGE): a new strategy for identifying potential candidates in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy [J]. Diabetologia, 2007, 50(6): 1294-1303. DOI: 10.1007/s00125-007-0627-y.
- [6] Kim SJ, Kim S, Park J, et al. Differential expression of vitreous proteins in proliferative diabetic retinopathy [J]. Curr Eye Res, 2006, 31(3): 231-240.
- [7] Li CM, Clark ME, Chimento MF, et al. Apolipoprotein localization in isolated drusen and retinal apolipoprotein gene expression [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47(7): 3119-3128.
- [8] Simó R, García-Ramírez M, Higuera M, et al. Apolipoprotein AI is overexpressed in the retina of diabetic patients [J]. Am J Ophthalmol, 2009, 147(2): 319-325. DOI: 10.1016/j.ajo.2008.08.009.
- [9] Aguilar E, Friedlander M, Gariano RF. Endothelial proliferation in diabetic retinal microaneurysms [J]. Arch Ophthalmol, 2003, 121(5): 740-741.
- [10] Olson JA, Whitelaw CM, McHardy KC, et al. Soluble leucocyte adhesion molecules in diabetic retinopathy stimulate retinal capillary endothelial cell migration [J]. Diabetologia, 1997, 40(10): 1166-1171.
- [11] Nentwich MM, Ulbig MW. Diabetic retinopathy-ocular complications of diabetes mellitus [J]. World J Diabetes, 2015, 6(3): 489-499. DOI: 10.4239/wjcd.v6.i3.489.
- [12] 宋鄂,董宇,郝倩,等. VEGF 与糖尿病视网膜病变早期关系 [J]. 中国实用眼科杂志, 2003, 21(7): 537-541. Song E, Dong Y, Hao Q, et al. The relationship between VEGF and diabetic retinopathy in earlier period [J]. Chin J Prac Ophthalmol, 2003, 21(7): 537-541.
- [13] Arevalo JF, Garcia-Amaris RA. Intravitreal bevacizumab for diabetic retinopathy [J]. Curr Diabetes Rev, 2009, 5(1): 39-46.
- [14] Mackness MI, Durrington PN. HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation [J]. Atherosclerosis, 1995, 115(2): 243-253.
- [15] Tserentsoodol N, Gordiyenko NV, Pascual I, et al. Intraretinal lipid transport is dependent on high density lipoprotein-like particles and class B scavenger receptors [J]. Mol Vis, 2006, 12: 1319-1333.
- [16] Girotti AW, Kriska T. Role of lipid hydroperoxides in photo-oxidative stress signaling [J]. Antioxid Redox Signal, 2004, 6(2): 301-310.
- [17] Tan JT, Prosser HC, Vanags LZ, et al. High-density lipoproteins augment hypoxia-induced angiogenesis via regulation of post-translational modulation of hypoxia-inducible factor 1 α [J]. FASEB J, 2014, 28(1): 206-217. DOI: 10.1096/fj.13-233874.
- [18] Seetharam D, Mineo C, Gormley AK, et al. High-density lipoprotein promotes endothelial cell migration and reendothelialization via scavenger receptor-B type I [J]. Circ Res, 2006, 98(1): 63-72.
- [19] Prosser HC, Tan JT, Dunn LL, et al. Multifunctional regulation of angiogenesis by high-density lipoproteins [J]. Cardiovasc Res, 2014, 101(1): 145-154. DOI: 10.1093/cvr/cvt234.
- [20] Kruger AL, Peterson S, Turkeven S, et al. D-4F induces heme oxygenase-1 and extracellular superoxide dismutase, decreases endothelial cell sloughing, and improves vascular reactivity in rat model of diabetes [J]. Circulation, 2005, 111(23): 3126-3134.

(收稿日期:2016-11-01)

(本文编辑:尹卫靖)