

DOI: 10.13376/j.cblls/2023130

文章编号: 1004-0374(2023)09-1185-07

## 内皮细胞代谢在血管新生中的作用研究

井 云<sup>1</sup>, 张晓培<sup>2</sup>, 王 冰<sup>3</sup>, 李仕永<sup>3\*</sup>

(1 镇江高等专科学校, 镇江 212038; 2 南京科技职业学院, 南京 210044; 3 南京医科大学第四附属医院, 南京 210031)

**摘要:** 血管生成是指从已有的毛细血管或毛细血管后静脉发展而形成新血管的过程。血管生成调控过程复杂, 交错影响, 多种基因和信号分子如血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 家族、纤维母细胞生长因子 (fibroblast growth factor, FGF) 家族、Notch 和 Wnt 信号通路、转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 信号、血管生成素 (angiotensin, Ang) 和 Tie 信号系统等参与调控血管生成。除了遗传和分子信号外, 血管生成还受到代谢机制的调节。在此, 本文概述了目前对内皮细胞 (endothelial cells, ECs) 各种代谢途径的认识及其对生理和病理性血管生成的影响。其中, 糖酵解、脂肪酸氧化和氨基酸代谢是目前最为常见的代谢途径, ECs 主要依靠糖酵解产生 ATP。糖酵解调节器 6-磷酸果糖激酶-2/2,6-二磷酸果糖激酶 3 (6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-diphosphatase 3, PFKFB3) 通过调控尖端细胞 (Tip cells) 和柄细胞 (Stalk cells) 的平衡, 来决定血管生成的方向, 并促进迁移性尖端细胞的表型。另一方面, 脂肪酸氧化 (fatty acid oxidation, FAO) 通过为生物合成提供碳源调节柄细胞的增殖。多种氨基酸对血管内皮细胞同样具有重要调节作用。此外, 血管生成还与磷酸戊糖途径、己糖胺生物合成途径、线粒体氧化磷酸化及多元醇、糖原合成途径等有关。

**关键词:** 内皮细胞; 代谢; 血管新生; 糖酵解; 氨基酸代谢; 脂肪酸代谢

**中图分类号:** Q493 **文献标志码:** A

## The research of endothelial cell metabolism in angiogenesis

JING Yun<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-Pei<sup>2</sup>, WANG Bing<sup>3</sup>, LI Shi-Yong<sup>3\*</sup>

(1 Zhenjiang College, Zhenjiang 212038, China; 2 Nanjing Polytechnic Institute, Nanjing 210044, China;

3 The Fourth Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210031, China)

**Abstract:** Angiogenesis refers to the growth of new capillaries from pre-existing blood vessels or postcapillary veins. Angiogenesis is a rather complex physiological process involving multiple levels of intertwined regulation, such as VEGF family, FGF family, Notch and Wnt signaling pathway, TGF- $\beta$  signaling pathway, Ang, Tie signaling system, and so on. In addition to genetic and molecular signaling, angiogenesis is also closely regulated by metabolic shifts in ECs. Herein, we overview various pathways of angiogenic metabolism and their impacts on physiological and pathological angiogenesis. As for ECs, glycolysis, amino acid metabolism, and fatty acid metabolism are the most common metabolic pathway, while ECs mainly rely on glycolysis to produce ATP. Glycolysis regulator PFKFB3 plays a critical role in regulating Tip cells and Stalk cells to determine the angiogenesis effect and promote migratory Tip cell phenotype. In addition, fatty acid oxidation (FAO) contributes to biosynthesis by providing carbon to regulate Stalk cell proliferation. Various amino acids also play an important regulatory role in the metabolism of vascular endothelial cells. Moreover, angiogenesis is also related to pentose phosphate pathway, hexosamine biosynthetic pathway, mitochondrial oxidative phosphorylation as well as the pathway of glycogen synthesis and polyol.

**Key words:** endothelial cells; metabolism; angiogenesis; glycolysis; amino acid metabolism; fatty acid metabolism

收稿日期: 2023-04-10; 修回日期: 2023-06-13

\*通信作者: E-mail: lishiyong513@126.com

血管新生是指从已有的毛细血管或毛细血管后静脉发展形成新的血管的过程,其中血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)的激活、增殖和迁移起着重要的作用<sup>[1]</sup>。ECs根据形态和功能特点主要分为3种:即Tip细胞、Stalk细胞和静止内皮细胞(Phalanx)<sup>[2]</sup>。其中Tip细胞和Stalk细胞在血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor-A, VEGFA)和Notch信号的控制下,动态地转换表型,调控出芽式血管新生<sup>[3]</sup>。

