

DOI: 10.13376/j.cbbs/2014014

文章编号: 1004-0374(2014)01-0091-06

内皮细胞增殖抑制因子研究进展

何金蕾, 车倩, 贾梦颖, 张力*

(重庆医科大学病理生理学教研室, 重庆医科大学基础医学院, 重庆 400016)

摘要: 内皮细胞过度增殖引起的病理性血管生成是肿瘤、类风湿性关节炎等发病的关键环节。内皮细胞增殖由血管内皮细胞生长因子等促血管生成因子提供促增殖信号, 而新近发现的多种内皮增殖抑制因子, 如血管内皮抑素、血管抑素、血小板反应蛋白-1、微囊蛋白1、某些 microRNAs 和某些抑癌基因等, 则通过抑制促增殖信号、调节细胞周期、诱导细胞凋亡等途径下调内皮细胞的增殖及血管生成。内皮增殖抑制因子可望成为病理性血管生成防治的新靶点。

关键词: 内皮细胞; 血管生成; 负调控; 抑制因子

中图分类号: R363; R730.231 **文献标志码:** A

Progress on the inhibitory factors of endothelial cells proliferation

HE Jin-Lei, CHE Qian, JIA Meng-Ying, ZHANG Li*

(Department of Pathophysiology College of Basic Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Pathological angiogenesis induced by excessive proliferation of endothelial cells is a crucial step in the progression of cancer, rheumatoid arthritis, etc. The pro-proliferation signals for the proliferation of endothelial cells are provided by vascular endothelial growth factor as well as other growth factors. On the contrary, several inhibitory factors were found recently, including endostatin, angiostatin, thrombospondin-1, caveolin-1, some microRNAs and some anti-oncogenes. These inhibitory factors down-regulate proliferation and angiogenesis of the endothelial cells through suppressing pro-proliferation signals, modulating cell cycle and inducing apoptosis of endothelial cells. These inhibitory factors are emerging as novel targets for the therapy of pathological angiogenesis.

Key words: endothelial cell; angiogenesis; negative regulation; inhibitory factors

病理性血管生成 (pathological angiogenesis) 是关节炎、糖尿病视网膜病变和肿瘤等多种临床疾病发生发展的关键机制, 而血管内皮细胞的增殖是血管新生的主要环节。内皮细胞的增殖过程受血管内皮细胞生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、成纤维细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF)、促血管生成素-1 (angiopoietin-1, Ang-1) 和肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 等促血管生成因子的调控。这些促血管生成因子通过与内皮细胞表面特异性受体结合, 激活胞内促增殖信号、促进细胞增殖分裂、抑制内皮细胞凋亡, 并在内皮细胞的迁移、分化等过程中发挥重要调控作用, 拮抗这些促血管生成信号是目前防治病理性血管生成的主要策略^[1]。然而, 近年来的一系列研究发现

内皮细胞增殖过程还受内皮增殖抑制因子的调控, 这些抑制因子可负调控血管内皮的增殖及血管生成。血管生成正、负调节因子间的动态平衡关系才是调控内皮增殖及血管新生的决定性因素, 对内皮增殖抑制因子的研究有助于更加全面地理解内皮增殖调控机制, 也为病理性血管生成的防治提供了新思路, 成为相关研究领域关注的新焦点^[2]。

1 血管内皮抑素

血管内皮抑素 (endostatin, ES) 是胶原 XVIII 分子

收稿日期: 2013-06-28; 修回日期: 2013-08-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(81071446)

*通信作者: E-mail: zhangli@cqmu.edu.cn

C末端的一个水解片段，相对分子质量为 2×10^4 ，含 184 个氨基酸，能够抑制内皮细胞的增殖、迁移、成管以及诱导凋亡^[1]。ES 能特异性地抑制内皮细胞增殖，而对静止的细胞、正常的细胞及瘤细胞无明显影响。ES 主要是通过抑制促血管生成信号、调控细胞周期和诱导凋亡来抑制内皮细胞增殖。

