

· 综述 ·

不同亚型血管内皮生长因子与脑梗死治疗的研究进展

陈亚男 何学明

222042 蚌埠医学院附属连云港市立东方医院老年医学科

通信作者: 何学明, Email: 15261379088@139.com

DOI: 10.3969/j.issn.1009-6574.2019.10.011

【摘要】 血管内皮生长因子(VEGF)家族在脑梗死的发生发展过程中发挥着重要作用。目前发现不同亚型的VEGF参与了脑损伤过程中的血管生成、营养代谢、淋巴管生成、神经保护、炎症抑制等过程。此家族特异的生物学作用为脑梗死的治疗提供了新思路。现综述该家族各亚型在脑梗死发生发展中的相应作用,以及VEGF与脑梗死治疗相关的研究进展及局限。

【关键词】 脑梗死; 血管内皮生长因子; 治疗; 综述

Research progress of different subtypes of vascular endothelial growth factor and treatment of cerebral infarction

Chen Yanan, He Xueming

Geriatrics Department, Liangyungang Municipal Oriental Hospital, Bengbu Medical University, Liangyungang 222042, China

Corresponding author: He Xueming, Email: 15261379088@139.com

【Abstract】 Vascular endothelial growth factors (VEGF) family plays a significant role in the development of cerebral infarction. It has been found that different subtypes of VEGF are involved in the process of angiogenesis, nutrient metabolism, lymphangiogenesis, neuroprotection, and inflammation inhibition during brain injury. This family-specific biological role provides a new idea for the treatment of cerebral infarction. This article reviews the corresponding roles of various subtypes of vascular endothelial growth factor in the development of cerebral infarction, and at the same time, the ongoing efforts to address these hotspot targets of VEGF and their limitations in therapeutic terms have been highlighted.

【Key words】 Cerebral infarction; Vascular endothelial growth factor; Treatment; Review

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在血管生成、神经保护等方面起重要作用,存在于多种细胞和组织中,在低氧、炎性因子诱导以及原癌因子的刺激下表达^[1]。脑梗死主要病理基础是动脉粥样硬化,动脉粥样硬化使得动脉管壁进行性增厚变硬,管腔狭窄甚至闭塞或并发斑块破裂,促使供血区血流中断,导致组织缺氧、炎性因子释放,进而激活VEGF表达^[2]。目前脑梗死治疗,无论是脑血运重建还是神经保护策略都没有取得良好的临床效益。因此VEGF潜在的临床药物治疗干预靶点作用,成为目前研究的重点和突破点。现将总结目前VEGF在脑梗死作用中相关的临床前证据。

一、VEGF配体及受体家族

1. VEGF配体家族: VEGF^[3]是一组36~46 kDa大小的同源二聚体糖蛋白,主要由6个成员组成,包括VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E以及胎盘生长因子(placenta growth factor, PLGF)。

这些因子参与到血管形成、神经发生、免疫调节和新陈代谢等过程。其中,VEGF-A又称为血管通透性因子(vascular permeability factor, VPF),与血管再生、血管通透性关系最为密切,共有9种异构体,以VEGF-A165为主要活性形式存在。VEGF-B目前已经鉴定出两种亚型^[4]: VEGF-B167和VEGF-B186, VEGF-B167含量更丰富,约占80%,但在体内,VEGF-B186更易扩散。

2. VEGF受体家族: VEGF受体家族^[1](vascular endothelial growth factor receptor, VEGFRs)主要包括具有高亲和力的跨膜酪氨酸激酶受体和神经纤毛蛋白受体(NRPs)两大类。酪氨酸激酶受体作为主要受体又分为3个亚型,分别命名为VEGFR-1(Flt1)、VEGFR-2(Flk1)、VEGFR-3(Flt4),其中VEGFR-1的胞外部分称可溶性血管内皮生长因子受体1(soluble fms-like tyrosine kinase-1, sflt-1)^[5],可竞争性阻断VEGF-A的生物学活性。NRPs^[6]是一种单次跨膜

