

Research Progress of Vascular Endothelial Growth Factor and Glyconeurocytes

Haiyue Qi¹ Dongmei Li² Narenqimuge²

1. Inner Mongolia Medical University, Hohhot, Inner Mongolia, 010000, China

2. Endocrinology Department, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot, Inner Mongolia, 010000, China

Abstract

Diabetic nephropathy (DN) is one of the most common and the most serious microvascular complications of diabetes, early clinical symptoms are not obvious, with the progress of the disease and the course of diabetes, gradually appear proteinuria, edema, hypertension and a series of clinical manifestations, eventually progress to end-stage renal disease, this is also one of the main causes of death of diabetes patients, so the pathogenesis of diabetic nephropathy needs to be clear. Current studies on the pathogenesis of diabetic nephropathy mainly include renal hemodynamic changes, disturbed glucose metabolism disorders, lipid metabolism, epigenetic mechanisms, oxidative stress, various cytokines and autophagy. These factors can lead to podocyte damage through different mechanisms and interactions, eventually leading to the occurrence and development of DN, the vascular endothelial growth factor (VEGF) is directly involved in the process of podocyte injury. This paper mainly discusses the relationship between vascular endothelial growth factor and podocyte injury, in order to provide clinical treatment ideas for delaying the progress of DN and improving the quality of life of patients.

Keywords

vascular endothelial growth factor; diabetes nephropathy; podocyte injury

血管内皮生长因子与糖肾足细胞的研究进展

威海月¹ 李冬梅² 娜仁其木格²

1. 内蒙古医科大学, 中国·内蒙古 呼和浩特 010000

2. 内蒙古自治区人民医院内分泌科, 中国·内蒙古 呼和浩特 010000

摘要

糖尿病肾病 (Diabetic Nephropathy, DN) 是糖尿病最常见和最严重的微血管并发症之一, 早期临床症状不明显, 随着病情的进展及糖尿病病程的延长, 逐渐出现蛋白尿、水肿、高血压等一系列临床表现, 最终进展为终末期肾脏病, 这也是糖尿病患者的主要死因之一, 因此糖尿病肾病的发病机制亟待明确。目前关于糖尿病肾病的发病机制的研究主要包括肾脏血流动力学改变、糖代谢紊乱、脂代谢紊乱、表观遗传学机制、氧化应激、各种细胞因子及自噬等, 以上因素可通过不同的机制及相互作用导致足细胞损伤, 最终导致DN的发生发展, 其中血管内皮生长因子 (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) 直接参与足细胞损伤的过程。论文主要就血管内皮生长因子与足细胞损伤的关系进行探讨, 旨在为延缓DN进展、改善患者生活质量提供临床治疗思路。

关键词

血管内皮生长因子; 糖尿病肾病; 足细胞损伤

1 引言

截至2021年, 全球20岁至79岁患者的糖尿病患病率已达9.8%^[1], 随着糖尿病患病率的升高, 作为糖尿病最为严重且预后不良的微血管并发症之一的糖尿病肾病的患病率也在增加, 全球近40%的糖尿病患者患有糖尿病肾病, 其中大约有一半的患者在出现微量白蛋白尿的5~10年会进入

临床蛋白尿期, 这是导致终末期肾脏病的首要病因^[2]。在过去的30年里, 由糖尿病引起的慢性肾病增加的负担占全球慢性肾病增加负担的50.62%^[3]。糖尿病肾病起病隐匿, 早期主要表现为肾小球滤过率增加, 随着病程延长出现微量白蛋白尿, 继而进展为持续、大量白蛋白尿同时伴随肾小球滤过率降低, 最终进入终末期肾脏病, 走向透析甚至肾脏替代治疗的道路。糖尿病肾病的发病机制错综复杂, 主要与高血糖导致的多种信号通路紊乱有关, 主要信号通路包括糖代谢紊乱、脂代谢紊乱、氧化应激、细胞因子、肾脏血流动力学改变以及表观遗传学改变等, 其中糖代谢紊乱主要涉及多元醇

