

早产儿视网膜病变的相关信号通路

张桐梅 综述 韩梅 审校

【摘要】 早产儿视网膜病变(ROP)是发生在早产儿的一种血管增生性的玻璃体视网膜疾病,其主要病理改变是视网膜血管闭塞、缺血缺氧诱发病理性新生血管形成,进而导致视网膜脱离,甚至失明。这类增生性血管病变涉及多条信号通路,对于分子机制的深入理解更有利于靶向治疗病理性新生血管。就 ROP 发病机制中的有关信号通路进行综述,主要包括 Wnt-信号通路成员在病理性血管发展中的作用,CCN1 蛋白与富含半胱氨酸蛋白 61(CCN1/Cry61)在提高视网膜血管的生理性适应和减少病理性新生血管生成方面的重要作用,Janus 激酶/信号转导子与转录激活子(JAK/STAT)信号通路诱导视网膜和玻璃体内新生血管的形成,Apelin 蛋白与血管紧张素 1 型受体相关蛋白(Apelin/APJ)信号通路对于视网膜血管发生、血管塑形的影响以及在低氧条件下引发新生血管形成。

【关键词】 视网膜病变; 早产儿; 高氧; 视网膜新生血管化; 信号通路

Signal pathways related to retinopathy of prematurity Zhang Tongmei, Han Mei. Tianjin Key Lab of Ophthalmology and Visual Science, Tianjin Eye Institute, Tianjin Eye Hospital, Clinical College of Ophthalmology Tianjin Medical University, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Han Mei, Email: hanmay69@sina.com

【Abstract】 Retinopathy of prematurity (ROP) is a kind of vasoproliferative disorders, which leads to vision loss even blindness in premature neonates. Major pathogenesis in ROP is vascular occlusion and retinal neovascularization precipitated by ischemia and hypoxia. Proliferative retinopathy is associated with several signaling pathways, such as Wnt signaling pathway, CCN1/cysteine-rich 61 (CCN1/Cry61) in pathological neovascularization, JAK/STAT (Janus kinase/signal transducer and activator of transcription) in intravitreal neovascularization, Apelin/APJ (Apelin/angiotensin type 1 receptor related protein) in pathological retinal angiogenesis. Deep understanding of the pathways is conducive to treat proliferative retinopathy by targeting pathologic neovessels.

【Key words】 Retinopathy of prematurity; Hyperoxia; Retinal neovascularization; Signaling pathway

早产儿视网膜病变(retinopathy of prematurity, ROP)是发生在低出生体质量的早产儿视力损伤的主要致盲疾病,其涉及多个病理过程,包括视网膜毛细血管退化,继发新生血管。ROP 的主要病理特征是异常的血管增生,血管迂曲、扩张,血管渗漏增加,并会导致严重的眼部并发症,甚至失明^[1]。治疗增生性视网膜疾病重要的是特异地靶向治疗病理性新生血管而非正常血管,这与恶性肿瘤等其他一些存在病理性血管增生疾病的治疗方式相似。选择性地分子靶向治疗病理性血管增生需要更深入了解参与其形成的信号通路^[2]。就 Wnt-信号通路、CCN1 蛋白与富含半胱氨酸蛋白 61(CCN1/cysteine-rich 61, CCN1/Cry61)、Janus 激酶/信号转导子与转录激活子(Janus kinase/signal transducer and activator of transcription, JAK-STAT)及 Apelin 蛋白与血管紧张素 1 型受体相关蛋白(Apelin/angiotensin

type 1 receptor related protein, Apelin/APJ) 参与的信号通路与 ROP 发病机制的相关性进行综述。

1 Wnt-信号通路

ROP 是多因素相关的疾病,临床特征与家族性渗出性玻璃体视网膜病变(familial exudative vitreoretinopathy, FEVR)相似,但 FEVR 多发生在足月儿,并且具有遗传多态性,如 X-连锁、常染色体隐性遗传和常染色体显性遗传。目前发现 FEVR 的 4 种致病基因包括 Norrie 病基因(Norrie disease pseudoglioma, NDP)、卷曲蛋白-4(Frizzled-4, FZD4)、低密度脂蛋白受体相关蛋白 5(low density lipoprotein receptor related protein 5, LRP5)和四旋蛋白 12(tetraspanin protein 12, TSPAN12),其中至少有 3 种在 3%~11% 的 ROP 患者中存在,说明遗传因素也参与 ROP 的形成^[3-5]。这些突变基因引起 ROP 患儿视网膜不完全血管化的确切机制仍不清楚,但是 NDP、FZD4、LRP5 和 TSPAN12 基因在与 ROP 有形态学相似的 FEVR 中同样存在突变,提示两者发生机制相似,且以上基因都属于 Wnt 信号通路。因此 Wnt 信

