

# AG3340 对高糖诱导人视网膜色素上皮细胞迁移和侵袭的影响

郑磊, 张国明, 陈妙虹, 马大卉

引用: 郑磊, 张国明, 陈妙虹, 等. AG3340 对高糖诱导人视网膜色素上皮细胞迁移和侵袭的影响. 国际眼科杂志 2022; 22(8): 1252-1256

基金项目: 国家自然科学基金项目 (No. 82003794); 深圳市科技计划项目基础研究 (面上项目) (No. JCYJ20190808170609490); 深圳市医学重点学科建设经费资助项目 (No. SZXK038)

作者单位: (518040) 中国广东省深圳市, 暨南大学附属深圳眼科医院

作者简介: 郑磊, 毕业于中山大学中山眼科中心, 博士, 主治医师, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 马大卉, 毕业于暨南大学, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 眼底病. Bensma@163.com

收稿日期: 2021-09-07 修回日期: 2022-07-08

## 摘要

**目的:** 探讨基质金属蛋白酶(MMPs)抑制剂 AG3340 对高糖(HG)培养状态下人视网膜色素上皮细胞(ARPE-19细胞)迁移和侵袭能力的影响及作用机制。

**方法:** 将体外培养的 ARPE-19 细胞分为 4 组, 其中对照组 (Control 组) 用含 5.6mmol/L 葡萄糖的 DMEM/F12 培养基培养; HG 组用含 30mmol/L 葡萄糖的 DMEM/F12 培养基培养; HG+AG3340 组用 AG3340 预处理细胞 12h 后, 再用含 30mmol/L 葡萄糖的 DMEM/F12 培养基继续培养; 甘露醇(MA)组用含 5.6mmol/L 葡萄糖和 24.4mmol/L 甘露醇的 DMEM/F12 培养基培养作为渗透压对照组。采用划痕实验检测细胞的迁移能力, Transwell 小室实验检测细胞的侵袭能力, Western blot 法检测 MMP-9、MMP-2、纤连蛋白(Fibronectin)及胶原蛋白(Collagen) IV 的相对表达水平。

**结果:** 划痕实验结果显示, 划痕 24、48h 后 HG 组细胞迁移率均较 Control 组明显增加 (均  $P < 0.001$ ), 采用 AG3340 预处理后细胞迁移率均较 HG 组降低 (均  $P < 0.01$ )。Transwell 小室实验结果显示, HG 组细胞侵袭数目较 Control 组明显增加 ( $P < 0.001$ ), 采用 AG3340 预处理后细胞侵袭数目较 HG 组减少 ( $P < 0.01$ )。Western blot 检测结果显示, HG 组细胞中 MMP-9 和 MMP-2 相对表达量均较 Control 组增加, Fibronectin 和 Collagen IV 相对表达量均较 Control 组减少 (均  $P < 0.001$ ), 采用 AG3340 预处理后细胞中 MMP-9 和 MMP-2 蛋白相对表达量均较 HG 组降低, Fibronectin 和 Collagen IV 相对表达量均较 HG 组增加 (均  $P < 0.05$ )。

**结论:** 高糖环境诱导 ARPE-19 细胞迁移和侵袭能力增强, AG3340 则可以部分逆转该作用, 该过程可能与 AG3340 抑制细胞内 MMP-9 和 MMP-2 的表达, 稳定细胞外基质组分有关。

**关键词:** 糖尿病视网膜病变; 视网膜色素上皮细胞; AG3340; 基质金属蛋白酶; 细胞迁移; 细胞侵袭  
DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2022.8.03

## Effects of AG3340 on the migration and invasion of human retinal pigment epithelial cells induced by high glucose

Lei Zheng, Guo-Ming Zhang, Miao-Hong Chen, Da-Hui Ma

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (No. 82003794); Basic Research of Shenzhen Science and Technology Plan Project (General Project) (No. JCYJ20190808170609490); Shenzhen Key Medical Discipline Construction Fund (No. SZXK038)

Shenzhen Eye Hospital Affiliated to Jinan University, Shenzhen 518040, Guangdong Province, China

**Correspondence to:** Da-Hui Ma. Shenzhen Eye Hospital Affiliated to Jinan University, Shenzhen 518040, Guangdong Province, China. Bensma@163.com

Received: 2021-09-07 Accepted: 2022-07-08

## Abstract

• **AIM:** To investigate the effect and mechanism of matrix metalloproteinase (MMPs) inhibitor AG3340 on the migration and invasion ability of retinal pigment epithelial cells-19 (ARPE-19) cultured in high glucose (CHG).

