

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.04.010

❖ 临床研究 ❖

血清 RBP4、 β 2-MG、VEGF 水平对 2 型糖尿病视网膜病变的预测价值研究

谷沛,米高琴,孟海燕,李佳伟,陈慧雅

(国药同煤总医院内分泌科,山西大同 037000)

【摘要】目的:探讨血清视黄醇结合蛋白 4(RBP4)、 β 2 微球蛋白(β 2-MG)、血管内皮生长因子(VEGF)水平对糖尿病视网膜病变的预测价值。**方法:**根据视网膜病变情况,将 120 例 2 型糖尿病患者分为糖尿病合并视网膜病变组(DR 组, $n=51$)和未合并视网膜病变组(NDR 组, $n=69$)。根据 DR 分期,将 DR 组患者分为增殖性病变(PDR 组, $n=26$)和非增殖性病变组(BDR 组, $n=25$)两个亚组。酶联免疫吸附法检测各组患者血清 RBP4、 β 2-MG 和 VEGF 表达水平,分析 RBP4、 β 2-MG 和 VEGF 在 2 型糖尿病并发 DR 诊断中的应用价值。**结果:**DR 组患者血清 RBP4、 β 2-MG 和 VEGF 水平均高于 NDR 组($P < 0.05$);血清 RBP4、 β 2-MG、VEGF 联合检测预测 DR 发生 ROC 曲线下面积为 0.918,均高于各项指标单独检测曲线下面积(RBP4:0.813; β 2-MG:0.767; VEGF:0.825),差异均有统计学意义($P < 0.05$)。PDR 组患者血清 RBP4、 β 2-MG、VEGF 水平高于 BDR 组($P < 0.05$);血清 RBP4、 β 2-MG、VEGF 联合检测鉴别评估 PDR 与 BDR 时 ROC 曲线下面积为 0.868,高于各项指标单独检测曲线下面积(RBP4:0.753; β 2-MG:0.670; VEGF:0.728),差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**血清 RBP4、 β 2-MG 和 VEGF 可作为 2 型糖尿病并发视网膜病变的发生发展诊断指标之一,RBP4、 β 2-MG 和 VEGF 联合预测效果优于单独检测。

【关键词】2 型糖尿病;糖尿病视网膜病变;视黄醇结合蛋白 4; β 2 微球蛋白;血管内皮生长因子;预测价值

【中图分类号】R774.1 **【文献标志码】**A

Predictive value of serum RBP4, β 2-MG and VEGF levels for type 2 diabetic retinopathy

GU Pei, MI Gao-qin, MENG Hai-yan, LI Jia-wei, CHEN Hui-ya

(Department of Endocrinology, Sinopharm Tongmei General Hospital, Datong 037000, Shanxi, China)

【Abstract】Objective: To explore the predictive value of serum retinol binding protein 4 (RBP4), β 2 microglobulin (β 2-MG) and vascular endothelial growth factor (VEGF) levels for diabetic retinopathy (DR). **Methods:** According to the severity of retinopathy, 120 patients with type 2 diabetes mellitus were divided into DR group (51 cases) and non-DR group (NDR group, 69 cases). According to DR staging, patients in DR group were divided into proliferative DR (PDR group, $n=26$) and non-proliferative DR group (BDR group, $n=25$). The expression levels of serum RBP4, β 2-MG and VEGF in each group were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and their application value in the diagnosis of type 2 diabetes mellitus complicated by DR was analyzed. **Results:** The levels of serum RBP4, β 2-MG and VEGF in DR group were significantly higher than those in NDR group ($P < 0.05$). The area under the ROC curve (AUC) of serum RBP4 combined with β 2-MG and VEGF for predicting DR was 0.918, which was significantly higher than that of them alone (RBP4:0.813, β 2-MG:0.767, VEGF:0.825), the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The levels of serum RBP4, β 2-MG and VEGF in PDR group were higher than those in BDR group ($P < 0.05$). AUC of serum RBP4 combined with β 2-MG and VEGF for distinguishing PDR from BDR was 0.868, which was higher than that of them alone (RBP4:0.753, β 2-MG:0.670, VEGF:0.728), the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** The serum RBP4, β 2-MG and VEGF can be applied as the diagnostic indexes for the occurrence and development of type 2 diabetes mellitus complicated by DR. And the predictive effect of their combination is better than that of them alone.

