维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2001)04－0461－03

血管内皮生长因子与糖尿病视网膜病变

胡怀东,综述　王玉君,审校

(重庆医科大学第二临床学院内分泌科　400010)

【中国图书分类法分类号】R587.1　　【文献标识码】B　　【收稿日期】1999－11－11

1　血管内皮生长因子的生物学特点

血管内皮生长因子(VEGF)是 Ferrara 等[1]于 1989 年从牛垂体滤泡星状细胞体外培养液中首先纯化出来的,根据其促血管内皮细胞有丝分裂而命名为 VEGF,也称为血管通透因子(VPF)。VEGF 的结构具有高度的保守性,它是一种由亚基内及亚基间二硫键交联形成的同型二聚体糖蛋白,分子量在 34～45KD 之间。VEGF 的基因定位于第六对染色体的长臂上[2],基因结构为交替剪接的 8 个外显子和 7 个内含子组面。VEGF 有四种形式,分别由 121、165、189、206 个氨基酸组成,大多数情况下,VEGF121 分泌出细胞后呈可溶的游离状态,而 VEGF189 和 VEGF206 分泌出细胞后主要呈基质结合状态,VEGF165 的性质则介于而者之间,是体内产生最多的一种亚型。

VEGF 是通过二种高亲和力的酪氨酸激酶受体而发挥生物学效应的[3,4],即含激酶插入区受体(KDR)和 fms－样酪氨激酸酶－1(flt－1),两受体均为跨膜蛋白。与配体结合后,该受体形成二聚体,引发一系列的生化链式反应,KDR 激活后引起内皮细胞的分裂增殖和迁移;而 flt－1 激活后,不引起内皮细胞分裂增殖,据信受体的效应与内皮细胞之间的相互作用、以及内皮细胞与基膜之间的相互作用有关。

VEGF 在体内正常组织有广泛的分布,VEGF 的存在与维持血管的正常功能状态有关,视网膜血管内皮细胞、色素上皮细胞、周皮细胞、Muller 细胞均能合成并分泌 VEGF。VEGF 受体在体内与 VEGFmRNA 表达分布是平行的,视网膜血管周皮细胞主要表达 flt－1,内皮细胞主要表达 KDR,KDR 受体分布广泛,几乎所有的血管内皮细胞均可表达。

VEGF 是一种自分泌和旁分泌性生长因子,在体外是一种作用很强的内皮细胞有丝分裂原,可特异性地作用于内皮细胞,在体内可增加血管的通透性及新生血管的形成[5]。VEGF 的作用是复杂的,VEGF 的生物学活性取决于 VEGF 的表达,其靶细胞受体的分布及与 VEGF 受体的结合情况等。

2　VEGF 与糖尿病视网膜病变

糖尿病视网膜病变(DR)是糖尿病常见的并发症之一,病理变化分为早期增殖性病变(NPDR)和晚期增殖性病变(PDR),NPDR 以血－视网膜屏障的破坏,血管通透性增加,视网膜水肿渗出为特征;PDR 以新生血管形成为特征。近年来,许多学者认为 VEGF 在 NPDR 和 PDR 的病理、生理过程中具有重要作用。

2.1　糖尿病视网膜病变时 VEGF 的异常变化

临床研究表明,DR 患者房水以及玻璃体内 VEGF 含量明显升高,VEGF 含量随视网膜病变程度恶化而增加。用 ELISA 方法测定 DR 患者房水[6,7]及玻璃体[8] VEGF 含量,结果表明眼内液 VEGF 含量与新生血管严重程度密切相关,玻璃体 VEGF 含量高于房水,糖尿病新生血管性青光眼房水 VEGF 含量最高,PDR 高于 NPDR 及 NDM。

DR 时多种视网膜细胞 VEGF 表达增加。Hammes 等[9]用原位杂交、印迹技术、免疫组化研究 STX 鼠 NPDR 时 VEGF 及其受体表达,结果表明非 DM 鼠视网膜无 VEGF 表达,3 月龄 STZ 糖尿病鼠视网膜神经节细胞层、视网膜内核层及外核层 VEGF 及其受体 flk－lmRNA 表达开始增加,6 月龄 STZ 糖尿病鼠视网膜 VEGF 蛋白表达增加,flk－1

