维普资讯 http://www.cqvip.com

局解手术学杂志 2004年第13卷第2期
J Regional Anat & Operative Surg, 2004, Vol. 13, No. 2

VEGF及其受体的研究进展

Advances in the studies of VEGF and its receptors

姜 恒, 郭光金
(第三军医大学基础医学部外科应用解剖与手术学教研室, 重庆 400038)

[关键词] VEGF; 受体; 研究进展
[中图分类号] R730.54 [文献标识码] B [文章编号] 1672-5042(2004)02-0126-02

近年来对血管内皮细胞生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)及其受体的研究有许多具有重要意义的发现。血管内皮生长因子又称血管通透因子(Vascular permeability factor, VPF)或血管调理素(Vasculotropin), 是1989年Ferrara等在牛垂体滤泡星状细胞体外培养液中首先纯化出来的糖类蛋白质, 随后在鼠垂体前叶肿瘤细胞系AtT20、人单核细胞、豚鼠瘤、鼠神经胶质瘤细胞系等细胞培养液中也纯化出了VEGF蛋白。已证VEGF是唯一对血管形成具有特异性的重要生长因子, 其他生长因子如成纤维细胞生长因子、血小板衍生性生长因子等能作用于包括血管内皮细胞在内的多种细胞, 是不具特异性的。也有研究显示垂体细胞既是VEGF的来源又是其目标靶, 这支持VEGF在脑下垂体的功能是作为自分泌/旁分泌因子的概念[1]。本文就VEGF及其受体的分子生物学特性、分布功能等方面进展综述如下。

1 VEGF的分子生物学特性

1.1 基因特点与异构体

人VEGF基因位于染色体的6p[2~3], 由8个外显子及7个内含子构成, 基因全长28 kb, 编码基因长14 kb。NH2末端有特异的6个极性氨基酸组成疏水基团, 是分泌信号的标志, 分子量约34~45 kD[2]。编码产物为同源二聚体糖蛋白, 由分子量为17~22 kD的相同亚基通过二硫键相连, 等电点为8.5, 有很强的耐热和耐酸能力。VEGF不同的亚型由该基因不同的剪接方式形成。人VEGF引物为5'端: 5'-GGGGGATCCGCCTCCGAA-ACCATGAACTT-3'及3'端: 5'-CCCGAATTCTCCTGGTGAGAGA-TCTGGTT-3', 变性、退火温度为94 ℃与72 ℃。人VEGF基因已被克隆, 克隆的人VEGF基因有550bp, 在5'和3'各有一个BamH1和EcoR1酶切点, 经编码后即经过转录1水平剪接成5种不同的转录子(异构体), 分别为VEGF206、VEGF189、VEGF165、VEGF123、VEGF121。异构体之间功能上的差异表现为它们与细胞表面和细胞外基质中肝素结合活性不同。VEGF121为可溶性分泌蛋白, 不与肝素结合, 易自由扩散。VEGF165具有肝素结合活性, 约50%以可溶性形式分泌至胞外, 其余部分和细胞膜或基底膜上含有肝素或硫酸乙酰肝素的蛋白多糖紧密结合, 其cDNA扩增丰度也最高。VEGF189和VEGF206活性相同, 与肝素结合活性很高, 几乎完全与细胞和细胞外基质结合, 在细胞外液中测不到溶解游离形式。VEGF206基因目前仅在人胎肝文库中发现[3]。

1.2 蛋白结构

VEGF是胱氨酸结生长因子超家族一员, 是通过两对链间二硫键共价连接的反平行同型二聚体。VEGF单体N端8-109位氨基酸残基形成的二级结构分别是α1、β1、α2、β2、β3、β4、β5、β6、β7。其结构特征为中央是平行的4段β片层(β1、3、5、6), 胱氨酸结位于一端。胱氨酸结是在两个相邻的β片层(β3、7)之间由二对(Cys57-102, Cys61-104)形成的一个共价连接的环状结构, 同时第三对二硫键(Cys28-68)穿过该环把β1、β4片层的起始端连接在一起。两对链间二硫键(Cys 51-51, Cys 60-60)把两个亚基共价连接起来。二聚体形成的决定簇位于VEGF起始-110残基处, 其中端-螺旋His12和Asp19之间的氨基酸形成的结构域对VEGF二聚体的形成起着关键作用, VEGF单体间的疏水性氨基酸的相互作用可以稳定或协助二聚体的形成。

