

## 血管内皮生长因子与缺血性脑损伤

郑婵娟 廖维靖 杨万同

[关键词] 血管内皮生长因子(VEGF);血管内皮生长因子受体(VEGFR);缺血性脑损伤;综述

中图分类号:R743 文献标识码:A 文章编号:1006-9771(2004)11-0688-02

[本文著录格式] 郑婵娟,廖维靖,杨万同.血管内皮生长因子与缺血性脑损伤[J].中国康复理论与实践,2004,10(11):688-689.

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)由 Ferrara 等在牛垂体滤泡星状细胞体外培养液中首先纯化出来<sup>[1]</sup>,又称血管通透因子(vascular permeability factor, VPF),是一种内皮细胞特异的有丝分裂原,通过与其受体结合而发挥促进内皮细胞增殖,加速新生血管形成,提高血管通透性等生物学特性。本文就 VEGF 及其受体的生物学特点,在缺血性脑损伤中的表达及作用的研究作简要介绍。

### 1 VEGF 及其受体

1.1 生物学特性 VEGF 是热稳定的分子,相对分子量为  $(34 - 46) \times 10^3$  (34 - 46 KD),序列高度保守,具有生物活性的是糖蛋白单体以二硫键构成的二聚体。据 cDNA 克隆分析,目前共发现 5 种 VEGF,即 VEGF<sub>23</sub>、VEGF<sub>121</sub>、VEGF<sub>165</sub>、VEGF<sub>139</sub>、VEGF<sub>206</sub>,均由同一基因编码因剪切方式不同而形成;VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D 是 VEGF 家族的另外 3 个成员,为同源二聚体蛋白,具有相似的空间结构。VEGF 是强效的有丝分裂原,在多种生理和病理条件下以旁分泌方式作用于内皮细胞,诱发血管再生,并能增加血管尤其是微小血管的通透性,促使血浆纤维蛋白、血管收缩因子和凝血因子等渗出沉积在血管基质中,为新生毛细血管网的建立提供营养,同时也加重组织水肿。

VEGF 有两种不同的受体:fms 样酪氨酸激酶受体(FLT-1 或 VEGFR-1)和激酶结构域受体/胎肝激酶(KDR/FLK-1 或 VEGFR-2),均属于 II 酪氨酸激酶受体,是位于血管内皮细胞上的跨膜糖蛋白,分为胞内、跨膜、胞外 3 部分。VEGF 通过与其受体结合而发挥生物学效应:①促进微血管内皮细胞增殖、迁移;②促使微血管通透性增加,有助于在完全阻塞血栓中产生再通血管,促进周围侧枝循环建立,改善内皮细胞依赖性血管舒张;③VEGF 通过改变内皮细胞的基因表达,包括增加组织因子和某些蛋白酶的产生,可以改变细胞外基质,从而促进生长的毛细血管穿透侵入组织内。

1.2 作用机理 Maeda 等认为,VEGF 受体与其他生长因子的跨膜酪氨酸激酶一样,可导致由配体介导的二聚体化,促使相邻亚基自身磷酸化和去磷酸化,从而触发信号转导<sup>[2]</sup>,促进内皮细胞的分裂、迁移和增殖。Rahimi 等发现,VEGFR-2 在体内外触发细胞内信号转导机制中均发挥作用,而 VEGFR-1 仅在体内抑制前者活性;VEGFR-1 主要调节细胞外基质内皮

细胞的内部反应,对内皮细胞向基质细胞的分化具有关键作用;VEGFR-2 为发挥作用的主导受体,是内皮细胞有丝分裂和增殖的决定因素,但又不能缺乏 VEGFR-1 的调节<sup>[3]</sup>。对 VEGF 两种受体的作用机制还有待进一步研究。

### 2 VEGF 及其受体在局灶性脑缺血中的表达

2.1 时间性 Hayashi 等应用大鼠短暂性大脑中动脉闭塞(MCAO)模型发现,VEGF mRNA 及 VEGF 蛋白均于再灌后 1 h 出现,3 h 达高峰,再灌 1 d 后降至缺血前水平。缺血时间的长短(1 - 3 h)对 VEGF mRNA 的表达程度及变化的时间性没有影响<sup>[4]</sup>。同样运用 MCAO 模型,Plate 等通过非放射性位点杂交技术观察到,MCAO 同侧 VEGF mRNA 及 VEGFR-1 mRNA 上调,而未见 VEGFR-2 mRNA 上调,缺血区外周 VEGFR mRNA 上调在 MCAO 起始后 3 h 开始,24 h 达高峰,持续低水平表达至第 7 天<sup>[5]</sup>。Hayashi 等发现,MCAO 后 24 h,缺血处 VEGFR 消失,而健侧无改变,但 48 h 后,VEGFR mRNA 重新出现,且逐渐升高并伴随新血管由半影区向梗死区延伸,7 d 后又恢复至正常水平<sup>[6]</sup>。

