

# VEGF在糖尿病视网膜病变发病机制中作用的研究新进展

谢秀雯<sup>1</sup>, 周建强<sup>1</sup>, 崔红平<sup>2</sup>

作者单位:<sup>1</sup>(213000)中国江苏省常州市第三人民医院眼科;  
<sup>2</sup>(200120)中国上海市,同济大学附属东方医院眼科

作者简介:谢秀雯, 硕士, 住院医师, 研究方向: 眼表疾病、眼底病。

通讯作者: 崔红平, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 眼表疾病、眼底病。hpcuistar@gmail.com

收稿日期: 2010-12-01 修回日期: 2010-12-21

## Latest progress of VEGF in the pathogenesis of diabetic retinopathy

Xiu-Wen Xie<sup>1</sup>, Jian-Qiang Zhou<sup>1</sup>, Hong-Ping Cui<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, the Third People's Hospital of Changzhou, Changzhou 213000, Jiangsu Province, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, the Affiliated East Hospital of Tongji University, Shanghai 200120, China

**Correspondence to:** Hong-Ping Cui, Department of Ophthalmology, the Affiliated East Hospital of Tongji University, Shanghai 200120, China. hpcuistar@gmail.com

Received: 2010-12-01 Accepted: 2010-12-21

### Abstract

• Diabetic retinopathy is one of the most frequent and the most severe microvascular complications of diabetes mellitus, the fundamental pathology characteristic of DR is breakdown of the blood-retinal barrier and neovascularization. In the later stage of DR, the formation of the epiretinal membrane, which may tractates the retina and produce detachment of the retina, results in progressive deterioration of vision. The pathogenesis is very complex and has not been elucidated completely. Retinal neovascularization results from both increasing of vascular stimulating factor and reducing of vascular inhibiting factor. VEGF, as an important factor promoting angiogenesis, was widely concerned on the pathogenesis of research and treatment of DR recent years. This article aims to explain the effect of VEGF in the pathogenesis of DR.

• **KEYWORDS:** diabetic retinopathy; vascular endothelial growth factor; angiogenesis; pathogenesis

Xie XW, Zhou JQ, Cui HP. Latest progress of VEGF in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011;11(2):282-285

### 摘要

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病最常见的微血管并发症之一,其基本病理改变是血-视网膜

屏障(blood-retinal barrier, BRB)破坏、新生血管形成,后期新生血管膜收缩牵拉引起视网膜脱离。DR的发病机制十分复杂,至今尚未完全阐明。任何病理改变在本质上均是体内动态平衡的失调,新生血管的形成亦然,血管刺激因素增强和(或)抑制因素减少使两者平衡失调即所谓的“血管生成开关”形成。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是体内促新生血管形成的主要因子之一,近年来在DR的发病机制以及治疗的研究中广受关注。我们旨在阐述VEGF在DR发病机制中的作用。

**关键词:** 糖尿病视网膜病变; 血管内皮生长因子; 新生血管; 发病机制

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2011.02.26

谢秀雯,周建强,崔红平. VEGF在糖尿病视网膜病变发病机制中作用的研究新进展. 国际眼科杂志 2011;11(2):282-285

### 0 引言

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR),是糖尿病最常见的并发症之一,在发达国家是最主要致盲性眼病。大约75%的糖尿病患者,在发病超过15a后会出现不同程度的DR体征,其中超过10%患者会有视力下降,在美国,因DR致盲的比率占法定盲人比率的8%。

### 1 DR的临床特点

DR是一组以视网膜缺血为特征的慢性进展性疾病<sup>[1]</sup>,分为背景期、非增生期和增生期。最初的病理损伤源于氧化应激损伤和亚临床的细胞炎症反应导致一系列的血管内皮损伤,如白细胞黏附、血小板聚集、血液流变学变化、周细胞丢失、基底膜变薄等。视网膜毛细血管阻塞导致局部缺氧,促新生血管因子产生增多,其中包括血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)。VEGF和其他新生血管因子会降低血管内皮细胞间的紧密连接蛋白表达,使血管通透性增加。但是VEGF除了有促进新生血管形成的作用之外,还能抑制内皮细胞的凋亡,这点对维持正常的血管功能异常重要,因为内皮细胞的退化会导致毛细血管闭锁、无灌注的透明血管形成。