2 VEGF的功能

2.1 促进血管内皮细胞增殖、血管生成

VEGF作为特异内皮细胞分裂素, 能够刺激体外培养的内皮细胞的增殖(有丝分裂)。迁移和体内血管的形成, 是一个特殊的促内皮细胞分裂素, 已经明确促内皮细胞分裂的主要是VEGF121和VEGF165。另外, VEGF能诱发Ca^{2+}快速内流进入培养的血管内皮细胞。重组人VEGF尚能致细胞内肌醇三磷酸(IP3)增加, 提示VEGF能够刺激内皮细胞的磷脂酶C活性, 通过肌醇酯的水解促进第二信使形成, 可能与VEGF促分裂作用和血管形成信号产生有关。在核酸和蛋白水平诱导纤维蛋白溶解酶原的降解, 参与细胞外蛋白水解和基底膜的降解, 利于血管内皮细胞的迁移和增生。

2.2 增加血管通透性

VEGF作为最强的血管通透性因子, 能加强微血管通透性、内皮细胞葡萄糖转运, 抑制血管平滑肌增殖与迁移, 引起血浆物质包括血管收缩因子、纤维蛋白原和凝血因子向由平滑肌细胞组成的亚内皮层渗漏。其增加血管通透的作用比组织胺强5 000倍, 快速(5 min)而短暂(持续30 min)且不伴有肥大细胞的颗粒减少, 不为组织胺抑制剂所阻断, 并使血浆蛋白包括纤维

[收稿日期] 2003-07-25 [修回日期] 2004-01-09

维普资讯 http://www.cqvip.com

蛋白原外渗，形成纤维素网络，为毛细血管芽延伸生长提供良好基质。通过对内皮细胞超微结构分析认为，VEGF通过一种小泡囊状态细胞器（vesicular vacuolar organelle, VVO）而引起内皮细胞窗子开放并维持这种状态，从而导致血管通透性增加。VVO由许多小囊和空泡相互连接成葡萄样结构，从管腔膜一直延伸到基底膜，并与窗隔相连，当窗（fenstrate）开放时，生物大分子即可通过基底膜而漏出。正常组织中循环大分子从微血管渗漏是有限的，主要是通过VVO开窗伴随着微血管的小囊泡上的隔膜破坏引起血管通透性的增加。

2.3 对血液动力学的影响

静脉滴注VEGF可增加心率及心输出量，降低血管外周阻力，对心肌收缩力无明显的影响。VEGF剂量依赖性降低平均动脉压。给兔子静脉滴注人VEGF后3 min内平均动脉压下降（20±1.4）%，此作用可被NOS抑制剂L-硝基-精氨酸甲酯（L-NAME）减弱。

2.4 其他作用

VEGF尚可作用于不同来源的内皮细胞使其形状改变并刺激增殖，并且可刺激单核细胞及成骨细胞的迁移[4]。能改变细胞部分基因表达促进不同来源内皮细胞分裂增殖，提供基质促使内皮细胞迁移。同时VEGF还可直接改变内皮细胞基因表达，诱导内皮细胞表达血浆纤溶酶原激活剂（PA）及血浆纤溶酶原激活物的抑制剂（PAI-1）、包括尿激酶型血浆纤溶酶原激活剂（uPA）及组织型血浆纤溶酶原激活剂（tPA）。uPA/uPAR/PAI-1体系既调控蛋白水解，又参与细胞间的粘附。VEGF能诱导蛋白水解酶、组织因子、基质胶原酶等在内皮细胞表达，激活第Ⅷ因子（von willebrand factor）从内皮细胞释放，改变细胞外基质，介导内皮细胞迁移和浸润，利于血管生成[5]。VEGF还可促进血管内细胞的愈合，使内膜内皮化，间接地抗血栓形成[6]。另有实验结果表明[7]，VEGF可以使肝癌细胞穿透羊膜基质能力增强，表明VEGF能够诱导肝癌细胞的侵袭能力增强即诱导肝癌细胞同质性粘附作用减弱。

