

血管内皮生长因子诱发脉络膜新生血管的分子机制

侯慧媛 王雨生

【摘要】 脉络膜新生血管(CNV)是多种眼底疾病引起视力障碍的重要原因之一;血管内皮生长因子(VEGF)在 CNV 的发生中起着重要的作用。VEGF 在眼内的生成及其诱发 CNV 的信号转导通路已部分明确,但由于 CNV 发生是一多因素共同作用的复杂过程,为阐明其发生机制,还需进一步深入研究。

【关键词】 脉络膜新生血管化; 内皮生长因子; 血管; 综述文献

中图分类号:R773.4

脉络膜新生血管(CNV)是引起视力障碍的重要原因之一,可见于许多眼底疾病^[1,2]。视网膜循环代谢障碍、视网膜色素上皮(RPE)或 Bruch 膜的损伤是诱发 CNV 的重要原因。CNV 的细胞成分有脉络膜血管内皮细胞(CEC)、RPE 细胞、巨噬细胞(MP)和 Müller 细胞等^[3]。各种细胞因子的释放引起包括血管基底膜的降解、血管内皮细胞(EC)的增生、移行以及新基底膜的沉积等一系列反应,最终导致新生血管形成^[4]。参与 CNV 形成的细胞因子主要有血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、转化生长因子(TGF)、血小板衍生生长因子(PDGF)、血管生成素和肿瘤坏死因子(TNF)等,其中 VEGF 在 CNV 发生中起着至关重要的作用^[5,6]。

1 VEGF 及其受体

VEGF 是 EC 的有丝分裂原,选择性刺激 EC 增生、移行^[3],并诱导 EC 抗凋亡蛋白的表达^[6],亦可引起血管通透性增加。VEGF 受体的 3 个亚型中,VEGFR-1/Flt-1 和 VEGFR-2/KDR/Flk-1 表达于 EC。KDR 介导 VEGF 作用于靶细胞所产生信号的转导^[7]与 CNV 的形成密切相关。KDR 的抑制剂可有效减少 CNV 的形成^[8]。Flt-1 虽能结合 VEGF,但不参与血管形成相关信号的转导,属“诱骗受体”,竞争性抑制 KDR 的生物学效应^[4]。Neuropilin-1(NP-1)是 KDR 的辅助受体,使 KDR 与 VEGF₁₆₅的结合增加,与 CNV 的形成有关^[9,10]。

2 刺激 VEGF 表达和分泌的因素

与 CNV 发生相关的能够合成和分泌 VEGF 的细胞有 EC、MP、Müller 细胞、成纤维细胞和 RPE 细胞等^[7,11]。诱导合成和分泌 VEGF 的因素包括炎症、缺氧、高度糖基化终产物(AGEs)和细胞外基质异常等。

2.1 炎症

VEGF 的表达与炎症反应密切相关。炎性细胞分泌的 TGF、bFGF、PDGF-β、胰岛素样生长因子和白细胞介素-1(IL-1)等细胞因子对 VEGF 的表达有正调节作用。MP 在血管新生过程中起着关键性作用^[11]。CNV 膜中的 RPE 细胞表达单核细胞趋化蛋白,趋化脉络膜中的 MP 穿过 Bruch 膜进入视网膜,产生多种促血管新生的细胞因子,其中 IL-1β 和 TNF-α 能够刺

激 RPE 细胞产生 VEGF^[12]。

2.2 缺氧

缺氧是视网膜新生血管发生的重要因素,在 CNV 形成中也可能发挥着重要作用^[13]。Witmer 等^[7]认为缺氧诱导 VEGF 表达是 CNV 发病机制中的关键环节。缺氧能够增加 VEGF 基因转录和 VEGF mRNA 的稳定性^[6,13],快速而强烈的刺激 VEGF 在 EC 和 RPE 细胞中的表达^[12,14,15]。在缺氧环境中,VEGF 启动子被激活的同时,与磷酸化的缺氧诱导因子-1α(HIF-1α)结合,增强了 VEGF 基因的转录活性^[7,16-19]。应激激活蛋白激酶则可保持 VEGF mRNA 的稳定^[18]。此外,VEGF 的 DNA 序列上有氧敏感基因——促红素基因,直接调节 VEGF 的表达^[20]。缺氧下调某些血管生成抑制剂的表达,也导致 VEGF 相对增加^[10,12,21]。