【Key words】 Type 2 diabetes mellitus; Diabetic retinopathy; Retinol binding protein 4; β 2 microglobulin; Vascular endothelial growth factor; Predictive value

随着世界经济飞速发展以及人民生活水平的提高,糖尿病发病率也大幅度上升。依照国际糖尿病

联盟数据调查^[1]显示,全世界成年人中,罹患糖尿病患者高达4.51亿,且预计到2045年将增加至6.93亿。同时,糖尿病引起的周围神经及血管病变发生率也出现明显升高,其中糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病最为严重的并发症之一^[2]。疾病的发生主要是因为糖尿病患者胰岛素代谢异常,导致视网膜微血管损害,从而引发典型慢性进行性疾病的发生。患者出现的主要病理性改变包括视网膜炎、血管渗透性增加、视网膜表面血管异常新生^[3]。视黄醇结合蛋白4(retinol binding protein 4, RBP4)主要由肝细胞及脂肪组织合成,释放入血液,进入各种组织,是将维生素A从肝脏转运到相应靶组织的运载蛋白,其功能包括视黄醇储存、转运、代谢等^[4]。 $\beta 2$ 微球蛋白($\beta 2$ microglobulin, $\beta 2$ -MG)是一种血清蛋白质,相关研究^[5]显示早期检测 $\beta 2$ -MG水平可及时发现肾小球功能异常。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是目前已知的细胞因子中最强内皮细胞有丝分裂原与血管生成诱导因子,与DR新生血管形成关系密切。本研究就2型糖尿病患者血清RBP4、 $\beta 2$ -MG、VEGF水平与DR发生的关系进行探讨,分析联合检测对于疾病的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取国药同煤总医院2018年4月至2020年6月收治的120例2型糖尿病患者。其中,男性67例,女性53例;年龄48~79岁,平均(64.53±6.02)岁;糖尿病病程4~17年,平均(10.51±1.24)年;糖尿病家族史:有36例,无84例。根据视网膜病变情况,将所有患者分为糖尿病合并视网膜病变组(DR组, $n=51$)和未合并视网膜病变组(NDR组, $n=69$);此外,将DR组患者按照DR分期标准分为增殖性病变(PDR组, $n=26$)和非增殖性病变组(BDR组, $n=25$)两个亚组。DR诊断标准,根据中华医学会眼科学会眼底病学组制定的DR诊断标准^[6],符合下列下任意一点即可诊断:(1)早期散瞳眼底镜显示视网膜后极部片状出血,部分可见白色至黄白色渗出液体,患者视力减弱明显;(2)眼底造影发现视网膜病变;(3)眼底荧光血管造影显示微血管瘤增多,视网膜周围出现毛细血管扩张,通透性增强情况明显。DR分期标准,参照全国眼底病学学术会议制定的分期标准^[7]: I期:出现微血管瘤或存在小的出血点; II期:出现硬性渗出情况或者存在出血斑; III期:出现棉絮状软性渗出或存在出血斑;

IV期:眼底新生血管形成或存在玻璃体出血情况; V期:眼底纤维增殖与新生血管形成; VI期:牵拉性视网膜脱落甚至失明。将I-III期归为BDR, IV-VI期归为PDR。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准:(1)符合世界卫生组织2型糖尿病诊断标准^[8];(2)年龄 ≥ 18 岁;(3)入院前无眼外伤或手术史;(4)经医院伦理委员会批准通过,患者及家属知情同意。排除标准:(1)外伤或其他原因造成的视力障碍;(2)I型糖尿病、妊娠糖尿病及其它特殊类型糖尿病类型;(3)合并严重糖尿病急性并发症,如糖尿病高渗昏迷、糖尿病酮症等;(4)合并白内障、青光眼、角膜新生血管等眼部疾病;(5)合并严重的代谢综合征;(6)合并严重呼吸、循环、肝肾功能不全;(7)合并恶性肿瘤。