• **METHODS:** ARPE-19 cells cultured *in vitro* were divided into four groups: Control group, the glucose at the concentration of 5.6mmol/L in DMEM/F12 medium; HG group, the glucose at the concentration of 30mmol/L was cultured with DMEM/F12 medium; HG+AG3340 group, the cells were pretreated with AG3340 for 12h, and then cultured in DMEM/F12 medium containing 30mmol/L glucose; The mannitol (MA) group, cultured with DMEM/F12 medium of 5.6mmol/L glucose and 24.4mmol/L mannitol, which used as hypertonic control group. The migration ability of cells was detected by wound healing assay, the invasion ability of cells was detected by Transwell assay, and the relative expression levels of MMP-9, MMP-2, fibronectin and collagen IV were detected by Western blot.

• **RESULTS:** The results of wound healing assay showed that compared with the Control group, the cell migration rate of scratching after 24h and 48h in the HG group was

significantly increased (all  $P < 0.001$ ). After pretreated by AG3340, the cell migration rate was significantly lower than that in the HG group (all  $P < 0.01$ ). Transwell assay showed that compared with the Control group, the number of cell invasion in the HG group was significantly higher than that in the Control group (all  $P < 0.001$ ). After pretreated by AG3340, the number of cell invasion was decreased than the HG group (all  $P < 0.01$ ). Western blot results showed that compared with the Control group, the relative expression levels of MMP-9 and MMP-2 of the cells in the HG group were increased, and the relative expression levels of Fibronectin and Collagen IV were decreased (all  $P < 0.001$ ). Compared with the HG group, the relative expression levels of MMP-9 and MMP-2 protein in AG3340 pretreatment group were decreased, and the relative expression levels of Fibronectin and Collagen IV were increased (all  $P < 0.05$ ).

• **CONCLUSION:** High glucose induced ARPE-19 cells with enhanced migration and invasion ability, and AG3340 partially reversed this effect, which was related to the inhibition of MMP-9 and MMP-2 expression and the stability of extra-cellular matrix components.

• **KEYWORDS:** diabetic retinopathy; retinal pigment epithelium; AG3340; matrix metalloproteinase; cell migration; cell invasion

**Citation:** Zheng L, Zhang GM, Chen MH, *et al.* Effects of AG3340 on the migration and invasion of human retinal pigment epithelial cells induced by high glucose. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2022;22(8):1252-1256

## 0 引言

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病最常见和最严重的并发症之一,合并有黄斑水肿或进展为增殖期通常会对患者的视功能造成不可逆损害,目前DR已成为全球范围内最常见的致盲性疾病之一。纤维增生膜的产生是DR晚期的基本病理表现之一,可引起牵拉性视网膜脱离,临床处理相对棘手,因此阻止DR进展及纤维增生膜形成一直是研究的热点。视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium, RPE)层介于视网膜神经上皮层和脉络膜之间,容易受到血糖波动的影响,大量研究已证实视网膜微环境持续高糖水平会影响RPE细胞功能而参与介导DR发病进展,如高糖环境会诱导RPE细胞凋亡,破坏视网膜外屏障而加剧水肿和渗出<sup>[1]</sup>、高糖环境会导致RPE细胞分泌大量炎症因子,包括肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 和IL-6促进DR进展<sup>[2]</sup>等。而最近的研究还发现高糖可以增强RPE细胞的迁移能力<sup>[3-4]</sup>,可能参与DR纤维膜的形成,并且与RPE细胞内基质金属蛋白酶家族(matrix metalloproteinases, MMPs)的活化有关<sup>[5]</sup>。AG3340(普淋司他)是一种广谱的MMPs合成抑制剂,已被证实可用于抑制多种恶性肿瘤细胞的转移和侵袭<sup>[6]</sup>。近年研究发现,AG3340还可以拮抗部分眼底新生血管的形成<sup>[7-9]</sup>,但目前尚缺乏AG3340在DR中的研究。本研究拟通过体外高糖条件下培养RPE细胞,探究AG3340对高糖状态下RPE细胞迁移和侵袭能力的

影响及相关机制,以期抑制晚期DR纤维膜的产生提供新的实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验细胞 人视网膜色素上皮细胞(human retinal pigment epithelial cells-19, ARPE-19)购自美国模式培养细胞物研究所(ATCC公司)。

1.1.2 主要实验试剂和仪器 DMEM/F12培养基、2.5g/L胰蛋白酶(美国Gibco公司),胎牛血清(FBS)(中美合资兰州民海生物),二甲基亚砜(DMSO)、AG3340(美国Sigma公司),Transwell小室(美国Corning公司),基质胶Matrigel(美国BD公司),MMP-9(ab228402)、MMP-2(ab92536)、Fibronectin(ab268021)及Collagen IV抗体(ab182744,英国Abcam公司)。微量加样器(德国Eppendorf公司),倒置荧光显微镜(日本Olympus公司),Odyssey双色红外成像系统(美国Licor公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养 ARPE-19细胞常规培养于含10%FBS的DMEM/F12培养基(含1%青-链霉素),培养箱内温度为37 $^{\circ}$ C,CO<sub>2</sub>体积分数为5%,每3d传代1次,取对数期生长的细胞进行实验。