2.3 AGEs

AGEs 是重要的血管生成调节因子,在 CNV 中有大量的表达。它能引起 RPE 细胞肿胀、Bruch 膜增厚和脉络膜毛细血管功能异常^[22]。用 AGEs 刺激 CEC、Müller 细胞和 RPE 细胞后,都可检测到 VEGF mRNA 的量有显著增加^[3]。进一步研究证明,AGEs 可诱导 EC 胞内蛋白激酶 Cβ(PKCβ)的转移及细胞外信号调节激酶 1/2(ERK1/2)和核因子-κB(NF-κB)的活化,故推测 AGEs 诱导的 VEGF 表达可能通过 PKC、丝裂原激活的蛋白激酶(MAPK)和 NF-κB 通路实现^[23]。

2.4 细胞外基质异常

RPE 细胞是 CNV 发生中 VEGF 的主要来源^[10]。除对缺氧和炎症介质敏感外,将 RPE 细胞暴露于异常的细胞外基质蛋白中(如血小板反应素 1),也能诱导 VEGF 的表达^[5,24]。CNV 发生过程中,活化的基质金属蛋白酶能上调 VEGF 的表达^[25]。诱导产生的 VEGF 再作用于 RPE 细胞,可引起 RPE 细胞 DNA 合成增加和 VEGF 的表达(VEGF 的自分泌环),形成 VEGF 分泌的正反馈^[11,26]。

3 VEGF 诱发 CNV 的细胞内信号转导

诱导 CNV 发生的信号主要经 KDR 转导,经多种信号通路,最终引起细胞分裂、增生和移行等效应。在 CNV 发生过程中,VEGF 通过的胞内信号转导通路主要有以下 4 种。

3.1 MAPK 途径

此通路在诱导 EC 增生方面发挥关键作用^[7,27]。Ras、MAP 激酶的激酶 1(MEK1)抑制剂都能抑制 CEC 增生,前者抑制程度更大。增生的 CEC 中可检测到 Raf-1、MEK1、ERK1/2 的持

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30371516);教育部留学回国人员科研启动基金资助项目(2004)

作者单位:710032 西安,第四军医大学西京医院眼科,全军眼科研究所
通讯作者:王雨生,Email:wangys@fmmu.edu.cn

续磷酸化^[1]。转染 Raf-1, ER 嵌合体使 ERK1/2 活化后, 能够使静止的 EC 重新进入细胞周期^[17]。KDR 的特异性抑制剂使 KDR 和 ERK1/2 的磷酸化受到相同程度的抑制, 证明 MAPK 通路位于 KDR 的下游^[28, 29]。磷酸化的 KDR 吸引接头蛋白 Grb2, Grb2 通过 SH3 结构域结合鸟苷酸交换蛋白(SOS), 使之接近并活化 Ras, 然后进一步激活 MAPK 级联反应: Raf-1 → MEK1 → ERK1/2。然而也有人认为, VEGF 是以一种不依赖 Ras 而由 PKC 介导的方式激活 MAPK 级联反应的^[30]。

增生的 CEC 中检测到磷酸化的 P90 核糖体 S6 激酶 (P90^{RSK}), 故认为活化的 ERK1/2 可通过诱导 P90^{RSK} 磷酸化来实现其生物学效应^[1, 31]。ERK1/2 的下游转录因子可能是 ets-1。ets-1 识别 GGA(A/T) DNA 序列, 控制 c-ets 的转录^[32]。