随着DR的进展,眼底镜检查可见如下的眼底血管变化:微血管瘤形成、点状出血、棉绒斑、静脉串珠样改变;随着血管渗透的增加,过多的血液和组织液在视网膜组织间堆积形成渗出性潴留,以上这些特征性发生在非增生性DR阶段。组织间液过多造成的组织肿胀会改变视网膜神经元和胶质细胞内代谢过程和离子通量,当水肿影响黄斑水肿可导致神经元的扭曲,导致视力下降。糖尿病黄斑水肿在2型糖尿病患者中更为常见,发病率为7.5%,在1型糖尿病患者中发病率为5.9%<sup>[2]</sup>。一些非增生性DR患者最终将发展到增生性DR(PDR)阶段,PDR以视网膜表面新生血管为特征,这种新生的血管因缺少正常的血管结

构,脆弱易于出血,一旦出血,大量的血液涌入神经视网膜层和玻璃体腔会严重损害视力,随着病情进展这种贯穿玻璃体腔到视网膜表面的病理性的血管会瘢痕化收缩,如果不予以治疗,这种收缩会导致牵拉性的视网膜脱离,最终导致患者失明。微血管的病变在 DR 的发病过程中发挥着举足轻重的作用,但是也有越来越多的实验表明在 DR 的早期,神经细胞的功能就已经发生显著性的改变<sup>[3]</sup>。临床研究显示,电生理的改变、色觉敏感性的降低、对比敏感度的下降,这些变化都在临床 DR 的可见体征之前出现<sup>[4]</sup>。有研究也发现糖尿病大鼠模型在发病 1mo 后就出现了神经元凋亡,Ins2Akita 自发糖尿病小鼠模型在患病早期就有凋亡标志物 caspase 3 活性的升高<sup>[5]</sup>。

## 2 DR 与 VEGF 表达增加

多个临床中心跟踪试验表明,无论是 1 型还是 2 型糖尿病患者,早期给予胰岛素严格控制血糖可以大大地降低包括 DR 在内的糖尿病并发症的发病风险,不但可以延迟 DR 的发病时间,而且可以延缓 DR 的疾病进展过程;胰岛素的治疗不但可以控制血糖,还能有效地抑制炎症因子的产生以及活化,因此,在 DR 是一组在高血糖和多种因子共同参与的一组并发症。

目前大量的临床和动物实验结果都强有力地支持血液和组织中的高糖刺激了促新血管新生因子大量产生是 DR 发生的一个重要机制,在这一过程中,有很多生长因子和细胞因子参与,其中 VEGF 被认为是最主要的因子之一。高血糖、氧化应激、缺氧和炎症反应从不同的方面都会刺激 VEGF 的生成表达。VEGF 在组织细胞内通过和 VEGF 受体 2(VEGFR2)结合而发挥作用,实验证实,在糖尿病的患者中,VEGF2 的表达也显著升高<sup>[6,7]</sup>。

**2.1 炎症反应与 VEGF 的表达** 研究表明,增生性 DR 新生血管的形成往往是继发于视网膜毛细血管损伤和渗透性增加之后的一个病理过程<sup>[8]</sup>,在整个过程中都始终存在 VEGF 升高<sup>[9]</sup>。虽然啮齿类动物模型不能模拟出新生血管形成这一过程,但是很多的早期血管改变还是可以观察到的,如:血管通透性增加、微血管瘤形成、白细胞黏附等,以及晚期通过上调 ICAM-1 等炎症介质的表达使白细胞黏附增加<sup>[10]</sup>。动物实验表明 VEGF 需要 ICAM-1 诱导早期血管改变<sup>[11]</sup>,编码白细胞黏附的分子 CD18 和 ICAM-1 基因缺陷的小鼠,视网膜血管白细胞附壁情况明显减轻,血管内皮细胞损伤情况明显缓解。这些数据都表明,慢性低度炎症是 DR 血管损伤的一个主要原因。

在对人群的大样本调查研究结果表明糖尿病相关性血管并发症确实存在炎症因子的标志物表达上升<sup>[12]</sup>。研究表明,慢性炎症反应不仅仅在糖尿病的发生发展过程中始终存在,在肥胖、高血压、高血脂、动脉粥样硬化等疾病中也是存在的<sup>[13]</sup>。一项基于 93 例 DR 患者的研究显示,疾病的严重程度和血液循环中的炎症因子血浆中的甘油三酯、胆固醇和糖化血红蛋白(HA1c)水平呈正相关。这些实验结果进一步支持了 DR 发病机制中的炎症假说。动物实验和细胞培养也提示 DR 中血管的炎症反应促进了 VEG 的表达<sup>[14]</sup>。

