

小胶质细胞在视网膜血管发育及新生血管发生中的调控作用

尹婕 综述 王雨生 审校

710032 西安,第四军医大学西京医院眼科 全军眼科研究所(尹婕,在职研究生,南京军区南京总医院眼科)

通信作者:王雨生,Email:wangys003@126.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.12.018

【摘要】 小胶质细胞是中枢神经系统特化的组织巨噬细胞,对维持视网膜的正常形态和功能至关重要。近年研究提示,小胶质细胞在中枢血管系统建立之前已经移行进入大脑。除了具有调控炎症反应的免疫活性作用外,小胶质细胞在中枢神经系统发育期血管塑形以及病理状态下血管重塑中也发挥重要作用。小胶质细胞与生长期血管接触,促进出芽的血管融合;而且与血管内皮细胞存在双向的交互作用。在细胞间传递信息的外泌体以及 Notch 信号在这种交互作用中扮演重要角色。小胶质细胞在视网膜血管生成中的作用目前尚未得到重视,深入的基础研究有望为视网膜新生血管疾病的治疗提供帮助。本文就小胶质细胞的来源及其如何与血管内皮细胞进行交互作用,从而参与视网膜血管发育及新生血管的发生进行综述。

【关键词】 小胶质细胞; 视网膜血管生成; 新生血管

基金项目: 国家自然科学基金项目(81570856、81271014、81470655)

Microglial regulates the physical development of vascular growth and angiogenesis in the retina Yin Jie, Wang Yusheng

Department of Ophthalmology, Institute of Ophthalmology of Chinese PLA, Xijing Hospital, the Forth Military Medical University, Xi'an 710032, China (Yin J, now Jinling Hospital)

Corresponding author: Wang Yusheng, Email:wangys003@126.com

【Abstract】 Being regarded as one kind of specialized tissue macrophages in central nervous system, microglia plays a key role in maintenance of retinal integrity and function. However, recent investigations have revealed that microglia has migrated in the brain before the vascular network formation. Besides their role of immunological modulation in inflammation response, it also has strong effects on shaping vasculature during development and remodeling vessels in pathological processes. Microglia contact with the angiogenic vessel, promoting the anastomoses of sprouts. Interestingly, reciprocal interactions between microglia and endothelial cells have been a hot topic. Secreted exosomes can offer a vehicle for the exchange of information between cells engaged in angiogenesis. Notch signaling also plays an important role in cell-to-cell communication during angiogenesis. The participation of microglia in retinal blood vessel formation has received little attention to date. Additional basic studies may ultimately clarify the significance of this cell and provide valuable therapeutic insight into treatment for retinal pathological neovascularization. In this review, we focused on the origin of microglia and summarize how the crosstalk between microglia and endothelial cells modulate the physical development of vessel and angiogenesis.

【Key words】 Microglia; Retinal angiogenesis; Neovascularization

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81570856, 81271014, 81470655)

小胶质细胞是中枢神经系统(central nervous system, CNS)特化的组织巨噬细胞,也是视网膜的第三类胶质细胞,参与免疫调节、组织发育、自身稳定及创伤修复过程。值得注意的是,出生后小胶质细胞在视网膜的出现早于视网膜血管化的发生^[1-2]。在斑马鱼及鸡大脑中,小胶质细胞的出现也早于 CNS 血管的侵入^[3]。近年来大量关于血管生成的研究选用小鼠视

网膜的发育作为模型,结果证实反应性视网膜小胶质细胞是血管生成的早期驱动者。

1 视网膜小胶质细胞的起源及其与巨噬细胞的异同

1.1 小胶质细胞的起源

小胶质细胞的起源一直是有争议的话题。既往研究认为

小胶质细胞起源于造血前体细胞,分为募集及分化 2 个阶段。基于鸟类、鱼类及哺乳动物的研究已明确初始卵黄囊来源的红系-髓系前体 (erythromyeloid progenitor, EMP) 参与大脑小胶质细胞的构成。

