陈绵雄,林慧,张菊云,等. VEGF-A 抑制剂 sFLT-1 改善 1 型糖尿病小鼠的肾功能的研究[J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(7): 100-105.
Chen MX, Lin H, Zhang JY, et al. Effect of the VEGF-A inhibitor sFLT-1 on renal function in type 1 diabetic mice [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(7): 100-105.
doi: 10. 3969/ j. issn. 1671-7856. 2021. 07. 015

VEGF-A 抑制剂 sFLT-1 改善 1 型糖尿病小鼠的肾功能的研究

陈绵雄,林 慧,张菊云,刘婷婷*

(中南大学湘雅附属海口医院/海口市人民医院,内分泌科 海口 570208)

【摘要】 目的 研究 VEGF-A 抑制剂 sFLT-1 是否能够通过抑制血管内皮细胞的活化和炎症反应,进而逆转 1 型糖尿病小鼠肾功能损害。**方法** 将 8 周龄 C57BL/6 雌性小鼠分为 5 周:健康对照组(n=5)、糖尿病组(n=5)以及 15 周:健康对照组(n=5)、糖尿病组(n=5),对照+sFLT-1 治疗组(n=5),糖尿病+sFLT-1 治疗组(n=5),通过腹腔注射链脲佐菌素(75 mg/kg)构建 1 型糖尿病模型,在建模后第 6 周开始进行 sFLT-1 的治疗。观察 sFLT-1 治疗前、后肾组织病理损伤、巨噬细胞浸润程度、肾小球内皮细胞活化程度以及炎症水平。**结果** 相比于模型组,转染 sFLT-1 可明显减少肾小球系膜基质含量(即肾小球 IV 型胶原蛋白水平)(P<0. 001)、肾小球巨噬细胞浸润(P<0. 001)、肾小球内皮细胞活化(P<0. 001)和肾小球肿瘤坏死因子-α 水平(P<0. 001),从而显著抑制糖尿病肾损伤,并且 sFLT-1 在体外可降低血管内皮生长因子-A 诱导的内皮细胞活化(P<0. 001)。**结论** sFLT-1 可能通过抑制 VEGF-A,从而减少内皮激活和肾小球炎症,最终逆转糖尿病相关的肾损害,是糖尿病肾病的新的治疗方向。

【关键词】 糖尿病肾病;肾功能;sFLT-1;血管内皮生长因子
【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 07-0100-06

Effect of the VEGF-A inhibitor sFLT-1 on renal function in type 1 diabetic mice

CHEN Mianxiong, LIN Hui, ZHANG Juyun, LIU Tingting*
(Department of Endocrinology, Haikou Hospital Affiliated to Xiangya, Central South University/Haikou People's Hospital, Haikou 570208, China)

【Abstract】 Objective To investigate whether the vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) inhibitor sFLT-1(soluble fms-like tyrosin kinase-1)can reverse renal dysfunction in type 1 diabetic mice by inhibiting vascular endothelial cell activation and inflammation. **Methods** Twenty-five eight-week-old C57BL/6 female mice were divided into two groups:two groups treated for 5 weeks: healthy control group (n = 5) and diabetic group (n = 5), and three groups for 15 weeks: healthy control group (n = 5), diabetic group (n = 5), control+sFLT-1 treatment group (n = 5), diabetic+sFLT-1 treatment group (n = 5). The model of type 1 diabetes was established by intraperitoneal streptozotocin (75 mg/kg) injection. The treated mice received sFLT-1 at the sixth week after the establishment of the model. Renal pathological damage, macrophage infiltration, glomerular endothelial cell activation and inflammation were observed before and after

