

PFKFB3 促进糖尿病视网膜微血管损伤

文哲瑶 陈燕铭



通讯作者简介: 陈燕铭, 女, 医学博士, 主任医师, 中山大学附属第三医院副院长, 粤东医院常务副院长、内分泌科主任。现任中华医学会内分泌学会青年委员会副主任委员, 广东省中西医结合学会慢病防治及管理专业委员会主任委员, 广东省女医师协会糖尿病专业委员会主任委员, 广东省老年保健专业委员会副主任委员, 梅州市医学会糖尿病学分会主任委员, 《中华内分泌代谢杂志》通讯编委。曾于美国加州大学圣地亚哥分校、美国俄克拉荷马大学任访问学者。作为通讯作者或第一作者在 *Diabetes*、*Diabetologia* 等国际著名学术刊物发表论著, 主编或参编专著 3 部; 目前主持或参与国家及省、市级科研基金 18 项, 先后发表科研论文 70 余篇, 其中 SCI 论著 16 篇。

【摘要】 糖尿病视网膜病变 (DR) 是糖尿病的主要微血管并发症, 其主要病理改变为视网膜微血管渗漏、血管新生等。6-磷酸果糖激酶-2/2, 6 双磷酸激酶同工酶 3 (PFKFB3) 作为糖酵解的关键酶, 在血管内皮细胞中高表达, 当受到低氧、炎症刺激因子、生长因子等因素刺激时其表达上调并对血管内皮细胞的能量代谢发挥重要的调节作用。近期研究发现 PFKFB3 可通过促进糖酵解、加快细胞周期、抑制细胞凋亡等多种途径促进细胞的增殖, 同时通过影响内皮细胞的伪足生成、亚型分化等过程促进细胞的迁移, 在以上两个过程的作用下加速血管新生的进程, 从而促进 DR 的发生发展。

【关键词】 糖尿病视网膜病变; 6-磷酸果糖激酶-2/2, 6 双磷酸激酶同工酶 3; 内皮细胞; 血管新生

PFKFB3 promotes microvascular injury in diabetic retinopathy Wen Zheyao, Chen Yanming. *Department of Endocrinology & Metabolism, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China*

Corresponding author, Chen Yanming, E-mail: yanmingch@qq.com

【Abstract】 Diabetic retinopathy (DR) is one of major microvascular complications of diabetes mellitus. DR is mainly pathologically characterized with retinal microvascular leakage and angiogenesis, etc. As a key enzyme during glycolysis, 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatase-3 (PFKFB3) is highly expressed in vascular endothelial cells. The expression of PFKFB3 is up-regulated by hypoxia, inflammatory cytokines and growth factor, and plays a vital role in regulating the energy metabolism of vascular endothelial cells. Recent researches have demonstrated that PFKFB3 may accelerate cell proliferation via promoting glycolysis, accelerating cell cycle and suppressing cell apoptosis, etc. Meantime, PFKFB3 could promote cell migration through affecting the filopodia formation and subtype differentiation of endothelial cells. These activities can accelerate the progress of angiogenesis, thereby promoting the occurrence and progression of DR.

【Key words】 Diabetic retinopathy; 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatase-3; Endothelial cell; Angiogenesis

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2016.11.001

基金项目: 广东省科技计划项目 (2016A050502010); 中山大学临床医学研究 5010 计划项目 (2015015); 广州市科学研究专项项目 (2060404)

作者单位: 510630 广州, 中山大学附属第三医院内分泌与代谢病学科

通讯作者, 陈燕铭, E-mail: yanmingch@qq.com

糖尿病视网膜病变 (DR) 是糖尿病最常见的并发症之一,也是工作年龄人群的首位致盲性眼病^[1-3]。2 型糖尿病成年患者中,有 20% ~ 40% 合并 DR,8% 有严重视力丧失^[4]。DR 的发生发展源于视网膜微血管病变,主要病理改变包括视网膜炎症、视网膜微血管通透性增加和视网膜异常血管新生等。尽管诸多研究集中于 DR,但由于发病机制复杂,目前仍未完全阐明。