【作者简介】威海月 (1996-), 女, 中国内蒙古兴安盟人, 在读硕士, 从事内科学、糖尿病肾病研究。

通路的激活、晚期糖基化终产物的产生、肾素-血管紧张素-醛固酮系统的过度激活等。氧化应激方面主要与活性氧家族有关，与糖尿病肾病相关的细胞因子主要包括血管内皮生长因子、转化生长因子 β 、血小板源性生长因子、结缔组织生长因子等。以上相关因素最终均可通过各种不同的机制导致肾小球足细胞损伤，继而出现蛋白尿，导致糖尿病肾病的发生发展。

2 足细胞概述

足细胞即肾小球脏层上皮细胞，是位于肾小球基底膜外侧的一种终末分化细胞，参与构成肾小球滤过屏障，具有高度特异性，由细胞骨架结构、关节链接和环绕基底膜的分支足突组成。足突由基部、基外侧区和顶板区组成，通过足底蛋白与基底膜紧密结合^[4]。基外侧区与相邻基底外侧区通过裂缝隔膜(SD)相互交叉。足细胞SD上存在多种蛋白，nephrin是其中之一，对维持肾小球滤过屏障的功能至关重要。足细胞不可再生，一旦其结构或功能发生改变，均会导致糖尿病肾病的发生发展，其中足细胞形态改变主要包括足细胞肥大、足细胞脱离、上皮-间充质转分化、足细胞凋亡。

3 VEGF 概述

VEGF是一种促进新生血管形成的细胞因子，其本质上一种蛋白质，分子量为35-45kD，在心、肺、肾等脏器中都有表达，主要分布于足细胞、脉络丛上皮细胞、肝细胞以及心脏、骨骼肌、睾丸间质细胞、前列腺上皮细胞及分泌唾液的上皮细胞^[5]。VEGF有3种酪氨酸激酶跨膜受体：VEGFR1、VEGFR2、VEGF3R，VEGFR主要存在于肾小球内皮细胞、间质细胞以及管旁毛细血管^[6]。VEGF与相应受体结合特异性地作用于血管内皮细胞，具有促进血管通透性增加、细胞外基质变性、血管内细胞迁移和增殖和血管形成、诱导新生血管形成的作用，参与炎症、创伤愈合、糖尿病视网膜病变、组织再生以及肿瘤形成等病理生理过程^[7]。目前人体内已知的VEGF有5种，分别为VEGF-121、VEGF-145、VEGF-165、VEGF-189、VEGF-206^[8]，其中VEGF-165在人体内表达最为丰富，同时也对其发挥生物学效应起关键作用。有研究报道，VEGF家族成员主要包括VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D及胎盘生长因子，通常我们所说的VEGF即VEGF-A^[9]。VEGF在肾脏中主要由足细胞分泌，参与维持足细胞正常的结构和功能。

4 VEGF 与 DN 足细胞损伤

4.1 VEGF 与足细胞损伤研究现状

4.1.1 体外细胞实验中的研究现状

在体外高糖条件下培养的大鼠足细胞中，VEGF及其mRNA水平升高^[10]。进一步研究发现，特异性VEGF164亚型(人VEGF165)过度表达会导致足细胞出现小鼠DN时的结构和功能变化^[11]。而当VEGF164水平恢复正常时，这

些变化是可逆的。同时其抑制性亚型VEGF165b在小鼠足细胞中过度表达时，不会导致肾小球疾病的发生。因此说明VEGF在足细胞中的过表达是导致糖尿病肾病发生发展的原因之一。同时人VEGF165在转基因兔足细胞中的过度表达导致肾小球肥大，系膜和内皮细胞增殖增加，肾小球硬化和伴随的蛋白尿，特征类似于局灶节段性肾小球硬化^[12]。此外，在1型或2型糖尿病中，基底膜增厚程度与蛋白尿具有正相关性，基底膜主要由IV型胶原组成，而新的胶原IV链主要由上覆的足细胞合成，研究发现外源性添加VEGF可以刺激培养的小鼠足细胞产生更多的 $\alpha 3(IV)$ 胶原，这种作用可被VEGF信号抑制剂SU5416所消除。由此可以推测肾小球基底膜的增厚与VEGF的过表达有关。肾小球基底膜的增厚理论上可以减少白蛋白从肾脏的滤过，实际上，在基底膜增厚的同时，IV型胶原的结构发生了变化，反而使大分子蛋白质更容易通过滤过屏障，因此导致了蛋白尿的发生发展^[13]。

