

血管内皮细胞在视网膜出芽式血管生成中的作用及其调控机制

姚牧笛, 孙婷婷, 蒋沁

引用: 姚牧笛, 孙婷婷, 蒋沁. 血管内皮细胞在视网膜出芽式血管生成中的作用及其调控机制. 国际眼科杂志 2020; 20(2): 251-254

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81570859, 81870679)

作者单位: (210029) 中国江苏省南京市, 南京医科大学眼科医院
作者简介: 姚牧笛, 毕业于南京医科大学, 在读博士研究生, 研究方向: 眼底病。

通讯作者: 蒋沁, 毕业于南京医科大学, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 院长, 研究方向: 白内障、眼底病. jqin710@vip.sina.com

收稿日期: 2019-06-11 修回日期: 2019-12-27

摘要

出芽式血管生成是视网膜血管生成的主要方式之一, 在视网膜正常发育和新生血管性眼病中发挥作用。血管内皮细胞结构和功能的完整性是确保出芽式血管生成的必要条件。血管内皮细胞具有多种亚型, 每种细胞群均发挥不同的功能, 在生理和病理状态下受到信号通路、代谢、免疫炎症和非编码 RNA 等多种因素调控。本文就血管内皮细胞在视网膜出芽式血管生成中的作用及其调控机制进行综述。

关键词: 血管内皮细胞; Tip 细胞; Stalk 细胞; 出芽式血管生成; 信号通路; 内皮细胞代谢; 调控机制

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2020.2.12

Function of vascular endothelial cells in retinal budding angiogenesis and its regulatory mechanism

Mu-Di Yao, Ting-Ting Sun, Qin Jiang

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No.81570859, 81870679)

Eye Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Qin Jiang. Eye Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. jqin710@vip.sina.com

Received: 2019-06-11 Accepted: 2019-12-27

Abstract

• In the progress of retinal angiogenesis, sprouting angiogenesis plays an important role in retinal normal development and neovascular diseases. The structural and functional integrities of vascular endothelial cells are essential condition of sprouting angiogenesis. Vascular

endothelial cells possess various subtypes, each of which plays a different role in sprouting angiogenesis. Many mechanisms participate in the regulation of endothelial cells under physiological and pathological conditions, such as biological signaling pathway, metabolism, immune inflammation and non-coding RNA. In this review, we provided a brief overview of the role and the related regulatory mechanisms of vascular endothelial cells in retinal sprouting angiogenesis.

• **KEYWORDS:** vessel endothelial cell; Tip cell; Stalk cell; sprouting angiogenesis; signal path; endothelial metabolism; regulatory mechanism

Citation: Yao MD, Sun TT, Jiang Q. Function of vascular endothelial cells in retinal budding angiogenesis and its regulatory mechanism. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020;20(2):251-254

0 引言

血管生成 (angiogenesis) 主要包括两种方式, 即出芽式血管生成 (sprouting angiogenesis) 和分裂式血管生成 (splitting angiogenesis)^[1]。出芽式血管生成过程主要包括毛细血管基底膜的酶降解, 减弱内皮细胞 (endothelial cells, ECs) 间连接, ECs 向着血管生成刺激因子引导方向增殖、出芽, 并发出细长的丝状伪足 (filopodia)^[2]。丝状伪足分泌蛋白水解酶, 切割细胞外基质, 为血管出芽开辟道路。随后血管融合, 血管修剪, 周细胞稳定^[3]。分裂式血管生成是指现有的血管仅通过细胞重组分裂成为两个血管, 其不依赖于细胞增殖或迁移。相较于出芽式血管生成, 分裂式血管生成是一种快速的血管生成方式, 通常发生在血管生成的早期^[4]。血管生成在胚胎发育和心血管成熟过程中发挥重要作用, 其正常发生高度依赖于血管内皮结构和功能的完整性。

1 ECs 的生理特性和功能

血管内皮从中胚层发育而来, 其是一个动态的器官, 主要含有三种 ECs, 即 Tip 细胞、Stalk 细胞、Phalanx 细胞^[5]。不同的 ECs 群具有不同的结构和功能, 共同参与出芽式血管生成, 调节血管形态和功能^[6]。

