

DOI: 10.13376/j.cblls/2015036

文章编号: 1004-0374(2015)03-0262-06



杨晓, 军事医学科学院生物工程研究所研究员。她长期立足国内, 带领课题组在国内率先建立了小鼠条件基因敲除技术体系, 系统地研究了转化生长因子- β (TGF- β)/Smad 信号通路维持组织稳态的生理功能及其分子机制, 揭示了该信号通路失调导致组织稳态失衡与疾病发生间的因果联系, 发现和阐明了多种重大疾病的发病机制, 为人类相关疾病的转化医学研究提供了新的理论基础和动物模型。在 *Developmental Cell*、*Cell Stem Cell* 等 SCI 杂志上发表研究论文和综述 115 篇, SCI 他引 3 725 次 (H 指数 30)。主编和参编国内外专著 13 部, 获得国际和国内发明专利各 2 项。以第一完成人获得 2012 年国家自然科学二等奖。曾经荣获 JALAS 国际奖、中国青年女科学家奖和求是杰出青年奖, 2006 年入选新世纪百千万人才工程国家级人选, 2013 年入选国家创新人才推进计划首批科技创新领军人才。目前兼任 *Journal of Biological Chemistry* 等多种国际知名科学期刊编委。

血管管腔形成的遗传调控

曾 健, 兰 雨*, 杨 晓*

(军事医学科学院生物工程研究所发育和疾病遗传学研究室, 北京 100071)

摘 要: 血管系统是脊椎动物机体中最早发育并行使重要生理功能的复杂系统。血管管腔形成启始于心脏开始跳动和所有其他组织器官形成之前, 对于促进血管系统的精确建成和有效灌流, 通过营养运输、气体交换和代谢废物清除以确保所有组织器官的形成和生长至关重要。在血管发育过程的两个阶段, 即血管发生 (vasculogenesis) 和血管形成 (angiogenesis) 中, 有效管腔的形成和维持均是保证血管正常发育并行使生理功能的关键环节。血管管腔形成大致可以分为两个关键环节: 血管管腔形成的诱导以及内皮细胞极性的建立和维持。重点依据体内遗传修饰模式生物方面的研究结果, 从上述两个环节分别阐述血管管腔形成的遗传调控机制。

关键词: 血管管腔形成; 细胞极性; 细胞骨架重排

中图分类号: Q344 **文献标志码:** A

Genetic control of vascular lumen formation

ZENG Jian, LAN Yu*, YANG Xiao*

(Genetic Laboratory of Development and Disease, Institute of Biotechnology, Beijing 100071, China)

Abstract: The blood vasculature is one of the first organ systems to form during vertebrate embryogenesis. Initiated before heart beating and all other organ formation, vascular tubulogenesis plays essential roles in the proper establishment and efficient perfusion of blood vessels which ensure organ formation and growth by meeting the

收稿日期: 2015-02-11

基金项目: 国家重大科学研究计划(2012CB945103); 国家自然科学基金重点项目(31430057); 国家自然科学基金重大研究计划培育项目(91439128); 国家自然科学基金面上项目(31171410, 81370596)

*通信作者: E-mail: yangx@bmi.ac.cn (杨晓); rainyblue_1999@yahoo.com (兰雨)

demands of a rapidly growing embryo in need of nutrients, gas exchange, and metabolic waste removal. During the two major steps of vascular development, vasculogenesis and angiogenesis, the process of lumen formation is critical for establishing a patent and functional vascular system. There are two crucial events during vascular lumen formation: induction of vascular lumen formation, establishment and maintenance of endothelial cell polarity. In this review, we will focus on the diverse mechanisms by which the vascular lumens are formed, based on *in vivo* studies in genetically modified animal models.