1.1 ES抑制促血管生成信号

ES 对多种促血管生成因子包括 VEGF、FGF、Ang-1 和 HGF 等的表达存在一定下调作用^[2]，但其机制尚不清楚。Ling 等^[3] 在研究中还发现 ES 能抑制 VEGF 诱导的人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC) 的增殖和迁移 (图 1)。吴静等^[4] 研究表明，ES 可在视网膜中通过抑制蛋白激酶 C、酪氨酸激酶等 VEGF 胞内信号相关的蛋白激酶而阻断 VEGF 的促增殖效应。

1.2 ES调控内皮细胞周期

Xu 等^[5] 采用流式细胞仪检测细胞周期分布，发现 ES 主要引起内皮细胞 G_0/G_1 期阻滞，S 期细胞减少。ES 可通过抑制周期蛋白 D1 (cyclin D1) 的表达，阻止 $G_1 \rightarrow S$ 期进程而抑制内皮细胞增殖^[6] (图 1)。王亮等^[7] 的实验提示 ES 还可能通过增加周期蛋白依赖性激酶抑制剂 (cyclin dependent kinase inhibitor,

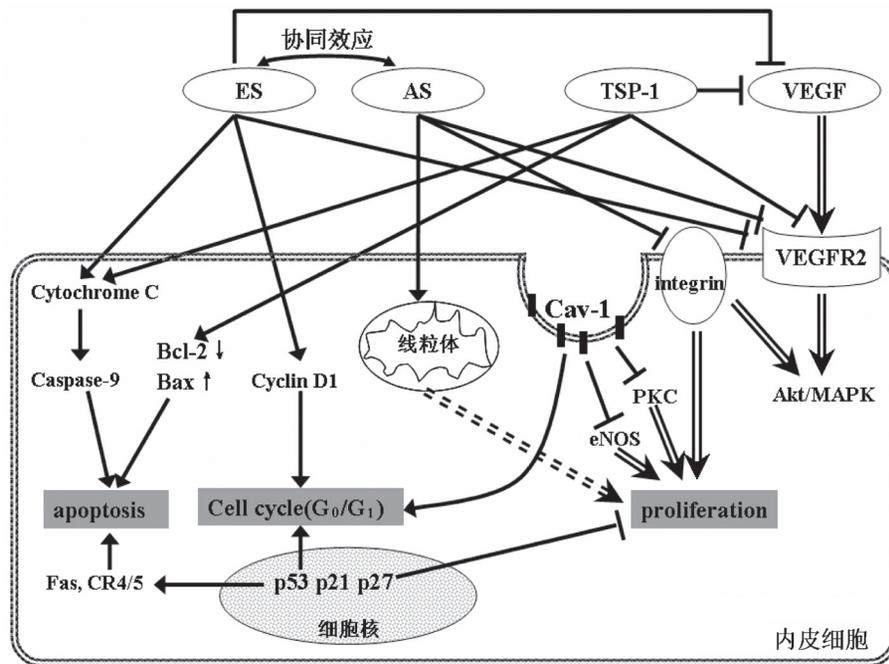
CKI) p21 的表达，抑制 cyclin D1/CDK4 的表达，使人脐静脉内皮细胞 ECV-304 $G_1 \rightarrow S$ 期进程受阻。

1.3 ES诱导内皮细胞凋亡

ES 诱导内皮细胞凋亡也与 ES 抑制内皮细胞增殖密切相关。研究显示，ES 可以通过诱导细胞色素 C 的释放和激活 caspase-9 来启动内皮细胞的凋亡 (图 1)，并且电压依赖性阴离子通道 1 (voltage-dependent anion channel 1, VDAC1) 在调控 ES 诱导的内皮细胞凋亡中发挥重要作用，但其具体作用机制有待进一步研究^[8]。

