creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

[UCI]I804:24011-200000240141

2010 년 8 월
박사학위 논문

당뇨망막병증환자에서 전방내, 유리체내, 혈청내의 VEGF 및 PEDF농도 비교분석

조선대학교 대학원
의 학 과
허 준

당뇨망막병증환자에서 전방내, 유리체내, 혈청내의 VEGF 및 PEDF농도 비교분석

Analysis of VEGF and PEDF Concentration in Aqueous, Vitreous, Plasma of Diabetic Retinopathy Patient

2010 년 8 월 일

조선대학교대학원

의 학 과

허 준

당뇨망막병증환자에서 전방내, 유리체내, 혈청내의 VEGF 및 PEDF농도 비교분석

지도교수 최 광 주

이 논문을 의학박사 학위신청 논문으로 제출함

2010 년 6 월

조선대학교대학원

의 학 과

허 준

허준의 박사학위 논문을 인준함

위원장　　경희대학교 교수 곽형우

위원　　조선대학교 교수 최광주

위원　　전북대학교 교수 조남천

위원　　조선대학교 교수 안태훈

위원　　조선대학교 교수 김대현

2010 년　6　월

조선대학교 대학원

목 차

표목차 ---------- ii

도목차 ---------- iii

영문초록 ---------- iv

서론---------- 1

대상과 방법---------- 2

결과---------- 4

고찰---------- 5

참고문헌---------- 8

표 목 차

Table 1. Characteristics of Patient group ----------12

Table 2. Concentrations of VEGF and PEDF in aqueous humor-- 13

Table 3. Concentrations of VEGF and PEDF in vitreous Fluids-- 14

Table 4. Concentrations of VEGF and PEDF in plama--------- 15

도 목 차

Fig 1. VEGF and PEDF levels in the aqueous humor from the eye with diabetic retinopathy and control ---------- 16

Fig 2. VEGF and PEDF levels in the vitreous fluids from the eye with diabetic retinopathy and control---------- 17

Fig 3. VEGF and PEDF levels in the plasma from the eye with diabetic retinopathy and control---------- 18

Abstract

Analysis of VEGF and PEDF Concentration in Aqueous, Vitreous, Plasma of Diabetic Retinopathy Patient

Heo Jun .
Advisor : Prof. Choi Kwang-Ju Ph.D.
Department of Medicine,
Graduate School of Chosun University

Purpose : To analyze the levels of vascular endothelial growth factor(VEGF) and pigment epithelium-derived factor(PEDF) in the aqueous, vitreous, plasma of patients with diabetic retinopathy(DR).

Methods : seventy eyes of 66 patients with diabetic retinopathy and 42 eyes of 40 patients with nondiabetic ocular disease as control subjects were analyzed. Diabetic retinopathy patients were divided into 3 group including nonproliferative diabetic retinopathy(NPDR group, n=21), posterior proliferative diabetic retinopathy(post. PDR group, n=38), anterior proliferative proliferative diabetic retinopathy(ant. PDR group, n=11). The concentration of VEGF and PEDF in the aqeous, vitreous, plasma were measured by enzyme linked immunosorbent assay(ELISA).

Results : The aqeous level of VEGF was significantly higher in ant. PDR group($P<0.05$). The vitreous level of VEGF was significant higher in post. PDR group($P<0.05$). The plama level of VEGF was higher in NPDR group($P<0.05$). The PEDF concentration difference between groups in aqeous, vitreous, plasma were not statistically significant.

Conclusions : The VEGF concentration was higher in region of ocular tissue that active neovascularization exist. In diabetic retinopathy, the VEGF was significantly correlate with the neovascularization and more important than PEDF.

Key Words : Diabetic retinopathy, VEGF, PEDF.

서 론

당뇨망막병증은 당뇨병을 가진 환자에서 실명을 가져올 수 있는 중요한 합병증이다. 당뇨망막병증에서 나타나는 시력저하의 원인으로는 황반부종, 유리체 출혈, 망막박리, 신생혈관 녹내장등이 있는데, 이들을 일으키는 중요한 조직학적 변화가 신생혈관의 생성이다.[1] 이러한 신생혈관의 생성은 여러 복잡한 기전에 의해 일어날 것으로 생각되어지고 있으며, 현재 가장 널리 알려진 기전은 여러 가지 혈관신생인자에 의한 신생혈관 발생이다.[2-5]

혈관신생인자에는 혈관신생을 촉진하는 인자와 혈관신생을 억제하는 인자로 구분할 수 있는데, 촉진하는 인자로 잘 알려져 있는 것이 VEGF(Vascular endothelial growth factor, VEGF)이고 억제하는 인자로 대표적인 것이 PEDF(pigment epithelium derived factor)이다. VEGF는 혈관내피세포에 특이적으로 결합하여 혈관투과성을 증가시키고, 내피세포를 분열시켜 혈관신생을 촉진하는 물질로 알려져 있다.[6-8] 여러 연구들에 의해 VEGF가 당뇨망막병증의 진행에 관련이 있음이 보고되었으며, 망막 내에 신생혈관이 있을 때 유리체 내의 VEGF의 농도가 신생혈관이 없는 당뇨망막병증이나 비당뇨성 안질환 환자의 유리체 내의 농도보다 높다고 보고되었다.[9-11]