Tip 细胞和 Stalk 细胞位于血管出芽尖端, 富含多种血管生成因子受体, 可在血管生成信号的刺激下, 向无血管区域出芽形成新生血管^[7]。Tip 细胞的主要功能是引导 (guide) 血管生长方向^[8], 其含有丰富的丝状伪足, 突出于细胞表面, 在感知、迁移、细胞间交互作用中具有重要作用^[9]。在血管生长过程中, 丝状伪足探测组织环境, 引导新生血管沿血管生成因子浓度梯度生长, 并对给定的信号做出血管生长、停滞、转向或回退的反应^[10]。Tip 细胞与临近的血管出芽相联结, 交织形成血管网。Tip 细胞还含有其他多种细胞表面受体和分子, 参与细胞外基质降解和基底膜沉积^[11]。在出芽的部位紧随 Tip 细胞之后的是

Stalk 细胞,不同于 Tip 细胞的迁移能力,Stalk 细胞的主要功能是细胞增殖^[12],以保证出芽血管不断延长并形成管腔。此外,Stalk 细胞通过形成附着和紧密连接保证新生血管的稳定性和完整性^[13]。Stalk 细胞和 Tip 细胞存在相反的调控机制,在必要时可互换表型^[14]。

除 Tip 细胞和 Stalk 细胞,还有一种 ECs 是处于静止期的 Phalanx 细胞。单层静止的 Phalanx 细胞是构成血管内皮的重要部分,在血管腔和周围组织之间形成血管屏障,起到选择性滤过作用^[15]。在病理条件下,内皮屏障功能破坏,血管通透性增加,可引起组织水肿、血液渗漏,新生血管形成。Phalanx 细胞还参与凝血(血栓形成和纤溶)过程,同时在炎症、血管收缩与舒张等生理病理过程中发挥作用^[15]。静止的 Phalanx 细胞多停滞在 G0/G1 阶段,处于非分裂状态,但保持增殖能力,必要时会向增殖期转化^[16]。

ECs 在生理和病理性血管生成中发挥着重要作用,正常的 ECs 细胞结构和功能是血管正常发育的重要基础,而其异常状态则参与了一系列病理过程,包括动脉粥样硬化、糖尿病、肿瘤、新生血管性眼病等^[17]。在出芽式血管生成过程中,Tip 细胞和 Stalk 细胞发挥了主要作用,以下我们对这两种细胞的调控机制做一概述。

2 ECs 的调控机制

2.1 信号通路

参与血管生成过程的细胞因子有很多,如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及其受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)^[18]、Notch 及其配体(Jagged1; Delta-like ligand, Dll)^[19]、纤维母细胞生长因子(fibroblast growth factor2, FGF2)^[20]、血管生成素(angiopoietins, Ang1 和 Ang2)^[21]、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)^[22]等,其中 VEGF/VEGFR 和 Notch/Notch 配体参与了侵袭性血管出芽的早期过程。

2.1.1 VEGF/VEGFR 信号通路

在小鼠视网膜中,Tip 细胞的丝状伪足表达丰富的 VEGFR-2,相对缺氧的星形胶质细胞产生 VEGFA,与 VEGFR 结合,引导 Tip 细胞沿 VEGFA 的浓度梯度方向生长。同时,高浓度 VEGFA 激活其同源受体 VEGFR-2 可引发细胞内的信号级联反应,诱导静止 ECs 分化为 Tip 细胞^[23]。与 Tip 细胞相比,Stalk 细胞的 VEGFR-2 表达水平相对较低,增殖形成新生血管主干^[24]。新生血管尖端相互吻合,形成环状的血管网络。近年来有研究表明,VEGFR-3 在 Tip 细胞中高表达,在小鼠发育期阻断 VEGFR-3 表达可使视网膜血管生成减少,刺激 VEGFR-3 同时抑制 VEGFR-2 仍可增加 VEGFA 诱导的血管生成,刺激血管生长,说明 VEGFR-3 可能也是血管生成的重要受体^[25]。另有研究表明,Stalk 细胞高表达 VEGFR-1,抑制 VEGFR-2,从而抑制临近细胞的 Tip 细胞表型。如今市场抗新生血管生成药物多针对 VEGFR-2,根据基础研究的结果,VEGFR-3 在血管生成中可能也发挥至关重要的作用,结合 VEGFR-3 在淋巴生成中的重要作用,也许未来可以解释抗 VEGF 治疗不敏感的现象。