除 ERK 外, VEGF 诱导活化的另一个 MAPK 是 C-Jun 末端蛋白激酶(JNK)。JNK-1 基因缺失突变能够抑制细胞周期蛋白 D1 的合成、周期素依赖性蛋白激酶 4 的活化和 VEGF 诱导的 EC 有丝分裂。Y185F 缺失突变的 ERK2 阻滞了 VEGF 对 JNK 的活化, 提示 VEGF 诱导的有丝分裂需要 ERK 和 JNK 通路的相互作用^[30]。

VEGF 可诱导 P38-MAPK 活化, P38-MAPK 继而活化 MAPKAP 激酶-2/3, 并使丝状肌动蛋白(F-Actin)聚合调节分子和热休克蛋白 27(HSP27)发生磷酸化^[33]。P38-MAPK 的抑制剂可抑制 HSP27 磷酸化、肌动蛋白重组和 EC 的移行, 而 MEK 的抑制剂则不能抑制 EC 的移行, 提示 VEGF 是通过 P38-MAPK 通路转导信号至微丝, 引起肌动蛋白细胞骨架的重组, 产生 EC 移行^[30](图 1)。

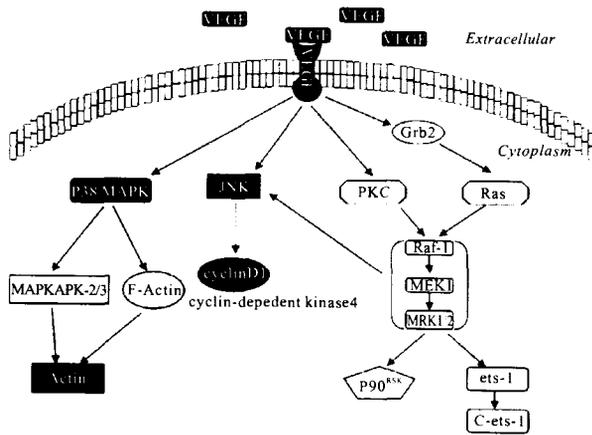


图 1 MAPK 途径示意图

3.2 PI-3K-AKT/PKB 途径

VEGF 可通过 PI-3K/AKT 通路诱导 EC 增生和移行^[7]。Abid 等^[34]认为 PI-3K 通路是诱导 CEC 增生主要的信号转导通路。CEC 经高选择性 PI-3K 的抑制剂处理后可显著抑制 CEC 的增生。在增生的 CEC 中检测到活化的 P70^{S6K} 和 AKT。雷帕霉素可与 FKBP12 复合体结合导致 P70^{S6K} 迅速失活, 从而使 CEC 增生减少。经其干预后, CNV 中新生血管的数量明显减少^[35]。但相比抑制 PI-3K 产生的效应, CEC 增生减少的幅度降低了, 故推测除 P70^{S6K}/AKT 外, PI-3K 还可能控制其它通路来实现促 CEC 增生的效应^[31]。

VEGF 通过整合素相关激酶(ILK)诱导 AKT/PKB 的磷酸化。ILK 的抑制剂可抑制 VEGF 诱导的 EC 增生和移行^[36], 但 VEGF 诱导的 ILK 的活化是否依赖 PI-3K 尚未得以证实。

AKT 活化后, AKT/PKB 蛋白的降解受到抑制, 增强其丝/苏氨酸激酶的稳定性。用 VEGF 受体酪氨酸蛋白激酶抑制剂阻断 VEGF 的信号转导后, AKT/PKB 蛋白水平下降^[37]。AKT 的下游可能为 BAD、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(caspase)或 forkhead 转录因子(图 2)。磷酸化的 AKT 可抑制 BAD 和 caspase-9 的活化, 发挥抗 EC 凋亡的作用^[30]。

