

## • 基础研究 •

# intermedin 对肾脏缺血再灌注损伤后血管再生相关因子表达的影响

赵海红 李荣山 乔晞 赵莉 刘新艳 邵珊

**【摘要】 目的** 观察 intermedin (IMD) 对肾脏缺血再灌注损伤 (IRI) 后血管生长相关因子缺血诱导因子  $1\alpha$  (HIF- $1\alpha$ )、血管内皮生长因子 (VEGF) 和血管生成素受体 Tie-2 表达的影响。探讨 intermedin 对肾脏 IRI 的修复作用。**方法** Wistar 大鼠按随机数字表法分为 4 组: 假手术组、IRI 组、转空质粒组、转 IMD 质粒组。大鼠右肾切除后 1 周, 用超声微泡造影剂介导的基因转染方法将大鼠 IMD 真核表达质粒转染大鼠肾脏, 转染成功后夹闭左肾动脉 45 min 制作肾脏 IRI 模型。分别于再灌注 1 d、2 d、3 d、4 d、7 d 和 14 d 后留取肾组织标本, 采用 RT-PCR 检测 HIF- $1\alpha$ 、VEGF 和 Tie-2 的 mRNA 表达; Western 印迹法检测肾组织 VEGF 的蛋白表达; ELISA 检测 HIF- $1\alpha$  和 Tie-2 的蛋白表达。**结果** 与假手术组相比, IRI 组 HIF- $1\alpha$  mRNA 和蛋白质表达于再灌注后 1 d 达到高峰, 2 d 时持续高表达, 3 d 时表达开始明显下降, 4 d、7 d 和 14 d 时接近于假手术组; VEGF 和 Tie-2 表达均于再灌注后 1 d 开始增加, 2 d 达到高峰, 3 d 开始下降, 4 d、7 d 和 14 d 接近于假手术组; 转 IMD 质粒组大鼠肾组织 HIF- $1\alpha$ 、VEGF 和 Tie-2 mRNA 和蛋白质的表达于再灌注后 1 d、2 d、3 d 和 4 d 显著高于同时间点的 IRI 组大鼠 (均  $P < 0.05$ ), 并且均于再灌注后 1 d 表达达到高峰, 2~3 d 持续表达, 4 d 开始下降, 7 d 和 14 d 的表达无明显改变。上述各指标在转空质粒和 IRI 组之间的表达差异无统计学意义。**结论** 肾脏局部高表达的 IMD 不仅促进了肾脏 IRI 后血管再生相关因子 HIF- $1\alpha$ 、VEGF 和 Tie-2 的表达, 而且使表达高峰提前并延长了表达时间, 可能参与了肾脏组织的修复和再生。

**【关键词】** 再灌注损伤; 肾功能不全, 急性; 血管内皮生长因子类; intermedin

**Effect of intermedin on the expressions of angiogenesis-related genes induced by renal ischemia reperfusion injury** ZHAO Hai-hong, LI Rong-shan, QIAO Xi, ZHAO Li, LIU Xin-yan, SHAO Shan. Department of Nephrology, the Secondary Hospital, Shanxi Medical University, Shanxi Kidney Disease Institute, Taiyuan 030001, China

Corresponding author: LI Rong-shan, Email: rongshanli@yahoo.com.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of intermedin (IMD) on the expressions of angiogenesis-related genes induced by renal ischemia reperfusion injury (IRI). **Methods** Wistar rats were randomly divided into four groups: control group, IRI group, empty plasmid group and IMD plasmid group. One week after removing the right kidney, eukaryotic expression vector encoding rat IMD gene was transfected into the left kidney using an ultrasound-microbubble mediated system. Renal IRI model was induced by clamping left renal arteries for 45 minutes followed by reperfusion for 1 d, 2 d, 3 d, 4 d, 7 d and 14 d. The expressions of hypoxia inducible factor- $1\alpha$  (HIF- $1\alpha$ ), vascular endothelial growth factor (VEGF) and angiopoietin receptor Tie-2 were examined by RT-PCR and Western blotting. **Results** Compared with control group,