糖蛋白,有NRP-1和NRP-2两种亚型。

3. VEGF配体与受体的结合激活:由于组织和细胞类型特异性以及配体、受体亚型结合特异性,不同亚型VEGF具有相应的独特功能。VEGF-A是重要的内皮细胞增殖和血管生成调节因子,有VEGFR-1、VEGFR-2两种受体,但VEGFR-2是发挥活性的主要调节受体^[7]。尽管如此,VEGFR-1调控VEGF-A是必不可少的。研究表明VEGFR-1是VEGF-A作用的负调控因子^[8]。VEGFR-1缺失的情况下,VEGF-A只与VEGFR-2结合,导致高血管化^[9]。VEGF-B与PLGF仅能与VEGFR-1结合发挥活性。不同于VEGF-B,PLGF侧重血管生成作用^[10],而VEGF-B在血管生成中不起重要作用^[11],它主要参与组织营养和能量代谢过程^[12-13]。VEGF-C和VEGF-D被认为是主要的淋巴管生成因子,主要同VEGFR-3结合发挥作用^[14]。VEGF-E仅能与VEGFR-2结合作用^[15]。而NRPs可以与VEGFRs结合以增强后者的作用;一些VEGF也可以独立地与NRPs结合^[6]。

二、不同亚型VEGF在脑梗死中的作用

1. VEGF-A在脑梗死中的作用:VEGF-A在脑损伤后血管生成和血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)的破坏中的作用已被广泛熟知。Clayton等^[16]通过对小鼠进行股动脉结扎术,确定了VEGF-A、VEGFR-1和VEGFR-2的靶向过表达组相较于低表达组侧支更丰富,在缺血后血流灌注恢复率提高,缺血损伤更小。Zhang等^[17]的实验也证实了VEGF-A的血管生成作用,增强了脑微血管灌注,但同时他们还发现VEGF-A还显著增加出血转化风险,并且使得相同时间点缺血损伤区域扩展更大。不仅如此,VEGF-A还通过细胞内吞作用介导重组组织型纤溶酶原激活剂(recombinant tissue-type plasminogen activator, rt-PA)溶栓过程中脑血管通透性,导致大脑缺血性卒中后早期肿胀^[18]。而限制VEGF-A表达有助于维持BBB的完整性,减少炎症因子浸润^[19]。这些证据表明,应用VEGF-A治疗缺血性脑梗死的风险效益比很高。为了消除其对缺血性脑梗死后BBB破坏和脑水肿的不利影响,必须彻底阐明其潜在机制,同时还需要进一步的研究来确定VEGF-A何时以及如何促进侧支形成,以及如何稳定和维持组织中新生侧支^[16]。

2. VEGF-B在脑梗死中的作用:目前VEGF-B在脑缺血中的作用尚未清楚。尽管发现VEGF-B具有血管生成作用,但这不是VEGF-B的直接作用^[11]。

最近研究发现VEGF-B在许多代谢活性组织中高度表达,参与维持组织的氧化代谢、细胞生长

和细胞存活以及介导脂肪酸跨内皮转运等过程。VEGF-B通路的缺陷被证明与细胞死亡信号的增加有关^[13]。进一步研究VEGF-B的细胞保护效应是否与其脂肪酸转运功能有关,或者它们是否是两个独立的途径,将非常有意义。这可能为病理性脂质积聚提供新的调控策略,但在不同条件下VEGF-B功能转换的机制尚不清楚^[20]。

