

脉络膜新生血管相关信号通路研究进展

邓宝娣^{1,2}, 李嘉², 王庭槐¹

引用: 邓宝娣, 李嘉, 王庭槐. 脉络膜新生血管相关信号通路研究进展. 国际眼科杂志 2019; 19(5): 762-765

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81572585, 81670873)

作者单位: ¹(510275) 中国广东省广州市, 中山大学中山医学院生理学教研室; ²(510060) 中国广东省广州市, 中山大学中山眼科中心 眼科学国家重点实验室

作者简介: 邓宝娣, 在读硕士研究生, 研究方向: 雌激素在眼部新生血管性疾病发生发展中的作用机制。

通讯作者: 王庭槐, 教授, 博士研究生导师, 国家级教学名师, 广东省生理学会理事长, 研究方向: 心血管生理学、生物反馈。wangth@mail.sysu.edu.cn

收稿日期: 2018-11-02 修回日期: 2019-04-02

摘要

脉络膜新生血管 (CNV) 又称视网膜下新生血管, 是多种眼底病的基础病理改变, 也是导致黄斑区病理性损害和严重视功能障碍的常见原因。目前 CNV 的治疗研究多以血管内皮生长因子 (VEGF) 信号通路为靶向治疗, 但其存在疗效不持久、需重复注射以及眼内注射可能带来的副作用等问题。因此, 进一步研究 CNV 发生发展进程中可能具有重要影响作用的信号通路, 对研发治疗 CNV 的新药物和新技术具有十分重要的作用。本文综述目前已报道的 CNV 相关信号通路的研究进展, 以期深入了解 CNV 的发生发展进程, 并为相关疾病的诊疗提供新思路。

关键词: 脉络膜新生血管; VEGF 信号通路; Wnt 信号通路; Shh 信号通路; TGF- β /Smad 信号通路; Notch 信号通路
DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2019.5.12

Recent advances in signaling pathways related to choroidal neovascularization

Bao-Di Deng^{1,2}, Jia Li², Ting-Huai Wang¹

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No.81572585, 81670873)

¹Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, Guangdong Province, China; ²Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, Guangdong Province, China

Correspondence to: Ting-Huai Wang. Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, Guangdong Province, China. wangth@mail.sysu.edu.cn

Received: 2018-11-02 Accepted: 2019-04-02

Abstract

• Choroid neovascularization is the characteristic

pathological change of many fundus diseases and is the most common cause for severe vision loss and metamorphopsia. Among the pathogenic factors, VEGF is considered to be the most important and treatment targeting VEGF showed promising results. However, anti-VEGF agents need to be administrated frequently and they are usually expensive. Also, some patients got no response to this treatment. These facts force us to find other pathway that involves in the formation of CNV. This article reviews the latest research on CNV-related signaling pathways so as to provide a deeper look into CNV and hopefully point out new directions for treating diseases that share similar pathogenesis.

• KEYWORDS: choroid neovascularization; VEGF signaling pathway; Wnt signaling pathway; Shh signaling pathway; TGF- β /Smad signaling pathway; Notch signaling pathway

Citation: Deng BD, Li J, Wang TH. Recent advances in signaling pathways related to choroidal neovascularization. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019; 19(5): 762-765