**2.2 氧化应激作用与 VEGF 的表达** 有实验研究表明,降低体内的氧化应激产物(ROS)可以避免 DR 的血管损伤,这一结果支持了氧化应激反应在 DR 中发挥重要作用这一假说<sup>[15]</sup>。高血糖可以通过多条通路诱导体内氧化活性产物的增加,包括葡萄糖的自发氧化、终末糖基化产物的生成增多、谷胱甘肽活性的降低、通过 PKC 通路激活

NAD(P)H 氧化酶等<sup>[16,17]</sup>,这些都是线粒体呼吸链上超氧化物过度表达的结果。在糖尿病动物模型中,线粒体源性的活性氧在氧化应激反应中发挥非常重要的作用,但也有实验也表明,足够水平的 NADPH 氧化酶的活化对维持一些特定的细胞的信息转导和功能是非常必要的<sup>[18]</sup>。在糖尿病患者体内、实验动物的视网膜以及血管组织内,高糖环境下培养的内皮细胞中,增强的 NAD(P)H 氧化酶的活性是重要的活性氧的来源<sup>[19]</sup>。用小鼠诱导的缺血性视网膜病变动物模型显示 NAD(P)H 氧化酶诱导产生的超氧化物在促 VEGF 表达和诱导新生血管形成上起到非常重要的作用<sup>[20]</sup>。在 DR 中,活化的 NAD(P)H 氧化酶和高糖介导的 VEGF 高表达相关。最新研究表明,增强的 NAD(P)H 氧化酶表达、NOX2 催化亚基(也曾称为 gp91phox)和 DR 的早期症状相关,包括增加活性氧的生成和 VEGF 的表达,破坏眼部血-视网膜屏障(BRB)。研究还发现抑制 NAD(P)H 氧化酶或者 NOX2 基因敲除可以阻碍白细胞附壁以及 BRB 屏障的破坏,无论是体外还是体内的高糖环境,氧化应激产物的堆积都与 VEGF 的高表达相关<sup>[21]</sup>。目前,氧化应激是如何促使 VEGF 表达上调的机制尚不清楚,但是在大鼠体内抑制一氧化氮合酶可以阻止 DR 症状的发生<sup>[22]</sup>,这意味着在这一病理过程中,活性氮的产物也起到了重要的作用,显示了超氧化物在 DR 中发挥重要作用。超氧化物是 NO 与邻近组织中弥散的超氧化物快速反应形成复合物,是一类高活性的自由基,通过酪氨酸硝基化改变蛋白质的功能。体外高糖环境下培养的内皮细胞显示,高糖诱导的超氧化物形成会增加细胞间钙离子的表达量从而激活内皮一氧化氮合酶(eNOS)形成 NO,高糖也使 eNOS 诱导产生的 NO 与产生的超氧化物不匹配,导致体内过氧亚硝基产物的过剩。研究表明 DR 患者以及糖尿病动物模型中,视网膜内的超氮化合物的标记物硝基酪氨酸的水平与此结果是一致的,说明超氮化合物在 DR 的发展过程中确实发挥了很重要的作用<sup>[23]</sup>。动物实验和组织细胞培养证实过量的超氮化合物形成与糖尿病高糖诱导 VEGF 表达以及血管通透性的增加直接相关<sup>[24]</sup>。这个循环通路可以通过抑制超氧和超氮化合物的水平或者 NOS 的活性被打破。这一结论也进一步在体外培养的血管内皮细胞系中得到了证实,细胞在超氮化合物的作用下促使 VEGF 表达上调<sup>[25]</sup>。