Xie等^[21]发现在大鼠大脑中动脉闭塞后,缺血边缘区的神经元和巨噬细胞/小胶质细胞内VEGF-B免疫反应增加。鱼藤酮是一种对多巴胺能神经元有毒的杀虫剂,Falk等^[22]体外使用鱼藤酮培养大鼠中脑细胞,并外源性给予VEGF-B167,与未处理组相比,多巴胺能细胞阳性细胞数的平均治疗效果增加了30%,表明VEGF-B具有神经保护作用。Sun等^[23]发现敲除VEGF-B基因的小鼠(VEGF-B^{-/-})在脑缺血损伤模型中相较于野生型小鼠(VEGF-B^{+/+}),梗死体积增加约40%,而且神经损伤也更为严重。后续的研究发现,脑室注射VEGF-B可使敲除VEGF-B基因的小鼠的神经发生恢复到野生型水平,证明了VEGF-B调节大脑中神经发生过程^[24]。

研究还发现即使在病理条件下VEGF-B表达也没有引起炎症或血管渗漏等不良反应^[12]。因此,VEGF-B似乎具有广阔的治疗窗口,其在脑梗死疾病中的应用可能具有重要意义。

3. VEGF-C在脑梗死中的作用:VEGF-C与VEGFR-3(Flt4)结合发挥作用。有研究发现缺血性脑梗死可增强VEGF-C和VEGFR-3在多种细胞类型中的表达,提示脑损伤后VEGF-C/VEGFR-3信号的多功能作用^[14]。M1和M2是胶质细胞的两种不同表型,在继发性损伤中起着关键作用^[25]。M1表型与促炎细胞因子的表达有关,而M2表型有助于再生和神经保护。因此刺激M2的同时抑制M1被认为是治疗卒中的一种潜在的治疗方法。Ju等^[26]在创伤性脑损伤大鼠的模型中,发现通过外源性VEGF-C给药可诱导小胶质细胞M2型极化,显著改善实验性创伤性脑损伤后的运动缺陷及神经功能,证实了VEGF-C/VEGFR3信号在调节脑外伤后小胶质细胞极化中的作用。Bhuiyan等^[27]发现缺血预处理增加了锥体神经元中VEGF-C的表达,并介导细胞对严重缺血的耐受。

脑膜淋巴管是目前研究的热点。缺血性损伤可诱导脑膜淋巴管生成,这些淋巴管的缺失可影响卒中的预后^[28]。有研究认为淋巴管一旦受损,代谢产物在脑实质内的积聚,可能导致脑损伤,并且可能促进血管痉挛或微循环障碍^[29]。VEGF-C作为淋

巴管生成的中心因子,在这一过程中可能发挥着重要作用。Wen等^[30]建立了脑缺血肺损伤动物模型,发现动物的神经元细胞质以及肺支气管、I型上皮细胞(AT I)和II型上皮细胞(AT II)的细胞质中VEGF-C水平显著升高。他们发现这种上调表达对脑神经元起保护作用,但却增加了肺部炎症、出血及水肿。他们认为这可能是由于VEGF-C的过度表达,导致淋巴管增生,使过度产生的自由基或活性氧被转移到远处的器官,但这一过程也因此导致了其他器官的损伤。这可能为脑缺血再灌注损伤提供了靶向VEGF-C治疗的新思路。

4. VEGF-D在脑梗死中的作用:目前对VEGF-D的研究主要集中在其血管生成和淋巴管生成作用。Nag等^[31]发现在大鼠脑缺血损伤部位周边的中性粒细胞和巨噬细胞中可见明显的胞质VEGF-D免疫反应性,并且在病变边缘观察到微血管,他们认为VEGF-D参与了血管生成作用,但脑膜淋巴管生成作用,他们并未予以肯定。最近VEGF-D还被发现是一种重要的调节脂蛋白代谢的因子。VEGF-D的缺乏导致胆固醇、甘油三酯水平显著升高,值得注意的是低密度脂蛋白水平没有升高,而且此过程似乎也没有加速动脉粥样硬化的发展^[32]。但这一发现与脑血管疾病关系尚未有相关研究。

5.其他亚型VEGF在脑梗死中的作用:同VEGF-A一样,VEGF-E、PLGF都具有强烈的血管生成反应。一项研究发现,VEGF-E诱导小鼠皮下血管生成能力较PLGF更强^[15]。值得注意的是,VEGF-E、PLGF诱导的血管渗漏是VEGF-A165诱导的1/4,并且有更少的炎症细胞募集效应。但其在脑梗死治疗中的作用报道极少。