4.1.2 动物实验中的研究现状

在腹腔注射链脲佐菌素诱导的糖尿病肾病大鼠模型中发现，与对照组相比，DN组VEGF的水平明显升高，而阻断VEGF与其受体VEGFR-2结合可使肾小球足细胞裂空隔膜(SD)相关分子Nephrin的表达上调，从而减轻足细胞损伤^[14]，这与段玉瑞^[15]等发现的高糖刺激可导致Nephrin的表达下调相一致。VEGF主要通过磷酸化的VEGFR-2结合发挥作用，那么阻断VEGFR-2即阻断过表达的VEGF，由其导致的微量白蛋白尿也就会有所减少，从而达到治疗糖尿病肾病的目的。但过度抑制VEGF反而会加重蛋白尿及高血压的程度，由此可见，人体内也需要生理浓度的VEGF来维持肾小球的正常功能。对于DN的治疗，有研究表明，来氟米特可以使DN大鼠VEGF mRNA的表达下调^[16]，从而延缓DN的进展，但其具体的机制仍不明确。足细胞自噬对VEGF的调节也在DN的发生过程中起到了至关重要的作用，应用自噬诱导剂雷帕霉素处理足细胞后，血管内皮生长因子的激活被消除，减轻了足细胞损伤^[17]，这说明VEGF参与足细胞自噬过程并受到自噬活性的调节，适当水平的足细胞自噬可减轻DN引起的足细胞损伤。

4.1.3 临床中的研究现状

最早的活检发现糖尿病肾病中VEGF水平较低，这是由于足细胞丢失过多所致。与此相反的是，VEGF mRNA及蛋白质在保存相对完好的肾小球中表达水平较高^[18]。研究发现，高糖以及糖基化的终末产物的作用导致血管内皮细胞损伤，促使VEGF表达增加，由于肾小球的基底膜上存在VEGFR，与VEGF具有较高亲和力，二者结合发挥生物学作用导致肾小球的基底膜通透性升高，从而促使产生NO、内皮素等，进一步改变糖尿病患者的肾脏血流动力学，导致发生蛋白尿，并引发糖尿病肾病，同时该研究指出对VEGF水平进行监测可以用于DN的早期诊断^[19]。对于DN的发

病机制,大部分是基于 DN 大鼠模型所得出的,因此,在临床上进一步证实显得尤为重要。有研究指出在 2 型糖尿病患者中,VEGF 水平与微量白蛋白尿的水平呈正相关,且具有很高的敏感性^[20],这也与大鼠模型中 VEGF 的过表达导致足细胞损伤的结论相一致。因此,密切监测糖尿病肾病患者的 VEGF 水平对于判断病情变化具有重要意义。

4.2 VEGF 导致足细胞损伤的相关机制

4.2.1 高糖

体外细胞实验已经证实,高糖可以上调足细胞中 VEGF 及 VEGF mRNA 的表达,这是由于在高糖环境中,许多因子激活转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β),通过足细胞膜上 I 型和 II 型受体的结合,诱导下游 Smad2 或 Smad3 磷酸化,与 Smad4 结合形成的复合物转位至细胞核,从而刺激 VEGF 的分泌。TGF- β 的增加也可以激活蛋白激酶 C (Protein Kinase C, PKC)^[21]。对链脲佐菌素诱导的 1 型糖尿病肾病大鼠应用选择性 PKC- β 抑制剂鲁博西妥林,可以降低尿蛋白,改善肾功能^[22],说明这一过程可能是通过抑制 TGF- β 信号传导实现的。

4.2.2 血管紧张素 II

血管紧张素 II (angiotensin, Ang II) 作为肾素-血管紧张素-醛固酮系统的一部分,其中经典的 RAAS 即 ACE-Ang II-AT1 轴在糖尿病肾病中的作用已被证实^[23]。此外,有研究证实^[24],对体外培养的足细胞给予外源性 Ang II 会使 VEGF 及其 VEGF mRNA 呈现剂量依赖性的增加。覃志成等^[25]为进一步探究其信号通路,将足细胞分为正常组、Ang II 组及不同剂量 Ang II 抑制剂 (SB203580) 组,分别检测 p38MAPK 蛋白的表达变化,结果显示 Ang II 组足细胞 p38MAPK 蛋白表达明显增加,而 Ang II 抑制剂呈剂量依赖性降低 p38MAPK 表达,说明 Ang II 上调 VEGF 表达是通过 p38MAPK 通路实现的。