2 血管抑素

血管抑素 (angiostatin, AS) 是纤维蛋白溶解酶的降解产物，相对分子质量为 3.8×10^4 ，是最早得到的由肿瘤诱导产生的内源性血管生成抑制物，也是迄今发现的作用最强、实验效果最好的血管生成抑制剂，它以高效的抗血管新生作用且无耐药性等特点而倍受关注^[9]。正常生理状态下 AS 并不产生，而当原发肿瘤存在时，肿瘤产生或活化某些蛋白酶使纤溶酶原分解而产生 AS 片段^[10]。AS 能直接抑制内皮细胞增殖和通过调节血管生成因子而发挥对内皮细胞增殖的抑制作用，此外还有研究发现



注：Akt, 蛋白激酶B; AS, 血管抑素; Cav-1, 微囊蛋白1; eNOS, 内皮型一氧化氮合酶; ES, 血管内皮抑素; MAPK, 丝裂原活化蛋白激酶; PKC, 蛋白激酶C; TSP-1, 血小板反应蛋白-1; VEGF, 血管内皮细胞生长因子; VEGFR2, 血管内皮细胞生长因子受体2。

图1 内皮细胞增殖抑制因子限制内皮增殖的分子机制

AS 和 ES 有协同作用^[1]。

2.1 AS直接抑制内皮细胞增殖

AS 对内皮细胞增殖、迁移和成管等血管生成的关键步骤具有抑制作用, 但此过程的生物化学机制及其在体内抑制血管生成的过程还不是十分清楚, 可能与内皮细胞上的膜联蛋白、整合素等蛋白有关^[1]。Javaherian 等^[1]研究发现, AS 能影响线粒体中的三羧酸循环, 这可能也与 AS 抑制内皮细胞增殖有关。此外, AS 还可与内皮细胞表面 ATP 合成酶的 α -、 β - 亚基结合, 这种结合可能也与其抑制内皮细胞增殖的效应有关^[11]。

2.2 AS抑制促血管生成信号

在各种促血管生成因子如 VEGF、bFGF 等的刺激下, 内皮细胞内的丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK)/ 细胞外信号调节蛋白激酶 (extracellular signal-regulated protein kinase, ERK) 信号通路被激活, 进而促进内皮细胞的增殖; 而 AS 可作用于内皮细胞的 ERK, 使其暂时脱磷酸化而阻断 MAPK/ERK 信号通路, 从而抑制内皮细胞的增殖^[10,12]。AS 还能与内皮细胞表面高表达的特异性黏附分子受体 (如整合素) 相互作用, 而整合素在血管新生中起着重要作用, AS 与整合素的相互作用可干扰 VEGF、bFGF 等促内皮细胞增殖因子的促增殖信号^[9] (图 1)。

3 血小板反应蛋白-1

血小板反应蛋白-1 (thrombospondin-1, TSP-1) 是由 3 条相同肽链构成的同源三聚体的多功能基质糖蛋白, 相对分子质量为 4.5×10^5 , 主要存在于血小板 α 颗粒和细胞外基质中。TSP-1 通过结合基质蛋白、血清蛋白和细胞因子等产生多种作用, 其生物学功能很复杂, 在肿瘤的生长、迁移、炎症和血管生成等方面起重要作用^[13]。现已发现包括成纤维细胞、内皮细胞、平滑肌细胞和单核-巨噬细胞等许多正常细胞可合成和分泌 TSP-1, 而一些肿瘤细胞系, 如鳞状细胞癌、黑色素瘤、骨肉瘤和乳腺癌等也可合成 TSP-1^[14]。目前已确认, TSP-1 可在多种肿瘤中发挥抑制血管生成的作用, 其机制与抑制促血管生长因子、诱导内皮细胞凋亡和抑制内皮细胞周期的进程有关^[15]。

3.1 TSP-1抑制促血管生成信号

研究发现 TSP-1 可通过其受体 CD36 和整合素来抑制 VEGFR-2 的酪氨酸磷酸化, 这可降低 Akt 的磷酸化水平及其介导的细胞生存信号^[15] (图 1)。