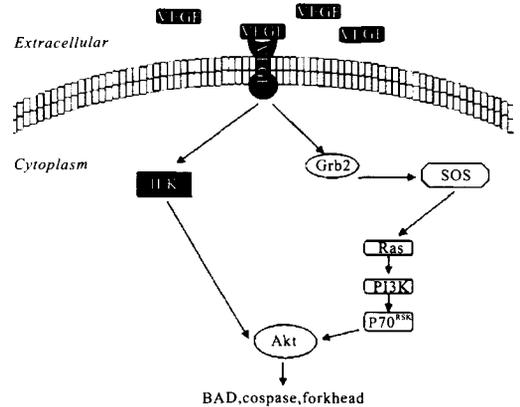


图 2 PI-3K-AKT/PKB 途径示意图

3.3 Ca²⁺-磷脂依赖性激酶途径

PKC 参与 VEGF 的信号转导(图 3)。用化学抑制剂阻止 PKC 的活化或下调 PKC 的表达可抑制 VEGF 诱导的 EC 分裂和移行^[5, 38]。其中 PKC α 和 PKC ζ 的活化在 VEGF 诱导 EC 分裂的信号转导中起着重要的作用。VEGF 刺激 EC 后, PKC α 的活性出现大幅度增加^[30]。活化 PKC 需二脂酰甘油(DAG)和 Ca²⁺的共同作用。DAG 可能来源于两个途径: 一是 VEGF 与受体结合后激活磷脂酶 D(PLD)^[5], 并以时间、剂量依赖方式增加 PLD 的活性^[39]。PLD 水解细胞膜中的磷脂酸(PA)产生 DAG; 二是 VEGF 活化磷脂酶 C γ (PLC γ), PLC γ 水解膜组分磷脂酰肌醇-4, 5-二磷酸(PIP₂)产生 DAG 和肌醇-3, 4, 5-三磷酸(IP₃)^[4]。以往曾观察到 VEGF 与受体结合后最早出现的生物学效应是细胞质中钙离子的增加。随后 Hoffmann 等^[40]用慢钙通道抑制剂羧基氨基咪唑抑制了 VEGF 诱导的 CNV 形成, 证实 Ca²⁺的确参与了 VEGF 的信号转导。Ca²⁺使 PKC 结合并聚集至质膜, 在 DAG 的作用下活化。PKC 的下游可能是 NF- κ B。在抗 VEGF 受体抗体作用下, NF- κ B 的活化被抑制^[28]。PKC 也可作为内皮一氧化氮合酶(eNOS)和 Raf-ERK1/2 MAPK 的上游激活物, 参与不同的信号转导通路^[30]。

3.4 NO 途径

NO 是 VEGF 诱导 EC 移行和血管发生的许可因子^[30]。VEGF 通过不同路径诱导 NO 的一过性和持久性产生(图 4): (1)VEGF 诱导 c-Src 活化, 激活 PLC γ , 引起 Ca²⁺动员, Ca²⁺活化 eNOS, 导致一过性 NO 生成。VEGF 诱导一过性 NO 生成的另一条通路需要 HSP90 或 HSP90 相关蛋白的活化, 但具体机制未明; (2)持久性 NO 生成需要 AKT 对 eNOS 的活化。PKC 也可激活 eNOS, 选择性 PKC 抑制剂能够抑制 NO 的生成。NO 可调节黏着斑的完整和黏着斑激酶(FAK)的磷酸化。FAK 相关信号转导对 EC 移行很重要。VEGF 活化 FAK 的具体机制未明, 但 FAK 的磷酸化需要 HSP90 的参与, HSP90 的抑制剂格尔德霉素可阻止 VEGF 诱导的 EC 移行, 提示 EC 移行的相