1.3 标本采集及检测

所有患者于住院第2天清晨采取空腹静脉血3 mL,真空采血管抗凝,常温下3 500 rpm离心处理10 min,分离血清,RBP4、 $\beta 2$ -MG、VEGF含量检测采用酶联免疫吸附法,检测仪器为美国贝克曼AU5800型全自动生化分析仪。按标准品稀释、加样、温育、配液、洗涤、加酶、温育、洗涤、显色、终止步骤进行样品处理,在450 nm波长下测量吸光度,以标准物的浓度为横坐标,OD值为纵坐标,在坐标纸上绘出标准曲线,根据样品的OD值由标准曲线查出相应的浓度。

1.4 统计学分析

采用SPSS 22.0统计学软件。计量资料以($\bar{x} \pm s$)描述,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料采用 $[n(\%)]$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验;绘制受试者工作曲线(ROC),计算曲线下面积(AUC),以确定RBP4、 $\beta 2$ -MG、VEGF水平对疾病的预测价值,AUC >0.7 表示诊断价值较好。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组患者一般资料比较

DR组糖尿病病程长于NDR组,糖尿病家族史、高血压病史比例高于NDR组($P < 0.05$);DR组与NDR组患者的性别、年龄、吸烟史、高脂血症史比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);PDR组糖尿病病程长于BDR组,糖尿病家族史比例高于BDR组($P < 0.05$);PDR组与BDR组性别、年龄、吸烟史、高血压病史、高脂血症史比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表 1 各组患者一般资料比较 [$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

组别	性别(例)		年龄(岁)	糖尿病病程(年)	吸烟史(例)		糖尿病家族史(例)		高血压病史(例)		高血脂病史(例)	
	男	女			有	无	有	无	有	无	有	无
NDR组($n=69$)	37(53.62)	32(46.38)	63.82 \pm 6.01	8.02 \pm 1.05	19(27.54)	50(72.46)	15(21.74)	54(78.26)	20(28.99)	49(71.01)	11(15.94)	58(84.06)
DR组($n=51$)	30(58.82)	21(41.18)	65.49 \pm 6.23	13.88 \pm 1.36	15(29.41)	36(70.59)	21(41.18)	30(58.82)	26(50.98)	25(49.02)	10(19.61)	41(80.39)
t/χ^2 值	0.322		1.482	26.639	0.051		5.276		6.001		0.273	
P 值	0.571		0.141	<0.001	0.822		0.022		0.014		0.601	
PDR组($n=26$)	16(61.54)	10(38.46)	66.02 \pm 5.97	14.59 \pm 1.02	7(26.92)	19(73.08)	15(57.69)	11(42.31)	13(50.00)	13(50.00)	6(23.08)	20(76.92)
BDR组($n=25$)	14(56.00)	11(44.00)	64.93 \pm 6.40	13.14 \pm 1.16	8(32.00)	17(68.00)	6(24.00)	19(76.00)	13(52.00)	12(48.00)	4(16.00)	21(84.00)
t/χ^2 值	0.161		0.629	4.746	0.158		5.973		0.020		0.405	
P 值	0.688		0.532	<0.001	0.691		0.015		0.886		0.525	

2.2 DR组与NDR组血清RBP4、 β 2-MG、VEGF水平比较

DR组患者血清RBP4、 β 2-MG、VEGF水平高于NDR组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表 2 DR组与NDR组血清RBP4、 β 2-MG、VEGF水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

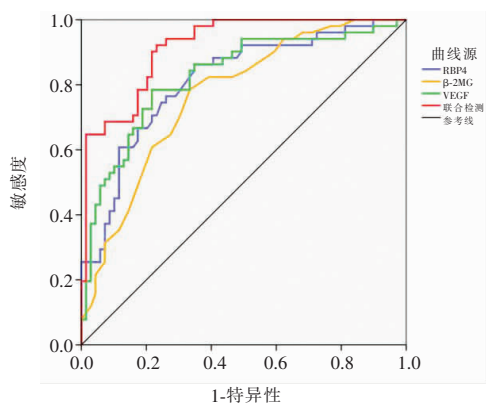
组别	RBP4(mg/L)	β 2-MG(mg/L)	VEGF(ng/L)
DR组($n=51$)	56.93 \pm 5.73	2.42 \pm 0.39	151.64 \pm 20.66
NDR组($n=69$)	49.71 \pm 4.72	1.73 \pm 0.28	87.39 \pm 13.92
t 值	7.559	11.285	20.343
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 血清RBP4、 β 2-MG、VEGF在患者是否合并DR中的评估价值