作者介绍:胡怀东(1970－),男,山东临沭人,硕士,主治医师,主要研究方向:糖尿病及其慢性并发症

维普资讯 http://www.cqvip.com

和 flk－1mRNA 的表达位点与 VEGF 相同。RT－PCR 法对 DR 及 NDR 糖尿病患者研究表明[10]，NDR 糖尿病病人视网膜 VEGFmRNA 表达与正常对照者相同，DR 糖尿病患者视网膜 VEGFmRNA 表达明显高于正常对照者。

2.2 糖尿病视网膜病变时 VEGF 异常的发生机制

2.2.1 缺氧是刺激 VEGFmRNA 表达的最强因素[11] Aiello 等在缺氧条件下培养 RPE 细胞和周皮细胞 4h，Northem 杂交表明，VEGFmRNA 表达增加，缺氧 18h 后人 RPE 细胞 VEGFmRNA 增加 16 倍，牛周皮细胞增加 12 倍，RPE 细胞和周皮细胞条件培养液可使视网膜内皮细胞 DNA 含量增加 60%。PDR 早期即有毛细血管闭塞，从而导致局部视网膜缺血缺氧。有学者研究发现，单纯性 DR 初期视网膜血流减少，随 DR 发展血流逐渐增加，NPDR 视网膜 VEGF 表达增加；将 VEGF（2ng，0.4nmol/L）注入糖尿病和非糖尿病鼠玻璃体内，5min 后，糖尿病鼠视网膜血流明显增加且维待 35min 以上，非糖尿病鼠视网膜血流增加不明显，糖尿病鼠视网膜对 VEGF 敏感性增加。

2.2.2 高糖的作用 糖尿病控制与并发症试验（DCCT）和英国糖尿病前瞻性研究（VKPDS）表明，有效地控制糖尿病病人的血糖，可以显著减少和延缓微血管病变（包括 DR）的发生和发展，肯定了高血糖在糖尿病视网膜病变发生及发展中的作用。高血糖的可能致病机理：①多元醇通路代谢异常；②蛋白质非酶糖基化；③PKC 激活；④氧化应激等。DR 时 VEGF 的异常与以上学说都有关。

多地醇通路，又称山梨醇通路。研究表明，山梨醇氧化果糖过程中偶联着 NAD^+ 生成 NADH，可使细胞内 $NADH/NAD^+$ 比例升高，促进 POI 增加，ROI 可增加 VEGFmRNA 表达[12]，揭示山梨醇通路可增加 VEGFmRNA 表达[13]。

近年的研究证明糖基化终末产物（AGEs）参与 DR 的发生。Hirata 等[14]用 RT－PCR 及 ELISA 方法研究人视网膜 Muller 细胞 VEGFmRNA 表达，PDR 病人玻璃体 VEGF 含量，结果发现 AGEs 可增加 VEGFmRNA 表达，PDR 病人玻璃体 VEGF 和 AGEs 含量均明显高于非糖尿病病人，VEGF 与 AGEs 呈正相关（$r=0.698$，$P<0.01$），AGEs 通过增加 VEGF 的产生而参与 DR 的发生发展。

Williams 等[15]报道，体外高糖（20mmol/1）培养的人血管平滑肌细胞在 3h 后 VEGFmRNA 增加 3 倍（与糖 5mmol/1 比较），24h 后 VEGF 蛋白产生明显增加，糖含量正常或 PKC 抑制剂均可抑制 VEGFmRNA 的表达。Aiello 等[16]报道，VEGF 的促有丝分裂活性和血管通透作用与磷脂酶 C－PKC 通路有关，PKC－β 选择性抑制剂（LY333531）可完全抑制 VEGF 的作用。

研究发现高糖状态下氧化应激产物（ROI）增加。有研究表明，糖尿病视网膜 POI 表达增加，POI 可以上调 VEGFmRNA 表达[17]。

2.2.3 胰岛素的作用 流行病学表明胰岛素治疗是 OR 发展的独立危险因素，但机理不清。Yamagishi 等[18]观察胰岛素对微血管内皮细胞生长和血管形成的影响，结果发现胰岛素可以上调 VEGFmRNA 表达，但对 VEGF 受体表达无影响；抗人 VEGF 单克隆抗体可抑制胰岛素诱导的内皮细胞增生及血管形成；缺氧可加强胰岛素促有丝分裂效应。