1.2.2 实验分组 将ARPE-19细胞分为4组进行培养:(1)对照组(Control组):含5.6mmol/L葡萄糖的DMEM/F12培养基培养;(2)高糖(high glucose, HG)组:含30mmol/L葡萄糖的DMEM/F12培养基培养;(3)HG+AG3340组:用MMPs抑制剂AG3340预处理细胞12h后,再添加含30mmol/L葡萄糖的DMEM/F12培养基培养;(4)甘露醇(mannitol, MA)组:含5.6mmol/L葡萄糖和24.4mmol/L甘露醇的DMEM/F12培养基培养,作为渗透压对照组。

1.2.3 划痕实验检测细胞迁移 取对数期生长的ARPE-19细胞,制成细胞悬液,计数,以 $2 \times 10^5$ 个/孔铺于6孔板中,待细胞汇合度达90%以上,以200 $\mu$ L枪头垂直于6孔板底部划直线,人为制造细胞间距;用PBS洗细胞3次,去除划下的细胞,按照分组方案每孔加入等量培养液2mL继续培养细胞。分别在0、24、48h使用倒置显微镜随机选取3个视野拍照,用Image J软件测量划痕宽度。细胞迁移能力采用迁移率表示,细胞迁移率=(原划痕宽度-现划痕宽度)/原划痕宽度 $\times 100\%$ 。

1.2.4 Transwell小室检测细胞侵袭 取对数期生长的ARPE-19细胞,制成细胞悬液,计数,以 $2 \times 10^5$ 个/孔铺于6孔板中,待细胞贴壁后,按照分组方案每孔加入等量培养液2mL继续培养细胞48h;去除原培养基,PBS清洗1次,取少量胰蛋白酶消化并收集细胞;PBS清洗细胞3次,计数,重悬于无血清DMEM/F12培养基中;Transwell小室在加入细胞悬液前,需用Matrigel胶预先包被小室底部膜的上室内面,置于24孔板内,再于上室中加入细胞密度为 $1 \times 10^5$  cell/mL的细胞悬液100 $\mu$ L,下室加入500 $\mu$ L含FBS的培养基,置于37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>培养箱继续培养48h;待终止培养后,取出小室,用棉签轻轻拭去上室内层未发生侵袭的细胞,4%多聚甲醛固定5min,0.2%结晶紫染色8min,清水洗去多余结晶紫,晾干后置于倒置显微镜下随机选取3个视野拍照,并计数发生侵袭的细胞数目。

**1.2.5 Western blot 检测相关蛋白表达水平** 按照分组处理 ARPE-19 细胞 48h 后收集细胞, PBS 洗涤, 并用 RIPA 裂解缓冲液溶解, 4℃ 以 13000r/min 离心 10min。上清液蛋白采用 SDS-PAGE 凝胶电泳, 转膜, 并在室温下用 5% 脱脂奶粉封闭 1h。MMP-9(1:1000)、MMP-2(1:1000)、Fibronectin(1:500) 及 Collagen IV(1:500) 一抗孵育, 加入相应比例的荧光二抗, 避光孵育 1h, 并使用 LICOR-Odyssey 仪器扫膜分析。

**统计学分析:** 采用 SPSS 22.0 统计学软件进行统计分析。本研究检测指标的数据资料经 W 检验呈正态分布, 结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 均数经 Levene 检验方差齐, 不同组间细胞迁移率、细胞侵袭数目和细胞中 MMP-9、MMP-2、Fibronectin 及 Collagen IV 蛋白相对表达水平的差异比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-t 检验。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 AG3340 抑制高糖诱导的 ARPE-19 细胞迁移能力

细胞划痕实验发现, 各组在划痕 24h 后的细胞迁移率总体比较差异具有统计学意义 ( $F = 72.02, P = 0.001$ ); MA 组细胞迁移率 ( $20.91\% \pm 0.92\%$ ) 与 Control 组 ( $21.00\% \pm 0.81\%$ ) 相比差异无统计学意义 ( $t = 0.37, P = 0.42$ ); HG 组细胞迁移率 ( $46.33\% \pm 7.76\%$ ) 明显高于 Control 组, 差异具有统计学意义 ( $t = 0.29, P < 0.001$ ); 采用 2.5、5.0、10.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  AG3340 预处理后, 细胞迁移率分别为  $38.33\% \pm 3.51\%$ 、 $33.50\% \pm 2.29\%$ 、 $33.00\% \pm 2.01\%$ , 均较

