

综述



吕林莉, 教授, 博士生导师, 东南大学肾脏病研究所副所长, 东南大学医学院内科学系副主任, 中国生理学会肾脏生理专业委员会青年委员会副主任委员、中国研究型医院学会细胞外囊泡研究与应用专业委员会委员。主要研究方向为细胞外囊泡在肾脏炎症及纤维化中的作用和临床诊疗转化研究。近年来先后主持国家自然科学基金优秀青年基金 1 项、面上项目 3 项, 累计发表 SCI 收录论文 70 余篇, 包括 *Sci Adv*、*Cell Death Differ*、*J Am Soc Nephrol*、*Kidney Int* 等, 主编英文专著 1 部, 以主要发明人获授权国家发明专利 2 项。曾荣获 2020 年度美国华人肾脏病学会青年研究者奖、2021 年度中华医学会肾脏病学分会杰出青年研究者奖。

VEGF-A及其不同异构体在肾脏疾病中的研究进展

敬婧, 仲鑫, 刘必成, 吕林莉*

东南大学肾脏病研究所, 东南大学附属中大医院肾脏科, 南京 210009

摘要: 血管内皮生长因子-A (vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A) 是重要的血管生成因子, 肾脏足细胞与上皮细胞是分泌 VEGF-A 的主要细胞类型, 在肾脏病理生理过程中发挥重要作用。近年来随着对 VEGF-A 不同异构体功能的深入研究, 以及对细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 作为 VEGF-A 的新型分泌方式的认知, 进一步关注和深入研究 VEGF-A 在肾脏损伤中的作用具有重要意义。本文主要从 VEGF-A 的表达、分泌、调控和生物学功能及 VEGF-A 不同异构体在肾脏病进展中的作用机制进行了综述, 同时探讨了 VEGF-A 作为肾脏病诊断标志物和治疗靶点的研究进展。

关键词: 血管内皮生长因子; 肾脏疾病; 内皮细胞; 细胞外囊泡; 外泌体

Research progress of vascular endothelial growth factor-A and its isoforms in kidney disease

JING Jing, ZHONG Xin, LIU Bi-Cheng, LYU Lin-Li*

Institute of Nephrology, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009, China

Abstract: Vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) is a critical angiogenic factor which is mainly secreted from podocytes and epithelial cells in kidney and plays an important role in renal pathophysiology. In recent years, functions of different isoforms of VEGF-A and the new secretion approach via extracellular vesicles (EVs) have been identified. Thus, further understanding are needed for the role of VEGF-A and its isoforms in renal injury and repair. In this review, we summarized the expression, secretion and regulation of VEGF-A, its biological function, and the role of different isoforms of VEGF-A in the development of different renal diseases. Meanwhile, the research progress of VEGF-A as diagnostic marker and therapeutic target for renal diseases were discussed.

Key words: vascular endothelial growth factor; renal disease; endothelial cell; extracellular vesicle; exosomes

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81970616, 82030024, 81720108007) and the National Key Research and Development Program of China (No. 2018YFC1314000).

*Corresponding author. E-mail: lvlinli@seu.edu.cn

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 是一种生物活性强、高度保守的二聚体阳离子糖蛋白。VEGF 家族包括 VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGF-E、VEGF-F 和胎盘生长因子 (placental growth factor, PGF)。VEGF 则通常指代 VEGF-A, 基因定位于 6p21.3, 包含 8 个外显子和 7 个内含子, 全长 14 kb^[1]。VEGF-A 是一种强大的特异性内皮细胞有丝分裂素, 可介导内皮细胞增殖和迁移、新生血管出芽, 调控血管生成与通透性, 维持血管功能^[2]。在生理状态下, VEGF-A 的表达受到精密调控, 保持稳定, 在肾脏疾病情况下, VEGF-A 的表达和分泌会发生明显改变, 其可能通过表达上调或抑制参与多种肾脏病的发生与发展。VEGF-A 在肾脏疾病中的作用可能存在复杂的调控, 认识其作用及调节机制, 对理解肾脏病发生与发展具有重要意义。值得注意的是, 近年来随着对 VEGF-A 不同异构体功能以及以细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 为载体的新型分泌方式的认识, 进一步关注和深入研究 VEGF-A 在肾脏损伤中作用具有重要意义。本文对 VEGF-A 在肾脏固有细胞的表达、分泌、调控和生物学功能、VEGF-A 及不同异构体的表达及在肾脏病进展中的作用进行系统综述, 另外也对 VEGF-A 作为肾脏病诊断标志物和治疗靶点的研究进展及前景进行了讨论。

1 VEGF-A在肾脏固有细胞的表达及功能

VEGF-A 是参与肾脏病理生理过程的关键因子, 足细胞与肾小管上皮细胞 (tubular epithelial cells, TECs) 均可表达和分泌 VEGF-A^[3]。足细胞分泌的 VEGF-A 顺浓度梯度弥散穿过肾小球滤过屏障 (glomerular filtration barrier, GFB), 与肾小球内皮细胞 (glomerular endothelial cells, GEnCs) 上的 VEGF 受体 (vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR) 特异性结合, 促进肾小球的血管网形成, 维持正常生理作用^[4]。在慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 早期, VEGF-A 在成熟的足细胞表达升高, 影响小球形态与功能^[5]。近端和远端 TECs 表达和分泌 VEGF-A 时, 不仅以旁分泌方式向管周毛细血管 (peritubular capillaries, PTC) 扩散产生生物学效应, 还通过自分泌 VEGFR-2 促进 TECs 增殖、存活, VEGF-A 除介导肾脏血管生成外, 还具备支持 TECs 生长的作用^[6]。而当 TECs 表达和分泌 VEGF-A 发生改变时, 可同时影响 PTC 与 TECs 的结构和功能。

