

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 24520090153724

UDC _____

厦 门 大 学

博 士 学 位 论 文

眼内新生血管性疾病患者循环血中 dickkopf-1
蛋白水平的检测及临床意义

Clinical Significance of Circulating Dickkopf-1 Levels in Patients
with Intraocular Neovascularization

邱芳芳

指导教师姓名: 马建兴 教授
刘祖国 教授

专业名称: 生理学

论文提交日期: 2013 年 05 月

论文答辩日期: 2013 年 05 月

学位授予日期: 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2013 年 05 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

摘要

研究背景及目的

眼内新生血管性疾病包括脉络膜新生血管 (choroidal neovascularization, CNV)及视网膜新生血管 (retinal neovascularization, RNV) 性眼病, 是多种眼部病的共同病理表现, 是最为常见的致盲性眼病。其中, CNV的病因以渗出性年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)最为多见; 糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR) 是发生RNV最为常见的疾病。眼内新生血管性疾病发病机制不明、缺乏针对性强的病因治疗, 这些眼病导致的盲目是当前迫切需要解决的医学难题, 对这些眼病相关方面的研究均具有重要意义。我们以往在动物模型及体外细胞水平的研究显示Wnt/ β -catenin信号通路的异常激活在CNV及DR的炎症、新生血管致病中起着重要的作用。DKK-1是Wnt/ β -catenin信号通路的特异性抑制剂, 是一种分泌性蛋白, 在循环血液中可被检测出。检测循环血中DKK-1蛋白水平有助于从临床水平对病理状态下的Wnt/ β -catenin信号通路异常状态进行研究。

本研究以渗出性AMD及DR分别作为CNV和RNV性疾病的代表, 研究循环血中DKK-1水平与这些眼内新生血管性疾病发生发展的关系, 并对其临床意义进行探讨, 可为Wnt/ β -catenin信号通路异常参与眼内新生血管的发生提供临床依据, 还可为这些疾病防治方法的研究提供思路; 可以认识这些疾病新的危险因素, 为这些疾病的早期干预提供依据; 为这些眼内新生血管性疾病的外周血检测提供一个新的指标。

方法

本研究采用病例-对照的研究方法, 使用 ELISA 检测技术对渗出性年龄相关性黄斑变性及糖尿病视网膜病变两种眼内新生血管性疾病患者血浆 DKK-1 水平进行检测, 分两部分进行:

①以 128 例 50 岁以上的渗出性 AMD 患者为研究对象、以性别及年龄相匹

配的 111 例健康人群作为正常对照组、46 例萎缩性 AMD 患者作为疾病对照组。比较渗出性 AMD 患者 DKK-1 水平与对照组的差异,分析 DKK-1 水平与渗出性 AMD 患者 CNV 进展的关系;探讨 DKK-1 水平与渗出性 AMD 患病风险的关联性;评估检测血浆中 DKK-1 蛋白对渗出性 AMD 患者的鉴别能力。

②以 66 例 40-70 岁的 DR 患者(包括 29 例非增殖性 DR[NPDR]和 37 例增殖性 DR[PDR]患者)为研究对象、以性别及年龄相匹配的 100 例健康人群作为健康对照组、40 例尚未合并 DR 的单纯性 DM 患者(NDR)作为疾病对照组。比较各组 DKK-1 水平的差异以及 DKK-1 水平在 DR 各期中的变化趋势;分析 DKK-1 水平与 PDR 患病风险的关系;评估检测血浆 DKK-1 对 DR 或 PDR 患者的鉴别能力。