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.07.021

基金项目:天津市卫生局科技基金项目(2011KR17)

作者单位:300020 天津市眼科医院 天津医科大学眼科临床学院
天津市眼科研究所 天津市眼科学与视觉科学重点实验室

通信作者:韩梅, Email: hanmay69@sina.com

号通路的异常可能会引起 FEVR 和 ROP 的发生。

1.1 Wnt-信号通路的组成及其相关作用

Wnt/ β -catenin 信号转导途径的组成成分包括 Wnt 信号蛋白、胞膜受体 Fz 家族、胞浆内 β -连环蛋白 (β -catenin)、蓬乱蛋白 (dishevelled, Dsh)、糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β) 等蛋白分子、细胞核内 T 细胞因子/淋巴细胞增强子结合因子 (T cell factor and lymphoid enhancer factor, TCF/LEF) 转录因子家族。在细胞内, Wnt 信号能够激活 3 条通路: 标准通路 Wnt/ β -Catenin 和 2 条非标准通路 Wnt/PCP 和 Wnt/ Ca^{2+} 。在标准 Wnt 信号缺乏时, β -catenin 与 Axin-APC-GSK-3 β 等形成降解复合物, 结合后的 β -catenin 发生磷酸化, 进而与泛素化蛋白结合被泛素化降解。当存在 Wnt 信号时, Wnt 配体连接到 FZD/LRP 复合物时, β -catenin 降解复合物失活, β -catenin 在细胞内大量蓄积并进入细胞核内, 激活 TCF/LEF 转录因子, 从而启动靶基因的表达。

卷曲蛋白 Fz 为 7 次跨膜蛋白, 目前已发现 11 种, 结构类似于 G 蛋白偶联型受体, Fz 的 N 端具有富含半胱氨酸的结构域 (cysteine rich domain, CRD), 是 Wnt 蛋白的高亲和力结合位点; LRP5/6 是 Fz 受体的辅受体, 其细胞外区可结合 Wnt 蛋白, 并与 Fz 受体相互作用将信号从细胞外传入细胞内; TSPAN12 是 Norrin-FZD4-LRP5-信号通路的成员, 可增加 Norrin- β -catenin 水平, 而非 Wnt- β -catenin 水平, 即 TSPAN12 首先激活的是 Norrin 蛋白, 而非 Wnt 蛋白^[6]。

1.2 Wnt-信号通路与维持正常视网膜血管化的关系

Wnt 信号通路在遗传中高度保守, 在胎儿的发育, 包括眼的发育中扮演重要角色。1927 年发现的 Norrin 病是一种严重的低度视网膜血管化疾病。X-连锁 NDP 基因编码一种与其他生长因子结构相似的小分泌蛋白 Norrin^[7]。Norrin 对 3 条 Wnt-信号通路均起作用。Norrin 可能通过非标准 Wnt-信号通路产生作用^[8]。Tokunaga 等^[6]证实无论是 Wnt-信号通路激活剂 Norrin 还是标准 Wnt-信号通路抑制剂 DKK1, 与对照组相比都会减少视网膜无血管区面积, 差异有统计学意义, 说明 Wnt-信号通路可改善视网膜血管化, 并且加快氧诱导视网膜病变 (oxygen induced retinopathy, OIR) 鼠模型视网膜病变的恢复。但是同时 OIR 鼠模型玻璃体腔注射 DKK1 和 Norrin, 并没有像单独注射时那样产生视网膜病变恢复的结果, 原因是 DKK1 作为 LRP5 抑制剂, 可增加 Norrin 和 FZD4 的亲和力, 当同时注射时, LRP5 被 DKK1 抑制, Norrin 结合了无法被激活的标准信号通路复合物, 也同时阻断了其在非标准 Wnt 通路中的作用^[9]。Norrin-FZD4-LRP5 信号通路上游 sox17 调控转录因子在视网膜血管化的过程中也扮演重要角色^[10]。突变引起 Norrin-FZD4-LRP5 信号通路的缺失和/或不足会造成血管生长缺失和视网膜低度血管化, 这也是 FEVR 和 ROP 的主要发病机制。

1.3 Wnt-信号通路异常与病理性血管发生的关系

Wnt 信号通路参与病理性血管生长, Wnt 信号通路的突变会引起视网膜血管发育不全, 呈现增生性视网膜的某些特征^[11-13]。OIR 中 FZD4 和 LRP5 显著增加, 而 LRP5 和下游信号分子的信号紊乱会显著减少病理性视网膜新生血管的形成,