[作者简介]陈绵雄(1977—),男,主治医师,本科,研究方向:内分泌糖尿病。E-mail: ci982e2@ 163.com
[通信作者]刘婷婷(1985—),女,博士,副主任医师,研究方向:内分泌科。E-mail: 15120014@ qq.com

sFLT-1 treatment. **Results** Compared with the model group, sFLT-1 transfection significantly reduced the content of the glomerular mesangial matrix (glomerular type Ⅳ collagen) ($P<0.001$), glomerular macrophage infiltration ($P<0.001$), glomerular endothelial cell activation ($P<0.001$) and the glomerular tumor necrosis factor-α level ($P<0.001$), and thus significantly inhibited diabetic renal injury. Additionally, sFLT-1 reduced the activation of endothelial cells induced by VEGF-A in vitro ($P<0.001$). **Conclusions** sFLT-1 may reduce endothelial activation and glomerular inflammation by inhibiting VEGF-A, and finally reverse diabetes-related renal damage, which is a new direction of treatment for diabetic nephropathy.

【**Keywords**】 diabetic nephropathy; renal function; sFLT-1; VEGF-A

糖尿病肾病的主要特征表现为微血管系统的损伤和功能障碍,调控微血管系统的关键因素是血管内皮生长因子(VEGF-A),它通过调节内皮细胞的迁移、增殖和存活影响血管通透性[1]。在糖尿病肾病的动物模型中应用 VEGF-A 抗体能明显预防蛋白尿和肾小球肥大,证实抑制 VEGF-A 可能是糖尿病肾并发症的潜在治疗靶点[2]。除了维持血管内稳态,VEGF-A 还可以促进单核细胞和巨噬细胞的迁移[3]。研究发现:VEGF-A 通过结合细胞表面的 VEGF 受体(VEGFR,也称 FLT-1),促进单核细胞和巨噬细胞的迁移,在糖尿病肾病中发挥作用[4]。然而,在这些研究中均是在糖尿病肾病发生之前(即在蛋白尿、肾小球肥大和系膜扩张产生之前)抑制 VEGF-A,因此,目前尚不清楚该策略是否适用于已经发生糖尿病肾损害的临床患者。

本研究中,我们观察 VEGF-A 抑制剂可溶性 FLT-1(sFLT-1;也称可溶性 VEGFR-1)对 1 型糖尿病合并肾损伤小鼠的肾功能,包括蛋白尿和系膜基质扩张的治疗作用以及对血管内皮细胞活化和巨噬细胞浸润的调控,现将研究结果报道如下。

1　材料和方法

1.1　实验材料

1.1.1　实验动物

本研究选用 8 周龄雌性,SPF 级 C57BL/6J 小鼠,体重(17.8±1.1)g,共 30 只,购自湘雅医学院实验动物中心[SCXK (湘) 20180032],饲养于湘雅医学院实验动物中心[SYXK(湘)20180025],所有实验均按照中国国家“实验动物护理和使用指南”进行,全部实验内容遵循 3R 原则,经湖南省湘雅医学院伦理审批通过(2018HK0347)。小鼠置于单独通风的笼内,自由饮水和饮食。

1.1.2　细胞

HEK293 细胞系和人脐静脉内皮细胞购买自美国 ATCC 生物公司。

1.2　主要试剂与仪器

链脲佐菌素购买自美国 Sigma 生物公司;DNA 提取试剂盒 (Qiagen 公司);TRIzol (Invitrogen 公司);Tris-EDTA 缓冲液、4%甲醛固定液和无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司);30%H_2O_2 溶液 (北京中杉金桥有限公司);SYBR Green 酶(Qiagen 公司);pcDNA3.1 空载质粒(美国 invitrogen 公司);PECAM-1(美国 Santa Cruz Biotechnology);兔抗人 Wilms 瘤(WT) (美国 Santa Cruz Biotechnology);兔抗鼠Ⅳ型胶原(英国 Abcam),抗兔-HRP 偶联二抗(丹麦 DAKO 生物公司);兔抗鼠纤维连接蛋白 fibronectin (1∶2400;美国 Sigma-Aldrich);鼠抗鼠 CD68(1∶15;英国 Abcam);鼠抗鼠 VCAM-1(1∶1400;美国 BD Pharmingen);鼠抗鼠 ICAM-1(1∶200;美国 ATCC);兔抗鼠 TNF-α(1∶100;英国 Abcam);兔 VSV(1∶250;英国 Abcam)。

倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司);5%CO2 孵育箱(美国 Thermo Fisher 公司);微量孔板分光光度计(美国 BioTek 公司);低温离心机(德国 R&D 公司);URIT-150Vet 小动物尿液生化检测仪(中国常州锐品精密仪器有限公司);倒置荧光显微镜(日本 Olympus 公司);Leica CM1860 组织冷冻切片机(德国 Leica 生物公司);蛋白免疫电泳仪(德国 Bio-Rad 生物公司);实时荧光定量 PCR 仪(ABI7500)(美国应用生物系统公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　糖尿病小鼠模型

模型组采用 75 mg/kg 剂量进行腹腔注射链脲佐菌素,对照组注射相同剂量生理盐水,每隔 2 d 注射 1 次,重复 3 次构建糖尿病小鼠模型。(1)在造模后 1 周、5 周测定血糖水平,血糖水平稳定在 15 mmol/L 或更高的小鼠被认为是糖尿病造模成功。将所有造模成功的小鼠随机分为六组:5 周:健康对照组($n=5$)、糖尿病组($n=5$);15 周:健康对照组($n=5$)、糖尿病组($n=5$),对照+sFLT-1 治疗组($n=$

5),糖尿病+sFLT-1 治疗组(n=5)。(2)造模后第 5 周处死一部分动物,获取肾组织及血清标本。(3)确认小鼠在 5 周内出现肾损伤后在造模后第 6 周,将 sFLT-1 质粒通过尾静脉注射方式转染剩下的小鼠。(4)同时间隔 2 周后通过小鼠腹腔注射荧光素检测转染效率。(5)糖尿病建模后 15 周处死剩下所有小鼠,获取相应肾和血清标本进行分析。(6)分别于第 5 周和第 15 周采集点状尿液分析尿蛋白排泄率。

1.3.2 质粒构建和转染

以 pcDNA3.1 为载体构建包含小鼠 sFLT-1-VSV 以及荧光素酶基因的巨细胞病毒启动子驱动的表达质粒。质粒在大肠杆菌中扩增,经纯化后溶解在 Tris-EDTA 缓冲液中。在造模后第 6 周,将 sFLT-1-vsv 和荧光素酶的表达质粒同时转染到小鼠的两条小腿肌肉中(各 20 μg)。为了监测转染效率,注射 sFLT-1-vsv 和荧光素酶的表达质粒操作的 2 周后通过腹腔注射荧光素,生物荧光相机观察荧光素酶活性,质粒图谱见图 1。

1.3.3 血管形成实验

进一步通过血管形成实验,明确 sFLT-1 对血管结构的调控作用。将人脐静脉内皮细胞(HUVECs)接种在 Matrigel 涂层的 96 孔板上。通过脂质体 Lipo3000 在 HEK293 细胞中转染 sFLT-1 质粒和荧光素酶的表达质粒,转染 2 d 后收集细胞培养上清,将收集的细胞培养上清孵育人脐静脉内皮细胞 6 h。同时向细胞培养基中加入或不加入 VEGF-A(10 ng/mL)。计数 5 个 400 倍视野内的管状分支数目。使用 Moticam 相机进行图像拍摄。

1.3.4 尿白蛋白排泄率测定

分别于采集建模后的第 5 周健康对照组(n=5)、糖尿病组(n=5)和第 15 周的健康对照组(n=5)、糖尿病组(n=5)以及 sFLT-1 治疗组(n=5)小鼠的点状尿液,用兔抗小鼠白蛋白免疫电泳法测定尿白蛋白含量,以纯化的小鼠血清白蛋白作为对照。同时测定尿肌酐水平,计算尿液中的白蛋白/肌酐比值。