Key words: vascular lumen formation; cell polarity; cytoskeleton rearrangement

血管系统是脊椎动物机体中最早发育并行使重要生理功能的复杂系统。血管系统的精确建成和有效灌流有助于营养运输、气体交换和代谢废物清除,对于胚胎发育和成体稳态维持至关重要。脊椎动物的血管发育过程可分成两个不同的阶段。第一个阶段是血管发生 (vasculogenesis)。在这一阶段,中胚层的非血管细胞发育为成血管母细胞 (angioblasts), 迁移至内胚层与中胚层界面原位分化为内皮细胞, 并聚集成由实心细胞团组成的索样结构^[1]。这种血管索在整个胚胎中形成具有许多结节的网状结构^[1]。随后, 血管索需要经历管腔形成 (lumen formation) 过程, 即局部的结节状内皮细胞团中央开始形成空腔, 各管腔连通之后便成为具有贯流功能的血管管道, 形成初级血管网络^[1]。第二个阶段是血管形成 (angiogenesis)。原始血管网络通过生长、迁移、出芽和修剪等复杂的血管重塑过程发育成具有精细复杂等级结构的成熟血管网络^[1-2]。在这一阶段, 也需要经历管腔形成过程, 但这一过程是在已有的血管管腔基础上通过出芽最前端的端细胞 (tip cells) 不断迁移, 从而在其后端的柄细胞 (stalk cells) 之间形成新的血管空腔^[1]。总之, 无论在哪个阶段, 有效管腔的形成和维持都是保证血管正常发育和行使功能的关键环节。然而, 一直以来人们对于血管管腔形成的遗传调控机制知之甚少。直到 2009 年以后, 通过对具有血管管腔形成缺陷表型的体内遗传修饰模式生物的深入研究, 人们才渐渐揭开血管管腔形成调控机制的面纱, 发现了一些重要的调控分子和相关信号通路。本文重点依据体内遗传修饰模式生物方面的研究结果, 对血管管腔形成的遗传调控机制研究作一综述。

1 血管管腔形成的细胞学机制

形成管腔的单层内皮细胞层, 毫无疑问是血管管腔形成的始动者。对斑马鱼和小鼠体内模型的研究证实, 一般情况下, 内皮细胞之间的空腔形成可以通过两种不同的细胞学行为机制来完成。一是内

皮细胞通过胞饮 (pinocytosis) 形成细胞内多个囊泡 (vacuole), 囊泡融合在细胞内形成空腔, 并与相邻细胞内空腔融合形成管腔。这种机制在斑马鱼的体节间血管 (intersegmental vessel, ISV) 有明确报道^[3]。二是内皮细胞通过膜表面分子重排从而在细胞之间拉伸形成管腔, 这种形式在小鼠背主动脉的管腔形成中起着主导作用^[4]。事实上, 这两种管腔形成模式并不是相互排斥独立存在的。例如, 在小鼠背主动脉管腔形成过程中, 最初形成的实心细胞束中内皮细胞内囊泡形成和膜表面分子重排介导的模式可同时存在^[5]; 在斑马鱼的 ISV 管腔形成过程中, 出芽最前端的端细胞不断迁移, 在其后端的柄细胞之间形成的新的血管空腔, 也是两种模式伴随而行^[3,6]。近年来, 研究人员在斑马鱼的总主静脉 (common cardinal vein, CCV) 中发现了一种新的血管管腔形成模式: 部分内皮细胞脱离原来的位置并在已有的血管管腔内侧次序排列, 从而形成新的管腔^[7]。但这一模式是否存在于其他类型的物种中还有待进一步验证。在血管管腔形成期间, 内皮细胞可以根据不同的生理环境采用不同的细胞行为机制, 以更高效地形成适应不同组织器官需要的功能血管网络。考虑到血管内皮细胞高度的异质性, 也许还存在其他血管管腔形成的细胞学机制。

2 血管管腔形成的分子调控机制

目前, 基于遗传修饰模式生物的研究证据显示, 血管管腔形成的调控大致可以分为两个关键环节: 血管管腔形成的诱导以及细胞极性的形成和维持。其中, 血管内皮细胞极性的建立和维持贯穿于整个管腔形成的过程, 是管腔形成的必要条件。内皮细胞的极性, 指的是内皮细胞通常沿腔侧 - 基底侧轴向发生极化, 细胞间及侧面形成黏附连接、紧密连接等重要胞间结构; 同时, 其他重要蛋白, 如极性复合物、细胞膜蛋白、细胞骨架以及相关蛋白等也发生不对称分布^[8]。