血管新生调控过程复杂,交错影响,多种基因和信号分子如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)家族、纤维母细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)家族、Notch和Wnt信号通路、转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )信号、血管生成素(angiotensin, Ang)和Tie信号系统等均参与其中<sup>[4]</sup>。目前,抗血管新生着眼于靶向血管生成信号蛋白如VEGF等<sup>[5]</sup>。然而,靶向VEGF治疗癌症和新生血管眼病受到疗效不足及耐药性等的限制<sup>[6]</sup>。除信号通路外,新陈代谢也对血管新生起着关键调控作用。细胞代谢是将营养物质转化为能量和生物物质的过程,对于ECs的增殖和迁移等至关重要。此外,ECs只有在适应的代谢条件下才能执行生长因子的作用,这表明ECs代谢可以调节血管新生<sup>[7]</sup>。然而,血管新生过程中ECs的代谢机制尚未得到充分研究,ECs信号通路、基因差异性表达以及ECs是否参与调节其代谢状态尚不清楚。本文总结了血管新生和ECs代谢串扰的新见解,重点介绍代谢如何调节血管新生,并强调糖酵解作为血管新生过程中ECs表型的主要调节因素的作用。

## 1 血管及血管新生

血管的主要作用是连接组织器官,维持营养和氧气的供应,清除体内代谢废物,并监视免疫细胞,从而维持生命活动的正常运行<sup>[8]</sup>。在健康的成年人体中,血管腔内排列有一单层ECs,受促血管新生因子和抗血管新生因子的调控,处于平衡静止状态<sup>[9]</sup>。然而,在组织损伤、氧化应激及病理情况下(癌症、眼部疾病和炎症等),促血管新生因子占主导地位时,ECs可迅速切换到血管新生表型,通过高度协调的方式迅速形成新的血管即血管新生<sup>[10]</sup>。

血管新生主要包括出芽式血管新生和分裂式血管新生。出芽式血管新生是血管新生的一种基本方式,参与出芽式血管新生的ECs包括Tip细胞、Stalk细胞和Phalanx细胞<sup>[2]</sup>。血管新生的过程主要

是由血管前端的VEGF所驱动,VEGF通过与VEGF受体2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2)结合,诱导ECs转化为Tip细胞或Stalk细胞<sup>[11]</sup>。血管新生依赖于血管最前端的Tip细胞,其主要作用是伸出丝状伪足,探索组织环境,引导血管新生,发挥严格控制和即时反馈的作用<sup>[12]</sup>。Stalk细胞主要起增殖作用,连接形成管腔。单层的静止Phalanx细胞主要参与血管屏障、组织灌注等<sup>[13]</sup>。其中,Tip细胞和Stalk细胞主要通过Notch介导的抑制机制实现动态互换,对VEGF反应性最高的ECs将占据顶端位置,竞争Tip细胞的位置,从而保证血管新生的最佳状态<sup>[14]</sup>(图1①)。

## 2 ECs代谢

在正常血管中,ECs排列在血管腔内,直接暴露于血液中的高浓度氧气中,摄取、转换、灭活多种物质<sup>[15]</sup>。目前,血管新生的研究工作主要集中在ECs动力学和分子信号上。与其他健康细胞类型相比,ECs在静止时糖酵解产生>85%的ATP来源<sup>[16]</sup>。Tip细胞和Stalk细胞具有不同的代谢表型,当ECs增殖和迁移时,Tip细胞利用糖酵解为迁移提供能量<sup>[17]</sup>,Stalk细胞使用糖酵解产生能量并将糖酵解中间体转移到生物合成的其他途径以促进细胞增殖<sup>[18]</sup>。与健康的ECs相比,肿瘤和眼部新生血管的ECs具有更高的糖酵解水平<sup>[19]</sup>。因此,除遗传和分子信号外,血管新生还受到代谢机制的调节,ECs代谢与遗传信号并行,共同介导血管新生<sup>[18,20]</sup>。

### 2.1 糖酵解

糖酵解比氧化代谢能在更短的时间内产生更多的ATP分子,从而迅速为ECs提供血管新生所需的能量,迅速恢复周围组织的氧气供应<sup>[21]</sup>。此外,糖酵解代谢产物进入侧循环途径,产生细胞分裂时生物复制所需的大分子,或产生氧化还原稳态所需的还原力,可能进一步促进血管新生<sup>[21]</sup>。