6-磷酸果糖激酶-2/2,6 双磷酸激酶又称诱导型 6-磷酸果糖激酶-2,可通过激活 6-磷酸果糖激酶-1 从而促进糖酵解。有研究证实,在血管内皮细胞中的糖酵解速率明显高于其他细胞,如肝细胞、脂肪细胞、巨噬细胞等,能量代谢速率几乎与肿瘤细胞相当^[5]。而促进糖酵解的关键酶 6-磷酸果糖激酶-2/2,6 双磷酸激酶同工酶 3 (PFKFB3) 在内皮细胞中高表达并通过体内外实验已证实 PFKFB3 参与血管新生,当抑制 PFKFB3 表达时,血管生成受到明显抑制^[5-8]。因此,PFKFB3 及其下游信号通路可能是 DR 发生发展的重要调控途径。

一、PFKFB3 概述

PFKFB3 是一类调节细胞内 2,6-双磷酸果糖水平的双功能酶,在调节糖脂代谢中起重要作用。PFKFB 家族由 4 种同工酶组成,分别由 PFKFB1-4 基因编码。这 4 种同工酶均含有两个催化中心,具有使 6-磷酸果糖磷酸化生成 2,6-双磷酸果糖的激酶活性以及使 2,6-双磷酸果糖去磷酸化生成 6-磷酸果糖的磷酸酶活性,不同之处在于每种同工酶的激酶/磷酸酶活性比有差异。其中 PFKFB3 基因(位于人类 10 号染色体上)编码的 3 号同工酶较其他 3 个同工酶而言,具有最高的激酶/磷酸酶活性比(其激酶活性约为磷酸酶活性的 700 倍,而其他 3 个同工酶该比值接近 1:1),它几乎仅表现出促进 2,6-双磷酸果糖生成的作用^[9-12]。此外,有研究发现虽然 4 种同工酶在组织细胞中存在共表达的情况,比如在原代人上皮细胞中 4 种同工酶的 mRNA 均有表达,在小鼠成纤维细胞中则检测到 PFKFB2-4 mRNA 的表达,但是 4 种同工酶对糖酵解的影响程度不尽相同,在敲除了 PFKFB3 基因的小鼠体内细胞中 2,6-双磷酸果糖在细胞内的水平下降最为显著^[13]。这提示了细胞内 2,6-双磷酸果糖的水平主要受 PFKFB3 的调控。

当 PFKFB3 基因受到低氧、炎症刺激因子、生长因子等因素刺激时其表达上调,它编码的产物也表现出更高的激酶活性,通过促进 2,6-双磷酸果糖的生成,继而激活 6-磷酸果糖激酶-1,起到提升糖酵解速率的作用^[14-19]。

基于 PFKFB3 主要通过调节糖酵解途径的速率而发挥作用。目前已知具有较高糖酵解速率的肿瘤细胞,其存在“Warburg 效应”(由 Warburg 教授在 1926 年首次提出),即在氧气供应充足的情况下其糖酵解途径的速率也明显高于正常细胞。有研究则表明,在肿瘤组织中 PFKFB3 的表达量也显著高于正常组织^[16]。此外,肿瘤组织中 PFKFB3 表达水平上调与 DNA 合成的时相相关,在 G1 中后期和 S 期 PFKFB3 的表达量明显升高,且在 S 期达到峰值,当沉默 PFKFB3 基因可阻滞细胞进入 S 期从而抑制细胞增殖,同时抑制细胞凋亡^[16, 20-22]。当抑制 PFKFB3 基因表达时肿瘤组织的生长也明显减缓^[24-25]。以上表明 PFKFB3 通过促进糖酵解、加快细胞周期、抑制凋亡等多种途径参与细胞的增殖。

二、PFKFB3 与 DR

1. DR 的微血管病理改变

DR 是糖尿病最主要的微血管并发症之一,依据是否出现病理性血管增殖可将 DR 分为非增殖性视网膜病变 (NPDR) 和增殖性视网膜病变 (PDR) 两类。

视网膜毛细血管主要由血管内皮细胞和周细胞组成,两者结构功能的完整对维持视网膜毛细血管稳定性具有十分重要的作用^[26]。DR 早期的病理改变为毛细血管周细胞减少、内皮细胞增生及基底膜增厚,这些因素导致毛细血管的完整性受到破坏等并使其管腔变得狭窄。而高血糖导致的血流动力学改变进一步使得毛细血管阻塞,最终导致毛细血管闭塞。闭塞的毛细血管失去灌注,进一步加剧了局部视网膜组织缺血缺氧,导致视网膜血管损伤,进一步发展则可出现黄斑水肿、新生血管形成和纤维化,即进展为 PDR^[27-28]。