PEDF는 망막상피세포에서 분비하는 당단백질로 망막 내의 광수용체사이의 기질과 유리체 내에 존재하고. 혈관신생을 억제하는 인자로 알려져 있다.[12-14] 특히 안구조직에서 유리체 내 대부분의 혈관신생억제에 관여하는 것으로 알려져있고.[15] 당뇨망막병증에서는 유리체내 농도가 낮은 것으로 보고되었다.[12,16]

지금까지 당뇨망막병증 환자들을 대상으로 한 연구들은 주로 유리체 내에서의 VEGF, PEDF 농도를 측정하여 비교한 것이 대부분이다. 이에 저자들은 당뇨망막병증환자의 유리체내 뿐만 아니라 전방수, 혈장 내에서도 VEGF, PEDF 농도를 측정하여 당뇨망막병증의 정도에 따라 농도의 차이가 있는지 알아보고자 하였다.

대상과 방법

2009년 3월부터 2010년 2월까지 조선대학교병원에서 당뇨망막병증으로 진단받고 유리체 절제술을 시행했던 65명 70안을 대상으로 하였고 비당뇨병성 안질환으로 안 수술을 시행했던 40명 42안을 대조군으로 하였다. 당뇨망막병증은 단계별로 비증식성당뇨망막병증군(NPDR군), 앞증식성당뇨망막병증군(Ant, PDR군), 뒤증식당뇨망막병증군(Post, PDR군)으 3군으로 구분하였고 세극등현미경과 우각경 검사 상 홍채신생혈관(NVI)이나 전방각 신생혈관(NVG)이 있는 경우를 앞증식성당뇨망막병증군, NVI나 NVG없이 유리체, 망막에만 신생혈관이 있을 때를 뒤증식성당뇨망막병증 군으로 분류하였다. 모든 분류는 한명의 술자에 의해 시행되었고 비증식성과 증식성의 분류는 조기당뇨망막병증치료연구(ETDRS)의 기준을 바탕으로 술 전, 술 중의 안저 소견을 보고 시행하였다. 대조군에 포함된 환자들은 백내장(cataract), 망막전막(Epiretinal membrane; ERM), 황반원공(Macular Hole; MH)으로 수술을 받은 경우였다. 전에 수술을 받은 환자, 당뇨망막병증 이외에 망막허혈질환이 동반된 환자들은 대상에서 제외하였다. 시료의 채취는 모든 대상 환자들에게 수술 직전 전방수, 유리체 내에서 1cc 주사기를 이용하여 0.3cc 정도 채취하였고 동시에 환자의 정맥에서 혈액을 채취한 후 10분간 원심분리한 후 혈장을 분리하였다. 채취된 시료는 바로 영하 70도에서 냉동보관 후 분석하였다. 시료에서 VEGF와 PEDF의 농도측정은 hVEGF(R&D Systems, MN, NSA)와 hPEDF(Chemicon International, MA, USA) ELISA kit를 각각 이용하였다. VEGF농도의 측정은 100 µl 씩의 assay diluent RD1W(R&D system, MN, USA)을 VEGF에 대한 항체가 코팅되어 있는 96 well micrplate의 각각에 넣었다. 100 µl의 상측액을 각각의 well에 넣은 뒤 2시간 동안 실온에서 배양하였다. 그 후 세척액으로 3번 세척한 후 200 µl의 VEGF conjugate(horseradish peroxidase가 붙어있는 VEGF polyclonal antibody)를 넣은 후 2시간 동안 실온에서 배양하였다. 그 후 다시 세척액으로 세척한 후 200 µl의 substrate solution을 각각의 well에 넣고 차광 한 뒤 실온에서 25분간 배양하였다. 50 µl의 stop solution을 넣은 후 uQuant microplate reader(Bio-Tek Instruments, VT, USA)를 이용하여 450nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. PEDF농도의 측정은 시료를 8 M의 요소로 얼음위에서 1시간동안 처리하였다. 그 후 1:100 assay diluent로 희석하여 PEDF antibody가 코팅되어 있는 microplate well에 넣은 후 37도에서 1시간 동안 배양하였다. microplate를 4차례 세척한후 100 µl의 희석된 biotinylated mouse ant-human PEDF

monoclonal antibody를 well에 넣은후 37도에서 1시간동안 배양하였다. 그후 100 µl의 희석된 streptavidin-peroxidase conjugate를 넣은후 37도에서 1시간 동안 배양하였다. 100 µl의 TMB/E solution(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine plus ehcancer)를 10분간 첨가한후 100 µl의 stop solution을 넣은후 450nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 각 sample의 VEGF와 PEDF농도는 측정된 흡광도와 standard curve의 linear part를 이용하여 계산하였다. 통계처리는 SPSS V. 10.0 프로그램을 이용하였으며 각군에서 VEGF와 PEDF농도의 차이는 Kruskal Wallis test로 이용하였고 duncan method로 사후검정을 시행하였다. 각군의 전방수, 유리체내, 혈장내 VEGF와 PEDF의 연관성 분석은 spearman-rank correlation을 이용하였다.