1.3.5 免疫组织化学染色

分别获取糖尿病组(n=5)及 sFLT-1 治疗组(n=5)小鼠的肾组织,进行石蜡包埋处理后切成 4 μm 的薄片。采用兔抗鼠血小板/内皮细胞粘附分子 1(PECAM-1 1∶400)、兔抗人 Wilms 瘤(WT)(1∶500)和兔抗鼠Ⅳ型胶原(1∶200)抗体进行免疫组化染色,随后使用抗兔-HRP 偶联二抗(未稀释;DAKO)进行二抗染色。此外,分别获取糖尿病组(n=5)及 sFLT-1 治疗组(n=5)小鼠的冰冻肾组织切成 4 μm 薄片。兔抗鼠纤维连接蛋白 fibronectin、鼠抗鼠 CD68、鼠抗鼠 VCAM-1、鼠抗鼠 ICAM-1、兔抗鼠 TNF-α 和兔 VSV 进行染色。

1.3.6 血管内皮细胞活性检测

HUVECs 细胞中加入 VEGF-A(20 ng/mL)孵育 2、4、6、8 h 后,加入 sFLT-1(0、10、100、1000 ng/mL)孵育 4 h,观察 sFLT-1 对 VEGF-A 诱导内皮细胞活化的影响。采用 TRIzol 从 HUVECs 中提取总 RNA,反转录成 cDNA 后,进行定量实时 PCR 检测目的基因的表达水平。涉及到的目的基因引物序列根据网络数据库 Primerbank 设计(https://pga.mgh.harvard.edu/primerbank/)如下:HPRT1:正向:5'-AGATGGTCAAGGTCGCAAGC-3';反向:5'-TCAAGGGCATATCCTACAAAAC-3';ICAM-1:正向:5'-CAGAGGTTGAACCCCACAGT-3';反向:5'-CCTC TGGCTTCGTCAGAATC-3';SELEE:正向:5'-AGCCCAGAGCCTTCAGTGTA-3';反向:5'-AACTGGGATTTGCTGTGTCC-3'。引物合成委托由生工生物有限公司进行。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析,计量资料以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。采用单因素方差分析(ANOVA)分析进行组间比较,P<0.05 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 体外转染 sFLT-1 可减少血管的形成

通过血管形成实验,我们发现:在培养基中添加 VEGFA 后可导致血管形成增加(图 2),血管分支点的数量显著增加;而从转染 sFLT-1 质粒的 HEK293 细胞获得的培养基可显著抑制 VEGF-A 诱导的管形成,提示 sFLT-1 能够抑制了 VEGF-A 诱导的血管形成。

2.2 转染 sFlt 质粒后能明显缓解糖尿病小鼠的肾损伤

测定糖尿病建模 5 周后小鼠肾损伤情况,发现:糖尿病组小鼠肾小球系膜基质扩张的两个标志物--IV 型胶原和纤维连接蛋白的蛋白表达水平均高于对照组(P<0.001)(图 3A)。糖尿病模型组小鼠会

表现出明显的蛋白尿，白蛋白/肌酐比值（ACR）为（8.53±2.59）mg/mmol，显著高于对照组（3.06±0.98）mg/mmol，$P<0.001$。并且糖尿病模型组小鼠出现肾小球肥大（$P<0.001$）（图 3B）。糖尿病小鼠和对照组小鼠的足细胞数量没有差异。

确认小鼠在 5 周内出现肾损伤后，我们在第 6 周进行 sFLT-1 转染，并在转染后 9 周对小鼠进行分析（即糖尿病建模后 15 周）。发现：sFLT-1 可以显著降低了糖尿病小鼠肾损害的所有指标，包括蛋白尿、肾小球肥大和系膜基质扩张（$P<0.05$）（图 3）。