三、与VEGFs有关的缺血性脑梗死治疗的研究进展

目前相关数据几乎完全基于动物模型,而且多为对VEGF-A的研究。

研究证实VEGF具有时间依赖性。在脑梗死晚期(48 h)给予VEGF可改善缺血半影区的脑微血管灌注,但在早期(1 h)给予则可增加BBB渗漏^[17]。同时VEGF还具有剂量依赖性。低浓度VEGF治疗显示出对脑损伤组织有显著保护作用,尽管高浓度组具有更大的血管生成作用,但是对BBB及微血管通透性的影响却掩盖了其血管生成及神经保护的好处^[33]。因此,VEGF的临床疗效可能取决于其直接的神经保护作用,而不是间接的血管生成功能。

相对于VEGF在脑内环境的总剂量,VEGF长期、稳定、有效的表达是其充分发挥其生物效能的

基础^[30]。因此一些研究者采用产生VEGF的细胞进行直接移植^[34]或经VEGF基因修饰后移植^[35]。在非人类灵长类动物相关实验中没有观察到不良反应,也没有发现肿瘤形成,确定了其安全性^[35]。

VEGF的给药途径有动脉内、静脉内和脑内注射3种^[35]。目前多采用静脉给药,但生物分布广泛,缺血区的细胞密度较低,效果欠佳;脑内给予损伤性大且更易产生压迫效应;相对而言,动脉内给药可能是一种很有前途的治疗方法,因为它比静脉给药更能促进大量细胞向缺血组织迁移,并且比脑内注射具侵入性更小。

综上所述,采用VEGF治疗脑梗死仍然面临着严峻挑战,需要汲取前期血管生成药物临床转化实验失败教训,进一步研究提高VEGF治疗的有效性、安全性、可行性,衡量有益治疗时间窗、有效治疗剂量及给药途径,探讨VEGF联合治疗方案以提高血管生成、神经保护和神经生成特性的策略,同时避免血管通透性增加、炎症细胞触发而产生直接或继发严重有害影响。

利益冲突 文章所有作者共同认可文章无相关利益冲突

作者贡献声明 文献整理、论文撰写及修订为陈亚男,文章审校为何学明

参 考 文 献

- [1] 潘之光,毛颖,孙凤艳.血管内皮生长因子促损伤脑内神经血管单元的重构[J].生理学报,2017,69(1):96-108. DOI: 10.13294/j.aps.2016.0106.
Pan ZG, Mao Y, Sun FY. VEGF enhances reconstruction of neurovascular units in the brain after injury[J]. Acta Physiologica Sinica, 2017, 69(1): 96-108.
- [2] Chistiakov DA, Melnichenko AA, Myasoedova VA, et al. Role of lipids and intraplaque hypoxia in the formation of neovascularization in atherosclerosis[J]. Ann Med, 2017, 49(8): 661-677. DOI: 10.1080/07853890.2017.1366041.
- [3] Geiseler SJ, Morland C. The Janus Face of VEGF in Stroke[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(5): pii E1362. DOI: 10.3390/ijms19051362.
- [4] Rowe GC, Young ME. VEGF-B: friend or foe to the heart in times of nutrient excess[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2017, 313(2): H244-H247. DOI: 10.1152/ajpheart.00158.2017.
- [5] 周仪华,王舒,袁影.可溶性血管内皮生长因子受体1对动脉粥样硬化斑块的作用[J].中国组织工程研究,2016,20(18): 2697-2702. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.18.017.
Zhou YH, Wang S, Yuan Y. Effect of soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 on atherosclerotic plaque[J]. Chinese Journal of Tissue Engineering Research, 2016, 20(18): 2697-2702.
- [6] Djordjevic S, Driscoll PC. Targeting VEGF signalling via the neuropilin co-receptor[J]. Drug Discov Today, 2013, 18(9/10): 447-455. DOI: 10.1016/j.drudis.2012.11.013.
- [7] Shibuya M. Structure and dual function of vascular endothelial growth factor receptor-1 (Flt-1) [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2001, 33(4): 409-420. DOI: 10.1016/s1357-2725(01)00026-7.