在早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP)、糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)、湿性年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, ARMD)等视网膜新生血管性眼病中,VEGF 表达异常是视网膜簇状病理性新生血管生成和渗漏形成的主要原因,因此引发的视网膜下积液、水肿和视网膜脱离会对视力产生

不可逆性损伤^[26]。因此,针对 VEGF/VEGFR 以及与其他信号间的关系,还需大量基础与临床实验进行探索挖掘,以期找到更精准的治疗靶点,针对不同病例提供个体化治疗方案,实现精准医疗的目标。

2.1.2 Notch/Delta 信号通路

越来越多的证据表明 Notch 信号在血管系统的发育和稳态中的重要性。Notch 信号通路包括 4 种不同的跨膜受体(Notch1~4)和 5 种配体(Dll1/3/4 和 Jagged1/2)。Tip 细胞高表达 Dll4,通过 Notch 信号来抑制相邻 Stalk 细胞出现 Tip 细胞表型^[27]。主要过程为低氧等刺激因素诱导 VEGF 信号通路活化,VEGFA 激活 Tip 细胞的膜结合配体 Dll4,Dll4 信号传导至邻近 ECs 中,当 Dll4 与相邻细胞 Notch 受体 Notch1 相结合, γ -分泌酶即切割 Notch1 在该细胞质中的蛋白结构域使其转运至细胞核中,Notch1 通过其下游效应子 basic helix-loop-helix(bHLH)转录抑制因子 HEY1(HESR1)与 VEGFR-2 启动子结合,直接抑制 VEGFR-2 的表达,同时可抑制 VEGFR-3 的表达^[27]。暴露于高浓度 VEGFA 的 ECs 最有可能成为 Tip 细胞。在野生型小鼠视网膜中,使用 Notch 信号激活剂可抑制 Tip 细胞形成,减少血管密度;而抑制 Notch 信号,如使用 Notch 抑制剂可刺激 Tip 细胞增多,增加血管密度,但同时视网膜辐射状生长减慢^[28]。另有研究发现,在野生型小鼠视网膜中,Tip 细胞表达高水平 Dll4^[29]。在 Dll4^{+/-}视网膜中,尖端后段血管显示出严重的结构缺陷,形成多分支、高灌注的血管丛形态^[29]。血管尖端和血管丛的丝状伪足均大量增多。Dll4^{+/-}血管还表达较高的 VEGFR-2、pdgfb 和 unc5b 等,对 VEGF 信号具有更强的响应能力,导致具有 Tip 表型的 ECs 增多,因此视网膜血管表现出形态学变化(丝状伪足增多)和行为学变化(血管高灌注)^[30]。这些证据表明 Dll4^{+/-}血管可能存在增殖缺陷,但其血管是有功能的,而血管的主要缺陷是由不适当且过度的血管出芽导致的。大量证据表明,Notch/Dll4 和 VEGF 共同协调血管网的形成过程,说明 Notch 及其下游信号介导的 ECs 形态和功能的改变可能是治疗视网膜新生血管性疾病的重要方向。

2.1.3 其他信号通路

FGF2 和 VEGFA 在体内和体外都是强有力的血管生成诱导因子,共同参与调控生理性和病理性血管生成过程。FGF2 通过自分泌和旁分泌的形式诱导 ECs 中 VEGFA 的表达^[31]。Ang1 和 Ang2 是血管生成的关键调控因子,病理刺激作用下的 ECs 可产生大量 Ang1/2,Ang1/2 与内皮特异性受体酪氨酸激酶 2(endothelial-specific receptor tyrosine kinase 2, Tie2)结合,通过 Tie2-整合素(integrin)轴调控 ECs 对外源性细胞因子的反应性,调控 Tip 细胞迁移影响血管出芽过程^[32]。另有研究表明,Ang2 可能是海马相关蛋白(hippo-yes-associated protein, YAP)的潜在转录靶点,YAP 可增加 Ang2 表达,调节 ECs 的功能;HGF 在血管生成时与其同源受体肝细胞生长因子受体(mesenchymal-epithelial transition factor, Met)相互作用,通过增强 VEGF 的表达促进血管生成,而 VEGF 是血管生成的主要介质之一^[33]。HGF-Met 信号通路可触发一系列下游信号转导通路,包括磷脂酰肌醇-3 激酶(PI3k)和 Akt,参与细胞迁移^[34];哺乳动物不育系 20 样激酶 1(mammalian sterile 20-like kinases 1, MST1)受氧化应激等刺激后活化,磷酸化其底物叉头框蛋白 O1(forkhead box protein O1, FOXO1),形成 MST1-FOXO1 信号通路。FOXO1 在血管生成过程中可减少 ECs 糖酵解、线粒体呼吸,MST1 作为 FOXO1 的上游调节子,通过建立 Tip 细胞