0 引言

脉络膜新生血管 (choroid neovascularization, CNV) 又称视网膜下新生血管, 是年龄相关性黄斑变性^[1-2]、病理性近视^[3]、中心性渗出性脉络膜视网膜病变^[4]、息肉状脉络膜血管病变^[5]、特发性脉络膜新生血管^[6]、眼组织胞浆菌病综合征^[7]等多种眼内疾病的基本病理改变, 常累及黄斑, 导致中心视力的严重损害。随着眼底荧光素血管造影 (fundus fluorescein angiography, FFA)、吲哚菁绿血管造影 (indocyanine green angiography, ICGA) 及光学相干断层扫描 (optical coherence tomography, OCT) 的广泛应用, 人们认识到 CNV 是多种眼底病的重要病理现象^[8-9]。CNV 来自脉络膜毛细血管, 经 Bruch 膜 (Bruch's membrane, BrM) 入侵视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 层和 Bruch 膜, 因新生血管结构不完整, 渗漏的液体积聚在 RPE 层和视网膜之间, 使感光细胞与 RPE 层分离, 最终导致失明^[10]。目前对 CNV 的研究多与视网膜新生血管交叉, 但是与视网膜新生血管不同, 单纯在 RPE 表达血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的转基因小鼠不足以诱发 CNV, 需要视网膜下注射操作产生的炎症反应才能实现^[11], 且二者在病理学上也有很多不同之处。因此, 进一步研究 CNV 的发生发展机制对其诊疗具有重要意义。目前研究报道的与 CNV 相关的信号通路主要包括 5 条, 分别为 VEGF 信号通路、Wnt 信号通路、Shh (sonic hedgehog) 信号通路、转化生长因子 (transforming growth factor, TGF)- β /Smad 信号通路和 Notch 信号通路。下面我们将分别阐述这 5 条信号通路在 CNV 发生发展中的研究进展。

1 VEGF 信号通路

VEGF 作为强大的促血管生成因子,其在各类新生血管性疾病包括各种眼底血管疾病、肿瘤、伤口愈合等过程中的作用已有大量研究,其中以 VEGF-A/VEGFR-2 信号通路研究最多^[12]。关于 CNV 的研究也以 VEGF-A 信号通路研究为主^[13]。VEGF-A 与其受体结合后,可调节血管内皮细胞,促进血管生成并增加血管通透性,因此 VEGF-A 及其受体也是 CNV 治疗的靶分子。经典的 VEGF 通路为 VEGF-A 与 VEGFR-2 相连后,形成二聚体,并激活受体激酶活性,从而催化受体自体磷酸化。磷酸化后的受体反过来可募集相关蛋白并激活多种胞内信号通路,如 Y1175 残基磷酸化可诱导磷脂酶 (phospholipase, PLC) γ - 依赖的钙离子动员和激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC),进而激活丝裂原活化蛋白激酶通路,导致细胞持续增殖^[12]。目前,玻璃体内注射抗 VEGF 单克隆抗体仍是治疗 CNV 的主要方法,然而仍有高于 60% 的年龄相关性黄斑变性患者接受此治疗后视力情况并未改善^[14],因此,在研究 CNV 具体发生发展机制以及研发更有效的治疗方式或者药物时,仅仅局限于 VEGF 信号通路是远远不够的。

2 经典 Wnt 信号通路

Wnt 是一类富含半胱氨酸的分泌型糖蛋白,与卷曲蛋白 (frizzled, Fz) 受体或 Fz/低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL) 受体相关蛋白 5/6 (low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6, LRP5/6) 共受体结合,从而调节众多靶基因的表达。当 Wnt 与 LRP5/6 共受体结合,可保护转录因子 β -连环蛋白 (β -catenin) 免受磷酸化降解,进而 β -catenin 在胞内蓄积, β -catenin 转位至核内从而调节包括 VEGF 在内的靶基因的表达。如 Wnt 缺失, β -catenin 则会由含糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinases-3 β , GSK-3 β) 的蛋白复合物磷酸化降解^[15]。研究发现,Wnt 信号通路与活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 信号通路间可能存在恶性循环调节机制,加重 CNV 形成^[16]。Wnt 信号通路还可增强核因子- κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 信号通路的免疫反应,加重 CNV 进展^[17]。在渗出型年龄相关性黄斑变性,上调 Wnt 信号通路可激活磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B, PI3K/Akt) 信号通路,进而激活氧诱导因子- α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α) 信号通路,HIF- α 可激活葡萄糖转运蛋白 (glucose transport albumen, Glut)、己糖激酶 (hexokinase, HK)、丙酮酸脱氢酶激酶 (pyruvate dehydrogenase kinase, PDK)、乳酸脱氢酶 A (lactate dehydrogenase - A, LDH - A)、单羧酸转运蛋白-1 (monocarboxylate transporter-1, MCT-1) 等糖酵解酶,引发有氧糖酵解,使视网膜内皮细胞胞内产生过多乳酸,进而激活 VEGF 活性,形成 CNV^[17]。最新一项体外人脐静脉实验发现,Wnt/ β -catenin 信号通路通过氧化应激介导了氧化低密度脂蛋白 (oxidized low-density lipoprotein, ox-LDL) 引起的人脐静脉内皮细胞损伤^[18]。鉴于 Wnt 信号通路在 CNV 发生发展过程中扮演与多通路交互作用的角色,其特异性阻断剂能否有效抑制人 CNV 进展甚至使已有的损伤好转,亟需进一步的临床试验加以验证。

