

# 脉络膜新生血管促进因子的研究进展

卢秀珍, 毕宏生, 崔彦

基金项目: 中国山东省自然科学基金资助项目(No. Y2006C101)  
作者单位: (250002) 中国山东省济南市, 山东中医药大学第二附属医院 山东中医药大学眼科研究所  
作者简介: 卢秀珍, 女, 博士研究生, 副主任医师, 研究方向: 弱、斜视、小儿眼病。  
通讯作者: 毕宏生, 男, 博士研究生导师, 主任医师, 教授, 山东中医药大学眼科研究所所长, 山东中医药大学第二附属医院副院长, 山东省眼科学会副主任委员, 研究方向: 白内障、玻璃体视网膜病、显微手术. b66hong66@yahoo. com. cn  
收稿日期: 2010-05-18 修回日期: 2010-07-13

## Research advancement on promoting factor of choroidal neovascluarization

Xiu-Zhen Lu, Hong-Sheng Bi, Yan Cui

Foundation item: Natural Science Research Foundation of Shandong Province, China(No. Y2006C101)

Eye Institute, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, the Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, Shandong Province, China

Correspondence to: Hong-Sheng Bi. Eye Institute, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, the Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, Shandong Province, China. b66hong66@yahoo. com. cn

Received: 2010-05-18 Accepted: 2010-07-13

### Abstract

• Choroidal neovascularization (CNV) is the important reason for a series of fundus oculi diseases which usually lead to vision loss. The forming and developing of the CNV are regulated and controlled mainly by vascular endothelial growth factor (VEGF) and angiopoietin-1/2. So we summarize the advance of research on the causation and the effect of the two factors.

• KEYWORDS: choroidal neovascluarization; vascular endothelial growth factor; angiopoietin-1/2

Lu XZ, Bi HS, Cui Y. Research advancement on promoting factor of choroidal neovascluarization. *Int J Ophthalmol (Guji Yanke Zazhi)* 2010;10(8):1527-1529

### 摘要

脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV)是危害视力的主要病变之一,为多种眼底疾病的最终结局,最终导致严重的视力丧失。脉络膜新生血管的产生与促进与血管内皮生长因子与促血管生成素有着密切的关系,我们就这两种细胞因子的来源与作用的研究进展进行综述。

关键词: 脉络膜新生血管; 血管内皮生长因子; 促血管生成素

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2010. 08. 024

卢秀珍, 毕宏生, 崔彦. 脉络膜新生血管促进因子的研究进展. 国际眼科杂志 2010;10(8):1527-1529

### 0 引言

脉络膜新生血管(choroidal neovascluarization, CNV)与许多眼底病有关,常最终致视力的丧失。CNV形成的具体机制目前尚未完全明了,现就其产生与促进生成的主要细胞因子 VEGF 与 Ang 的研究进展情况做一综述。

### 1 血管内皮生长因子

1.1 血管内皮生长因子来源及其家族 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种自分泌型碱性蛋白, CNV 模型研究发现 VEGF 起源于巨噬细胞、RPE 细胞、微血管内皮细胞、周细胞等,其中巨噬细胞是最主要来源<sup>[1]</sup>。不同形式的基因连接形成 4 种主要的同源多肽,分别由 121, 165, 189, 206 个氨基酸组成,含有共有序列,不同形式的多肽连接方式决定它们与受体相关结构的相互作用能力<sup>[2]</sup>。后又发现一个新的变异连接家族,命名为 VEGF<sub>x<sub>1</sub>x<sub>2</sub></sub>b<sup>[3]</sup>,具有末端外显子 8 点,使得表达出的蛋白具有相同的长度,但是有不同 C-末端氨基酸序列。受体连接段与二聚体段是完整的,但是对于 VEGF<sub>165</sub>b,它不但并不具有刺激血管生成的作用,相反具有抑制 VEGF<sub>165</sub> 的促血管扩张、增殖与移行的作用,这组 VEGF 分子的重要性尚有待研究<sup>[4]</sup>。VEGF 的受体主要包括 VEGFR-1, -2 和 -3, VEGFR-1 的生物学效应表现为诱导内皮细胞的迁移。VEGFR-2 主要影响并介导 VEGF-A 促有丝分裂。VEGFR-3 与其特异的配体 VEGF-C, -D 结合引起内皮细胞的增殖和迁移,对胚胎发育及肿瘤的生长和转移起重要调控作用<sup>[5]</sup>。VEGF 还可与受体 NRP-1/2 结合,而后者与硫酸肝素蛋白多糖能够影响 VEGFRs 的活性<sup>[6]</sup>。研究表明在 VEGFR-2 与 NRP-1 共表达的细胞上, NRP-1 可以增强 VEGFR-2 介导的信号通路的有效性,所以能结合 NRP-1 的 VEGF-A165 比不能结合的 VEGF-A121 促有丝分裂活性高,但目前还未找到结合 VEGF-A165 后 NRP-1/NRP-2 介导的信号通路<sup>[7]</sup>。正常视网膜同时表达 VEGF 的 mRNA 与蛋白<sup>[8]</sup>。已证实 VEGF 是由 RPE 细胞旁分泌产生的, RPE 细胞向基底膜也就是脉络膜毛细血管侧分泌的 VEGF 是向视网膜神经层的 2~7 倍,在缺氧的情况下的差异会更大<sup>[9]</sup>。根据对 RPE 细胞中 VEGF 受体的研究发现, VEGF 发挥作用的机制除旁分泌后,还包括自分泌方式<sup>[10]</sup>,证实 RPE 与脉络膜毛细血管之间的关系是前者促进后者生成,后者缺乏前者则萎缩,这可能是脉络膜萎缩的一个重要原因。

