

文献综述

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.001925

血管内皮生长因子受体-2 在湿性年龄相关性黄斑变性中的研究进展

刘彦尧, 彭 惠

(重庆医科大学附属第一医院眼科、眼科学重庆市重点实验室、重庆市眼科研究所, 重庆 400016)

【摘要】湿性年龄相关性黄斑变性(wet age-related macular degeneration, wAMD)是 60 岁以上老年人致盲性眼病最主要的病因之一。眼内血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)与血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)结合,与脉络膜新生血管的形成和 wAMD 病理过程密切相关。当前 wAMD 的一线治疗方式为抗 VEGF 治疗,但该方法存在药物浓度维持时间短,需频繁眼内注药,部分患者接受反复抗 VEGF 治疗后视力无法提高或提高后不能稳定维持。随着基础与临床对 wAMD 发病机制研究的深入,发现血管内皮生长因子受体-2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR-2)与该疾病的发生发展密切相关。本文就近年来有关 VEGFR-2 的分子结构、病理生理学功能、在 wAMD 发生发展中的作用以及相关的临床前研究、临床研究进展作一简要综述。

【关键词】湿性年龄相关性黄斑变性;血管内皮生长因子受体-2;研究进展

【中图分类号】R774

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-01-29

Research progress in the role of vascular endothelial growth factor receptor-2 in wet age-related macular degeneration

Liu Yanyao, Peng Hui

(Department of Ophthalmology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University;
Chongqing Key Laboratory of Ophthalmology; Chongqing Eye Institute)

【Abstract】Wet age-related macular degeneration(wAMD) is one of the leading causes of blindness in elderly people aged >60 years. Vascular endothelial growth factor(VEGF) binds to vascular endothelial growth factor receptor(VEGFR) in eyes, which plays a critical role in the pathological process of choroidal neovascularization(CNV) and wAMD. At present, anti-VEGF treatment is the first-line treatment of wAMD, but this method cannot maintain drug concentration for a long time and requires frequent intraocular drug injection. Some patients do not have an improvement in visual acuity after repeated anti-VEGF treatment or visual acuity cannot be maintained at a stable level after improvement. With in-depth basic and clinical research on the pathogenesis of wAMD, it has been found that vascular endothelial growth factor receptor-2(VEGFR-2) is closely associated with the development and progression of this disease. This article briefly reviews the molecular structure and pathophysiological function of VEGFR-2 and its role in the development and progression of AMD, as well as related research advances in preclinical and clinical studies.

【Key words】wet age-related macular degeneration; vascular endothelial growth factor receptor-2; research progress

近年来,全球多国家和地区的流行病学调查显示年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是 60 岁以上老年人致盲性眼病最主要的病因之一。根据其病理改

变,可分为干性(非渗出性、非新生血管性)和湿性(渗出性、新生血管性)2 种类型。其中,湿性 AMD 由于眼内血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)与血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)结合,介导脉络膜新生血管的形成,导致患者严重的视力丧失^[1]。目前的研究表明,雷珠单抗、康柏西普等抗 VEGF 药物虽然在治疗湿性 AMD 中表现出了可观的疗效,但长期的临床观察结果显示在接受抗 VEGF 药物治疗 5 年后,72% 的患者视力下降到治疗前水平,治疗效果难以维持。此外,抗

作者介绍:刘彦尧, Email: 578975266@qq.com,

研究方向:眼底病、眼外伤。

通信作者:彭 惠, Email: peng9@sina.com。

基金项目:国家自然科学基金面上资助项目(编号:81670881)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20181105.1043.046.html>

(2018-11-06)

VEGF 治疗作为目前湿性 AMD 的一线治疗方式,往往需要患者反复接受玻璃体内药物注射,不仅增加了眼内炎、全身动脉血栓等术后并发症的风险,高昂的治疗费用也为患者带来了巨大的经济负担^[2-3]。因此单次眼内注射或改变给药方式以提高患者治疗依从性,研发多靶点抗 VEGF 药物,采取联合治疗以提高抗 VEGF 药物疗效成为目前湿性 AMD 治疗新的发展方向^[4-6]。