血清RBP4、 β 2-MG、VEGF联合预测DR发生ROC曲线下面积为0.918,高于各项指标单独检测曲线下面积0.813、0.767、0.825,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表3及图1。

2.4 PDR组与BDR组血清RBP4、 β 2-MG、VEGF水平比较

PDR组患者血清RBP4、 β 2-MG水平高于BDR组,VEGF水平低于BDR组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表4。

图 1 血清RBP4、 β 2-MG、VEGF在DR发生中的评估效能分析表 3 血清RBP4、 β 2-MG、VEGF在糖尿病患者是否合并DR中的评估价值

时间	临界值	AUC	95% CI	P 值	敏感度(%)	特异度(%)
RBP4	53.20 mg/L	0.813	0.735~0.891	<0.001	86.30	65.20
β 2-MG	2.01 mg/L	0.767	0.683~0.851	<0.001	78.40	66.70
VEGF	116.10 ng/L	0.825	0.748~0.903	<0.001	78.40	78.30
联合检测	-	0.918	0.871~0.964	<0.001	92.20	76.80

表 4 PDR组与BDR组血清RBP4、 β 2-MG、VEGF水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	RBP4(mg/L)	β 2-MG(mg/L)	VEGF(ng/L)
PDR组($n=26$)	61.25 \pm 8.80	2.71 \pm 0.39	132.83 \pm 14.75
BDR组($n=25$)	52.23 \pm 7.53	2.12 \pm 0.35	171.20 \pm 19.83
t 值	3.926	5.678	7.862
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

2.5 血清RBP4、 β 2-MG、VEGF在PDR与BDR中的鉴别评估价值

血清RBP4、 β 2-MG、VEGF联合预测评估PDR与BDR时ROC曲线下面积为0.868,高于各项指标单独检测曲线下面积0.753、0.670、0.728,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图2及表5。

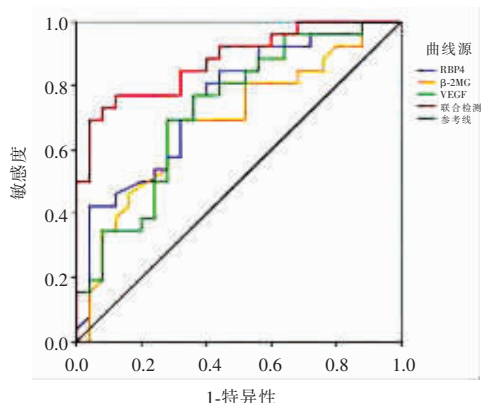
图 2 血清RBP4、 β 2-MG、VEGF在PDR与BDR中的鉴别效能分析

表 5 血清 RBP4、 β 2-MG、VEGF 在 PDR 与 BDR 中的鉴别评估价值

时间	临界值	AUC	95% CI	P 值	敏感度 (%)	特异度 (%)
RBP4	56.40 mg/L	0.753	0.620 ~ 0.887	0.002	76.90	64.00
β 2-MG	2.49 mg/L	0.670	0.513 ~ 0.807	0.030	68.20	71.00
VEGF	151.02 ng/L	0.728	0.588 ~ 0.867	0.005	77.90	67.00
联合检测		0.868	0.786 ~ 0.971	<0.001	76.90	88.00

3 讨论

视网膜血液供应通过微血管来实现,血管易受到不受控制的血糖水平的干扰。当大量葡萄糖或果糖聚集在血液中时,视网膜血管会逐渐发生病变,血管堵塞可能导致严重眼部损伤的发生,由于氧气在细胞中分布不充分,代谢率减慢,导致血管结构异常,引起 DR 发生^[9]。