2.2.4 细胞因子的作用 大量的研究表明，视网膜缺血时释入的血管源性生长因子是导致视网膜细胞异常增殖和新生血管形成的主要原因，碱性成纤维生长因子（bFGF）、肿瘤坏死因子－α（TNF－α）、血小板源性生长因子（PDGF）、TGF－β、IGF－1、EGF 等多种生长因子参与了视网膜细胞增殖及新生血管形成。bFGF 可上调 VEGF 表达，且与 VEGF 有协同作用；IGF－1、EGF、PDGF、TGF－β 均能上调 VEGFmRNA 表达[14,17]。

3 糖尿病视网膜病变时 VEGF 的作用机理

单纯性 DR，VEGF 破坏血－视网膜屏障（BRB），导致视网膜血管通透性增高，渗出增加，视网膜水肿；PDR 时，VEGF 在玻璃体及视网膜含量明显增加，刺激视网膜内皮细胞增殖，诱导视网膜新生血管形成。

原位杂交及免疫组化研究发现，糖尿病人视网膜 VEGF 免疫活性和 BRB 破坏都高于非糖尿病者，VEGF 免疫活性强的部位 BRB 破坏率高，BRB 破坏与 Occludin 减少有关，Occludin 是一种分子量为 65KD 的跨膜细胞间连接蛋白，是血管内皮细胞特异性紧密连接蛋白。Antonetti 等[18]用免疫荧光及免疫杂交方法研究 STZ 鼠视网膜通透性变化，眼内注入 FTTC－BSA 测定 BRB 通透性变化，结果发现，与对照鼠比较，Occludin 减少 35%；用浓度 0.12nmol/1 和 12mmol/1VEGF 培养牛视网膜内

维普资讯 http://www.cqvip.com

皮细胞，6h 后 Occludin 蛋白分别减少 46% 和 54%，揭示 VEGF 通过减少 Occludin 蛋白而破坏 BRB、增加血管通透性。最近，Antonetti 等[19]又发现 VEGF 能使 Occludin 蛋白磷酸化，使其从细胞间连接处转移至细胞内而破坏 BRB。

VEGF 参与血管生成的各个环节[20]，诱导细胞胶原酶的合成及释放，内皮细胞的迁移和增殖，改变内皮细胞基因的激活状态，上调内皮细胞（微血管）的纤溶酶原激活物和纤溶酶原抑制物的基因表达，最终导致新生血管形成。DR 视网膜内皮细胞和周皮细胞 VEGFmRNA 表达增加及其蛋白水平升高，以旁分泌和自分泌方式作用于内皮细胞上的 KDR 和 FLT 受体，细胞内蛋白的酪氨酸磷酸化，促进内皮细胞增殖形成新生血管。

研究表明，阻断 VEGF 的产生及生物活性，有助于治疗糖尿病视网膜病变。体外 VEGF 中和抗体、VEGF 受体阻断剂可抑制内皮细胞增殖；玻璃体内注射 VEGF 中和抗体、VEGF 受体嵌和蛋白可抑制眼内新生血管形成[16]。

综上所述，VEGF 是一种自分泌性和旁分泌性生长因子，有特异性促内皮细胞有丝分裂和血管通透性的功能，在糖尿病视网膜病变中有重要作用，抑制 VEGF 的产生可以延缓糖尿病视网膜病变的发生发展，有助于治疗糖尿病视网膜病变。对这一生长因子的深入研究将有助于揭示糖尿病视网膜病变的发病机制，从而找到更有效的防治途径。

参 考 文 献

[1] Tischer H, gospodarowicz D, MitchellR, et al. Vascular endothelial growth factor: a new member of the platelet－derived growth factor gene family [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1989; 165: 1198－1206.

[2] Wei MH, Popescu NC, Leman MI, et al. Localization of the human vascular endothelial growth factor gene, VEGF, at chromosome6p12[J]. Hum Genet, 1996; 97: 794－797.