2.2 空间性 在 MCAO 模型中,VEGF mRNA 及 VEGF 蛋白的表达往往出现在损伤侧的大脑半球。Lennmyr 等发现,在血管阻塞后第 1 天,VEGF 的免疫反应在两侧大脑半球均有提高;而在第 3 天,VEGF 与抗体的免疫反应主要出现在损伤侧,并以梗死边缘区最显著,可能与梗死区神经元损伤或死亡致 VEGF 合成障碍有关<sup>[7]</sup>。Marti 等发现,在脑缺血 48 h 的缺血中心区及周围脑组织可见两种 VEGFR 不同程度上调<sup>[8]</sup>。

2.3 细胞分布 Plate 等发现,缺血周围区小胶质细胞和巨噬细胞是 VEGF 表达的主要来源,少量的星型胶质细胞也表达 VEGF mRNA<sup>[5]</sup>。Cobbs 等发现,在短暂性局灶性脑缺血中,VEGF mRNA 及其蛋白的表达主要位于缺血半影区的星型胶质细胞<sup>[9]</sup>。两者差异可能与缺血或再灌注时间的不同有关。Lennmyr 等在 MCAO 模型中发现,VEGFR-1 在神经元、胶质细胞和内皮细胞反应增加,而 VEGFR-2 主要见于胶质细胞,在内皮细胞也有一定程度的表达<sup>[7]</sup>。

### 3 VEGF 在缺血性脑损伤中的作用

3.1 保护作用 Jin 等发现,缺氧是诱导 VEGF 及其受体表达的主要因素,可提高 VEGF 及 VEGFR 的 mRNA 表达、蛋白合成和生物活性<sup>[10]</sup>。Zhang 等发现,在缺血大鼠脑表面注入人工重组 VEGF<sub>165</sub>,能明显加强缺血性脑损伤中的血管再生,减少恢复过程中的神经功能障碍<sup>[11]</sup>。Bao 等发现,侧脑室注射 VEGF 抗体可加重短暂性脑缺血再灌注损伤<sup>[12]</sup>。Sun 等指出,VEGF

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.30271671 和 No.39970935)。

作者单位:430071 湖北武汉市,武汉大学中南医院康复医学科。作者简介:郑婵娟(1976-),女,湖北荆州市人,在读硕士,医师,主要研究方向:神经疾病的康复。

有神经营养作用,能刺激轴突生长,在新血管形成之前对神经系统起直接保护作用,有助于延长细胞存活时间,直到新血管形成<sup>[13]</sup>。推测 VEGF 对缺血性脑损伤保护作用的可能途径为:在半影带低氧区,低氧激活了低氧诱导因子(HIF-1)的表达,激活的 HIF-1 又诱导 VEGF 及其受体的表达;VEGF 与其受体结合后,一方面促使微血管内皮细胞增殖、迁移,促使新血管生成,改善局部血供,同时保护内皮细胞不发生程序性死亡,防止毛细血管损伤,减轻缺血脑组织的炎症反应,从而减轻缺血性脑损伤,另一方面通过直接或间接抑制神经细胞凋亡而保护神经元。

**3.2 与脑水肿的关系** VEGF 增加血管通透性的作用非常强烈。Zhang 等在脑缺血发生后 1 h,静脉内给予 VEGF,在缺血半球加剧了血脑屏障漏的发生,从而可能加重了脑水肿的发生<sup>[14]</sup>。同时 Van Bruggen 等应用 MFLT(1-3)-IgG 阻断 VEGF 与其受体的结合,减轻了脑水肿<sup>[15]</sup>,提示 VEGF 在脑缺血时有致水肿的作用。但 Hayashi 等据 VEGF 与 VEGF mRNA 的分布时相(缺血后 1-3 h)要比脑水肿形成时期(12-24 h)早得多,指出轻至中度缺血性脑损伤后的脑水肿主要不是血管通透性增加所致(血管源性脑水肿),而是细胞损伤所致(细胞源性脑水肿)<sup>[6]</sup>。地塞米松抑制 VEGF 的表达即能降低血管通透性,但并不能有效减轻缺血性脑水肿,也支持这一观点。因此 VEGF 是否直接参与或加重卒中后脑水肿有待深入研究。

#### 4 VEGF 在缺血性脑损伤中的治疗策略

基于 VEGF 在缺血性脑损伤中的保护作用,增加 VEGF 及其受体的表达能明显增加血管的再生和促进神经功能的恢复,为缺血性脑损伤的治疗开辟了新的途径。

目前,应用 VEGF 基因治疗分以下方法进行:①直接法:通过基因转移技术将携带 VEGF 基因的载体准确地转移到治疗部位,并导入内皮细胞内。目前该法的研究较深入。②间接法:从宿主获得内皮细胞,体外培养后用 VEGF 基因载体转染,通过载体将转染的内皮细胞种植于宿主体内,转染成功的注射部位周围有大量新生血管生成。间接法由于从获取细胞到种植体内所需周期大,临床应用受限。最近,Byzova 等研究了腺病毒编码的 VEGFD 可成功地表达具有生物活性的 VEGF 蛋白,诱导血管生成和神经功能恢复<sup>[16]</sup>,可望成为一种新的基因疗法。Shingo 等利用 VEGF 分泌细胞能够持续稳定地低剂量释放人工重组 VEGF 至脑实质,证明用 VEGF 分泌细胞组比直接注入 VEGF 组梗死体积减少了近 40%,且明显地增加了梗死边缘区脑血管的生成和神经功能的恢复<sup>[17]</sup>。Wang 等发现,电针刺激内关穴增强了 VEGF 及其受体的表达,减少了梗死的体积,有助于卒中后神经功能的恢复<sup>[18]</sup>。但是这些治疗方法仅在实验阶段,应用于临床还有待进一步的研究。

