

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.08.013

房水中相关因子对康柏西普治疗湿性年龄相关性黄斑变性效果的影响*

杭 丽¹,张传伟¹,魏 伟²

(1. 江苏省中医院,江苏 南京 210029; 2. 南京中医药大学第一临床医学院,江苏 南京 210029)

摘要:目的 探讨房水中血管内皮生长因子 A(VEGFA)、色素上皮细胞衍生因子(PEDF)对康柏西普治疗湿性年龄相关性黄斑变性(wAMD)效果的影响。方法 回顾性选取医院 2018 年 1 月至 2020 年 6 月收治的以康柏西普治疗的 wAMD 患者 80 例,根据疗效分为有效组和无效组,各 40 例。采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定治疗前患者房水中 VEGFA 及 PEDF 水平。采用 Logistic 回归分析检验房水中 VEGFA 及 PEDF 水平对康柏西普治疗 wAMD 无效风险的影响;采用受试者工作曲线(ROC 曲线)检验房水中 VEGFA 及 PEDF 水平以预测康柏西普治疗 wAMD 无效风险的价值,以药-时曲线下面积(AUC)进行评价;采用 Spearman 直线相关检验分析房水中 VEGFA 水平与 PEDF 水平的相关性。结果 无效组患者 VEGFA 水平显著高于有效组, PEDF 水平显著低于有效组($P < 0.05$);Logistic 回归分析结果表明,房水中 VEGFA 过表达是康柏西普治疗无效的风险因子[OR = 1.110, 95%CI(1.051, 1.173), $P < 0.001$], PEDF 过表达是康柏西普治疗无效的保护因子[OR = 0.976, 95%CI(0.963, 0.989), $P < 0.001$];房水中 VEGFA 及 PEDF 水平预测康柏西普治疗无效风险的价值较理想($AUC > 0.80$);房水中 VEGFA 水平与 PEDF 水平呈负相关($r = -0.692$, $P = 0.001$)。结论 wAMD 患者治疗前房水中 VEGFA 及 PEDF 水平可能与康柏西普治疗 wAMD 的效果有关, VEGFA 过表达及 PEDF 低表达可能增加康柏西普治疗无效的风险。

关键词:康柏西普;湿性年龄相关性黄斑变性;血管内皮生长因子 A;色素上皮细胞衍生因子;疗效

中图分类号:R969.4;R988.1

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)08-0057-04

Effect of Related Factors in Aqueous Humor on Conbercept in the Treatment of wAMD

HANG Li¹, ZHANG Chuanwei¹, WEI Wei²

(1. Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu, China 210029; 2. College of the First Clinical Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu, China 210029)

Abstract: Objective To investigate the effect of vascular endothelial growth factor A (VEGFA) and pigment epithelium - derived factor (PEDF) in aqueous humor on conbercept in the treatment of wet age - related macular degeneration (wAMD). **Methods** A total of 80 patients with wAMD treated with conbercept from January 2018 to June 2020 were selected and divided into the effective group and the ineffective group according to the curative effect, with 40 cases in each group. The levels of VEGFA and PEDF in aqueous humor of patients before treatment were tested by enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA). The effect of levels of VEGFA and PEDF in aqueous humor on the risk of ineffective treatment of wAMD with conbercept were tested by Logistic regression analysis. The value of VEGFA and PEDF levels in aqueous humor in predicting the risk of ineffective treatment of wAMD with conbercept was tested by receiver operator characteristic (ROC) curve, which was evaluated by area under the concentration time curve (AUC). The relevance between the levels of VEGFA and PEDF in aqueous humor was analyzed by the Spearman linear correlation test. **Results** The level of VEGFA in aqueous humor of the ineffective group was significantly higher than that of the effective group, the level of PEDF was significantly lower than that of the effective group ($P < 0.05$). The results of Logistic regression analysis showed that the overexpression of VEGFA in aqueous humor was a risk factor for the ineffective treatment of conbercept [OR = 1.110, 95%CI(1.051, 1.173), $P < 0.001$], the overexpression of PEDF in aqueous humor was a protective factor for the ineffective treatment of conbercept [OR = 0.976, 95%CI(0.963, 0.989), $P < 0.001$]. The levels of VEGFA and PEDF in aqueous humor were of ideal value in predicting the risk of the ineffective treatment with conbercept ($AUC > 0.80$).