极性来调节出芽式血管生成^[35]。

2.2 ECs 代谢 近年研究表明,ECs 代谢参与了血管出芽过程,这对生长因子的调控决定血管生成的传统理念提出了挑战。

2.2.1 糖酵解 在出芽式新生血管发生时,Tip 细胞迁移至无血管的相对低氧微环境中,需利用无氧代谢产生能量。因此糖酵解活性高是 Tip 细胞的代谢特征之一^[36]。在 ROP 和脉络膜新生血管 (choroidal neovascularization, CNV) 发生过程中,糖酵解对视网膜血管丛的形成具有重要作用。当病理性新生血管生成时,VEGF 浓度增高,糖酵解调节剂 6-磷酸果糖-2-激酶/果糖-2,6-双磷酸酶 3 (PFKFB3) 会相应增高,增加 Tip 细胞活性,并促进 Stalk 细胞转化为 Tip 细胞;反之当 PFKFB3 基因表达下降或被药物阻断,Tip 细胞在血管尖端的竞争力随之减弱,血管生长减慢^[37]。因此,通过阻断 PFKFB3 联合抗 VEGF 治疗可能是促使血管出芽正常化的有效手段^[37]。

糖酵解酶己糖激酶 2 (HK2) 在血管生成和淋巴生成中也起到了关键作用。胚胎发育过程中敲除 HK2 会引起血管生成减慢,减少 Tip 细胞和血管分叉点 (branch points) 的数量^[38]。在 DR 中,糖代谢异常引起早期视网膜血管细胞死亡和无细胞毛细血管生成。高血糖状态下 ECs 氧化应激反应升高,糖酵解酶磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPDH) 失活,导致糖酵解中间产物积累^[39]。过量的葡萄糖随后被分流到多元醇途径,消耗烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) 并增加氧化应激反应^[39]。总的来说,这些发现证实了 ECs 代谢在各种新生血管性眼病中的意义。

2.2.2 胆固醇代谢 除外糖酵解,胆固醇的周转和外排对于维持正常的细胞功能也是必不可少的。胆固醇过量会导致细胞异常增殖、迁移、炎症反应和死亡^[40]。载脂蛋白 A-I (apolipoprotein A-I, apoA-I) 结合蛋白 (apoA-I binding protein, AIBP) 加速胆固醇从 ECs 流出到高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein, HDL), 从而调控血管生成^[41]。AIBP 和 HDL 介导的胆固醇损耗减少了细胞膜脂筏形成,而脂筏是 VEGFR-2 二聚和内吞所必需的结构,因此胆固醇的过度损耗可抑制 VEGF 诱导的血管生成^[41]。在斑马鱼胚胎中,Tip 细胞的脂筏含量比 Stalk 细胞高,提示在出芽尖端的 VEGFR2 信号通路存在胆固醇依赖的正向调控,干扰胆固醇外排可导致血管生成失调^[42]。据此可推测,胆固醇代谢可通过影响 VEGF/VEGFR 信号调控视网膜新生血管性眼病的进展。

2.2.3 谷氨酰胺代谢 ECs 可表达谷氨酰胺合成酶 (glutamine synthetase, GS), GS 不仅可从头合成谷氨酰胺,还可以清除体内多余的氨^[43]。内皮 GS 缺陷可引起 ECs 迁移失调,减少出芽式血管生成,从而减少眼部病理性血管生成。这种作用可能是通过 GS 调节 RHOJ 信号来实现的,但这两者之间的具体作用机制尚不清楚^[44]。此外,内皮 GS 缺陷不会引起 ECs 增殖障碍,说明 GS 功能缺陷与否与 Stalk 细胞关系并不大^[44]。总之由于 GS 在血管生成中的重要作用,谷氨酰胺代谢在视网膜新生血管性眼病中也发挥了一定作用,其具体机制仍需进一步探究。