1.2 VEGF 促血管生成作用及其机制的研究进展 VEGF 的促血管生成作用表现在可使 EC 中血管通透性增高,造成血浆蛋白渗漏,具有营养 EC 的作用,为其生长提供条件<sup>[11]</sup>。在缺氧或炎症等失衡状况时作用则相反:缺氧可上调其 mRNA 和蛋白质表达<sup>[12]</sup>,它成为眼内新生血管的

刺激因子。它诱导尿激酶型和组织型纤维蛋白溶解酶激活物的表达,同时也诱导 MMPs 和胶原酶的表达,促进 ECM 降解,利于 EC 移行。在 VEGF 转基因鼠中 VEGF mRNA 和蛋白分子高水平表达,能引起 CNV 生成和牵拉性视网膜脱离。Leske 等<sup>[13]</sup>在大鼠 ROP 模型中通过 qRT-PCR 可以检测到在新生血管化过程中 VEGF mRNA 的表达,抗 VEGF 疗法可明显抑制眼内 CNV 产生。VEGF 启动视网膜新生血管形成的作用是血管扩张及通透性增加,然后经过血管壁基底膜酶的降解、内皮细胞的趋化与迁移有丝分裂和周细胞的相互作用,促进血管腔形成<sup>[14]</sup>。VEGF 与 VEGFR 结合后,VEGFR 首先自磷酸化,继而激活磷脂酰胆碱特异性磷脂酶 C (PLC $\alpha$ ),水解磷脂酰肌醇二磷酸(PIP<sub>2</sub>),产生二脂酰甘油(DAG)和肌醇三磷酸(IP<sub>3</sub>),其中 DAG 可激活胞质中蛋白激酶 C (PKC),并固定于膜上,然后诱导内皮细胞生长,增加血管渗透性。有研究认为缺氧在新生血管形成初始可能起双重作用。一方面是分子水平。视网膜内层缺氧引起 VEGF 的高表达,视网膜生成的 VEGF 不断上调引起其在视网膜和玻璃体液中积聚,为新生血管形成做准备。另一方面是细胞水平,星状细胞缺氧发生变性,其使视网膜血管附着于视网膜并保持完整的作用被破坏,视网膜血管增生或长入玻璃体,同时血管壁内皮细胞接触玻璃体中的 VEGF,则向玻璃体内生长形成微动脉瘤和视网膜前新生血管<sup>[15]</sup>。

## 2 促血管生成素

促血管生成素(angiotensin, Ang)分子家族是一类由血管内皮周围细胞分泌的糖蛋白,调控 VEGF 诱导的新生血管生成,其中最重要的是 Ang-1 与 Ang-2。