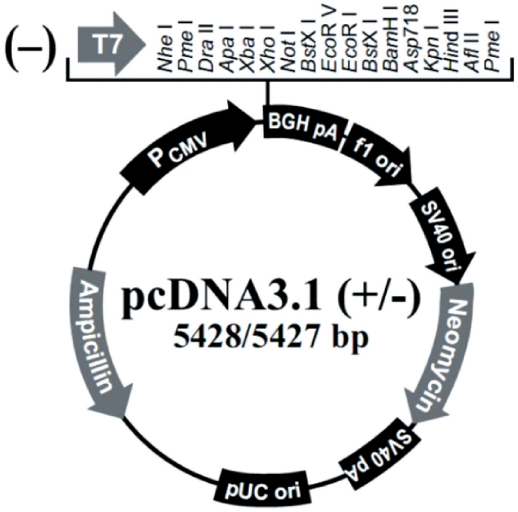
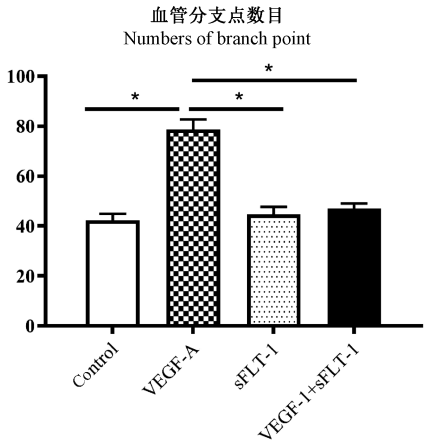


图 1　pcDNA3.1（–）空载质粒图谱（Invitrogen，Carlsbad，CA）

Figure 1　pcDNA3.1（–）empty plasmid mapping

与对照组相比，转染 sFLT-1 后的糖尿病小鼠足细胞明显减少（$P<0.05$）。并且与第 5 周的糖尿病小鼠相比，尿蛋白水平和 IV 型胶原表达水平显著降低（$P<0.05$），证实转染 sFLT-1 可以逆转肾功能的损害。

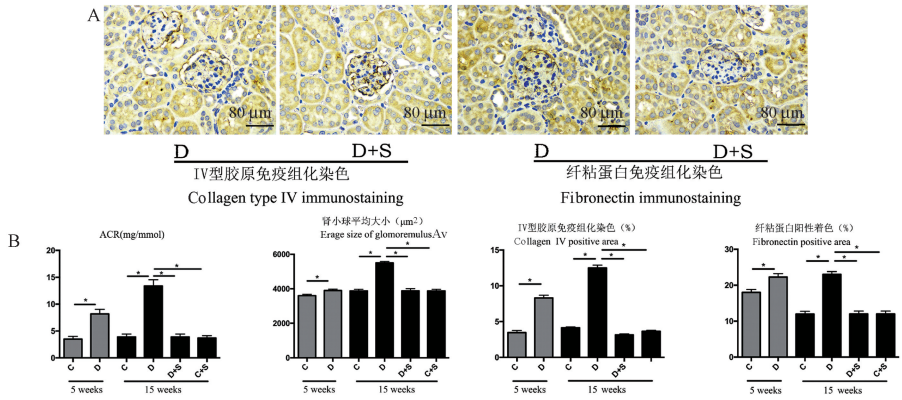


注：人脐静脉内皮细胞的培养基中添加 VEGF-A（10 ng/mL）或 sFLT-1 进行孵育后，计数血管分支点的数目。与对照组相比，$^*P<0.05$，$n=5$。

图 2　体外孵育 sFLT-1 可抑制 VEGF 诱导的微血管形成

Note. Number of vascular branching points was counted after incubation of human umbilical vein endothelial cells in medium supplemented with VEGF-A (10 ng/mL) or sFLT-1. Compared with control group, $^*P<0.05$, $n=5$.

Figure 2　Incubation of sFLT-1 *in vitro* inhibits VEGF-induced microvessel formation



注：A：第 15 周糖尿病组（D）和 sFLT-1 治疗组小鼠的 IV 型胶原及纤维连接蛋白的免疫组化染色图像；B：于 5 周和 15 周检测尿白蛋白（白蛋白/肌酐比值［ACR］）、肾小球肥大、肾小球足细胞、IV 型胶原和纤维连接蛋白。与对照组相比，$^*P<0.05$，$n=5$。

图 3　sFLT-1 可逆转糖尿病小鼠肾损害

Note. A, Immunohistochemical staining images of type IV collagen and fibronectin in diabetic group (D) and sFLT-1–treated mice at week 15. B, Detection of urinary albumin (albumin/creatinine ratio [ACR]), glomerular hypertrophy, glomerular podocytes, type IV collagen and fibronectin at 5 and 15 weeks. Compared with control group, $^*P<0.05$, $n=5$.

