·文献综述·

新生淋巴管与角膜移植排斥的研究进展

麦洁英,唐先玲,刘 平

作者单位:(150001)中国黑龙江省哈尔滨市,哈尔滨医科大学第一附属医院眼科医院
作者简介:麦洁英,女,在读硕士研究生。
通讯作者:刘平,主任医师. ryl298@126.com
收稿日期:2014-08-07 修回日期:2014-11-06

Research advances in corneal newborn lymphatic vessel and corneal transplantation rejection

Jie-Ying Mai, Xian-Ling Tang, Ping Liu

Eye Hospital, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Ping Liu. Eye Hospital, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China. ryl298@126.com
Received:2014-08-07 Accepted:2014-11-06

Abstract

• Corneal newborn lymphatic vessels construct the afferent arc of corneal immunological reaction, which play important role in immune response. The corneal transplantation rejection rate rises due to the emergence of new lymphatic vessel which breaks the immunologic mechanism. With the founding of specific marker of lymphatic endothelial cells and research advancing of growth factor of lymphatic vessels, the mechanism, therapy and prevention of corneal immunological rejection reaction of corneal lymphatic vessel have been studied intensively. The graft survival rate has been greatly improved through inhibiting newborn lymphatic vessel.
• KEYWORDS: corneal newborn lymphatic vessel; neal transplantation rejection; immune privilege

Citation: Mai JY, Tang XL, Liu P. Research advances in corneal newborn lymphatic vessel and corneal transplantation rejection. *Guoji Yanke Zazhi*(*Int Eye Sci*) 2014;14(12):2168-2171

摘要

角膜新生淋巴管构成了角膜免疫反应的传入弧,在免疫反应中发挥了重要作用。由于新生淋巴管的出现破坏了免疫机制使角膜移植术后排斥反应发生率升高。随着淋巴管内皮标记物的相继出现和对淋巴管生成因子的研究深入,众多学者对角膜淋巴管在角膜免疫排斥反应机制、治疗和预防等方面进行了大量研究,通过抑制新生淋巴管提高植片存活率。
关键词:角膜新生淋巴管;角膜移植排斥;免疫赦免

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2014.12.16

引用:麦洁英,唐先玲,刘平. 新生淋巴管与角膜移植排斥的研究进展. 国际眼科杂志 2014;14(12):2168-2171

0 引言

角膜盲引起的角膜混浊是全球盲和视力损伤的主要原因之一。角膜移植手术是角膜盲患者复明的有效治疗手段。在高危角膜移植中,角膜免疫赦免机制通常被破坏,引起的免疫排斥反应是导致手术失败的主要原因,因排斥反应致手术失败者高达 60% 以上[1]。现已证实,淋巴管参与角膜移植免疫调节机制,众多学者对角膜淋巴管在角膜免疫排斥反应机制、治疗和预防等方面进行了大量研究,现综述如下。

1 角膜免疫赦免机制

免疫赦免是指角膜对外来移植组织和其他抗原刺激的相对无免疫反应状态的特性[2]。角膜免疫赦免是多因素作用的调节过程,主要表现在:(1)角膜移植中,由于角膜无血管和无淋巴管这一生理特征为移植排斥反应提供了一个相对的免疫屏障:血管作为免疫反应的"传出"臂可将免疫细胞和分子送入移植的角膜组织,由于正常角膜缺乏血管,即阻断了免疫反应的传出弧;而淋巴管可作为免疫反应的"传入"臂,将免疫分子送到局部淋巴结,使免疫系统识别异体抗原,角膜无淋巴管这一特性,阻断了免疫反应的传入弧。两者共同构成免疫双臂。角膜无血管也无淋巴管,这是角膜能保持透明性的主要原因。(2)正常角膜低表达主要组织相容性抗原复合物(major histocompability complex,MHC),MHC 抗原是一种表面多态性蛋白存在于单一种属的个体细胞中,有个体差异。MHC 抗原分为两种表型:MHC-I 和 MHC-II。MHC-I 在角膜表达于上皮、基质、内皮细胞中。MHC-II 抗原则是更有选择性的表达,仅在有免疫活性的抗原提呈细胞(antigen-presenting cells,APCs)表面存在,如:树突状细胞、巨噬细胞和朗格汉斯细胞。在通过限制 T 细胞活化可下调 MHC 的表达而降低角膜的免疫原性。(3)免疫调节分子 Fas 配体(Fas ligand,FasL)存在于角膜上皮和内皮,可以入侵角膜组织的炎症细胞(如中性粒细胞、活化的 T 细胞和巨噬细胞)发生凋亡和程序性死亡,因此 FasL 的高表达可以提高角膜移植片的存活率,参与角膜组织的免疫赦免。(4)眼前房也是经典的免疫赦免部位。前房相关免疫偏离是指对进入眼前房的抗原产生的一种抗原特异性的全身性免疫赦免现象。