*基金项目:国家自然科学基金[81774370]。

第一作者:杭丽,女,博士研究生,副主任医师,研究方向为眼科疾病的基础研究与临床诊治,(电子信箱)hangli2004@163.com。

[10] REEVE L, BALDRICK P, NEWELL A, et al. Use of "Big Data" to evaluate responses to changes in regulatory guidelines: trends in genotoxicity testing packages for new pharmaceutical products[J]. Therapeutic Innovation and Regulatory Science, 2019, 54(4):1-6.

[11] 李存治,刘志永,赵 彬,等. 1,1'-二羟基-5,5'-联四唑二羟胺盐的遗传毒性研究[J]. 中国工业医学杂志, 2020, 33(6):520-522.

[12] 国家药品监督管理局. 药物遗传毒性研究技术指导原则

[EB/OL]. (2018-03-15) [2021-06-22]. <https://www.nmpa.gov.cn/yaopin/ypqgtg/ypqgtg/20180315160901208.html>.

[13] 陈建英,宋海波,贺艳丽,等. 交联透明质酸凝胶膜的制备及其生物相容性的研究[J]. 生物医学工程研究, 2009, 28(2):104-107.

[14] 傅明洁. 生物可吸收性涂层补片的细胞毒性和遗传毒性研究[J]. 生物医学工程研究, 2014, 33(3):184-188.

(收稿日期:2021-07-28;修回日期:2021-09-29)

There was a negative correlation between the level of VEGFA and the level of PEDF in aqueous humor of patients ($r = -0.692$, $P = 0.001$). **Conclusion** The levels of VEGFA and PEDF in aqueous humor of patients with wAMD could be related to the curative effect of conbercept in the treatment of wAMD, and the overexpression of VEGFA and the low expression of PEDF in aqueous humor may increase the risk of the ineffective treatment with conbercept.

Key words: conbercept; wAMD; VEGFA; PEDF; curative effect

目前, 临床治疗湿性年龄相关性黄斑变性(wAMD)多采用玻璃体注射抗血管内皮生长因子(VEGF)药物, 康柏西普是抗 VEGF 的融合蛋白药物^[1], 但对部分 wAMD 患者无效, 这可能会影响患者的治疗信心, 降低治疗依从性, 不利于预后^[2]。因此, 研究康柏西普治疗 wAMD 无效的相关指标尤为必要。脉络膜新生血管(CNV)生成是 wAMD 的主要致病机制, 而 VEGF 水平升高是 CNV 生成的基础^[3]。VEGFA 可与 VEGF 受体 1 和受体 2 结合, 促进血管生成, 引起血管渗漏, 促进 CNV 生成^[4]。色素上皮细胞衍生因子(PEDF)作为细胞内新生血管抑制因子之一, 可抑制视网膜、脉络膜、角膜等部分新生血管生成, 进而参与 wAMD 的发生及发展^[5]。由此, 推测 VEGFA 及 PEDF 的异常表达可能会影响康柏西普对 wAMD 的疗效。本研究中通过临床回顾性分析探讨了房水中 VEGFA 及 PEDF 水平对康柏西普治疗 wAMD 效果的影响。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

纳入标准: 符合《眼科学》^[6]中 wAMD 的诊断标准, 并经吲哚菁绿脉络血管造影检查发现黄斑病灶区早期荧光染色, 晚期荧光增浓、增厚、扩散, 诊断为 wAMD; 接受康柏西普治疗; 资料完整。本研究经医院医学伦理委员会批准, 患者及其家属签署知情同意书。

排除标准: 接受其他药物或手术治疗; 屈光间质不清严重影响眼底检查; 合并青光眼、白内障等其他眼科疾病; 合并心、肝、肾功能障碍; 合并免疫系统疾病; 合并恶性肿瘤; 既往眼部手术史。

病例选择及分组: 选取医院 2018 年 1 月至 2020 年 6 月收治的以康柏西普治疗的 wAMD 患者 80 例, 按疗效分为有效组及无效组, 各 40 例。