LRP5 的缺失还会影响视网膜血屏障形成和发育中的血管生成, 这与下调 LRP5 封闭蛋白 5 (Cln5) 相关。Cln5 作为维持血管完整性的重要紧密连接蛋白, 在体外封闭 Cln5 会抑制 Wnt 通路趋化的内皮细胞出芽及体内视网膜病理性血管的生长, 这说明 Wnt 信号通路在视网膜病理性血管发展中扮演重要角色。NDP、FZD4、TSPAN12 和 LRP5 转基因鼠的相关研究进一步说明这 4 种野生型基因在毛细血管成熟、血管生成及正常视网膜发展中的重要性。转基因鼠模型中这 4 个基因并不表达 (无效突变), 然而许多 FEVR 患者发生 NDP、FZD4、TSPAN12 和 LRP5 错义突变。深入研究此通路在眼部疾病中的机制会发现新的治疗方式, 并为增生性视网膜病变提供新的治疗方法^[2, 9, 14-15]。

2 CCN1/Cyr61 与 ROP 的相关性

2.1 CCN1/Cyr61 的生物学特性及其作用

CCN1 位于 1p22, 属于 CCN 家族成员, 由 O'Brien 等^[16]在 1990 年首次发现。CCN1 蛋白即 Cyr61 蛋白, 是基质蛋白 CCN 家族中第一个被克隆的。CCN 家族参与多条信号通路的形成, 组成一个集中网络。CCN1 由 3 个结构域组成, 包括 N 末端的胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF) 连接蛋白结构域、血小板性血友病因子 C 型重复结构域、血小板反应蛋白重复类型 1 和第四区域结构域, 包括 8 个半胱氨酸^[17]。CCN1 蛋白又属于细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 蛋白, 在正常和异常的血管形成中扮演重要角色。CCN1 控制毛细血管的生长和血管细胞的分化, 通过改变 ECM 的组成或功能, 以及加强或抑制不同配体和/或其受体的活性, 物理性地干扰 ECM-细胞表面的相互作用, 重新编码基因使细胞趋向新的表型。因此, CCN1 可能作为眼部新生血管和纤维血管性疾病重要的标志物和潜在的治疗靶点。CCN1 还可通过一系列细胞-表面受体直接相互作用, 激活特定的信号转导通路, 激活转录因子, 反式激活一系列影响基因和相应细胞的反应或行为。CCN1 诱导血管细胞生长是通过调节 Wnt 信号通路来完成的, 而 Wnt 信号通路对于血管生成和血管发育至关重要^[18]。

2.2 OIR 模型中 CCN1/Cyr61 表达影响视网膜生理性血管生长

CCN1 基因表达和视网膜血管生长之间存在时间和空间相关性。CCN1 是重要的血管形成分子, 促进血管稳定并影响血管前体细胞的功能和行为。OIR 中高氧诱导的血管闭塞和 CCN1 基因表达下降相关, 提示 CCN1 在高氧下表达被抑制, 并且 CCN1 水平和视网膜内皮细胞及其前体细胞生长间存在因果关系。高氧使视网膜血管停止生长, 视网膜毛细血管从中央视网膜退化, 这是内皮细胞和其前体细胞增生和迁移下降的结果, 此过程由 CCN1 激发; 高氧诱发的血管闭塞由氧压诱导的内皮细胞凋亡所触发, 然而 CCN1 能诱导保护性因子, 有抗氧压的作用, 但 CCN1 的抗氧压作用在此过程中效果甚微。高氧诱导血管闭塞之后相对缺血状态会刺激血管形成复合物的合成, 但是高氧会抑制 CCN1 基因的表达并在远期减少对低氧的反应。高氧和低氧下血管生成基因表达的波动被认为是 ROP 发生的重要危险因素^[19]。

2.3 CCN1/Cyr61 诱导的 Wnt-信号通路抑制病理性新生血管形成

OIR 中高氧诱导 CCN1 表达减少,继而抑制了视网膜重要的血管生成/血管化因子的作用。在高氧发生之前慢病毒载体介导 CCN1 基因表达会减少高氧损伤的血管闭塞。正常视网膜血管发展涉及各种内皮细胞,如血液循环干细胞和退化的血管片段壁细胞的重新募集^[20]。CCN1 的表达使内皮细胞能对抗高氧的损伤,也会募集类似于造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)的前体细胞从血液循环迁移、募集到视网膜无血管区,影响血管修复并抑制 OIR 中病理性新生血管的形成。CCN1 对视网膜高氧的生理性反应、适当的血管再生以及缺血后的损伤修复十分关键。