TSP-1 也可直接与 VEGF 结合, 随后在低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 (low-density lipoprotein receptor-related protein, LRP-1) 的介导下, VEGF 与 TSP-1 一起被细胞摄取内化, 这可降低细胞外液中 VEGF 的水平, 阻碍其促增殖效应的发挥^[15]。还有研究发现, TSP-1 和 bFGF-2 与肝磷脂有高度的亲和力, TSP-1 可能通过与 bFGF-2 竞争内皮细胞表面的肝磷脂来抑制 bFGF-2 促内皮细胞增殖的作用^[14]。此外, TSP-1 C 末端 4N1K 多肽可抑制 bFGF 诱导的角膜血管新生^[14]。

3.2 TSP-1诱导内皮细胞凋亡

TSP-1 对内皮细胞增殖的抑制作用也与其诱导内皮细胞凋亡有关。TSP-1 可通过抑制 CD36 来促进细胞色素 C 释放并连续活化 caspase-9 和 caspase-3 来诱导内皮细胞凋亡^[15] (图 1)。TSP-1 可通过下调 *bcl-2* 和上调 *bax* 来促进内皮细胞的凋亡^[16]。此外, TSP-1 的衍生物 ABT-510 在体外能够提高 CD95 的死亡受体 CD95L 的水平来杀死内皮细胞, 在体内可增强小剂量环磷酰胺和顺铂等诱导内皮细胞凋亡的效应^[14]。Freyberg 等^[17]发现不规则血流可通过 TSP-1 和整合素 $\alpha\beta3$ / 整合素相关蛋白 (integrin-associated protein, IAP) 复合物诱导血管内皮细胞凋亡。

4 微囊蛋白1

微囊是细胞表面特异性的内陷区, 广泛存在于各种类型的细胞中。微囊蛋白 1 (caveolin-1, Cav-1) 是胞膜上的一种整合膜蛋白, 也是微囊表面的一种标记蛋白, 在内皮细胞中表达丰富。近年来研究表明, 细胞多条信号转导途径在微囊中发生交联, 而 Cav-1 氨基酸序列的 N 端脚手架区 (caveolin scaffolding domain, CSD) 能直接与多种信号分子 (如 eNOS、G 蛋白 α 亚单位等) 上存在的特异性序列结合, 调控这些信号分子的活性状态^[18]。Cav-1 参与了胞膜微囊的形成以及细胞增殖、分化、凋亡和血管生成信号通路的调控, 与肿瘤的发生、发展和转移有密切关系^[18]。

4.1 Cav-1抑制促血管生成信号

房凯和刘军^[19]用腺病毒介导内皮细胞高表达 Cav-1 蛋白, 发现 Cav-1 抑制内皮细胞内 p42/44-MAPK 的磷酸化水平, 而 VEGF 等促血管生成因子则能激活 p42/44MAPK 信号通路; 活化的 p42/44-MAPK 进入胞核内, 激活 Elk 等转录因子的活性, 从而促进内皮细胞的增殖。因此, Cav-1 通过抑制 p42/44MAPK 信号通路而下调 VEGF 等促血管生成

因子的作用^[20]。另一方面, VEGF 刺激内皮细胞时, Cav-1 蛋白表达下调, 提示 Cav-1 是 VEGF 的重要调控因子。

4.2 Cav-1的其他调控机制

Cav-1 除了能抑制血管生成因子外, 还能通过阻碍内皮细胞进入 S 期来抑制内皮细胞增殖^[19]。Cav-1 还可以与蛋白激酶 C 的活性部位直接结合, 负调控蛋白激酶 C 的活性来抑制内皮细胞增殖^[17] (图 1)。研究表明, 内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 通过某些细胞因子的激活产生一氧化氮 (nitric oxide, NO), NO 能调控内皮细胞生长、迁移以及血管重塑和血管新生^[22]。而在内皮细胞中 Cav-1 与 eNOS 作用后, eNOS 发生酪氨酸磷酸化, 活性降低, 导致 NO 生成减少, 其促血管生成效应受抑制^[23]。