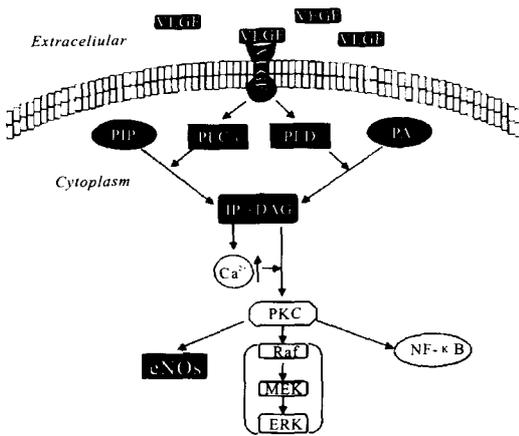


图 3 Ca²⁺-磷脂依赖性激酶途径示意图

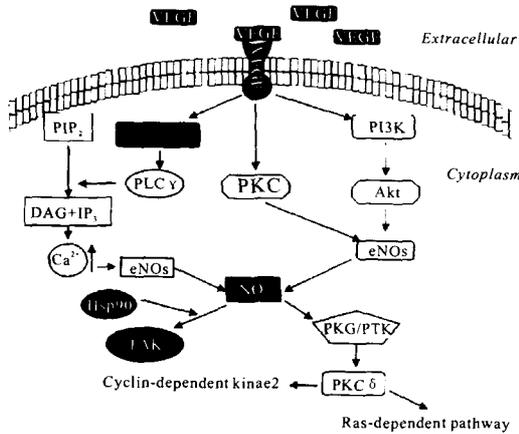


图 4 NO 途径示意图

关信号转导需要 FAK 和 NO 通路的相互作用^[30]。

除 PLD 外,另一个 VEGF 信号转导通路中的关键酶是 NO 合酶(NOS)。用 VEGF 刺激 EC 会引起 NO 的释放,释放量达顶峰后数小时 PKC δ 的活性即开始下降。如经过 NOS 的抑制剂预处理则会抑制 PKC δ 的活性下降,同时也抑制了 VEGF 诱导的 EC 移行和增生。加入外源性 NO 的供体硝普钠后,PKC δ 的活性也会下降,进一步说明 NO 的释放可引起 PKC δ 活性的下降。由于 NO 的释放峰出现在 PKC δ 活性下降之前,推测在这条通路中 NO 位于 PKC δ 的上游。VEGF 刺激的 EC 中未检测到 PKC δ 蛋白和 mRNA 量的变化,提示 NO 引起 PKC δ 活性的降低发生在翻译后水平^[5]。关于 NO 如何降低 PKC δ 的活性有两种推测:(1)很多 PKC 亚型的活性可通过丝氨酸-苏氨酸磷酸化来调节,NO 可活化 cGMP-依赖性蛋白激酶(PKG),故 NO 可能通过它降低 PKC δ 的活性^[11];(2)PKC δ 催化域中有一个酪氨酸可被磷酸化,可通过某种酪氨酸激酶(PTK)改变其活性^[5]。PKC δ 的活性降低引起 EC 增生和移行可能是通过抑制周期蛋白依赖激酶 2 改变细胞周期进程或影响 Ras 下游的信号转导。但抑制 PKC δ 后,Ras 的过表达不能逆转产生的效应,故推测除依赖 Ras 的信号通路外,PKC δ 有其它下游通路来抑制细胞的生长^[11,12]。不表达 KDR 的 EC 在 VEGF 刺激下也会出现 PKC δ 活性的下降,提示此通路是由其它受体介导的^[5]。

4 CNV 发生中的网络调节

CNV 的发生是一个多通路、多因素共同作用的复杂过程,同一因子可通过多种通路来实现其生物学效应,通路之间也往往存在着相互作用;不同因子的作用机制可能不同,但它们并不是完全独立的,而是相互诱导或抑制,产生协同或拮抗作用,以网络形式共同调节 CNV 的发生。

4.1 VEGF 通过的各信号转导通路间的相互作用

CEC 的增生需要 MAPK/ERK 与 PI-3K/AKT 双信号通路^[1]。分别加入 ERK1/2 和 PI-3K 的双重抑制剂、MEK1 和 PI-3K 的抑制剂的混合物及 Ras 的抑制剂后,都能观察到 CEC 的增生被完全抑制。阻滞 Ras 的活化后,CEC 的增生明显减弱,而分别对 MEK1 和 PI-3K 活化的抑制则只部分抑制了 CEC 的增生,证实了两信号通路共同的上游信号分子是 Ras。因此认为 Ras 在 CEC 增生的信号转导中起着关键性的作用。抑制 PI-3K/P70^{S6K} 的活化后,ERK1/2 的活化也被抑制,反之则不会出现类似结果,提示 PI-3K 除作用于 AKT 外,还位于 ERK1/2 上游,控制 ERK 通路。