CCN1 连接到整合素受体,如 $\alpha 4\beta 1$ 和 $\alpha 6\beta 1$, 激活级联反应,包括促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAP)、黏着斑激酶,进而刺激旁分泌途径的 Wnt-信号通路。Wnt-信号通路通过 CCN1 对血管前体细胞群和细胞分化进行调控。在 CCN1-处理的 OIR HSCs 中标准 Wnt-信号通路中某些基因优先表达。Frizzled-1(如 DVL1、DVL2、Fzd7 和 Fzd8)和 Frizzled-2(如 Wnt1 和 Wnt7A)信号通路上调;Wnt-负性转录调控子,如 sox17 和分泌型卷曲相关蛋白-1(secreted frizzled related protein-1, sFRP-1)和 sFRP-4 下调。sFRP-1 和 sFRP-4 产生可溶性诱导受体,防止 Wnt 蛋白连接到 Fzd-脂蛋白受体,使相关 LRP 复合物在 CCN1 细胞中下调,而 sFRP-1 和 sFRP-4 的下调会增加相关 LRP 复合物的生成。Wnt 蛋白对前体细胞分化为内皮细胞有直接作用,但是所涉及的 Wnt 蛋白及各自的作用尚未明确^[21]。总之,CCN1-诱导 Wnt 对于正常血管形成和再生是必要和充分的,至少在某种程度调控内皮前体细胞的分化和增生^[19]。

3 JAK/STAT 信号通路

3.1 JAK/STAT 信号通路的组成及其作用

JAK 蛋白酪氨酸激酶家族是仅次于 Src 和 Tec 的第三大 NM-PTK 家族,JAK 家族分子在结构上可分为两部分:C 端是 2 个紧密连接的酪氨酸激酶活性样结构域,其中最靠近 C 端的一个是 JAK 激酶的催化活性区;而其 N 端被认为可能在 JAK 激酶与其他信号蛋白分子的结合中起一定作用。细胞因子与其受体结合后可导致受体的二聚化或寡聚化,这使得与受体偶联的 JAK 相互聚集,并通过交互自身磷酸化作用而活化。JAK 活化后可以激活多条信号通路,包括催化结合在细胞因子受体上的 STAT 蛋白的 Tyr 残基发生磷酸化,并激活 JAK/STAT 信号通路^[22]。STAT 蛋白分子可以在外界信号的刺激下激活并直接转入细胞核内引发相应靶基因的转录^[23]。JAK/STAT 信号通路参与调节细胞对于细胞因子和生长因子的反应,JAK/STAT 是保守的多细胞信号通路中最简单的通路。JAKs 与 STATs 相联系,干扰人体细胞基因封闭。JAK 家族有 4 个成员,STAT 家族有 7 个成员,组织特异性和受体特异性都会影响 JAKs 和 STATs 的激活过程^[24-25]。

3.2 JAK/STAT 与视网膜和玻璃体内病理性新生血管形成的

关系

ROP 发病机制复杂并受多种因素影响,包括发育中的视网膜和视网膜血管氧浓度及氧压。活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)数量增加,会导致氧化物的增加^[26]。氧压会通过血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)触发血管生成,而 VEGF 对病理性玻璃体内新生血管的发展也很重要。但是,仅减少 VEGF 并不能完全防止玻璃体内新生血管的产生,且 VEGF 对早产儿正常视网膜发育也很重要,说明存在独立于 VEGF 及其下游通路对玻璃体内新生血管的产生起着作用的物质。Byfield 等^[27]发现 JAK/STAT 通过 ROS 导致血管生成,JAK2 抑制剂 AG490 减少磷酸化的 JAK2 和 STAT3 进而抑制 JAK2,减少玻璃体内新生血管的生成,但是对 VEGF 水平没有影响。JAK2、STAT3 以及 NADPH 氧化酶对 ROP 的玻璃体内新生血管的生成有着不同的作用。还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶诱发 ROS 释放,通过触发 STAT3 通路产生玻璃体内新生血管。NADPH 氧化酶通过 STAT3 增加玻璃体内新生血管的生成,抑制 NADPH 氧化酶活性和 ROS 只减少磷酸化的 STAT3 和未磷酸化的 JAK2(图 1)。ROS 能直接激活 STAT3^[28]。STAT3 除了增加 VEGF 的表达外,还会导致抗凋亡通路转录的发生以及炎症介质的增加。炎症和凋亡抑制涉及到血管生成^[29]。McCloskey 等^[30]发现促红细胞生成素也能激活 JAK/STAT 信号系统和下游的细胞质因子,包括细胞外信号相关激酶(extracellular signal-related kinase, ERK)并与 VEGF 相互作用。

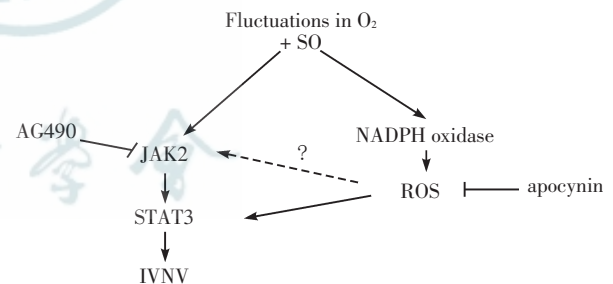


图 1 JAK/STAT 信号通路触发玻璃体内新生血管的形成^[27] SO₂: 补充氧;AG490:酪氨酸磷酸化抑制剂;ROS:活性氧簇;JAK/STAT: Janus 激酶/信号转导和转录活化蛋白;IVNV:玻璃体内新生血管;NADPH:还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸

4 Apelin/APJ 信号通路

4.1 Apelin/APJ 信号通路的组成

APJ 基因位于 11 号染色体 q12,是 G-蛋白偶联受体,最早被认为是孤儿受体,其氨基酸序列与 AT1 受体的跨膜区有 54% 的同源性,两者在心血管通路解剖分布中存在重叠。同时 APJ 基因编码的氨基酸序列与血管紧张素 II 1A 型受体有 31% 相同^[31]。Tatemoto 等^[32]首次从牛胃分泌物中提取和纯化 Apelin,是 APJ 的唯一内生配体。人类 Apelin 基因定位于染色体 Xq25-26.1,由 2 个内含子和 3 个外显子组成,其 mRNA 长度为 3 125 bp^[33]。C 端的 Apelin-12 序列呈高度保守性,是 Apelin

激活 APJ 的区域,特别是第一位的赖氨酸和第四位的亮氨酸在 APJ 结合过程中起重要作用^[34]。Apelin 作用于 APJ 受体后可激活磷脂酰肌醇-3 激酶通路和 ERK 通路 2 条信号转导通路,两者都可以使 p70S6 激酶磷酸化,从而促进 dTMP 整合入细胞核 DNA 中,提示 Apelin 是内皮细胞的一种促有丝分裂肽^[35]。

4.2 Apelin/APJ 对视网膜生理性血管形成的作用

Apelin 和 APJ 广泛表达于各种组织中,包括大脑、心脏、肾脏、肺脏和乳腺等,由于 APJ 和血管紧张素 II 受体的相似性提示其在血管方面具有相似的作用。Apelin/APJ 通路参与血管发生和血管塑形,也参与抑制内皮细胞、平滑肌细胞的凋亡及增生过程^[36]。在血管形成方面,Apelin 扮演了重要角色,尤其在胚胎形成时期。APJ 在从背主动脉出芽生长的节间血管的迁移末端区域表达,并随着血管的成熟而消失,这可能与内皮细胞内的 Apelin/APJ 激活触发了血管形成的终止,间接介导星形胶质细胞成熟有关^[37]。应用反义寡核苷酸技术抑制 Apelin 和 APJ 表达可导致血管生成障碍,进一步证明其在胚胎时期血管形成调控中的重要作用^[38]。

Saint-Geniez 等^[39]应用原位杂交技术发现,鼠类出生后视网膜血管在形成过程中,Apelin 及其受体表达上调。Apelin 基因敲除小鼠研究表明 Apelin/APJ 通路通过 VEGF 和碱性成纤维细胞生长因子对血管生成起调节作用。Kasai 等^[40]发现 Apelin 诱导视网膜内皮细胞迁移,并与毛细管状结构形成呈剂量依赖性。Apelin 影响血管生成中管径的大小,Apelin 基因敲除的小鼠胚胎节间血管的管径变得狭窄^[36]。Apelin 对促进视网膜新生血管生成影响很小,在视网膜非新生血管性重塑过程中却起着重要作用^[41]。Apelin 在血管平滑肌细胞的增生方面也扮演着重要角色。Kojima 等^[42]发现内皮衍生的 Apelin 可通过旁分泌途径上调受损血管处平滑肌细胞 APJ 的表达,从而刺激这些平滑肌细胞增生并迁移至新生内膜处。

4.3 Apelin/APJ 与 ROP 病理性血管形成的关系

Apelin/APJ 信号通路参与病理性视网膜血管化,低氧诱导的 Apelin 表达调控内皮细胞的增生和血管再生。与正常氧含量培养的小鼠相比,Apelin mRNA 在 OIR 模型中的表达在高氧期受抑制,低氧期上调且上调比例大于 VEGF 和促红细胞生成素的上调比例。荧光免疫标记显示 APJ 和血小板/内皮细胞黏附分子-1 是共表达的,尤其是在血管神经丛周围,预示着 APJ 与血管增生相关^[43],且其增生作用是相对独立于 VEGF 的^[44]。Zhang 等^[45]以 ROP 患者的视网膜纤维血管膜为研究对象,同样证明 Apelin/APJ 和 ROP 新生血管形成相关,且 Apelin 的这一效应是与低氧诱导因子-1 α (hypoxia-induced factor-1 α , HIF-1 α) 相关并独立于 VEGF。Apelin 也可促进脂肪细胞的饥饿和饱食因子表达和释放,如胰岛素和脂肪因子^[46]。Apelin 是胰岛素和生长激素浓度代谢变化的反应产物,并与 IGF-1 存在关联性。出生后 4~6 周时 ROP 组 Apelin 和 IGF-1 水平比非 ROP 组低,和 OIR 低氧期 Apelin 表达显著提高并不一致,但是出生后 Apelin 水平如同 IGF-1 可能会作为 ROP 发病的预测标志^[47-48]。有研究表明在 OIR 模型中,Apelin-1 (Apelin/APJ 基因敲除)小鼠,视网膜整体无明显变化,视网膜发育不受影响,只