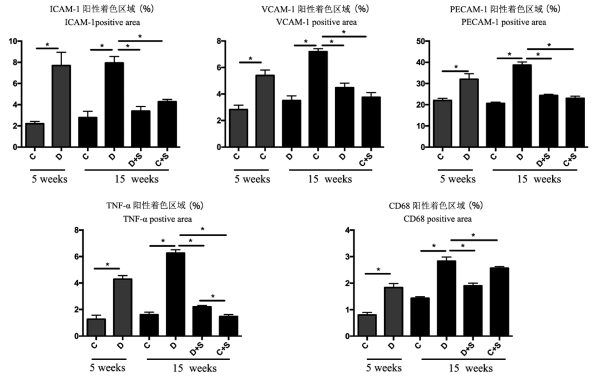
Figure 3　sFLT-1 reverses renal damage in diabetic mice

2.3 转染 sFLT-1 可降低糖尿病小鼠的内皮激活和炎症反应

与对照组相比,糖尿病小鼠肾小球内皮细胞活化明显增强,表现为 VCAM-1,ICAM-1 和 PECAM-1 表达水平升高($P<0.05$)(图 4)。并且 TNF-α 水平增加($P<0.05$),肾小球巨噬细胞数增加($P<0.05$)。在第 15 周,糖尿病组小鼠肾小球内皮细胞激活的三个标记物仍然增加明显($P<0.05$)。15 周时,糖尿病组肾小球巨噬细胞浸润增多,肾小球 TNF-α 水平升高,与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。转染能显著降低了糖尿病小鼠肾小球内皮细胞激活和炎症相关指标($P<0.05$)。与第 5 周糖尿病小鼠相比,第 15 周转染 sFLT-1 的糖尿病小鼠 ICAM-1 和 PECAM-1 水平显著降低($P<0.05$)。

2.4 sFLT-1 以剂量依赖的方式降低血管内皮生长因子-A 诱导的内皮细胞激活

我们进一步在体外实验中研究 lllt-1 对 VEGF-A 诱导的内皮细胞活化的影响。人脐静脉内皮细胞与 20 ng/mL 的 VEGF-A 共孵育后,E-选择素(SELE)和 VCAM-1 编码基因的表达显著增加,SELEE 和 VCAM-1 的 RNA 水平分别在刺激后 6 h 和 4 h 达到峰值(图 5)。同时,我们发现不同浓度



注:糖尿病建模后第 5、15 周时血管细胞黏附分子-1、细胞间黏附分子-1、血管内皮细胞黏附分子-1、肿瘤坏死因子-α 和肾小球巨噬细胞数。与对照组相比,$^*P<0.05$,$n=5$。

图 4 sFLT-1 可降低糖尿病小鼠肾小球内皮细胞活化、肾小球巨噬细胞数和肾小球炎症

Note. Vascular cell adhesion molecule-1, intercellular adhesion molecule-1, vascular endothelial cell adhesion molecule-1, tumor necrosis factor-α, and glomerular macrophage count at weeks 5 and 15 after diabetic modeling. Compared with control group, $^*P<0.05$, $n=5$.