2 角膜新生淋巴管在排斥反应中的作用

血管和淋巴管对维持组织和器官功能非常关键。在病理条件下,如外伤、感染、炎症、手术等因素能够诱导角膜产生新生血管及淋巴管。Cursiefen 等[3]报道在非高危角膜移植术后新生血管和新生淋巴管平行长入无血管化

的植床,血管及淋巴管共同组成了角膜免疫反射弧。详细的说,角膜新生淋巴管作为反射弧输入通道,通过抗原呈递细胞将抗原呈递给局部淋巴结,而新生血管为输出通道将激活的 T 细胞运输回角膜。抗原提呈细胞然后以直接或间接的形式提呈供体抗原给引流淋巴结,淋巴结中的幼稚 T 细胞调控同种异体识别过程。直接的形式是供体抗原提呈细胞通过表面非自身的 MHC-Ⅱ的识别直接提呈供体抗原给幼稚 T 细胞,导致 T 效应细胞的异体反应扩增。非直接的形式是阻止供体抗原到宿主角膜的抗原提呈细胞,捕获供体抗原并运输它们到引流淋巴结,在那里通过幼稚 T 细胞自身 MHC-Ⅱ的识别提呈抗原。淋巴结是 T 细胞同种异体致敏和激活的启动中心,驱动了免疫介导的移植排斥反应的"传出"臂和表达。就在这一阶段植片受到破坏,这使得淋巴结成了移植排斥过程的关键点[4]。为了证明在移植排斥过程中淋巴结的重要性,大量的小鼠实验已经证实在角膜移植术前切除颈部淋巴结可以达到近乎完全的移植耐受,并抑制同种异体迟发型超敏反应的发生[5]。

3 炎症与角膜新生淋巴管和免疫的关系

炎症反应是导致淋巴管生成的重要病理条件之一。在炎症反应过程中有血管反应、白细胞的迁移活化和全身系统的反应,有助于破坏、稀释、杜绝有害成分同时修复和重塑组织。炎症反应和淋巴管是相互调控的关系,大量研究表明淋巴管参与炎症反应和组织的修复过程[6],炎症反应对淋巴管的生成和重塑发挥着重要作用。

抗原提呈是引起免疫排斥的关键环节,部分研究者在一些啮齿类动物模型证明了受体的抗原提呈细胞(Antigen-presenting cell, APC)提呈同种异体抗原,激活 CD_4^+T 细胞,产生 THI 介导的迟发型超敏反应(delayed type hypersensitivity, DTH),DTH 在同种异体角膜移植急性和亚急性排斥反应中起主导作用。抗原提呈细胞是一类免疫细胞,它能捕获、加工并处理抗原,将抗原提呈给特异淋巴细胞,它包括有:单核/巨噬细胞,树突状细胞(dentritic cell, DC)等。角膜树突状细胞通过对供者角膜自身和外周抗原进行 T 细胞调控,在移植免疫调节中发挥重要的作用。在生理条件下,居于角膜中心的树突状细胞大多处于静止、一致状态,MHC-Ⅱ表达阴性。在炎症刺激下,VEGF-C 表达增高,趋化 DC 从血液运输到角膜,供体角膜异体抗原被捕获并运输到淋巴器官进行处理,提呈给 T 细胞,调控 T 细胞反应。树突状细胞迁移到淋巴结启动了获得性免疫,获得性免疫诱发了淋巴管增殖,同时增加了 DC 的迁移和活化[7]。