3 Shh 信号通路

哺乳动物体内含有 3 种 Hh (hedgehog) 基因:Shh、Ihh

(indian hedgehog)、Dhh (desert hedgehog)^[19]。其中,Shh 是发育过程中一个强大的血管生成因子^[19],癌症发生过程中表达升高^[13]。Hedgehog 信号通路主要由信号分子 Hh、膜受体修补蛋白 (patched, Ptc)、Smo (smoothened) 以及某些中间信号转导分子和核转录因子翅脉中断基因 (cubitus interruptus, Ci)/胶质瘤相关原癌基因同源物 (glioma-associated oncogene homolog, Gli) 等组成^[20]。Hedgehog 信号通路为配体 Shh 与 Ptc 受体结合后,Ptc 解除对 Smo 的抑制,Smo 的 C-末端进而被蛋白激酶 A (protein kinase A, PKA)、酪蛋白激酶 1 (casein kinase 1, CK1)、G 蛋白偶联受体 2 (G protein-coupled receptor kinase 2, Gprk2) 等激酶磷酸化激活,促使 Smo 在纤毛内聚集并打开构象,进而与埃利伟氏综合症基因 (Ellis-van Creveld/Ellis-van Creveld-2, Evc/Evc2) 结合形成 Smo/Evc/Evc2 复合物,驱动蛋白家族成员 7 (kinesin-like protein family member 7, KIF7) 受 Hh 募集并激活此复合物,从而募集激酶磷酸化 Gli 蛋白,磷酸化的 Gli 易位到细胞核中,激活 Shh 靶基因^[21]。最初发现 Hedgehog 可能与 CNV 相关是因为一项全基因组关联分析发现 Shh 信号通路元件 Gli2 和 Gli3 与年龄相关性黄斑变性密切相关^[22]。最新研究发现,Shh 信号通路与年龄相关性黄斑变性中 CNV 密切相关,用环巴胺 (cyclopamine) 抑制 Shh 信号通路可减小激光诱导的 CNV 损伤,而用其激活剂 purmorphamine 可使新生血管面积显著增大^[19,23],且 Shh 通路是通过上调下游的 HIF-1 α -VEGF- δ 样配体 4 (delta-like ligand 4, DLL4) 级联反应起作用的^[23]。可见 Shh 信号通路在 CNV 形成过程中的作用同样不容小觑,其调节 HIF-1 α -VEGF 信号通路的具体机制还需进一步探究。

4 TGF- β /Smad 信号通路

TGF- β 是一种多效细胞因子,其介导的信号通路参与细胞增殖、分化、血管生成、神经元生长、炎症、纤维化过程和免疫监测等^[14]。目前发现的 TGF- β 有 6 种类型亚型,而哺乳动物中则有 TGF- β 1、TGF- β 2 及 TGF- β 3 三个亚型,其体外性质类似,但体内效应不同^[24]。TGF- β 有 I 型和 II 型两个重要的受体^[25]。成熟的 TGF- β 1 在发挥作用时首先与 TR II 结合,诱导其磷酸化再与 TR I 结合形成二聚体复合物,该复合物可使调节受体的 Smads 蛋白 (Smad2 和 Smad3) 磷酸化,磷酸化后的 Smads 蛋白与结合型 Smads 蛋白 (Smad4) 结合为 Smads 复合物并移位至细胞核,再与其它转录因子共同调节靶基因的转录^[14]。多项研究发现,在激光光凝诱导的鼠 CNV 模型中,TGF- β /Smad 信号通路通过调节促血管生长因子肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 、VEGF 的表达在 CNV 的进展中发挥重要作用,而特异性 TGF- β 均能有效抑制 CNV 的形成^[14,24]。然而,有学者则发现,TGF- β 具备稳定脉络膜和视网膜血管的作用,特异性阻断其在眼内血管内皮细胞上的主要信号通路,足以诱发 CNV^[25]。考虑到前两者用的 TGF- β 抑制剂为对 TR I 具特异性抑制作用或对 TGF- β 各种亚型均具有特异性抑制作用,而后者则特异性敲除 TR II,我们猜想,TR I 在 CNV 的形成中起促进作用,而 TR II 在血管正常更新中起重要作用,从而导致抑制不同的 TR 出现相反的作用。然而,其具体作用机制及此说法是否成立,还需进一步研究加以验证。

