DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.07.039

文章编号:1000-5404(2000)07-0705-03

综述

血管内皮细胞生长因子的作用及调节

The role and regulation of vascular endothelial cell growth factor

初同伟 综述,王正国,朱佩芳 审校 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第四研究室,重庆 400042)

血管内皮细胞生长因子(Vascular endothelial cell growth factor, VEGF)是1989年Ferrara等[1]在牛垂体星状细胞体外培养分离出的一种糖蛋白,其在体内外都表现出特异性地促进血管内皮细胞的生长并诱导血管生成作用,故此称为VEGF。目前已知多种生长因子和细胞因子具有促进血管生成的作用,然而在众多的血管生成因子中,VEGF是最有力的血管生成因子,它通过和血管内皮细胞的特异性受体结合,具有强大的促内皮增殖、促血管生成作用。其它血管生成因子的血管生成作用是全部或部分通过增强VEGF的表达及生成作用实现的[2]。实验证据提示,其形成包括一个相互调节的网络系统,受许多正向与负向调节信号之间平衡的严密控制。近来,国外学者对VEGF的分子生物学基础及其在机体的生理和病理过程中的作用、机制和生成调节方面进行了一些研究工作,并获得许多有意义的发现,现就近几年来关于VEGF对机体的作用及其调节方面所进行的研究作一综述。

1 VEGF的分子生物学基础

1.1 VEGF的基因编码

人的VEGF基因位于染色体的6p21.3,该基因全长为28 kb,编码VEGF的基因长约14 kb,由8个外显子、7个内含子交替组成,VEGF基因启动子包含5个SP-1结合部位和1个AP-1结合部位(含C-fos和C-jun)。编码产物为(34~45)×10^3的同源二聚体糖蛋白,由两个分子量为(17~22)×10^3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,如被还原,则丧失所有生物学活性[3]。VEGF基因经过转录水平的剪切,可产生5种不同的转录子[4]。由于VEGF一般是以游离形式发挥作用,含肝素的糖蛋白可能是VEGF的结合位点,而结合型的VEGF可能是一种储备形式,当机体需要时,通过蛋白水解酶的调节作用,使其释放出来。这提示VEGF的活性是在两个水平上调节的,即在基因水平和蛋白水解酶的调节性释放。

1.2 VEGF的受体

VEGF通过与其受体结合而发挥生物学效应。目前已在血管内皮细胞膜上检出两种具有与VEGF高度特异结合的受体flt1(Fms-like tyrosine kinase)和flk1(Fetal liver kinase,亦称KDR),属于酪氨酸激酶受体家族第三亚型[5]。VEGF受体仅存在于血管内皮细胞中。虽然前两种受体都与VEGF具有高度的亲和力,但研究发现其功能却存在差异。缺乏flt1受体的小鼠主要表现为大小血管内皮细胞的损害,但内皮细胞的分化却未见异常;而flk1受体缺乏小鼠存在内皮细胞成熟障碍和造血祖细胞的严重减少[6,7]。另外血管内皮细胞还特异性的表达一种酪氨酸激酶受体flt4,和前两个受体不同的是flt4在胚胎初期阶段存在与内皮细胞的干细胞,随后定位在小静脉和淋巴内皮细胞中,到成年后仅能在淋巴内皮细胞中检出,VEGF一般不与其结合。

1.3 VEGF的生物学特性

VEGF的生物学特性主要表现在两方面:增加微血管的通透性和特异性的与血管内皮细胞受体结合,促进血管内皮细胞的分裂和增殖,进而导致新生血管的生成。细胞体外培养发现,VEGF与内皮细胞受体结合后,可立即引起钙离子内流,数秒钟细胞内钙离子浓度升高4倍以上,并且刺激三磷酸肌醇的累积,因此认为是通过磷脂酶C的作用[8]。增加血管的通透性是VEGF的重要作用之一,其浓度不足mmol/L就可以发挥作用,在注射几分钟内就有效,单次注射可引起一过性的、可逆性的通透性增高,这种作用十分强烈,该效应是组织胺作用浓度的5万倍,维持时间约30 min;由于它是通过受体结合发挥作用,所以,这种作用不被组织胺或其他炎症因子抑制剂阻断[9]。

2 VEGF对机体的作用

2.1 机体生长发育

研究表明,VEGF在动物机体生长发育中起着极其重要的作用。Gerber[10]在实验中用可溶性的VEGF受体蛋白mFlt(1-3)-IgG及基因诱导两种途径抑制VEGF的表达。结果发现,新生鼠的死亡率明显增高,生长受到抑制,器官受到损害,其中以肝脏最为明显;超微结构显示内皮细胞和其它细胞结构的异常改变;组织学和生物化学结果观察到和肝肾功能衰竭一致的变化。表明VEGF不但对增殖极为关键,而且对内皮细胞的生存也极为重要。然而对成熟鼠应用同样的方法抑制VEGF表达却未发现同样的变化。说明动物在出生一段时间后对VEGF的依赖性最终丧失。VEGF对出生早期动物生长和存活极为重要,在成年动物主要表现为对血管生成方面的作用。

