

二甲双胍对糖尿病视网膜病变的作用及机制

韩秀丹 朱凌燕 徐积冗

南昌大学第一附属医院内分泌科 330006

通信作者:朱凌燕,Email:zly982387@126.com;徐积冗,Email:xujixiong@163.com

【摘要】 二甲双胍是国内、外推荐治疗 2 型糖尿病的首选一线用药,其具有良好的单药/联合治疗的疗效和安全性证据,但对糖尿病视网膜病变的作用仍然不明确。而且,至今仍缺少直接的临床证据证明二甲双胍对糖尿病视网膜病变的作用,甚至有人提出严重非增殖性和增殖性糖尿病视网膜病变是二甲双胍使用的禁忌证。近年来研究发现,二甲双胍可能通过减少视网膜损伤、减少视网膜静脉阻塞、减少视网膜新生血管形成、减轻视网膜炎症反应以及改善胰岛素抵抗等机制,延缓糖尿病视网膜病变的发生、发展,这为临床及科研人员提供了新的思路。

【关键词】 二甲双胍;糖尿病视网膜病变

基金项目:国家自然科学基金(81860153);江西省自然科学基金(2016ZRMSB1355)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.01.013

Effects of metformin on diabetic retinopathy and its mechanism Han Xiudan, Zhu Lingyan, Xu Jixiong. Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330000, China

Corresponding author: Zhu Lingyan, Email:zly982387@126.com; Xu Jixiong, Email: xujixiong@163.com

【Abstract】 Metformin is the first-line drug recommended for the treatment of type 2 diabetes all over the world. It has good efficacy and safety evidence of single-agent/combination therapy, but the effect on diabetic retinopathy remains unclear. Moreover, there is still no direct clinical evidence to prove the effect of metformin on diabetic retinopathy. It has even been suggested that severe non-proliferative and proliferative diabetic retinopathy is a contraindication for the use of metformin. In recent years, studies showed that metformin could delay the occurrence and development of diabetic retinopathy by reducing retinal damage, reducing retinal vein occlusion, reducing retinal neovascularization, reducing retinal inflammatory response, and improving insulin resistance, thus may provide new ideas for clinical and scientific researchers.

【Key words】 Metformin; Diabetic Retinopathy

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81860153); Natural Science Foundation of Jiangxi Province of China(2016ZRMSB1355)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4157.2019.01.013

糖尿病视网膜病变(DR)是主要的糖尿病微血管病变之一,是一种具有特异性改变的眼底病变,其发病率高、后果较为严重,已成为成年人失明的首要原因。因此,有效地防治 DR 至关重要。二甲双胍属于第二代双胍类药物,主要作用机制是改善肝脏和外周胰岛素抵抗。一项英国的前瞻性研究结果显示,二甲双胍可以延缓 2 型糖尿病患者微血管疾病的进展,并可降低糖尿病相关终点(糖尿病相关死亡率和全因死亡率)的风险^[1]。2018 年的一项回顾性研究结果也表明,长期使用二甲双胍与 2 型糖尿病患者(≥15 岁)严重的非增殖性 DR 或增殖性 DR

的风险降低具有显著的独立相关性^[2]。然而,目前仍缺少有力的临床研究特别是随机对照试验临床证据证明二甲双胍对 DR 的作用,而且二甲双胍对 DR 的作用机制仍然不明确,因此有必要系统地阐述二甲双胍对 DR 的可能机制,以便以后能更好的探索二甲双胍对 DR 患者的临床作用。