2.3 免疫炎症 自身反应性 CD4⁺T 细胞浸润损伤的炎症组织,可促进周围血管的愈合。其中 CD4⁺T 细胞亚群 Th1 和 Th17 分泌的细胞因子能够直接促进 ECs 出芽,在缺血性损伤中促进血管生成和血液灌注^[45]。说明 CD4⁺T 细胞可能是参与调控新生血管性眼病中 ECs 功能的重要细胞群。此外,近年研究表明白介素-17A (interleukin-17A,

IL-17A) 在血管生成过程中参与 ECs 和巨噬细胞的串扰 (crosstalk)。在 ROP 动物模型实验中发现,IL-17A 水平随病情进展而升高,其通过调节 VEGF 信号通路调节新生血管生成,抑制 IL-17A 表达可显著减少新生血管生成。同时,IL-17A 基因缺陷可促使巨噬细胞向 M2 表型转变。IL-17A 可通过调节巨噬细胞极性和调节 VEGF 表达来调控 ECs 增殖、迁移和出芽,从而调控炎症反应和组织修复过程,说明 IL-17A 可能是治疗眼部新生血管性疾病的潜在靶点^[46]。

2.4 非编码 RNA 非编码 RNA (non-coding RNA, ncRNA) 是转录组中不翻译为蛋白质的 RNA 分子,包括微小 RNA (microRNA, miRNA) 等相对分子量较小的 RNA 和长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 等相对分子量较大的 RNA。研究表明,许多 ncRNA 在血管生成过程中发挥作用。ECs 中 miRNA-302-367 的升高可通过 Erk 1/2-Klf2-S1pr1 通路减少视网膜新生血管的生成,并促进血管的稳定性^[47]; miRNA-223 的过表达可减少 VEGF 和 FGF 诱导的细胞增殖、迁移和出芽,其可能是通过靶向 β 1 整合素 (β 1 integrin) 发挥抗血管生成的作用^[48]; lncRNA-MALAT1 的沉默可增加 Tip 细胞迁移和出芽,但抑制 Stalk 细胞增殖,因此可减少视网膜病理性新生血管生成^[49]。许多研究表明,ncRNA 通过调控不同信号转导和蛋白表达的参与视网膜新生血管性眼病的发生发展,在表观遗传学的调控中扮演了越来越重要的角色,但是其潜能仍需大量基础和临床研究进行验证,以期为人们从基因表达调控网络的维度来认识生命体的复杂性开启新的天地。

3 总结与展望

ECs 尤其是血管尖端的 Tip 细胞和 Stalk 细胞在视网膜出芽式血管生成中发挥了重要功能,参与了视网膜生理性血管发育和病理性新生血管形成的重要过程。其调控机制有很多,多种信号通路、ECs 代谢、免疫炎症、ncRNA 等均参与了 ECs 的调控作用,但绝大多数调控机制均是通过 VEGF/VEGFR 通路发挥作用的。因此针对 VEGF/VEGFR 的治疗仍是临床中抗新生血管生成的重要方法,但是针对其他上游机制的研究可能为靶向性治疗提供新思路。

参考文献

- Mentzer SJ, Konerding MA. Intussusceptive angiogenesis: expansion and remodeling of microvascular networks. *Angiogenesis* 2014; 17(3): 499-509
- Usuba R, Pauty J, Soncin F, et al. EGFL7 regulates sprouting angiogenesis and endothelial integrity in a human blood vessel model. *Biomaterials* 2019; 197: 305-316
- Senger DR, Davis GE. Angiogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011; 3(8): a005090
- Gianni-Barrera R, Butschkau A, Uccelli A, et al. PDGF-BB regulates splitting angiogenesis in skeletal muscle by limiting VEGF-induced endothelial proliferation. *Angiogenesis* 2018; 21(4): 883-900
- Vandekeere S, Dewerchin M, Carmeliet P. Angiogenesis revisited: an overlooked role of endothelial cell metabolism in vessel sprouting. *Microcirculation* 2015; 22(7): 509-517
- Blancas AA, Wong LE, Glaser DE, et al. Specialized tip/stalk-like and phalanx-like endothelial cells from embryonic stem cells. *Stem Cells Dev* 2013; 22(9): 1398-1407
- Weinstein N, Mendoza L, Gitler I, et al. A network model to explore the effect of the micro-environment on endothelial cell behavior during angiogenesis. *Front Physiol* 2017; 27(8): 960
- Salvador J, Davis GE. Evaluation and characterization of endothelial