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2011.12.010

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30971380); 山西省科技攻关项目 (20080311061-6)

作者单位: 030001 太原, 山西医科大学第二医院肾内科 山西省肾脏病研究所

通信作者: 李荣山, Email: rongshanli@yahoo.com.cn

an increase in HIF-1 $\alpha$ , VEGF and Tie-2 was observed in the IRI group at d 1, d 2 and d 3 (all  $P<0.05$ ). The expression of HIF-1 $\alpha$  peaked at d 1 ( $P<0.05$ ), while VEGF and Tie-2 at d 2 ( $P<0.05$ ), followed by a decrease that was similar to the control levels at d 4 ( $P>0.05$ ). Compared with the IRI group, the expressions of HIF-1 $\alpha$ , VEGF and Tie-2 of IMD group were much higher and all reached the peak at d 1 ( $P<0.05$ ), maintained at d 2-4 ( $P<0.05$ ), followed by a decrease at d 7 ( $P>0.05$ ). The above indexes had no differences between empty plasmid group and IRI group ( $P>0.05$ ). **Conclusions** IMD pretreatment may play an important role in the process of repair and regeneration after renal ischemia reperfusion injury by improving the expressions of angiogenesis-related genes (HIF-1 $\alpha$ , VEGF and Tie-2) induced by renal ischemia reperfusion injury.

**【Key words】** Reperfusion injury; Renal insufficiency, acute; Vascular endothelial growth factors; Intermedin

缺血再灌注损伤 (IRI) 是急性肾损伤 (AKI) 的主要原因<sup>[1]</sup>。近年来人们研究的焦点多集中在肾小管上皮细胞的损伤和修复, 而血管的损伤和修复在缺血性 AKI 中发挥重要作用的报道较少。intermedin (IMD) 是 2004 年发现的降钙素基因相关肽 (calcitonin gene related peptide, CGRP) 的新成员, 与其同家族的肾上腺髓质素 (AM) 在结构和功能上有许多相似性, 又称为 AM2<sup>[2]</sup>。IMD 广泛分布于心脏、肾脏、肺、胃、小肠和脾脏等器官, 是重要的小分子活性肽<sup>[3]</sup>。我们前期的工作已经证实 IMD 可以通过发挥抗氧化和抗凋亡的作用减轻急性期肾损伤<sup>[4]</sup>, 但其对肾脏 IRI 的修复和再生的作用机制尚不清楚。因此, 我们通过检测 IMD 对肾脏 IRI 后血管再生相关因子表达的影响, 探讨 IMD 促进肾组织修复和再生的可能机制。

## 材料和方法

1. 主要试剂: 总 RNA 抽提试剂、引物、RT-PCR 试剂 (日本 TaKaRa), VEGF 小鼠抗大鼠单克隆抗体 (美国 Santa Cruz), 小鼠抗大鼠  $\beta$ -actin 单克隆抗体 (美国 Sigma), 辣根过氧化物酶标记的羊抗小鼠 IgG (上海碧云天), ECL 发光试剂盒 (美国 Pierce), 大鼠 HIF-1 $\alpha$ 、Tie-2 ELISA 试剂盒 (美国 R&D)。

2. 模型及其分组: 雄性 Wistar 大鼠 144 只, 体质量 200~220 g (山西医科大学实验动物中心), 按随机数字法分为 4 组: (1) 假手术组: 切除右肾, 1 周后钝性分离左肾动静脉, 但不夹闭, 关腹。(2) IRI 组: 切除右肾, 1 周后夹闭左肾动脉 45 min, 再灌注 1 d、2 d、3 d、4 d、7 d 和 14 d。(3) 转空质粒组: 采用超声微泡造影剂介导的基