5 MicroRNAs

MicroRNAs (miRNAs) 是一类高度保守的内源性非编码单链小分子 RNA, 通过降解 mRNA 或抑制蛋白质翻译的方式调节基因的表达, 在各种生理和病理过程中扮演着重要角色^[24]。研究发现, 某些 miRNAs 参与调节内皮细胞的增殖和血管新生, 而在某些以病理性血管生成为基础的疾病中 miRNAs 的表达可出现异常^[24]。目前发现的具有抑制血管生成效应的 miRNAs 概况如下 (表 1), 其中研究较多的代表性 miRNAs 包括 miR-221/222 和 miR-17-92 家簇的 miRNAs。

5.1 MiR-221/222

MiR-221/222 由位于人 X 染色体上的一个共同的多聚腺苷酸前体 miRNA 转录而来, 在生长因子刺激后或静止状态下的内皮细胞中高表达^[25]。外源性 miR-221/222 在人静脉和淋巴管的内皮细胞中通过靶向调控许多 mRNAs 来抑制内皮细胞的增殖^[25]。体外实验发现, miR-221/222 可通过下调靶细胞的

干细胞生长因子受体 c-kit, 或直接负调控 eNOS 的表达, 来抑制内皮细胞的增殖和血管新生^[24]。此外, miR-221/222 在内皮细胞中还能靶向调控转录因子 ETS1 和转录抑制子 ZEB2 来发挥作用^[25]。

5.2 MiR-17-92基因簇

MiR-17-92 基因簇编码 6 种成熟的 miRNAs: miR-17、miR-18a、miR-19a、miR-20a、miR-19b 和 miR-92a^[25]。在内皮细胞中这些 miRNAs 的高表达表现出抗血管生成的作用^[25]。其中 miR-17a、miR-18a、miR-19a 和 miR-20b 在异位表达时可抑制内皮细胞的生长, miR-92a 则通过靶向调控整合素 $\alpha 5$ (integrin $\alpha 5$, ITGA5) 和直接抑制 eNOS 的产生来抑制血管网的形成^[25]。

6 抑癌基因

癌基因和抑癌基因不仅与肿瘤细胞的增殖与凋亡有关, 而且许多癌基因和抑癌基因还通过调控促血管生成因子的产生, 影响细胞周期和凋亡, 从而对内皮细胞的增殖进行调控。其中抑癌基因 p53、p21、p27 等可对内皮增殖起负调控作用^[30-32] (图 1)。p53 基因的表达产物 p53 蛋白可明显诱导肿瘤细胞的凋亡, 当其高表达时可调控细胞凋亡并有抗血管生成的作用^[30]。在体内低氧环境中, p53 可抑制低氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF-1 α) 和 VEGF 等促血管生成因子的表达^[30], 从而抑制内皮增殖。此外, 叶酸能激活 cSrc/ERK2/NF- κ B/p53 信号通路, 上调 p21 和 p27 的表达, 而 p21 和 p27 都是周期蛋白依赖性激酶抑制剂, 最终使细胞周期停滞在 G₀/G₁ 期, 从而抑制内皮细胞的有丝分裂^[31]。p53 还可调控 Fas 和死亡受体 DR4/DR5 信号促进 HUVEC 的凋亡^[32]。癌基因和抑癌基因调控内皮细胞增殖的作用还有待进一步的研究, 但这些基因及其表达产物的发现将为从分子水平上调控内皮增殖提供更多有效的方法。

表1 抑制血管生成的miRNAs

miRNAs	靶基因	在内皮细胞中的表达情况	参考文献
miR-221/222	c-kit、eNOS	高表达	[24]
miR-92a	ITGA5、eNOS	高表达	[25]
miR-24	GATA2、Pak1	高表达	[25]
miR-328	CD44	尚不清楚	[26]
miR-214	eNOS	尚不清楚	[27]
miR-15/16	VEGF、cyclin E	表达	[24,28]
miR-424	VEGFA、VEGFR-2、FGFR1	表达	[29]
miR-93、200b	VEGFA	表达	[29]