新生血管的形成与发展是 PDR 的关键,病理性增殖的新生血管可从视网膜延伸至玻璃体内。新生血管脆弱易出血,可导致玻璃体内出血,当机化条索形成时可引发牵拉性视网膜脱离,影响视力甚至致盲。而当眼球前段虹膜也出

现新生血管时,其可向前房角生长并阻塞小梁网使房水流出受阻,眼内压升高,随后视神经因灌注受损出现萎缩。由此可见内皮细胞增殖以及血管新生可贯穿于整个 DR 发生发展的过程中,对其干预可成为治疗 DR 的重要途径。

2. PFKFB3 促进血管内皮细胞的增殖和迁移

放射性示踪标记技术追踪糖进入血管内皮细胞进行代谢的不同途径,发现血管内皮细胞具有更高的糖酵解速率,甚至可与肿瘤细胞的糖酵解速率相当。它的糖酵解速率约为其他供能途径(如脂肪酸氧化、谷氨酰胺氧化等)速率的 200 倍。近 85% 的 ATP 通过糖酵解生成,而有氧呼吸的作用却不如前者显著(内皮细胞葡萄糖氧化、脂肪酸氧化或谷氨酰胺氧化的速率不及糖酵解速率的 1%)。而且内皮细胞中线粒体体积不及细胞总体积的 5%^[5]。有学者则提出,在内皮细胞中线粒体的作用更多的是发挥信号枢纽而非为细胞供能^[30]。基于内皮细胞对糖酵解途径的依赖,使得调节糖酵解途径的酶对内皮细胞的作用不容忽视。

PFK-1 是糖酵解途径中重要的限速酶,它最强的变构激活剂即为 PFKFB3,抑制 PFKFB3 基因表达可使糖酵解速率降低 35%~40%^[30]。当视网膜病变研究中最常用的细胞模型——脐静脉内皮细胞(HUVEC)处于低氧状态(氧气浓度 0.5%)或使用血管内皮生长因子(VEGF)干预后,可观察到 PFKFB3 的 mRNA 及蛋白表达水平有明显上调^[7]。而予以 3PO(抑制 PFKFB3 基因表达的小分子化合物)干预或使用腺病毒转染 HUVEC 抑制其 PFKFB3 基因表达后,处于静息期的 HUVEC 比例增大,且其增殖和迁移均受到抑制^[6-7]。然而,更进一步的研究发现,抑制 PFKFB3 基因表达所引起的上述改变却并非由于糖酵解途径受阻导致细胞供能不足所致。

当抑制 HUVEC 的 PFKFB3 基因表达后,通过测定其 ATP、ADP 及 AMP 浓度发现它的能量负荷(即在总的腺苷酸系统中所负荷的高能磷酸基数量: $[ATP] + 1/2[ADP]/[ATP] + [ADP] + [AMP]$)以及 ATP 的浓度并未降低,没有出现内质网应激、氧化应激、自噬增强或引发细胞死亡。但同时,沉默 PFKFB3 基因后的 HUVEC 也没有观察到葡萄糖氧化、脂肪酸氧化或呼吸作用的增强以抵偿由于糖酵解途径受阻而带来的能量

损失。而为了维持 ATP 的水平,沉默 PFKFB3 基因的 HUVEC 则是相应地减低了 ATP 的消耗,其高耗能过程均减弱(如蛋白质合成、内皮细胞增殖等)并且促进细胞进入静息态(G0 期)^[5]。这表明当内皮细胞糖酵解途径受抑制后,细胞并未出现供能不足的情况,也未通过其他供能途径代偿性活跃来代替受阻的糖酵解途径产能,而是通过抑制细胞的高耗能过程,从而建立了一个新的能量代谢平衡来适应能量供应降低的境况。

以上均表明,糖酵解在内皮细胞中占有重要地位,而 PFKFB3 基因作为一个代谢基因通过调控糖酵解途径从而可显著影响内皮细胞能量代谢,进而影响其自身增殖以及细胞功能。前面我们提到,在 DR 发生的早期即 NPDR 时期,视网膜微血管的主要病理改变为周细胞丧失所引起的内皮细胞过度增殖,PFKFB3 与此过程密不可分,抑制 PFKFB3 基因的表达可显著抑制内皮细胞增殖且促进其进入静息态,在早期则可延缓 DR 的发展。

3. PFKFB3 促进血管新生

血管新生指在原有毛细血管基础上,经过内皮基膜降解,内皮细胞增殖、迁移、分化、出芽或内填方式形成新生血管的过程。而 PFKFB3 则可通过影响内皮细胞的增殖和功能从而调节血管新生。