早期转基因骨髓嵌合体小鼠的研究显示,在视网膜居留的小胶质细胞增生缓慢,小胶质细胞的更新多源于血液的髓样细胞^[4]。但在放射处理过程中通过遮盖头部及眼部来避免血-脑屏障或血-视网膜屏障受到破坏,结果发现只有少量髓样细胞进入视网膜,提示只有在血-视网膜屏障破坏情况下髓样细胞才进入血流,参与视网膜小胶质细胞的构成^[5]。Ajami 等^[6]采用异种共生的方法进行研究,提示血液来源的小胶质细胞在正常 CNS 中比例较小。在胚胎发育期,居留在小鼠大脑的小胶质细胞来源于胚胎期第 8.5~9.0 天通过原始血管进入神经管的卵黄囊细胞^[1]。卵黄囊来源的小胶质细胞在生物体内终身存在,在正常 CNS 中不断自我更新,而骨髓来源的小胶质细胞不参与 CNS 小胶质细胞的更新^[6]。

1.2 小胶质细胞、巨噬细胞及单核细胞的异同

小胶质细胞、巨噬细胞和单核细胞的基因表达既有重叠又有区别,它们共有的标志物是 CX3CR1 和 CD11b。胚胎卵黄囊的祖细胞在分化过程中分成 2 种来源:卵黄囊来源的 EMP 和组织居留巨噬细胞^[7]。骨髓来源的细胞系前体即造血干细胞 (hematopoietic stem cell, HSC), 分化为单核细胞、巨噬细胞及管周巨噬细胞^[8]。转录组学研究显示,组织中居留的巨噬细胞及小胶质细胞具有分子类似性,但并非完全相同^[9]。小胶质细胞具有特殊的谱系和分子特征,其特异性标志物包括 p2yr12、Ferls、Tmem119、Olflml3、Hexb 和 Tgfb1^[8]。此外,骨髓来源的巨噬细胞发育需要转录因子 Myb 及集落刺激因子-1 (colony stimulating factor-1, CSF-1)^[10-11], 而卵黄囊来源的小胶质细胞的发育依赖于 CSF-1 受体的配体白细胞介素-34 (interleukin-34, IL-34)^[12],同时还依赖转录因子 PU.1 及干扰素调节因子 8 (interferon regulatory factor 8, IRF8) 途径^[7]。卵黄囊来源小胶质细胞在 CNS 的维持依赖于转化生长因子- β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1), 而骨髓来源的巨噬细胞则不需要。然而目前的研究还不能很好地从分子生物学及功能上区分组织巨噬细胞和小胶质细胞,研究中常常将两者统称为巨噬细胞/小胶质细胞,尤其是 CNS 的巨噬细胞很大程度上是小胶质细胞,因此本综述引用了部分关于巨噬细胞在血管生成中的作用机制的文献,有助于深入探索小胶质细胞的功能。

2 小胶质细胞影响 CNS 及视网膜的血管发育

2.1 小胶质细胞驱动 CNS 发育期血管生成

在 CNS 发育期,神经周围的血管在小鼠胚胎第 10 天侵入神经外胚层。小胶质细胞在血管形成前已经移行进入 CNS 及视网膜神经上皮,作为特殊类型的巨噬细胞促进 CNS 及视网膜血管系统的早期分支、移行及吻合^[13-17]。Checchin 等^[13]采用全身或者玻璃体腔注入氯磷酸钠脂质体去除视网膜小胶质细胞而不减少循环单核细胞,结果发现视网膜小胶质细胞数目的减少伴随着视网膜血管密度的降低;玻璃体腔同时注射小胶质

细胞可缓解发育期视网膜血管密度的降低,提示小胶质细胞对视网膜血管发育有特异性作用。Kubota 等^[14]研究发现,缺乏视网膜小胶质细胞的 Csfl^{op/op}小鼠视网膜血管丛的分支明显减少;同样,通过玻璃体腔注射 CSF-1 中和抗体或全身应用 CSF-1 受体激酶抑制剂降低小胶质细胞的数目也可减少血管的分支。当 Csfl^{op/op}小鼠发育至成年后,视网膜血管分支逐渐恢复,提示小胶质细胞只能影响发育期血管重塑,而不能最终影响成年期血管的分布。Csfl^{op/op}小鼠和药物去除小胶质细胞后的小鼠血管内皮顶端细胞及丝状伪足数目与正常小鼠类似,提示小胶质细胞促进血管分支的吻合,而非顶端细胞的延伸^[14]。Fantin 等^[15]研究进一步发现 F4/80 和 IBA1 阳性巨噬细胞/小胶质细胞在小鼠胚胎后脑及视网膜血管融合部位聚集,桥接吻合血管形成阶段的顶端细胞。PU.1-a 是调节 CD11b 及 CSF-1 的受体髓样蛋白表达的转录因子,为巨噬细胞分化所必需。PU.1-a 编码基因变异的小鼠大脑深层血管的分叉点比野生型小鼠少,证实了 PU.1-a 是卵黄囊来源巨噬细胞/小胶质细胞分化所必需^[15]。与 Kubota 等^[14]和 Fantin 等^[15]关于小胶质细胞不影响血管内皮顶端细胞数目的结果不同,Rymo 等^[16]研究发现小胶质细胞促进发育期小鼠视网膜血管内皮顶端细胞分支,CSF-1^{op/op}变异体或 PU.1 敲除的小鼠的视网膜血管丛较为稀疏,减少了内皮顶端细胞的数目,血管交叉点较正常小鼠少。