**2.3 VEGF 与 DR** 临床样本研究表明眼内 VEGF 水平和 PDR 有直接显著的关系。VEGF 因为有促血管渗透性增加的作用被认为在糖尿病黄斑水肿(DME)中起到非常重要的作用。糖尿病动物模型中视网膜血管的改变类似于人类背景期 DR 的血管变化(非增生性 DR 的前期),其变化与 VEGF 和 VEGFR2 的表达上调相关。在 DR 患者和动物模型中,抑制 VEGF 的功能可以抑制血管渗透性增加,说明在这一病理过程中 VEGF 发挥直接的作用<sup>[26]</sup>。VEGF 受体在视网膜神经元、胶质细胞、大胶质细胞、RPE 细胞有表达<sup>[27]</sup>,VEGF 在视网膜的发育过程中发挥非常重要的作用,在缺血-再灌注损伤中也能有效抑制视网膜神经元的凋亡<sup>[28]</sup>。如前所述,糖尿病/高血糖刺激 VEGF 高表达,抑制 VEGF 功能的因子都可以阻止糖尿病诱导的视网膜损伤。既然 VEGF 在支持神经元细胞和维持内皮完整性的方面有很重要的作用,所以拮抗 VEGF 的药物就有很多副作用。更明确地了解和 VEGF 病理性表达增加相关的分子事件,是开发治疗 DR 中抗 VEGF 新药的最有效工具。

**3 DR 中 VEGF 基因表达的调控** VEGF 蛋白的表达是和 VEGF 基因表达紧密相关的, VEGF 的过表达在很多疾病中对疾病的发展都有深远的影响。而 VEGF 的生物活性和表达水平是紧密相关的。在 DR 中, 很多因子致使 VEGF 过表达, 包括组织缺氧、生长因子以及炎症因子释放、活性氧产物的增加。需要指出的是, 我们目前尚不清楚糖尿病是如何改变 VEGF 基因表达的。接下来的部分我们试图从基因的表达和调节环节阐述 VEGF 上调的原因。

**3.1 VEGF 表达的转录调控** 组织缺氧是研究最广泛的调节 VEGF 基因转录的因素。研究显示, 在发病 5mo 的糖尿病小鼠模型中, 通过对缺氧标志物 pimonidazole 的定位和定量分析, 结果显示视网膜毛细血管的密度降低和视网膜缺氧相关<sup>[29]</sup>, 但是在这一过程中, 缺氧是如何促 VEGF 过表达的始动机制尚不清楚。因为在糖尿病发病 1wk 后就可以观察到视网膜组织中 VEGF 的表达上调, 这一现象远远早于视网膜血管内皮细胞丢失引起血管闭塞而引起组织缺氧。早期 VEGF 的高表达可能和炎症、氧化还原反应的刺激相关。另一方面, 高糖诱导的白细胞黏附导致可逆视网膜毛细血管阻塞可能引起多灶性的短暂性缺氧<sup>[30]</sup>。如前所述, 缺氧条件下 VEGF 基因的转录后调节主要归因于低氧诱导因子 1 (HIF-1) 的活性, 目前我们对糖尿病条件下 HIF-1a 如何在视网膜中诱导 VEGF 高表达知之甚少, 即使在糖尿病发病早期就给予密集的胰岛素治疗的动物模型中, HIF-1a 仍是破坏眼部 BRB 的一个重要原因<sup>[31]</sup>, 在 DR 中, 除了缺氧, 还有其他一些因素会导致 VEGF 过表达, 包括 TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IGF-1, AGEs, ROS, 这些因子在糖尿病视网膜中都存在高表达, 但是机制尚不清楚, 目前认为, ROS 是通过上调信号转导和转录激活因子 3 (STAT3) 的活性促进 VEGF 的转录的, STAT3 通过促 VEGF 表达诱导新生血管形成<sup>[32]</sup>。另外 VEGF 诱导 STAT3 活化并且促其在 RECs 自分泌增加<sup>[33]</sup>, 且 STAT3 是在炎症反应的通路上被活化的<sup>[34]</sup>。重要的是, STAT3 被认为通过多条信号通路活化 HIF-1a 从而影响 VEGF 表达的<sup>[35]</sup>。糖尿病或高糖条件下, STAT3 的活化发生在包括 NAD(P)H 氧化酶激活和超氧化物形成的氧化还原反应过程中。这些结果显示, 氧化还原反应激活 STAT3 可能是机体对炎症和缺氧环境做出的相应反应, 从而诱导 VEGF 的表达, 在糖尿病视网膜中发挥重要作用。另外, HIF-1, STAT3 和其他一些转录因子、共激活因子也可能参与调节 VEGF 表达, 包括 sp1<sup>[36]</sup> 和 AP-1<sup>[37]</sup>, 这些因子独自或者和其他转录调节因子相互协同发挥作用。缺氧、氧化应激、细胞因子等都能增强这些转录因子的活性, 意味着在糖尿病视网膜组织中他们存在着潜在的促 VEGF 表达的作用。