RBP4 属于分泌型 RBP,主要由肝细胞和脂肪组织合成释放入血。Fickweiler 等^[10]研究认为,RBP4 可能以非依赖视黄醇途径在 2 型糖尿病患者 DR 发生过程中发挥重要作用。本研究显示,DR 组患者血清 RBP4 水平高于 NDR 组,与上述研究结果一致。进一步分析 RBP4 对于糖尿病患者是否合并 DR 的评估价值,ROC 曲线下面积为 0.813,具有较高的预测价值,可用于临床糖尿病患者 DR 发生的评估。RBP4 除具有传统视黄醇运载功能外,其作为胰岛素抵抗的脂肪细胞因子还可以多种复杂形式存在,具广泛信号分子功能,这可能涉及到多元醇代谢、氧化应激、非酶糖化等,参与 DR 疾病的发生。本研究显示,PDR 组患者血清 RBP4 水平高于 BDR 组,程度较高的 DR 患者往往伴有更为严重的肾小球滤过能力下降情况,因此其在血液中 RBP4 的蓄积浓度也随之升高^[11]。分析 RBP4 对于 DR 的发生及对于 PDR 与 BDR 的鉴别 ROC 曲线下面积分别为 0.813、0.753,其水平异常与 DN 的发生与发展关系密切,有助于评估患者视网膜病变。RBP4 可直接损伤患者视网膜毛细血管,促进新生血管形成,从而导致 DR 的发生与发展。

β 2-MG 广泛存在于人体血浆、尿液、唾液、初乳等中,正常情况下 B2-MG 的生成、释放、分解处于动态平衡, β 2-MG 检测有利于肾小球滤过功能异常的早期诊断。罗向霞等^[12]的研究中,将糖尿病患者根据其是否伴有视网膜病变分为 DR 与 NDR 组,发现血清 β 2-MG 是 DR 发生的独立危险因素。本研究中 DR 组患者血清 β 2-MG 水平高于 NDR 组,与上述研究结果一致。进一步分析血清 β 2-MG 对于 DR 发生诊断 ROC 曲线下面积达到 0.767,大于 0.7,说

明 β 2-MG 水平可及时反映糖尿病所致视网膜损害的发生,可作为 DR 发生的预测指标。周莉等^[13]研究发现,糖尿病视网膜病变 III 期患者的尿 β 2-MG 水平高于 II 期,但其余各期间比较无明显差异。本研究未对各个具体分期间的 DR 患者血 β 2-MG 水平进行对比分析,仅依照患者分期结果将患者分为 PDR 组与 BDR 组。结果显示,PDR 组患者血清 β 2-MG 高于 BDR 组,不同于上述研究结果;但本研究中 β 2-MG 对于 PDR 与 BDR 鉴别 ROC 曲线下面积仅为 0.670,相对来说预测价值较差,分析可能原因本研究采用的是血清样本,后续研究过程中可进一步对患者尿 β 2-MG 标本进行检测,分析其预测评估价值。

VEGF 是目前已知最强的内皮细胞选择性促有丝分裂肽和血管生成因子。正常情况下,视网膜内皮细胞、视网膜色素上皮细胞等均存在低水平 VEGF 表达,在眼部血管稳定性维持及正常发育中具有关键性作用。Gong 等^[14]研究表明,在糖尿病早期 VEGF 即可导致血-视网膜屏障破坏,本研究中 DR 组患者血清 VEGF 水平高于 NDR 组患者,与上述研究结果一致^[15]。进一步分析 VEGF 对于糖尿病患者是否合并 DR 的评估价值,结果显示 ROC 曲线下面积达到 0.825,具有较高的诊断效能,VEGF 对血管内皮细胞的生长刺激和趋化作用,使得内皮细胞中 Glu T-1 葡萄糖运输增加,细胞中葡萄糖含量增高,经激活多元醇代谢、蛋白激酶 C 等机制诱发包括 DR 在内的糖尿病微血管并发症发生。本研究显示,PDR 组 VEGF 含量较 BDR 组下降,但仍略高于 NDR 组,与国内外大多数研究结果一致。分析可能原因,BDR 期时患者机体由于高血糖及代谢紊乱状态,促使其微血管基底膜增厚,组织广泛缺氧,VEGF 分泌增多,而进展到 PDR 期后,VEGF 的分泌导致大量新生血管形成,缺氧压力减轻,VEGF 的生成也随之减少。VEGF 对于 BDR 期与 PDR 期的评估 ROC 曲线下面积为 0.753,说明血清中 VEGF 水平与糖尿病患者新生血管活动期密切相关,可作为 DR 发生与进展的评估指标。此外,本研究发现三项血清指标联合检测判断糖尿病患者 DR 的发生 ROC 曲线下面积达到 0.918,诊断效能高于各项指标单独检测,三项指标联合进一步提高疾病诊断效能;血清 RBP4、 β 2-MG、VEGF 联合检测鉴别 PDR 与 BDR 时 ROC 曲线下面积为 0.868,高于单独检测,进一步说明了三种血清指标联合检测在 DR 疾病严重程度评估中的应用价值,三项指标的联合有效弥补了单项血清指标检测的不足,可为预测视网膜病变的发生与发展提供参考依据。