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 在血管生成过程中发挥关键作用,但小胶质细胞与 VEGF 在促进血管生成作用中的关系也存在争议。Unoki 等^[17]研究发现在体外视网膜培养模型中,去除小胶质细胞也可抑制 VEGF 诱导的血管出芽。Fantin 等^[15]研究发现小胶质细胞缺失小鼠胚胎 VEGF mRNA 表达水平与正常小鼠一致,提示小胶质细胞不是 VEGF 的主要来源。而 VEGF 基因缺陷小鼠后脑发育期血管广泛缺失,顶端细胞的数目及放射状穿透血管支的延伸均减少;小胶质细胞缺失小鼠的血管分支数目显著降低,但对顶端细胞及血管的延伸没有明显影响。VEGF 表达的降低并没有破坏组织巨噬细胞的回募^[15],故猜测 CSF-1 及 IL-34,而非 VEGF,是小胶质细胞的趋化及存活所必需。小胶质细胞促进血管分支吻合,VEGF 促进顶端细胞延伸,两者机制不同,互为补充和增益^[15]。Rymo 等^[16]研究发现,在小胶质细胞-主动脉环培养液中加入可溶性 Flt1 或 VEGF 受体 1 (VEGF receptor 1, VEGFR1) 中和抗体均不能有效抑制小胶质细胞对血管分支的促进作用,故认为小胶质细胞分泌的促进血管分支的因子不是可溶性 Flt1 和 VEGF-A。

2.2 小胶质细胞诱导病理性新生血管生成

小胶质细胞不仅参与正常血管的发育,也参与病理性新生血管的生成。Checchin 等^[13]发现在缺氧或高碳酸血症引起的缺血性视网膜病变中,小胶质细胞的数目及血管密度均降低。Liu 等^[18]研究发现氩激光照射小鼠视网膜后 2~4 h,小胶质细胞出现在病变区域。视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞与小胶质细胞体外共培养实验及在体视网膜下移植小胶质细胞的研究显示,小胶质细胞在 RPE 损伤情况下促进新生血管生成^[19]。Zeng 等^[20]研究显示,在增生性

糖尿病视网膜病变中,小胶质细胞被活化并参与新生血管形成。

2.3 小胶质细胞抑制视网膜深层血管生成及促进玻璃体血管退行

小胶质细胞不仅能促进视网膜初始血管丛生成,也可通过 Wnt-Flt1 途径抑制深层血管丛的过度分支。深层视网膜血管丛旁聚集的小胶质细胞可特异性表达 Wnt5a 和 Wnt11 配体等 Wnt 信号成分,表达 VEGF 抑制蛋白可溶性 Flt1,从而抑制视网膜深层血管丛的血管分支^[21]。然而 Fantin 等^[15]发现缺乏小胶质细胞小鼠视网膜深层血管丛的分支密度与正常小鼠没有区别。可见,小胶质细胞作为内皮细胞出芽、分支融合和回退的调节者,在视网膜血管生成过程发挥复杂的调控作用。

巨噬细胞/小胶质细胞也具有抑制玻璃体血管生成并促进其消退的作用。玻璃体血管具有营养胚胎发育期晶状体的功能,并于出生后退行。玻璃体血管分泌的 Wnt7B 可活化巨噬细胞/小胶质细胞,进而增加血管内皮细胞对 ANG2 的敏感性,诱导其发生凋亡,促进血管消退^[22]。

3 巨噬细胞/小胶质细胞与血管内皮细胞在血管生成中的交互作用

巨噬细胞/小胶质细胞可以促进胚胎发育期及出生后新生血管的形成,其可能的机制包括分泌多种生长因子促进血管内皮细胞增生;表达信号素等血管引导性分子调节血管内皮细胞的移行及存活^[23-27]。活化的巨噬细胞还能分泌膜相关蛋白酶或可溶性蛋白酶,通过对细胞外基质进行消化,释放包埋于血管周围基质的基质金属蛋白酶、丝氨酸/半胱氨酸蛋白酶等促血管生长因子^[28]。