6-磷酸果糖激酶-2/2,6-二磷酸果糖激酶3(6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-diphosphatase 3, PFKFB3)是ECs代谢的“调节器”<sup>[22]</sup>。Tip细胞的糖酵解通量高于Stalk细胞,并且ECs需要高糖酵解水平才能竞争Tip细胞位置<sup>[18]</sup>。敲低PFKFB3基因可抑制ECs糖酵解,减少Tip细胞的迁移和Stalk细胞的增殖从而抑制出芽式血管新生<sup>[19]</sup>。ECs特异敲除PFKFB3的小鼠视网膜血管发育缺陷,表现为Tip细胞丝状伪足形成受损和Stalk细胞增殖较少,导致血管生长缓慢和血管分支受损<sup>[18]</sup>。同时,

阻断 PFKFB3, 降低 ECs 糖酵解率, 可抑制眼部新生血管形成, 并诱导肿瘤血管正常化, 从而抑制转移并改善化疗反应<sup>[23-24]</sup>。靶向 PFKFB3 阻断糖酵解还可抑制婴儿血管瘤的发展<sup>[25]</sup>。在体外模型中, PFKFB3 沉默可抑制 ECs 功能, 减弱丝状足的形成和定向迁移, 并损害 ECs 出芽<sup>[26]</sup>。同时, PFKFB3 驱动的糖酵解直接调节出芽式血管新生, 而不影响血管出芽相关基因的表达。在 ECs 中, PFKFB3 是 VEGF-Notch 驱动血管新生的介质<sup>[23]</sup>。VEGF 可增加糖酵解激活物 PFKFB3 的表达水平, PFKFB3 过表达可刺激糖酵解并促进出芽式血管新生过程中的 Tip 细胞表型, 抑制 Notch 信号活性, 且不改变 Tip 细胞和 Stalk 细胞相关基因的表达水平<sup>[23]</sup>。此外, Yes 相关蛋白 (Yes-associated protein, YAP) 可作为转录共激活剂与 PFKFB3 启动子结合, 驱动内皮细胞糖酵解, 促进眼部新生血管形成<sup>[27]</sup>。

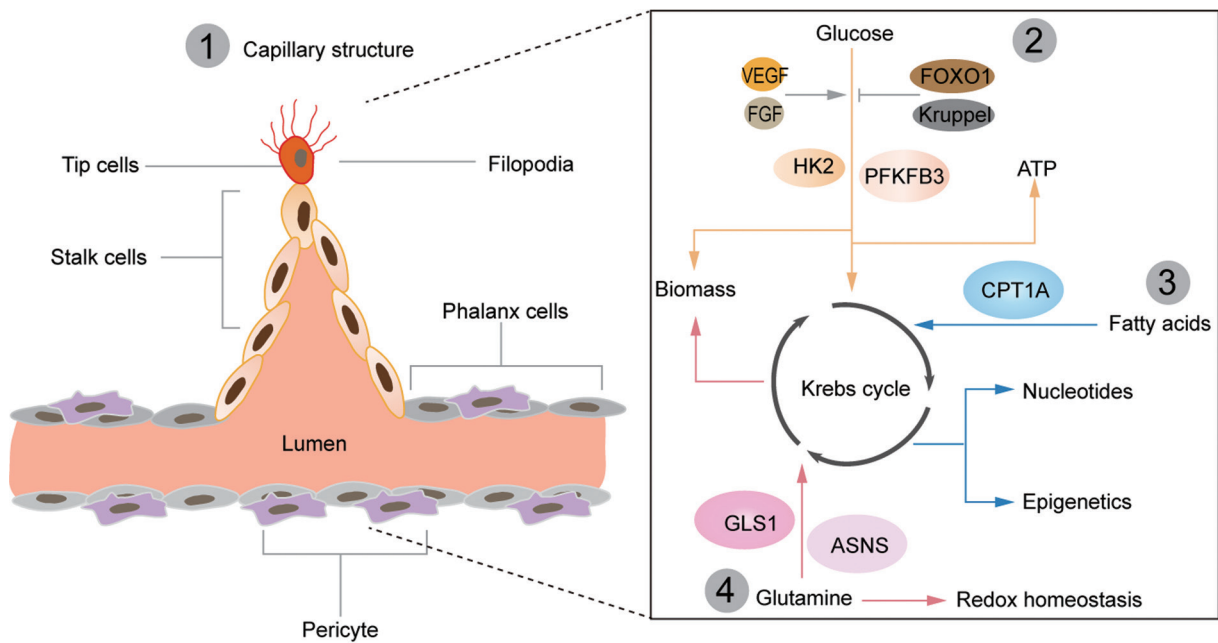
己糖激酶 2 (hexokinase 2, HK2) 是将葡萄糖磷酸化为葡萄糖 -6- 磷酸 (glucose-6-phosphate, G6P) 的限速酶, 是内皮细胞中的另一种糖酵解调节因子。成纤维细胞生长因子 2 (fibroblast growth factor 2, FGF2) 可促进髓细胞增生原癌基因 (myelocytomatosis oncogene, MYC) 表达, 从而提高 HK2 和糖酵解水平, 刺激血管生长<sup>[28]</sup>。转录因子叉头框蛋白 1 (factor forkhead box O1, FOXO1) 和 Kruppel 样因子 2 (Kruppel-