**2.1 Ang-1 的促血管生成作用** 人类 Ang-1 主要由血管旁细胞包括周细胞、血管平滑肌细胞和肿瘤细胞分泌表达<sup>[16]</sup>。Ang-1 与 Tie-2 结合后,在 VEGF 等生长因子的存在下,能够抑制内皮细胞凋亡,提高细胞存活力。Ang-1 吸引血管周细胞和内皮平滑肌细胞聚集并相互作用,从而增强血管内皮细胞间连接从而有利于维持血管壁完整,促进血管重塑、成熟并在血管生成过程中促进出芽及分支的作用<sup>[17]</sup>。缺乏 Ang-1 基因表达的小鼠其胚胎血管发育异常<sup>[18]</sup>,血管网生成简单血管重塑缺陷,管径无明显区别,且周细胞缺如,胶原纤维样细胞分散,纤维丝短缩,而这些都是维持血管稳定的关键因素。9d 就出现心脏发育缺陷,心室内仅有内皮细胞衬而缺少心肌小梁,12d 出现胚胎死亡。过度表达 Ang-1 的转基因小鼠,血管管腔增大,血管基底膜连接更为完整,这提示 Ang-1 可能增加血管管径而不增加萌出分支,Ang-1 与 VEGF 协调互补,VEGF 诱导血管内皮细胞增殖形成管腔,Ang-1 则增强细胞间的连接、稳定血管壁的完整。Ang-1 还可以通过细胞整合素发挥作用引起细胞迁移。Kim 等<sup>[19]</sup>证实 Ang-1 可以诱导血管内皮细胞分泌纤维蛋白酶和 MMP-2,同时还能抑制 MMP 抑制剂-2 的分泌,从而降解细胞外基质,为细胞迁移创造条件。Ang-1 还能够下调与炎症发生相关的 E-选择素基因表达,从而保持血管内皮层稳定、降低血管通透性<sup>[20]</sup>。VEGF 与 Ang-1 联合应用<sup>[21,22]</sup>在时间、空间和剂量等方面协调和互补,能更有效形成小动脉血管,有助于改善缺血组织的血液供应。联合 VEGF 和 Ang-1 基因治疗<sup>[23]</sup>可有效促进大鼠下肢缺血组织新生血管形成和侧支循环建立,恢复闭塞部位的血供,并减少了单纯 VEGF 治疗引起的血管通透性增高而造成的一过性局部水肿等。

**2.2 Ang-1 的促血管生成作用** Ang-2 主要以同源二聚体

的形式存在,氨基酸序列分析表明人鼠同源率为 85%,显示出其进化保守性<sup>[24]</sup>。Ang-2 可竞争性的抑制 Ang-1,破坏血管内皮细胞与周围细胞的相互作用,使内皮细胞处于激活状态,形成不稳定渗漏性的血管<sup>[25]</sup>。Ang-2 转基因小鼠在 9.5~10.5d 死亡<sup>[26]</sup>。Ang-2 通过破坏现有的脉管系统,促进缺氧和 VEGF 诱导的新生血管的生成<sup>[27]</sup>。在鼠视网膜缺血诱导新生血管生成模型中缺氧和 VEGF 可以上调 EC 中 Ang-2 的表达,而不能上调 Ang-1 的表达,Ang-1 的表达是稳定不变的<sup>[28]</sup>。故推测 Ang-1 与 TEK 受体的结合是维持血管静息状态所必需,Ang-2 则竞争性拮抗 Ang-1 的作用,打破稳定,使血管处于可重建的不稳定状态。Hackett<sup>[29]</sup>发现在视网膜的血管发生过程中,Ang-2 缺陷小鼠视网膜表层血管床发育延迟,发育不完整,玻璃样血管退化障碍,在血管形成起作用的中间和深层血管床完全缺如,产生与婴儿持续性胎儿血管(persistent fetal vasculature, PFV)较为类似的表型。Umeda 等<sup>[30]</sup>发现早产儿视网膜疾病的视网膜纤维血管膜中 Ang-2, Tie-2 高表达;而转基因 Ang-2 缺陷鼠不能诱导视网膜新生血管形成<sup>[31]</sup>,而 s-Tie-2-Fc 阻断 Ang-2/Tie-2 受体途径可以抑制低氧所致的视网膜新生血管形成,以上都提示 Ang-2 与视网膜新生血管形成有关。在体外的细胞培养中发现 Ang-1 和 Ang-2 都可以单独使牛视网膜血管内皮细胞(BRECs)形成管状结构,且 Ang-1, Ang-2 均可增强 VEGF 促 BRECs 形成管状结构的作用<sup>[32]</sup>。