- cell invasion and sprouting behavior. *Methods Mol Biol* 2018; 1846: 249–259
- 9 Kim YH, Choi J, Yang MJ, *et al.* A MST1 – FOXO1 cascade establishes endothelial tip cell polarity and facilitates sprouting angiogenesis. *Nat Commun* 2019; 10(1): 838
- 10 Benz PM, Ding Y, Stingl H, *et al.* AKAP12 deficiency impairs VEGF-induced endothelial cell migration and sprouting. *Acta Physiol (Oxf)* 2020; 228(1): e13325
- 11 Germain S, Monnot C, Muller L, *et al.* Hypoxia-driven angiogenesis: role of tip cells and extracellular matrix scaffolding. *Curr Opin Hematol* 2010; 17(3): 245–251
- 12 Chen W, Xia P, Wang H, *et al.* The endothelial tip – stalk cell selection and shuffling during angiogenesis. *J Cell Commun Signal* 2019; 13(3): 291–303
- 13 Jacobs KA, Gavard J. 3D Endothelial Cell Migration. *Methods Mol Biol* 2018; 1749: 51–58
- 14 Pitulescu ME, Schmidt I, Giaimo BD, *et al.* Dll4 and Notch signalling couples sprouting angiogenesis and artery formation. *Nat Cell Biol* 2017; 19(8): 915–927
- 15 De Bock K, De Smet F, Leite De Oliveira R, *et al.* Endothelial oxygen sensors regulate tumor vessel abnormalization by instructing phalanx endothelial cells. *J Mol Med (Berl)* 2009; 87(6): 561–569
- 16 Bautch VL. Endothelial cells form a phalanx to block tumor metastasis. *Cell* 2009; 136(5): 810–812
- 17 Laakkonen JP, Lähteenvuo J, Jauhiainen S, *et al.* Beyond endothelial cells: Vascular endothelial growth factors in heart, vascular anomalies and placenta. *Vascul Pharmacol* 2019; 112: 91–101
- 18 Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9(6): 669–676
- 19 Benedito R, Roca C, Sörensen I, *et al.* The notch ligands Dll4 and Jagged1 have opposing effects on angiogenesis. *Cell* 2009; 137(6): 1124–1135
- 20 Litwin M, Radwańska A, Paprocka M, *et al.* The role of FGF2 in migration and tubulogenesis of endothelial progenitor cells in relation to pro-angiogenic growth factor production. *Mol Cell Biochem* 2015; 410(1–2): 131–142
- 21 Michalska-Jakubus M, Cutolo M, Smith V, *et al.* Imbalanced serum levels of Ang1, Ang2 and VEGF in systemic sclerosis: Integrated effects on microvascular reactivity. *Microvasc Res* 2019; 125: 103881
- 22 Naito A, Sakao S, Lang IM, *et al.* Endothelial cells from pulmonary endarterectomy specimens possess a high angiogenic potential and express high levels of hepatocyte growth factor. *BMC Pulm Med* 2018; 18(1): 197
- 23 Jin Y, Muhl L, Burmakin M, *et al.* Endoglin prevents vascular malformation by regulating flow-induced cell migration and specification through VEGFR2 signalling. *Nat Cell Biol* 2017; 19(6): 639–652
- 24 Jarad M, Kuczynski EA, Morrison J, *et al.* Release of endothelial cell associated VEGFR2 during TGF- β modulated angiogenesis *in vitro*. *BMC Cell Biol* 2017; 18(1): 10
- 25 Tammela T, Zarkada G, Nurmi H, *et al.* VEGFR-3 controls tip to stalk conversion at vessel fusion sites by reinforcing Notch signaling. *Nat Cell Biol* 2011; 13(10): 1202–1213
- 26 Campbell M, Doyle SL. Current perspectives on established and novel therapies for pathological neovascularization in retinal disease. *Biochem Pharmacol* 2019; 164: 321–325
- 27 Kume T. Ligand-dependent Notch signaling in vascular formation. *Adv Exp Med Biol* 2012; 727: 210–222
- 28 Nedvetsky PI, Zhao X, Mathivet T, *et al.* cAMP-dependent protein kinase A (PKA) regulates angiogenesis by modulating tip cell behavior in a Notch – independent manner. *Development* 2016; 143(19): 3582–3590
- 29 Stenzel D, Franco CA, Estrach S, *et al.* Endothelial basement membrane limits tip cell formation by inducing Dll4/Notch signalling *in vivo*. *EMBO Rep* 2011; 12(11): 1135–1143