결 과

대조군(control군)의 평균 나이는 62.48세였고 남자가 18명 여자가 22명이었다. 비증식성 당뇨망막병증 군(NPDR군)의 평균 나이는 63.3세였고 남자가 9명, 여자가 10명이었다. 뒤 증식성당뇨망막병증 군(post, PDR군)의 평균나이는 59.03세, 남자 18명, 여자 18명이었다. 앞 증식성당뇨망막병증 군(ant, PDR군)의 평균나이는 59.73세였고 남자가 6명, 여자가 5명이었다. 각 군 간 나이, 성별은 통계적으로 차이가 없었다(Table 1).

전방 수에서 시료채취가 가능하였던 환자들을 대상으로 VEGF 농도를 측정하여 비교한 결과 대조군에 비해 당뇨망막병증의 3군에서 모두 수치가 높았으며, 특히 Ant, PDR군에서 855.5 ± 584.42 pg/ml로 가장 높게 나타났다(Table 2, Fig 1). PEDF의 농도는 대조군과 NPDR군 사이에서 차이가 있었고 나머지 군 간에는 유의한 차이가 없었다. 유리체 내에서 시료채취가 가능하였던 환자들을 대상으로 VEGF 농도를 측정하여 비교한 결과 대조군에 비해 당뇨망막병증 3군에서 모두 수치가 높았으며 특히 Post, PDR군에서 933.94 ± 1086.58 pg/ml로 가장 높게 나타났다(Table 3, Fig 2). PEDF 농도는 NPDR군과 ant, PDR군 사이에 차이가 있었고 나머지 군 사이에는 유의한 차이가 없었다. 혈장에서 시료채취가 가능하였던 환자들을 대상으로 VEGF 농도를 측정한 결과 대조군에 비해 NPDR군만이 304.22 ± 201.11 pg/ml 로 높게 나타났으며, NPDR 군은 대조군뿐만 아니라 Ant, post PDR군에 비해서도 유의하게 수치가 높게 측정되었다(Table 4, Fig 3). PEDF 농도는 각 군 간의 유의한 차이가 없었다.

각 군에서 전방수내의 VEGF 농도와 PEDF 농도 사이에는 상관관계가 없었다: control(r=-0.15), NPDR(r=0.23), post, PDR(r=0.08), ant, PDR(r=0.26). 각 군에서 유리체 내의 VEGF 농도와 PEDF 농도 사이에는 상관관계가 없었다: control(r=0.08), NPDR(r=0.09), post, PDR(r=0.12), ant, PDR(r=0.28). 각 군에서 혈장내 VEGF 농도와 PEDF 농도 사이에는 상관관계가 없었다: control(r=-0.18), NPDR(r=-0.34), post, PDR(r=-0.16), ant, PDR(r=0.17).

고 찰

안내신생혈관은 당뇨망막병증, 허혈성망막정맥폐쇄, 미숙아망막병증등의 망막허혈질환 등에서 잘 발생한다.[17,18] 망막정맥폐쇄에서는 망막혈류가 감소하여 망막허혈이 발생하고, 당뇨망막병증에서는 망막모세혈관의 폐쇄, 미숙아망막병증에서는 망막주변부혈관 발생부전 및 소실 등에 의해 망막에 허혈이 발생한다.[19,20] 특히 당뇨망막병증은 성인에서 실명을 일으키는 가장 대표적인 질환으로 이 질환에서 실명이 발생하는 조직병리적인 원인은 망막모세혈관의 소실로 인한 망막허혈이다. 망막에 허혈이 일어나 산소공급을 받지 못하게 되면, 허혈조직 주위로 새로운 혈관이 자라나 부족한 산소공급을 보충하려고 하는데, 이때 새로 생겨난 혈관은 정상혈관조직보다 혈관내피세포간 접착력이 약한 병적인 혈관이다.[21,22] 이러한 신생혈관은 당뇨망막병증에서 유리체 출혈, 황반부종, 망막박리, 신생혈관녹내장등의 합병증을 유발하여 실명에 이르게 한다.

현재 지금까지의 연구들에 의해 신생혈관발생은 이를 촉진하는 신생혈관촉진인자와 이를 억제하는 신생혈관억제인자들이 관여하여 일어난다는 것이 어느 정도 밝혀진 상태이다. 신생혈관촉진인자는 안구조직에 허혈이 발생하면 주로 생성되게 되는데 이러한 촉진인자들로는 혈관내피세포성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF),[9,11] 인슐린양성장인자(insulin-like growth factor, IGF-1),[23-25] 간세포성장인자(hepatocyte growth factor),[26-28] 혈소판유래성장인자(platelet-derived growth factor,[29] 변형성장인자 - β(transforming growth factor - β 등이 알려져 있다. 신생혈관억제인자에는 angiostatin,[30] endostatin,[31] antithrombin Ⅲ[32], thrombospondin[33], platelet factor-4[34]등과 pigment-epithelium derived factor[15]등이 알려져 있다. 이들 인자 중 신생혈관촉진인자 중에는 VEGF가, 신생혈관 억제인자 중에는 PEDF가 가장 핵심적인 역할을 할 것으로 생각되어지고 있다.