**2.3 Ang-1/Ang-2 比值的研究** Ang-1 是内皮生存因子,支持内皮细胞形成完整的血管壁,促进血管成熟与稳定,可以抑制在体血管的血浆渗漏和下调离体内皮细胞渗透性<sup>[33]</sup>。Ang-2 触发血管新生的发生,但新生的血管结构不完整,需要 Ang-1 去加固、稳定,才能形成正常的血管形态。所以 Ang-2 主要在血管新生的早期起作用,Ang-1 在血管新生中、后阶段起效。在生理性血管新生过程中,Ang-1/Ang-2 的比值是在有机的微环境调节下逐渐升高。但是是什么调控 Ang-1 与 Ang-2 两者之间的平衡变化并不清楚。有研究<sup>[34]</sup>显示外源性 Ang-2 同样可以激活 Tie-2 受体,促进内皮细胞迁移和存活;推测 Ang-1 与 Ang-2 分别是 Tie-2 受体的完全激动剂与部分激动剂。所以 Ang-1 与 Ang-2 同时刺激内皮细胞时,Ang-2 削弱 Ang-1 的内皮保护,起到拮抗作用。故血管稳定依赖于 Ang-1/Tie-2 信号通路,并且在生理条件下,正常人循环系统中 Ang-1 的浓度普遍高于 Ang-2,以抵消系统性释放的 Ang-2 的毒性<sup>[35]</sup>。Ang-1/Ang-2 的比值倾向于 Ang-1 时,有利于血管稳定的维持。Ang-1/Ang-2 比值倾向于 Ang-2,则增加血管渗出<sup>[30,32]</sup>。高表达 Ang-2 可以增加内皮细胞的血管细胞黏附分子 1 (VCAM-1) 和细胞间黏附分子 1 (ICAM-1) 的表达,加重 TNF-诱导的炎症反应。故 Ang-1 与 Ang-2 是协同调节血管稳态平衡,Ang-1/Ang-2 比值可能需要维持在一定范围才最有利于血管功能维护,但这一比值具体范围还有待更深入研究。

## 参考文献

- 1 Grant MB, Afzal A. The role of growth factors in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Exp Opin Invest Drugs* 2004;13(10):1275-1293
- 2 Lee YC. The involvement of VEGF in endothelial permeability: a target for anti-inflammatory therapy. *Curr Opin Investing Drugs* 2005;6(11):1124-1130
- 3 Bates DO, Cui TG. VEGF16Sb, an inhibitory splice variant of vascular endothelial growth factor, is down-regulated in renal cell carcinoma. *Cancer Res* 2002;62:4123-4131