like factor 2, KLF2) 通过减少糖酵解和线粒体呼吸来维持 Phalanx 细胞的稳定<sup>[29]</sup>。因此, 通过干扰调节 ECs 代谢的基因或者信号分子可能起到抗血管新生的作用 (图 1 ②)。

### 2.2 脂代谢

除糖酵解和氨基酸代谢, 脂肪酸氧化 (fatty acid oxidation, FAO) 对血管新生也具有至关重要的作用。ECs 可通过 FAO 与底物一起参与三羧酸循环。FAO 的速率控制步骤是由 FAO 调节剂棕榈酰转移酶 1A (carnitine palmitoyl transferase 1A, CPT1A) 介导的, 该酶将脂肪酸导入线粒体进行  $\beta$ - 氧化, 将脂肪酸代谢为乙酰辅酶 A (acetyl-CoA), 然后进入三羧酸循环<sup>[30]</sup>。小鼠的内皮特异性 CPT1A 缺失导致视网膜血管发育受损, ECs 增殖减少, 血管分支点减少, 血管丛的径向扩张受损, 而丝状伪足数量、血管成熟和退化不受影响<sup>[31]</sup>。体外抑制 CPT1A 可通过减少 ECs 增殖来干扰细胞的出芽, 但不影响 ECs 的迁移<sup>[31]</sup>。CPT1A 沉默可诱导体外 ECs 单层通透性升高和体内血管渗漏<sup>[32]</sup>。此外, Phalanx 细胞还可通过氧化还原稳态上调脂肪酸  $\beta$  氧化以实现血管保护<sup>[33]</sup> (图 1 ③)。

除血管 ECs 外, CPT1A 在淋巴发育中亦具有至关重要的作用。淋巴内皮细胞 (lymphatic endothelial cells, LECs) 特异 CPT1A 敲除可损害淋巴发育。LECs



①出芽式血管新生的ECs主要包括Tip细胞、Stalk细胞和Phalanx细胞；② HK2、PFKFB3参与ECs糖酵解的过程；③ CPT1A参与ECs脂肪酸代谢的过程；④ GLS1和ASNS参与ECs氨基酸代谢的过程。

图1 内皮细胞代谢在血管新生中的作用

依赖 FAO 产生 dNTP 促进增殖,并在 LEC 分化过程中对淋巴标志物的表达进行表观遗传调控。机制上,转录因子 Prospero 同源框 1 (Prospero-related homeobox 1, PROX1) 上调 CPT1A 表达,刺激 FAO 从而增加乙酰辅酶 A 的产生。组蛋白乙酰转移酶 p300 使用 FAO 衍生的乙酰辅酶 A 在 PROX1 结合位点进行组蛋白乙酰化,从而诱导 LECs 的增殖、迁移和分化。因此,PROX1 利用 FAO 改变淋巴管基因的表现遗传修饰,增强自身的转录活性。而阻断 CPT1A 酶可抑制损伤诱导的淋巴管生成,通过补充乙酸盐来补充乙酰辅酶 A 可挽救这一过程<sup>[34]</sup>。

### 2.3 氨基酸代谢

ECs 的代谢与其他细胞类型不同。多数细胞使用葡萄糖和谷氨酰胺进行核苷酸合成,而氨基酸(如谷氨酰胺和天冬酰胺)同样是 ECs 的重要营养来源。谷氨酰胺被用于生物合成、氧化还原稳态(防止氧化应激)和其他过程。在体内外模型中,干扰谷氨酰胺代谢通过影响 EC 增殖和迁移来抑制血管新生。抑制谷氨酰胺的合成或谷氨酰胺酶 1 (glutaminase 1, GLS1) 的活性会干扰 ECs 中的氧化还原稳态,损害 Tip 细胞迁移和 Stalk 细胞增殖,导致体内出芽式血管新生障碍。谷氨酰胺代谢为天冬酰胺合成提供氮,以维持细胞稳态。沉默天冬酰胺合成酶 (asparagine synthetase, ASNS) 可损害 ECs 出芽<sup>[35-36]</sup>。因此,靶向阻断 GLS1 和 ASNS 可干扰 ECs 代谢,从而作为一种有效的抗血管新生的方法,在抑制肿瘤和眼部血管新生中发挥一定的作用<sup>[36]</sup>(图 1 ④)。