小管形成实验为一种研究体外血管新生的模型,研究发现在该模型中沉默内皮细胞 PFKFB3 基因后其血管形成率较对照组降低了约 40%~46%,而过表达 PFKFB3 基因后血管形成率则较对照组升高了约 52%~60%^[7]。2013 和 2014 年有研究先后发现,在另一种血管新生的体外模型——内皮细胞球中,过表达或沉默该模型中内皮细胞的 PFKFB3 基因抑或抑制 PFKFB3 基因的表达后,内皮细胞球的新生血管芽数量和长度均与 PFKFB3 基因表达量改变的趨勢一致^[5-6]。而以上结果,在体内实验中同样得到了印证。在研究血管生成的典型模型——斑马鱼模型中,3PO 可抑制斑马鱼胚胎体节间血管(ISV)的生成,且这些生成的 ISV 存在灌注障碍^[6]。而更细化到视网膜方面,在给予腹腔注射 3PO 或敲除 PFKFB3 基因的新生小鼠模型中,其视网膜的新生血管数、血管分支数、血管丛径向膨胀程度都明显减少,视网膜新生血管丛的面积较对照组小鼠小

50%~55%^[5-7]。此外,在高氧诱导的视网膜病变小鼠模型中,当高氧引起小鼠视网膜微血管损伤导致视网膜灌注受损后,将小鼠放回正常氧浓度环境中饲养,其视网膜则会反应性地出现大量新生血管且部分为无功能血管,这一病理过程近似于糖尿病视网膜病变,而自小鼠回到正常氧浓度环境中时就给予腹腔注射 3PO,5 d 后将视网膜铺片染色可观察到新生血管明显少于对照组小鼠^[6]。这些实验证据均表明,PFKFB3 可促进血管新生,而无论在生理或病理状态下抑制 PFKFB3 基因表达均可以抑制血管新生。

血管新生过程中内皮细胞可分化为不同的亚型:位于血管芽前端的端细胞伸出丝状伪足和板状伪足,它极少增殖而是发挥向导作用;柄细胞跟随于端细胞之后,主要通过增殖发挥延长血管芽的作用;一旦新生血管得到灌注后,内皮细胞即进入静息状态成为方阵细胞^[31-32]。近年来有研究发现,沉默 PFKFB3 基因后对血管新生的影响,则主要通过影响血管生成过程中端细胞的生物活性和功能以及它伪足的生成和迁移来调节血管新生^[5]。

因此,在血管新生层面,PFKFB3 同样具有显著的作用。即在出现了新生血管的 PDR 时期,若抑制 PFKFB3 基因的表达,除了影响内皮细胞的能量代谢而抑制内皮细胞增殖外,它还通过影响内皮细胞的功能(伪足生成、亚型分化等)而抑制血管芽的形成从而抑制血管新生,这一作用有助于延缓 PDR 的进展。

三、结 语

随着全球糖尿病人数的不断增长,DR 患者的人群也在不断扩大,目前大多对 DR 发生发展过程中内皮细胞过度增殖和病理性血管新生的研究都集中在抑制 VEGF 的作用上,然而其成效却并不显著且已发现有诸多不良效应,因此我们需要转换视角,去寻求一种新的抗血管生成的策略。由于在血管内皮细胞从静息期转入活动期,进行血管发生作用的时候,糖酵解作用是血管内皮细胞的一大供能途径,因此通过影响糖酵解途径来调控血管生成即成为一条值得关注的途径。PFKFB3 基因作为调控糖酵解途径的一个重要代谢基因,虽然迄今为止关于其在 DR 中的作用研究仍有限,但从目前已有的研究结果看来,通过调节 PFKFB3 改善内皮细胞功能及病理性的血管