由此可见, VEGF-A 通过介导足细胞与肾小球毛细血管、TECs 与 PTC 间对话, 对肾单位的结构和功能的维持具有重要作用, 是探索肾脏病发生机制中不可忽略的重要分子 (图 1)。

VEGF-A 表达受多种因素的调控, 其上游调控因素包括低氧、细胞因子、性激素和生长因子等^[7,8]。其中低氧使缺氧诱导因子 (hypoxia inducible factor 1, HIF-1) 表达增多, HIF-1 是介导 VEGF-A 表达的重要转录因子之一^[9]。Forsythe 等人第一次证实人类 VEGF-A 启动子的 5' 端基因序列功能性缺氧反应元件 (hypoxia response element, HRE) 与异二聚体 HIF-1 β /HIF-1 α 结合^[10]。缺氧可激活转录因子 HIF-1 升高, HIF-1 与 RNA 聚合酶结合调控 VEGF-A 基因转录, 因此当肾脏出现缺氧时, 调控机制可从 VEGF-A 转录与翻译水平上对缺氧作出反应^[11]。肾脏病早期皮质小管细胞缺氧时, 表达 HIF-1 明显增多, 使 VEGF-A 水平升高, 促进内皮细胞增殖, 通过小管周围血管重塑获得缺氧耐受响应^[12]。体内实验证实肾缺血时 TECs 中 HIF-1 表达增加, 激活多个下游靶基因从而促进 VEGF-A 表达^[13]。然而, 在慢性肾脏疾病进展期, 近端 TECs 中 VEGF-A 表达则下调, 这可能与正向共调节因子表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 和胰岛素样生长因子-1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) 的表达减少相关^[14]。此外, 前列腺素、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、白细胞介素、成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 家族的角度形成细胞生长因子 (keratinocyte growth factor, KGF)、多种癌基因以及激素均可调控 VEGF-A 的表达^[15]。

VEGF-A 与 VEGFR 结合后发挥生物学效应, 主要包括 VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3, 这些受体属于酪氨酸激酶受体家族。GEnCs 和 PTC 内皮细胞膜上主要表达 VEGFR1 和 VEGFR2^[16]。VEGF-A 与 VEGFR1 结合亲和力比 VEGFR2 高 10 倍, 但 VEGF-A 与 VEGFR2 结合酪氨酸激酶生物活性更强, 所以 VEGF-A 主要通过 VEGFR2 结合激活信号通路, 产生生物学效应^[17]。VEGF-A 与细胞膜上 VEGFR2 结合, 受体二聚化, 胞质结构域内关键酪氨酸残基自磷酸化, 受体酪氨酸激酶激活, 细胞内多个下游信号通路被激活, 刺激内皮细胞增殖、迁移、生存和通透性增加^[18]。