结果

1. 在渗出性 AMD 患者中: 1) 渗出性 AMD 患者血浆 DKK-1 水平(530.09 ± 216.17 pg/mL)明显低于健康对照组(785.6 ± 306.72 pg/mL; $P=0.000$)和萎缩性 AMD 组(723.15 ± 284.51 pg/mL; $P=0.000$); 而萎缩性 AMD 与健康对照组血浆 DKK-1 水平无明显差异($P=0.533$); 在渗出性 AMD 患者中,典型性 CNV 患者血浆 DKK-1 水平(466.70 ± 179.69 pg/mL; $N=47$)低于隐匿性 CNV 患者(566.87 ± 227.78 , $N=81$; $P=0.011$)。 2) 低水平的 DKK-1 与渗出性 AMD 有显著关联性,随着 DKK-1 水平的降低,渗出性 AMD 发生的风险增高,健康人群发生渗出性 AMD 的危险性: DKK-1 水平 III 级($592.97 \sim 828.29$ pg/mL)者是 IV 级(≥ 828.30 pg/mL)者的 3.02 倍; II 级($422.47 \sim 592.96$ pg/mL)者是 IV 级者的 5.81 倍; I 级(≤ 422.46 pg/mL)者是 IV 级者的 11.71 倍。萎缩性 AMD 患者发生渗出性 AMD 的危险性: DKK-1 水平 II 级 ($422.47 \sim 592.96$ pg/mL)者是 IV 级(≥ 828.30 pg/mL)者的 5.42 倍; I 级(≤ 422.46 pg/mL)者是 IV 级(≥ 828.30 pg/mL)者的 6.94 倍。 3) 将血浆 DKK-1 蛋白用于从普通人群中区分出渗出性 AMD 患者 AUC 为 0.74 (95% CI: 0.68, 0.80; $P=0.000$), 敏感度 78.9%, 特异度 60.5%; 将血浆 DKK-1 蛋白用于渗出性 AMD 患者与健康人群的鉴别, AUC 为 0.76 (95% CI: 0.70, 0.82; $P=0.000$), 敏感度 78.1%、特异度 63.1%; 用于渗出性 AMD 与萎缩性 AMD 的鉴别, AUC 为 0.70 (95% CI: 0.61, 0.79; $P=0.000$), 敏感度 75.0%, 特异度为 60.9%。

2. 在 DR 患者中: 1) DR 患者血浆 DKK-1 水平 (573.70 ± 247.64 pg/mL) 明显低于健康对照组 (784.35 ± 368.06 pg/mL; $P=0.000$)及 NDR 患者(752.49 ± 242.70 pg/mL; $P=0.000$); 而 NDR 与健康对照组 DKK-1 水平无明显差异 ($P=0.911$); PDR 患者 DKK-1 的水平 (495.47 ± 231.99 pg/mL) 低于 NPDR 患者 (673.52 ± 234.00 ; $P=0.003$); 随着 DR 各期病变的加重, DKK-1 水平呈逐渐降低的趋势, 在视网膜新生血管发生的第IV期降至最低 (462.51 ± 195.52 pg/mL)。2) 低水平的 DKK-1 与 PDR 具有显著关联性。随着 DKK-1 水平降低, 糖尿病患者发生 PDR 的风险升高: DKK-1 水平为 $451.06 \sim 657.33$ pg/mL 的单纯糖尿病患者是高于 919.47 pg/mL 的 5.11 倍; 低于 451.05 pg/mL 者是高于 919.47 pg/mL 者的 9.71 倍。随着 DKK-1 水平降低, NPDR 患者进展为 PDR 的风险也升高: DKK-1 水平低于 451.05 pg/mL 者进展为 PDR 的风险是高于 919.47 pg/mL 者的 5.67 倍。3) 将血浆 DKK-1 蛋白用于 PDR 与单纯糖尿病患者的鉴别, AUC 为 0.78 (95%CI: 0.66, 0.88; $P=0.000$), 敏感度 78.4%, 特异度 72.5%; 对于 PDR 与 NPDR 的鉴别, AUC 为 0.72 (95% CI: 0.60, 0.85; $P=0.002$), 敏感度和特异度分别 73.0%、69.0%。

结 论

(1) DKK-1 水平降低可能与 CNV 及 RNV 两种眼内新生血管性疾病的发生发展均有关系, 可能通过对眼局部 Wnt/ β -catenin 信号通路激活的抑制作用减弱, 从而有助于这些眼内新生血管性疾病的发生及进展。

(2) 低水平的 DKK-1 既是渗出性 AMD 又是 PDR 发生的危险因素, 可能是 CNV 和 RNV 两种眼内新生血管的危险因素。

(3) 循环血中 DKK-1 蛋白对渗出性 AMD 及 PDR 这些眼内新生血管性疾病均具备一定的鉴别效能, 可能具有成为 CNV 和 RNV 这两种眼内新生血管性疾病患者外周血检测指标的潜能。