是深层血管轴分支有少量减少,动静脉向视网膜表层的延伸减少。Apelin 对脉络膜新生血管和视网膜内病理性新生血管无影响,只是对非新生血管的重塑有影响,如血管的修剪、扩张和屈曲等病理性血管改变^[41]。

综上所述,ROP 是多种因素参与、多个病理过程发生的视网膜血管增生性疾病。Wnt-信号通路、CCN1/Cry61、JAK-STAT 和 Apelin/APJ 在 FEVR、Norrie 病、糖尿病视网膜病变等疾病中的研究相对成熟^[2,9,29,49-50],在视网膜血管发育和/或新生血管形成方面起不同作用,但研究尚处于起步阶段,更明确的分子机制尚有待完善。

参考文献

- [1] Schulenburg WE, Tsanaktsidis G. Variations in the morphology of retinopathy of prematurity in extremely low birthweight infants[J]. Br J Ophthalmol, 2004, 88 (12) : 1500 - 1503. doi: 10. 1136/bjo. 2004. 044669.
- [2] Chen J, Stahl A, Krah NM, et al. Wnt signaling mediates pathological vascular growth in proliferative retinopathy[J]. Circulation, 2011, 124(17) : 1871 - 1881. doi: 10. 1161/CIRCULATIONAHA. 111. 040337.
- [3] Nikopoulos K, Gilissen C, Hoischen A, et al. Next-generation sequencing of a 40 Mb linkage interval reveals TSPAN12 mutations in patients with familial exudative vitreoretinopathy[J]. Am J Hum Genet, 2010, 86(2) : 240 - 247. doi: 10. 1016/j. ajhg. 2009. 12. 016.
- [4] Poulter JA, Ali M, Gilmour DF, et al. Mutations in TSPAN12 cause autosomal dominant familial exudative vitreoretinopathy[J]. Am J Hum Genet, 2010, 86(2) : 248 - 253. doi: 10. 1016/j. ajhg. 2010. 01. 012.
- [5] Shastri, BS. Genetic susceptibility to advanced retinopathy of prematurity (ROP)[J/OL]. J Biomed Sci, 2010, 17 : 69 [2015-02-06]. http://www. Jbiomedsci. com/content/17/1/69. doi: 10. 1186/1423-0127-17-69.
- [6] Tokunaga CC, Chen YH, Dailey W, et al. Retinal vascular rescue of oxygen-induced retinopathy in mice by norrin[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(1) : 222 - 229. doi: 10. 1167/iovs. 12-10127.
- [7] Ye X, Wang Y, Nathans J. The Norrin/Frizzled4 signaling pathway in retinal vascular development and disease[J]. Trends Mol Med, 2010, 16(9) : 417 - 425. doi: 10. 1016/j. molmed. 2010. 07. 003.
- [8] McDonald NQ, Hendrickson WA. A structural superfamily of growth factors containing a cystine knot motif[J]. Cell, 1993, 73(3) : 421 - 424.
- [9] Junge HJ, Yang S, Burton JB, et al. TSPAN12 regulates retinal vascular development by promoting norrin but not Wnt induced FZD4/beta-catenin signaling[J]. Cell, 2009, 139(2) : 299 - 311. doi: 10. 1016/j. cell. 2009. 07. 048.
- [10] Ye X, Wang YS, Cahill H, et al. Norrin, frizzled 4 and LRP5 signaling in endothelial cells controls a genetic program for retinal vascularization[J]. Cell, 2009, 139(2) : 285 - 298. doi: 10. 1016/j. cell. 2009. 07. 047.
- [11] Toomes C, Downey L. Familial exudative vitreoretinopathy, autosomal dominant[DB/OL]. GeneReviews. Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al. Seattle (WA) : University of Washington. 2011, Sep 22 [2014-02-17]. http://w ww. ncbi. nlm. nih. gov/pubmed/20301326.
- [12] Chen ZY, Battinelli EM, Fielder A, et al. A mutation in the norrie disease gene (ndp) associated with x-linked familial exudative vitreoretinopathy[J]. Nat Genet, 1993, 5(2) : 180 - 183. doi: 10. 1038/ng1093-180.
- [13] Jiao X, Ventruto V, Trese MT, et al. Autosomal recessive familial exudative vitreoretinopathy is associated with mutations in Irf5[J]. Am J Hum Genet, 2004, 75(5) : 878 - 884.
- [14] Berger W, van de Pol D, Bächner D, et al. An animal model for Norrie disease: gene targeting of mouse ND gene[J]. Hum Mol Genet 1996, 5(1) : 51 - 59.
- [15] Xia CH, Liu H, Cheung D, et al. A model for familial exudative vitreoretinopathy caused by LRP5 mutations[J]. Hum Mol Genet, 2008, 17(11) : 1605 - 1612. doi: 10. 1093/hmg/ddn047.