VEGF 诱导活化的 PLD、PLC γ 、PKC ϵ 也能够激活 ERK1/2。VEGF 与 KDR 结合后,PLD2 与 Ras 发生聚集。使用 PLD 抑制剂可抑制 ERK 的磷酸化,同时也抑制了 VEGF 诱导的 EC 增生。VEGF 诱导的 PLD/ERK 活化可能是由 PKC δ 介导的,但具体机制未明^[39]。

PKC 的不同亚型通过参与不同的信号转导通路介导 CNV 的发生。在 Ca²⁺-磷脂依赖性激酶途径中 PKC α 和 PKC ζ 被活化,而 NO 通过降低 PKC δ 的活性诱导 EC 的增生。可见 VEGF 诱导的 EC 增生需要 PKC α 、PKC ζ 活性增强和 PKC δ 活性下降的协调作用。

VEGF 诱发 CNV 信号转导通路间的相互作用远远不止这些,如 ERK 和 JNK 通路的相互作用、PI-3K-AKT/PKB 途径通过 AKT 与 NO 途径相联系等,使信号转导的过程错综复杂,大大增加了研究工作的难度。

4.2 其它因子及受体的调节作用

CNV 发生过程中起重要作用的另一细胞因子——bFGF 能够上调 VEGF 和 KDR 的表达,与 VEGF 起协同作用。它所诱导的 EC 增生亦需要 MAPK/ERK 与 PI-3K/AKT 双信号通路,MEK1、ERK1/2、P90^{RSK} 活化的程度较 VEGF 高,是 CEC 更强的有丝分裂原^[39]。然而与 VEGF 不同,bFGF 所诱导的 EC 增生和移行不需 PKC δ 活性的降低^[5]。

CNV 的发生源于促血管生成因子和血管生成抑制因子的失衡。色素上皮衍生因子(PEDF)与 VEGF 之间的失衡在 CNV 形成中有重要意义。在 CNV 的发展过程中,抑制因子仍以不同方式起着调节作用。PEDF 在晚期 CNV 的 RPE 细胞中有高度上调的表达,抑制 CNV 的发展^[10]。可溶性 Flt-1 可抑制 EC 的增生和移行^[8]。VEGF 结合于 Flt-1 后,通过 PI-3K/AKT 通路活化 D114 和 notch1,引起 bHLH 转录因子 HESR-1 的表达,导致 KDR 的下调^[1,10,20]。在 Flt-1 基因敲除的动物模型上观察到因 EC 的过度增生导致血管发育缺陷,提示 Flt-1 可通过隔绝 VEGF 来减少 KDR 的活化^[6]。

5 结语

虽然对 CNV 信号转导的探索已取得了一定成绩,但 CNV

发生受到诸多因素在多渠道和多层次的调节,其中许多环节尚不清楚,如介导 VEGF 生物学效应的大多数信号通路也是非血管生成因子的信号转导通路,如何确定哪条是产生血管生成效应的主要通路;RPE 细胞通过怎样的机制于 CNV 晚期上调 PEDF 的表达;NP-1 在 CNV 发生中的作用机制等。即使明确有些信号通路参与了 CNV 的发生,但各级分子之间的关系尚不确定,如 PKC 是怎样激活 Ras/MAPK;ILK 上游是否包括 PI-3K;c-Src 如何活化 PLC γ ;什么受体介导了 NO-PKC δ 途径等。因此,对 CNV 信号转导作进一步深入细致的研究非常必要。相信随着分子生物学的迅猛发展,CNV 发生的分子机制之谜将会解开,为从根本上防治 CNV 奠定基础。