关键词: Dickkopf-1;眼内新生血管; 脉络膜新生血管; 视网膜新生血管; 渗出性年龄相关性黄斑病变; 糖尿病视网膜病变; 循环血液

厦门大学博硕士学位论文摘要库

Abstract

Background and Purpose Blindness caused by the intra-ocular neovascularization including choroidal neovascularization (CNV) and retinal neovascularization (RNV) in diabetic retinopathy (DR) and in exudative age-related macular degeneration (AMD) remains one of the most urgent medical problems of our times. The Wnt/ β -catenin signaling pathway has been shown to involve in the pathogenesis of CNV and DR in animal model and in vitro. Dickkopf-1 (DKK-1) is a well identified antagonist of Wnt pathway, and expected to be involved in the pathogenesis of these disorders. In this thesis, in order to understand the pathogenesis of intra-ocular neovascularization, we measured the plasma levels of DKK-1 in patients with exudative AMD and DR, investigated whether the circulating or ocular levels of DKK-1 are associated with the pathogenesis of these diseases, and also assessed the correlation of DKK-1 levels with the risk of these diseases, and analyzed the detective values of DKK-1 levels for these disease.

Methods This case-control study included two parts: **1.** One-hundred and twenty-eight exudative AMD patients and 46 atrophic AMD patients and 111 healthy controls were enrolled. All subjects were aged over 50 years old. Subjects were age-matched among these groups. **2.** Sixty-six type 2 diabetic patients with DR including 29 non-proliferative DR (NPDR) and 37 proliferative DR (PDR), 40 type 2 diabetic patients with non-DR patients (NDR), and 100 non-diabetes controls were recruited. Plasma were collected from all subjects, and DKK-1 in the plasma were measured by ELISA.

Results

1. In part one, results showed:

(1) The mean DKK-1 levels in plasma were significantly lower in exudative

AMD patients (530.09 ± 216.17 pg/mL), compared with healthy controls (785.6 ± 306.72 pg/mL; $P=0.000$) and atrophic AMD patients (723.15 ± 284.51 pg/mL; $P=0.000$), while no statistical difference between atrophic AMD patients and controls was observed ($P= 0.533$); Plasma DKK-1 levels were lower in classic CNV patients (466.70 ± 179.69 pg/mL; $N=47$) compared with occult CNV patients (566.87 ± 227.78 , $N=81$; $P=0.011$).

(2) Decreased DKK-1 levels were correlated with the odds ratio (OR) of exudative AMD. In healthy population, the OR for prevalent exudative AMD increased by 3.02, 5.81 and 11.71 for those subjects with DKK-1 levels ranging from 592.97 to 828.29pg/mL, 422.47 to 592.96 pg/mL and those lower than 422.47 pg/mL, respectively, when compared with those with DKK-1 levels higher than 828.30pg/mL. In atrophy AMD population, the OR for prevalent exudative AMD increased by 5.42, 6.94 for those with DKK-1 levels ranging from 422.47 to 592.96 pg/mL and those lower than 422.47 pg/mL respectively, when compared with those with DKK-1 levels higher than 828.30 pg/mL.

(3) When DKK-1 protein were served as a biomarker for euxdative AMD patients, the AUC (area under the receiver operating characteristic curve) were 0.74 (95%CI: 0.68, 0.80; $P=0.000$) for discriminating the probability of euxdative AMD patients from the general population, and the cutoff value were 658.1pg/mL,with the sensitivity of 78.9% and specificity of 60.5%; the AUC 0.76 (95%CI: 0.70, 0.82; $P=0.000$) for the healthy papulation, and the cutoff value 655.2pg/mL,with the sensitivity of 78.1% and specificity of 63.1%; the AUC 0.70 (95% CI: 0.61, 0.80; $P=0.000$) for the atrophy AMD patients, and the cutoff value 613.7pg/mL, with the sensitivity of 75.0% and specificity of 63.1%.