除谷氨酰胺和天冬酰胺外,精氨酸、丝氨酸、甘氨酸和脯氨酸等对血管 ECs 均有重要调节作用。磷酸甘油酸脱氢酶 (phosphoglycerate dehydrogenase, PHGDH) 是丝氨酸合成途径的关键酶。ECs 特异性 PHGDH 敲除可导致谷胱甘肽、磷酸酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 合成减少和线粒体功能障碍等。PHGDH 缺乏引起的丝氨酸耗竭导致血红素合成不足,活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平升高,致使 ECs 死亡和小鼠血管发育缺陷。精氨酸可保护 ECs 免受氧化损伤和细胞凋亡<sup>[37]</sup>;此外,精氨酸还可通过调节去乙酰化酶 1 (Sirtuin 1, SIRT1) 和 ROS 抑制脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 和 ATP 激活的 ECs 中的 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3 (NOD like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3) 炎症小体<sup>[38]</sup>。丝氨酸可以与甘氨酸相互转化,从而与一碳代谢相连,以实现氧化还原平衡

和核苷酸合成。既往研究发现,甘氨酸和结构相似的氨基酸保护 HUVECs 免受过氧化氢诱导的细胞损伤<sup>[39]</sup>。此外,甘氨酸可抑制 ECs 的血管生成信号转导和肿瘤生长<sup>[40]</sup>。精氨酸酶 1 (arginase 1, Arg1) 是尿素循环中普遍存在的一种酶,可催化 L-精氨酸转化为 L-鸟氨酸和尿素。在 ECs 中,Arg1 限制内皮细胞一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 中 L-精氨酸的可用性,从而减少一氧化氮 (nitric oxide, NO) 的产生,影响器官中的 NO 生物利用度,促进内皮功能障碍和血管疾病<sup>[41]</sup>。

### 2.4 磷酸戊糖途径

糖酵解中间体 G6P 在戊糖磷酸途径 (pentose phosphate pathway, PPP) 中被氧化,产生 NADPH 和核糖-5-磷酸 (ribulose-5-phosphate, R5P), 分别用于氧化还原稳态和核苷酸生物合成。NADPH 是参与脂质和 NO 合成以及将氧化谷胱甘肽二硫化物 (glutathione disulfide, GSSG) 转化为谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 的重要因素。在糖尿病患者中,高血糖通过增加蛋白激酶 A 介导葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (glucose-6-phosphatedehydrogenase, G6PD) 磷酸化来抑制 G6PD 活性。G6PD 活性降低使 ROS 的清除机制丧失并导致细胞死亡,而恢复 G6PD 活性可恢复 ECs 氧化还原稳态<sup>[42]</sup>。此外,在 ECs 中,增加 G6PD 表达可通过增加 NO 的可用性促进 VEGF 诱导的血管新生功能,而 G6PD 敲低则抑制 ECs 对 VEGF 刺激的反应。

### 2.5 己糖胺生物合成途径

己糖胺生物合成途径 (hexosamine biosynthesis pathway, HBP) 是糖酵解的另一个分支,可产生糖基化的蛋白质底物,发挥翻译后修饰作用,改变蛋白质活性、结构和定位功能,在细胞信号转导中发挥重要作用。HBP 以及蛋白质糖基化水平增加与糖尿病诱导的 ECs 功能障碍有关,在培养基中添加葡萄糖胺可增加蛋白质糖基化并减少 ECs 迁移和成管能力<sup>[43]</sup>。此外,糖基化是一种常见的翻译后修饰,可通过与其他蛋白质互作发挥生物学功能。例如,Notch 受体的糖基化可影响其与配体 Delta 样配体 4 (delta-like ligand 4, DLL4) 和 Jagged1 的相互作用<sup>[44]</sup>, VEGFR2 的糖基化对细胞膜上 VEGFR2 的保留具有重要作用<sup>[45]</sup>。在肿瘤中,半乳糖凝集素-1 (galectin-1, Gal1) 可促进 VEGFR2 的糖基化,导致抗 VEGF 治疗不敏感,而缺乏糖基转移酶的小鼠血管新生减少,肿瘤生长减缓。Gal1-糖轴的破坏可促进血管重塑、免疫细胞内流和肿瘤生长抑制。因