因转染方法将空质粒转染入大鼠肾组织, 1 周后制作 IRI 模型。(4) 转 IMD 质粒组: 参考文献[3]采用超声微泡造影剂介导的基因转染方法将大鼠真核表达 IMD 质粒转染入大鼠肾组织, 测定转染效率, 1 周后制作 IRI 模型。于各个时间点留取肾组织标本, 保存于 -70℃ 备用。

3. RT-PCR 检测大鼠肾组织 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 和 Tie-2 mRNA 的表达: 用 Trizol 法提取各组肾组织总 RNA, 紫外分光光度仪测定总 RNA 质量, 各取 1  $\mu$ g 进行反转录, 分别进行 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 和 Tie-2 的 PCR 扩增。HIF-1 $\alpha$  的上、下游引物分别为 5'-GTGTGTGTGAATTATGTTGTAAGTGTTATT-3' 和 5'-TTAGTGAACAGCTGGGTCATTTC-3', 产物大小为 105 bp。VEGF 的上、下游引物分别为 5'-CGCAAGAAATCCCGGTTTAA-3' 和 5'-GGATCTTGGACAAACAAATGCTT-3', 产物大小为 116 bp。Tie-2 的上、下游引物分别为 5'-ATTGACGTGAAGATCAAGAATGCCACC-3' 和 5'-ATCCGGATTGTTTTTGGCCTTCCTGTT-3', 产物大小为 116 bp。以大鼠 GAPDH 为内参照, 上、下游引物分别为 5'-AACGACCCCTTCATTGAC-3' 和 5'-TCCA CGACATACTCAGCAC-3', 产物大小为 191 bp。取扩增产物 5  $\mu$ l 行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色; UVP 凝胶图像扫描系统对扩增产物条带进行吸光度 (A) 扫描。mRNA 的相对表达量以目的基因与相应 GAPDH 的吸光度比值表示。

4. Western 印迹检测肾脏 VEGF 蛋白表达: 提取肾脏总蛋白, BCA 法测定浓度, 取 100  $\mu$ g 蛋白做 SDS-PAGE 电泳、转膜, 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 分别加入一抗 (小鼠抗大鼠 VEGF 单克隆抗体, 小鼠抗大鼠  $\beta$ -actin 单克隆抗体; 1:100), 4℃ 过夜, TBST 和 TBS 洗膜, HRP 标记二抗孵育 1 h,

ECL 显影,扫描,利用图像分析系统测定相对 A 值,以目的蛋白条带与  $\beta$ -actin 蛋白条带的比值表示其相对含量。

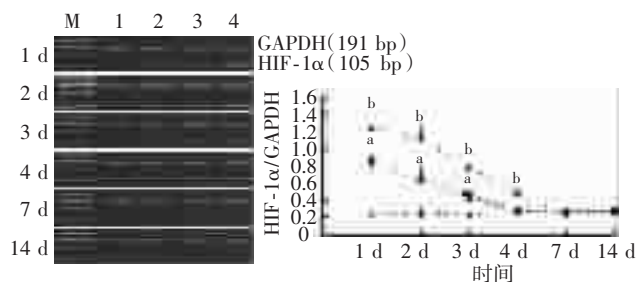
5. ELISA 检测 HIF-1 $\alpha$  和 Tie-2 蛋白质表达:肾组织加生理盐水匀浆后,参照各自试剂盒说明进行操作,使用酶标仪在 450 nm 处读取各样本吸光度值,在对数坐标纸上分别绘制 HIF-1 $\alpha$  和 Tie-2 的标准曲线,查找各样本所对应的浓度值。

6. 统计分析:采用 SPSS 13.0 软件包进行统计学处理。所有计量数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,各组间资料比较采用  $t$  检验或单因素方差分析。检验水准为  $\alpha=0.05$ 。