2 VEGF-A不同异构体及生物学作用

VEGF-A 基因包含 8 个外显子、7 个内含子,

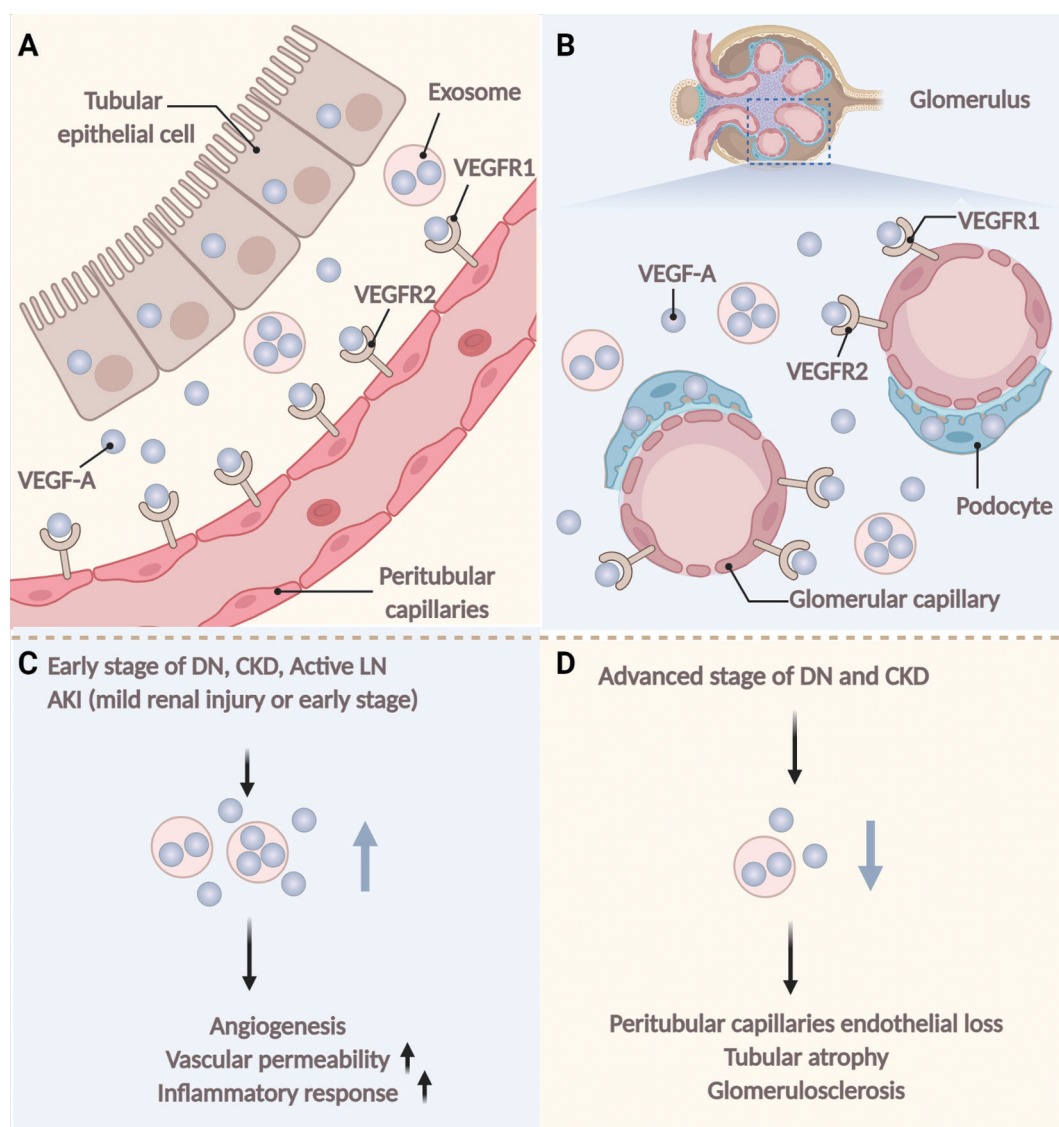


图 1. VEGF-A在肾脏的分泌与作用(BioRender软件绘制)

Fig. 1. The secretion and function of VEGF-A in kidney. VEGF-A is secreted in the form of free cytokine or may also sorted out into exosomes by renal tubular epithelial cells (A) and podocytes (B). VEGF-A diffused through a local concentration gradient which binds to its receptor, VEGFR2 expressed by endothelial cells of the peritubular capillaries or glomerular capillaries, maintaining the normal structure of capillaries via inducing angiogenesis (A, B). However, dysregulation of VEGF-A was observed in diverse conditions of kidney disease. VEGF-A markedly increased and promoted vascular permeability and inflammatory response during the early stages of chronic kidney disease (CKD), diabetic nephropathy (DN), acute kidney injury (AKI) at early stage or with mild injury and active lupus nephritis (LN) (C). On the contrary, the secretion of VEGF-A was reduced, leading to the rarefaction of peritubular capillaries, tubular atrophy and glomerular sclerosis, in the advanced stages of CKD or DN (D). VEGF-A, vascular endothelial growth factor-A; VEGFR1, vascular endothelial growth factor receptor 1; VEGFR2, vascular endothelial growth factor receptor 2.

近年来研究发现, 多种诱导因子通过对 VEGF-A 的 pre-mRNA 外显子 6、7、8 的选择性剪接, 产生一系列 VEGF-A 异构体亚型, 如 VEGF-A₁₂₁、VEGF-A₁₄₅、VEGF-A₁₆₅、VEGF-A₁₈₉、VEGF-A₂₀₆ 等, 数字编号代表每个异构体被翻译后所含的氨基酸个数, 各亚型

的表达丰度之间存在一定差异^[19]。VEGF-A 外显子 8 核苷酸序列中也包含两个剪接位点, 包含近端剪切点 8a 的基因可产生 VEGF-A_{165a}, 而 VEGF-A_{165b} 是利用远端剪切点 8b 产生^[20]。多种异构体中, VEGF-A_{165a} 是生物活性最强、分泌量多、最具有代

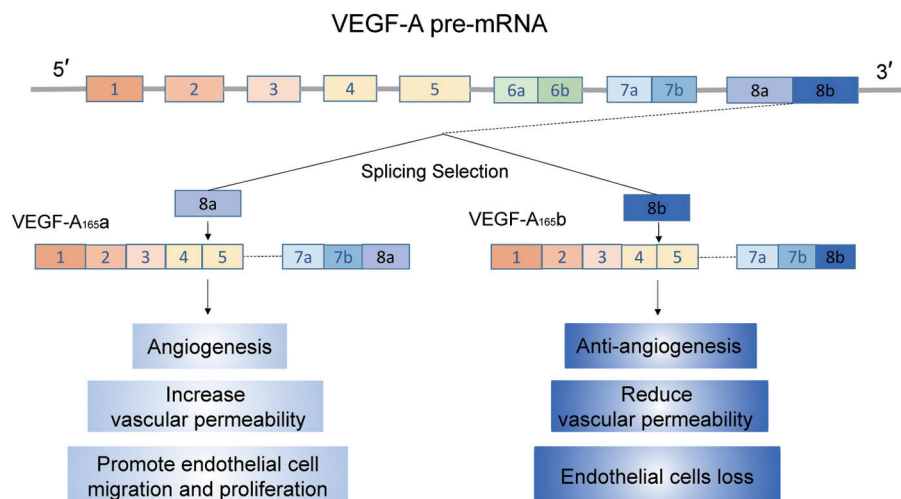


图 2. VEGF-A₁₆₅异构体剪切示意图

Fig. 2. Multiple isoforms of VEGF-A₁₆₅ splicing. Alternative splicing of exons 8a and 8b of the VEGF-A gene gives rise to VEGF-A_{165a} and VEGF-A_{165b}. The function of VEGF-A_{165a} include angiogenesis, increasing vascular permeability, and promoting endothelial cell migration and proliferation. However, VEGF-A_{165b} is produced by splicing the distal splice site 8b, which causes anti-angiogenesis, reduction of vascular permeability and loss of the endothelial cells.