- 30 del Toro R, Prahst C, Mathivet T, *et al.* Identification and functional analysis of endothelial tip cell-enriched genes. *Blood* 2010; 116(19): 4025–4033
- 31 Zou QY, Zhao YJ, Zhou C, *et al.* G Protein α Subunit 14 Mediates Fibroblast Growth Factor 2 – Induced Cellular Responses in Human Endothelial Cells. *J Cell Physiol* 2019; 234(7): 10184–10195
- 32 Felcht M, Luck R, Schering A, *et al.* Angiopoietin-2 differentially regulates angiogenesis through TIE2 and integrin signaling. *J Clin Invest* 2012; 122(6): 1991–2005
- 33 Choi HJ, Zhang H, Park H, *et al.* Yes-associated protein regulates endothelial cell contact – mediated expression of angiopoietin – 2. *Nat Commun* 2015; 6: 6943
- 34 Trovato M, Torre ML, Ragonese M, *et al.* HGF/c – met system targeting PI3K/AKT and STAT3/phosphorylated – STAT3 pathways in pituitary adenomas: an immunohistochemical characterization in view of targeted therapies. *Endocrine* 2013; 44(3): 735–743
- 35 Xing YQ, Li A, Yang Y, *et al.* The regulation of FOXO1 and its role in disease progression. *Life Sci* 2018; 193: 124–131
- 36 Cruys B, Wong BW, Kuchnio A, *et al.* Glycolytic regulation of cell rearrangement in angiogenesis. *Nat Commun* 2016; 7: 12240
- 37 Schoors S, De Bock K, Cantelmo AR, *et al.* Partial and transient reduction of glycolysis by PFKFB3 blockade reduces pathological angiogenesis. *Cell Metab* 2014; 19(1): 37–48
- 38 Stapor P, Wang X, Goveia J, *et al.* Angiogenesis revisited – role and therapeutic potential of targeting endothelial metabolism. *J Cell Sci* 2014; 127: 4331–4341
- 39 Madsen-Bouterse S, Mohammad G, Kowluru RA. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in retinal microvasculature: implications for the development and progression of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51(3): 1765–1772
- 40 Mast N, Reem R, Bederman I, *et al.* Cholestenic acid is an important elimination product of cholesterol in the retina: comparison of retinal cholesterol metabolism with that in the brain. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(1): 594–603
- 41 Joyal JS, Sun Y, Gantner ML, *et al.* Retinal lipid and glucose metabolism dictates angiogenesis through the lipid sensor Ffar1. *Nat Med* 2016; 22(4): 439–445
- 42 Wei Q, Zhang F, Richardson MM, *et al.* CD82 restrains pathological angiogenesis by altering lipid raft clustering and CD44 trafficking in endothelial cells. *Circulation* 2014; 130(17): 1493–1504
- 43 Teuwen LA, Geldhof V, Carmeliet P. How glucose, glutamine and fatty acid metabolism shape blood and lymph vessel development. *Dev Biol* 2019; 447(1): 90–102
- 44 Eelen G, Dubois C, Cantelmo AR, *et al.* Role of glutamine synthetase in angiogenesis beyond glutamine synthesis. *Nature* 2018; 561(7721): 63–69
- 45 Tesmer LA, Lundy SK, Sarkar S, *et al.* Th17 cells in human disease. *Immunol Rev* 2008; 223: 87–113
- 46 Lv Q, Wu K, Liu F, *et al.* Interleukin17A and heparanase promote angiogenesis and cell proliferation and invasion in cervical cancer. *Int J Oncol* 2018; 53(4): 1809–1817
- 47 Jakob P, Landmesser U. Role of microRNAs in stem/progenitor cells and cardiovascular repair. *Cardiovasc Res* 2012; 93(4): 614–622
- 48 Pi J, Tao T, Zhuang T, *et al.* A microRNA302–367–Erk1/2–Klf2–S1pr1 pathway prevents tumor growth via restricting angiogenesis and improving vascular stability. *Circ Res* 2017; 20(1): 85–98
- 49 Puthanveetil P, Chen S, Feng B, *et al.* Long non – coding RNA MALAT1 regulates hyperglycaemia induced inflammatory process in the endothelial cells. *J Cell Mol Med* 2015; 19(6): 1418–1425