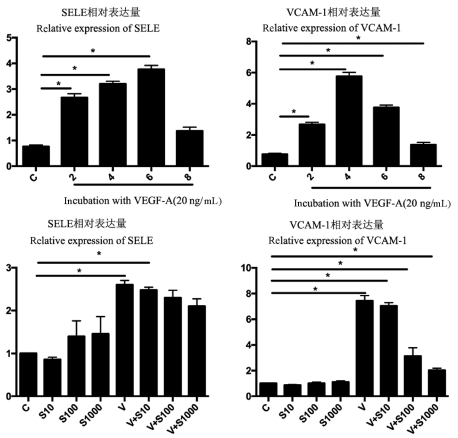
Figure 4 sFLT-1 reduces glomerular endothelial cell activation, glomerular macrophage count, and glomerular inflammation in diabetic mice

的 sFLT-1 对血管内皮细胞活化的影响,发现 sFLT-1 以剂量依赖的方式显著降低了 VEGF-A 诱导的 VCAM-1 的上调($P<0.001$),但对 VEGF-A 诱导的 SELE 上调无明显影响。

3 讨论

在本研究中,我们证实在糖尿病小鼠中转染 sFLT-1 质粒能够显著改善肾功能及蛋白尿、肌酐水平和系膜基质含量来逆转高血糖造成的肾损害。同时 sFLT-1 可以降低肾小球内皮细胞中 TNF-α 蛋白水平,抑制炎症反应和 VEGF-A 诱导的血管内皮细胞的激活。

糖尿病肾病动物模型肾小球 VEGF-A 水平升高,在糖尿病动物模型中抑制 VEGF-A 可以预防蛋白尿、肾小球肥大和足细胞丢失[5-6]。有研究报道,在足细胞中过表达 sFLT-1 可以减少糖尿病小鼠的系膜扩张和肾小球基底膜增厚,但该项研究没有阐明全身性应用 sFLT-1 对糖尿病肾病的治疗效



注:SELE 和 VCAM-1 基因在 mRNA 水平的表达量测定。同时以 20 ng/mL 浓度的 VEGF-A 与 10、100、1000 ng/mL 浓度的 sFLT-1 共同孵育 HUVECs 细胞 4 h,检测 SELEE 和 VCAM-1 在 mRNA 水平的表达量。C:未经 VEGF-A 或 sFlt-1 处理的细胞;V:经 VEGF-A 刺激但未经 sFlt-1 处理的细胞。与对照组相比,$^*P<0.05$,$n=5$。

图 5 体外实验中 sFLT-1 以剂量依赖的方式降低 VEGF-A 诱导的内皮细胞活化

Note. Expression of SELE and VCAM-1 genes at the mRNA level was determined. HUVECs cells were simultaneously incubated with VEGF-A at a concentration of 20 ng/ml and sFLT-1 at concentrations of 10, 100, and 1000 ng/mL for 4 h. SELEE and VCAM-1 expression at the mRNA level was measured. C, Cells untreated with VEGF-A or sFlt-1. V, Cells stimulated with VEGF-A but not sFlt-1-treated cells. Compared with control group, $^*P<0.05$, $n=5$.

Figure 5 *In vitro* experiments in which sFLT-1 reduced VEGF-A-induced endothelial cell activation in a dose-dependent manner

果[5-6]。相反,其他研究发现:抗 VEGF-A 治疗对早期肾病理没有作用[7-8],但糖尿病小鼠足细胞特异性 VEGF-A 基因缺失会导致蛋白尿增加和肾损伤[9]。此外,另一项研究报道用 sFLT-1 治疗糖尿病小鼠可以减少蛋白尿,但它并没有减少肾小球基质沉积,并导致肾小管损伤增加[10]。这些相互矛盾的结果可能是多种因素造成的,包括开始治疗的时间,以及使用的抗 VEGF-A 治疗的剂量和类型所导致的。并且以上研究集中于糖尿病引起的肾损害的预防而不是治疗,因此,很难估计这些治疗对已经出现肾损害的糖尿病患者的效果。因此,我们研究了 VEGF-A 抑制剂 sFLT-1 对糖尿病小鼠肾损害(包括蛋白尿和系膜基质堆积)的治疗效果。发现,尽管转染 sFLT-1 不能使糖尿病小鼠的血糖水平恢复正常,但可以逆转肾损害,体现为蛋白尿和系膜基质沉积减少了。