表性的亚型，目前研究最为广泛，参与血管的生成、刺激内皮细胞增殖，形成血管结构^[21]。而 VEGF-A_{165b} 氨基酸的 C 端序列发生了变化，相差 6 个氨基酸，VEGF-A_{165b} 不能有效使 VEGFR2 磷酸化，极弱激活 VEGFR2 激酶结构域，导致下游靶点蛋白激酶和细胞外调节蛋白激酶短暂微弱的磷酸化，末端 6 个氨基酸的不同导致 VEGF-A_{165b} 具有抗血管生成、抗渗透性和抗迁移特性^[16, 19] (图 2)。

有趣的是，近年来的研究发现，血管的生成与功能维持受 VEGF-A_{165a} 和 VEGF-A_{165b} 剪接异构体的平衡调节^[19]。基于逆转录 - 聚合酶链反应 (RT-PCR) 的 mRNA 测定方法，VEGF-A_{165b} 转录本在正常人体内可能几乎不存在或以极低的水平表达，因此在生理状态下发挥重要作用的可能性较低。但研究发现 VEGF-A_{165b} 在肾脏疾病中表达升高，可能是因为肾脏病程中 VEGF-A_{165a} 升高后的反馈调节机制，VEGF-A_{165b} 升高对肾脏有保护作用^[22–24]。体内实验显示，小鼠足细胞 VEGF-A_{165b} 特异性表达升高可轻度降低肾小球内皮细胞的通透性，阻止糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 小鼠的肾小球内皮糖萼减少，减少蛋白的渗出，保护肾脏^[25]。体外实验也证明人重组 VEGF-A_{165b} 可阻断高血糖诱导的内皮细胞凋亡，并逆转糖尿病引起的肾小球通透性改变^[22]。因此，VEGF-A_{165b} 和 VEGF-A_{165a} 表

达的平衡可能是维持肾脏微血管正常结构的关键，VEGF-A_{165b} 的生物学作用可能为开发肾脏疾病治疗策略提供新的思路。

3 VEGF-A在肾脏病中的作用

肾小球毛细血管和管周毛细血管网的生成与维持依赖于 VEGF-A 的精密表达调控^[26]。循环的 VEGF-A 水平对维持正常肾功能至关重要，循环 VEGF-A 下降与肾小球滤过率 (glomerular filtration rate, GFR) 降低相关，导致 CKD 的进展，而糖尿病患者血清 VEGF-A 水平升高，同样可促进 DN 的发生与发展^[27]。在肾脏疾病中，各种因素如炎症、缺血缺氧、氧化应激等均可影响肾脏 VEGF-A 的表达，而 VEGF-A 在各种肾脏疾病的损伤修复和发生 / 发展中发挥着举足轻重的作用。

3.1 VEGF-A在DN中的表达及作用

研究表明，DN 患者血清 VEGF-A 显著升高。高血糖、二酰甘油 - 蛋白激酶 C 路径激活、血管活性物质增多、晚期糖基化终末产物增多导致炎症细胞因子增多、HIF-1 表达升高等多种因素，均可刺激诱导血清 VEGF-A 升高^[28]。循环的 VEGF-A 分子可能更易通过负电荷或受损的 GFB，进入小管中。而在 DN 早期肾脏中 VEGF-A 表达增加不仅与多个诱导因素相关，可能还与肿胀的足细胞分泌增加相

关。体内实验显示,足细胞特异性过表达 VEGF-A 转基因小鼠出现蛋白尿、肾小球肥大和系膜增殖、肾小球基底膜增厚,足细胞裂隙膜丢失及脱落,这些现象与 DN 病理改变类似^[29]。研究发现, DN 早期足细胞 VEGF-A 分泌升高,病理切片显示肾小球内血管极区异常小血管生成增多,影响肾小球功能^[30]。而在 DN 进展期和晚期,足细胞损伤/凋亡和 TECs 损伤导致 VEGF-A 水平下调,进一步损伤肾小球,促进血栓性微血管病,加重小球硬化、管周围血管内皮细胞稀疏和 TECs 凋亡,加快疾病发展^[31]。故在 DN 发生与发展的不同阶段, VEGF-A 的表达变化参与了肾脏功能与结构的变化^[32](图1)。