2.1 血管管腔形成的诱导

血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 信号通路在生理和病理情况下的血管形成中具有强大调控作用。VEGF 家族成员包括 6 种分泌型糖蛋白二聚体: VEGF-A、-B、-C、-D、-E 和胎盘生长因子 (placenta growth factor, PlGF), 由多种组织细胞分泌表达^[9]。VEGF-A 在血管形成的调控中起主导作用, 它与内皮细胞表面受体 VEGFR1 和 VEGFR2 分别结合后会有不同的效应^[9]。VEGF-A 与 VEGFR2 结合后激活下游信号通路, 调控内皮细胞的迁移、增殖、凋亡以及血管管腔形成^[9]。而 VEGFR1 与 VEGF-A 结合后, 主要效应是竞争性阻断 VEGF-A 与 VEGFR2 的下游信号^[9]。研究表明, VEGF-A/VEGFR2 信号的诱导在血管管腔形成中具有重要意义。VEGF-A 杂合性缺失的小鼠背主动脉管腔无法形成, 但内皮细胞表面类足细胞标记蛋白 (podocalyxin-like protein, PODXL)、膜突蛋白 (Moesin) 的极性分布正常, 只是细胞与细胞连接侧处的非肌肉肌球蛋白 II (non-muscle Myosin II, nm-Myosin II) 表达缺失^[4]。进一步的分析表明, VEGF-A 通过激活 Rho 相关激酶 (Rho-associated kinase, ROCK) 信号通路招募 nm-Myosin II 到细胞连接处, 与细胞骨架成分丝状肌动蛋白 (filamentous actin, F-actin) 偶联, 从而驱动内皮细胞形态的拉长和管腔的形成^[4]。基因敲入小鼠模型的研究还表明, VEGF-A 的不同异构体可以导致不同直径大小的血管管腔^[10]。另外, 在出芽过程中, 柄细胞中 VEGFR2 的磷酸化状态也可以影响细胞极性和血管管腔形成^[11]。研究发现, 在内皮细胞特异性磷酸酪氨酸磷酸酶 (vascular endothelial-phosphotyrosine phosphatase, VE-PTP) 失活的小鼠胚胎或斑马鱼中, 内皮柄细胞中磷酸化 VEGFR2 过剩, 磷酸化 VE-cadherin (vascular endothelial cadherin) 增加, 进而导致细胞连接不稳定、细胞极性缺陷和管腔塌陷^[11]。近期研究证明, 在新生血管的出芽过程中, VEGF 信号通路还能与 Notch 信号通路合作调节 VE-cadherin 的动态组装^[12]。这些研究提示, VEGF/VEGFR2 信号通路可能通过调节 VE-cadherin 的活性和分布在血管管腔形成的诱导和维持的整个过程中发挥重要作用。

2.2 内皮细胞极性的形成和维持

2.2.1 细胞黏附和连接分子

呈极性分布于内皮细胞之间而非面向管腔或者基底侧的黏附连接分子在血管发育和稳态维持中起着关键作用^[13]。VE-cadherin 是钙依赖的细胞黏附

分子超家族成员, 它在内皮细胞黏附连接中特异性表达。VE-cadherin 不仅是内皮黏附连接的标志物, 它还在细胞极性和血管管腔形成中有重要功能。VE-cadherin 完全基因敲除小鼠由于血管重塑缺陷死于胚胎第 9.5 d^[4]。在胚胎的更早期 (3 体节期, 管腔形成之前), VE-cadherin 缺失的背主动脉内皮细胞表面腔侧标志物 CD34/PODXL、Moesin 未出现极性分布特征, 细胞骨架 F-actin 和 nm-Myosin II 表达减少甚至消失, 内皮细胞形态不能进一步拉长, 血管管腔无法形成^[4]。在 VE-cadherin 敲降的斑马鱼模型中, ISV 管腔变窄甚至闭合, 同时紧密连接分子 Claudin-5 表达分布改变^[14]。这些数据证明了 VE-cadherin 在内皮细胞极性建立以及血管管腔形成中的关键作用。海绵状血管瘤基因 (cerebral cavernous malformation, CCM) 被证明能与 VE-cadherin 在细胞连接处相互作用, 进而参与细胞极性和血管管腔形成^[15]。在人体中, CCM1 的突变会造成人脑微血管病变, 患者脑组织中血管内皮细胞表面的 VE-cadherin 和 PODXL 表达分布异常, 证实管腔形成缺陷也许与海绵状血管瘤发生密切相关^[15]。最近, 研究人员通过类血管生成抑制素结合蛋白 2 (angiomin like 2, AmotL2) 的缺陷小鼠和斑马鱼建立了新的背主动脉管腔缺陷的体内模型, 发现 VE-cadherin/AmotL2 复合体可传递机械应力, 通过与 F-actin 相互作用调节内皮细胞的形态拉伸和管腔的扩张^[16]。