血管周围的巨噬细胞可调节血管内皮细胞的生物学功能。然而,近来研究显示血管内皮细胞也能促进巨噬细胞向 M2 型分化,推测巨噬细胞与血管内皮细胞之间的作用是双向交互的^[29]。小鼠造血祖细胞(hematopoietic progenitor cell, HPC)与血管内皮细胞离体共培养过程中,HPC 逐渐分化为 M2 型巨噬细胞;但 HPC 与血管内皮细胞通过 Transwell 非接触共培养条件下,未发现 HPC 向 M2 型巨噬细胞分化^[29]。

3.1 小胶质细胞与血管内皮细胞的直接接触并非促进血管分支所必需

Rymo 等^[16]使用胶原基质共培养小胶质细胞和小鼠的主动脉环,结果显示小胶质细胞与血管内皮细胞的直接接触可促进血管出芽,向培养的主动脉环中加入来自小胶质细胞的培养基也能促进血管的分支,但其作用强度弱于直接接触共培养。

3.2 巨噬细胞分泌微囊泡也是血管内皮细胞-巨噬细胞间交互作用的机制之一

巨噬细胞可释放含有功能性 RNA 及蛋白等大分子的外泌体,这些外泌体可与血管内皮细胞融合,直接影响血管内皮细胞的行为^[30]。人外周血单核细胞系 THP1 可分泌富含 miR150 的外泌体,提高人微血管内皮细胞内 miR-150 的水平。在 Transwell 实验中,离心纯化 THP1 的外泌体能促进内皮细胞移行^[31]。参与血管生成的巨噬细胞可通过外泌体与血管内皮细胞快速交换分子及基因信息,随后血管内皮细胞促进髓样前体

细胞向巨噬细胞分化。不同于静止状态的血管,发育期血管及肿瘤血管在血管化过程中,管周细胞、内皮周围层及内皮基底膜的完整性经常被破坏,能促进血管内皮细胞的移行及生长^[23-24]。这些小的解剖微环境的改变可募集血管周围的巨噬细胞,更有利于微囊泡的分泌并传递到血管内皮细胞,影响血管生成的生物学及模式。目前,关于这方面针对性的体内研究还很缺乏。

3.3 Notch 信号在小胶质细胞-血管内皮细胞的相互作用中发挥重要作用

Notch 参与小胶质细胞的 VEGF-C/血管内皮细胞的 VEGFR3 信号途径,影响血管生成。血管生成时,血管周围促血管生成的小胶质细胞上 VEGF-C 表达增加。敲除 VEGFR-3 基因后的小鼠体内研究发现,视网膜血管过量出芽,伴有 Notch 信号的减低^[32]。VEGF-C 杂合基因敲除小鼠表现出视网膜血管化延迟、吻合减少,但是血管出芽及丝状伪足增加。上述结果提示内皮细胞的 VEGFR-3 具有配体依赖性,它与小胶质细胞表达的 VEGF-C 相结合,启动 Notch 信号,控制吻合点血管内皮细胞的表型转换,继而促进血管出芽融合^[32]。Notch1 促进巨噬细胞/小胶质细胞的回募,视网膜巨噬细胞/小胶质细胞的 Notch 信号激活后,与表达 Notch 配体 Dll4 的顶端内皮细胞结合,促进内皮细胞吻合。去除 Notch1 的视网膜小胶质细胞后,小胶质细胞在血管前缘数目减少^[32-33]。Hofmann 等^[34]研究发现,Notch 配体 Jagged1 在视网膜小胶质细胞中显著表达。在激光诱导的 CNV 不同时期,Notch 信号参与调控巨噬细胞/小胶质细胞在病灶的浸润及极化表型改变^[35]。

4 小结

在特定的解剖区域及发育阶段,小胶质细胞促进血管内皮细胞分支融合或抑制血管,精细地调节血管分支的形成。这种作用的非一致性反映了巨噬细胞/小胶质细胞的可塑性和复杂性。调控小胶质细胞转化而发挥不同作用的微环境信号还不明确。深入了解小胶质细胞在血管发育及新生血管生成中的关键作用,不仅利于理解众多视网膜新生血管疾病的发病机制,也有望为抗血管生成及缺血性疾病的治疗提供新的靶点。