7 结语

综上所述, 在血管生成过程中, 内皮细胞的增殖由多种因子调控, 可以认为内皮细胞增殖的促进或抑制是由正、负调控的平衡来决定。可以通过加强负调控和减弱正调控抑制内皮增殖来治疗相关疾病, 而内皮细胞的增殖受到多种抑制因子的限制, 这些抑制因子在调控内皮的适度增殖、血管的有序新生中发挥重要作用。临床研究也初步表明, 这些抑制因子的表达或者效应异常与病理性血管生成过度密切相关, 提示内皮增殖的抑制因子有望成为相关疾病防治的新靶点^[9]。然而, 目前对于内皮增殖抑制因子的研究还存在许多尚未揭示的问题, 例如: ES 抑制 VEGF 基因表达的机制还不十分清楚; AS 抑制新血管生成的分子机制也有待进一步研究; 如何安全、高效、特异地调控相关 miRNAs 和抑癌基因的表达尚需探索。进一步深入研究内皮细胞增殖负调控的分子信号机制, 不仅有助于揭示相关疾病的发病机制, 也将为相关疾病的防治提供更多有效的策略。

[参 考 文 献]

- [1] Javaherian K, Lee TY, Tjin Tham Sjin RM, et al. Two endogenous antiangiogenic inhibitors, endostatin and angiostatin, demonstrate biphasic curves in their antitumor profiles. *Dose Response*, 2011, 9(3): 369-76
- [2] Abdollahi A, Hahnfeldt P, Maercker C, et al. Endostatin's antiangiogenic signaling network. *Mol Cell*, 2004, 13 (5): 649-63
- [3] Ling Y, Yang Y, Lu N, et al. Endostar, a novel recombinant human endostatin, exerts antiangiogenic effect via blocking VEGF-induced tyrosine phosphorylation of KDR/Flk-1 of endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 361(1): 79-84
- [4] 吴静, 张美霞, 张建军, 等. 内皮抑素对视网膜新生血管中血管内皮细胞生长因子表达的影响. *国际眼科杂志*, 2009, 9(1): 25-7
- [5] Xu WJ, Huang C, Wang J, et al. Comparison of the effects of recombinant human endostatin and docetaxel on human umbilical vein endothelial cells in different growth states. *Chin Med J: Engl*, 2011, 124(18): 2883-9
- [6] Hanai J, Dhanabal M, Karumanchi SA, et al. Endostatin causes G1 arrest of endothelial cells through inhibition of cyclinD1. *J Biol Chem*, 2002, 277(19): 16464-9
- [7] 王亮, 金锡御, 潘进洪, 等. 内皮抑制素抑制内皮细胞增殖的细胞周期调控机制. *中华实验外科杂志*, 2003, 20(9): 821-2
- [8] Yuan S, Fu Y, Wang X, et al. Voltage-dependent anion channel 1 is involved in endostatin-induced endothelial cell apoptosis. *FASEB J*, 2008, 22(8): 2809-20
- [9] Szekecz Z, Besenyei T, Paragh G, et al. Angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Autoimmunity*, 2009, 42(7): 563-73
- [10] 吴扬兰, 王远亮. 肿瘤新生血管抑制剂—血管抑素和内皮抑素. *重庆大学学报*, 2003, 26 (10): 72-5
- [11] Fu Y, Zhu Y. Ectopic ATP synthase in endothelial cells: a novel cardiovascular therapeutic target. *Curr Pharm Des*, 2010, 16(37): 4074-9
- [12] Sheikh AQ, Taghian T, Hemingway B, et al. Regulation of endothelial MAPK/ERK signalling and capillary morphogenesis by low-amplitude electric field. *J R Soc Interface*, 2013, 10(78): 20120548
- [13] Lopez-Dee Z, Pidcock K, Gutierrez LS. Thrombospondin-1: multiple paths to inflammation. *Mediators Inflamm*, 2011, 2011: 296069
- [14] 曹玉堂, 王晓毅. 黏液表皮样癌中血小板反应蛋白-1与血管生成. *国际口腔医学杂志*, 2009, 36(4): 435-7
- [15] Lawler PR, Lawler J. Molecular basis for the regulation of angiogenesis by thrombospondin-1 and -2. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2(5): a006627
- [16] 黄小玲, 顾立萍, 骆元斌. 血小板反应蛋白-1在肿瘤血管生成中的作用. *兰州大学学报*, 2011, 37(2): 74-8
- [17] Freyberg MA, Kaiser D, Graf R, et al. Proatherogenic flow conditions initiate endothelial apoptosis via thrombospondin-1 and the integrin-associated protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 286(1): 141-9