4.2.3 晚期糖基化终产物受体

晚期糖基化终产物 (Advanced Glycation End Products, AGEs) 是由高糖水平和氧化损伤引起的蛋白质、脂质或 DNA 结构的永久性变化而产生的。肾脏 AGEs 的积累与 DN 患者病情进展呈正相关,会引起肾小球肥厚、系膜扩张、肾小球基底膜增宽、肾小球硬化及蛋白尿等 DN 的相关表现。这一过程是通过与晚期糖基化终产物受体 (Advanced Glycation End Product Receptor, RAGE) 结合实现的。动物实验发现 13 周龄的糖尿病小鼠足细胞中 RAGE 表达上调的同时,VEGF 的表达同时增多。在应用 RAGE 抑制剂后,出现 VEGF 的表达下调^[26]。RAGE 通过激活上调磷脂酰肌醇 3-激酶 (Phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)、Janus 激酶 (Janus kinase, JAK) 和丝裂原激活蛋白激酶 (Mitogen-Activated Protein Kinase, MAPK) 通路,导致 VEGF 水平增加,介导足细胞损伤。

4.2.4 活性氧

活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS) 在 DN 中主要来源于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, NADPH)、氧化酶 (NADPH Oxidases, NOx) 以及线粒体的柠檬酸循环。DN 时,机体长期处于高糖状态,可通过 AGEs、多元醇途径、PKC 途径、线粒体途径使 ROS 产生增多,ROS 产生增多可启动高迁移率蛋白 1,激活 c-jun 氨基末端激酶,诱导 VEGF 表达增加,并与氧化应激的程度呈正相关^[27]。

5 结语

糖尿病肾病的发生发展与肾小球结构的改变密切相关,而足细胞作为肾小球结构的一部分,其结构和功能的改变必然会导致病情加重。糖尿病肾病足细胞损伤机制纷繁复杂,其中 VEGF 表达增加是导致足细胞结构改变的因素之一。目前发现的影响足细胞表达 VEGF 的因素主要包括高糖状态、Ang II、RAGE、ROS 等,它们可通过不同的信号通路上调 VEGF 的表达,介导足细胞损伤。对于糖尿病肾病的治疗,目前的主要方式仍然是积极控制血糖及血管紧张素受体拮抗剂,未来通过 ROS 治疗糖尿病肾病或许会成为关注的重点。无论是糖尿病肾病机制还是治疗方案,仍需要更进一步的研究。

参考文献

- [1] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045[J]. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2022,183:109119.
- [2] Tamara M, Stamatia P, Euan C, et al. The angiotensin II type 2 receptors protect renal tubule mitochondria in early stages of diabetes mellitus[J]. *KIDNEY INTERNATIONAL*, 2018:S0085253818304423.
- [3] Yan X, Bowe B, Mokdad A H, et al. Analysis of the Global Burden of Disease study highlights the global, regional, and national trends of chronic kidney disease epidemiology from 1990 to 2016[J]. *Kidney International*, 2018,94(3).
- [4] Maezawa Y, Takemoto M, Yokote K. Cell biology of diabetic nephropathy: Roles of endothelial cells, tubulointerstitial cells and podocytes[J]. *Journal of Diabetes Investigation*, 2015,6(1).
- [5] Maharaj A S R, Saint-Geniez M, Maldonado A E, et al. Vascular endothelial growth factor localization in the adult[J]. *The American Journal of Pathology*, 2006,168(2):639-648.
- [6] 李思佳,孙小蒙.血管内皮生长因子与糖尿病肾病关系的研究进展[J].*医学综述*,2019,25(3):515-519.
- [7] Shimada K, Baba T, Neugebauer S, et al. Plasma vascular endothelial growth factor in Japanese Type 2 diabetic patients with and without nephropathy[J]. *Journal of Diabetes & Its*