多项观察研究已证实, DN 进展中 VEGF-A 双向性改变,体内实验进一步探究干预 VEGF-A 的表达是否对肾脏有保护作用。抑制糖尿病大鼠足细胞中 VEGF-A 表达可减轻足细胞凋亡并改善蛋白尿^[31]。然而,有研究表明, DN 中 VEGF-A 的表达可保护微血管免受损伤,完全抑制小鼠足细胞 VEGF-A 分泌时则可加重损害肾小球^[33]。因此, VEGF-A 的表达可能存在精密调控,从而在一定的水平维持肾脏的正常结构和功能。在啮齿动物 DN 模型中,对 VEGF-A 抑制的作用仍存在争议,可能与缺乏对不同 VEGF-A 亚型靶向性或精准调节的认识有关。有趣的是,研究发现 DN 患者肾皮质的 VEGF-A_{165b} 和 VEGF-A_{165a} 两种异构体比例在疾病进程中发生了改变, VEGF-A_{165b} 在肾功能正常的 DN 患者肾脏中表达是上调的,但在进展期 DN 肾脏中表达不上调,与 VEGF-A_{165a} 水平改变相似^[22]。也有研究表明,足细胞 VEGF-A_{165b} 特异性表达升高对 DN 早期的肾脏起保护作用^[34]。因此,目前对 VEGF-A 及其各亚型在 DN 各阶段中的作用机制与调控仍需更深入的研究。

3.2 VEGF-A在肾脏纤维化中的作用

VEGF-A 作为一种促修复或促纤维化因子,它的表达改变与肾纤维化密切相关^[35]。肾脏纤维化早期阶段,炎症、缺氧可能刺激 VEGF-A 表达增加,使毛细血管密度增加^[36]。有研究发现,肾脏病早期炎症、纤维化是可逆性的,升高 VEGF-A 水平可有效改善肾纤维化^[37]。肾纤维化时 VEGF-VEGFR2 通路活性被上调,促进血管生成,帮助肾脏自我修复,延缓肾纤维化^[38]。对 DN 患者肾活检切片进行分析发现,肾组织 HIF-1 高表达区纤维化信号活化,观察发现 HIF-1 的表达升高,但 VEGF-A 的表达却

降低, VEGF-A 减少可能与 DN 进展期后小球硬化和皮质小管萎缩有关^[39]。研究发现,在皮质小管萎缩和间质纤维化区域, VEGF-A 转录和蛋白水平明显下降并且和 PTC 的进行性毁损有关^[40]。由此推断, VEGF-A 水平的改变与肾脏纤维化的发生密切相关,肾纤维化早期进行 VEGF-A 水平改变的干预可能具有肾脏保护作用。

3.3 VEGF-A在急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)中的作用

临床很多因素可导致 AKI,以肾脏灌注不足、缺血再灌注损伤最为常见,肾小管急性坏死、微血管损伤丢失是 AKI 的特征性改变^[41]。在正常肾脏中, VEGF-A 主要由足细胞表达,但在肾损伤早期或损伤程度较轻时,肾小管 VEGF-A 表达显著增加。研究发现,在缺血再灌注或梗阻性损伤后, TECs 胞浆中 VEGF-A 向基底侧再分布,但 mRNA 表达并未上调^[42,43]。AKI 时 TECs 受损明显, PTC 异常,而 VEGF-A 的表达与 PTC 完整性密切相关, VEGF-A 可参与促进微血管生成重塑并修复 TECs^[40]。对小鼠 AKI 模型观察发现,肾损伤后 35 天 VEGF-A 表达未及时上调,表达水平降低,进一步干预治疗显示,越早向小鼠体内补给 VEGF-A,肾损伤缓解效果越明显,可见 VEGF-A 是肾脏微血管系统与结构的主要修复因子,但目前对 AKI 补给 VEGF-A 的时机点、维持时间与剂量尚不明确^[44]。此外, VEGF-A 是近端 TECs 的存活因子,通过管周血管促进近端 TECs 增殖和存活,而 TECs 的修复在 AKI 疾病发展预后转归中起着至关重要的作用^[6,15]。多项研究支持 VEGF-A 在 AKI 修复中的关键作用,并可作为 AKI 早期的潜在治疗靶点,有望通过 VEGF-A 的及时补给防止 AKI 向 CKD 发展。

4 VEGF-A作为肾脏病的诊断标志物研究进展

多项临床肾脏病理及尿样本研究提示,在炎症、缺氧、疾病损伤等病理状态下,血清和尿 VEGF-A 及亚型可能作为一类极具潜力的生物标志物,对肾脏血管、小管及内皮细胞、TECs 损伤程度或修复情况实现无创评估。

对系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)患者尿液多次检测发现,狼疮性肾炎(lupus nephritis, LN)患者尿 VEGF-A 水平较 SLE 患者明显升高,而活动性 LN 尿 VEGF-A 水平较非活动性 LN 升高,尿 VEGF-A 水平可用于反映 LN 肾脏受

累情况^[45]。另外,尿 VEGF-A 水平也可能作为 DN 的敏感指标,预测 DN 的进展。DN 早期肾功能正常时,肾脏 VEGF-A 表达上调,进展期和晚期 VEGF-A 则表达下降^[46]。进一步对 DN 患者尿与血清 VEGF-A₁₆₅b 检测显示,尿 VEGF-A₁₆₅b 水平早期升高,血清 VEGF-A₁₆₅b 水平晚期升高,表明尿 VEGF-A₁₆₅b 水平不受循环水平的影响,尿 VEGF-A 水平更能反映肾脏情况,并且尿 VEGF-A₁₆₅b 与多个肾功能指标之间的相关性更强^[27]。