1.2 方法

治疗方法: 无菌状态下, 对患者进行表面麻醉后, 常规消毒眼部, 开睑器开睑, 距角巩膜缘后 3.5 mm 处垂直巩膜表面向睫状体平坦部位进针, 缓慢注射康柏西普眼用注射液(成都康弘生物科技股份有限公司, 批号为 20171016, 规格为 10 mg/mL)0.1 mL, 使用无菌棉签按压穿刺孔 10 s 后, 采用无菌纱布包盖注射眼。

1.3 观察指标

基线资料: 设计基线资料填写表, 调查患者一般资料, 包括性别、年龄、病程、吸烟史、GASS 分型^[7] [I 型为 CNV 在视网膜色素上皮层(RPE)下生长, 尚未突破 RPE

层; II 型为 CNV 穿过 RPE 层, 在视网膜神经上皮层下生长]、糖尿病^[8]、高血压^[9]。采用 SPECTRALIS HRA 型共焦激光同步血管造影系统行眼底荧光素血管造影(FFA), 采用 CIRRUS HD-OCT 5000 OCTA 型光相干断层扫描仪行光相干断层扫描(OCT), 检查并记录中央黄斑厚度(CMT)、CNV 面积、视网膜内积液、视网膜下积液、视网膜外界膜层(ELM, 中心 500 μm 范围内 ELM 反射光带部分或全部缺失为断裂, 反射带未断裂为连续); 采用 CT-800 型非接触式眼压计检测眼内压(IOP)。

实验室指标: 治疗前, 采用 1 mL 空针抽取患者的房水 0.1~0.2 mL, 置 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。采用 VEGF 试剂盒(美国 RD 公司)使用酶联免疫吸附(ELISA)法检测 VEGFA 和 PEDF 水平。

疗效评估: 治疗 1 个月时, 参照文献^[10]进行疗效评估。显效, 患者视力在视力表中进步 3 行及以上, 黄斑区域玻璃膜疣显著减少, 眼底视网膜出血、渗出基本吸收; 有效, 患者视力进步 1~2 行, 黄斑区域的玻璃膜疣有所减少, 眼底视网膜出血、渗出部分吸收; 无效, 未达上述指标。总有效 = 显效 + 有效。

1.4 指标分析

采用双变量 Spearman 相关分析检验房水中 VEGFA、PEDF 水平间的关系; 将 wAMD 患者房水中 VEGFA、PEDF 水平作为自变量, 康柏西普治疗 wAMD 效果作为因变量(1 = 无效, 0 = 有效), 采用 Logistic 回归分析检验房水中 VEGFA、PEDF 水平对康柏西普疗效的影响, 其中比值比(OR) = 1, 表示该因素对疾病的发生无影响, >1 表示该因素是疾病发生的危险因素, <1 表示该因素是疾病发生的保护因素; 将 wAMD 患者房水中 VEGFA、PEDF 水平作为检验变量, 康柏西普治疗效果作为状态变量(1 = 无效, 0 = 有效), 绘制受试者工作曲线(ROC), 检验房水中 VEGFA、PEDF 水平, 并以药-时曲线下面积(AUC)评价对康柏西普治疗无效风险的预测价值, $AUC \leq 0.50$ 为无价值, $AUC > 0.50$ 为较低价值, $AUC > 0.70$ 为中等价值, $AUC > 0.90$ 为较高价值。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 23.0 统计学软件分析。计数资料以率(%)表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 计量资料均经 Shapiro-Wilk 正态检验, 符合正态分布的计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示, 组间比较行独立样本 t 检验, 偏态分布的计量资料以中位数(四分位数间距)[$M(P25, P75)$]表示, 组间比较行 Mann-Whitney U 检验; 等级资料采用秩和检验。

$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

无效组患者房水 VEGFA 水平显著高于有效组, PEDF 水平显著低于有效组($P < 0.05$), 两组其余一般资料比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。详见表 1。

表 1 两组患者一般资料比较($n = 40$)

Tab. 1 Comparison of the patients' general data between the two groups($n = 40$)