[3] Terman BI, Dougher VM, Carrion, et al. Identification of the KDR tyosine kinase as a receptor for vascular endothelial cell growth factor[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1992; 187: 1579－1586.

[4] De Vries C, Escobedo JA, Ueno H, et al. The fms－like tyrosine kinase, a recptor for vascular endothelial growth factor [J]. science, 1992; 25: 989－991.

[5] Clermont AC, Aiello LP, Mori F, et al. Vascular endothelial growth factor and severity of nonproliferative diabetic retinopathy mediate retinal hemodynamics in vivo: A potential role for vascular endothelial growth factor in the progression of nonproliferative diabetic retinopathy[J]. Am J Ophthal, 1997; 124: 433－446.

[6] Kozawa T, Sone H, Kawakami Y, et al. Vascular endothelial growth factor levels in the aqeous and serum in diabetic retiopathy with or without neovascular glaucoma [J]. Nippon Ganka Gakkai Zasshi, 1998; 02(11): 731－738.

[7] Shinoda K, Ishida S, Kawashima S, et al. Comparition of the levels of hepatocyte growth factor and vascular endothelial growth factor in aqueous fluid and serum with grades of patients with diabetes melitus [J]. Br J Ophthal, 1999; 83(7): 834－837.

[8] Kosano H, Okano T, Noritake M, et al. Pro MMP－9 in viteous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy [J]. Life Sci, 1999; 64(25): 2307－2315.

[9] Hammes HP, Jihong Iin, Bretxel RG, et al. Upregulation of the vascular endothelial growth factor/vascular endothelial growth factor receptor system in experimental background diabetic retiopathy of the rat[J]. diabetes, 1998; 47: 401－406.

[10] Spirin KS, Saghizadeh M, Lewin SL, et al. Basement membrane and growth factor gene expression in normal and diabetic human retinas. Curr Eye Res [J], 1999: 18(6): 490－499.

[11] Shima D, Adamis AP, Yeo KT, et al. Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor mRNA and protein secretion by human pigment epithelial cells [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1993; 34: 1440－1448.

[12] Kuroki M, Voest EE, Amano S, et al. Reactive oxygen intermediates increase vascular endothelial growth factor expression in vitro and vivo [J]. J Clin Invest, 1996; 98: 1667－1675.

[13] Stephan C, Chang KC, Jeune WL, et al. Role for heparin－binding growth factors in glucose－induced vascular dysfunction [J]. Diabetes, 1998; 47, 1771－1778.

[14] Hirata C, Nakano K, Katagawa Y, et al. Advanced glycation end products induce expression of vascular endothelial growth factor by retinal muller cells [J]. BiochemBiophys Res Commun, 1997; 236: 712－715.

[15] Williams B, Gallacher B, Patel H, et al. Glucose－induced protein kinase C activation regulates vascular permeabiliy factor mRNA expression and peptide production by human vascular smooth muscles cells in vitro [J]. Diabetes, 1997; 46: 1497－1503.

[16] Aiello LP, Bursell SE, Clermont A, et al. Vascular endothelial growth factor－induced retinal permeability is mediated by protein kinase c in vivo and suppressd

（下转第 474 页）

维普资讯 http://www.cqvip.com

[4] Rand N, Mosheiff R. The role of intramedullary nailing in modern treatment of open fracture of the tibia and femur[J]. Mil Med, 1994; 159(1): 709 - 713.

[5] Cole J, Ansel LJ, Schwartzberg R. A sequential protocol for magement of severe open tibial fractures [J]. Clin Orthop, 1995; 315: 84 - 103.

[6] Gad HF, Kneir IH, Booz MK. Closed nailing of tibial shaft fractures[J]. Injury, 1990; 21(4): 217 - 219.

[7] Lottes OJ. Intramedullary fixation for fractures of the shaft of the tibia[J]. Clin Orthop, 1996; 332: 4 - 9.

[8] Howard MW, Zinar DM, Stryker WS. The use of the Lottes nail in the treatment of closed and open tibial shaft fractures [J]. Clin Orthop, 1992; 279: 246 - 253.

[9] Mayer L, Werbie T, Schwab JP, et al. The use of Ender nails in fractures of the tibial shaft[J]. J Bone Joint Surg, 1985; 67A(3): 446 - 455.