1 二甲双胍可能减少视网膜损伤和视网膜静脉阻塞

研究显示,与其他口服降糖药物相比,二甲双胍对 DR 具有保护作用,能够减少 DR 和青光眼的发生率^[3]。动物研究结果显示,二甲双胍可以减少糖

尿病小鼠的视网膜损伤,其可能的机制是二甲双胍可以抑制 O-连接的 β -N-乙酰葡萄糖胺修饰,从而减轻视网膜损伤,还可以降低视网膜中 O-连接的 β -N-乙酰葡萄糖胺转移酶和相关蛋白水平,抑制视网膜中 O-连接的 β -N-乙酰葡萄糖胺转移酶与相关蛋白的相互作用,进而减轻视网膜损伤的程度^[4]。该研究结果提示,抑制 O-连接的 β -N-乙酰葡萄糖胺转移酶,可能是二甲双胍降低视网膜细胞死亡的机制之一。中国台湾的研究显示,二甲双胍能够降低糖尿病患者视网膜静脉阻塞的发生率。该研究分析认为,抗血小板聚集和改善氧化应激,可能是二甲双胍介导的视网膜静脉阻塞风险降低的潜在机制^[5]。有研究报道,二甲双胍具有抑制血小板聚集和活化的有利作用,与其降血糖作用无关^[6]。还有研究表明,二甲双胍不仅可以抑制血小板活化,还可以改善氧化应激,保护抗氧化功能和内皮细胞,降低糖尿病患者的平均血小板体积^[7-8]。因此,二甲双胍可能通过降低视网膜静脉阻塞,延缓 DR 的发生、发展。

2 二甲双胍可能减少视网膜新生血管形成

DR 的关键特征包括血管渗漏、血管生成^[9]。而且,DR 患者视力丧失的主要原因是糖尿病性黄斑水肿和糖尿病性玻璃体出血,玻璃体出血也起源于缺血区附近的新血管生成。二甲双胍可能通过抑制血管内皮生长因子(VEGF)信号转导来减少视网膜新生血管。VEGF 信号转导是调节 DR 相关新血管形成的关键参与者,该信号转导途径的激活起始于 VEGF-A 与受体 VEGF 受体 2 (VEGFR2) 的结合,VEGF-A 与 VEGFR2 的结合介导 VEGF-A 的大部分生物学作用。VEGF-A 已被认为在 DR 的发病机制中发挥重要作用^[10]。Joe 等^[11]发现,二甲双胍可通过影响 VEGF 下游信号转导,减少视网膜血管内皮细胞(RVECs)增殖和迁移,以达到抗血管生成的作用。Yi 等^[12]研究则显示,二甲双胍虽然没有改变眼内总 VEGF-A 水平,但降低了 VEGFR2 的磷酸化,而且可诱导 VEGF-A mRNA 剪接,剪接后 VEGF-A 基因可以产生 3 种蛋白质: VEGF120、VEGF164 和 VEGF188,通过 mRNA 剪接,VEGF120 水平显著升高,总 VEGF-A 的功能降低,从而抑制了血管 VEGF 信号转导。还有研究结果显示,二甲双胍对 VEGF-A mRNA 表达没有影响,而是通过诱导 VEGF-A 靶向微小 RNA (microRNA-497a-5p) 来抑制 VEGF-A 蛋白翻译,从而降低其蛋白水平,减少视网膜新生血管形成,抑制 DR 的发展^[13]。Oubaha 等^[14]研究则发现,

二甲双胍也可能通过抑制细胞衰老相关的分泌表型(SASP)及其相关因子的释放,降低视网膜内破坏性新生血管的形成。在缺血性视网膜病的小鼠模型中,SASP 诱导衰老,玻璃体中的 SASP 相关细胞因子(纤溶酶原激活物抑制因子 1、白细胞介素-6、白细胞介素-8 和 VEGF)分泌增加,SASP 及其相关因子有助于病理性血管生长,加剧破坏性血管生成并阻碍修复性血管再生,而向玻璃体注射二甲双胍,可以抑制小鼠 SASP 及其相关因子的释放,进而降低视网膜内破坏性新生血管的形成,从而缓解 DR 的发展。

3 二甲双胍可能调节炎性细胞因子、抑制视网膜炎症反应以及改善胰岛素抵抗(IR)