VEGF는 혈관내피세포에 특이성을 가지는 당단백으로 혈관내피세포에 있는 수용체와 결합하여 내피세포의 분열을 촉진하고 투과성을 증가시키는 기능을 가진다.[9] VEGF는 사람에서는 4가지 형태로 존재하는데 세포표면에 부착하는 $VEGF_{189,206}$와 유리체내에서 확산하는 $VEGF_{121,165}$형으로 나뉘어 진다.[35] 주로 망막색소상피에서 분비되고, 맥락막모세혈관, 망막모세혈관, 망막색소상피에 주로 수용체가 분포한다.[36] PEDF는 50-Kd의 무게를 가진 당단백으로 세린단백질분해효소 억제제(serine protease inhibior)의 일종으로 알려져 있다.[37] 주로 망막색소상피세포에서 광수용체사이 기질로 분비되고 사람의 유리체내에도 높은농도로 존재하는 것으로 알려져 있다.[14] 동물실험등에 의해 혈관생성을 억제하는 물질로 알려져 있고, 특히 눈에서 허혈이 있을 때 생산이 감소하는 것으로 알려져 있다.[16]

VEGF는 당뇨망막병증에서 나타나는 신생혈관의 발생에서 주요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데, 증식당뇨망막병증의 유리체내에서 비증식당뇨망막병증이나 비당뇨성안질환환자의 유리체내보다 VEGF농도가 높은 것으로 보고되어 졌고,[11] Ogata[38]등은 통계적으로 유의하지는 않았지만 비증식당뇨망막병증보다 증식당뇨망막병증에서 유리체내 VEGF 농도가 높은 것으로 보고하였다. 본 연구에서도 통계적으로 유의하지는 않았지만 전, 후부를 포함한 증식망막병증에서 비증식당뇨망막병증보다 유리체 VEGF농도가 높은 것을 알 수 있었다. 또한 대조군에 비해서는 유의하게 증식당뇨망막병증에서 유리체 내 VEGF 농도가 높은 것으로 나타나 기존의 연구 결과와 같은 것을 알 수 있었다. 전방 내 VEGF 농도측정에 관한 연구는 드문데 Aiello등[11]은 후안부에 신생혈관이 있는 10명의 환자에서 동시에 유리체내와 전방 내에 VEGF농도를 측정한 결과, 유리체내의 VEGF농도가 전방수의 VEGF 농도보다 60%정도 더 높다고 하였다. 이는 VEGF가 전방 내에서 빠르게 제거되고 전방 내에서 빠르게 분해되기 때문이라고 하였다. 본 연구에서도 후안부에 신생혈관이 있는 경우에는 유리체내 VEGF농도가 전방 내 VEGF농도보다 높은 것으로 나타나 Aiello의 연구와 비슷한 결과를 보였다. 본 연구는 추가로 홍채나 전방각등의 전안부에 신생혈관이 있는 경우를 별도로 분류하여 후안부에만 신생혈관이 있는 경우와 전방 내 VEGF 농도의 차이를 비교하였는데 전안부에 신생혈관이 있을 때에는 후안부에만 신생혈관이 있는 경우에 비해 전방 내 VEGF 농도가 높은 것을 알 수 있었다. 이는 비록 전방 내에서는 VEGF가 빠르게 분해되기는 하지만 홍채나 전방각에 신생혈관이 있는 경우에는 농도가 증가하여 신생혈관의 발생에 관여한다는 사실을 뒷받침하는 결과라 할 수 있겠다. 당뇨망막병증에서 혈청 내 VEGF 농도의 연구에서는 당뇨망막병증의 정도에 따른 혈청 내 VEGF 농도의 차이는 존재하지 않는다고 하였다.[11] 하지만 본 연구에서는 비증식당뇨망막병증 군에서 혈청 내 VEGF 농도가 가장 높은 것을 알 수 있었다. 이의 이유는 현재 알 수는 없지만 혈청 내 VEGF 농도는 당뇨망막병증의 정도를 반영하기 보다는 혈청 내 지질농도등 기타 요인과 더 관계가 많을 가능성이 있을 것으로 생각된다.

당뇨망막병증에서 유리체내 PEDF 농도에 관한 연구에서는 당뇨망막병증의 정도가 심할수록 PEDF 농도는 낮아지는 것으로 보고되어졌다.[38,39] Gao등[39]은 망막에 신생혈관이 있는 경우에 나이를 보정한 대조군과 비교했을 때 VEGF 농도는 5배 높고 PEDF 농도는 2배 낮다고 보고하였고 특히 망막의 신생혈관의 정도가 심할수록 PEDF 농도는 감소한다고 하였다. 혈청내 PEDF 농도에 관한 연구에서는 Ogata등[40]이 당뇨망막병증환자의 혈청에서 정상대조군보다 PEDF 농도가 올라간다고 하였고, 특히 증식당뇨망막병증환자에

서 가장 높다고 하였다. 이의 이유로 당뇨망막병증을 가진 환자들은 전신적으로 포도당 대사 산물인 Advanced glycation end products(AGEs)가 증가하고 또한 VEGF 농도도 증가하여 이를 대항하기 위해 혈중 PEDF 농도가 증가한다고 하였다. 하지만 본 연구에서는 유리체 내와 전방 내, 혈청 내 PEDF 농도가 각 군 사이에 유의한 차이가 없었고, 당뇨망막병증의 정도에 따른 농도의 차이도 없었다. 이러한 결과의 이유는 추후 많은 환자수를 대상으로 한 추가적 연구를 통해 밝혀야 할 것으로 생각된다.