血管内皮生长因子受体家族包含 3 种酪氨酸蛋白激酶受体[分别为 VEGFR-1(Flt-1)、VEGFR-2(kinase-insert domain receptor, KDR/Flk-1)和 VEGFR-3(Flt-4)],以及 2 种非酪氨酸蛋白激酶受体[神经纤毛蛋白-1(neuropilin-1, NRP-1)、神经纤毛蛋白-2(Neuropilin-2, NRP-2)]。血管内皮生长因子 A(vascular endothelial growth factor, VEGF-A)激活分布于血管内皮细胞和淋巴细胞中的 VEGFR-2,起到了刺激内皮细胞增殖、迁移、存活、通透性改变和促新生血管的作用^[7]。VEGFR-2 在乳腺癌、胃癌、子宫内异位症等疾病中研究较为透彻,但与湿性 AMD 相关的研究近年来才逐渐受到广泛关注^[8-10]。本文将近年来有关 VEGFR-2 的分子结构、病理生理功能、在湿性 AMD 发生发展中的作用以及相关的基础和临床研究进行综述。

1 VEGFR-2 的生物学属性

1.1 VEGFR-2 的分子结构

VEGFR-2 是一种典型的 III 型跨膜蛋白激酶受体,由 1 356 个氨基酸构成,胞外由 7 个免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)样结构域(I-VII)组成。在细胞内 VEGFR-2 被翻译为分子量为 150 kD 的无明显糖基化的蛋白质,经过一系列的糖基化处理,转变为位于细胞膜表面成熟的分子量为 230 kD 的蛋白质。VEGF-A 与 VEGFR-2 胞外第 2 和第 3 个 Ig 样结构域结合,受体与配体相互作用,胞膜近端的 Ig 样区域相互交联,在保持低亲和力的同时诱导 VEGFR-2 的磷酸化形成稳定二聚体,激活下游的信号通路^[11]。

1.2 VEGFR-2 的生物学功能及其作用

大量研究证实,VEGFR-2 在机体内具有重要的生理病理调节作用,其中包括调节内皮细胞的增殖、迁移、存活、通透性和细胞信号转导等。VEGF-A 通过细胞膜上 VEGFR-2 的 C-端 Tyr1175 磷酸化后激活 PLC- γ -PKC-Raf-MEK-MAPK 信号通路,导致细胞核内 DNA 合成增多,从而促进内皮细胞增殖。在机体新生血管形成过程中,内皮细胞的迁移起到了至关重要的作用,而 VEGFR-2 介导的多条信号通路与此相关。首先 VEGFR-2 的 C-端磷酸化的 Tyr1175 与衔接蛋白 Shb 的 SH2 区域结合从而抑制磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)的激活,Shb 蛋白与黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)参与调控内皮细胞的迁移和粘附;其次 VEGFR-2 上磷酸化的 Tyr1214 与衔接蛋白 Nck

的 SH2 区域结合,激活下游的 Cdc42-SAPK2/p38-MAPK/APK2/3 信号通路引起的内皮细胞肌动蛋白的重塑,参与新生血管成形中内皮细胞的迁移^[12-13]。

在大量肿瘤组织新生血管的相关研究中发现,内皮细胞存活率的提高和细胞通透性的增加是此类组织的特征性改变。VEGF-A 与 VEGFR-2 结合后可活化细胞膜上的 PIP2 使其转化为 PIP3,抑制半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 9(Caspase 9)和 Bcl-2 相关凋亡区启动子(Bcl-2 associated death promoter, BAD)的表达。这两个关键细胞凋亡蛋白的下调,大幅提高了内皮细胞的存活率^[14]。VEGF-A 信号通过 PLC- γ 产生的钙离子内流,诱导细胞内内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)上 Ser1179 磷酸化,细胞内激活的 eNOS 刺激内皮细胞释放 NO,起到增加细胞通透性、舒张血管的作用^[15]。

2 VEGFR-2 在湿性 AMD 中的作用及研究进展

2.1 VEGFR-2 在 AMD 中的作用机制

湿性 AMD 患者异常的 RPE 细胞(脱色素和色素增生)持续分泌大量的 VEGF,导致脉络膜毛细血管通透性增加,RPE 细胞内脂褐素和细胞周围玻璃膜疣的沉积加速了细胞的功能障碍。随着 RPE 细胞凋亡的增多 Bruch 膜窗样缺损范围的增加,使得 VEGF 信号激活脉络膜血管内皮细胞上的 VEGFR-2 受体诱导新生血管的形成,脆弱的血管分支突破 RPE 层累及视网膜下间隙,即脉络膜新生血管(choroidal neovascular, CNV)。血管持续性的渗漏常常导致 RPE 层浆液性和(或)出血性脱离,晚期形成眼底的盘状瘢痕,引起不可逆的视力损害^[16-18]。