综上所述,2 型糖尿病并发 DR 患者血清 RBP4、 β 2-MG、VEGF 水平升高,且随着疾病的进展,RBP4、 β 2-MG 水平继续升高,而 VEGF 水平降低,三项指标联合筛查对疾病的发生与发展预测效果优于单独检测,可为视网膜病变发生发展评估提供参考依据。

参考文献

- [1] Jonathan K, Varun G, Ehsan R, *et al.* Grader Variability and the Importance of Reference Standards for Evaluating Machine Learning Models for Diabetic Retinopathy [J]. *Ophthalmology*, 2018, 125(8):1264 - 1272.
- [2] Graham-Rowe E, Lorencatto F, Lawrenson JG, *et al.* Barriers to and enablers of diabetic retinopathy screening attendance: a systematic review of published and grey literature [J]. *Diabetic Medicine*, 2018, 36(9):110 - 114.
- [3] Rajalakshmi R, Subashini R, Anjana RM, *et al.* Automated diabetic retinopathy detection in smartphone-based fundus photography using artificial intelligence [J]. *Eye*, 2018, 32(6):1138 - 1144.
- [4] Han W, Wei H, Kong W, *et al.* Association between retinol binding protein 4 and diabetic retinopathy among type 2 diabetic patients: a meta-analysis [J]. *Acta Diabetologica*, 2020, 57(10):1203 - 1218.
- [5] 崔学彬, 邹婷, 唐小铁, 等. 前列地尔联合胰激肽原酶治疗早期糖尿病肾病疗效及对内脂素、脂联素与 β 2-微球蛋白的影响 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2018, 27(4):384 - 387.
- [6] 中华医学会眼科学会眼底病学组. 我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南(2014 年) [J]. *中华眼科杂志*, 2014, 50(11):851 - 865.
- [7] 葛均波, 徐永健. 内科学 [M]. 第 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013:741.
- [8] Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation [J]. *Diabetic medicine: a journal of the British Diabetic Association*, 1998, 15(7):539.
- [9] Krause J, Gulshan V, Rahimy E, *et al.* Grader variability and the importance of reference standards for evaluating machine learning models for diabetic retinopathy [J]. *Ophthalmology*, 2018, 125(8):1264 - 1272.
- [10] Fickweiler W, Park K, Wolfson E, *et al.* 327-OR: Association of Retinol Binding Protein 3 with Retinal Neural Structure and Clinical Parameters in Diabetic Retinopathy [J]. *Diabetes*, 2020, 69(1):327 - 330.
- [11] Zhou J, Huang N, Cheng Y, *et al.* Retinol-binding protein 4 is positively associated with bone mineral density in osteopenia and osteoporosis type 2 diabetic patients [J]. *Clinical Endocrinology*, 2018, 88(5):659 - 664.
- [12] 罗向霞, 康莉, 王晗, 等. 血清 CysC、 β 2-MG 与糖尿病视网膜病变的相关性研究 [J]. *中国中医眼科杂志*, 2020, 30(1):26 - 29.
- [13] 周莉, 吉媛红, 田斌, 等. 尿液 β 2-MG 对糖尿病患者视网膜病变的预测价值 [J]. *医学临床研究*, 2018, 35(9):1771 - 1772.
- [14] Gong Q, Li F, Xie J, *et al.* Upregulated VEGF and Robo4 correlate with the reduction of miR-15a in the development of diabetic retinopathy [J]. *Endocrine*, 2019, 65(1):35 - 45.
- [15] Khan N, Paterson AD, Roshandel D, *et al.* Association of IGF1 and VEGFA polymorphisms with diabetic retinopathy in Pakistani population [J]. *Acta Diabetologica*, 2020, 57(2):237 - 245.

(收稿日期:2020 - 10 - 12

修回日期:2020 - 12 - 02)