Murugeswari등[41]은 증식당뇨망막병증에서 유리체내 VEGF와 PEDF 농도는 통계적인 상관관계가 없다고 하였다. Funatsu등[42]은 당뇨황반부종을 가진 환자의 유리체내의 VEGF 농도와 PEDF 농도를 조사한 결과 VEGF 농도는 높아지고 PEDF 농도는 낮다고 하였지만 VEGF 농도와 PEDF 농도사이에는 연관성은 없다고 하였다. 따라서 두 물질이 독립적으로 혈관신생과 혈관투과성조절에 관여할 것이라고 보고 하였다. 본 연구에서는 유리체 내뿐 아니라 전방 내, 혈청 내의 VEGF 농도와 PEDF 농도사이의 연관성을 각 군 에서 조사하였지만 통계적 연관성은 발견할 수 없어 기존의 연구결과와 비슷하였다.

Funatsu등[43]은 당뇨망막병증환자의 전방, 유리체, 혈청 내의 VEGF 농도를 측정한 결과 전방과 유리체사이의 농도에는 상관관계가 있고 전방과 유리체 내의 농도가 혈청 내의 농도보다 높다고 하였다. 또한 전안부에 신생혈관이 없고 후안부에만 신생혈관이 있는 환자에서는 항상 유리체 내의 VEGF 농도가 전방 내보다 높다고 하였다. 본 연구에서는 증식당뇨망막병증에서는 전방 내와 유리체 내의 VEGF 농도가 혈청 내의 농도보다 높았지만 비증식당뇨망막병증 군에서는 혈청 내의 VEGF 농도가 전방 내보다 높은 것으로 나타났다. 또한 후안부에만 신생혈관이 있는 후안부 증식당뇨망막병증에서의 VEGF 농도는 유리체 내가 전방 내보다 높은 것을 알 수 있었지만 Funatu의 연구는 한 사람에서 동시에 비교를 한 것이고 본 연구는 전방 내, 유리체 내에서 시료를 측정 가능했던 환자들을 대상으로 농도 치만을 비교한 것이기 때문에 직접적인 비교는 힘들 것으로 생각된다. 추가로 본 연구에서는 각 군에서 VEGF 농도와 PEDF 농도의 전방 내, 유리체 내, 혈청 내의 연관성이 있는지 알아보았지만 통계적으로 유의한 결과는 발견할 수 없었다.

본 연구에서는 신생혈관이 발생한 안구 내 부위에 VEGF 농도가 높은 것을 알 수 있었지만 PEDF 농도와의 연관성을 찾을 수 없었다. 또한 전방 내와 유리체 내, 혈청 내 사이에는 VEGF 농도와 PEDF 농도가 서로 연관성이 없었다. 앞으로 위의 세 부위에서 동시에 시료채취가 가능했던 환자들을 대상으로 한 연구가 추가적으로 시행되어야 할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Moss SE, Klein R, Klein BE. 14-year incidence of visual loss in a diabetic population. Ophthalmology 1998;105:998-1003.
2. Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factor. Science 1987;235:442-7.
3. Risau W, Flamme I. Vasculogenesis. Ann Rev Cell Dev Biol 1995;11:73-91.
4. D'Amore PA. Mechanism of retinal and choroidal neovascularization. Invest ophthalmol Vis Sci 1994;35:3974-9.
5. Casey R, Li WW. Factors controlling ocular angiogenesis. Am J Ophthalmol 1997;124:521-9.
6. Ferrara N, Houck K, Jakeman L, Leung DW. Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. Endocr Rev 1992;13:18-32.
7. Senger DR, Perruzzi CA, Feder J, Dvorak HF. A highly conserved vascular permeability factor secreted by variety of human and rodent tumor cell lines. Cancer Res 1986;46:5629-32.
8. Keck PJ, Hauser SD, Krivi G, et al. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. Science 1982;246:1306-9.
9. Adamis AP. Miller JW, Bernal M-T, et al. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. Am J Ophthalmol 1994;118:445-50.
10. Oh JW, Seo JB, Koak NH, et al. The function of cytokines in several vitreoretinal diseases. J Korean Ophthalmol 2001;42:160-8
11. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of pateints with diabetic retinopathy and other retinal disorders. N Engl J Med 1994;331:1480-7.
12. Seigel GM, Tombran-Tink J, Becerra SP, et al. Differentiation of Y79 retinoblastoma cells with pigment epithelium derived factor and interphotoreceptor matrix wash: effects on tumorgenicity. Growth Factors 1994;10:289-297.
13. Wu YQ, Becerra P. Proteolytic activity directed toward pigment epithelium derived factor in vitreous of bovine eyes. Invest Ophthalmol Vsi Sci 1996;37:1984-1993.
14. Ogata N, Tombran-Tink J, Nishikawa M, et al. pigment epithelial derived factor in

the vitreous is low in diabetic retinopathy and high in rhegmatogenous retinal detachment. Am J Ophthalmol 2110;132:378-382.