此,靶向糖基化依赖性受体相互作用可提高抗 VEGF 治疗的疗效<sup>[46]</sup>。

## 2.6 线粒体氧化磷酸化

线粒体是大多数细胞类型中 ROS 的主要来源,虽然 ROS 在 ECs 中产量很小,但对于 ECs 存活和生理功能至关重要。线粒体 ROS 以超氧阴离子的形式产生,最终转化为过氧化氢,并通过与 NO 反应转化为过氧亚硝酸盐。低水平的过氧化氢发挥血管新生信号转导作用,而高水平的过氧化氢和过氧亚硝酸盐与心血管疾病中 ECs 的功能障碍密切相关<sup>[47]</sup>。血流动力学改变可导致 ECs 中细胞质和线粒体 ROS 的产生<sup>[48]</sup>,并介导剪切应力诱导的血管扩张、血管通透性和血管新生。低水平的 ROS 部分通过 VEGF 的上调和 VEGFR2 信号的激活诱导血管新生<sup>[49]</sup>。此外,线粒体可能通过将细胞色素 c 等线粒体蛋白释放到细胞质中来介导程序性细胞死亡,以响应细胞内应激或细胞外信号,触发与血管退化相关的 ECs 凋亡。细胞内  $Ca^{2+}$  的增加还可通过增加线粒体酶活性来促进线粒体 ATP 的产生<sup>[50]</sup>,然而线粒体功能与 ECs 中  $Ca^{2+}$  信号传导和稳态之间的相互作用仍需进一步研究。

## 2.7 其他途径

除上述代谢途径外,ECs 代谢可能还与多元醇途径、糖原合成途径等有关。在高血糖时,多余的葡萄糖进入多元醇途径,其中醛糖还原酶消耗 NADPH 将葡萄糖还原为山梨糖醇。而 NADPH 水平的降低可导致 ROS 积累,从而导致糖尿病视网膜病变的发生。醛糖还原酶阻断可逆转糖尿病视网膜病变相关的过度血管新生及 VEGF 刺激下的血管新生<sup>[51]</sup>。此外,ECs 可将一部分葡萄糖转移到糖原合成途径中并储存糖原以供使用,葡萄糖剥夺导致糖原储存完全耗尽,表明 ECs 以糖原代谢维持葡萄糖剥夺期间的糖酵解<sup>[52]</sup>。然而,糖原代谢对 ECs 的生理作用尚需进一步研究。

## 3 总结与展望

目前,ECs 代谢研究主要着眼于糖酵解、氨基酸代谢和脂肪酸代谢等。掌握代谢调节 ECs 的生物学功能的规律,靶向血管的异常增殖,或可减少肿瘤细胞的转移和化疗损害,增强免疫治疗的效果。靶向 ECs 代谢作为抑制血管新生的治疗手段得到越来越多的关注,如小分子 PFKFB3 阻断剂在低剂量下诱导肿瘤血管正常化,阻断 CPT1 或 GLS1 同样能减少小鼠的眼部新生血管形成,FAO 和乙酸盐可

改变 ECs 代谢以刺激 LECs 分化。

然而,ECs 代谢研究仍处于起步阶段,同一病理过程中特定细胞的各自代谢状态难以检测。ECs 与其他细胞类型如周细胞之间的相对代谢差异和联系尚不明确。因此,未来可以在单细胞水平上分析肿瘤和眼部 ECs 代谢,发现不同细胞的具体代谢状态,挖掘更多的代谢调控靶点。此外,通过靶向功能失调的 ECs,调控驱动 ECs 代谢的酶和产物,有望为肿瘤、新生血管性眼病、糖尿病等提供新的治疗策略。