#### 5 展望

在缺血性脑损伤中,由 HIF-1 诱导的 VEGF 早期保护脑细胞,后期促血管生长,促缺血半影区侧枝循环的建立,改善梗死周边区域的血液供应,从而有助于缺血性脑血管疾病的恢复。但 VEGF 在缺血性脑损伤中的生物学作用,VEGF 及其受体的作用机制以及各种干预因素的影响还没有可靠的证据清

楚解释;缺血性脑损伤后与血管再生有关的因子还很多,各因子间的相互作用也有待进一步认识;同时,目前所提出的有关治疗方案也仅在实验阶段,运用于临床还存在一定的副作用和不足。需要进一步研究 VEGF 在缺血性脑损伤中的作用机制,以及各种干预因素对其作用的影响,寻找切实可行的治疗方法。

#### [参考文献]

- [1] Ferrara N, Henzel WJ. 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] Maeda K, Chung YS, Ogawa Y, et al. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma[J]. Cancer, 1996, 77(5): 858 - 863.
- [3] Rahimi N, Dayanir V, Lashkari K. Receptor chimeras indicate that the vascular endothelial growth factor-1 (VEGFR-1) modulates mitogenic activity of VEGFR-2 in endothelial cells[J]. J Biol Chem, 2000, 275(22): 16986 - 16992.
- [4] Hayashi T, Abe K, Suzuki H, et al. Rapid induction of vascular endothelial growth factor gene expression after transient middle cerebral artery occlusion in rats[J]. Stroke, 1997, 28(10): 2039 - 2044.
- [5] Plate KH, Beck H, Danner S, et al. Cell type specific up-regulation of vascular endothelial growth factor in an MCA-occlusion model of cerebral infarct[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 1999, 58(6): 654 - 666.
- [6] Hayashi T, Abe K, Itoya Y, et al. Reduction of ischemic damage by application of vascular endothelial growth factor in rat brain after transient ischemia[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1998, 18(8): 887 - 895.
- [7] Lennmyr F, Ata KA, Funa K. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors (FLT-1 and FLK-1) following permanent and transient occlusion of the middle cerebral artery in the rat[J]. J Neuropathol Exp Neurol, 1998, 57(9): 874 - 882.
- [8] Marti HJ, Bernaudin M, Bellail A, et al. Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression precedes neovascularization after cerebral ischemia[J]. Am J Pathol, 2000, 156(3): 965 - 976.
- [9] Cobbs CS, Chen J, Greenberg DA, et al. Vascular endothelial growth factor expression in transient focal cerebral ischemia in the rat[J]. Neurosci Lett, 1998, 249(2-3): 79 - 82.
- [10] Jin KL, Mao XO, Nagayama T. Induction of vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor-1 alpha by global ischemia in rat brain[J]. Neurosci, 2000, 99(3): 577 - 585.
- [11] Zhang ZG, Zhang L, Tsang W, et al. Correlation of VEGF and angiopoietin expression with disruption of blood-brain barrier and angiogenesis after focal cerebral ischemia[J]. J Cerebral Blood Flow Metab, 2002, 22(4): 379 - 392.
- [12] Bao WL, Lu SD, Wang H, et al. Intraventricular vascular endothelial growth factor antibody increases infarct volume following transient cerebral ischemia[J]. Zhongguo Yaoli Xuebao, 1999, 20(4): 313 - 318.
- [13] Sun Y, Jin K, Xie L, et al. VEGF-induced neuroprotection, neurogenesis and angiogenesis after focal cerebral ischemia[J]. J Clin Invest, 2003, 111(12): 1843 - 1851.
- [14] Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, et al. VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain[J]. J Cerebral Blood Flow Metab, 2000, 106(7): 829 - 838.
- [15] Van Bruggen N, Thibodeaux H, Palmer JT, et al. VEGF antagonism reduces edema formation and tissue damage after ischemia/reperfusion injury in the mouse brain[J]. J Clin Invest, 1999, 104(11): 1613 - 1620.
- [16] Byzova TV, Goldman CK, Jankau J, et al. Adenovirus encoding vascular endothelial growth factor D induces tissue-specific vascular patterns in vivo[J]. Blood, 2002, 99(12): 4434 - 4442.
- [17] Shingo T, Date I, Yano A, et al. Cell therapy for cerebral ischemia using vascular endothelial growth factor-secreting cells[J]. International Congress Series, 2003, 125(4): 483 - 487.
- [18] Wang SJ, Omori N, Li F, et al. Functional improvement by electroacupuncture after transient middle cerebral artery occlusion in rats[J]. Neurol Res, 2003, 25(5): 516 - 521.

(收稿日期:2004-01-29)