巨噬细胞也参与调节角膜新生淋巴管的生成,巨噬细胞表达 F4/80 和 CD11b。CD11b 是 β-2 整合素的亚族表达于单核巨噬细胞。CD11b 调控骨髓细胞的某些功能如:黏附、迁移、趋化、吞噬。中和 CD11b 的抗体能够减少炎症条件下白细胞的聚集。骨髓源性的 $CD11b^+$巨噬细胞在角膜基质中表达[8],并已证实参与角膜淋巴管的生成。首先,激活的巨噬细胞可以表达淋巴管特异标记物:LYVE-1、平足蛋白和 prox-1[9],并能单独形成淋巴管样结构。巨噬细胞的分化转移成为淋巴内皮细胞在人类肾移植[10]和鼠角膜损伤模型[11]中已被证实。其次,巨噬细胞还能激活 NF-kB 信号通路并分泌下游细胞因子(如 VEGF-A、VEGF-C 和 VEGF-D),通过 VEGF-C/VEGFR-3 通路,诱导角膜淋巴管生成[12]。通过在小鼠角膜植入 IL-1β 微囊袋,观察到单核/巨噬细胞和中性粒细胞的聚集。发现 VEGF-A, VEGF-C 和 VEGF-D 等淋巴管生成因子表达增加,同时能够诱导淋巴管生成,选择性 VEGFR-3 抑制剂能够抑制 IL-1β 诱导的淋巴管生成。通过二磷酸盐脂质体腹腔内和结膜下注射敲除巨噬细胞可以抑制淋巴管的生成同时上调 VEGF-A, VEGF-C, VEGF-D,从而得出抑制 NF-kB 通路可阻断角膜新生淋巴管的生成[12]。Cursiefen 等[13]报道在炎症角膜中 VEGF-A 介导的淋巴管生成归因于表达 VEGF-C 和 VEGF-D 的巨噬细胞的聚集。Hamrah 的一项研究显示烧灼鼠角膜表面后引起明显的炎症反应,在角膜树突状细胞中 VEGF-C/VEGFR-3 表达上调[14]。

因此,免疫细胞通过促炎症因子的旁分泌是导致淋巴管增殖的主要因素:免疫细胞($CD11b^+$巨噬细胞、滤泡性 B 细胞和 DC)通过分泌 VEGF-C 和 VEGF-D,进入炎症组织和局部淋巴结能显著加强淋巴管生成。这些研究强有力的揭示了在炎症刺激下角膜淋巴管的生成和树突状细胞、单核/巨噬细胞的相互调节作用。

4 通过抑制新生淋巴管提高植片存活率的相关研究

4.1 VEGFs 与新生淋巴管 目前,研究认为角膜新生淋巴管的生成主要由 VEGF 家族及 VEGFR 调控[3]。VEGF 家族包括 VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E 及胎盘生长因子(placenta growth factor, PIGF)。VEGF 的酪氨酸受体主要包括 VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, neuropilin-1(Nrp-1)和 neuropilin-2(Nrp-2)。众多研究结果表明,淋巴管生成主要通过 VEGF-C, VEGF-D/VEGF-R3 途径诱导,VEGF-R3 酪氨酸磷酸化,导致淋巴管生成及增生。故有学者把 VEGF-C, VEGF-D 称为淋巴管生成因子[15]。VEGFR-3 是最先被发现的淋巴管内皮因子之一。生理状态下,VEGFR-3 在成人主要表达于淋巴管内皮,在胎儿则表达于脉管系统的血管和淋巴管内皮细胞。VEGFR-3 在炎症性角膜基质及树突状细胞中均有表达,VEGFR-3 与其配体 VEGF-C 结合后,促进角膜树突状细胞向局部淋巴结的迁移[14]。在转基因小鼠模型中用可溶性 VEGFR-3 抑制剂阻断 VEGFR-3 信号通路或是中和抗体能够抑制角膜新生淋巴管[16]。在小鼠的角膜移植实验模型中,通过阻断 VEGFR-3 的表达显著延长了角膜植片存活的时间并抑制角膜树突状细胞向局部淋巴结的迁移[17]。VEGF-D 是 VEGFR-3 的另一个配体,VEGF-D 与 VEGFR-3 结合的亲和力远高于 VEGFR-2,提示 VEGF-D 对淋巴管的影响比对血管的影响更为重要[18]。目前研究表明 VEGF-D 在生理条件下主要是通过与受体 VEGFR-3 结合,调节胚胎组织淋巴管生成和成熟个体淋巴管生理功能[19]。但是,Baldwin 等[20]敲除 VEGF-D 基因表达的小鼠淋巴系统的功能后并未发生病理性改变,认为可能是通过激活 VEGFR-3 的其他配体起到补偿 VEGF-D 促淋巴管生成的作用。VEGF-A/VEGFR-1-VEGFR-2 途径目前也被认为参与炎症性淋巴管的生成。Cursiefen 等[13]认为炎症角膜中,VEGF-A 可趋化巨噬细胞至角膜,从而分泌 VEGF-C 和 VEGF-D,故 VEGF-A 也可间接的诱导新生淋巴管的生成。当慢性炎症反应诱发转基因小鼠产生迟发型过敏反应,角膜组织中 VEGF-A 过表达,同时出现大量淋巴管。Cursiefen 等[3]及 Bachmann 等[21]研究表明:抑制 VEGF-A 的作用可显著降低低危或高危角膜移植术后新生血管和淋巴管的生成率,并延长植片的生存时间。通过双重阻断 VEGFR-1 和 VEGFR-2 能有效抑制炎症反应及