- Complications, 2002,16(6):386-390.
- [8] 杨佳慧,李香兰,徐晓华.血管内皮生长因子在糖尿病肾脏病变中的研究进展[J].中国实验诊断学,2020,24(9):1578-1581.
- [9] Wei Daoyan, Le Xiangdong, Zheng Leizhen, et al. Stat3 activation regulates the expression of vascular endothelial growth factor and human pancreatic cancer angiogenesis and metastasis[J]. *Oncogene*,2003,22(3).
- [10] Iglesias M C, Ziyadeh F N, Isono M, et al. Effects of high glucose and TGF-beta1 on the expression of collagen IV and vascular endothelial growth factor in mouse podocytes[J]. *Kidney International: Official Journal of the International Society of Nephrology*, 2002(3):62.
- [11] Veron D, Reidy K J, Bertuccio C, et al. Overexpression of VEGF-A in podocytes of adult mice causes glomerular disease[J]. *Kidney International*, 2010,77(11):989-999.
- [12] Mironidou-Tzouveleki, Maria, Tsartsalis, et al. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) in the Pathogenesis of Diabetic Nephropathy of Type 1 Diabetes Mellitus[J]. *Current Drug Targets*, 2011.
- [13] Wolf G, Chen S, Ziyadeh F N. From the periphery of the glomerular capillary wall toward the center of disease: podocyte injury comes of age in diabetic nephropathy[J]. *Diabetes*, 2005,54(6):1626-1634.
- [14] Pierre-Louis Tharaux, Tobias B. Huber. How Many Ways Can a Podocyte Die?[J]. *Seminars in Nephrology*,2012,32(4).
- [15] Duan YR, Chen BP, Chen F, et al. Exosomal microRNA-16-5p from human urine-derived stem cells ameliorates diabetic nephropathy through protection of podocyte [J]. *J Cell Mol Med*, 2019,10(1111):14558.
- [16] 赵东家,于为民,李荣山.来氟米特对糖尿病肾病大鼠肾脏VEGF表达的影响[J].中国当代医药,2010,17(13):18-20+23.
- [17] Miaomiao Wei, Chunhua Liu, Xiaochen Zhang, et al. Autophagy is involved in regulating VEGF during high-glucose-induced podocyte injury[J]. *Molecular bioSystems*, 2016,12(7).
- [18] Baelde H J, Eikmans M, Lappin D W P, et al. Reduction of VEGF-A and CTGF expression in diabetic nephropathy is associated with podocyte loss[J]. *Kidney International*, 2007,71(7):637-645.
- [19] 何美艳,林百润,李远,等.血管内皮生长因子(VEGF)与2型糖尿病肾病相关性分析[J].临床医药文献电子杂志,2019,6(69):1+4.
- [20] 宋怡夏. VEGF、VEGF-A在糖尿病肾病中的表达及利拉鲁肽治疗后的变化[D].长沙:湖南师范大学,2017.
- [21] Noh H, King G L. The role of protein kinase C activation in diabetic nephropathy[J]. *Kidney International*, 2007,72(106):S49-S53.
- [22] Attia, Hala, A, et al. Ruboxistaurin attenuates diabetic nephropathy via modulation of TGF-1/Smad and GRAP pathways[J]. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2016,68(2):219-232.
- [23] 瞿力,刘建.肾素-血管紧张素-醛固酮系统与糖尿病肾病研究进展[J].国际泌尿系统杂志,2014,34(6):939-944.
- [24] Kang Y S. Angiotensin II stimulates the synthesis of vascular endothelial growth factor through the p38 mitogen activated protein kinase pathway in cultured mouse podocytes[J]. *Journal of Molecular Endocrinology*, 2006,36(2):377-388.
- [25] 覃志成,齐悦,李荣山,等.血管紧张素 II 通过p38丝裂原蛋白激酶通路上调人足细胞血管内皮生长因子表达[J].中华肾脏病杂志,2009,25(7):522-524.
- [26] Wendt T M, Tanji N, Guo J, et al. RAGE Drives the Development of Glomerulosclerosis and Implicates Podocyte Activation in the Pathogenesis of Diabetic Nephropathy[J]. *American Journal Of Pathology*, 2003,162(4):1123-1137.
- [27] 董闪闪,张洁,刘璠,等.2型糖尿病肾病患者尿足细胞标志蛋白和血管内皮生长因子水平与氧化应激的相关性[J].重庆医学,2016,45(10):1334-1336.