2.2 生理方面的作用

有研究发现,VEGF表达存在于机体的某些生理过程中,并对其具有重要意义,这主要表现在雌性动物的月经周期变化中

基金项目:国家重点基础研究发展规划项目(G1999054204)
作者简介:初同伟(1967—),男,山东省茌平县人,博士研究生,主治医师,讲师,主要从事脊髓损伤及骨创伤愈合方面的研究。电话:(023)68752490
收稿日期:2000-01-15;修回日期:2000-03-23

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

对子宫内膜修复的影响及其在卵巢和黄体生成过程中对生育功能的影响[11,12]。雌性在月经周期及胎盘形成过程中血管生成的增加和通透性升高对其生殖功能提供了最适度的环境，而在这一过程中 VEGF 发挥了极其重要的作用，明确 VEGF 的产生、调节及循环系统对血管内皮生长因子的生理反应，将会使人们在治疗由于子宫内膜及胎盘血管形成不足而造成的不孕方面增加新的治疗方法。

2.3 在病理过程中的作用

VEGF 在病理过程中的作用包括对肿瘤生长、转移和炎症反应过程中的作用。肿瘤的生长和转移需要得到充足的营养物质，这需要血液的运送才能得以实现，因此血管生成对肿瘤的生长和转移显得十分重要。对血管生成具有特异性促进作用的VEGF 自然成为国外学者研究肿瘤生长和转移的热点。大量的动物实验和临床研究证实，多种肿瘤细胞能大量的表达 VEGF 并在肿瘤的血管发生及生长中起重要作用。Millauer[13] 通过一种能感染血管内皮细胞的病毒向裸鼠体内导入含有编码VEGF 的无活性 Flk-1 突变体受体，竞争性抑制 VEGF 和血管内皮细胞 Flk-1 受体的结合，结果发现裸鼠体内成神经胶质细胞瘤生长被完全抑制。转基因鼠皮肤过表达 VEGF，则导致皮肤新生血管形成和血管通透性增高并促进了鼠皮肤的乳头状瘤的生长[14]。

一系列的研究表明，VEGF 参与了体内的特异性和非特异性炎症反应，并作为视网膜新生血管和视网膜病变的重要因子，其详细的作用机制及 VEGF 在炎症中表达的意义和对炎症预后的影响有待于进一步研究。

2.4 组织愈合及再生

研究表明，VEGF 在伤口部位浓度明显增高，一般认为它是伤口部位通透性增加和血管生成的主要调节因子，并与伤口部位肉芽组织的形成有关。和正常动物相比，患糖尿病小鼠伤口部位 VEGF mRNA 表达水平明显降低，因此 VEGF 的调节缺陷可能与伤口愈合障碍有关[15,16]。对创伤病人血液检测发现，多发性创伤及烧伤病人的 VEGF 血浆浓度明显增高[17]，其意义及其机制尚不清楚。在促进组织再生方面，Assy[18] 把 Sprague-dawley 鼠肝脏切除30%，术后静脉应用 200 ng VEGF165，分别于24、36、48 h 取肝脏标本测定再生肝脏质量、再生肝脏细胞核抗原的组化及用 Westem 印记法测定肝脏再生细胞核抗原蛋白，结果发现VEGF165 对肝脏的再生具有明显的促进作用，并认为其促进肝脏的再生作用可能与 VEGF 增加了肝脏的血液供应，为其再生提供了充足的营养有关。

3 VEGF 表达及生成的调节相关因素

3.1 碱性纤维母细胞生长因子(bFGF)

实验证明 bFGF 和 VEGF 在体内都有促进血管生成的作用，而两者的联合应用比单独应用其中的一种生长因子明显提高了血管再生的速度及生成血管的直径，同时大大提高了缺血肢体的血供[19]。现在知道 bFGF 的血管生成作用是通过调节 VEGF 的表达及生成实现的，bFGF 通过与 VEGF 基因的启动子 SP-1 区(C-fos 区)结合并使之激活，导致 VEGF 的表达，达到其血管生成的[20]。

3.2 血小板(Blood platelete)