在由膜表面分子重排机制介导的管腔形成模式中, 内皮细胞的极性一旦建立, 腔侧表达分子, 如带有唾液酸基团的黏附分子 CD34 家族和 PODXL 就被招募于细胞腔侧^[4]。这类腔侧表达分子不仅是内皮细胞腔侧的极性标志物, 还在管腔形成中具有重要功能。在小鼠胚胎早期的 2 体节期, 唾液酸苷酶注射或电中和处理均显著抑制了背主动脉管腔的形成, 而负电荷的再次引入能很好地挽救这种管腔缺陷表型^[17]。这些数据有力证明了细胞腔侧膜表面带电分子基团的排斥在血管管腔形成中的重要作用。此外, Moesin 分子也在内皮细胞腔侧的膜表面表达, 它是黏附分子 CD34/PODXL 和细胞骨架 F-actin 之间的接头分子, 属于 Ezrin/Radixin/Moesin (ERM) 基因家族, 该家族在多种组织器官成管和细胞极性中具有重要功能^[14]。在完全敲除 Moesin 的小鼠模型中, 背主动脉管腔变窄甚至无法形成, 但腔侧 PODXL 的表达分布未受影响^[4]。在完全敲除 PODXL 的小鼠模型中, 40% 的背主动脉管腔均无法形成,

CD34/PODXL 和 F-actin 的极性分布发生紊乱^[4]。在斑马鱼 ISV 囊泡介导的成管模型中, Moesin1 富集于囊泡膜以及后期囊泡融合后形成的管腔腔侧面^[14]。Moesin1 基因敲降导致 ISV 管腔无法形成, 而 VE-cadherin 基因敲降阻断 Moesin1 的极性分布并导致血管管腔形成缺陷^[14]。这些研究证实, 腔侧表达分子在血管内皮细胞极性建立和血管管腔形成中具有关键作用。

分布于内皮细胞基底侧的黏连受体蛋白 Integrin 在血管管腔形成中也发挥重要作用。在内皮细胞特异性敲除 $\beta 1$ -integrin 的小鼠模型中, 中等大小的动脉管腔内皮细胞极性产生缺陷, 细胞形态由正常的鹅卵石状变为立方体状, 并出现多层内皮现象, 管腔缩窄闭合^[5]。在分子水平上, 缺陷的内皮细胞中与细胞黏附相关的 CD31、VE-cadherin、Claudin-5 以及作为腔侧标志物的 PODXL 的排布丧失了原来的极性分布特征^[5]。这些结果提示, $\beta 1$ -integrin 介导的信号对于内皮细胞极性以及单层内皮状态的维持具有关键作用, 进而影响动脉血管管腔形成。

2.2.2 细胞极性复合体

许多研究证实, 细胞极性复合体主要包括 Par 复合体、Scribble 复合体以及 Crumbs 复合体, 在上皮细胞极性建立和维持中具有至关重要的作用^[8]。有一些证据提示, 细胞极性复合体可能在血管内皮细胞极性建立和维持以及血管管腔形成中也具有重要的功能。在内皮细胞特异性敲除 $\beta 1$ -integrin 的小鼠模型中, Par3 蛋白出现表达下调和分布改变, Par3 蛋白的体内过表达部分挽救了管腔缺陷表型, 提示细胞极性复合体参与调节血管管腔形成^[5]。Ras 结合蛋白 1 (Ras-interacting protein 1, Rasip1) 在内皮中特异表达, 敲除这一基因的小鼠全身血管均出现典型的管腔形成缺陷^[18]。Rasip1 突变体内皮细胞聚团, Par3 表达下调并分布异常, 与细胞黏附相关的 VE-cadherin 在细胞表面的极性分布消失, 成熟黏着斑形成障碍, 提示 Par3 可能参与调节黏附分子的极性分布和管腔形成^[18]。然而, 完全敲除 Par3 的小鼠未发生血管极性或形态的异常^[19], 提示其他极性分子可能代偿 Par3 在血管内皮细胞极性建立和管腔形成中的功能。其他的证据还包括, Par 复合物的组分 aPKC 完全敲除小鼠视网膜血管呈现内皮细胞极性缺陷以及管腔形成缺陷^[20]。Scrib 是 Scribble 复合体的组分之一, 它的缺失可以造成哺乳动物肺组织中上皮管腔缺失^[21]。对血管系统的