2. In part two, results showed:

(1) Plasma DKK-1 levels were significantly lower in DR patients (573.70 ± 247.64 pg/mL), compared with non-diabetes controls (784.35 ± 368.06 pg/mL; $P=0.000$) and NDR patients (752.49 ± 242.70 pg/mL; $P=0.000$); Plasma DKK-1 levels were lower in PDR patients (495.47 ± 231.99 pg/mL) compared to NPDR patients

(673.52±234.00; P=0.003);

(2) Decreased DKK-1 levels were correlated with the odds ratio (OR) for PDR. In diabetes mellitus population, the OR for PDR increased by 5.12 and 9.71 for those subjects with DKK-1 levels ranging from 451.06 to 657.33pg/mL and those lower than 451.05pg/mL respectively, when compared with those with DKK-1 levels higher than 919.47 pg/mL. In NPDR population, the OR for PDR increased by 5.67, for those with DKK-1 levels lower than 451.05pg/mL, when compared with those with DKK-1 levels higher than 919.47 pg/mL.

(3) When DKK-1 protein were served as a biomarker, the AUC (area under the receiver operating characteristic curve) were 0.78 (95%CI: 0.66, 0.88; P=0.000) for discriminating the probability of PDR patients from type 2 diabetes mellitus, and the cutoff value were 615.2pg/mL, with the sensitivity of 78.4% and specificity of 72.5%; the AUC were 0.72 (95% CI: 0.60, 0.85) for discriminating the probability of PDR patients from NPDR patients, and the cutoff value were 596.2pg/mL, with the sensitivity of 73.0% and specificity of 69.0%.

Conclusion

1) Decreased circulating DKK-1 levels are associated with development of exudative AMD and progression of CNV; the decreased circulating DKK-1 levels may contribute to the Wnt pathway activation.

2) The decreased circulating DKK-1 levels are correlated with increased odds ratio of the development of exudative AMD, and may be the risk factor for this disease and CNV.

3) Circulating DKK-1 levels can be served as a novel biomarker for detection of patients with CNV and RNV.

Keywords: Dickkopf-1; intra-ocular neovascularization; choroidal neovascularization; retinal neovascularization; exudative age-related macular degeneration; diabetic retinopathy; Circulating

厦门大学博硕士学位论文摘要库

目 录

中文摘要	I
Abstract	IV
英文缩略语简表.....	VII
目 录	VIII
Table of Contents	XI
前 言	1
第一部分 渗出性年龄相关性黄斑变性患者血浆 dickkopf-1 蛋白水平 的检测及临床意义	8
1 材料与amp;方法	8
1.1 研究对象及仪器、试剂	8
1.1.1 研究对象	8
1.1.2 主要仪器及试剂	9
1.2 方法	10
1.2.1 研究方法	10
1.2.2 知情同意书的签署	10
1.2.3 临床资料的收集	10
1.2.4 血浆标本的采集及处理	11
1.2.5 血浆 dickkopf-1 蛋白水平的检测	11
1.2.6 质量控制	15
1.2.7 数据处理与统计分析	15

2 结果	17
2.1 ELISA 检测技术可靠性评价	17
2.2 研究对象的一般临床资料	18
2.3 渗出性年龄相关性黄斑变性患者血浆 DKK-1 蛋白水平	20
2.4 血浆 DKK-1 蛋白水平相关因素分析	24
2.5 DKK-1 蛋白水平与渗出性年龄相关性黄斑变性发生的关联性分析	28
2.6 DKK-1 作为渗出性 AMD 患者临床检测指标的价值评估	32
第二部分 糖尿病视网膜病变患者血浆 dickkopf-1 蛋白水平的检测及 临床意义	35
1 材料与方法	35
1.1 研究对象及仪器、试剂	35
1.1.1 研究对象	35
1.1.2 主要仪器及试剂	36
1.2 方法	36
1.2.1 研究方法	36
1.2.2 知情同意书的签署	36
1.2.3 临床资料的收集	37
1.2.4 血浆标本的采集及处理	37
1.2.5 血浆 dickkopf-1 蛋白水平的检测	37
1.2.6 质量控制	37
1.2.7 数据处理与统计分析	37
2 结果	38
2.1 研究对象的一般临床资料	38
2.2 糖尿病视网膜病变患者血浆 DKK-1 蛋白水平	39
2.3 血浆 DKK-1 水平相关因素分析	43
2.4 DKK-1 水平与糖尿病视网膜病变发病的关联性分析	47
2.5 血浆 DKK-1 作为糖尿病视网膜病变患者临床检测指标的价值评估	50
讨论	54
结论	61

全文总结	62
下一步的研究计划	63
创新性的自我评价	64
参考文献	65
综述	73
攻读博士学位期间的研究成果	84
致谢	86

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库