- [18] Bernatchez P, Sharma A, Bauer PM, et al. A noninhibitory mutant of the caveolin-1 scaffolding domain enhances eNOS-derived NO synthesis and vasodilation in mice. *J Clin Invest*, 2011, 121 (9): 3747-55
- [19] 房凯, 刘军. Caveolin-1 对内皮细胞增殖的抑制作用研究. *中华肿瘤防治杂志*, 2007, 14(9): 660-1
- [20] Shigeishi H, Yoneda S, Taki M, et al. Correlation of human Bub1 expression with tumor-proliferating activity in salivary gland tumors. *Oncol Rep*, 2006, 15(4): 933-8
- [21] Wang XQ, Yan Q, Sun P, et al. Suppression of epidermal growth factor receptor signaling by protein kinase C- α activation requires CD82, caveolin-1, and ganglioside. *Cancer Res*, 2007, 67(20): 9986-95
- [22] Mehta VB, Zhou Y, Radulescu A, et al. HB-EGF stimulates eNOS expression and nitric oxide production and promotes eNOS dependent angiogenesis. *Growth Factors*, 2008, 26(6): 301-15
- [23] Arora R, Hare DL, Zulli A. Simvastatin reduces endothelial NOS: caveolin-1 ratio but not the phosphorylation status of eNOS *in vivo*. *J Atheroscler Thromb*, 2012, 19 (8): 705-11
- [24] Urbich C, Kuehnbacher A, Dimmeler S. Role of microRNAs in vascular diseases, inflammation, and angiogenesis. *Cardiovasc Res*, 2008, 79(4): 581-8
- [25] Santoro MM, Nicoli S. MiRNAs in endothelial cell signaling: the endomiRNAs. *Exp Cell Res*, 2013, 319(9): 1324-30
- [26] Wang CH, Lee DY, Deng Z, et al. MicroRNA miR-328 regulates zonation morphogenesis by targeting CD44 expression. *PLoS One*, 2008, 3(6): e2420
- [27] Chan LS, Yue PY, Mak NK, et al. Role of microRNA-214 in ginsenoside-Rg1-induced angiogenesis. *Eur J Pharm Sci*, 2009, 38(4): 370-7

- [28] Ofir M, Hacohen D, Ginsberg D. MiR-15 and miR-16 are direct transcriptional targets of E2F1 that limit E2F-induced proliferation by targeting cyclin E. *Mol Cancer Res*, 2011, 9 (4): 440-7
- [29] Dang LT, Lawson ND, Fish JE. MicroRNA control of vascular endothelial growth factor signaling output during vascular development. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(2): 193-200
- [30] Yang J, Ahmed A, Poon E, et al. Small-molecule activation of p53 blocks hypoxia-inducible factor 1 α and vascular endothelial growth factor expression *in vivo* and leads to tumor cell apoptosis in normoxia and hypoxia. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(8): 2243-53
- [31] Lin SY, Lee WR, Su YF, et al. Folic acid inhibits endothelial cell proliferation through activating the cSrc/ERK 2/NF- κ B/p53 pathway mediated by folic acid receptor. *Angiogenesis*, 2012, 15(4): 671-83
- [32] Chiang JH, Yang JS, Lu CC, et al. Newly synthesized quinazolinone HMJ-38 suppresses angiogenic responses and triggers human umbilical vein endothelial cell apoptosis through p53-modulated Fas/death receptor signaling. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 269(2): 150-62