## [参 考 文 献]

- [1] Gete YG, Koblan LW, Mao X, et al. Mechanisms of angiogenic incompetence in Hutchinson-Gilford progeria via downregulation of endothelial NOS. *Aging Cell*, 2021, 20: e13388
- [2] Vandekeere S, Dewerchin M, Carmeliet P. Angiogenesis revisited: an overlooked role of endothelial cell metabolism in vessel sprouting. *Microcirculation*, 2015, 22: 509-17
- [3] Jiang Q, Ma Y, Zhao Y, et al. tRNA-derived fragment tRF-1001: a novel anti-angiogenic factor in pathological ocular angiogenesis. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2022, 30: 407-20
- [4] Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*, 2011, 473: 298-307
- [5] Hsu MJ, Chen HK, Lien JC, et al. Suppressing VEGF-A/VEGFR-2 signaling contributes to the anti-angiogenic effects of PPE8, a novel naphthoquinone-based compound. *Cells*, 2022, 11: 2114
- [6] Zhang X, Wang K, Feng X, et al. PRMT3 promotes tumorigenesis by methylating and stabilizing HIF1 $\alpha$  in colorectal cancer. *Cell Death Dis*, 2021, 12: 1066
- [7] Li X, Carmeliet P. Targeting angiogenic metabolism in disease. *Science*, 2018, 359: 1335-6
- [8] Pu W, He L, Han X, et al. Genetic targeting of organ-specific blood vessels. *Circ Res*, 2018, 123: 86-99
- [9] Che X, Su W, Li X, et al. Angiogenesis pathway in kidney renal clear cell carcinoma and its prognostic value for cancer risk prediction. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8: 731214
- [10] Stapor P, Wang X, Goveia J, et al. Angiogenesis revisited -- role and therapeutic potential of targeting endothelial metabolism. *J Cell Sci*, 2014, 127: 4331-41
- [11] Schaaf MB, Houbaert D, Mece O, et al. Lysosomal pathways and autophagy distinctively control endothelial cell behavior to affect tumor vasculature. *Front Oncol*, 2019, 9: 171
- [12] Tang X, Wang JJ, Wang J, et al. Endothelium-specific deletion of Nox4 delays retinal vascular development and mitigates pathological angiogenesis. *Angiogenesis*, 2021, 24: 363-77
- [13] Jacobs KA, Gavard J. 3D endothelial cell migration. *Methods Mol Biol*, 2018, 1749: 51-8
- [14] Pitulescu ME, Schmidt I, Giaimo BD, et al. Dll4 and Notch signalling couples sprouting angiogenesis and artery formation. *Nat Cell Biol*, 2017, 19: 915-27