3 VEGF受体分子生物学特性与功能

VEGF高亲和力结合位点仅位于血管内皮细胞上的3种VEGF受体，即Flt-1，Flk-1/KDR和Flt-4，这3种受体主要分布于血管内皮细胞表面，由含7个免疫球蛋白样结构的细胞外区、膜区及酪氨酸激酶区组成，均是跨膜受体，属于RTK（receptor tyrosine kinase）Ⅲ型，其共同特点是催化域内有酪氨酸激酶插入区，该酪氨酸激酶的活性通过受体和配体结合而激活，由受体磷酸化而引起细胞内许多酶和其他反应，在细胞的生长和分化中起重要作用[8]。多种组织中均能表达Flt-1和Flk-1/KDR，Flt-1 mRNA主要存在胎盘、脑、心和肺中，而Flk-1/KDR mRNA主要存在于心、肺、脾、肾。其中Flk-1/KDR是发挥主要功能的受体，Flt-1和Flk-1/KDR有着不同的信号传导途径及功能[9]。另外还有一种溶解形成Flt-1（sFlt-1），缺乏第7个Ig样结构、膜区及细胞内区，与VEGF有高度亲和力，可抑制VEGF的促有丝分裂作用，Flt-1和KDR/Flk-1基因仅表达于血管内皮细胞，这与它们基因启动子区域序列有关。Flk-1在胚胎血管内皮细胞中表达较高，而在成熟血管内皮细胞表达下降，说明Flk-1在促进血管发生及再生中起作用，而Flt-1在增生及静止的血管内皮细胞中均表达，说明Flt-1在维持血管内皮细胞中发挥作用。Flt-4高度表达于胚胎血管发生时的血管母细胞、静脉和淋巴管，但在成年组织仅限于在淋巴管内皮细胞，根据其表达分布特点推断，Flt-4可能与淋巴管的生成有关[10,11]。新近实验还指出肾脏缺血后再灌注的VEGFR-2（Flk-1/KDR）上调在调节内皮细胞的VEGF促有丝分裂和抗凋亡的行为中有重要意义，从而保留内皮完整性和缺血组织血供潜能[12]。

[参考文献]

[1] Vidal S, Lloyd RV, Moya L, et al. Expression and distribution of vascular endothelial growth factor receptor Flk-1 in the rat pituitary [J]. J Histochem Cytochem, 2002, 50(4): 533 - 540.

[2] Toi M, Matsumoto T, Bando H. Vascular endothelial growth factor: its prognostic, predictive, and therapeutic implications[J]. Lancet Oncol, 2001, 2(11): 667 - 673.

[3] Brekken RA, Thorpe PE. Vascular endothelial growth factor and vascular targeting of solid tumors[J]. Anticancer Res, 2001, 21(6B): 4221 - 4229.

[4] Duyndam MC, Hilhorst MC, Schluper HM, et al. Vascular endothelial growth factor-165 overexpression stimulates angiogenesis and induces cyst formation and macrophage infiltration in human ovarian cancer xenografts[J]. Am J Pathol, 2002, 160(2): 537 - 548.

[5] Olofsson B, Jeltsch M, Eriksson U, et al. Current biology of VEGF-B and VEGF-C[J]. Curr Opin Biotechnol, 1999, 10(6): 528 - 535.

[6] 周泉. 血管内皮生长因子的生物学特性及临床研究进展[J]. 实用心脑肺血管病杂志, 2001, 9(1): 51 - 54.

[7] 毛华，赵敏芳，袁爱力，等. 血管内皮生长因子对肝癌细胞侵袭能力和同质性粘附作用影响[J]. 肿瘤, 2002, 22(3): 197 - 199.

[8] 陈治，杜钰. 血管内皮细胞特异性受体在肿瘤血管靶向治疗中的应用[J]. 世界华人消化杂志, 2001, 9(6): 702 - 705.

[9] Wu LW, Mayo LD, Dunbar JD, et al. Utilization of distinct signaling pathways by receptors for vascular endothelial cell growth factor and other mitogens in the induction of endothelial cell proliferation [J]. J Biol Chem, 2000, 275(7): 5096 - 5103.

[10] Lymboussaki A, Achen MG, Stacker SA, et al. Growth factors regulating lymphatic vessels[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2000, 25(1): 75 - 82.

[11] Makinen T, Jussila L, Veikkola T, et al. Inhibition of lymphangiogenesis with resulting lymphedema in transgenic mice expressing soluble VEGF receptor-3[J]. Nat Med, 2001, 7(2): 199 - 205.

[12] Kanellis J, Paizis K, Cox AJ, et al. Renal ischemia-reperfusion increases endothelial VEGFR-2 without increasing VEGF or VEGFR-1 expression[J]. Kidney Int, 2002, 61(5): 1696 - 1706.

（编辑：蒋登金）