近年来,炎症反应在糖尿病及其并发症中的作用备受关注^[15-17]。黏附于视网膜脉管系统内皮细胞并随后释放炎性分子的白细胞,是 DR 早期阶段破坏视网膜屏障的关键因素^[18]。视网膜炎症反应参与 DR 的发生、发展,炎症反应作用的靶细胞为 RVECs。Han 等^[19]研究表明,二甲双胍直接抑制 RVECs 的血管生成,同时阻止 RVECs 中多种炎性细胞因子的上调。二甲双胍主要通过降低 RVECs 中的 4 种转录因子核因子- κ B p65、细胞间黏附分子-1、1-甲基环丙烯和白细胞介素-8 的水平,减少糖尿病小鼠中的视网膜白细胞黏附,抑制视网膜炎症反应。2016 年视觉与眼科研究协会年会中也报道,二甲双胍可能通过减少玻璃体和 RVECs 中与糖尿病相关的炎性分子,如玻璃体晚期糖基化终产物含量等对 DR 起到保护作用,而且二甲双胍减少了视网膜白细胞的停滞^[20-22]。还有研究表明,AMP 活化蛋白激酶(AMPK)的激活是二甲双胍抗炎作用的关键机制^[23-24]。二甲双胍通过作用于 AMPK 途径以改善外周组织对胰岛素的敏感性,从而减轻 IR^[25-26]。Lee 等^[25]进一步分析认为,二甲双胍可能是通过 AMPK 途径,下调磷酸酶和张力蛋白同系物(PTEN),PTEN 下调可能增加细胞对胰岛素的反应,进而减轻 IR。Wu 等^[27]研究则表明,二甲双胍可能通过激活 AMPK 和下调固醇调节元件结合蛋白-1c(SREBP-1c)的表达,改善胰岛素受体底物-1 相关的胰岛素信号转导,从而改善 IR。DR 与 IR 密切相关^[28-29]。近年来,一项中国研究数据表明,IR 增加与 DR 显著相关^[30]。另外一项横断面研究结果也显示,慢性糖尿病并发症(包括 DR)患者的 IR 程度高于无并发症的患者,而且 IR 与 DR 存在独立相

关性^[31]。Forst等^[32]则发现,IR的发展可能是视网膜血流量降低的原因之一。可见,二甲双胍可通过调节RVECs中多种炎性细胞因子,降低白细胞黏附,还可通过AMPK途径改善IR,从而抑制视网膜炎性反应,进而缓解DR的发展。

综上所述,二甲双胍可能通过减少视网膜损伤、减少视网膜静脉阻塞、减少视网膜新生血管形成、减轻视网膜炎性反应以及改善IR等机制,直接或间接地减少DR的发生与发展,同时可以通过降低血糖水平,间接延缓DR的发生与发展。但是,至今仍缺少二甲双胍对DR的直接证据,尤其是随机对照研究的临床证据,因而有待于进一步研究验证二甲双胍对DR的作用及机制。