研究表明, Scrib 基因敲降的斑马鱼出现脑血管形态异常并伴有散在性出血、体节血管发育延迟等现象^[22]。而 Scrib 突变小鼠出现包括背主动脉在内的血管形态紊乱, 但 Scrib 在内皮细胞极性和管腔形成中的功能有待进一步阐明^[22]。综上所述, 全面理解细胞极性复合体在内皮细胞极性建立和血管管腔形成中的生理功能和机制依然需要更多的体内实验证据。

2.2.3 细胞骨架

细胞骨架在内皮细胞极性建立和血管管腔形成过程中发挥着决定性的作用^[23-25]。迄今为止, 所报道的内皮细胞极性和管腔形成缺陷突变体的表型都直接或间接地与细胞骨架异常紧密相关^[4-5,16,18]。细胞骨架通过对细胞形态的调整、胞间连接结构的形成、关键分子的胞内运输等多种途径来参与细胞极性和血管管腔形成。微丝骨架成核因子成蛋白 (formin-like 3, fmn13) 基因修饰的斑马鱼模型, 为揭示细胞骨架在血管管腔形成和维持中的功能提供了重要的体内遗传学证据^[26]。该研究证明, 内皮细胞中 fmn13 的失活直接抑制微丝 F-actin 的聚合并导致细胞间连接稳态失衡, 进而影响血管管腔的形成和稳态维持^[26]。

小 GTP 酶 Rho 家族对细胞骨架组装、细胞极性和细胞迁移有直接调节作用^[27-28]。RhoA、Rac1 和 Cdc42 是小 GTP 酶 Rho 家族的重要组成分子^[27], 体外和体内的研究结果都证明这些小 GTP 酶在血管管腔形成中具有重要的作用。Rac1 和 Cdc42 是首次在体外血管管腔形成模型中被证明起明确调节作用的小 GTP 酶^[29]。内皮细胞特异性 Rac1 基因敲除小鼠出现血管重塑缺陷^[30], 而内皮缺失 Cdc42 的小鼠的初级血管网络形成受阻^[31], 提示 Rac1 和 Cdc42 在血管发育中具有重要功能。在斑马鱼 ISV 模型中, Cdc42 与介导管腔形成的细胞内囊泡有明显的共定位^[3]。在小鼠皮肤血管生成模型中, Cdc42 的显性负性突变在 VEGF 的刺激下抑制了血管管腔的形成, 而激活型的 Cdc42 则促进了管腔形成^[32]。研究结果还显示, Rac1 和 Cdc42 的表达下降与 CCM1 和 Rasip1 突变体小鼠血管管腔形成缺陷密切相关^[15,18]。这些结果证明 Rac1 和 Cdc42 促进血管管腔形成。

RhoA 在血管管腔形成中的作用一直存在争议。一些研究结果显示 RhoA 信号通路促进血管管腔形成。例如, 在小鼠背主动脉成管模型中, 注射 RhoA 下游 ROCK 的抑制剂后, 内皮细胞表面 nm-

Myosin II 不能与 F-actin 相连,背主动脉管腔变窄^[4]。转录因子 CASZ1 缺失的爪蟾血管管腔形态缺陷,进一步的分析发现,这一缺陷是由 RhoA 信号的下调所介导的^[33]。然而,有研究结果显示 RhoA 信号通路异常激活也与血管管腔形成障碍相关。研究人员在分析 *Rasip1* 基因敲除导致管腔缺陷的分子机制中发现,*Rasip1* 基因敲降的内皮细胞中 RhoA 及其下游 ROCK 活性显著升高,同时受 RhoA 信号调节的肌动蛋白聚合纤维(微丝)明显增多,而 *Rasip1* 基因敲降内皮细胞和缺陷小鼠胚胎中乙酰化微管蛋白较对照显著减少,提示 RhoA 信号的过分激活造成微丝和微管之间的平衡被打破,从而导致了内皮细胞形态异常和管腔形成障碍^[18]。RhoA 信号异常活化导致的细胞骨架的动态平衡紊乱在斑马鱼蛋白磷酸酶 2A B α (B α regulatory subunit of protein phosphatase 2A, PP2A B α) 基因敲降导致的 ISV 管腔缺陷模型中也被充分证明^[34]。此外,*CCM2* 基因敲除小鼠出现的血管管腔缺陷表型也被证明与过度激活的 RhoA 信号通路有关,因为 RhoA 抑制剂处理挽救了突变小鼠血管管腔缺陷的表型^[35]。这些看似矛盾的研究结果提示,RhoA 信号在正常生理过程中必须受到严格调控,表达过低或异常激活都会导致血管管腔形成和稳态异常。