此外,我们还发现与 VEGF-A 共同孵育 HUVECs 可增加内皮细胞的激活,而用 sFLT-1 处理 HUVECs 可逆转这一作用。并且转染 sFLT-1 可以使糖尿病小鼠肾小球巨噬细胞数量和肿瘤坏死因子-α 水平正常化。综上所述,这些发现提示 VEGF-A 抑制剂 sFLT-1 减少了内皮激活和随后的巨噬细胞浸润。据报道,使用 sFLT-1 也可以应用于其他炎症相关疾病的治疗,包括关节炎、血管疾病、脓毒症和牛皮癣,表现为 sFLT-1 可以减少巨噬细胞的浸润和数量[11-14]。因此目前的结果表明,sFLT-1 可能是治疗糖尿病肾病以及炎症疾病的一种有价值的治疗方法。

综上所述,我们研究证实:以 sFLT-1 作为干预药物拮抗糖尿病小鼠体内 VEGF-A 水平的异常升高,可以减少内皮激活、肾小球巨噬细胞浸润和肾小球炎症,从而逆转肾损害,可能成为未来糖尿病肾病患者的可行方案。

参考文献:

[1] 桑小溪. 糖尿病肾病发病机制的研究进展 [J]. 当代医学, 2019, 25(17): 193-194.

[2] 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.

[3] 韩晨鹏, 徐清芳, 张美华, 等. 2 型糖尿病患者血清抵抗素、VEGF、糖化白蛋白联合检测在糖尿病肾病早期诊断中的价值分析 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(2): 128-131, 151.

[4] 崔艳, 李子玲. VEGF、25(OH) D3 与 2 型糖尿病肾病的研究进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(72): 147-148.

[5] Hernández-Arteaga K, Soto-Abraham V, Pérez-Navarro M, et al. Thrombotic microangiopathy in patients with diabetic nephropathy is associated with low VEGF expression and end-stage renal disease [J]. Clin Nephrol, 2018, 89(6): 429-437.

[6] 李青, 曹卫娟, 周国艳, 等. 利拉鲁肽对早期糖尿病肾病的影响及与 VEGF、VEGF-A 变化的关系 [J]. 湘南学院学报(医学版), 2017, 19(4): 6-11.

[7] 庞薇. SDF-1、TGF-β、VEGF、CTGF、FGF-2 与早期 2 型糖尿病肾病的研究及临床实用价值 [D]. 昆明: 昆明医科大学, 2017.

[8] 廖涛生, 冯涛, 刘炳贤, 等. 肾小球滤过率与血清 VEGF、胆红素水平在糖尿病肾病中的关系研究 [J]. 标记免疫分析与临床, 2017, 24(11): 1263-1268.

[9] 宋怡夏骅, 李青, 曹卫娟, 等. 2 型糖尿病肾病 VEGF 与 VEGF-A 的表达及治疗后的变化[J]. 湖南师范大学学报(医学版), 2017, 14(1): 15-18.

[10] Lin S, Teng J, Li J, et al. Association of chemerin and vascular endothelial growth factor (VEGF) with diabetic nephropathy [J]. Med Sci Monit, 2016, 22: 3209-3214.

[11] 宣国红, 单平囡, 卢志勇, 等. 外周血单个核细胞 VEGF 基因在糖尿病患者中的表达及其与糖尿病肾病进展的相关性 [J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(24): 4281-4282, 4285.

[12] Zhao C, Zhang R, Luo Y, et al. Multimodal VEGF-targeted contrast-enhanced ultrasound and photoacoustic imaging of rats with inflammatory arthritis: using Dye-VEGF-Antibody-Loaded microbubbles [J]. Ultrasound Med Biol, 2020, 46(9): 2400-2411.

[13] Malecic N, Young HS. Novel investigational vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor antagonists for psoriasis [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2016, 25(4): 455-462.

[14] Flisiak I, Zaniewski P, Rogalska-Taranta M, et al. Effect of psoriasis therapy on VEGF and its soluble receptors serum concentrations [J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2012, 26(3): 302-307.

〔收稿日期〕2020-09-08