15. Dawson DW, Volpert OV, Gillis P, et al. Pigment epithelium derived factor: A potent inhibitor of angiogenesis. Science 1999;285:245-248.
16. Spranger J, Osterhoff M, Reimann M, et al. Loss of antiangiogenic pigment epithelium derived factor in patients with angiogenic eye disease. Diabetes 2001;50:2641-2645.
17. White P. childhood diabetes : its course, and influence on the second and third generation. Diabetes 1960;9:345-355.
18. Patz A. Studies on retinal neovascularization. Invest Ophthalmol Vis Sci 1980;19:1133-1138.
19. Hayreh SS, Rojas P, Podhajsky P, Montague P, Woolson RF. Ocular nerovascularization with retinal vascular occlusion. Ⅲ. Incidence of ocular neovascularization with retinal vein occlusion. Ophthalmology 1983;90:488-506.
20. Brown GC, Magargal LE. The ocular ischemic syndrome: clinical fluorescein angiographic and carotid angiographic features. Int Ophthalmol 1988;11:239-251.
21. Kohner E, Henkind P. Correlation of fluorescein angiogram and retinal digest in diabetic retinopathy. Am J Ophthalmol 1970;69:403-14.
22. Bresnik GH, David, Myers FL, et al. Clinicopathologic correlations in diabetic retinopathy. Am J Ophthalmol 1977;95:1215-20.
23. Grant M, Russell B, Fitzgerald C, Merimee TJ, Insulin-like growth factors in vitreous. Studies in control and diabetic subjects with neovascularization. Diabetes 1986;35:416-420.
24. Meyer-Schwickerath R, Pfeiffer A, Blum WF, et al. Vitreous levels of the insulin-like growth factors I and II, and the insulin-like growth factor binding proteins 2 and 3, increase in neovascular eye disease. Studies in nondiabetic and diabetic subjects. J Clin Invest 1993;92:2620-2625
25. Spranger J, Buhnen J, Jansen V, et al. Systemic levels contribute significantly to increased intraocular IGF-I, IGF-II and IGF-BP3 [correction of IFG-BP3] in proliferative diabetic retinopathy. Horm Metab Res 2000;32:196-200.
26. Katsura Y, Okano T, Noritake M, et al. Hepatocyte growth factor in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy and other retinal disorders. Diabetes Care 1998;21:1759-1763.

27. Nishimura M, Ikeda T, Ushiyama M, Nanbu A, Kinoshita S, Yoshimura M. Increased vitreous concentrations of human hepatocyte growth factor in proliferative diabetic retinopa-thy. J Clin Endocrinol Metab 1999;84:659-662.
28. Canton A, Burgos R, Hernandez C, et al. Hepatocyte growth factor in vitreous and serum from patients with proliferative diabetic retinopathy. Br J Ophthalmol 2000;84:732-735.
29. Fretyberger H, Brocker M, Yakut H, et al. Increased levels of platelet-derived growth factor in vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. Exp Clin Endocrinol Diabetes 2000;108:106-109.
30. O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y, et al. Angiostatin: anovel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. Cell 1994;79:315-328.
31. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, et al. Endostatin: anendogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. Cell 1997;88:277-285.
32. O'Reilly MS, Pirie-Shepherd S, Lane WS, Folkkman J. An-tiangiogenic activity of the cleaved conformation of the serpin antithrombin. Science 1999;285:1926-1928.
33. Good Dj, Polverini PJ, Rastinejad F, et al. A tumor suppres-sor-dependent inhibitor of angiogenesis is immunologically and functionally indistinguishable from a fragment of throm-bospondin. Proc Natl Acad Sci USA 1990;87:6624-6628.
34. Maione TE, Gray GS, Petro J, et al. Inhibition of angiogen-esis by recombinant human platelet factor-4 and related peptides. Science 1990;274:77-79.
35. Houck KA, Leung DW, Rowland AM, et al. Dual regulation of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in virto. Biochem Biophys Res Commun 1992;189:824-31
36. Boulton M, Foreman D, Williams G, McLeod D, Vascular endothelial growth factor localization in diabetic retinopathy. Br J Ophthalmol 1998;82:561-8.
37. Steele FR, Chader GJ, Johnson LV, Tombran-Tink J. Pigment epithelium-derived factor: neurotrophic activity and identifi-cation as a member of the serine protease inhibitor gene family. Proc Natl Acad Sci U S A 1993;90:1526-30.
38. Ogata N, Nishikawa M, Nishimura T, Mitsuma Y, Mat-sumura M. Unbalanced vitreous levels of pigment epitheli-um-derived factor and vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy. Am J Ophthalmol 2002;134:348-353.