## 结 果

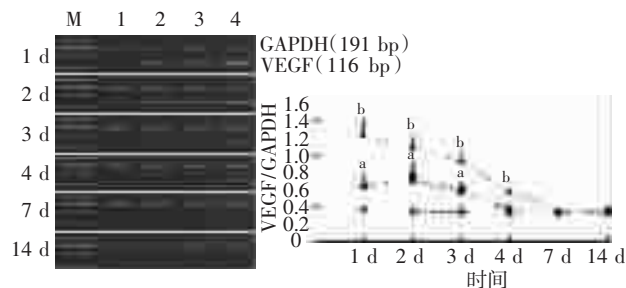
1. 大鼠肾组织 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 和 Tie-2 mRNA 的表达:与假手术组相比,IRI 组大鼠 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 和 Tie-2 mRNA 表达于再灌注后 1 d、2 d、3 d 均有明显增高(均  $P < 0.05$ ),其中 HIF-1 $\alpha$  表达于再灌注后 1 d 达到高峰,VEGF 和 Tie-2 则于再灌注后 2 d 表达达到高峰,3 者均于再灌注后 4 d、7 d、14 d 接近于假手术组(均  $P > 0.05$ )。转 IMD 质粒组大鼠肾组织 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 和 Tie-2 mRNA 表达于再灌注后 1 d、2 d、3 d 和 4 d 显著高于同时时间点的 IRI 组大鼠(均  $P < 0.05$ ),均于再灌注后 1 d 达到高峰,2~3 d 持续高表达,4 d 开始下降,7 d 和 14 d 的表达无明显改变(均  $P > 0.05$ )。转空质粒和 IRI 组之间差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。见图 1,图 2,图 3。

2. 各组大鼠肾组织 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 和 Tie-2 蛋白质的表达:IRI 后 1 d、2 d、3 d 大鼠肾组织 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 和 Tie-2 蛋白质的表达较假手术组



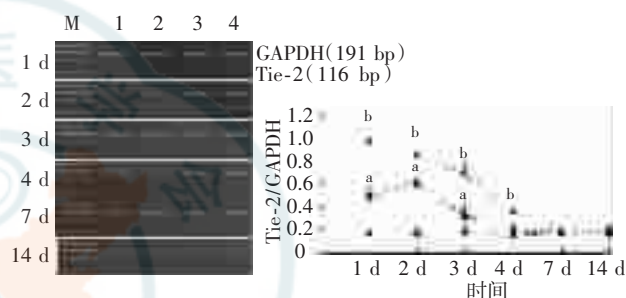
注:M:分子量标记;1:假手术组;2:IRI 组;3:转空质粒组;4:转 IMD 质粒组;与假手术组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 IRI 组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$

图 1 各组大鼠肾组织不同时间 HIF-1 $\alpha$  mRNA 的表达(RT-PCR)



注:M:分子量标记;1:假手术组;2:IRI 组;3:转空质粒组;4:转 IMD 质粒组;与假手术组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 IRI 组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$

图 2 各组大鼠肾组织不同时间 VEGF mRNA 的表达(RT-PCR)



注:M:分子量标记;1:假手术组;2:IRI 组;3:转空质粒组;4:转 IMD 质粒组;与假手术组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 IRI 组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$

图 3 各组大鼠肾组织不同时间 Tie-2 mRNA 的表达(RT-PCR)

明显升高,其中 HIF-1 $\alpha$  表达于再灌注后 1 d 达到高峰,VEGF 和 Tie-2 表达则于再灌注后 2 d 到达高峰(均  $P < 0.05$ ),均于再灌注后 4 d、7 d、14 d 恢复到假手术组水平(均  $P > 0.05$ )。与同时时间点的 IRI 组大鼠比较,再灌注后 1 d、2 d、3 d 和 4 d 转 IMD 质粒组大鼠肾组织 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 和 Tie-2 蛋白质的表达增高(均  $P < 0.05$ ),且均于再灌注后 1 d 达到高峰,2~3 d 持续高表达,4 d 表达开始下降,7 d 和 14 d 回到到对照组水平。转空质粒组和 IRI 组之间差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。见表 1,图 4,表 2。