5 Notch 信号通路

Notch 信号的传递可在多种过程中发挥调节作用,如血管发生、肌发生、神经生成和发生及造血等过程,并且决定不同组织中各种细胞类型的生长、分化和存活^[26]。Notch 信号通路的激活有两种方式:Notch 经典传导途径和 CSL[DNA 结合蛋白在哺乳动物、果蝇、线虫的名称分别为 C-启动子结合蛋白-1(C-promoter binding protein-1, CBF-1)、无毛抑制因子(suppressor of hairless, SuH)及 Lag-1,合称 CSL]非依赖途径,体内以经典传导途径为主^[27]。Notch 配体与其受体的细胞外结构域结合,在 γ -分泌酶依赖性蛋白水解酶作用下裂解释放 Notch 细胞内结构域入核,随后 Notch1 与 CSL 结合并将其转录抑制因子转化为转录激活物复合体,从而作用于下游靶基因^[28]。近年研究发现,Notch 信号在血管生成中扮演重要角色,在内皮细胞增殖、迁移、血管分化和血管形成等过程中发挥重要作用^[29]。多项研究发现,Notch 信号通路可负向调控病理性眼的血管生成,而减弱 Notch 信号通路可加重 CNV 带来的损伤^[27,30]。然而根据最新研究报道,敲除骨髓细胞中的 Notch 信号通路可抑制激光损伤后视网膜和脉络膜中的早期炎症反应,减少脉络膜中 Arg1 阳性单核细胞在脉络膜中的聚集,从而抑制 VEGF 和 TNF- α 的产生,进而抑制 CNV 的形成^[26],这一截然相反的结果,可能是由于不同的细胞类型中 Notch 信号通路对 CNV 形成与发展具有不同的作用。因此,需进一步明确 Notch 信号通路在 CNV 发生发展中的作用,有利于我们深入理解 CNV 中免疫反应与新生血管形成的交互作用。

6 其它相关影响因素

近年来,炎症反应在 CNV 发生发展中的作用引起人们的关注。有研究报道表达于 CNV 内皮细胞上的 γ 干扰素诱导蛋白(interferon- γ inducible protein 10, IP-10)/CXC 趋化因子受体 3(CXC chemokine receptor 3, CXCR3)信号通路具有抑制 CNV 的作用,其机制可能与 IP-10/CXCR3 信号通路影响病灶部位炎症反应相关^[31]。而最新的一项临床试验显示湿性年龄相关性黄斑变性患者眼内 IP-10 水平明显较白内障患者高,玻璃体腔注射阿柏西普(afibercept)后,IP-10 的水平进一步升高^[32],证实了 IP-10 在 CNV 发生发展中起抗新生血管作用的假设。此外,基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)^[33-34]、Toll 受体(toll-like receptors, TLRs)^[35]、骨桥蛋白(osteopontin, OPN)^[36]等因子在 CNV 中的作用也有报道,阐明上述因子与 CNV 的关系将有助于加深我们对 CNV 的理解。

7 展望

了解上述信号通路在其它生理病理过程中的交互作用,也能给 CNV 的研究带来一定的启发。研究表明,在大肠肿瘤中 Wnt 信号通路可以上调 VEGF 表达^[37],间质间充质细胞中的 Shh 信号通路可上调 VEGF 表达^[38],两者均有促进 VEGF 信号通路的作用,且在膀胱上皮干细胞中 Shh 信号通路通过上调基质中 Wnt 信号通路诱导尿路上皮细胞和基质细胞的增殖^[39],那么在新生血管形成中,Shh 信号通路是否通过上调 Wnt 信号通路从而调控 VEGF 信号通路?如是,其关键分子又是哪一个?另外,在自身免疫性心肌炎研究中,TGF- β 可通过诱导 Wnt 蛋白的分泌从而激活 Wnt 信号通路^[40],而 TGF- β 介导的上皮细胞向间充质细胞转化需要 Notch 信号通路的参与^[41],Notch