指标	无效组	有效组	$\chi^2/U/Z/t$ 值	P 值
性别(男/女,例)	23/17	19/21	0.802	0.371
年龄[M(P25,P75),岁]	64.00(63.00,65.75)	63.00(63.00,64.75)	1.805	0.071
病程[M(P25,P75),月]	17.00(16.00,18.00)	17.50(16.00,18.00)	1.167	0.243
吸烟史(有/无,例)	8/32	6/34	0.346	0.556
GASS分型(I型/II型,例)	24/16	26/14	0.459	0.387
合并糖尿病(有/无,例)	9/31	6/34	0.739	0.390
合并高血压(有/无,例)	13/27	11/29	0.238	0.626
IOP($\bar{X} \pm s$, mmHg)	15.13 $\pm$ 2.72	15.08 $\pm$ 2.64	0.083	0.934
CMT[M(P25,P75), μ m]	282.44(257.91,300.73)	274.60(242.67,295.66)	1.511	0.131
CNV面积[M(P25,P75),mm ²]	2.72(2.42,3.33)	2.63(2.27,3.26)	0.553	0.580
视网膜内积液(有/无,例)	21/19	18/22	0.450	0.502
视网膜下积液(有/无,例)	10/30	8/32	0.285	0.592
视网膜外界膜层(断裂/连续,例)	12/28	15/25	0.503	0.478
VEGFA[M(P25,P75),pg/mL]	63.49(56.94,69.05)	47.29(42.28,49.19)	7.698	<0.001
PEDF[M(P25,P75),pg/mL]	240.13(222.32,268.59)	360.91(332.10,390.93)	7.299	<0.001

2.2 治疗无效影响因素回归分析

房水中 VEGFA 及 PEDF 的过表达可能分别是康柏西普治疗无效的风险因子及保护因子。结果见表 2。

表 2 治疗无效影响因素回归分析

Tab. 2 Regression analysis of influencing factors of the ineffective treatment

指标	B	SE	Wald	P 值	OR	95%CI
常量	2.032	2.291	0.787	<0.001		
VEGFA	0.104	0.028	13.861	<0.001	1.110	(1.051,1.173)
PEDF	-0.025	0.007	13.004	<0.001	0.976	(0.963,0.989)

2.3 治疗无效风险价值分析

结果见图 1。表明治疗前房水中 VEGFA 及 PEDF 水平预测 wAMD 患者经康柏西普治疗无效风险的 AUC 均大于 0.80, 预测价值较理想。相关参数见表 3。

2.4 相关性分析

直线相关检验结果表明, wAMD 患者房水中 VEGFA 水平与 PEDF 水平之间呈负相关($r = -0.692, P = 0.001$)。详见图 2。

3 讨论

康柏西普可竞争性地结合 VEGF 受体而抑制 VEGF 激活, 阻止病理性 CNV 的形成, 达到治疗 wAMD 的目的^[11]。但有研究指出, 部分患者经康柏西普治疗后仍存

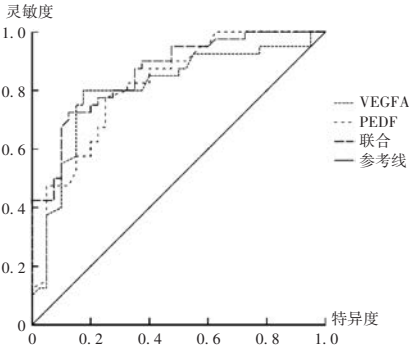


图 1 治疗无效风险价值的 ROC 曲线图

Fig. 1 ROC curve of value at the risk of the ineffective treatment

表 3 治疗无效风险价值分析结果

Tab. 3 Results of value analysis at the risk of the ineffective treatment

变量	AUC	临界值(pg/mL)	95%CI	P 值	特异度	灵敏度	约登指数
VEGF	0.807	52.004	(0.706,0.907)	<0.001	0.825	0.800	0.625
PEDF	0.817	292.052	(0.725,0.909)	<0.001	0.625	0.800	0.425
合并	0.861		(0.782,0.939)	<0.001	0.725	0.800	0.525

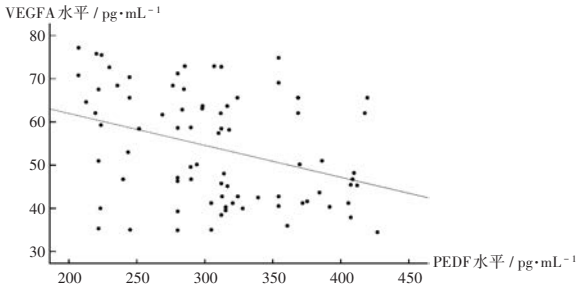


图 2 VEGFA 与 PEDF 的相关性散点图

Fig. 2 Scatter plot of the correlation between VEGFA and PEDF Levels

在视网膜积液或视力减退, 出现治疗无效的情况^[12]。因此, 为提升康柏西普治疗 wAMD 的整体获益, 研究与 wAMD 患者经康柏西普治疗无效的相关指标, 对于治疗方案的合理调整具有重要意义。