## 讨 论

IRI 是指组织和器官在缺血后重新获得血流灌注或氧供后对组织和器官所产生的损伤作用。肾脏为高灌注器官,对 IRI 非常敏感。缺血性 AKI 的预后不仅取决于损伤的严重程度,而且取决于损伤后肾组织修复和再生的情况,减轻急性期损伤和促进肾组织修复再生均可以改善缺血性 AKI



表 1 各组大鼠肾组织不同时间 HIF-1 $\alpha$  蛋白质的表达( $\bar{x} \pm s, n=6, \text{ng/L}$ )

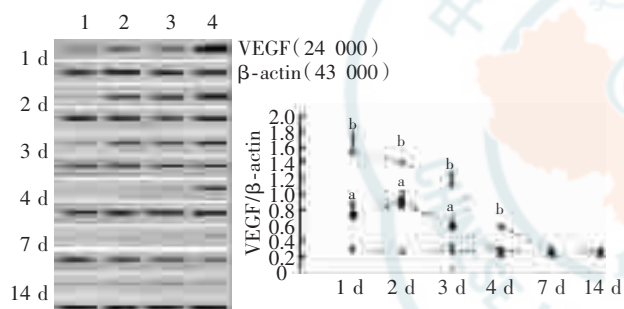
组别	1 d	2 d	3 d	4 d	7 d	14 d
假手术组	7.56 $\pm$ 1.01	7.34 $\pm$ 0.98	7.24 $\pm$ 0.86	7.87 $\pm$ 1.02	7.65 $\pm$ 0.15	7.58 $\pm$ 0.12
IRI 组	23.85 $\pm$ 5.34 <sup>a</sup>	17.27 $\pm$ 2.96 <sup>a</sup>	10.76 $\pm$ 2.31 <sup>a</sup>	8.01 $\pm$ 1.34	7.84 $\pm$ 0.85	7.62 $\pm$ 1.48
空质粒组	24.67 $\pm$ 4.56	16.53 $\pm$ 3.28	11.65 $\pm$ 1.67	7.98 $\pm$ 1.56	8.02 $\pm$ 1.03	7.48 $\pm$ 0.84
转 IMD 组	40.79 $\pm$ 8.62 <sup>b</sup>	31.88 $\pm$ 4.32 <sup>b</sup>	25.81 $\pm$ 2.03 <sup>b</sup>	12.32 $\pm$ 1.86 <sup>b</sup>	8.01 $\pm$ 1.23	7.56 $\pm$ 0.93

注:与假手术组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 IRI 组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$

表 2 各组大鼠肾组织不同时间 Tie-2 蛋白质的表达( $\bar{x} \pm s, n=6, \mu\text{g/L}$ )

组别	1 d	2 d	3 d	4 d	7 d	14 d
假手术组	0.52 $\pm$ 0.09	0.56 $\pm$ 0.12	0.53 $\pm$ 0.08	0.57 $\pm$ 0.14	0.60 $\pm$ 0.11	0.58 $\pm$ 0.12
IRI 组	1.01 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	1.39 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>	0.87 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	0.59 $\pm$ 0.08	0.61 $\pm$ 0.12	0.56 $\pm$ 0.08
空质粒组	1.12 $\pm$ 0.18	1.37 $\pm$ 0.24	0.89 $\pm$ 0.15	0.61 $\pm$ 0.12	0.58 $\pm$ 0.09	0.57 $\pm$ 0.09
转 IMD 组	1.98 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup>	1.74 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>	1.44 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	0.91 $\pm$ 0.19 <sup>b</sup>	0.59 $\pm$ 0.11	0.57 $\pm$ 0.08

注:与假手术组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 IRI 组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$



注:1:假手术组;2:IRI 组;3:转空质粒组;4:转 IMD 质粒组;与假手术组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 IRI 组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$

图 4 各组大鼠不同时间肾组织 VEGF 蛋白质的表达(Western 印迹)