39. Gao G, Li Y, Zhang D, Gee S, Crosson C, Ma J-X. Unbalanced expression of VEGF and PEDF in ischemia-induced retinal neovascularizarion. FEBS Lett 2001;489:270-276.
40. Ogata N, Matsuoka M, Matsuyama K, Shima C, Tajika A, Nishitama T, Wada M, Jo N, Higuchi A, Minamino K, Matsunaga H, Takeda T, Matsumura M.. Plasma -Concentration of Pigment Epithelium-Derived Factor in Patients with Diabetic Retinopathy. J Clin Endocrinol Metab 2007;92:1176-1179.
41. Murugeswari P, Shukla D, Rajendran A, Kim R, Namperumalsamy P, Muthukkaruppan V. Proinflammatory cytokines and angiogenic and anti-angiogenic factors in vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy and eales' disease. Retina 2008;28:817-824.
42. Funatsu H, Yamashita H, Nakamura S, Mimura T, Eguchi S, Noma H, Hori S. Vitreous Levels of Pigment Epithelium-derived factor and Vascular Endothelial Growth Factor are Related to Diabetic Macular Edema. Ophthalmology 2006;113:297-301.
43. Funatsu H, Yamashita H, Noma H, Mimura T, Nakamura S, Sakata K, Hori S. Aqueous humor levels of cytokines are related to vitreous levels and progression of diabetic retinopathy in diabetic patients. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol 2005;243:3-8.

Table 1. Characteristics of Patient group

	Control	NPDR	Post. PDR	Ant. PDR	P value
Age(yr)	62.48±10.75	63.32±7.92	59.03±7.99	59.73±7.23	0.1118
Sex(F/M)	22/18	9/10	18/18	6/5	0.942

NPDR = nonproliferative diabetic retinopathy; post. PDR = posterior proliferative diabetic retinopathy; ant. PDR = anterior proliferative diabetic retinopathy

Table 2. Concentrations of VEGF and PEDF in aqueous humor

	Patient group	N	Mean	SD	Median	Range	p-value
VEGF (pg/mL)	Control	23	147.57	70.09	145	271	1
	NPDR	16	238.25	159.2	206.5	571	0.0207
	Post. PDR (NVI -)	26	321.69	298.52	223	1094	0.042
	Ant. PDR (NVI +)	10	855.5	583.42	822	1769	0.0004
PEDF (ng/mL)	Control	23	0.83	1.37	0.41	6.6	1
	NPDR	14	1.12	0.82	0.75	2.28	0.0295
	Post. PDR (NVI -)	28	0.86	0.71	0.61	2.95	0.1118
	Ant. PDR (NVI +)	11	1.11	0.68	1.04	2.46	0.0579

VEGF = vascular endothelial growth factor
PEDF = pigment epithelium derived factor
NVI = Neovascularization of iris

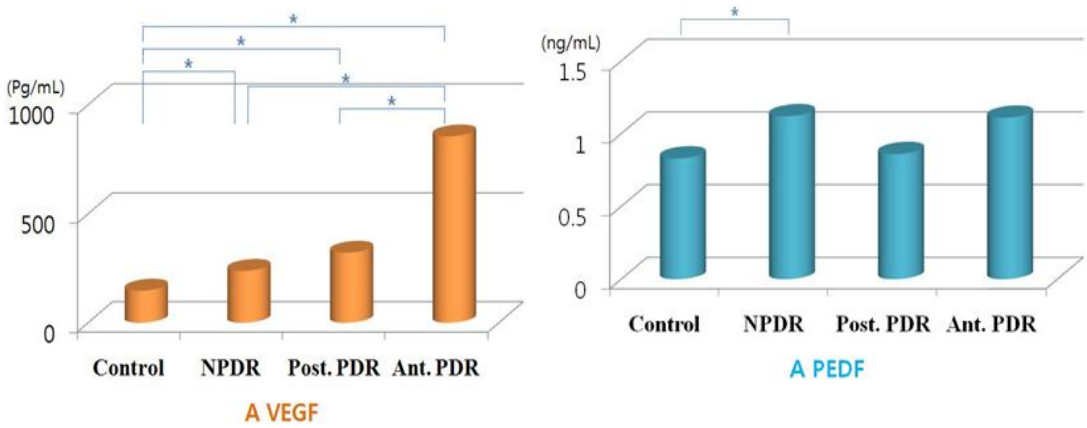
Table 3. Concentrations of VEGF and PEDF in vitreous Fluids

	Patient group	N	Mean	SD	Median	Range	p-value
VEGF (pg/mL)	Control	21	79.86	26.92	73	125	1
	NPDR	14	750.71	1064.02	296.5	3408	<.0001
	Post. PDR (NVI -)	36	933.94	1086.58	407	3762	<.0001
	Ant. PDR (NVI +)	11	698.64	619.98	623	2091	<.0001
PEDF (ng/mL)	Control	20	3.08	2.24	3.00	6.97	1
	NPDR	13	4.14	2.11	3.64	6.81	0.1909
	Post. PDR (NVI -)	36	3.08	1.65	3.71	5.49	0.5325
	Ant. PDR (NVI +)	11	2.42	1.16	2.64	3.49	0.4957