VEGFR-2 对病理生理状态下眼底的血管生长起到了至关重要的作用。该受体的激活可促进脉络膜新生血管的形成。Huang 等^[19]运用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术,以腺相关病毒(adeno associated virus, AAV)为载体,通过玻璃体腔注射的方法分别对未处理组、小鼠高氧诱导视网膜病变模型(oxygen-induced retinopathy, OIR)组、小鼠激光诱导形成的 CNV 模型组这 3 组小鼠眼内的 VEGFR-2 表达进行干预。结果显示,AAV 介导的 VEGFR-2 的低表达能明显抑制小鼠 OIR 模型和 CNV 模型中新生血管的形成,且血管渗漏的程度相较于对照组明显降低。Bae 等^[20]通过玻璃体腔内注射伊曲康唑抑制激光诱导的 CNV 小鼠脉络膜新生血管形成的相关实验,证实了在玻璃体腔注射后 7、14 d 小鼠脉络膜组织 VEGFR-2 的 mRNA 和蛋白质水平较对照组明显降低。通过荧光造影和脉络膜免疫荧光染色证明了玻璃体腔注射后 14 d,处理组相比于对照组,CNV 的面积缩小、血管荧光渗漏的范围与程度均大幅降低,脉络膜组织 VEGFR-2 表达量的下降与 CNV 的形成过程密切相关。Li 等^[21]发现激光诱导的 CNV 小鼠脉络膜组织 VEGFR-2 的转录和蛋白水平较未处理组明显

升高,体外转染过表达人脐静脉内皮细胞 *slit2* 后激活下游 VEGFR-2 的表达,从而促进内皮细胞的增殖、迁移。运用 VEGFR-2 来源的抗原表位肽段可以用于治疗激光诱导的小鼠的脉络膜新生血管^[22]。Takahashi 等^[23]对 CNV 小鼠定期灌喂 VEGFR-2 抑制剂后发现,小鼠眼底血管生成被明显抑制,该抑制剂对 CNV 有明显的治疗作用。目前的研究已证实了眼内 VEGFR-2 在眼底新生血管形成过程中扮演着重要的角色,但具体的作用机制仍需进一步探究。

2.2 AMD 患者 VEGFR-2 含量的变化

眼底新生血管形成是受多种因子激发与调控,但越来越多的临床研究表明 VEGFR-2 在湿性 AMD 发病过程中起到了至关重要的作用。Sharma 等^[24]比较了年龄匹配的正常人 ($n=61$)、干性 AMD ($n=31$) 和湿性 AMD ($n=84$) 患者血清 VEGFR-2 水平,发现湿性 AMD 患者与正常人相比 VEGFR-2 水平明显升高。湿性 AMD 患者血清 VEGFR-2 水平高于干性 AMD 患者。患有心脏疾病的湿性 AMD 患者与不患有心脏疾病的患者相比,血清中 VEGFR-2 的水平明显升高。研究者根据性别、单眼或双眼受累、是否有吸烟史、饮酒史、素食者或非素食者、是否有遗传学疾病家族史等影响因素分组比较,均未发现各组之间血清中 VEGFR-2 的改变有统计学差异。

另有一项研究纳入了 98 名 AMD 患者和 78 名年龄性别相匹配的正常人,分别比较其外周血 VEGFR-2 的水平,结果发现干性 AMD 和湿性 AMD 患者血清中 VEGFR-2 浓度分别为 (26.82 ± 5.45) 、 (26.10 ± 7.41) ng/mL,相比于正常组的 (30.42 ± 7.92) ng/mL 均明显降低,且湿性 AMD 患者血清中 VEGFR-2 的浓度与视网膜中心凹的厚度呈负相关,与黄斑中心凹下脉络膜厚度呈正相关^[25]。该项研究结果带给我们新的思考:有研究发现循环中的 VEGFR-2 具有抗肿瘤和缺血缺氧导致的新生血管的作用^[26-27]。有学者认为外周循环中的 VEGFR-2 与 VEGF-A 结合后并不会启动胞内下游的相关信号通路^[28]。由此可见,VEGF-A 与 VEGFR-2 在湿性 AMD 的发病过程中或许并非持续升高,VEGF-A 与 VEGFR-2 两者之间的稳态对于维持光感受器细胞和脉络膜血管的正常功能将显得更为重要。