信号通路调控血管分支形成的作用也需要有 TGF- β 信号通路参与^[42]。另有研究报道肝嗜铬细胞中的 Wnt 信号通路通过上调锯齿状蛋白 1(jagged1b, jag1b)和锯齿状蛋白 2(jagged2b, jag2b)表达进而调控胆管上皮细胞中 Notch 信号活性^[43],那么 TGF- β 信号通路是否可能通过 Wnt 信号通路正反馈 Notch 信号通路,抑或只是不同组织细胞间不同信号通路竞争拮抗作用?若这些信号通路间相互作用的分子机制得以阐明,将有助于我们进一步加深对 CNV 及其它新生血管性疾病发病机制的认识。

综上所述,CNV 的形成是多条信号通路包括促血管生成因子、抑制血管生成因子及炎症因子等共同作用的结果,因此在 CNV 机制的研究过程中,不应只考虑促进新生血管形成的相关信号通路,而应考虑到其它一些信号通路的参与,如抑制新生血管的信号通路及免疫相关信号通路等,这些通路交互联系的作用同样在 CNV 的发生发展过程中具有重要作用,从而拓宽我们对 CNV 的认识。然而,目前大多数关于 CNV 治疗方案的研究多数是在改进抗 VEGF 治疗的给药方式或者研发新型抗 VEGF 药物^[44-45],各通路在 CNV 的具体作用尚未明确。在以后的研究中仍需要进一步阐明这些信号通路在 CNV 发生发展过程中的具体作用,从而为研制治疗 CNV 相关性疾病长期有效的防治方式提供思路。

参考文献

- 1 Feng L, Ju M, Lee KYV, et al. A proinflammatory function of toll-like receptor 2 in the retinal pigment epithelium as a novel target for reducing choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. *Am J Pathol* 2017;187(10):2208-2221
- 2 Zhao M, Xie W, Tsai SH, et al. Intravitreal stanniocalcin-1 enhances new blood vessel growth in a rat model of laser-induced choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59:1125-1133
- 3 Lee JH, Lee SC, Kim SH, et al. Choroidal thickness and chorioretinal atrophy in myopic choroidal neovascularization with anti-vascular endothelial growth factor therapy. *Retina* 2017;37(8):1516-1522
- 4 Yannuzzi LA, Slakter JS, Gross NE, et al. Indocyanine green angiography-guided photodynamic therapy for treatment of chronic central serous chorioretinopathy. *Retina* 2012;32(3):288-298
- 5 Cao XS, Peng XY, You QS, et al. Subfoveal choroidal thickness change after intravitreal ranibizumab for idiopathic choroidal neovascularization. *Retina* 2014;34(8):1554-1559
- 6 Kang HM, Koh HJ. Intravitreal anti-vascular endothelial growth factor therapy versus photodynamic therapy for idiopathic choroidal neovascularization. *Am J Ophthalmol* 2013;155(4):713-719
- 7 Toussaint BW, Kitchens JW, Marcus DM, et al. Intravitreal aflibercept injection for choroidal neovascularization due to presumed ocular histoplasmosis syndrome. *Retina* 2018;38(4):755-763
- 8 Pellegrini M, Corvi F, Say EAT, et al. Optical coherence tomography angiography features of choroidal neovascularization associated with choroidal nevus. *Retina* 2018;38(7):1338-1346
- 9 Serra R, Coscas F, Messaoudi N, et al. Choroidal Neovascularization in Malattia Leventinese Diagnosed Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Am J Ophthalmol* 2017;176:108-117
- 10 Coughlin B, Schnabolk G, Joseph K, et al. Connecting the innate and adaptive immune responses in mouse choroidal neovascularization via the anaphylatoxin C5a and $\gamma\delta$ T-cells. *Sci Rep* 2016;6:623796
- 11 Oshima Y, Oshima S, Namb H, et al. Increased expression of VEGF in retinal pigmented epithelial cells is not sufficient to cause choroidal neovascularization. *J Cell Physiol* 2004;201(3):393-400