**3.2 VEGF 的转录后调节** 在正常和病理条件下, VEGF 基因转录后调节的重要性已经明确。但是, 对于高糖环境是否影响以及如何影响 VEGF 基因转录后调节, 我们知之甚少。尤其是转录后调节机制是否参与了高糖诱导的 VEGF 表达增加, 这一疑问尚待明确。可能两种机制参与了这一过程, 一个是 mRNA 的稳定性增加; 另外一个激活了多途径的内部核糖体进入位点 (IRES), 在 DR 中, 依赖 IRES 生产的 VEGF 选择性剪接的异构体也可能在 DR 的病理改变中发挥了作用。

**3.3 VEGF 的选择性剪切** 不同的 VEGF 剪接体在 DR 中发挥不同的作用, VEGF165 是诱导视网膜血管炎症的主

要因子, 同时也参与抑止神经元凋亡。VEGF121 参与介导抑止神经元凋亡, 但是不参与炎症反应过程。研究发现, 在 DR 患者的玻璃体内, VEGF 的负显性剪接体 VEGF165b 水平有所降低, 这表明在 DR 的发病过程中可能存在 VEGF165 和 VEGF165b 间的分子转换<sup>[38]</sup>。更多的调节 VEGF mRNA 剪接的分子生物学机制尚待研究, 以明确在糖尿病过程中这一过程发生了怎样的变化。

**3.4 VEGF 在血管内皮的自分泌表达** 一直以来人们都认为 VEGF 是通过旁分泌途径表达的, 但是在缺氧、脑肿瘤、细胞间的紧密连接被破坏、体外终末糖基化产物 (AGEs) 刺激诱导新生血管形成等环境下, 均可刺激微血管内皮系统自分泌 VEGF<sup>[39]</sup>。小鼠体内的研究也表明, 在中枢神经系统的发育过程中, 神经元的 VEGF 通过自分泌和旁分泌两条途径维持神经元和和内皮细胞功能的<sup>[40]</sup>, 缺氧诱导 MT1-MMP 的表达是通过自分泌的形式介导视网膜胶质细胞的 VEGF 的表达<sup>[41]</sup>。在糖尿病视网膜中 VEGF 自分泌的机制尚不清楚, 但是在体外培养的血管内皮细胞中, 高糖和氧化应激产物的增加似乎都是诱导 VEGF 自分泌的因素<sup>[42]</sup>。而 VEGF 自分泌诱发的 VEGF 过表达是糖尿病视网膜微血管病理性增生的原因之一。高糖和氧化应激可能抑制了正常情况下抑制 VEGF 表达蛋白的生成, 而导致 VEGF 自分泌增加。在 DR 患者的体内, VEGF 水平的增高和内皮他丁 (endostatin)、内皮源性色素上皮生长因子 (PEDF) 水平降低直接相关, 进一步支持了这一假说<sup>[43]</sup>。并且动物实验中, 给予 endostatin 和 PEDF 治疗可以降低 VEGF 水平, 抑制 AGEs 诱导的视网膜通透性增加<sup>[44]</sup>。