5 EVs与VEGF-A分泌

VEGF-A 多以旁分泌方式弥散至相邻近组织,作用于靶向细胞,发挥生物学作用,促进内皮细胞和上皮细胞增殖和迁移,因此,VEGF-A 的分泌方式是理解其作用机制的关键环节。过去多数研究是测定分泌至细胞外的游离 VEGF-A,将细胞分泌的游离 VEGF-A 视为表达和分泌的水平,然而,最新研究显示,VEGF-A 可被 EVs 携带并分泌至细胞外^[47, 48]。研究发现,VEGF-A 信号序列在内质网内腔被剪切和修饰,并在多个蛋白酶水解切割后运输至高尔基体,VEGF-A 在高尔基体内进行糖基化并运输至细胞膜上,与胞质、胞膜成分一起从细胞表面脱落释放,以 EVs 形式分泌,与细胞外基质成分相互作用,传递到周围组织发挥其生物学作用,胞内过程可受温度、胞质钙水平、蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 信号激活等因素影响^[47, 49]。另外,多项研究证实,细胞不仅分泌携带 VEGF-A 的 EVs,富含 VEGF-A 的 EVs 还可靶向性地作用于内皮细胞,有效地促进血管生长,增加血管通透性^[50]。不仅如此,有研究还证明,敲除胶质瘤干细胞样细胞 VEGF-A 基因的表达,胶质瘤干细胞样细胞分泌的 EVs 失去了促进内皮细胞通透性与发芽的作用,进一步证实了 EVs 携带 VEGF-A 的生物学作用^[48]。

有趣的是,有研究发现,VEGF-A 在小管上皮细胞内散在分布,短时间的缺氧并不上调 VEGF-A 基因表达,而是改变细胞内 VEGF-A 的分布,通过 VEGF-A 向上皮细胞基底侧的转移增加分泌量,这可能是一种短时间缺氧的代偿性改变^[15]。然而,VEGF-A 向上皮细胞基底侧移动的去向及分泌机制仍不十分清楚。因此,细胞 VEGF-A 分泌调控机制仍需进一步研究,而游离形式及 EVs 携带的 VEGF-A 的生物学活性及作用机制可能存在差异,需要深入探索和研究。

综上所述,在病理损伤条件下,VEGF-A 表达异常并可能发生不同剪接,产生不同的异构体蛋白,从而发挥不同的生物学作用。VEGF-A 分子被修饰、传递至胞浆中,与胞质、胞膜一起出芽,以囊泡形式分泌至细胞外。EVs 携带的 VEGF-A 可能增加其在组织和循环的稳定性,从而对邻近或远端细胞发挥生物学作用,其在肾脏疾病中的作用和调节机制有待深入研究。

6 小结

VEGF-A 作为肾脏病理生理过程中的关键血管生长因子,由足细胞和 TECs 分泌,对维持正常毛细血管结构具有重要作用。然而,在病理状态下 VEGF-A 及其异构体分泌发生改变,参与了 DN、肾脏纤维化和 AKI 等肾脏疾病的发生与发展。而以 EVs 形式分泌的 VEGF-A 可能是其发挥作用的重要方式,其在肾脏疾病中的作用值得深入探索。此外,肾脏疾病中血清与尿 VEGF-A 水平发生明显改变,可能可以作为反映肾脏疾病损伤修复的重要生物标志物。探究 VEGF-A 及其异构体在肾脏细胞表达及其分泌调控机制,可为研究肾脏病理生理过程中 VEGF-A 作用及开发新型诊断和治疗策略提供重要依据。

参考文献

- 1 Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989; 246: 1306–1309.
- 2 Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997; 18: 4–25.
- 3 Tanabe K, Wada J, Sato Y. Targeting angiogenesis and lymphangiogenesis in kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2020; 16(5): 289–303.
- 4 Eremina V, Baelde HJ, Quaggin SE. Role of the VEGF--a signaling pathway in the glomerulus: evidence for crosstalk between components of the glomerular filtration barrier. *Nephron Physiol* 2007; 106(2): p32–p37.
- 5 Veron D, Reidy KJ, Bertuccio C, Teichman J, Villegas G, Jimenez J, Shen W, Kopp JB, Thomas DB, Tufro A. Overexpression of VEGF-A in podocytes of adult mice causes glomerular disease. *Kidney Int* 2010; 77(11): 989–999.
- 6 Villegas G, Lange-Sperandio B, Tufro A. Autocrine and paracrine functions of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal tubular epithelial cells. *Kidney Int* 2005; 67(2): 449–457.
- 7 Hawke LG, Whitford MKM, Ormiston ML. The production