志谢:感谢第四军医大学神经生物学研究所宋俊峰博士对本文相关内容所给予的审阅和指导

6 参考文献

- Zubilewicz A, Hecquet C, Jeanny J, et al. Proliferation of CECs requires dual signalling through both MAPK/ERK and PI 3-K/Akt pathways. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001,42:488-496.
- 朱洁,王雨生,惠延年. 脉络膜新生血管的生成和抑制. *眼科新进展*, 2004,24:57-60.
- Hoffmann S, Friedrichs U, Eichler W, et al. Advanced glycation end products induce choroidal endothelial cell proliferation, matrix metalloproteinase-2 and VEGF upregulation in vitro. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2002,240:996-1002.
- Cross MJ, Claesson-Welsh L. FGF and VEGF function in angiogenesis: signalling pathways, biological responses and therapeutic inhibition. *Trends Pharmacol Sci*, 2001,22:201-207.
- Shizukuda Y, Tang S, Yokota R, et al. Vascular endothelial growth factor-induced endothelial cell migration and proliferation depend on a nitric oxide-mediated decrease in protein kinase C δ activity. *Circulation Res*, 1999,6:247-256.
- Veikkola T, Alitalo K. VEGFs, receptors and angiogenesis. *Cancer Biology*, 1999,9:211-220.
- Witmer AN, Vrensen GF, Van Noorden CJ, et al. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Prog Retin Eye Res*, 2003,22:1-29.
- Kinoshita F, Roscilli G, Lamartina S, et al. Inhibition of retinal and choroidal neovascularization by a novel KDR kinase inhibitor. *Mol Vis*, 2005 11:366-73.
- Oh H. A novel molecular mechanism involving neuropilin-1 for vascular endothelial growth factor-induced retinal angiogenesis. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 2003,107:651-656.
- Martin G, Schlunck G, Hansen LL, et al. Differential expression of angioregulatory factors in normal and CNV-derived human retinal pigment epithelium. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2004,242:321-326.
- 汪浩,王文吉. 脉络膜新生血管的治疗进展. *国外医学眼科分册*, 2001,25:288-295.
- Schlingemann RO. Role of growth factors and the wound healing response in age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2004,242:91-101.
- 张鹏,王雨生,惠延年,等. 缺氧诱导因子 1 与眼内新生血管. *眼科新进展*, 2004,24:224-226.
- 张鹏,王雨生,张星,等. 缺氧对人视网膜色素上皮细胞增生和 VEGF 表达的影响. *眼科新进展*, 2004,24:6-8.
- 张鹏,惠延年,王雨生,等. PKC 信号转导通路对缺氧人视网膜色素上皮细胞表达 VEGF 的作用. *第四军医大学学报*, 2003,24:1933-1934.
- Bicknell R, Harris AL. Novel angiogenic signalling pathways and vascular targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2004,44:219-238.
- Berra E, Milanini J, Richard DE, et al. Signalling angiogenesis via p42/p44 MAP kinase and hypoxia. *Biochem Pharmacol*, 2000,60:1171-1178.
- Mazure NM, Brahimi-Horn MC, Pouyssegur J. Protein kinase and the hypoxia-inducible factor-1, two switches in angiogenesis. *Curr Pharm Des*, 2003,9:531-541.
- Minet E, Michel G, Mottet D, et al. Transduction pathways involved in hypoxia-inducible factor-1 phosphorylation and activation. *Frec Radical Bio Med*, 2001,31:847-855.
- Roberts DM, Kearney JB, Johnson JH, et al. The vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor Flt-1 (VEGFR-1) modulates Flk-1 (VEGFR-2) signalling during blood vessel formation. *Am J Pathol*, 2004,164:1531-1535.
- Ohno-Matsui K. Molecular mechanism for choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, 2003,107:657-673.
- Ida H, Ishibashi K, Reiser K, et al. Ultrastructural aging of the RPE-Bruch's membrane-choriocapillaris complex in the D-galactose-treated mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004,45:2348-54.