HG 组降低, 差异有统计学意义 ( $t = 2.74, 0.59, 3.18$ , 均  $P < 0.01$ )。各组在划痕 48h 后的细胞迁移率总体比较差异具有统计学意义 ( $F = 109.78, P < 0.001$ ); MA 组细胞迁移率 ( $31.33\% \pm 1.49\%$ ) 与 Control 组 ( $31.67\% \pm 1.53\%$ ) 相比差异无统计学意义 ( $t = 0.62, P = 0.35$ ); HG 组细胞迁移率 ( $67.00\% \pm 1.73\%$ ) 明显高于 Control 组, 差异具有统计学意义 ( $t = 1.45, P < 0.001$ ); 采用 2.5、5.0、10.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  AG3340 预处理后, 细胞迁移率分别为  $54.67\% \pm 2.52\%$ 、 $47.00\% \pm 7.07\%$ 、 $47.33\% \pm 17.24\%$ , 均较 HG 组降低, 差异有统计学意义 ( $t = 0.56, 4.16, 0.27$ , 均  $P < 0.01$ )。在划痕 24、48h 后 AG3340 5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  预处理的细胞迁移率均明显低于 AG3340 2.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  预处理的细胞, 差异具有统计学意义 (均  $P < 0.05$ ), 但与 AG3340 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  预处理的细胞对比, 差异无统计意义 (均  $P > 0.05$ ), 见图 1。因此后续实验均选择 5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  作为 AG3340 预处理浓度。

### 2.2 AG3340 抑制高糖诱导的 ARPE-19 细胞侵袭能力

Transwell 小室实验发现, 各组细胞侵袭数目总体比较差异具有统计学意义 ( $F = 104.97, P < 0.001$ ); MA 组细胞侵袭数目 ( $108.33 \pm 10.40$  个) 与 Control 组 ( $109.31 \pm 5.73$  个) 相比差异无统计学意义 ( $t = 0.53, P = 0.30$ ); HG 组细胞侵袭数目 ( $336.00 \pm 22.55$  个) 明显多于 Control 组, 差异具有统计学意义 ( $t = 0.87, P < 0.001$ ); 采用 AG3340 预处理后, 细胞侵袭数目 ( $238.67 \pm 13.89$  个) 较 HG 组减少, 差异具有统计学意义 ( $t = 0.29, P < 0.01$ ), 见图 2。