不少学者发现血小板在 VEGF 的产生及调节中起重要作用。Weltermann[21] 研究了人体凝血过程中血小板释放 VEGF 的情况，用标准的测定出凝血时间方法造成皮肤损伤出血，对 17 名 20～35 岁的健康志愿男性做双盲随机交叉研究。分别给志愿者静脉应用人重组水蛭素和生理盐水，10 min 后用免疫法测定静脉血及损伤出血部位凝血块的VEGF 浓度。结果发现静脉血中 VEGF 浓度较凝血块部低，而应用人重组水蛭素组志愿者伤部凝血块血栓形成部位 VEGF 浓度较对照组明显降低；另外，作者还把人血小板和凝血酶在体外孵化，结果发现有大量的VEGF 产生，因此认为血小板和损伤的血管壁接触激发凝血机制后导致VEGF 的释放。另外，Salgado[22] 在对患高度恶性肿瘤病人的血液标本进行检测发现，VEGF 血清浓度与血小板数呈正相关性，血小板增多病人血清 VEGF 浓度是正常血小板病人的 3.2 倍。据此作者认为，此结果支持血小板具有储存有生物活性的VEGF 的作用，这对防止血液循环中的 VEGF 在血液凝固部位以外出现诱导新生血管作用有益。活化的血小板能释放VEGF，这对伤口愈合及其它病理条件下的(象动脉粥样硬化、肿瘤生长和转移形成)血管形成具有重要意义。血小板对 VEGF 详细的作用及及调节机制有待于进一步研究。

3.3 肿瘤坏死因子(TNFα)

TNFα 本身没有使血管内皮细胞增生移行的活性，其血管生成作用是通过诱导增加具有直接血管生成作用因子的活性而实现的。它在体内能诱导血管内皮细胞产生 VEGF-2 受体，从而增强血管生成信号在内皮细胞的传递。把神经胶质瘤细胞和TNFα 一起孵化 30 min 后发现 VEGF 和 VEGF 基因启动子 SP-1 区的 mRNA 表达增高，其增高的幅度为单独孵化神经胶质瘤的 5 倍，证明肿瘤坏死因子的血管生成作用还和激活 VEGF 基因启动子 SP-1 区(C-fos 区)有关[20]。

3.4 转化生长因子β(TGFβ)

TGFβ 具有促进 VEGF 合成的作用，它对血管生成的促进作用也是通过血管内皮生长因子的表达而实现的[23]，其具体作用机制尚不清楚。

3.5 NO 及其合酶(NO and Synthase)

目前认为NO 及其合酶在参与 VEGF 对血管内皮细胞的作用过程中起重要作用，VEGF 的作用与其和血管内皮细胞结合后，导致血管内皮细胞表达 NO 有关。Ziche[24] 给兔应用 NO 合酶抑制剂后发现，VEGF 介导的血管生成作用被完全抑制，因此NO 及其合酶途径可能是 VEGF 调节血管形成的下游通道和介质。

3.6 缺氧对VEGF 的影响(Hypoxia)

组织细胞在缺氧环境下培养，结果发现细胞内 VEGF 的表达及 mRNA 水平明显增高，因此认为缺氧条件下可导致 VEGF 的表达及释放，并为血管生成的因素之一[25]。Ryuto[20] 在实验中证实缺氧导致的VEGF 表达增高与其激活 VEGF 基因启动子 AP-1 区有关。

3.7 VEGF 的生成和交感神经(Sympathetic nerve)

Asano[26] 把鼠置于4℃的环境下 1～4 h，其褐色脂肪组织的 VEGF mRNA 表达增高了 1～3 倍，并在 24 h 内恢复正常。但如果手术去除交感神经支配，鼠在寒冷环境下导致的 VEGF mRNA 表达增高被终止，应用去甲肾上腺素或肾上腺素受体β_3 增强剂(CL316，243)后这中合成作用重新恢复。说明β-肾上腺素

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

能的通路在褐色脂肪组织合成 VEGF 的重要作用。

4　小结

由于 VEGF 在体内所表现出的特异性促血管生成作用, 使其在临床应用方面表现出广泛的应用前景。然而, 对 VEGF 详细表达调节机制尚有待于进一步研究。利用 VEGF 的血管生成作用机制, 通过抑制 VEGF 的血管生成作用和应用 VEGF 促进血管生成治疗疾病, 正在作为一种新的治疗方法被应用于临床。

关键词: 血管内皮细胞生长因子; 分子生物学基础; 调节
中图法分类号: R349.21　　文献标识码: A

参考文献:

[1] Ferrara N, Henzel W J. Pituitary follicular cells secrete a novel heparin-binding growth factor specific for vascular endothelial cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1989, 161(2): 851—858.

[2] Zhang Q X, Magovern C J, Mack C A, *et al*. Vascular endothelial growth factor is the major angiogenic factor in omentum: Mechanism of the omentum-mediated angiogenesis[J]. J Surg Res, 1997, 67(2): 147—154.

[3] Tischer E, Mitchell R, Hartman T, *et al*. The human gene for vascular endothelial growth factor[J]. J Biol Chem, 1991, 266(18): 11 947—11 954.