CNV 生成机制尚未明确, 但有研究指出, VEGF 与抑制因子表达的变化是 CNV 生成的重要因素^[13]。VEGF 包括多种亚型, 其中 VEGFA 是血管生成的主要调控因子, 可通过促进内皮细胞增殖, 诱导血管生成^[14]。与低氧病理反应密切相关的缺氧诱导因子 1 α -VEGF 信号通路在 CNV 形成中起到重要作用^[15]。PEDF 由视网膜色素上皮细胞生成, 对新生血管有抑制作用, PEDF 在房水中浓度较高, 可抑制内皮细胞的有丝分裂、诱导其凋亡, 抑制血管生成^[16-17]。由此, 推测房水 VEGFA 及 PEDF 的异常表达可能影响了康柏西普治疗 wAMD 的效果。本研究结果表明, 无效组患者房水中 VEGFA 水平明显高于有效组, PEDF 水平明显低于有效组, 初步说明房水中 VEGFA 过表达及 PEDF 低表达可能与经康柏西普治疗 wAMD 无效有关。这可能由于在生理情况下, VEGFA 可与脉络膜血管层的 VEGF 受体结合, 使脉络

膜血管层血管化,采用康柏西普治疗虽可抑制 VEGF 诱导的血管内皮细胞生长、迁移等,但若治疗前房水 VEGFA 过表达,则会进一步加重视网膜屏障的破坏程度,导致脉络膜血管层萎缩,进而影响光感器细胞功能,引起视力下降,从而增加康柏西普治疗无效风险^[18-19]。PEDF 可直接通过自身受体和信号传导通路,或间接抑制血管内皮细胞向 VEGF、血小板衍生生长因子等新生血管诱导因子移行以抑制血管增生。治疗前患者的房水中 PEDF 低表达可导致 VEGF 与 PEDF 水平的比例失调,使 VEGF 相对增加,引起新生血管增生,增加康柏西普治疗无效风险^[20-21]。

本研究中 Logistic 回归分析结果表明,wAMD 患者治疗前房水中 VEGFA 及 PEDF 过表达可能分别是 wAMD 患者经康柏西普治疗无效的风险因子及保护因子。ROC 曲线验证结果表明,VEGFA 及 PEDF 水平对于 wAMD 患者经康柏西普治疗无效风险的预测价值均较理想。上述结果表明,房水中 VEGFA 过表达、PEDF 低表达可能会影响 wAMD 患者经康柏西普治疗的效果。提示临床应针对房水中 VEGFA 过表达、PEDF 低表达采用抗 VEGFA 药物、PEDF 药物治疗 wAMD,以提高疗效。此外,本研究中还分析了 wAMD 患者房水中 VEGFA 与 PEDF 水平间的关系,结果 VEGFA 与 PEDF 水平间呈负相关,提示 wAMD 患者房水中 VEGFA 与 PEDF 间存在相互作用,共同影响了 wAMD 患者康柏西普治疗效果,这可能与二者共同参与 CNV 生成有关,但具体机制尚未明确,仍需进一步证实。

综上所述,wAMD 患者经康柏西普治疗无效可能与房水中 VEGFA 过表达及 PEDF 低表达有关,临床可通过测定治疗前患者房水中 VEGFA 及 PEDF 水平,预测治疗无效风险。