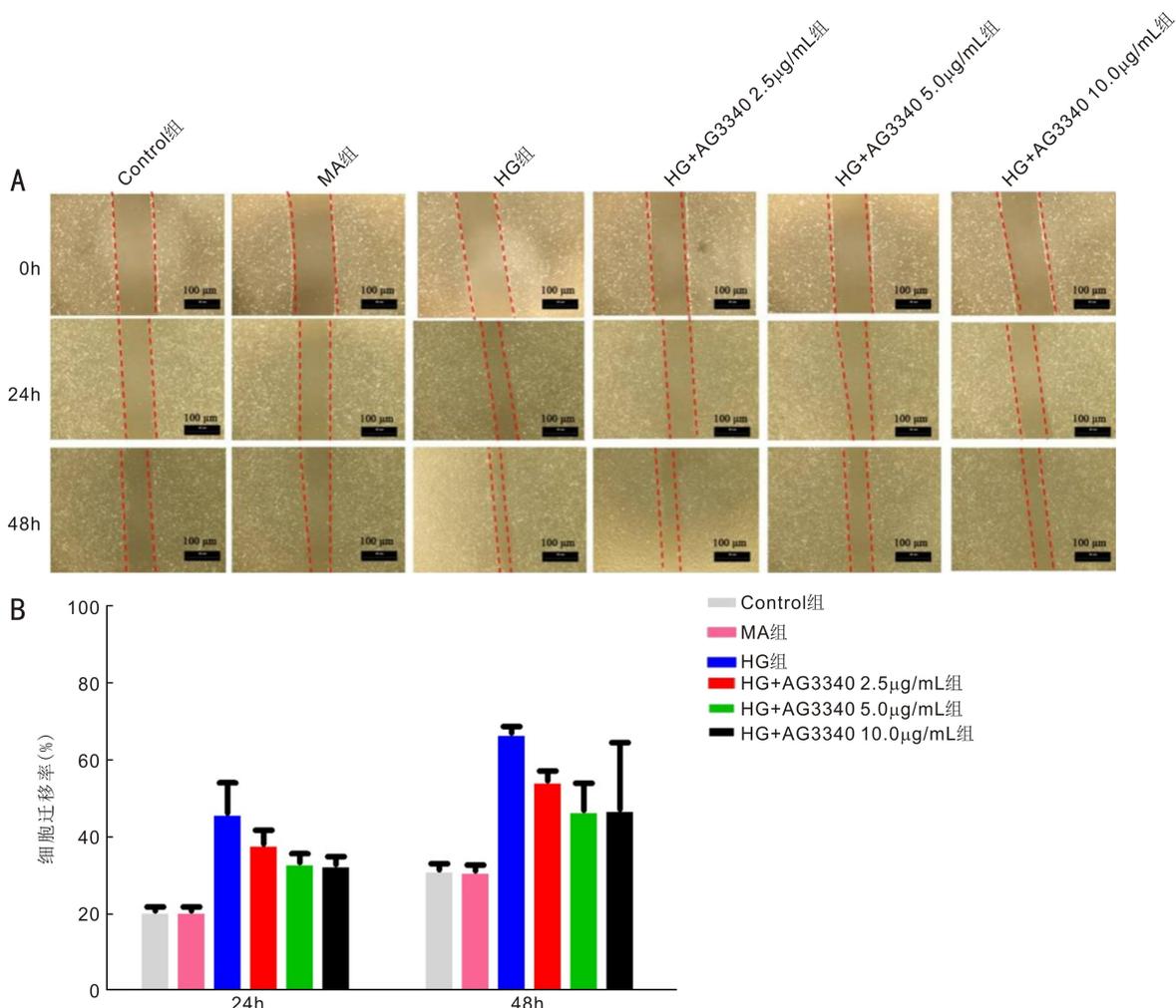


图 1 细胞划痕实验检测各组细胞的迁移能力 A: 划痕实验细胞迁移图; B: 各组细胞迁移率统计图。

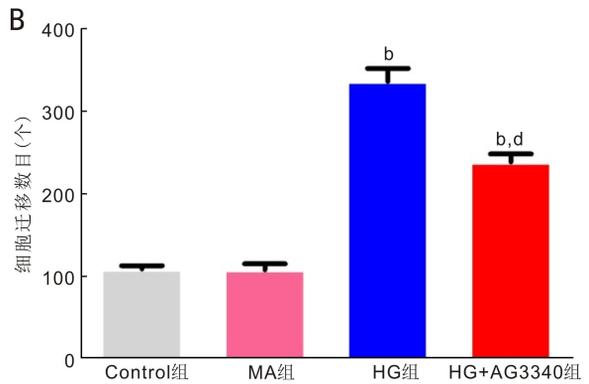
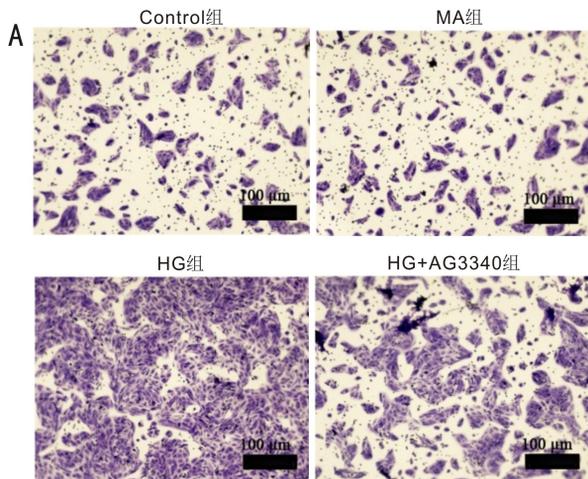


图2 Transwell小室检测各组细胞的侵袭能力 A:Transwell小室细胞侵袭图;B:各组细胞侵袭数目统计图。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs Control组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs HG组。

### 2.3 AG3340拮抗高糖诱导的ARPE-19细胞中相关蛋白表达

Western blot 检测结果显示,各组细胞中 MMP-9、MMP-2、Fibronectin 及 Collagen IV 蛋白相对表达量总体比较差异有统计学意义 ( $F = 89.72, 49.43, 50.06, 76.64$ , 均  $P < 0.001$ )。MA 组 MMP-9、MMP-2、Fibronectin 及 Collagen IV 蛋白相对表达量与 Control 组相比差异无统计学意义 ( $t = 1.43, 0.29, 0.48, 3.33$ , 均  $P > 0.05$ ); 与 Control 组相比, HG 组细胞 MMP-9 和 MMP-2 相对表达量增加, Fibronectin 和 Collagen IV 相对表达量减少, 差异均具有统计学意义 ( $t = 3.06, 3.73, 2.46, 0.34$ , 均  $P < 0.001$ )。采用 AG3340 预处理后, 细胞中 MMP-9 和 MMP-2 蛋白相对表达量均较 HG 组降低, Fibronectin 和 Collagen IV 相对表达量均较 HG 组增加, 差异具有统计学意义 ( $t = 1.14, 6.21, 0.49, 3.70$ , 均  $P < 0.05$ ), 见图 3, 表 1。