- 12 Sivaraj KK, Li R, Albarran – Juarez J, *et al.* Endothelial Gαq/11 is required for VEGF – induced vascular permeability and angiogenesis. *Cardiovasc Res* 2015;108(1) :171–180
- 13 Nochioka K, Okuda H, Tatsumi K, *et al.* Hedgehog signaling components are expressed in choroidal neovascularization in laser – induced retinal lesion. *Acta Histochem Cytochem* 2016;49(2) :67–74
- 14 Wang X, Ma W, Han S, *et al.* TGF – β participates choroid neovascularization through Smad2/3 – VEGF/TNF – α signaling in mice with Laser – induced wet age – related macular degeneration. *Sci Rep* 2017; 7(1) :9672
- 15 Chen Y, Hu Y, Lu K, *et al.* Very low density lipoprotein receptor, a negative regulator of the wnt signaling pathway and choroidal neovascularization. *J Biol Chem* 2007;282(47) :34420–34428
- 16 Zhou T, Hu Y, Chen Y, *et al.* The pathogenic role of the canonical Wnt pathway in age – related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(9) :4371–4379
- 17 Vallée A, Lecarpentier Y, Guillevin R, *et al.* Aerobic Glycolysis Hypothesis Through WNT/Beta – Catenin Pathway in Exudative Age – Related Macular Degeneration. *J Mol Neurosci* 2017;62(3–4) :368–379
- 18 Ma S, Yao S, Tian H, *et al.* Pigment epithelium – derived factor alleviates endothelial injury by inhibiting Wnt/β – catenin pathway. *Lipids Health Dis* 2017;16(1) :31
- 19 Yang C, Chen W, Chen Y, *et al.* Smoothed transduces Hedgehog signal by forming a complex with Evc/Evc2. *Cell Res* 2012;22(11) :1593–1604
- 20 Zhao J, Xiao Z, Li T, *et al.* Stromal Modulation Reverses Primary Resistance to Immune Checkpoint Blockade in Pancreatic Cancer. *ACS Nano* 2018;12(10) :881–989
- 21 Chen S, Zhou Y, Zhou L, *et al.* Anti – neovascularization effects of DMBT in age – related macular degeneration by inhibition of VEGF secretion through ROS – dependent signaling pathway. *Mol Cell Biochem* 2018;448(1–2) :225–235
- 22 Kawagishi H, Xiong J, Rovira II, *et al.* Sonic hedgehog signaling regulates the mammalian cardiac regenerative response. *J Mol Cell Cardiol* 2018;123:180–184
- 23 Holliday EG, Smith AV, Cornes BK, *et al.* Insights into the genetic architecture of early stage age – related macular degeneration: a genome – wide association study meta – analysis. *PLoS One* 2013;8(1) :e53830
- 24 He H, Zhang H, Li B, *et al.* Blockade of the sonic hedgehog signalling pathway inhibits choroidal neovascularization in a laser – induced rat model. *J Huazhong Univ Sci Technology Med Sci* 2010;30(5) :659–665
- 25 Recalde S, Zarranz – Ventura J, Fernández – Robredo P, *et al.* Transforming growth factor – β inhibition decreases diode laser – induced choroidal neovascularization development in rats: P17 and P144 peptides. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(10) :7090–7097
- 26 Schlecht A, Leimbeck SV, Jäggle H, *et al.* Deletion of Endothelial TGF – β Signaling Leads to Choroidal Neovascularization. *Am J Pathol* 2017; 187(11) :2570–2589
- 27 Dou GR, Li N, Chang TF, *et al.* Myeloid – Specific Blockade of Notch Signaling Attenuates Choroidal Neovascularization through Compromised Macrophage Infiltration and Polarization in Mice. *Sci Rep* 2016; 6(1) :28617
- 28 Dou GR, Wang YC, Hu XB, *et al.* RBP – J, the transcription factor downstream of Notch receptors, is essential for the maintenance of vascular homeostasis in adult mice. *FASEB J* 2008;22(5) :1606–1617