的预后。越来越多的研究表明,在缺血性 AKI 进程中,血管尤其是内皮细胞的损伤发挥了重要作用<sup>[5]</sup>。

IMD 是 2004 年发现的降钙素基因相关肽超家族的新成员,已有研究证明 IMD 在生理条件下具有舒张血管、改善微循环、降低血压、降低肾血管阻力、增加肾血流量和尿量以及增加尿钠排泄等作用<sup>[6]</sup>。我们早期的研究结果已经证实肾脏 IRI 后可导致 IMD 高表达,并促进肾脏修复,但其机制尚不清楚<sup>[7-8]</sup>。因此,我们检测了 IMD 预处理对肾脏 IRI 后 1~14 d 的血管再生相关因子表达的影响,探讨 IMD 促进肾脏修复的可能机制。

组织缺氧时可以诱导 HIF-1 $\alpha$  积累增加,促进局部组织 VEGF 和 Tie-2 等下游因子的表达,增强组织对缺氧的适应和新生血管的生成<sup>[9]</sup>;

VEGF 具有增加血管通透性,促进内皮细胞增殖和血管生成的作用,对损伤后血管的再生修复有非常重要的意义,并可以通过抑制血管平滑肌细胞增殖,增加 NO 和前列环素等血管舒张因子的表达,抑制血栓形成等发挥血管保护作用<sup>[10-11]</sup>。有研究表明应用外源性 VEGF 可以加快心脏、脑、肌肉组织的 IRI 修复进程<sup>[13-14]</sup>,在肾脏 IRI 前给予外源性 VEGF 注射,可以明显减轻小管周毛细血管损伤并减轻肾脏损伤<sup>[12]</sup>。血管生成素及其受体 Tie-2 虽然不参与血管发生过程的调节,但在新生血管的形成、重塑和成熟等过程中发挥重要调节重要,其单独表达不能诱导血管生成,但在血管损伤时 Tie-2 可以辅助 VEGF 参与损伤血管的修复和再生<sup>[15]</sup>。

本研究中我们首先检测了肾脏 IRI 后 1 d、2 d、3 d、4 d、7 d 和 14 d 的 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF、Tie-2 mRNA 和蛋白水平的表达,结果显示各指标均在 IRI 后 1 d、2 d 和 3 d 呈现高表达,而 4 d、7 d 和 14 d 恢复正常, mRNA 和蛋白水平的变化相一致。同时我们还发现 HIF-1 $\alpha$  的表达高峰在 IRI 后 1 d,而 VEGF 和 Tie-2 的表达高峰则是在 IRI 后 2 d,提示 VEGF 和 Tie-2 的表达增强可能是组织对缺氧的适应性反应。我们的结果与 Villanueva 等<sup>[16]</sup>报道相一致。肾脏 IRI 后诱导表达的血管生成因子 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 和 Tie-2 可以通过改善血管通透性、刺激内皮细胞增殖和重建内皮细胞的完整性,发挥血管保护和再生作用,促进肾脏修

复。

前期研究已经证实肾脏局部高表达的 IMD 可以促进肾脏结构和功能的修复,但其机制尚不清楚。因此我们将 IMD 真核表达质粒转染到大鼠肾组织,使之在肾脏局部高表达。结果显示,肾脏 IRI 后 1~3 d, 转 IMD 质粒组大鼠肾组织血管再生相关因子(HIF-1 $\alpha$ 、VEGF、Tie-2)的表达在再灌注后 1~4 d 显著高于 IRI 组,且均在再灌注后 1 d 表达达到高峰,2~3 d 持续高表达,4 d 时表达开始下降,提示 IMD 不仅能够增加 IRI 后血管再生相关因子的表达,同时还可以使其表达高峰提前并延长表达时间。同期我们检测了血肌酐和尿素氮的变化,并做了病理切片,结果证实转 IMD 质粒组大鼠肾组织的修复均早于 IRI 组,且修复较完全,提示由 IMD 诱导的 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF、Tie-2 的高表达和持续表达可能参与了肾脏 IRI 后的再生修复过程。