### 3 讨论

DR 是目前全世界范围内工作年龄人群第一位的致盲性疾病, 根据病变严重程度可分为非增殖性 DR (nonproliferative diabetic retinopathy, NPDR) 和增殖性 DR (proliferative diabetic retinopathy, PDR), 后者是 DR 的相对晚期阶段<sup>[10]</sup>。PDR 在我国糖尿病患者人群中的比例约为 3.3% ~ 7.4%<sup>[11]</sup>。纤维增生组织、纤维增生膜的产生是 PDR 的基本病理表现之一, 由此可产生牵拉性视网膜脱离等一系列严重并发症, 损害患者的视功能<sup>[12]</sup>。如何抑制纤维增生膜的形成是挽救 PDR 患者视功能的关键。

目前关于 PDR 纤维化的形成机制尚无定论, 复杂多样的病理因素交织在一起形成网络, 相互影响, 促进 PDR 纤维化的发生<sup>[13]</sup>。研究发现 PDR 纤维增生膜中的主要细胞成分包括 RPE 细胞和神经胶质细胞等<sup>[14]</sup>, 其中 RPE 细胞作为血-视网膜屏障的组成部分之一, 承担着维护视网膜内环境稳态的重要作用, 其功能紊乱与很多视网膜疾病存在关联<sup>[15]</sup>。由于 RPE 细胞紧邻脉络膜毛细血管层, 其非常容易受到体内血糖浓度的影响。Farnoodian 等<sup>[3]</sup>研究证实高糖会诱导体外培养的 RPE 细胞迁移能力明显增强, 与增加氧化应激反应和色素上皮衍生因子的表达有关。Che 等<sup>[4]</sup>也发现高糖会通过诱导 RPE 细胞的上皮-间质转化而促进细胞迁移。本研究使用 30mmol/L 葡萄糖刺激 ARPE-19 细胞, 证实高糖不仅可以增加细胞的迁移能力, 同时局部侵袭能力也明显增强。而 RPE 细胞一旦离开其自然位置后, 会化生为巨噬细胞或成纤维样细

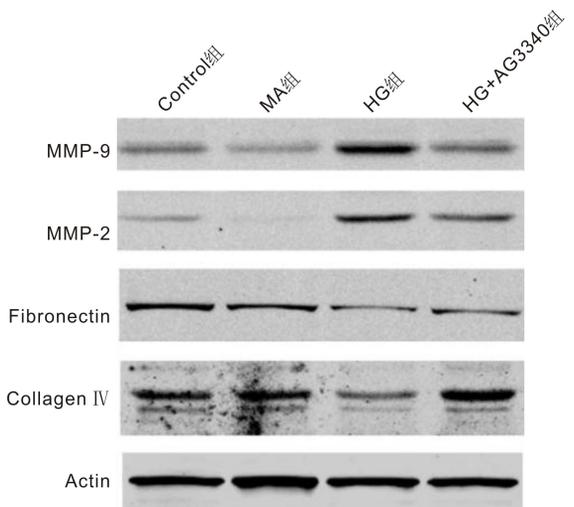


图3 Western blot 检测各组细胞内相关蛋白的表达。

组别	MMP-9	MMP-2	Fibronectin	Collagen IV	$\bar{x} \pm s$
Control 组	0.19 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.96 ± 0.04	1.10 ± 0.14	
MA 组	0.13 ± 0.01	0.09 ± 0.03	0.92 ± 0.07	1.02 ± 0.05	
HG 组	1.0 ± 0.16 <sup>b</sup>	0.98 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.37 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.59 ± 0.16 <sup>b</sup>	
HG+AG3340 组	0.34 ± 0.11 <sup>b,c</sup>	0.58 ± 0.04 <sup>b,c</sup>	0.46 ± 0.14 <sup>b,c</sup>	0.87 ± 0.03 <sup>b,c</sup>	
<i>F</i>	89.72	49.43	50.06	76.64	
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	

注: <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs Control 组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs HG 组。

胞, 获得较强的分裂增殖能力, 并可以产生和分泌胶原或其他细胞外基质 (extra-cellular matrix, ECM) 成分, 促进眼内纤维膜的形成<sup>[16]</sup>。因此, 有效抑制高糖状态下 RPE 细胞迁移, 对于遏制纤维增生膜的形成和阻止 DR 的进展至关重要。