[10] Hasenhuttle K, Beach WP. The treatment of unstable fractures of the tibia and fibula with flexible medullary wires: a review of two hundred and thirty - five fractures [J]. J Bone Joint Surg, 1981; 63A(6): 921 - 931.

[11] Abramowitz A, Wetzler MJ, Levy AS, et al. Treatment of open tibial fractures with Ender Rods[J]. Clin Orthop, 1993; 293: 246 - 255.

[12] 吴岳嵩, 徐伯诚, 范肃临, 等. 矩形髓内钉的设计及其临床应用[J]. 中华骨科杂志, 1991; 11(6): 405 - 409.

[13] Wiss DA, Stetson BW. Unstable fractures of the tibia treated with reamed intramedullary interlocking nail [J]. Clin Orthop, 1995; 315: 56 - 63.

[14] Greitbauer M, Heinz T, Gaebler C, et al. Unreamed nailing of tibial fractures with the solid tibial nail[J]. Clin Orthop, 1998; 350: 105 - 114.

[15] Browner BD. pitfalls errors and complications in the use of locking Kuntscher nails [J]. Clin Orthop, 1986; 212: 192 - 208.

[16] Gregory P, Sanders R. The treatment of close unstable tibial shaft fractures with unreamed interlocking nails [J]. Clin Orthop, 1995; 315: 48 - 55.

[17] Kessler SB, Hallfeldt KKJ, Perren SM, et al. The effects of reaming and intramedullary nailing on fracture healing[J]. Clin Orthop, 1986; 212: 18 - 25.

[18] 刘长贵, 罗先正, 王宗仁, 等. AO 钢板与 Grosse - Kempf 带锁髓内钉治疗股骨干骨折比较[J]. 中华骨科杂志, 1995; 15(11): 739 - 742.

[19] O Dwyer KJ, Chakravarty RD, Esler CNA. Intramedullary nailing technique and its effect on union rates of the tibial shaft fractures[J]. Injury, 1994; 25(7): 461 - 464.

[20] Bonatus T, Steven A, Setevel L, et al. Nonreamed locking intramedullary nailing for open fractures of the tibia[J]. Clin Orthop, 1997; 339: 58 - 64.

[21] Melcher GA. Tibial fractures treated with the AO unreamed tibial nail[J]. Injury, 1993; 24(6): 407 - 410.

[22] Gargeant ID, Lovell M, Gassrley H, et al. The AO unreamed tibial nail: a 14 - month follow - up of the 1992 TT experience [J]. Injury, 1994; 25(1): 423 - 425.

[23] Hutson JJ, Zych GA, Cole JD, et al. Mechanical failures of intramedullary tibial nails applied without reaming [J], Clin Orthop, 1995; 315: 129 - 137.

[24] Donald G, Seligson D. Treatment of tibial shaft fractures by percutaneous Kuntscher nailing: technical difficulties and a revieswes of 50 consecutive case [J]. Clin Orthop, 1983; 178: 64 - 73.

(上接第 463 页) by an orally effective β - isoform - selective inhibitor [J]. Diabetes, 1997; 46: 1473 - 1480.

[17] Kuroki M, Kawakami M. Diabetic retinopathy - the mechanisms of the ocular neovascularization and the development of anti - angiogenic drugs[J]. Nippon Rinsho, 1999; 57 (3): 584 - 585.

[18] Antonetti DA, Barber AJ, Knin S, et al. Vascular Permeability in experimental diabetes is associated with reduced endothelial occludin content: vascular endothelial growth factor decreases occludin in rertinal endothelial cells [J]. Diabetes, 1998; 47(12): 1953 - 1959.

[19] Antonetti DA, Barber AJ, Hollinger LA, et al. Vascular endothelial growth factor induces rapid phosphorylation of tight junction proteins occludin and zonula occludin 1. A potential mechanism for vascular permeability in diabetes retiopathy and tumors [J]. J Biol Chem, 1999; 274(33): 23463 - 23467.

[20] Lutty GA, Mcleod DS, Merges C, at al. Localization of vascular endothelial growth factor in human retina and choroid [J]. Arch Ophthalmol, 1996; 114: 971 - 977.