淋巴管生成[22]。诸多学者已证实通过不同方式抑制 VEGF-A 的表达能够通过减少淋巴管数量提高角膜植片存活率。首先,在角膜移植前给予结膜下注射贝伐单抗(单克隆抗 VEGF 抗体),不仅可以抑制植片排斥中的血管和淋巴管还可以提高植片存活率[23]。其次,通过给小鼠喂食舒尼替尼(多靶点的络氨酸激酶抑制剂),能够抑制 VEGF-A、VEGF-C 表达和 F4/80+细胞的聚集,从而减少角膜新生血管和淋巴管的形成[24]。另外,吗啉寡核苷酸可以诱导啮齿动物中可溶性 VEGFR-1 的表达,结膜下注射吗啉寡核苷酸能够提高角膜植片的存活率,抑制新生血管和淋巴管生成[25]。

4.2 VLA-1、整合素 α1β1 与角膜淋巴管及移植排斥的关系 非常晚期抗原(very late antigen-1,VLA-1)和整合素 α1β1 是胶原蛋白和层粘连蛋白的主要受体,VLA-1 在一系列炎症反应如巨噬细胞与 T 细胞活化、血管生成、纤维化中是主要的调控因子之一。VLA-1 调控着角膜炎症淋巴管的生成,具有淋巴内皮细胞的功能[26]。抗 VLA-1 抗体能够显著降低角膜移植后粒细胞、单核细胞、T 细胞的聚集。在敲除 VLA-1 的小鼠,新生血管和淋巴管能够显著被抑制。得出抑制 VLA-1 能够显著减少炎症及炎症诱导的组织反应,提高植片存活率。在抑制 VLA-1 或 VLA-1 缺乏的条件下植片高成活率归因于角膜移植先天性免疫和获得性免疫的分子途径,抑制了先天性免疫(中性粒细胞、巨噬细胞)和 T 细胞的渗透。VLA-1 抑制剂阻止中性粒细胞、巨噬细胞)和 T 细胞的渗透,阻断 VEGFR-3 可以抑制 APC 到引流淋巴结[17]。VLA-1 和 VEGFR-3 的协同作用可能有助于提高植片成活率。整合素是普遍存在的异二聚体蛋白,对细胞间和细胞外基质间相互作用有潜在的重要作用[27],已经证实 VEGFR-3 能够选择性地和整合素 β1 结合,在调控淋巴内皮功能上具有协同作用[28]。因此,共同阻断 VEGFR-3 和 VLA-1 干涉两条途径的协同作用可能可以提升植片存活率。