- Mamputu JC, Renier G. Signalling pathways involved in retinal endothelial cell proliferation induced by advanced glycation end products: inhibitory effect of gliclazide. *Diabetes Obes Metab*, 2004,6:95-103.
- 朱洁,王雨生,惠延年. 细胞外基质与脉络膜新生血管. *中华眼底病杂志*, 2005,21:85-88.
- Sounni NE, Roghi C, Chabotiaux V, et al. Up-regulation of vascular endothelial growth factor-A by active membrane-type 1 matrix metalloproteinase through activation of Src-tyrosine kinases. *J Biol Chem*, 2004,279:13564-13574.
- Kang TS, Gorti GK, Quan SY, et al. Effect of hyperbaric oxygen on the growth factor profile of fibroblasts. *Arch Facial Plast Surg*, 2004,6:31-35.
- Kranenburg O, Gebbink MF, Voest EE. Stimulation of angiogenesis by Ras proteins. *Biochem Biophys Acta*, 2004,1654:23-37.
- Santos SC, Dias S. Internal and external autocrine VEGF/KDR loops regulate survival of acute leukemia through distinct signalling pathways. *Blood*, 2004,103:3883-3889.
- Boguslawski G, McGlynn PW, Harvey KA, et al. SU1498, an inhibitor of VEGFR2, causes accumulation of phosphorylated ERK kinases and inhibits their activity in vivo and in vitro. *J Biol Chem*, 2004,279:5716-5724.
- Zachary I, Gliki G. Signalling transduction mechanisms mediating biological actions of the vascular endothelial growth factor family. *Cardiovasc Res*, 2001,49:568-581.
- Zubilewicz A, Hecquet C, Jeanny JC, et al. Two distinct signalling pathways are involved in FGF2-stimulated proliferation of choriocapillary endothelial cells: a comparative study with VEGF. *Oncogene*, 2001,20:1403-1413.
- Nakabayashi M, Morishita R, Nakagami H, et al. HGF/NK4 inhibited VEGF-induced angiogenesis in in vitro cultured endothelial cells and in vivo rabbit model. *Diabetologia*, 2003,46:115-123.
- Rousseau S, Houle F, Landry J, et al. p38 MAP kinase activation by vascular endothelial growth factor mediates actin reorganization and cell migration in human endothelial cells. *Oncogene*, 1997,15:2169-2177.
- Abid MR, Guo S, Minami T, et al. Vascular endothelial growth factor activates PI3K/Akt/forkhead signalling in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004,24:294-300.
- Dejeka NS, Kuroki AM, Fosnot J, et al. Systemic rapamycin inhibits retinal and choroidal neovascularization in mice. *Mol Vis*, 2004,10:964-72.
- Kaneko Y, Kitazato K, Basaki Y. Integrin-linked kinase regulates vascular morphogenesis induced by vascular endothelial growth factor. *J Cell Sci*, 2004,117:407-415.
- Riesterer O, Zingg D, Hummerjohann J, et al. Degradation of PKB/AKT protein by inhibition of the VEGF receptor/mTOR pathway in EC. *Oncogene*, 2004,23:4624-4635.
- Kwak N, Okamoto N, Wood JM, et al. VEGF is major stimulator in model of choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2000,41:3158-3164.
- Cho CH, Lee CS, Chang M, et al. Localization of VEGFR-2 and PLD2 in endothelial caveolae is involved in VEGF-induced phosphorylation of MEK and ERK. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004,286:H881-888.
- Hoffmann S, He S, Wiedemann P. Carboxyamido-triazole inhibits substeps of choroidal neovascularization on retinal pigment epithelial cells and choroidal endothelial cells in vitro. *Ophthalmologie*, 2004,101:993-997.
- Huang Q, Yuan Y. Interaction of PKC and NOS in signal transduction of microvascular hyperpermeability. *Am J Physiol*, 1997,273:2442-2451.
- Hirai SI, Izumi Y, Higa K, et al. Ras-dependent signal transduction is indispensable but not sufficient for the activation of AP1/JUN by PKC δ . *EMBO J*, 1994,13:2331-2340.

(收稿日期:2005-05-18)

(本文编辑:唐健)