- of pro-angiogenic VEGF-A isoforms by hypoxic human NK cells is independent of their TGF-beta-mediated conversion to an ILC1-like phenotype. *Front Immunol* 2020; 11: 1903.
- 8 Mitsui T, Tani K, Maki J, Eguchi T, Tamada S, Eto E, Hayata K, Masuyama H. Upregulation of angiogenic factors via protein kinase C and hypoxia-induced factor-1 α pathways under high-glucose conditions in the placenta. *Acta Med Okayama* 2018; 72: 359–367.
- 9 Schödel J, Ratcliffe PJ. Mechanisms of hypoxia signalling: new implications for nephrology. *Nat Rev Nephrol* 2019; 15(10): 641–659.
- 10 Forsythe JA, Jiang BH, Iyer NV, Agani F, Leung SW, Koos RD, Semenza GL. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 4604–4613.
- 11 Jabari M, Allahbakhshian Farsani M, Salari S, Hamidpour M, Amiri V, Mohammadi MH. Hypoxia-inducible factor1-alpha (HIF1alpha) and vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) expression in de novo AML patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2019; 20(3): 705–710.
- 12 Wang H, Liu N, Li R, Tian J, Hu W, Zhang J. Nephroprotecting effect of hypoxia-inducible factor 1alpha in a rat model of ischaemic/reperfusion acute kidney injury. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2018; 45(10): 1076–1082.
- 13 Meng F. A novel role of HIF-1alpha/PROX-1/LYVE-1 axis on tissue regeneration after renal ischaemia/reperfusion in mice. *Arch Physiol Biochem* 2019; 125(4): 321–331.
- 14 Rudnicki M, Perco P, Enrich J, Eder S, Heininger D, Bernthaler A, Wiesinger M, Sarközi R, Noppert SJ, Schramek H, Mayer B, Oberbauer R, Mayer G. Hypoxia response and VEGF-A expression in human proximal tubular epithelial cells in stable and progressive renal disease. *Lab Invest* 2009; 89(3): 337–346.
- 15 Zepeda-Orozco D, Wen HM, Hamilton BA, Raikwar NS, Thomas CP. EGF regulation of proximal tubule cell proliferation and VEGF-A secretion. *Physiol Rep* 2017; 5(18): e13453.
- 16 Stevens M, Oltean S. Modulation of receptor tyrosine kinase activity through alternative splicing of ligands and receptors in the VEGF-A/VEGFR axis. *Cells* 2019; 8(4): 288.
- 17 Yang GL, Li LY. Counterbalance: modulation of VEGF/VEGFR activities by TNFSF15. *Signal Transduct Target Ther* 2018; 3: 21.
- 18 Bowers SLK, Kemp SS, Aguera KN, Koller GM, Forgey JC, Davis GE. Defining an upstream VEGF (vascular endothelial growth factor) priming signature for downstream factor-induced endothelial cell-pericyte tube network coassembly. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2020; 40(12): 2891–2909.
- 19 Kikuchi R, Stevens M, Harada K, Oltean S, Murohara T. Anti-angiogenic isoform of vascular endothelial growth factor-A in cardiovascular and renal disease. *Adv Clin Chem* 2019; 88: 1–33.
- 20 Stevens M, Oltean S. Modulation of VEGF-A alternative splicing as a novel treatment in chronic kidney disease. *Genes (Basel)* 2018; 9(2): 98.
- 21 Xin H, Zhong C, Nudleman E, Ferrara N. Evidence for pro-angiogenic functions of VEGF-Ax. *Cell* 2016; 167(1): 275–284.e6.
- 22 Oltean S, Qiu Y, Ferguson JK, Stevens M, Neal C, Russell A, Kaura A, Arkill KP, Harris K, Symonds C, Lacey K, Wijayarathne L, Gammons M, Wylie E, Hulse RP, Alsop C, Cope G, Damodaran G, Betteridge KB, Ramnath R, Satchell SC, Foster RR, Ballmer-Hofer K, Donaldson LF, Barratt J, Baelde HJ, Harper SJ, Bates DO, Salmon AH. Vascular endothelial growth factor-A165b is protective and restores endothelial glycocalyx in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26(8): 1889–1904.
- 23 Stevens M, Neal CR, Salmon AHJ, Bates DO, Harper SJ, Oltean S. VEGF-A165b protects against proteinuria in a mouse model with progressive depletion of all endogenous VEGF-A splice isoforms from the kidney. *J Physiol* 2017; 595(19): 6281–6298.
- 24 Bridgett S, Dellett M, Simpson DA. RNA-Sequencing data supports the existence of novel VEGFA splicing events but not of VEGFAxxx isoforms. *Sci Rep* 2017; 7(1): 58.
- 25 Desideri S, Onions KL, Baker SL, Gamez M, El Hegni E, Hussien H, Russell A, Satchell SC, Foster RR. Endothelial glycocalyx restoration by growth factors in diabetic nephropathy. *Biorheology* 2019; 56(2–3): 163–179.
- 26 Bartlett CS, Jeansson M, Quaggin SE. Vascular growth factors and glomerular disease. *Annu Rev Physiol* 2016; 78: 437–461.
- 27 Kikuchi R, Yasuda Y, Nakatomi M, Shibata Y, Hara T, Suzuki A, Imaizumi T, Suzuki S, Ishii H, Takeshita K, Matsushita T, Maruyama S, Murohara T. Urinary and circulating levels of the anti-angiogenic isoform of vascular endothelial growth factor-A in patients with chronic kidney disease. *Clin Chim Acta* 2017; 475: 102–108.
- 28 Hanefeld M, Appelt D, Engelmann K, Sandner D, Bornstein SR, Ganz X, Henkel E, Haase R, Birkenfeld AL. Serum and plasma levels of vascular endothelial growth factors in relation to quality of glucose control, biomarkers of inflammation, and diabetic nephropathy. *Horm Metab Res* 2016; 48(9): 620.
- 29 Suyama M, Miyazaki Y, Matsusaka T, Sugano N, Ueda H, Kawamura T, Ogura M, Yokoo T. Forced expression of vascular endothelial growth factor-A in podocytes decreases mesangial cell numbers and attenuates endothelial cell