- [15] Munoz-Chapuli R, Carmona R, Guadix JA, et al. The origin of the endothelial cells: an evo-devo approach for the invertebrate/vertebrate transition of the circulatory system. *Evol Dev*, 2005, 7: 351-8
- [16] Cruys B, Wong BW, Kuchnio A, et al. Glycolytic regulation of cell rearrangement in angiogenesis. *Nat Commun*, 2016, 7: 12240
- [17] Veys K, Fan Z, Ghobrial M, et al. Role of the GLUT1 glucose transporter in postnatal CNS angiogenesis and blood-brain barrier integrity. *Circ Res*, 2020, 127: 466-82
- [18] De Bock K, Georgiadou M, Carmeliet P. Role of endothelial cell metabolism in vessel sprouting. *Cell Metab*, 2013, 18: 634-47
- [19] Schoors S, Cantelmo AR, Georgiadou M, et al. Incomplete and transitory decrease of glycolysis: a new paradigm for anti-angiogenic therapy? *Cell Cycle*, 2014, 13: 16-22
- [20] Rohlenova K, Veys K, Miranda-Santos I, et al. Endothelial cell metabolism in health and disease. *Trends Cell Biol*, 2018, 28: 224-36
- [21] Bhatt AN, Kumar A, Rai Y, et al. Glycolytic inhibitor 2-deoxy-d-glucose attenuates SARS-CoV-2 multiplication in host cells and weakens the infective potential of progeny virions. *Life Sci*, 2022, 295: 120411
- [22] Liu M, Li N, Qu C, et al. Amylin deposition activates HIF1 $\alpha$  and 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-biphosphatase 3 (PFKFB3) signaling in failing hearts of non-human primates. *Commun Biol*, 2021, 4: 188
- [23] Xu Y, An X, Guo X, et al. Endothelial PFKFB3 plays a critical role in angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34: 1231-9
- [24] Min J, Zeng T, Roux M, et al. The Role of HIF1 $\alpha$ -PFKFB3 pathway in diabetic retinopathy. *J Clin Endocrinol Metab*, 2021, 106: 2505-19
- [25] Yang K, Qiu T, Zhou J, et al. Blockage of glycolysis by targeting PFKFB3 suppresses the development of infantile hemangioma. *J Transl Med*, 2023, 21: 85
- [26] Schoors S, De Bock K, Cantelmo AR, et al. Partial and transient reduction of glycolysis by PFKFB3 blockade reduces pathological angiogenesis. *Cell Metab*, 2014, 19: 37-48
- [27] Feng Y, Zou R, Zhang X, et al. YAP promotes ocular neovascularization by modifying PFKFB3-driven endothelial glycolysis. *Angiogenesis*, 2021, 24: 489-504
- [28] Yu P, Wilhelm K, Dubrac A, et al. FGF-dependent metabolic control of vascular development. *Nature*, 2017, 545: 224-8
- [29] Wilhelm K, Happel K, Eelen G, et al. FOXO1 couples metabolic activity and growth state in the vascular endothelium. *Nature*, 2016, 529: 216-20
- [30] Ceccarelli SM, Chomienne O, Gubler M, et al. Carnitine palmitoyltransferase (CPT) modulators: a medicinal chemistry perspective on 35 years of research. *J Med Chem*, 2011, 54: 3109-52
- [31] Schoors S, Bruning U, Missiaen R, et al. Fatty acid carbon is essential for dNTP synthesis in endothelial cells. *Nature*, 2015, 520: 192-7
- [32] Patella F, Schug ZT, Persi E, et al. Proteomics-based metabolic modeling reveals that fatty acid oxidation (FAO) controls endothelial cell (EC) permeability. *Mol Cell Proteomics*, 2015, 14: 621-34
- [33] Kalucka J, Bierhansl L, Conchinha NV, et al. Quiescent endothelial cells upregulate fatty acid  $\beta$ -oxidation for vasculoprotection via redox homeostasis. *Cell Metab*, 2018, 28: 881-94.e813
- [34] Wong BW, Wang X, Zecchin A, et al. The role of fatty acid  $\beta$ -oxidation in lymphangiogenesis. *Nature*, 2017, 542: 49-54
- [35] Kim B, Li J, Jang C, et al. Glutamine fuels proliferation but not migration of endothelial cells. *EMBO J*, 2017, 36: 2321-33
- [36] Huang H, Vandekeere S, Kalucka J, et al. Role of glutamine and interlinked asparagine metabolism in vessel formation. *EMBO J*, 2017, 36: 2334-52
- [37] Jian Y, Tang Z, Wang Y, et al. Polyaspartoyl L-arginine protects endothelial cells against injury. *Eur J Pharmacol*, 2008, 599: 96-101
- [38] Zhang M, Li Y, Guo Y, et al. Arginine regulates NLRP3 inflammasome activation through SIRT1 in vascular endothelial cells. *Inflammation*, 2021, 44: 1370-80
- [39] Weinberg JM, Varani J, Johnson KJ, et al. Protection of human umbilical vein endothelial cells by glycine and structurally similar amino acids against calcium and hydrogen peroxide-induced lethal cell injury. *Am J Pathol*, 1992, 140: 457-71
- [40] Bruns H, Kazanavicius D, Schultze D, et al. Glycine inhibits angiogenesis in colorectal cancer: role of endothelial cells. *Amino Acids*, 2016, 48: 2549-58
- [41] Heuser SK, LoBue A, Li J, et al. Downregulation of eNOS and preserved endothelial function in endothelial-specific arginase 1-deficient mice. *Nitric Oxide*, 2022, 125-126: 69-77
- [42] Zhang Z, Yang Z, Zhu B, et al. Increasing glucose 6-phosphate dehydrogenase activity restores redox balance in vascular endothelial cells exposed to high glucose. *PLoS One*, 2012, 7: e49128
- [43] Blake R, Trounce IA. Mitochondrial dysfunction and complications associated with diabetes. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840: 1404-12
- [44] Benedito R, Roca C, Sorensen I, et al. The Notch ligands Dll4 and Jagged1 have opposing effects on angiogenesis. *Cell*, 2009, 137: 1124-35
- [45] Markowska AI, Jefferies KC, Panjwani N. Galectin-3 protein modulates cell surface expression and activation of vascular endothelial growth factor receptor 2 in human endothelial cells. *J Biol Chem*, 2011, 286: 29913-21
- [46] Croci DO, Cerliani JP, Dalotto-Moreno T, et al. Glycosylation-dependent lectin-receptor interactions preserve angiogenesis in anti-VEGF refractory tumors. *Cell*, 2014, 156: 744-58
- [47] Cai H. Hydrogen peroxide regulation of endothelial function: origins, mechanisms, and consequences. *Cardiovasc Res*, 2005, 68: 26-36
- [48] Raaz U, Toh R, Maegdefessel L, et al. Hemodynamic regulation of reactive oxygen species: implications for vascular diseases. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 20: 914-

- 28
- [49] Wang Y, Zang QS, Liu Z, et al. Regulation of VEGF-induced endothelial cell migration by mitochondrial reactive oxygen species. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2011, 301: C695-704
- [50] Kluge MA, Fetterman JL, Vita JA. Mitochondria and endothelial function. *Circ Res*, 2013, 112: 1171-88
- [51] Fu ZJ, Li SY, Kociok N, et al. Aldose reductase deficiency reduced vascular changes in neonatal mouse retina in oxygen-induced retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53: 5698-712
- [52] Vizan P, Sanchez-Tena S, Alcarraz-Vizan G, et al. Characterization of the metabolic changes underlying growth factor angiogenic activation: identification of new potential therapeutic targets. *Carcinogenesis*, 2009, 30: 946-52