2.3 VEGFR-2 相关治疗进展

目前以眼内 VEGFR-2 为治疗靶点的相关研究已经取得巨大的进展。已有研究证实,玻璃体腔内注射抗 VEGF/VEGFR-2 小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 后, CNV 小鼠眼底荧光素钠渗漏发生率明显降低,脉络膜新生血管面积明显减小,抗 VEGFR-2 siRNA 能明显抑制 CNV 的形成^[29]。多个眼底疾病动物模型中已验证在不同给药方式下 VEGFR-2 拮抗剂对于 CNV 和 OIR 的治疗作用。在 CNV 小鼠模型中,给予小鼠 50 mg/kg 的 VEGFR-1 单克隆抗体 MF1 和 VEGFR-2 单克隆抗体 DC101 腹腔注射干预后, CNV 的面积分别减小了 $(64 \pm 6)\%$ 和 $(73 \pm 5)\%$,且治疗效果与给药浓度呈正相关。两类单克隆抗体在抑制缺血诱导的视网膜血管

屏障功能障碍方面的表现同样抢眼,药物干预后小鼠视网膜血管渗漏比例分别降低 $(52 \pm 28)\%$ 和 $(13 \pm 4)\%$ ^[30]。

当前国际上主流的观点认为在湿性 AMD 的发病过程中,炎症与免疫反应起到了至关重要的作用。小胶质细胞从视网膜内层向外层的迁移和外周血巨噬细胞向视网膜、脉络膜病变血管的募集是 AMD 病理过程中 2 个显著的特点^[31-32]。VEGFR-2 抗体干预 CNV、OIR 小鼠模型后发现一有趣现象,在 CNV 面积减少新生血管渗漏减轻的同时,视网膜与 RPE 层交界处与 CNV 病变边缘的炎症细胞的数量相较于未处理组明显增加,其中包括大量的小胶质细胞与巨噬细胞。有观点认为抑制 PIGF-VEGF/VEGFR-1/VEGFR-2 信号通路的同时也激活了如 CCL-2/CCR-2 与 SDF-1/CXCR4 等信号通路,导致病变部位的炎症反应,而小胶质细胞的激活本身也受到 PIGF-VEGF/VEGFR-1/VEGFR-2 信号通路的调节^[33]。有关角膜新生血管的临床前研究中发现可溶性 VEGFR-2 维持着角膜无淋巴血管的特性,VEGFR-2 敲除后的小鼠表现出自发角膜新生血管的形成,角膜损伤后损伤部位新生血管范围与数量的增加。有趣的是使用外源性可溶性 VEGFR-2 可以抑制角膜移植或手术缝线诱导的角膜新生淋巴管的生成且延长角膜移植片的存活时间,但对角膜新生血管的生成没有影响^[34]。

在人脐静脉内皮细胞、脉络膜微血管内皮细胞、RPE 细胞、脉络膜内皮细胞的相关实验中,无论是抗 VEGFR-2 单克隆抗体的刺激,还是 VEGFR-2 siRNA 的转染、基因编辑技术的应用,均证明 VEGFR-2 在细胞增殖、迁移、凋亡中的调控作用^[35-36]。抗 VEGFR-2 相关治疗的安全性研究方面尚未发现严重的不良反应。在啮齿类动物和灵长类动物实验中,并未发现前房炎症细胞、角膜后沉着物、前房闪辉等炎症反应,85% 的实验眼光感受器细胞,视网膜形态结构和功能均未发现明显异常^[29-30]。

2.4 VEGFR-2 相关药物研究进展

2.4.1 阿柏西普 阿柏西普作为由 VEGFR-1 的免疫球蛋白样结构域 2 和 VEGFR-2 的免疫球蛋白样结构域 3 以及人免疫球蛋白 FC 片段组成的 VEGF 受体融合蛋白,能够结合几乎所有的 VEGF 成员,降低眼内新生血管的通透性,减少新生血管的形成。在“CLEAR-IT2”临床试验中,对 159 例继发 CNV 的湿性 AMD 患者行阿柏西普每眼 2 mg 玻璃体腔内注射,每月给药 1 次,连续给药 3 个月的治疗后患者平均视力提高 9 个字母^[37]。Wykoff 等^[38]研究发现,阿柏西普每月给药 1 次,每眼 2 mg 的剂量对多种抗 VEGF 药物耐受的顽固性湿性 AMD 的患者同样具有明显的疗效。