参考文献

- [1] Ginhoux F, Greter M, Leboeuf M, et al. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages [J]. Science, 2010, 330(6005): 841-845. DOI:10.1126/science.1194637.
- [2] Rigato C, Buckinx R, Le-Corrone H, et al. Pattern of invasion of the embryonic mouse spinal cord by microglial cells at the time of the onset of functional neuronal networks [J]. Glia, 2011, 59(4): 675-695. DOI:10.1002/glia.21140.
- [3] Chan WY, Kohsaka S, Rezaie P. The origin and cell lineage of microglia: new concepts [J]. Brain Res Rev, 2007, 53(2): 344-354. DOI:10.1016/j.brainresrev.2006.11.002.
- [4] Kezic J, McMenamin PG. Differential turnover rates of monocyte-derived cells in varied ocular tissue microenvironments [J]. J Leukoc Biol, 2008, 84(3): 721-729. DOI:10.1189/jlb.0308166.
- [5] Kaneko H, Nishiguchi KM, Nakamura M, et al. Characteristics of bone

- marrow-derived microglia in the normal and injured retina [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49 (9) : 4162–4168. DOI: 10.1167/iops.08-1738.
- [6] Ajami B, Bennett JL, Krieger C, et al. Local self-renewal can sustain CNS microglia maintenance and function throughout adult life [J]. *Nat Neurosci*, 2007, 10 (12) : 1538–1543. DOI: 10.1038/nn2014.
- [7] Kierdorf K, Erny D, Goldmann T, et al. Microglia emerge from erythromyeloid precursors via Pu.1- and Irf8-dependent pathways [J]. *Nat Neurosci*, 2013, 16 (3) : 273–280. DOI: 10.1038/nn.3318.
- [8] Salter MW, Beggs S. Sublime microglia: expanding roles for the guardians of the CNS [J]. *Cell*, 2014, 158 (1) : 15–24. DOI: 10.1016/j.cell.2014.06.008.
- [9] Butovsky O, Jedrychowski MP, Moore CS, et al. Identification of a unique TGF- β -dependent molecular and functional signature in microglia [J]. *Nat Neurosci*, 2014, 17 (1) : 131–143. DOI: 10.1038/nn.3599.
- [10] Hashimoto D, Chow A, Noizat C, et al. Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes [J]. *Immunity*, 2013, 38 (4) : 792–804. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.04.004.
- [11] Yona S, Kim KW, Wolf Y, et al. Fate mapping reveals origins and dynamics of monocytes and tissue macrophages under homeostasis [J]. *Immunity*, 2013, 38 (1) : 79–91. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.12.001.
- [12] Greter M, Merad M. Regulation of microglia development and homeostasis [J]. *Glia*, 2013, 61 (1) : 121–127. DOI: 10.1002/glia.22408.
- [13] Checchin D, Sennlaub F, Levavasseur E, et al. Potential role of microglia in retinal blood vessel formation [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47 (8) : 3595–3602. DOI: 10.1167/iops.05-1522.
- [14] Kubota Y, Takubo K, Shimizu T, et al. M-CSF inhibition selectively targets pathological angiogenesis and lymphangiogenesis [J]. *J Exp Med*, 2009, 206 (5) : 1089–1102. DOI: 10.1084/jem.20081605.
- [15] Fantin A, Vieira JM, Gestri G, et al. Tissue macrophages act as cellular chaperones for vascular anastomosis downstream of VEGF-mediated endothelial tip cell induction [J]. *Blood*, 2010, 116 (5) : 829–840. DOI: 10.1182/blood-2009-12-257832.
- [16] Rymo SF, Gerhardt H, Wolfhagen SF, et al. A two-way communication between microglial cells and angiogenic sprouts regulates angiogenesis in aortic ring cultures [J/OL]. *PLoS One*, 2011, 6 (1) : e15846 [2015–08–03]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0015846>. DOI: 10.1371/journal.pone.0015846.
- [17] Unoki N, Murakami T, Nishijima K, et al. SDF-1/CXCR4 contributes to the activation of tip cells and microglia in retinal angiogenesis [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51 (7) : 3362–3371. DOI: 10.1167/iops.09-4978.
- [18] Liu J, Copland DA, Horie S, et al. Myeloid cells expressing VEGF and arginase-1 following uptake of damaged retinal pigment epithelium suggests potential mechanism that drives the onset of choroidal angiogenesis in mice [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8 (8) : e72935 [2015–08–20]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0072935>. DOI: 10.1371/journal.pone.0072935.