3 结语与展望

血管管腔形成和维持的遗传调控机制是发育生物学重要的科学问题。依赖于多种遗传修饰模式生物的应用,人类对血管管腔形成的诱导、血管内皮细胞极性的建立和维持的相关调控机制的认识有了显著的进步。即便如此,依然存在很多有待解决的科学问题:在不同组织器官的微环境下,不同特性的血管内皮细胞如何面对复杂的信号做出精确的反应并选择相应的血管管腔形成方式;细胞外基质如何与细胞内分子网络相互作用,调控血管管腔的诱导以及内皮细胞极性的建立;血管管腔稳态维持的调控机制又是怎样的。随着基因组靶向修饰技术的进步以及细胞谱系示踪技术的提高,相信会发现越来越多关于血管管腔形成及其稳态维持的新机制。例如,自噬^[36]、长非编码 RNA^[37] 等也许在血管管腔形成中具有重要的功能。总之,深刻理解血管管腔形成在时间和空间上的精确调控机制,将为组织器官再生以及包括肿瘤血管新生、血管退化性疾病在内的各种病理条件下靶向血管管腔形成的干预提供重要的理论基础。

[参 考 文 献]

- [1] Xu K, Cleaver O. Tubulogenesis during blood vessel formation. *Semin Cell Dev Biol*, 2011, 22(9): 993-1004
- [2] Neufeld S, Planas-Paz L, Lammert E. Blood and lymphatic vascular tube formation in mouse. *Semin Cell Dev Biol*, 2014, 31: 115-23
- [3] Kamei M, Saunders WB, Bayless KJ, et al. Endothelial tubes assemble from intracellular vacuoles *in vivo*. *Nature*, 2006, 442(7101): 453-6
- [4] Strilic B, Kucera T, Eglinger J, et al. The molecular basis of vascular lumen formation in the developing mouse aorta. *Dev Cell*, 2009, 17(4): 505-15
- [5] Zovein AC, Luque A, Turlo KA, et al. β 1 integrin establishes endothelial cell polarity and arteriolar lumen formation via a Par3-dependent mechanism. *Dev Cell*, 2010, 18(1): 39-51
- [6] Blum Y, Belting HG, Ellertsdottir E, et al. Complex cell rearrangements during intersegmental vessel sprouting and vessel fusion in the zebrafish embryo. *Dev Biol*, 2008, 316(2): 312-22
- [7] Helker CS, Schuermann A, Karpanen T, et al. The zebrafish common cardinal veins develop by a novel mechanism: lumen ensheathment. *Development*, 2013, 140(13): 2776-86
- [8] Lizama CO, Zovein AC. Polarizing pathways: balancing endothelial polarity, permeability, and lumen formation. *Exp Cell Res*, 2013, 319(9): 1247-54
- [9] Blanco R, Gerhardt H. VEGF and Notch in tip and stalk cell selection. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2013, 3(1): a006569
- [10] Ruhrberg C, Gerhardt H, Golding M, et al. Spatially restricted patterning cues provided by heparin-binding VEGF-A control blood vessel branching morphogenesis. *Genes Dev*, 2002, 16(20): 2684-98
- [11] Hayashi M, Majumdar A, Li X, et al. VE-PTP regulates VEGFR2 activity in stalk cells to establish endothelial cell polarity and lumen formation. *Nat Commun*, 2013, 4: 1672
- [12] Bentley K, Franco CA, Philippides A, et al. The role of differential VE-cadherin dynamics in cell rearrangement during angiogenesis. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(4): 309-21
- [13] Dejana E, Orsenigo F. Endothelial adherens junctions at a glance. *J Cell Sci*, 2013, 126(Pt 12): 2545-9
- [14] Wang Y, Kaiser MS, Larson JD, et al. Moesin1 and Ve-cadherin are required in endothelial cells during *in vivo* tubulogenesis. *Development*, 2010, 137(18): 3119-28
- [15] Lampugnani MG, Orsenigo F, Rudini N, et al. CCM1 regulates vascular-lumen organization by inducing endothelial polarity. *J Cell Sci*, 2010, 123(Pt 7): 1073-80
- [16] Hultin S, Zheng Y, Mojallal M, et al. AmotL2 links VE-cadherin to contractile actin fibres necessary for aortic lumen expansion. *Nat Commun*, 2014, 5: 3743
- [17] Strilic B, Eglinger J, Krieg M, et al. Electrostatic cell-surface repulsion initiates lumen formation in developing blood vessels. *Curr Biol*, 2010, 20(22): 2003-9
- [18] Xu K, Sacharidou A, Fu S, et al. Blood vessel tubulogenesis requires *Rasip1* regulation of GTPase signaling. *Dev Cell*,