2.4.2 康柏西普 康柏西普作为一种重组融合蛋白,核心区域由 VEGFR1 中免疫球蛋白样结构域 2、VEGFR-2 免疫球蛋白样结构域 3、4 和人免疫球蛋白 FC 片段融合而成,它可诱捕 VEGF 所有异构体和胎盘生长因子 (PIGF),有效治疗各种眼底新生血管性疾病^[39-41]。在“AURORA”试验中将纳入的

122名湿性 AMD 患者随机分为 2 组,分别给予每眼 0.5 mg 和 2 mg 剂量的阿柏西普玻璃体腔注射。每 4 周给药 1 次,连续治疗 52 周后湿性 AMD 患者平均视力提高 15.43 个字母^[42]。

2.4.3 阿西替尼 阿西替尼作为一种口服的小分子酪氨酸受体抑制剂可作用于 VEGFR-2、KIT 和 PDGFR- α ,通过抑制体内 VEGF 轴阻止血管内皮细胞的磷酸化,减少肿瘤新生血管形成^[43]。2015-06 经食品药品监督管理局批准阿西替尼作为肾细胞癌的靶向药物正式应用于临床治疗^[44]。在啮齿类 CNV 动物模型中,给予低剂量的阿西替尼灌喂,可以明显降低其黄斑区的血管渗漏,减少 CNV 的面积;在体外实验中对视网膜微血管内皮细胞(HRMVECs)和脑血管周细胞(HBVRs)进行 3D 共培养,发现阿西替尼能有效抑制 CNV 的形成。作为 VEGFR-2 和 PDGF 双靶点抑制剂,阿西替尼与单纯的抗 VEGF 药物在治疗湿性 AMD 中具有协同作用^[45-46]。安全性研究表明,高浓度的阿西替尼(7.5 $\mu\text{g/mL}$)对眼部细胞表现出良好的生物适应性,未发现明显毒副作用^[47]。

在过去的十几年里,全球的科研工作者对新的湿性 AMD 治疗靶点做出了许多有益的探索,包括 VEGFR-2 在内的多靶点药物的研究,不仅能够提高治疗效果,更能降低治疗风险,减少不良反应,拥有广阔的治疗前景。

3 结论与展望

如今湿性 AMD 越发威胁着老年群体的视力,逐年增高的发病率和高昂的治疗费用为社会带来了巨大的经济负担。虽然抗 VEGF 药物应用于眼科治疗以来在治疗湿性 AMD 领域取得了不俗的成绩,但对于湿性 AMD 治疗的探索仍然任重道远。随着湿性 AMD 发病机制与 VEGFR-2 相关性研究的深入,大量的临床前研究已证实 VEGFR-2 在眼底新生血管疾病模型中高表达,抑制 VEGFR-2 的表达可以明显抑制 CNV、OIR 的形成。VEGFR-2 相关的抗 VEGF 药物的大量应用,不仅证明其安全有效,更为多靶点的抗 VEGF 治疗药物的研发提供了新的方向。虽然外周血中 VEGFR-2 含量的变化是否与湿性 AMD 相关还存在争议,VEGFR-2 能否作为预测湿性 AMD 发生的标志物还需进一步多中心、大样本量的临床研究加以证实,但不可否认 VEGFR-2 在湿性 AMD 发病及治疗方面的研究有望给 AMD 患者带来新的希望,其进一步的研究有望为湿性 AMD 等眼底新生血管性疾病的诊疗提供新的思路。