新生从而干预 DR 的病理进程可能成为一个有效的治疗策略。对 PFKFB3 与 DR 的关系进行更进一步深入的研究,将为 DR 发病机制的研究提供新的方向。

参 考 文 献

- [1] Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. *Lancet*, 2010, 376 (9735): 124-136.
- [2] Song SJ, Wong TY. Current concepts in diabetic retinopathy. *Diabetes Metab J*, 2014, 38 (6): 416-425.
- [3] Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, Chen SJ, Dekker JM, Fletcher A, Grauslund J, Haffner S, Hamman RF, Ikram MK, Kayama T, Klein BE, Klein R, Krishnaiah S, Mayurasakorn K, O'Hare JP, Orchard TJ, Porta M, Rema M, Roy MS, Sharma T, Shaw J, Taylor H, Tielsch JM, Varma R, Wang JJ, Wang N, West S, Xu L, Yasuda M, Zhang X, Mitchell P, Wong TY; Meta-Analysis for Eye Disease (META-EYE) Study Group. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*, 2012, 35 (3): 556-564.
- [4] 中华医学会眼科学会眼底病学组. 我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南(2014年). *中华眼科杂志*, 2014, 50 (11): 851-865.
- [5] De Bock K, Georgiadou M, Schoors S, Kuchnio A, Wong BW, Cantelmo AR, Quaegebeur A, Ghesquière B, Cauwenberghs S, Eelen G, Phng LK, Betz I, Tembuysen B, Brepoels K, Welti J, Geudens I, Segura I, Cruys B, Bifari F, Decimo I, Blanco R, Wyns S, Vangindertael J, Rocha S, Collins RT, Munck S, Daelemans D, Imamura H, Devlieger R, Rider M, Van Veldhoven PP, Schuit F, Bartrons R, Hofkens J, Fraisl P, Telang S, Deberardinis RJ, Schoonjans L, Vinckier S, Chesney J, Gerhardt H, Dewerchin M, Carmeliet P. Role of PFKFB3-driven glycolysis in vessel sprouting. *Cell*, 2013, 154 (3): 651-663.
- [6] Schoors S, De Bock K, Cantelmo AR, Georgiadou M, Ghesquière B, Cauwenberghs S, Kuchnio A, Wong BW, Quaegebeur A, Goveia J, Bifari F, Wang X, Blanco R, Tembuysen B, Cornelissen I, Bouché A1, Vinckier S, Diaz-Moralli S, Gerhardt H, Telang S, Cascante M, Chesney J, Dewerchin M, Carmeliet P. Partial and transient reduction of glycolysis by PFKFB3 blockade reduces pathological angiogenesis. *Cell Metab*, 2014, 19 (1): 37-48.
- [7] Xu Y, An X, Guo X, Habetsion TG, Wang Y, Xu X, Kandala S, Li Q, Li H, Zhang C, Caldwell RB, Fulton DJ, Su Y, Hoda MN, Zhou G, Wu C, Huo Y. Endothelial PFKFB3 plays a critical role in angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34 (6): 1231-1239.
- [8] De Bock K, Georgiadou M, Carmeliet P. Role of endothelial cell metabolism in vessel sprouting. *Cell Metab*, 2013, 18 (5): 634-647.
- [9] Navarro-Sabaté A, Manzano A, Riera L, Rosa JL, Ventura F, Bartrons R. The human ubiquitous 6-phosphofructo-2-kinase/