- [19] Ma W, Zhao L, Fontainhas AM, et al. Microglia in the mouse retina alter the structure and function of retinal pigmented epithelial cells: a potential cellular interaction relevant to AMD [J/OL]. *PLoS One*, 2009, 4 (11) : e7945 [2015–08–12]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0007945>. DOI: 10.1371/journal.pone.0007945.
- [20] Zeng HY, Green WR, Tso MO. Microglial activation in human diabetic retinopathy [J]. *Arch Ophthalmol*, 2008, 126 (2) : 227–232. DOI: 10.1001/archophthalmol.2007.65.
- [21] Stefater JA 3rd, Lewkowich I, Rao S, et al. Regulation of angiogenesis by a non-canonical Wnt-Fli1 pathway in myeloid cells [J]. *Nature*, 2011, 474 (7352) : 511–515. DOI: 10.1038/nature10085.
- [22] Rao S, Lobov IB, Vallance JE, et al. Obligatory participation of macrophages in an angiopoietin 2-mediated cell death switch [J]. *Development*, 2007, 134 (24) : 4449–4458. DOI: 10.1242/dev.012187.
- [23] Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis [J]. *Cell*, 2011, 146 (6) : 873–887. DOI: 10.1016/j.cell.2011.08.039.
- [24] Weis SM, Cheresh DA. Tumor angiogenesis: molecular pathways and therapeutic targets [J]. *Nat Med*, 2011, 17 (11) : 1359–1370. DOI: 10.1038/nm.2537.
- [25] Squadrito ML, De Palma M. Macrophage regulation of tumor angiogenesis: implications for cancer therapy [J]. *Mol Aspects Med*, 2011, 32 (2) : 123–145. DOI: 10.1016/j.mam.2011.04.005.
- [26] Sierra JR, Corso S, Caione L, et al. Tumor angiogenesis and progression are enhanced by Sema4D produced by tumor-associated macrophages [J]. *J Exp Med*, 2008, 205 (7) : 1673–1685. DOI: 10.1084/jem.20072602.
- [27] Tamagnone L. Emerging role of semaphorins as major regulatory signals and potential therapeutic targets in cancer [J]. *Cancer Cell*, 2012, 22 (2) : 145–152. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.06.031.
- [28] Murdoch C, Muthana M, Coffelt SB, et al. The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis [J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8 (8) : 618–631. DOI: 10.1038/nrc2444.
- [29] He H, Xu J, Warren CM, et al. Endothelial cells provide an instructive niche for the differentiation and functional polarization of M2-like macrophages [J]. *Blood*, 2012, 120 (15) : 3152–3162. DOI: 10.1182/blood-2012-04-422758.
- [30] Simons M, Raposo G. Exosomes-vesicular carriers for intercellular communication [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2009, 21 (4) : 575–581. DOI: 10.1016/j.ceb.2009.03.007.
- [31] Zhang Y, Liu D, Chen X, et al. Secreted monocytic miR-150 enhances targeted endothelial cell migration [J]. *Mol Cell*, 2010, 39 (1) : 133–144. DOI: 10.1016/j.molcel.2010.06.010.
- [32] Tammela T, Zarkada G, Nurmi H, et al. VEGFR-3 controls tip to stalk conversion at vessel fusion sites by reinforcing Notch signalling [J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13 (10) : 1202–1213. DOI: 10.1038/ncb2331.
- [33] Outtz HH, Tattersall IW, Kofler NM, et al. Notch1 controls macrophage recruitment and Notch signaling is activated at sites of endothelial cell anastomosis during retinal angiogenesis in mice [J]. *Blood*, 2011, 118 (12) : 3436–3439. DOI: 10.1182/blood-2010-12-327015.
- [34] Hofmann JJ, Luisa IM. Notch expression patterns in the retina: an eye on receptor-ligand distribution during angiogenesis [J]. *Gene Expr Patterns*, 2007, 7 (4) : 461–470. DOI: 10.1016/j.modgep.2006.11.002.
- [35] 李娜, 窦国睿, 张萍, 等. Notch 信号对激光诱导的小鼠 CNV 生成过程中巨噬细胞极化表型及功能的调控 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2015, 33 (3) : 207–215. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.03.005.
- Li N, Dou GR, Zhang P, et al. Regulating effect of Notch signaling on macrophage polarization and function in laser-induced CNV [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2015, 33 (3) : 207–215. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.03.005.

(收稿日期: 2016-05-11)

(本文编辑: 刘艳 张宇)