- 4 Woolard I, Wang WY, Bevan HS, *et al.* VEGF16Sb, an inhibitory vascular endothelial growth factor splice variant; mechanism of action, *in vivo* effect on angiogenesis and endogenous protein expression. *Cancer Res* 2004;64(21):7822-7835
- 5 Takahashi H, Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clin Sci(Lond)* 2005;109(3):227-241
- 6 Das A, McGuire PG. Retinal and choroidal angiogenesis pathophysiology and strategies for inhibition. *Prog Retin Eye Res* 2003;22(6):721-748
- 7 Tammela T. The biology of vascular endothelial growth factors. *Cardiovasc Res* 2005;65(3):550-563
- 8 Nishijima K, Ng YS, Zhong L. Vascular endothelial growth factor-A is a survival factor for retinal neurons and a critical neuroprotectant during the adaptive response to ischemic injury. *Am J Pathol* 2007;169(7):14-18
- 9 Sydorova M, Lee MS. Vascular endothelial growth factor levels in vitreous and serum of patients with either proliferative diabetic retinopathy or proliferative vitreoretinopathy. *Ophthalmic Res* 2005;37(4):188-190
- 10 McLeod DS, Taomoto M, Otsuji T, *et al.* Quantifying changes in RPE and choroidal vasculature in eyes with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(6):1986-1993
- 11 Ambati J, Ambati BK. Age-related macular degeneration; etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Surv Ophthalmol* 2003;48(3):257-293
- 12 Schmid-Bmmclik N, Burgi-Taboada C. A strocyte responses to injury: VEGF simultaneously modulates cell death and proliferation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008;295(3):864-873
- 13 Leske DA, Wu J. The relationship of retinal VEGF and retinal IGF-1 mRNA with neovascularization in an acidosis-induced model of retinopathy of prematurity. *Curr Eye Res* 2006;31(2):163-169
- 14 Distler H, Hirth A. Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis. *Q J Nucl Med* 2003;47(3):149-161
- 15 Watanabe D. Transcription factor Ets-1 mediates ischemia and vascular endothelial growth factor-dependent retinal neovascularization. *Am J Pathol* 2004;164(5):1827-1835
- 16 Kim I, Kim HG, So IN. Angiopoietin-I regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signal transduction pathway. *Circ Res* 2000;86(1):24-29
- 17 Pizurki L, Zhou ZG. Angiopoietin-1 inhibits endothelial permeability neutrophil adherence and IL-8 production. *Br J Pharmacol* 2003;139(2):329-336
- 18 Papapetropoulos A, Fulton D, Mahboubi K, *et al.* Angiopoietin-1 inhibits endothelial cell apoptosis via the Akt/ surviving pathway. *J Biol Chem* 2000;275:9102-9105
- 19 Kim I, Kim HG. Angiopoietin-1 induces endothelial sproutin through the activation of focal adhesion kinase and plasmin secretion. *Circ Res* 2000;86(9):952-959
- 20 Kastrup J, Jurgensen E. Direct intramyocardial plasmid vascular endothelial growth factor-A165 gene therapy in patients with stable severe angina pectoris A randomized double blind placebo controlled study: the euroinject one trial. *J Am Coll Cardiol* 2005;45(7):982-988
- 21 Benest AV, Salmon AH. VEGF and angiopoietin -I stimulate different angiogenic phenotypes that combine to enhance functional neovascularization in adult tissue. *Microcirculation* 2006;13(6):423-437
- 22 Kutryk MJ, Stewart DJ. Angiogenesis of the heart. *Microsc Res Tech* 2003;60(2):138-158
- 23 Jiang J, Jiang N, Gao W. Augmentation of revascularization and prevention of plasma leakage by angiopoietin-1 and vascular endothelial growth factor co-transfection in rats with experimental limb ischaemia. *Acta Cardiol* 2006;61(2):145-153
- 24 Hellstrom A, Perruzzi C. Low IGF-1 suppress VEGF-survival signaling in retinal endothelial cells; direct correlation with clinical retinopathy of prematurity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98(10):5804-5808
- 25 Lambooi AC. Insulin-like growth factor-1 and its receptor in neovascular age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(5):2192-2198
- 26 Espinosa-HeMmann DG, Caieedo A, Hernamtez EP. Cousins bone marrow-derived progenitor cells contribute to experimental eho-roMal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(11):4914-4919
- 27 Nagineni CN. Transforming growth factor-1 induces expression of vascular endothelial growth factor in human retinal pigment epithelial cells; involvement of mitogen-activated protein kinases. *J Cell Physiol* 2003;197(3):453-462
- 28 Ambati J, Ambati BK. Age-related macular degeneration; etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Surv Ophthalmol* 2003;48(3):257-293
- 29 Hackett SF. Angiopoietin-2 plays an important role in retinal angiogenesis. *J Cell Physiol* 2002;192(2):182-187
- 30 Umeda N, Ozaki H. Colocalization of Tie2, angiopoietin-2, and vascular endothelial growth factor in fibrovascular membrane from patients with retinopathy of prematurity. *Ophthalmic Res* 2003;35(4):217-223
- 31 Joussen AM, Poulaki V. Suppression of diabetic retinopathy with angiopoietin-1. *Am J Pathol* 2002;160(5):1683-1693
- 32 Takagi H, Koyama S, Seike H. Potential role of the angiopoietin/Tie2 system in ischemia-induced retinal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(1):393-402
- 33 Yuan HT. Angiopoietin-2 is a partial agonist/antagonist of tie-2 signaling in endothelium. *Mol Cell Biol* 2009;29(8):2011-2022
- 34 Fiedler U, Augustin HG. Angiopoietin is a link between angiogenesis and inflammation. *Trends Immunol* 2006;27(12):552-558
- 35 Deng ZH, Liu SZ, Tan J. IGF-1R/ IGF-2R mRNA expression in the posterior sclera of chicken form-deprivation myopia. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2005;5(5):929-937