- [8] Boucher JM, Clark RP, Chong DC, et al. Dynamic alterations in decoy VEGF receptor-1 stability regulate angiogenesis[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 15699. DOI: 10.1038/ncomms15699.
- [9] Ho VC, Fong GH. Vasculogenesis and Angiogenesis in VEGF Receptor-1 Deficient Mice[J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1332: 161-176. DOI: 10.1007/978-1-4939-2917-7_12.
- [10] Anisimov A, Leppänen VM, Tvorogov D, et al. The basis for the distinct biological activities of vascular endothelial growth factor receptor-1 ligands[J]. *Sci Signal*, 2013, 6(282): ra52. DOI: 10.1126/scisignal.2003905.
- [11] Lal N, Puri K, Rodrigues B. Vascular Endothelial Growth Factor B and Its Signaling[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2018, 5: 39. DOI: 10.3389/fcvm.2018.00039.
- [12] Bry M, Kivelä R, Leppänen VM, et al. Vascular endothelial growth factor-B in physiology and disease[J]. *Physiol Rev*, 2014, 94(3): 779-794. DOI: 10.1152/physrev.00028.2013.
- [13] Lal N, Chiu AP, Wang F, et al. Loss of VEGFB and its signaling in the diabetic heart is associated with increased cell death signaling[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2017, 312(6): H1163-H1175. DOI: 10.1152/ajpheart.00659.2016.
- [14] Shin YJ, Park JM, Cho JM, et al. Induction of vascular endothelial growth factor receptor-3 expression in perivascular cells of the ischemic core following focal cerebral ischemia in rats[J]. *Acta Histochem*, 2013, 115(2): 170-177. DOI: 10.1016/j.acthis.2012.06.005.
- [15] Kiba A, Sagara H, Hara T, et al. VEGFR-2-specific ligand VEGF-E induces non-edematous hyper-vascularization in mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 301(2): 371-377. DOI: 10.1016/s0006-291x(02)03033-4.
- [16] Clayton JA, Chalothorn D, Faber JE. Vascular endothelial growth factor-A specifies formation of native collaterals and regulates collateral growth in ischemia[J]. *Circ Res*, 2008, 103(9): 1027-1036. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.108.181115.
- [17] Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, et al. VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain[J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(7): 829-838. DOI: 10.1172/JCI9369.
- [18] Suzuki Y, Nagai N, Yamakawa K, et al. Recombinant tissue-type plasminogen activator transiently enhances blood-brain barrier permeability during cerebral ischemia through vascular endothelial growth factor-mediated endothelial endocytosis in mice[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015, 35(12): 2021-2031. DOI: 10.1038/jcbfm.2015.167.
- [19] Nguyen H, Aum D, Mashkouri S, et al. Growth factor therapy sequesters inflammation in affording neuroprotection in cerebrovascular diseases[J]. *Expert Rev Neurother*, 2016, 16(8): 915-926. DOI: 10.1080/14737175.2016.1184086.
- [20] Zafar MI, Zheng J, Kong W, et al. The role of vascular endothelial growth factor-B in metabolic homeostasis: current evidence [J]. *Biosci Rep*, 2017, 37(4). DOI: 10.1042/BSR20171089.
- [21] Xie L, Mao X, Jin K, et al. Vascular endothelial growth factor-B expression in postischemic rat brain[J]. *Vasc Cell*, 2013, 5: 8. DOI: 10.1186/2045-824X-5-8.
- [22] Falk T, Zhang S, Sherman SJ. Vascular endothelial growth factor B (VEGF-B) is up-regulated and exogenous VEGF-B is neuroprotective in a culture model of Parkinson's disease[J]. *Mol Neurodegener*, 2009, 4: 49. DOI: 10.1186/1750-1326-4-49.