参 考 文 献

- [1] UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group[J]. Lancet,1998,352(9131):854-865.
- [2] Li Y, Ryu C, Munie M, et al. Association of metformin treatment with reduced severity of diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients[J]. J Diabetes Res,2018,2018:2801450. DOI:10.1155/2018/2801450.
- [3] Maleškić S, Kusturica J, Gušić E, et al. Metformin use associated with protective effects for ocular complications in patients with type 2 diabetes-observational study[J]. Acta Med Acad,2017,46(2):116-123. DOI:10.5644/ama2006-124.196.
- [4] Kim YS, Kim M, Choi MY, et al. Metformin protects against retinal cell death in diabetic mice [J]. Biochem Biophys Res Commun,2017,492(3):397-403. DOI:10.1016/j.bbrc.2017.08.087.
- [5] Lin TC, Hwang DK, Hsu CC, et al. Protective effect of metformin against retinal vein occlusions in diabetes mellitus-a nationwide population-based study[J]. PLoS One,2017,12(11):e0188136. DOI:10.1371/journal.pone.0188136.
- [6] Cheng YY, Leu HB, Chen TJ, et al. Metformin-inclusive therapy reduces the risk of stroke in patients with diabetes: a 4-year follow-up study[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis,2014,23(2):e99-e105. DOI:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2013.09.001.
- [7] Formoso G, De Filippis EA, Michetti N, et al. Decreased *in vivo* oxidative stress and decreased platelet activation following metformin treatment in newly diagnosed type 2 diabetic subjects[J]. Diabetes Metab Res Rev,2008,24(3):231-237. DOI:10.1002/dmrr.794.
- [8] Dolask I, Sener SY, Celebi K, et al. The effect of metformin on mean platelet volume in diabetic patients[J]. Platelets,2013,24(2):118-121. DOI:10.3109/09537104.2012.674165.
- [9] Zhang X, Wang N, Schachat AP, et al. Glucocorticoids: structure, signaling and molecular mechanisms in the treatment of diabetic retinopathy and diabetic macular edema [J]. Curr Mol Med,2014,14(3):376-384.
- [10] Lu Y, Ge Y, Shi Y, et al. Two polymorphisms (rs699947, rs2010963) in the VEGFA gene and diabetic retinopathy: an updated meta-analysis[J]. BMC Ophthalmol,2013,13:56. DOI:10.1186/1471-2415-13-56.
- [11] Joe SG, Yoon YH, Choi JA, et al. Anti-angiogenic effect of metformin in mouse oxygen-induced retinopathy is mediated by reducing levels of the vascular endothelial growth factor receptor Flk-1[J]. PLoS One,2015,10(3):e0119708. DOI:10.1371/journal.pone.0119708.
- [12] Yi QY, Deng G, Chen N, et al. Metformin inhibits development of diabetic retinopathy through inducing alternative splicing of VEGF-A[J]. Am J Transl Res,2016,8(9):3947-3954.
- [13] Zhang Y, Chen F, Wang L. Metformin inhibits development of diabetic retinopathy through microRNA-497a-5p[J]. Am J Transl Res,2017,9(12):5558-5566.
- [14] Oubaha M, Miloudi K, Dejda A, et al. Senescence-associated secretory phenotype contributes to pathological angiogenesis in retinopathy[J]. Sci Transl Med,2016,8(362):362ra144. DOI:10.1126/scitranslmed.aaf9440.
- [15] Altmann C, Schmidt MHH. The role of microglia in diabetic retinopathy: inflammation, microvasculature defects and neurodegeneration[J]. Int J Mol Sci,2018,19(1):pii:E110. DOI:10.3390/ijms19010110.
- [16] Chen H, Zhang X, Liao N, et al. Enhanced expression of NLRP3 inflammasome-related inflammation in diabetic retinopathy[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2018,59(2):978-985. DOI:10.1167/iovs.17-22816.
- [17] Dehdashtian E, Mehrzadi S, Yousefi B, et al. Diabetic retinopathy pathogenesis and the ameliorating effects of melatonin; involvement of autophagy, inflammation and oxidative stress[J]. Life Sci,2018,193:20-33. DOI:10.1016/j.lfs.2017.12.001.
- [18] Kern TS. Contributions of inflammatory processes to the development of the early stages of diabetic retinopathy[J]. Exp Diabetes Res,2007,2007:95103. DOI:10.1155/2007/95103.
- [19] Han J, Li Y, Liu X, et al. Metformin suppresses retinal angiogenesis and inflammation *in vitro* and *in vivo*[J]. PLoS One,2018,13(3):e0193031. DOI:10.1371/journal.pone.0193031.
- [20] Jun JH, Joo CK. MicroRNA-124 controls transforming growth factor β 1-induced epithelial-mesenchymal transition in the retinal pigment epithelium by targeting RHOG [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2016,57(1):12-22. DOI:10.1167/iovs.15-17111.
- [21] Li Y, Gappy S, Liu X, et al. Metformin reduces diabetes-related inflammatory molecules in human vitreous and retinal vascular endothelial cells[C]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2016,57(12).
- [22] Lamy R, Kudisch M, Hemarat K, et al. The effect of oral metformin on vitreous advanced glycation end-product content in patients with proliferative diabetic retinopathy[C]. Invest Ophthalmol Vis Sci,2016,57(12).
- [23] Huang NL, Chiang SH, Hsueh CH, et al. Metformin inhibits TNF-alpha-induced I κ B kinase phosphorylation, I κ B-alpha degradation and IL-6 production in endothelial cells through