4.3 Nrp 与角膜淋巴管及移植排斥的关系 Nrp-1、Nrp-2 是一种跨膜糖蛋白,为轴突导向调节器受体,与角膜新生血管和淋巴管的生成有密切关系。Nrp-1 是 VEGF165 亚型特异性受体,通过与 VEGFR-2 的结合,促进新生血管的生成[29]。Nrp-2 是 VEGF145 和 VEGF-C 的共受体,在淋巴管内皮细胞中可促使 VEGFR-2 和 VEGFR-3 与 VEGF145 和 VEGF-C 的结合,促进内皮细胞迁移和增殖,参与 VEGF-A 和 VEGF-C 诱导的淋巴管生成[30]。对于 Nrp-2 缺乏的小鼠淋巴管发育不全,说明 Nrp-2 可促进淋巴管内皮细胞的增殖和发育。Nrp-2 生成淋巴管的作用可能与介导 VEGFR-3/VEGFR-C 途径有关[31]。小鼠角膜基质内注射 Nrp-2 siRNA 能够显著抑制高危角膜植床新生淋巴管的数量,从而降低高危角膜移植排斥反应[32]。

4.4 凝血酶敏感蛋白-1 与角膜淋巴管生成的关系 凝血酶敏感蛋白-1(thrombospondin-1,TSP-1)是多功能的细胞外基质蛋白,并且可以抑制新生淋巴管的生成。Cursiefen 等[33]发现与野生型小鼠相比,敲除了 TSP-1 的小鼠中更易自发形成角膜新生淋巴管。同样,在炎症诱导的角膜新生血管模型中,TSP-1 缺乏的小鼠也出现更多新生淋巴管生长,而局部使用重组 TSP-1 后角膜新生淋巴管被抑制。另外,当小鼠角膜中 TSP-1 的受体 CD36 缺少时,角膜新生淋巴管形成增加。体外实验研究表明,TSP-1 刺激巨噬细胞后,淋巴管生长因子 VEGF-C 和 VEGF-D 的表达被抑制,而阻断 CD36 作用后不能抑制 VEGF-C 在巨噬细胞的表达。因此,TSP-1 通过和 CD36 在巨噬细胞上结合才能够发挥抑制淋巴管生成的作用。

5 总结

由于新型特异淋巴管内皮标记物的出现,淋巴管领域的研究有了重大的进展。角膜淋巴管与角膜移植术后免疫排斥反应的关系非常密切,因此,研究角膜新生淋巴管对于提高角膜移植物的生存率具有重要的意义。

参考文献

1 Maquire MG, Stark WJ, Gottsch JD, *et al*. Risk factors for corneal graft failure and rejection in the collaborative corneal transplantation studies. *Ophthalmology* 1994;101(9):1536-1547

2 李志杰, 彭广华,李辰. 眼的免疫赦免及其调控机制/眼免疫性疾病. 郑州:河南科学技术出版社 2001:304-321

3 Cursiefen C, Cao J, Chen L, *et al*. Inhibition of hemangiogenesis and lymphangiogenesis after normal - risk corneal transplantation by neutralizing VEGF promotes graft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(8):2666-2673

4 Yamagami S, Dana MR. The critical role of lymph nodes in corneal alloimmunization and graft rejection. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(6):1293-1298

5 Yamagami S, Amano S. Role of resident corneal leukocytes and draining cervical lymph nodes in corneal allograft rejection. *Cornea* 2003;22(7 suppl):S61-S65

6 Avraham T, Clavin CW, Daluvoy SV, *et al*. Fibrosis is a key inhibitor of lymphatic regeneration. *Plast Reconstr Surg* 2009;124(2):438-450

7 Kataru RP, Kim H, Janq C, *et al*. Tlymphocytes negatively regulate lymph node lymphatic vessel formation. *Immunity* 2011;34(1):96-107

8 Hamrah P, Liu Y, Zhang Q, *et al*. The corneal stroma is endowed with a significant number of resident dendritic cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(2):581-589

9 Maruyama K, Ii M, Cursiefen C, *et al*. In flammation - induced lymphangiogenesis in the cornea arises from CD11b - positive macrophages. *J Clin Invest* 2005;115(9):2363-2372

10 Xu H, Chen M, Reid DM, *et al*. LYVE-1-positive macrophages are present in normal murine eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(5):2162-2171

11 Sosnova M, Bradl M, Forrester JV. CD34+ corneal stromal cells are bone marrow-derived and express hemopoietic stem cell markers. *Stem Cells* 2005;23(4):507-515