参考文献

- [1] ZHANG J, LIANG Y, XIE J, et al. Conbercept for patients with age - related macular degeneration: a systematic review [J]. BMC Ophthalmol, 2018, 18(1): 142.
- [2] CUI C, HONG L. Clinical observations on the use of new anti - VEGF drug, conbercept, in age - related macular degeneration therapy: a meta - analysis [J]. Clin Interv Aging, 2018, 13(13): 51 - 62.
- [3] JENSEN EG, JAKOBSEN TS, THIEL S, et al. Associations between the Complement System and Choroidal Neovascularization in Wet Age - Related Macular Degeneration [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(24): 9752.
- [4] 宋 爽, 杨 帆, 谷潇雅, 等. VEGF - A 基因变异对新生血管性年龄相关性黄斑变性及雷珠单抗疗效的影响 [J]. 中华实验眼科杂志, 2020, 38(8): 680 - 685.
- [5] HAO X, CHENG J, ZHANG Z. Polymorphisms in PEDF linked with the susceptibility to age - related macular degeneration:

- A case - control study [J]. Medicine, 2018, 97(34): e11981.
- [6] 葛 坚. 眼科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 578.
 - [7] 中华医学会眼科学分会眼底病学组中国老年性黄斑变性临床指南与临床路径制订委员会. 中国老年性黄斑变性临床诊断治疗路径 [J]. 中华眼底病杂志, 2013, 29(4): 343 - 355.
 - [8] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2017 年版) [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(4): 292 - 344.
 - [9] 中国高血压防治指南修订委员会. 中国高血压防治指南 2010 [J]. 中华心血管病杂志, 2011, 39(7): 579 - 616.
 - [10] 崔庆霞. 中西医结合对湿性年龄相关性黄斑变性疗效观察 [J]. 中医临床研究, 2016, 8(16): 85 - 86.
 - [11] WU BH, WANG B, WU HQ, et al. Intravitreal conbercept injection for neovascular age - related macular degeneration [J]. Int J Ophthalmol, 2019, 12(2): 252 - 257.
 - [12] CĂLUGĂRU D, CĂLUGĂRU M. Comment on "Intravitreal conbercept injection for neovascular age - related macular degeneration" [J]. Int J Ophthalmol, 2020, 13(2): 362 - 364.
 - [13] XU D, DÁVILA JP, RAHIMI M, et al. Long - term Progression of Type 1 Neovascularization in Age - related Macular Degeneration Using Optical Coherence Tomography Angiography [J]. Am J Ophthalmol, 2018, 135(187): 10 - 20.
 - [14] 罗 曼, 陈晓隆. 新生血管性年龄相关性黄斑变性患者玻璃体内注射抗血管内皮生长因子药物治疗进展 [J]. 眼科新进展, 2020, 40(6): 582 - 586.
 - [15] 杨仕琪. 抗 VEGF - A 治疗湿性年龄相关性黄斑变性的长期疗效及其影响视力预后的原因分析 [J]. 中华实验眼科杂志, 2018, 36(3): 236 - 240.
 - [16] PUDDU A, SANGUINETI R, TRAVERSO CE, et al. Response to Anti - VEGF - A Treatment of Retinal Pigment Epithelial Cells *In Vitro* [J]. Eur J Ophthalmol, 2018, 26(5): 425 - 430.
 - [17] HERNÁNDEZ - PINTO A, POLATO F, SUBRAMANIAN P, et al. PEDF peptides promote photoreceptor survival in rd10 retina models [J]. Exp Eye Res, 2019, 184: 24 - 29.
 - [18] HUSSAIN RM, O'LEARY P, EICHENBAUM DA, et al. Faricimab. Anti - Ang - 2 / anti - VEGF - A bispecific antibody, Treatment of diabetic macular edema, Treatment of wet age - related macular degeneration [J]. Drugs Future, 2020, 45(7): 449.
 - [19] NICOLÒ M, DESIDERI LF, VAGGE A, et al. Faricimab: an investigational agent targeting the Tie - 2 / Angiopoietin pathway and VEGF - A for the treatment of retinal diseases [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2021, 30(3): 193 - 200.
 - [20] COMITATO A, SUBRAMANIAN P, TURCHIANO G, et al. Pigment epithelium - derived factor hinders photoreceptor cell death by reducing intracellular calcium in the degenerating retina [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(5): 560.
 - [21] NAKAMURA DS, HOLLANDER JM, UCHIMURA T, et al. Pigment Epithelium - Derived Factor (PEDF) mediates cartilage matrix loss in an age - dependent manner under inflammatory conditions [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2017, 18(1): 39.
- (收稿日期: 2021 - 07 - 08; 修回日期: 2021 - 10 - 18)