MMPs 家族是一组金属离子依赖的结构和功能同源的内肽酶家族, 能降解 ECM 的多种蛋白成分, 是促进细胞迁移和侵袭最重要的蛋白家族之一<sup>[17]</sup>。大量研究已证实, 在 PDR 患者的玻璃体液和增生膜中 MMPs 表达明显增加<sup>[14, 18-20]</sup>。这些 MMPs 来自于不同类型的细胞, 包括血管内皮细胞、胶质细胞、RPE 细胞等<sup>[21]</sup>。本研究发现, 持续高糖环境使得 ARPE-19 细胞中的 Fibronectin 和 Collagen IV 降解明显, 前者是 ECM 和基底膜中的主要非胶

原性糖蛋白,在细胞黏附中起核心作用;后者则构成 ECM 的骨架。二者的降解势必会导致高糖环境下 ARPE-19 细胞迁移和侵袭能力增强。而高糖状态下 ARPE-19 细胞中 MMP-2 和 MMP-9 的表达明显上调,也证实了此种病理环境中 ECM 的降解确实与 MMPs 的活化有关。

AG3340 是一种广谱的、有效的 MMPs 抑制剂,可以有效抑制 MMP-1、MMP-2、MMP-3 和 MMP-9 等<sup>[22]</sup>。AG3340 已被证实对多种肿瘤细胞具有良好的抗癌效应,如黑色素瘤、人结肠癌、人胰腺癌、乳腺癌等,其作用机制与 AG3340 可以抑制肿瘤新生血管形成、肿瘤转移等相关<sup>[23]</sup>。此外,AG3340 除了具有抗肿瘤效应,在眼科部分疾病中也被证实可能具有一定的治疗效用。既往研究报道 AG3340 可以降低外伤性增生性玻璃体视网膜病变(periferative vitreoretinopathy, PVR)动物模型中牵拉性视网膜脱离发生的数量和比例,其机制可能与 AG3340 抑制 PVR 形成过程中 MMPs 的形成有关<sup>[5-6]</sup>。另有研究证实 AG3340 可以抑制动物模型中视网膜前膜(epiretinal membrane,ERM)的形成<sup>[24]</sup>。Garcia 等<sup>[7]</sup>和 Barnett 等<sup>[8]</sup>发现无论是经腹腔注射或经玻璃体注射 AG3340 均可以显著抑制氧诱导视网膜病变(oxygen induced retinopathy, OIR)小鼠模型中视网膜新生血管的形成<sup>[7-8]</sup>。El Bradey 等<sup>[9]</sup>报道经玻璃体内注射 AG3340 可以明显降低激光诱导的脉络膜新生血管兔模型新生血管渗漏的比例。上述研究证实,AG3340 抑制 MMPs 在多种眼部疾病中具有应用价值,但对于 AG3340 是否会抑制 PDR 纤维增生膜的形成目前仍缺乏报道。本研究发现,用 AG3340 预处理 ARPE-19 细胞可以部分逆转高糖诱导的细胞迁移和侵袭能力增加,其潜在机制可能与 AG3340 抑制细胞中 MMP-2 和 MMP-9 的表达有关,部分逆转了高糖环境下细胞周围 ECM 组分(Fibronectin 和 Collagen IV)的降解,将更多的细胞稳定在其正常的生理位置。

PDR 会给患者的视功能带来极大危害,早期筛查和针对性的视网膜激光光凝可以有效抑制 PDR 的发生。但由于血糖控制不佳或错过了早期诊治的时间窗,仍有很多 NPDR 患者会向 PDR 转变,尤其是在公共医疗体系不健全的国家。因此寻找其他能够阻止 PDR 形成的方法一直是研究热点。本研究利用体外细胞实验初步证实 AG3340 可以部分逆转高糖诱导的 ARPE-19 细胞迁移和侵袭,为寻找能够阻止 PDR 纤维膜生成及进展的有效药物提供了思路,但仍需大量动物实验和临床数据进行验证。

#### 参考文献

- 1 Kim DI, Park MJ, Lim SK, et al. High-glucose-induced CARM1 expression regulates apoptosis of human retinal pigment epithelial cells via histone 3 arginine 17 dimethylation; role in diabetic retinopathy. *Arch Biochem Biophys* 2014; 560: 36-43
- 2 Ran ZL, Zhang YL, Wen XY, et al. Curcumin inhibits high glucose-induced inflammatory injury in human retinal pigment epithelial cells through the ROS/PI3K/AKT/mTOR signaling pathway. *Mol Med Rep* 2019; 19(2): 1024-1031
- 3 Farnoodian M, Halbach C, Slinger C, et al. High glucose promotes the migration of retinal pigment epithelial cells through increased oxidative stress and PEDF expression. *Am J Physiol Cell Physiol* 2016; 311(3): C418-C436
- 4 Che D, Zhou T, Lan YQ, et al. High glucose-induced epithelial-mesenchymal transition contributes to the upregulation of fibrogenic factors in retinal pigment epithelial cells. *Int J Mol Med* 2016; 38(6): 1815-1822
- 5 Xie M, Hu A, Luo Y, et al. Interleukin-4 and melatonin ameliorate