#### 参考文献

- 1 Frank RN. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med* 2004;350(1):48-58
- 2 Hirai FE, Knudtson MD, Klein BE, et al. Clinically significant macular edema and survival in type 1 and type 2 diabetes. *Am J Ophthalmol* 2008;145(4):700-706
- 3 Antonetti DA, Barber AJ, Bronson SK, et al. Diabetic retinopathy: seeing beyond glucose-induced microvascular disease. *Diabetes* 2006;55(9):2401-2411
- 4 Han Y, Adams AJ, Bearnse MA, et al. Multifocal electroretinogram and short-wavelength automated perimetry measures in diabetic eyes with little or no retinopathy. *Arch Ophthalmol* 2004;122(12):1809-1815
- 5 Barber AJ, Antonetti DA, Kern TS, et al. The Ins2Akita mouse as a model of early retinal complications in diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(6):2210-2218
- 6 Gilbert RE, Vranes D, Berka JL, et al. Vascular endothelial growth factor and its receptors in control and diabetic rat eyes. *Lab Invest* 1998;78(8):1017-1027
- 7 Hammes HP, Lin J, Bretzel RG, et al. Upregulation of the vascular endothelial growth factor/vascular endothelial growth factor receptor system in experimental background diabetic retinopathy of the rat. *Diabetes* 1998;47(3):401-406
- 8 Aiello LP, Gardner TW, King GL, et al. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 1998;21(1):143-156
- 9 Caldwell RB, Bartoli M, Behzadian MA, et al. Vascular endothelial growth factor and diabetic retinopathy: role of oxidative stress. *Curr Drug Targets* 2005;6(4):511-524
- 10 Joussen AM, Poulaki VL, Koizumi K, et al. A central role for inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *FASEB J* 2004;18(12):1450-1452
- 11 Lu M, Perez VL, Ma N, et al. VEGF increases retinal vascular ICAM-1