- [16] O'Brien TP, Yang GP, Sanders L, et al. Expression of *cyr61*, a growth factor-inducible immediate-early gene[J]. *Mol Cell Biol*, 1990, 10(7): 3569-3577. doi:10.1128/MCB.10.7.3569.
- [17] Perbal B. CCN proteins: a centralized communication network[J]. *J Cell Commun Signal*, 2013, 7(3): 169-177. doi:10.1007/s12079-013-0193-7.
- [18] Yan L, Chaqour B. Cysteine-rich protein 61 (CCN1) and connective tissue growth factor (CCN2) at the cross hairs of ocular neovascular and fibrovascular disease therapy[J]. *J Cell Commun Signal*, 2013, 7(4): 253-263. doi:10.1007/s12079-013-0206-6.
- [19] Hasan A, Pokeza N, Shaw L, et al. The matricellular protein cysteine-rich protein 61 (CCN1/Cyr61) enhances physiological adaptation of retinal vessels and reduces pathological neovascularization associated with ischemic retinopathy[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(11): 9542-9554. doi:10.1074/jbc.M110.198689.
- [20] Liu BY, Soloviev I, Chang P, et al. Stromal cell-derived factor-1/CXCL12 contributes to MMTV-Wnt1 tumor growth involving Gr1+CD11b+ cells[J/OL]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8611 [2015-02-23]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0008611>. doi:10.1371/journal.pone.0008611.
- [21] Grote K, Salguero G, Ballmaier M, et al. The angiogenic factor CCN1 promotes adhesion and migration of circulating CD34+ progenitor cells: potential role in angiogenesis and endothelial regeneration[J]. *Blood*, 2007, 110(3): 877-885.
- [22] Bolen JB, Brugge JS. Leukocyte protein tyrosine kinases: potential targets for drug discovery[J]. *Annu Rev Immunol*, 1997, 15: 371-404. doi:10.1146/annurev.immunol.15.1.371.
- [23] Copeland NG, Gilbert DJ, Schindler C, et al. Distribution of the mammalian Stat gene family in mouse chromosomes[J]. *Genomics*, 1995, 29(1): 225-228. doi:10.1006/geno.1995.1235.
- [24] Harrison DA. The Jak/STAT pathway[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, 4(3): a011205 [2015-02-11]. <http://cshperspectives.cshlp.org/content/4/3/a011205.long>. doi:10.1101/cshperspect.a011205.
- [25] Schindler C, Plumlee C. Interferons pen the JAK-STAT pathway[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2008, 19(4): 311-318. doi:10.1016/j.semedb.2008.08.010.
- [26] Saito Y, Geisen P, Uppal A, et al. Inhibition of NAD(P)H oxidase reduces apoptosis and avascular retina in an animal model of retinopathy of prematurity[J]. *Mol Vis*, 2007, 13: 840-853.
- [27] Byfield G, Budd S, Hartnett ME. The role of supplemental oxygen and JAK/STAT signaling in intravitreal neovascularization in a ROP rat model[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(7): 3360-3365. doi:10.1167/iovs.08-3256.
- [28] Lee YJ, Heo JS, Suh HN, et al. Interleukin-6 stimulates-MG uptake in renal proximal tubule cells; involvement of STAT3, PI3K/Akt, MAPKs and NF- κ B[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2007, 293(4): F1036-F1046. doi:10.1152/ajprenal.00034.2007.
- [29] Al Shabraway M, Bartoli M, El Remessy AB, et al. Role of NADPH oxidase and Stat3 in statin-mediated protection against diabetic retinopathy[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(7): 3231-3238. doi:10.1167/iovs.08-1754.
- [30] McCloskey M, Wang H, Jiang Y, et al. Anti-VEGF antibody leads to later atypical intravitreal neovascularization and activation of angiogenic pathways in a rat model of retinopathy of prematurity[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013, 54(3): 2020-2026. doi:10.1167/iovs.13-11625.
- [31] Charo DN, Ho M, Fajardo G, et al. Endogenous regulation of cardiovascular function by Apelin-APJ[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009, 297(5): H1904-H1913. doi:10.1152/ajpheart.00686.2009.
- [32] Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 251(2): 471-476. doi:10.1006/bbrc.1998.9489.