- fructose-2, 6-bisphosphatase gene (PFKFB3): promoter characterization and genomic structure. *Gene*, 2001, 264 (1): 131-138.
- [10] Okar DA, Lange AJ. Fructose-2, 6-bisphosphate and control of carbohydrate metabolism in eukaryotes. *Biofactors*, 1999, 10 (1): 1-14.
- [11] Bolaños JP, Almeida A, Moncada S. Glycolysis: a bioenergetic or a survival pathway? *Trends Biochem Sci*, 2010, 35 (3): 145-149.
- [12] Yalcin A, Telang S, Clem B, Chesney J. Regulation of glucose metabolism by 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatases in cancer. *Exp Mol Pathol*, 2009, 86 (3): 174-179.
- [13] Telang S, Yalcin A, Clem AL, Bucala R, Lane AN, Eaton JW, Chesney J. Ras transformation requires metabolic control by 6-phosphofructo-2-kinase. *Oncogene*, 2006, 25 (55): 7225-7234.
- [14] Sakakibara R, Kato M, Okamura N, Nakagawa T, Komada Y, Tominaga N, Shimojo M, Fukasawa M. Characterization of a human placental fructose-6-phosphate, 2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatase. *J Biochem*, 1997, 122 (1): 122-128.
- [15] Chesney J, Mitchell R, Benigni F, Bacher M, Spiegel L, Al-Abed Y, Han JH, Metz C, Bucala R. An inducible gene product for 6-phosphofructo-2-kinase with an AU-rich instability element: role in tumor cell glycolysis and the Warburg effect. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96 (6): 3047-3052.
- [16] Atsumi T, Chesney J, Metz C, Leng L, Donnelly S, Makita Z, Mitchell R, Bucala R. High expression of inducible 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatase (iPFK-2; PFKFB3) in human cancers. *Cancer Res*, 2002, 62 (20): 5881-5887.
- [17] Marsin AS, Bouzin C, Bertrand L, Hue L. The stimulation of glycolysis by hypoxia in activated monocytes is mediated by AMP-activated protein kinase and inducible 6-phosphofructo-2-kinase. *J Biol Chem*, 2002, 277 (34): 30778-30783.
- [18] Minchenko A, Leshchinsky I, Opentanova I, Sang N, Srinivas V, Armstead V, Caro J. Hypoxia-inducible factor-1-mediated expression of the 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-bisphosphatase-3 (PFKFB3) gene. Its possible role in the Warburg effect. *J Biol Chem*, 2002, 277 (8): 6183-6187.
- [19] Obach M, Navarro-Sabaté A, Caro J, Kong X, Duran J, Gómez M, Perales JC, Ventura F, Rosa JL, Bartrons R. 6-Phosphofructo-2-kinase (pfb3) gene promoter contains hypoxia-inducible factor-1 binding sites necessary for transactivation in response to hypoxia. *J Biol Chem*, 2004, 279 (51): 53562-53570.
- [20] Tudzarova S, Colombo SL, Stoeber K, Carcamo S, Williams GH, Moncada S. Two ubiquitin ligases, APC/C-Cdh1 and SKP1-CUL1-F (SCF) -beta-TrCP, sequentially regulate glycolysis during the cell cycle. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108 (13): 5278-5283.
- [21] Colombo SL, Palacios-Callender M, Frakich N, De Leon J, Schmitt CA, Boorn L, Davis N, Moncada S. Anaphase-promoting complex/cyclosome-Cdh1 coordinates glycolysis and glutaminolysis with transition to S phase in human T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107 (44): 18868-18873.
- [22] Almeida A, Bolaños JP, Moncada S. E3 ubiquitin ligase APC/C-Cdh1 accounts for the Warburg effect by linking glycolysis to cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107 (2): 738-741.
- [23] Yalcin A, Clem BF, Imbert-Fernandez Y, Ozcan SC, Peker S, O'Neal J, Klarer AC, Clem AL, Telang S, Chesney J. 6-Phosphofructo-2-kinase (PFKFB3) promotes cell cycle progression and suppresses apoptosis via Cdk1-mediated phosphorylation of p27. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1337.
- [24] Clem BF, O'Neal J, Tapolsky G, Clem AL, Imbert-Fernandez Y, Kerr DA 2nd, Klarer AC, Redman R, Miller DM, Trent JO, Telang S, Chesney J. Targeting 6-phosphofructo-2-kinase (PFKFB3) as a therapeutic strategy against cancer. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12 (8): 1461-1470.
- [25] Klarer AC, O'Neal J, Imbert-Fernandez Y, Clem A, Ellis SR, Clark J, Clem B, Chesney J, Telang S. Inhibition of 6-phosphofructo-2-kinase (PFKFB3) induces autophagy as a survival mechanism. *Cancer Metab*, 2014, 2 (1): 2.
- [26] Hirschi KK, D'Amore PA. Pericytes in the microvasculature. *Cardiovasc Res*, 1996, 32 (4): 687-698.
- [27] Orledge A, D'Amore PA. Inhibition of capillary endothelial cell growth by pericytes and smooth muscle cells. *J Cell Biol*, 1987, 105 (3): 1455-1462.
- [28] Beltramo E, Porta M. Pericyte loss in diabetic retinopathy: mechanisms and consequences. *Curr Med Chem*, 2013, 20 (26): 3218-3225.
- [29] Blouin A, Bolender RP, Weibel ER. Distribution of organelles and membranes between hepatocytes and nonhepatocytes in the rat liver parenchyma. A stereological study. *J Cell Biol*, 1977, 72 (2): 441-455.
- [30] Groschner LN, Waldeck-Weiermair M, Malli R, Graier WF. Endothelial mitochondria-less respiration, more integration. *Pflugers Arch*, 2012, 464 (1): 63-76.
- [31] Geudens I, Gerhardt H. Coordinating cell behaviour during blood vessel formation. *Development*, 2011, 138 (21): 4569-4583.
- [32] Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell*, 2011, 146 (6): 873-887.

(收稿日期: 2016-06-06)

(本文编辑: 杨江瑜)