Table 4. Concentrations of VEGF and PEDF in plama

	Patient group	N	Mean	SD	Median	Range	p-value
VEGF (pg/mL)	Control	26	157	95.66	98.5	283	1
	NPDR	18	304.22	201.11	265.5	702	0.0031
	Post. PDR (NVI -)	36	196.28	175.33	118	598	0.3354
	Ant. PDR (NVI +)	10	131.1	30.94	139	82	0.7238
PEDF (ng/mL)	Control	26	2.82	0.87	3.04	3.54	1
	NPDR	17	3.14	0.74	3.49	2.47	0.1394
	Post. PDR (NVI -)	35	3.18	1	3.28	4.46	0.1727
	Ant. PDR (NVI +)	10	3.10	0.40	3.20	1.27	0.0791

Fig 1. VEGF and PEDF levels in the aqueous humor from the eye with diabetic retinopathy and control

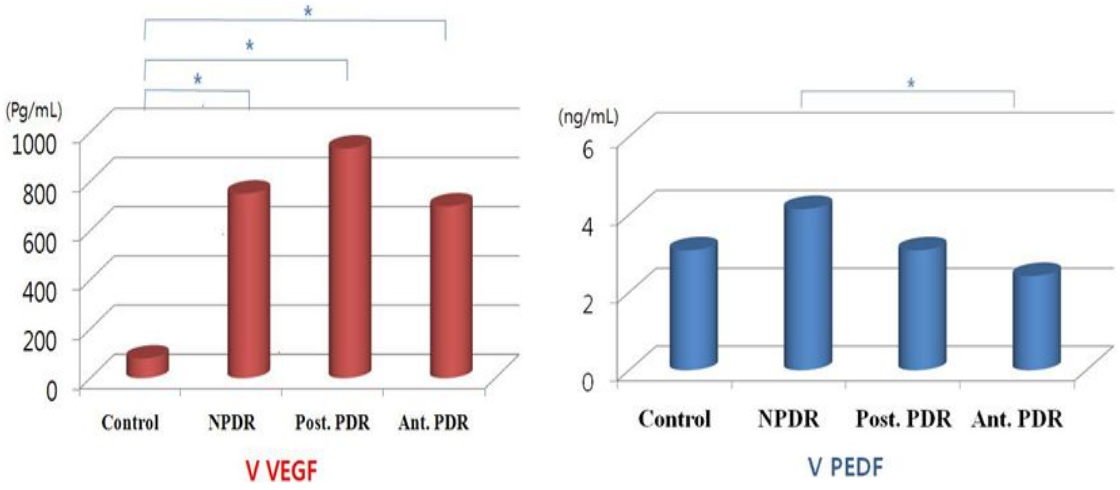


A VEGF = aqueous humor VEGF

A PEDF = aqeous humor PEDF

★ = P < 0.05

Fig 2. VEGF and PEDF levels in the vitreous fluids from the eye with diabetic retinopathy and control

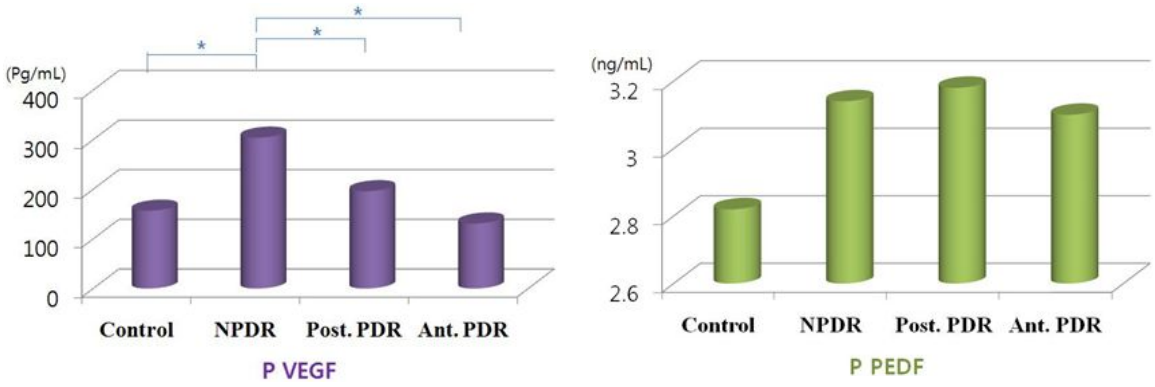


V VEGF = vitreous fluid VEGF

V PEDF = vitreous fluid PEDF

★ = $P < 0.05$

Fig 3. VEGF and PEDF levels in the plasma from the eye with diabetic retinopathy and control



P VEGF = plasma VEGF

P PEDF = plasma PEDF

★ = $P < 0.05$

저작물 이용 허락서

학 과	의학과	학번	20087549	과정	박사
성 명	허 준 許 俊 Heo Jun				
주 소	대전광역시 서구 둔산동 꿈나무아파트 203동 1505호				
연락처	e-mail : sjuniya@naver.com				
논문 제목	당뇨망막병증환자에서 전방내, 유리체내, 혈청내의 VEGF 및 PEDF농도 비교분석				
	Analysis of VEGF and PEDF Concentration in Aqueous, Vitreous, Plasma of Diabetic Retinopathy Patient				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건 아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함.
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집과 형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물 이용의 허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음.
7. 소속 대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

동의여부 : 동의(0) 반대( )

2010 년 6 월

저작자 : 허 준 (인)

조선대학교 총장 귀하