- PI3K-dependent AMPK phosphorylation[J]. Int J Cardiol, 2009, 134(2): 169-175. DOI: 10.1016/j.ijcard.2008.04.010.
- [24] Yue W, Yang CS, DiPaola RS, et al. Repurposing of metformin and aspirin by targeting AMPK-mTOR and inflammation for pancreatic cancer prevention and treatment [J]. Cancer Prev Res (Phila), 2014, 7(4): 388-397. DOI: 10.1158/1940-6207.CA-PR-13-0337.
- [25] Lee SK, Lee JO, Kim JH, et al. Metformin sensitizes insulin signaling through AMPK-mediated PTEN down-regulation in preadipocyte 3T3-L1 cells [J]. J Cell Biochem, 2011, 112(5): 1259-1267. DOI: 10.1002/jcb.23000.
- [26] Qiu J, Wang YM, Shi CM, et al. NYGGF4 (PID1) effects on insulin resistance are reversed by metformin in 3T3-L1 adipocytes [J]. J Bioenerg Biomembr, 2012, 44(6): 665-671. DOI: 10.1007/s10863-012-9472-x.
- [27] Wu W, Tang S, Shi J, et al. Metformin attenuates palmitic acid-induced insulin resistance in L6 cells through the AMP-activated protein kinase/sterol regulatory element-binding protein-1c pathway [J]. Int J Mol Med, 2015, 35(6): 1734-1740. DOI: 10.3892/ijmm.2015.2187.
- [28] Järger P, Dietrich A, Herling AW, et al. The role of insulin resistance in experimental diabetic retinopathy-genetic and molecular aspects [J]. PLoS One, 2017, 12(6): e0178658. DOI: 10.1371/journal.pone.0178658.
- [29] Rowe CW, Haider AS, Viswanathan D, et al. Insulin resistance correlates with maculopathy and severity of retinopathy in young adults with type 1 diabetes mellitus [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2017, 131: 154-160. DOI: 10.1016/j.diabres.2017.06.022.
- [30] Li YY, Yang XF, Gu H, et al. The relationship between insulin resistance/ β -cell dysfunction and diabetic retinopathy in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus: the desheng diabetic eye study [J]. Int J Ophthalmol, 2018, 11(3): 493-500. DOI: 10.18240/ijo.2018.03.21.
- [31] Pop A, Clenciu D, Anghel M, et al. Insulin resistance is associated with all chronic complications in type 1 diabetes [J]. J Diabetes, 2016, 8(2): 220-228. DOI: 10.1111/1753-0407.12283.
- [32] Forst T, Weber MM, Mitry M, et al. Pilot study for the evaluation of morphological and functional changes in retinal blood flow in patients with insulin resistance and/or type 2 diabetes mellitus [J]. J Diabetes Sci Technol, 2012, 6(1): 163-168. DOI: 10.1177/193229681200600120.

(收稿日期:2018-05-11)

(本文编辑:饶颖)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《国际内分泌代谢杂志》对运用统计学方法的有关要求

1. 统计学符号:按 GB/T 3558.1-2009《统计学词汇及符号》的有关规定,统计学符号一律采用斜体。

2. 研究设计:应告知研究设计的名称和主要方法。如调查设计(分为前瞻性、回顾性还是横断面调查研究),实验设计(应告知具体的设计类型,如自身配对设计、成组设计、交叉设计、析因设计、正交设计等),临床试验设计(应告知属于第几期临床试验,采用了何种盲法措施等);主要做法应围绕 4 个基本原则(重复、随机、对照、均衡)概要说明,尤其要告知如何控制重要非试验因素的干扰和影响。

3. 资料的表达与描述:用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料,用 $M(Q_R)$ 表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标符合数学原则;用相对数时,分母不宜小于 20,要注意区分百分率与百分比。

4. 统计学分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选择合适的统计学分析方法,不应盲目套用 t 检验和单因素方差分析;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的,选用合适的统计学分析方法,不应盲目套用 χ^2 检验。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型,不应盲目套用简单直线回归分析;对具有重复实验数据检验回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。

5. 统计结果的解释和表达:应写明所用统计学方法的具体名称(如:成组设计资料的 t 检验、两因素析因设计资料的方差分析、多个均数之间两两比较的 q 检验等),统计量的具体值(如 $t = 3.45$, $\chi^2 = 4.68$, $F = 6.79$ 等);在用不等式表示 P 值的情况下,一般情况下选用 $P > 0.05$ 、 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 三种表达方式,无须再细分为 $P < 0.001$ 或 $P < 0.0001$ 。当涉及总体参数(如总体均数、总体率等)时,在给出显著性检验结果的同时,应再给出 95% 可信区间。