- 29 Kangsamaksin T, Murtomaki A, Kofler NM, *et al.* NOTCH decoys that selectively block DLL/NOTCH or JAG/NOTCH disrupt angiogenesis by unique mechanisms to inhibit tumor growth. *Cancer Discov* 2015;5(2) :182–197
- 30 Klose R, Berger C, Moll I, *et al.* Soluble Notch ligand and receptor peptides act antagonistically during angiogenesis. *Cardiovasc Res* 2015; 107(1) :153–163
- 31 Ahmad I, Balasubramanian S, Del Debbio CB, *et al.* Regulation of ocular angiogenesis by Notch signaling: implications in neovascular age – related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(6) :2868–2878
- 32 Fujimura S, Takahashi H, Yuda K, *et al.* Angiostatic effect of CXCR3 expressed on choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53(4) :1999–2006
- 33 Sato T, Takeuchi M, Karasawa Y, *et al.* Intraocular inflammatory cytokines in patients with neovascular age – related macular degeneration before and after initiation of intravitreal injection of anti – VEGF inhibitor. *Sci Rep* 2018;8(1) :1098
- 34 Hoffmann S, He S, Ehren M, *et al.* MMP – 2 and MMP – 9 secretion by rpe is stimulated by angiogenic molecules found in choroidal neovascular membranes. *Retina* 2006;26(4) :454–461
- 35 Cai J, Yin G, Lin B, *et al.* Roles of NFκB – miR – 29s – MMP – 2 circuitry in experimental choroidal neovascularization. *J Neuroinflammation* 2014; 11(1) :88
- 36 Fujimoto T, Sonoda KH, Hijioka K, *et al.* Choroidal neovascularization enhanced by chlamydia pneumoniae via Toll – like receptor 2 in the retinal pigment epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(9) :4694–4702
- 37 Zhang X, Gaspard JP, Chung DC. Chung. Regulation of vascular endothelial growth factor by the Wnt and K – ras pathways in colonic neoplasia. *Cancer Res* 2001;61(16) :6050–6054
- 38 Pola R, Ling LE, Silver M, *et al.* The morphogen Sonic hedgehog is an indirect angiogenic agent upregulating two families of angiogenic growth factors. *Nat Med* 2001;7(6) :706–711
- 39 Shin K, Lee J, Guo N, *et al.* Hedgehog/Wnt feedback supports regenerative proliferation of epithelial stem cells in bladder. *Nature* 2011; 472(7341) :110–114
- 40 Blyszczuk P, Müller – Edenborn B, Valenta T, *et al.* Transforming growth factor – β – dependent Wnt secretion controls myofibroblast formation and myocardial fibrosis progression in experimental autoimmune myocarditis. *Eur Heart J* 2017;38(18) :1413–1425
- 41 Zavadil J, Cermak L, Soto – Nieves N, *et al.* Integration of TGF – beta/ Smad and Jagged1/Notch signalling in epithelial – to – mesenchymal transition. *EMBO J* 2004;23(5) :1155–1165
- 42 Moulliseseaux KP, Wiley DS, Saunders LM, *et al.* Notch regulates BMP responsiveness and lateral branching in vessel networks via SMAD6. *Nat Commun* 2016;7:13247
- 43 So J, Khaliq M, Evason K, *et al.* Wnt/β – catenin signaling controls intrahepatic biliary network formation in zebrafish by regulating notch activity. *Hepatology* 2018;67(6) :2352–2366
- 44 Abu El – Asrar AM, Imtiaz Nawaz M, Kangave D, *et al.* Osteopontin and other regulators of angiogenesis and fibrogenesis in the vitreous from patients with proliferative vitreoretinal disorders. *Mediators Inflamm* 2012;2012:493043
- 45 Seo S, Suh W. Antiangiogenic effect of dasatinib in murine models of oxygen – induced retinopathy and laser – induced choroidal neovascularization. *Mol Vis* 2017;23:823–831