参 考 文 献

[1] Lim LS, Mitchell P, Seddon JM, et al. Age-related macular degeneration[J]. *Lancet*, 2012, 379(9827): 1728-1738.
[2] Singer MA, Awh CC, Sadda S, et al. HORIZON: an open-label extension trial of ranibizumab for choroidal neovascularization secondary

to age-related macular degeneration[J]. *Ophthalmology*, 2012, 119(6): 1175-1183.
[3] Wong CW, Yanagi Y, Lee WK, et al. Age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in Asians[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2016, 53: 107-139.
[4] Yonekawa Y, Kim IK. Clinical characteristics and current treatment of age-related macular degeneration[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2014, 5(1): a017178.
[5] Tolentino MJ, Dennick A, John E, et al. Drugs in phase II clinical trials for the treatment of age-related macular degeneration[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2015, 24(2): 183-199.
[6] Mabry R, Gilbertson DG, Frank A, et al. A dual-targeting PDGFR β -VEGF-A molecule assembled from stable antibody fragments demonstrates anti-angiogenic activity in vitro and in vivo[J]. *MAbs*, 2010, 2(1): 20-34.
[7] Gille H, Kowalski J, Li B, et al. Analysis of biological effects and signaling properties of Flt-1 (VEGFR-1) and KDR (VEGFR-2). A re-assessment using novel receptor-specific vascular endothelial growth factor mutants[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(5): 3222-3230.
[8] Guo S, Colbert LS, Fuller M, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-2 in breast cancer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1806(1): 108-121.
[9] Hu C, Jiang X. Role of NRP-1 in VEGF-VEGFR-2-independent tumorigenesis[J]. *Target Oncol*, 2016, 11(4): 501-505.
[10] Roviello G, Ravelli A, Fiaschi AI, et al. Apatinib for the treatment of gastric cancer[J]. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*, 2016, 10(8): 887-892.
[11] Simons M, Gordon E, Claesson-Welsh L. Mechanisms and regulation of endothelial VEGF receptor signaling[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(10): 611-625.
[12] Holmes K, Roberts OL, Thomas AM, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition[J]. *Cell Signal*, 2007, 19(10): 2003-2012.
[13] Lamalice L, Houle F, Huot J. Phosphorylation of Tyr1214 within VEGFR-2 triggers the recruitment of Nck and activation of Fyn leading to SAPK2/p38 activation and endothelial cell migration in response to VEGF[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(45): 34009-34020.
[14] Goel HL, Mercurio AM. VEGF targets the tumour cell[J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(12): 871-882.
[15] Fulton D, Gratton JP, McCabe TJ, et al. Regulation of endothelium-derived nitric oxide production by the protein kinase Akt[J]. *Nature*, 1999, 399(6736): 597-601.
[16] Ferris FL, Wilkinson CP, Bird A, et al. Clinical classification of age-related macular degeneration[J]. *Ophthalmology*, 2013, 120(4): 844-851.
[17] Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Fleckenstein M. Recent developments in the treatment of age-related macular degeneration[J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(4): 1430-1438.
[18] Ambati J, Fowler BJ. Mechanisms of age-related macular degeneration[J]. *Neuron*, 2012, 75(1): 26-39.