12 Watari K, Nakao S, Fotovati A, *et al*. Role of macrophages in inflammatory lymphangiogenesis: Enhanced production of vascular endothelial growth factor C and D through NF-kappa B activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;377(3):826-831

13 Cursiefen C, Chen L, Borges LP, *et al*. VEGF-A stimulates lymphangiogenesis and hemangiogenesis in inflammatory neovascularization via macrophage recruitment. *J Clin Invest* 2004;113(7):1040-1050

14 Hamrah P, Chen L, Zhang Q, *et al*. Novel expression of vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR-3) and VEGF-C on corneal dendritic cells. *Am J Pathol* 2003;163(1):57-68

15 Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9(6):669-676

16 He Y, Rajantie I, Pajusola K, *et al*. Vascular endothelial cell growth factor receptor 3-mediated activation of lymphatic endothelium is crucial for tumor cell entry and spread via lymphatic vessels. *Cancer Res* 2005;65(11):4739-4746

17 Chen L, Hamrah P, Cursiefen C, *et al*. Vascular endothelial growth factor receptor-3 mediates induction of corneal alloimmunity. *Nat Med* 2004;10(8):813-815

18 Stacker SA, Stenvers K, Caesar C, *et al*. Biosynthesis of vascular endothelial growth factor - D involves proteolytic processing whith generates non - covalent homodimiers. *J Biol Chem* 1999;274(45):32127-32136

19 Farnebo F, Piehl F, Laqercrantz J. Restricted expression - pattern of VEGF-D in the adult and fetal mouse: high expression in the embryonic lung. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;257(3):891-894

20 Baldwin ME, Halford MM, Roufail S, *et al*. Vascular endothelial growth factor D is dispensable for development of the lymphatic system. *Mol Cell Biol* 2005;25(6):2441-2449

21 Bachmann BO, Bock F, Wieqand SJ, *et al*. Promotion of graft survival by vascular endothelial growth factor a neutralization after high - risk corneal transplantation. *Arch Ophthalmol* 2008;126(1):71-77

22 Kunstfeld R, Hirakawa S, Hong YK, *et al*. Induction of cutaneous delayed - type hypersensitivity reactions in VEGF - A transgenic mice results in chronic skin inflammation associated with persistent lymphatic hyperplasia. *Blood* 2004;104(4): 1048-1057

23 Erdurmus M, Totan Y. Subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245(10):1577-1579

24 Detry B, Blacher S, Erpicum C, *et al*. Sunitinib inhibits inflammatory corneal lymphangiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(5):3082-3093

25 Cho YK, Zhang X, Uehara H, *et al*. Vascular endothelial growth factor receptor 1 morpholino increases graft survival in a murine penetrating keratoplasty model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(13):8458-8471

26 Grimaldo S, Yuen D, Ecoifier T, *et al*. Very late antigen-1 mediates corneal lymphangiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(7): 4808-4812

27 Hynes RO. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell* 2002;110(6):673-687

28 Zhang X, Groopman JE, Wang JF. Extracellular matrix regulates endothelial functions through interaction of VEGFR - 3 and integrin alpha5beta1. *J Cell Physiol* 2005;202(1):205-214

29 Soker S, Takashima S, Miao HQ, *et al*. Neuropilin -1 is expressed by endothelial and tumor cells as an isoform-specific receptor for vascular endothelial grow the factor. *Cell* 1998;92(6):735-745

30 Favier B, Alam A, Barron P, *et al*. Neuropilin - 2 interacts with VEGFR-2 and VEGFR-3 and promotes human endothelial cell survival andmigration. *Blood* 2006;108(4):1243-1250

31 Yuan L, Moyon D, Pardanaud L, *et al*. Abnormal lymphatic vessel development in neuropilin 2 mutant mice. *Development* 2002;129(20): 4797-4806

32 Tang XL, Sun JF, Wang XY, *et al*. Blocking neuropilin-2 enhances corneal allograft survival by selectively inhibiting lymphangiogenesis on vascularized beds. *Mol Vis* 2010;9(16):2354-2361

33 Cursiefen C, Maruyama K, Bock F, *et al*. Thrombospondin 1 inhibits inflammatory lymphangiogenesis by CD36 ligation on monocytes. *J Exp Med* 2011;208(5):1083-1092