- differentiation in the mouse glomerulus. *Clin Exp Nephrol* 2018; 22(2): 266–274.
- 30 Kanesaki Y, Suzuki D, Uehara G, Toyoda M, Katoh T, Sakai H, Watanabe T. Vascular endothelial growth factor gene expression is correlated with glomerular neovascularization in human diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2005; 45(2): 288–294.
- 31 Tanabe K, Maeshima Y, Sato Y, Wada J. Antiangiogenic therapy for diabetic nephropathy. *Biomed Res Int* 2017; 2017: 5724069.
- 32 Tung CW, Hsu YC, Shih YH, Chang PJ, Lin CL. Glomerular mesangial cell and podocyte injuries in diabetic nephropathy. *Nephrology (Carlton)* 2018; 23 Suppl 4: 32–37.
- 33 Sivaskandarajah GA, Jeansson M, Maezawa Y, Eremina V, Baelde HJ, Quaggin SE. Vegfa protects the glomerular microvasculature in diabetes. *Diabetes* 2012; 61: 2958–2966.
- 34 Qiu Y, Ferguson J, Oltean S, Neal CR, Kaura A, Bevan H, Wood E, Sage LM, Lanati S, Nowak DG, Salmon AH, Bates D, Harper SJ. Overexpression of VEGF165b in podocytes reduces glomerular permeability. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21(9): 1498–1509.
- 35 Boor P, Floege J. Chronic kidney disease growth factors in renal fibrosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2011; 38(7): 441–450.
- 36 Lerman LO, Chade AR. Angiogenesis in the kidney: a new therapeutic target? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009; 18(2): 160–165.
- 37 Lian YG, Zhou QG, Zhang YJ, Zheng FL. VEGF ameliorates tubulointerstitial fibrosis in unilateral ureteral obstruction mice via inhibition of epithelial-mesenchymal transition. *Acta Pharmacol Sin* 2011; 32(12): 1513–1521.
- 38 Dong H, Zhou Y, Wang Y, Zhou Q, Zhang Y, Gan X, Luo Y, Li R. The protective role of intermedin in promoting angiogenesis during renal fibrosis. *Gene* 2019; 688: 34–43.
- 39 Li X, Yang S, Yan M, Guan N, Li J, Xie Q, Hao C. Interstitial HIF1A induces an estimated glomerular filtration rate decline through potentiating renal fibrosis in diabetic nephropathy. *Life Sci* 2020; 241: 117109.
- 40 Yuan HT, Li XZ, Pitera JE, Long DA, Woolf AS. Peritubular capillary loss after mouse acute nephrotoxicity correlates with down-regulation of vascular endothelial growth factor-A and hypoxia-inducible factor-1 α . *Am J Pathol* 2003; 163(6): 2289–2301.
- 41 Molitoris BA, Sutton TA. Endothelial injury and dysfunction: role in the extension phase of acute renal failure. *Kidney Int* 2004; 66(2): 496–499.
- 42 Kanellis J, Mudge SJ, Fraser S, Katerelos M, Power DA. Redistribution of cytoplasmic VEGF to the basolateral aspect of renal tubular cells in ischemia-reperfusion injury. *Kidney Int* 2000; 57: 2445–2456.
- 43 hashi R, Shimizu A, Masuda Y, Kitamura H, Ishizaki M, Sugisaki Y, Yamanaka N. Peritubular capillary regression during the progression of experimental obstructive nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1795–1805.
- 44 Logue OC, McGowan JW, George EM, Bidwell GL 3rd. Therapeutic angiogenesis by vascular endothelial growth factor supplementation for treatment of renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2016; 25(5): 404–409.
- 45 Adhya Z, El Anbari M, Anwar S, Mortimer A, Marr N, Karim MY. Soluble TNF-R1, VEGF and other cytokines as markers of disease activity in systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Lupus* 2019; 28: 713–721.
- 46 Baelde HJ, Eikmans M, Doran PP, Lappin DW, de Heer E, Bruijn JA. Gene expression profiling in glomeruli from human kidneys with diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2004; 43(4): 636–650.
- 47 Guzmán-Hernández ML, Potter G, Egervári K, Kiss JZ, Balla T. Secretion of VEGF-165 has unique characteristics, including shedding from the plasma membrane. *Mol Biol Cell* 2014; 25(7): 1061–1072.
- 48 Treps L, Perret R, Edmond S, Ricard D, Gavard J. Glioblastoma stem-like cells secrete the pro-angiogenic VEGF-A factor in extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles* 2017; 6(1): 1359479.
- 49 Meiron M, Anunu R, Scheinman EJ, Hashmueli S, Levi BZ. New isoforms of VEGF are translated from alternative initiation CUG codons located in its 5'UTR. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 282(4): 1053–1060.
- 50 Chinnici CM, Iannolo G, Cittadini E, Carreca AP, Nascari D, Timoneri F, Bella MD, Cuscino N, Amico G, Carcione C, Conaldi PG. Extracellular vesicle-derived microRNAs of human Wharton's Jelly mesenchymal stromal cells may activate endogenous VEGF-A to promote angiogenesis. *Int J Mol Sci* 2021; 22(4): 2045.