[4] Levy A P, Levy N S, Loscalzo J, *et al*. Regulation of vascular endothelial growth factor in cardiac myocytes[J]. Circ Res, 1995, 76(5): 758—766.

[5] de-Vries C, Escobedo J A, Ueno H, *et al*. The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor[J]. Science, 1992, 255(5 047): 989—991.

[6] Fong G H, Rossant J, Gertsenstein M, *et al*. Role of the Flt-1 receptor tyrosine kinase in regulating the assembly of vascular endothelium[J]. Nature, 1995, 376(6 535): 66—70.

[7] Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi T P, *et al*. Failure of blood—island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice[J]. Nature, 1995, 376(6 535): 62—66.

[8] Brock T A, Dvorak H F, Senger D R. Tumor-secreted vascular permeability factor increases cytosolic Ca^{2+} and von Willebrand factor release in human endothelial cells[J]. Am J Pathol, 1991, 138(1): 213—221.

[9] Collins P D, Connolly D T, Williams T J, *et al*. Characterization of the increase in vascular permeability factor *in vivo*[J]. Br J Pharmacol, 1993, 109(1): 195—199.

[10] Gerber H P, Hillan K J, Ryan A M, *et al*. VEGF is required for growth and survival in neonatal mice[J]. Development, 1999, 126(6): 1 149—1 159.

[11] Reynolds L P, Redmer D A. Expression of the angiogenic factors, basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor, in the ovary[J]. J Anim Sci, 1998, 76(6): 1 671—1 684.

[12] Ravindranath N, Little-Ihrig L, Phillips H S, *et al*. Vascular endothelial growth factor messenger ribonucleic acid expression in the primate ovary[J]. Endocrinology, 1992, 131(1): 254—260.

[13] Millauer B, Shawver L K, Plate K H, *et al*. Glioblastoma growth inhibited *in vivo* by a dominant-negative Flk-1 mutant [J]. Nature, 1994, 367(6 463): 576—579.

[14] Larcher F, Murillas R, Bolontrade M, *et al*. VEGF/VPF overexpression in skin of transgenic mice induces angiogenesis, vascular hyperpermeability and accelerated tumor development[J]. Oncogene, 1998, 17(3): 303—311.

[15] Frank S, Hubner G, Breier G, *et al*. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. Implications for normal and impaired wound healing[J]. J Biol Chem, 1995, 270(21): 12 607—12 613.

[16] Howdieshell T R, Riegner C, Gupta V, *et al*. Normoxic wound fluid contains high levels of vascular endothelial growth factor [J]. Ann Surg, 1998, 228(5): 707—715.

[17] Grad S, Ertel W, Keel M, *et al*. Strongly enhanced serum levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) after polytrauma and burn[J]. Clin Chem Lab Med, 1998, 36(6): 379—383.

[18] Assy N, Spira G, Paizi M, *et al*. Effect of vascular endothelial growth factor on hepatic regenerative activity following partial hepatectomy in rats[J]. J Hepatol, 1999, 30(5): 911—915.

[19] Asahara T, Bauters C, Zheng L P, *et al*. Synergistic effect of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor on angiogenesis *in vivo*[J]. Circulation, 1995, 92(9 Suppl): II 365—371.

[20] Ryuto M, Ono M, Izumi H, *et al*. Induction of vascular endothelial growth factor by tumor necrosis factor alpha in human glioma cells. Possible roles of SP-1[J]. J Biol Chem, 1996, 271(45): 28 220—28 228.

[21] Weltermann A, Wolzt M, Petersmann K. Large amounts of vascular endothelial growth factor at the site of hemostatic plug formation *in vivo*[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1999, 19(7): 1 757—1 760.

[22] Salgado R, Vermeulen P B, Benoy I, *et al*. Platelet number and interleukin-6 correlate with VEGF but not with bFGF serum levels of advanced cancer patients[J]. Br J Cance, 1999, 80(5-6): 892—897.

[23] Brogi E, Wu T, Namiki A, *et al*. Indirect angiogenic cytokines upregulate VEGF and bFGF gene expression in vascular smooth muscle cells, whereas hypoxia upregulates VEGF expression only [J]. Circulation, 1994, 90(2): 649—652.

[24] Ziche M, Morbidelli L, Choudhuri R, *et al*. Nitric oxide synthase lies downstream from vascular endothelial growth factor-induced but not basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis [J]. J Clin Invest, 1997, 99(11): 2 625—2 634.

[25] Shweiki D, Itin A, Soffer D, *et al*. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis[J]. Nature, 1992, 359(6 398): 843—845.

[26] Asano A, Morimatsu M, Nikami H, *et al*. Adrenergic activation of vascular endothelial growth factor mRNA expression in rat brown adipose tissue: implication in cold-induced angiogenesis [J]. Biochem J, 1997, 328(Pt 1): 179—183.

(编辑　郭建秀)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net