- [19] Huang X, Zhou G, Wu W, et al. Genome editing abrogates angiogenesis in vivo[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 112.
- [20] Bae JH, Hwang AR, Kim CY, et al. Intravitreal itraconazole inhibits laser-induced choroidal neovascularization in rats[J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0180482.
- [21] Li S, Huang L, Sun Y, et al. Slit2 promotes angiogenic activity via the robo1-VEGFR-2-ERK1/2 pathway in both in vivo and in vitro studies[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(9): 5210-5217.
- [22] Takahashi H, Ishizaki H, Tahara H, et al. Suppression of choroidal neovascularization by vaccination with epitope peptide derived from human VEGF receptor 2 in an animal model[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(5): 2143-2147.
- [23] Takahashi H, Tamaki Y, Ishii N, et al. Identification of a novel vascular endothelial growth factor receptor 2 inhibitor and its effect for choroidal neovascularization in vivo[J]. *Curr Eye Res*, 2008, 33(11): 1002-1010.
- [24] Sharma NK, Gupta A, Prabhakar S, et al. Single nucleotide polymorphism and serum levels of VEGFR-2 are associated with age-related macular degeneration[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2012, 9(4): 256-265.
- [25] Ornek N, Örnekk K, Aydın S, et al. Serum vascular endothelial growth factor receptor-2 and adropin levels in age-related macular degeneration[J]. *Int J Ophthalmol*, 2016, 9(4): 556-560.
- [26] Taipale J, Mäkinen T, Arighi E, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-3[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1999, 237: 85-96.
- [27] Olsson AK, Dimberg A, Kreuger J, et al. VEGF receptor signalling in control of vascular function[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(5): 359-371.
- [28] Igarashi J, Michel T. S1P and eNOS regulation[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1781(9): 489-495.
- [29] Gu L, Chen H, Tuo J, et al. Inhibition of experimental choroidal neovascularization in mice by anti-VEGFA/VEGFR-2 or non-specific siRNA[J]. *Exp Eye Res*, 2010, 91(3): 433-439.
- [30] Huang H, Shen J, Viores SA. Blockade of VEGFR1 and 2 suppresses pathological angiogenesis and vascular leakage in the eye[J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): e21411.
- [31] Datta S, Cano M, Ebrahimi K, et al. The impact of oxidative stress and inflammation on RPE degeneration in non-neovascular AMD[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2017, 60: 201-218.
- [32] Kauppinen A, Paterno JJ, Blasiak J, et al. Inflammation and its role in age-related macular degeneration[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(9): 1765-1786.
- [32] Van de Veire S, Stalmans I, Heindryckx F, et al. Further pharmacological and genetic evidence for the efficacy of PlGF inhibition in cancer and eye disease[J]. *Cell*, 2010, 141(1): 178-190.
- [34] Albuquerque RJ, Hayashi T, Cho WG, et al. Alternatively spliced vascular endothelial growth factor receptor-2 is an essential endogenous inhibitor of lymphatic vessel growth[J]. *Nat Med*, 2009, 15(9): 1023-1030.
- [35] Kounig KL, Suh W. Apatinib, an inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor 2, suppresses pathologic ocular neovascularization in mice[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(9): 3592-3599.
- [36] Chioldelli P, Rezzola S, Urbinati C, et al. Contribution of vascular endothelial growth factor receptor-2 sialylation to the process of angiogenesis[J]. *Oncogene*, 2017, 36(47): 6531-6541.
- [37] Heier JS, Boyer D, Nguyen QD, et al. The 1-year results of CLEAR-IT 2, a phase 2 study of vascular endothelial growth factor trap-eye dosed as-needed after 12-week fixed dosing[J]. *Ophthalmology*, 2011, 118(6): 1098-1106.
- [38] Wyckoff CC, Brown DM, Maldonado ME, et al. Aflibercept treatment for patients with exudative age-related macular degeneration who were incomplete responders to multiple ranibizumab injections (TURF trial)[J]. *Br J Ophthalmol*, 2014, 98(7): 951-955.
- [39] Zhang Z, Yang X, Jin H, et al. Changes in retinal nerve fiber layer thickness after multiple injections of novel VEGF decoy receptor conbercept for various retinal diseases[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38326.
- [40] Wang Q, Li T, Wu Z, et al. Novel VEGF decoy receptor fusion protein conbercept targeting multiple VEGF isoforms provide remarkable anti-angiogenesis effect in vivo[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e70544.
- [41] Wu Z, Zhou P, Li X, et al. Structural characterization of a recombinant fusion protein by instrumental analysis and molecular modeling[J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e57642.
- [42] Li X, Xu G, Wang Y, et al. Safety and efficacy of conbercept in neovascular age-related macular degeneration: results from a 12-month randomized phase 2 study: AURORA study[J]. *Ophthalmology*, 2014, 121(9): 1740-1747.
- [43] Hu-Lowe DD, Zou HY, Grazzini ML, et al. Nonclinical antiangiogenesis and antitumor activities of axitinib (AG-013736), an oral, potent, and selective inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases 1, 2, 3[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(22): 7272-7283.
- [44] Gunnarsson O, Pfanzelter NR, Cohen RB, et al. Evaluating the safety and efficacy of axitinib in the treatment of advanced renal cell carcinoma[J]. *Cancer Manag Res*, 2015, 7: 65-73.
- [45] Giddabasappa A, Laiwani K, Norberg R, et al. Axitinib inhibits retinal and choroidal neovascularization in in vitro and in vivo models[J]. *Exp Eye Res*, 2016, 145: 373-379.
- [46] Kang S, Roh CR, Cho WK, et al. Antiangiogenic effects of axitinib, an inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase, on laser-induced choroidal neovascularization in mice[J]. *Curr Eye Res*, 2013, 38(1): 119-127.
- [47] Thiele S, Liegl RG, König S, et al. Multikinase inhibitors as a new approach in neovascular age-related macular degeneration (AMD) treatment; in vitro safety evaluations of axitinib, pazopanib and sorafenib for intraocular use[J]. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2013, 230(3): 247-254.

(责任编辑: 冉明会)