- expression *in vivo*. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(8):1808-1812
- 12 Alexandraki K, Piperi C, Kalofoutis C, *et al*. Inflammatory process in type 2 diabetes; the role of cytokines. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1084:89-117
- 13 Meleth AD, Agrn E, Chan CC, *et al*. Serum inflammatory markers in diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46 ( 11 ): 4295-4301
- 14 Joussen AM, Poulaki V, Qin W, *et al*. Retinal vascular endothelial growth factor induces intercellular adhesion molecule-1 and endothelial nitric oxide synthase expression and initiates early diabetic retinal leukocyte adhesion *in vivo*. *Am J Pathol* 2002;160(2):501-509
- 15 Kanwar M, Chan PS, Kern TS, *et al*. Oxidative damage in the retinal mitochondria of diabetic mice: possible protection by superoxide dismutase. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(8):3805-3811
- 16 Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications; a unifying mechanism. *Diabetes* 2005;54(6):1615-1625
- 17 Jain SK. Superoxide dismutase overexpression and cellular oxidative damage in diabetes. A commentary on "Overexpression of mitochondrial superoxide dismutase in mice protects the retina from diabetes-induced oxidative stress". *Free Radic Biol Med* 2006;41(8):1187-1190
- 18 Kimura S, Zhang GX, Nishiyama A, *et al*. Role of NAD(P)H oxidase-and mitochondriaderived reactive oxygen species in cardioprotection of ischemic reperfusion injury by angiotensin II. *Hypertension* 2005;45(5):860-866
- 19 Lee SB, Bae IH, Bae YS, *et al*. Link between mitochondria and NADPH oxidase 1 isozyme for the sustained production of reactive oxygen species and cell death. *J Biol Chem* 2006;281(47):36228-36235
- 20 Al-Shabrawey M, Rojas M, Sanders T, *et al*. Role of NADPH oxidase in retinal vascular inflammation. *Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(7):3239-3244
- 21 Al-Shabrawey M, Bartoli M, El-Remessy AB, *et al*. Inhibition of NAD(P)H oxidase activity blocks vascular endothelial growth factor overexpression and neovascularization during ischemic retinopathy. *Am J Pathol* 2005;167(2):599-607
- 22 El-Remessy AB, Abou-Mohamed G, Caldwell RW, *et al*. High glucose-induced tyrosine nitration in endothelial cells: role of eNOS uncoupling and aldose reductase activation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(7):3135-3143
- 23 El-Remessy AB, Behzadian MA, Abou-Mohamed G, *et al*. Experimental diabetes causes breakdown of the blood-retina barrier by a mechanism involving tyrosine nitration and increases in expression of vascular endothelial growth factor and urokinase plasminogen activator receptor. *Am J Pathol* 2003;162(6):1995-2004
- 24 Obrosova IG, Pacher P, Szab C, *et al*. Aldose reductase inhibition counteracts oxidative-nitrosative stress and poly(ADP-ribose) polymerase activation in tissue sites for diabetes complications. *Diabetes* 2005;54(1):234-242
- 25 El-Remessy AB, Al-Shabrawey M, Khalifa Y, *et al*. Neuroprotective and blood-retinal barrier-preserving effects of cannabidiol in experimental diabetes. *Am J Pathol* 2006;168(1):235-244
- 26 Platt DH, Bartoli M, El-Remessy AB, *et al*. Peroxynitrite increases VEGF expression in vascular endothelial cells via STAT3. *Free Radic Biol Med* 2005;39(10):1353-1361
- 27 Hollborn M, Tenckhoff S, Seifert M, *et al*. Human retinal epithelium produces and responds to placenta growth factor. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006;244(6):732-741
- 28 Nishijima K, Ng YS, Zhong L, *et al*. Vascular endothelial growth factor-A is a survival factor for retinal neurons and a critical neuroprotectant during the adaptive response to ischemic injury. *Am J Pathol* 2007;171(1):53-67
- 29 de Gooyer TE, Stevenson KA, Humphries P, *et al*. Retinopathy is reduced during experimental diabetes in a mouse model of outer retinal degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(12):5561-5568
- 30 Joussen AM, Poulaki V, Le ML, *et al*. A central role for inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *FASEB J* 2004;18(12):1450-1452
- 31 Poulaki V, Qin W, Joussen AM, *et al*. Acute intensive insulin therapy exacerbates diabetic blood-retinal barrier breakdown via hypoxia-inducible factor-1alpha and VEGF. *J Clin Invest* 2002;109(6):805-815
- 32 Chen Z, Han ZC. STAT3: a critical transcription activator in angiogenesis. *Med Res Rev* 2008;28(2):185-200
- 33 Bartoli M, Platt D, Lemtalsi T, *et al*. VEGF differentially activates STAT3 in microvascular endothelial cells. *FASEB J* 2003;17(11):1562-1564
- 34 Hirano T, Ishihara K, Hibi M. Roles of STAT3 in mediating the cell growth, differentiation and survival signals relayed through the IL-6 family of cytokine receptors. *Oncogene* 2000;19(21):2548-2556
- 35 Xu Q, Briggs J, Park S, *et al*. Targeting Stat3 blocks both HIF-1 and VEGF expression induced by multiple oncogenic growth signaling pathways. *Oncogene* 2005;24(36):5552-5560
- 36 Damert A, Ikeda E, Risau W. Constitutive Sp1 activity is essential for differential constitutive expression of vascular endothelial growth factor in human pancreatic adenocarcinoma. *Biochem J* 1997;327(Pt 2):419-423
- 37 Damert A, Ikeda E, Risau W. Activator-protein-1 binding potentiates the hypoxia-induciblefactor-1-mediated hypoxia-induced transcriptional activation of vascular-endothelial growth factor expression in C6 glioma cells. *Cancer Res* 2001;61(10):4143-4154
- 38 Perrin RM, Konopatskaya O, Qiu Y, *et al*. Diabetic retinopathy is associated with a switch in splicing from anti-to pro-angiogenic isoforms of vascular endothelial growth factor. *Diabetologia* 2005; 48 ( 11 ): 2422-2427
- 39 Schaefer LK, Ren Z, Fuller GN, *et al*. Constitutive activation of Stat3alpha in brain tumors; localization to tumor endothelial cells and activation by the endothelial tyrosine kinase receptor (VEGFR-2). *Oncogene* 2002;21(13):2058-2065
- 40 Ogunshola OO, Antic A, Donoghue MJ, *et al*. Paracrine and autocrine functions of neuronal vascular endothelial growth factor (VEGF) in the central nervous system. *J Biol Chem* 2002;277(13):11410-11415
- 41 Noda K, Ishida S, Shinoda H, *et al*. Hypoxia induces the expression of membrane-type 1 matrix metalloproteinase in retinal glial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(10):3817-3824
- 42 Bartoli M, Platt D, Lemtalsi T, *et al*. VEGF differentially activates STAT3 in microvascular endothelial cells. *FASEB J* 2003;17(11):1562-1564
- 43 Boehm BO, Lang G, Volpert O, *et al*. Low content of the natural ocular antiangiogenic agent pigment epithelium-derived factor (PEDF) in aqueous humor predicts progression of diabetic retinopathy. *Diabetologia* 2003;46(3):394-400
- 44 Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T, *et al*. Pigment epithelium-derived factor inhibits advanced glycation end product-induced retinal vascular hyperpermeability by blocking reactive oxygen species-mediated vascular endothelial growth factor expression. *J Biol Chem* 2006; 281 (29):20213-20220