- high glucose and interleukin-1 $\beta$  stimulated inflammatory reaction in human retinal endothelial cells and retinal pigment epithelial cells. *Mol Vis* 2014; 20: 921-928
- 6 Chaudhary AK, Pandya S, Ghosh K, et al. Matrix metalloproteinase and its drug targets therapy in solid and hematological malignancies: an overview. *Mutat Res* 2013; 753(1): 7-23
- 7 Garcia C, Bartsch DU, Rivero ME, et al. Efficacy of Prinomastat (AG3340), a matrix metalloprotease inhibitor, in treatment of retinal neovascularization. *Curr Eye Res* 2002; 24(1): 33-38
- 8 Barnett JM, McCollum GW, Fowler JA, et al. Pharmacologic and genetic manipulation of MMP-2 and-9 affects retinal neovascularization in rodent models of OIR. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(2): 907-915
- 9 El Bradey M, Cheng LY, Bartsch DU, et al. Preventive versus treatment effect of AG3340, a potent matrix metalloproteinase inhibitor in a rat model of choroidal neovascularization. *J Ocul Pharmacol Ther* 2004; 20(3): 217-236
- 10 Ghamdi AHA. Clinical predictors of diabetic retinopathy progression; A systematic review. *Curr Diabetes Rev* 2020; 16(3): 242-247
- 11 Song PG, Yu JY, Chan KY, et al. Prevalence, risk factors and burden of diabetic retinopathy in China: a systematic review and meta-analysis. *J Glob Health* 2018; 8(1): 010803
- 12 Nawaz IM, Rezzola S, Cancarini A, et al. Human vitreous in proliferative diabetic retinopathy: characterization and translational implications. *Prog Retin Eye Res* 2019; 72: 100756
- 13 Klaassen I, de Vries EW, Vogels IMC, et al. Identification of proteins associated with clinical and pathological features of proliferative diabetic retinopathy in vitreous and fibrovascular membranes. *PLoS One* 2017; 12(11): e0187304
- 14 Ioachim E, Stefanidou M, Gorezis S, et al. Immunohistochemical study of extracellular matrix components in epiretinal membranes of vitreoproliferative retinopathy and proliferative diabetic retinopathy. *Eur J Ophthalmol* 2005; 15(3): 384-391
- 15 Lakkaraju A, Umapathy A, Tan LX, et al. The cell biology of the retinal pigment epithelium. *Prog Retin Eye Res* 2020; 78: 100846
- 16 Zou H, Shan CL, Ma LL, et al. Polarity and epithelial-mesenchymal transition of retinal pigment epithelial cells in proliferative vitreoretinopathy. *Peer J* 2020; 8: e10136
- 17 Cui N, Hu M, Khalil RA. Biochemical and biological attributes of matrix metalloproteinases. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2017; 147: 1-73
- 18 Abu El-Asrar AM, Alam K, Nawaz MI, et al. Upregulation of thrombin/matrix metalloproteinase-1/protease-activated receptor-1 chain in proliferative diabetic retinopathy. *Curr Eye Res* 2016; 41(12): 1590-1600
- 19 Abu El-Asrar AM, Mohammad G, Allegaert E, et al. Matrix metalloproteinase-14 is a biomarker of angiogenic activity in proliferative diabetic retinopathy. *Mol Vis* 2018; 24: 394-406
- 20 Abu El-Asrar AM, Mohammad G, Nawaz MI, et al. Relationship between vitreous levels of matrix metalloproteinases and vascular endothelial growth factor in proliferative diabetic retinopathy. *PLoS One* 2013; 8(12): e85857
- 21 Abu El-Asrar AM, Ahmad A, Alam K, et al. Extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRN) is a potential biomarker of angiogenesis in proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol* 2017; 95(7): 697-704
- 22 Shalinsky DR, Brekken J, Zou H, et al. Broad antitumor and antiangiogenic activities of AG3340, a potent and selective MMP inhibitor undergoing advanced oncology clinical trials. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 878: 236-270
- 23 Rivera-Delgado E, Nam JK, von Recum HA. Localized affinity-based delivery of prinomastat for cancer treatment. *ACS Biomater Sci Eng* 2017; 3(3): 238-242
- 24 El-Bradey MH, Cheng LY, Bartsch DU, et al. The effect of prinomastat (AG3340), a potent inhibitor of matrix metalloproteinase, on a new animal model of epiretinal membrane. *Retina* 2004; 24(5): 783-789