综上所述,IMD 是一个对肾脏具有多重保护作用的小分子活性肽,它可以促进肾脏修复和再生,至少部分是通过增加和延长肾脏 IRI 后 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 和 Tie-2 的表达,从而发挥血管保护和再生作用,促进肾脏修复和再生。

#### 参 考 文 献

- [1] Lameire N, van Biesen W, Vanholder R. Acute renal failure. *Lancet*, 2005, 365(9457): 417-430.
- [2] Hagiwara M, Bledsoe G, Yang ZR, et al. Intermedin ameliorates vascular and renal injury by inhibition of oxidative stress. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 295: F1735-F1743.
- [3] Smith RS, Gao L, Bledsoe G, et al. Intermedin is a new angiogenic growth factor. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009, 297: H1040-H1047.
- [4] 李宏, 李荣山, 乔晞, 等. intermedin 对大鼠肾脏缺血再灌注损伤的保护作用及其机制. *中华肾脏病杂志*, 2010, 26: 614-618.
- [5] Basile DP, Fredrich K, Chelladurai B, et al. Renal ischemia reperfusion inhibits VEGF expression and induces ADAMTS-1, a novel VEGF inhibitor. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 294: F928-F936.
- [6] Jolly L, March JE, Kemp PA, et al. Mechanisms involved in the regional haemodynamic effects of intermedin (adrenomedullin2) compared with adrenomedullin in conscious rats. *Br J Pharmacol*, 2009, 157: 1502-1513.
- [7] 于桂花, 李荣山, 乔晞, 等. 大鼠肾脏缺血再灌注损伤中垂体中叶素及降钙素受体样受体的表达. *中华肾脏病杂志*, 2009, 25: 387-391.
- [8] 寇敏, 李荣山, 周芸, 等. 大鼠肾脏缺血再灌注损伤中 Intermedin 及其受体表达的变化. *医学研究杂志*, 2009, 38: 25-28.
- [9] Hill P, Shukla D, Tran MG, et al. Inhibition of hypoxia induce factor hydroxylases protect against renal ischemia-reperfusion injury. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19: 39-46.
- [10] Foster RR. The importance of cellular VEGF bioactivity in the development of glomerular disease. *Nephron Exp Nephrol*, 2009, 113: e8-e15.
- [11] Vannay A, Fekete A, Adori C, et al. Dicerence of renal vascular endothelial growth factor mRNA expression and protein level in post-ischaemic rat kidneys. *Exp Physiol*. 2004, 89: 435-444.
- [12] Leonard EC, Friedrich JL, Basile DP. VEGF-121 preserves renal microvessel structure and ameliorates secondary renal disease following acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 295: F1648-F1657.
- [13] Li Z, Wang R, Li S, et al. Intraventricular pre-treatment with rAAV-VEGF induces intracranial hypertension and aggravates ischemic injury at the early stage of transient focal cerebral ischemia in rats. *Neurol Res*, 2008, 30: 868-875.
- [14] Miki Y, Nonoguchi N, Ikeda N. Vascular endothelial growth factor gene-transferred bone marrow stromal cells engineered with a herpes simplex virus typer 1 vector can improve neurological deficits and reduce infarction volume in rat brain ischemia. *Neurosurgery*, 2007, 61: 586-594.
- [15] Hansen TM, Singh H, Tahir TA, et al. Effect of angiotensin-1 and -2 on the receptor tyrosine kinase Tie2 are differentially regulated at the endothelial cell surface. *Cell Signal*, 2010, 22: 527-532.
- [16] Villanueva S, Cespedes C, Vio CP. Ischemic acute renal failure induces the expression of a wide range of nephrogenic proteins. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2006, 290: R861-R870.

(收稿日期:2011-01-19)

(本文编辑:杨克魁)