- [23] Sun Y, Jin K, Childs JT, et al. Increased severity of cerebral ischemic injury in vascular endothelial growth factor-B-deficient mice[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2004, 24(10): 1146-1152. DOI: 10.1097/01.WCB.0000134477.38980.38.
- [24] Sun Y, Jin K, Childs JT, et al. Vascular endothelial growth factor-B (VEGFB) stimulates neurogenesis: evidence from knockout mice and growth factor administration[J]. *Dev Biol*, 2006, 289(2): 329-335. DOI: 10.1016/j.ydbio.2005.10.016.
- [25] Wen L, You W, Wang H, et al. Polarization of Microglia to the M2 Phenotype in a Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma-Dependent Manner Attenuates Axonal Injury Induced by Traumatic Brain Injury in Mice [J]. *J Neurotrauma*, 2018, 35(19): 2330-2340. DOI: 10.1089/neu.2017.5540.
- [26] Ju S, Xu C, Wang G, et al. VEGF-C Induces Alternative Activation of Microglia to Promote Recovery from Traumatic Brain Injury[J]. *J Alzheimers Dis*, 2019, 68(4): 1687-1697. DOI: 10.3233/JAD-190063.
- [27] Bhuiyan MI, Kim JC, Hwang SN, et al. Ischemic tolerance is associated with VEGF-C and VEGFR-3 signaling in the mouse hippocampus[J]. *Neuroscience*, 2015, 290: 90-102. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2015.01.025.
- [28] Yanev P, Poinatte K, Hominick D, et al. Impaired meningeal lymphatic vessel development worsens stroke outcome[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2019, 271678X18822921. DOI: 10.1177/0271678X18822921.
- [29] Siler DA, Gonzalez JA, Wang RK, et al. Intracisternal administration of tissue plasminogen activator improves cerebrospinal fluid flow and cortical perfusion after subarachnoid hemorrhage in mice[J]. *Transl Stroke Res*, 2014, 5(2): 227-237. DOI: 10.1007/s12975-014-0329-y.
- [30] Wen MD, Jiang Y, Huang J, et al. A Novel Role of VEGFC in Cerebral Ischemia With Lung Injury[J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 479. DOI: 10.3389/fnins.2019.00479.
- [31] Nag S, Manias J, Eubanks JH, et al. Increased Expression of Vascular Endothelial Growth Factor-D Following Brain Injury[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(7). DOI: 10.3390/ijms20071594.
- [32] Tirronen A, Vuorio T, Kettunen S, et al. Deletion of Lymphangiogenic and Angiogenic Growth Factor VEGF-D Leads to Severe Hyperlipidemia and Delayed Clearance of Chylomicron Remnants[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(10): 2327-2337. DOI: 10.1161/ATVBAHA.118.311549.
- [33] Manoonkitiwongsa PS, Schultz RL, Whitter EF, et al. Contraindications of VEGF-based therapeutic angiogenesis: effects on macrophage density and histology of normal and ischemic brains[J]. *Vascul Pharmacol*, 2006, 44(5): 316-325. DOI: 10.1016/j.vph.2006.01.008.
- [34] Zhang HL, Xie XF, Xiong YQ, et al. Comparisons of the therapeutic effects of three different routes of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in cerebral ischemic rats[J]. *Brain Res*, 2018, 1680: 143-154. DOI: 10.1016/j.brainres.2017.12.017.
- [35] Sasaki M, Honmou O, Radtke C, et al. Development of a middle cerebral artery occlusion model in the nonhuman primate and a safety study of i.v. infusion of human mesenchymal stem cells[J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e26577. DOI: 10.1371/journal.pone.0026577.

(收稿日期: 2019-08-10)

(本文编辑: 戚红丹)