- 2011, 20(4): 526-39
- [19] Hirose T, Karasawa M, Sugitani Y, et al. PAR3 is essential for cyst-mediated epicardial development by establishing apical cortical domains. *Development*, 2006, 133(7): 1389-98
- [20] Pelton JC, Wright CE, Leitges M, et al. Multiple endothelial cells constitute the tip of developing blood vessels and polarize to promote lumen formation. *Development*, 2014, 141(21): 4121-6
- [21] Yates LL, Schnatwinkel C, Hazelwood L, et al. Scribble is required for normal epithelial cell-cell contacts and lumen morphogenesis in the mammalian lung. *Dev Biol*, 2013, 373(2): 267-80
- [22] Michaelis UR, Chavakis E, Kruse C, et al. The polarity protein Scrib is essential for directed endothelial cell migration. *Circ Res*, 2013, 112(6): 924-34
- [23] Charpentier MS, Conlon FL. Cellular and molecular mechanisms underlying blood vessel lumen formation. *Bioessays*, 2014, 36(3): 251-9
- [24] Kim DJ, Martinez-Lemus LA, Davis GE. EB1, p150Glued, and Clasp1 control endothelial tubulogenesis through microtubule assembly, acetylation, and apical polarization. *Blood*, 2013, 121(17): 3521-30
- [25] Chaki SP, Rivera GM. Integration of signaling and cytoskeletal remodeling by Nck in directional cell migration. *Bioarchitecture*, 2013, 3(3): 57-63
- [26] Phng LK, Gebala V, Bentley K, et al. Formin-mediated actin polymerization at endothelial junctions is required for vessel lumen formation and stabilization. *Dev Cell*, 2015, 32(1): 123-32
- [27] Mack NA, Georgiou M. The interdependence of the Rho GTPases and apicobasal cell polarity. *Small GTPases*, 2014, 5(2): 1-16
- [28] Iruela-Arispe ML, Davis GE. Cellular and molecular mechanisms of vascular lumen formation. *Dev Cell*, 2009, 16(2): 222-31
- [29] Bayless KJ, Davis GE. The Cdc42 and Rac1 GTPases are required for capillary lumen formation in three-dimensional extracellular matrices. *J Cell Sci*, 2002, 115(Pt 6): 1123-36
- [30] Tan W, Palmby TR, Gavard J, et al. An essential role for Rac1 in endothelial cell function and vascular development. *FASEB J*, 2008, 22(6): 1829-38
- [31] Jin Y, Liu Y, Lin Q, et al. Deletion of Cdc42 enhances ADAM17-mediated vascular endothelial growth factor receptor 2 shedding and impairs vascular endothelial cell survival and vasculogenesis. *Mol Cell Biol*, 2013, 33(21): 4181-97
- [32] Hoang MV, Nagy JA, Senger DR. Cdc42-mediated inhibition of GSK-3 β improves angio-architecture and lumen formation during VEGF-driven pathological angiogenesis. *Microvasc Res*, 2011, 81(1): 34-43
- [33] Charpentier MS, Christine KS, Amin NM, et al. CASZ1 promotes vascular assembly and morphogenesis through the direct regulation of an EGFL7/RhoA-mediated pathway. *Dev Cell*, 2013, 25(2): 132-43
- [34] Martin M, Geudens I, Bruyr J, et al. PP2A regulatory subunit B α controls endothelial contractility and vessel lumen integrity via regulation of HDAC7. *EMBO J*, 2013, 32(18): 2491-503
- [35] Whitehead KJ, Chan AC, Navankasattusas S, et al. The cerebral cavernous malformation signaling pathway promotes vascular integrity via Rho GTPases. *Nat Med*, 2009, 15(2): 177-84
- [36] Green DR, Levine B. To be or not to be? How selective autophagy and cell death govern cell fate. *Cell*, 2014, 157(1): 65-75
- [37] Ulitsky I, Bartel DP. lincRNAs: genomics, evolution, and mechanisms. *Cell*, 2013, 154(1): 26-46