- [33] Lee DK, Cheng R, Nguyen T, et al. Characterization of Apelin, the ligand for the APJ receptor[J]. *J Neurochem*, 2000, 74(1): 34-41. doi:10.1046/j.1471-4159.2000.0740034.x.
- [34] Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, et al. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand Apelin[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(28): 21061-21067. doi:10.1074/jbc.M908417199.
- [35] Masri B, Morin N, Cornu M, et al. Apelin (65-77) activates p70 S6 kinase and is mitogenic for umbilical endothelial cells[J]. *FASEB J*, 2004, 18(15): 1909-1911. doi:10.1096/fj.04-1930fje.
- [36] Kidoya H, Takakura N. Biology of the apelin-APJ axis in vascular formation[J]. *J Biochem*, 2012, 152(2): 125-131. doi:10.1093/jb/mvs071.
- [37] Sakimoto S, Kidoya H, Naito H, et al. A role for endothelial cells in promoting the maturation of astrocytes through the apelin/APJ pathway in mice[J]. *Development*, 2012, 139(7): 1327-1335. doi:10.1242/dev.072330.
- [38] Kalin RE, Kretz MP, Meyer AM, et al. Paracrine and autocrine mechanisms of apelin signaling govern embryonic and tumor angiogenesis[J]. *Dev Biol*, 2007, 305(2): 599-614. doi:10.1016/j.ydbio.2007.03.004.
- [39] Saint-Geniez M, Masri B, Maleceze F, et al. Expression of the murine *msr/apj* receptor and its ligand Apelin is upregulated during formation of the retinal vessels[J]. *Mech Dev*, 2002, 110(1-2): 183-186. doi:10.1016/S0925-4773(01)00558-5.
- [40] Kasai A, Shintani N, Oda M, et al. Apelin is a novel angiogenic factor in retinal endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 325(2): 395-400. doi:10.1016/j.bbrc.2004.10.042.
- [41] McKenzie JA, Fruttiger M, Abraham S, et al. Apelin is required for non-neovascular remodeling in the retina[J]. *Am J Pathol*, 2012, 180(1): 399-409. doi:10.1016/j.ajpath.2011.09.035.
- [42] Kojima Y, Kundu RK, Cox CM, et al. Upregulation of the Apelin-APJ pathway promotes neointima formation in the carotid ligation model in mouse[J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 87(1): 156-165. doi:10.1093/cvr/cvq052.
- [43] Kasai A, Ishimaru Y, Kinjo T, et al. Apelin is a crucial factor for hypoxia-induced retinal angiogenesis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(11): 2182-2187. doi:10.1161/ATVBAHA.110.209775.
- [44] Tao Y, Lu Q, Jiang YR, et al. Apelin in plasma and vitreous and in fibrovascular retinal membranes from patients with proliferative diabetic retinopathy[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(8): 4237-4242. doi:10.1167/iovs.09-4466.
- [45] Zhang Y, Jiang YR, Lu Q, et al. Apelin in epiretinal fibrovascular membranes of patients with retinopathy of prematurity and the changes after intravitreal bevacizumab[J]. *Retina*, 2013, 33(3): 613-620. doi:10.1097/IAE.0b013e31826d3a76.
- [46] Kunduzova O, Alet N, Delesque-Touchard N, et al. Apelin/APJ signaling system; a potential link between adipose tissue and endothelial angiogenic processes[J]. *Faseb J*, 2008, 22(12): 4146-4153. doi:10.1096/fj.07-104018.
- [47] Cekmez F, Pirgon O, Aydemir G, et al. Correlation between cord blood apelin and IGF-1 levels in retinopathy of prematurity[J]. *Biomark Med*, 2012, 6(6): 821-825. doi:10.2217/bmm.12.82.
- [48] Cekmez F, Canpolat FE, Cetinkaya M, et al. IGF-1 and visfatin levels in retinopathy of prematurity[J]. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*, 2012, 49(2): 120-124. doi:10.3928/01913913-20110531-01.
- [49] Choi J, Lin A, Shrier E, et al. Degradome products of the matricellular protein CCN1 as modulators of pathological angiogenesis in the retina[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(32): 23075-23089. doi:10.1074/jbc.M113.475418.
- [50] Lu Q, Feng J, Jiang YR. The role of apelin in the retina of diabetic rats[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e69703 [2015-02-17]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0069703>. doi:10.1371/journal.pone.0069703.

(收稿日期:2015-03-18)

(本文编辑:尹卫靖 杜娟)