

EphrinB2/EphB4 在血管生长中的作用及中医药研究展望*

刘 双¹ 陈斌玲¹ 胡雅琼 张静思² 高 冬^{1△} 宋 军²

(1 福建中医药大学中西医结合学院 福建 福州 350108 2 中国中医科学院医学实验中心 北京 100700)

摘要:近年来,有关 ephrin 及其 Eph 受体的作用研究已从神经系统方面逐步向血管生长扩展。已有研究表明 ephrinB2/EphB4 及其独特的双向信号转导几乎参与血管生长的每个方面,涉及血管发育过程中的动静脉分化、胚胎后血管新生包括内皮细胞增殖、迁移、粘附和分化等过程,且与 VEGF、Notch 等血管新生调控因子关系密切。另外,实验表明活血化瘀名方血府逐瘀汤显著的促血管新生作用与 ephrinB2/EphB4 相关,说明中医药促血管新生中 ephrinB2/EphB4 具有重要作用。本文部分总结了 ephrinB2/EphB4 在血管生长中的作用,并提出中医药在这方面的展望。

关键词:EphrinB2; EphB4; 血管生长; 双向信号转导

中图分类号:R285, R331.36 **文献标识码**:A **文章编号**:1673-6273(2012)08-1576-04

The Roles of EphrinB2/EphB4 in Vascular Growth and Traditional Chinese Medicine Angiogenesis Research*

LIU Shuang¹, CHEN Bin-ling¹, HU Ya-qiong¹, ZHANG Jing-si², GAO Dong^{1△}, SONG Jun²

(1 Department of Integrative Medicine; Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, 350108, China;

2 Experimental Research Center; China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing, 100700, China)

ABSTRACT: In recent years, the mechanism research of ephrins and their Eph receptors have been gradually expanded from nervous system to vascular growth. EphrinB2/EphB4 and their unique bi-directional signals mediated almost every stage of vascular growth including arterio-venous differentiation and postnatal angiogenesis which involved endothelial cells proliferation, migration, adhesion and differentiation. Their angiogenesis regulation mechanism had close relation to VEGF and Notch. In addition, experimental research have been demonstrated that the apparently angiogenic effects of Xuefu Zhuyu decoction can promote blood circulation and remove blood stasis, have some relation to ephrinB2/EphB4. That suggested ephrinB2/EphB4 could play important roles in angiogenesis induced by traditional Chinese medicine. Here we partly summarized how ephrinB2/EphB4 affected in vascular growth and prospected its work in traditional Chinese medicine research.

Key words: EphrinB2; EphB4; Vascular growth; Bi-directional signaling transduction

Chinese Library Classification(CLC): R285, R331.36 **Document code**: A

Article ID:1673-6273(2012)08-1576-04

前言

已有研究表明 ephrinB2/EphB4 几乎参与血管生长的每个方面。本文从 ephrinB2/EphB4 及双向信号转导在血管发育、胚胎后血管新生以及与各血管新生调控因子相互作用等方面,部分总结了 ephrinB2/EphB4 在血管生长中的作用。

1 EphrinB2 及受体 EphB4 与其双向信号转导

EphB4 属于目前已知最大的蛋白酪氨酸激酶受体家族(RTKs)亚家族,原名 Htk (hepatoma transmembrane kinase, Htk),由 Brian D.Bennett^[1]等人于 1994 年利用 RT-PCR 等技术在人研究基础上,于人类 CD34⁺骨髓单核细胞和肝癌细胞株 Hep3B 中首次同时克隆出的一种酪氨酸激酶蛋白。其 N 端胞外结构包括一个配体结合域、一个半胱氨酸富集区域和两个串联的 型纤维连接蛋白重复体,胞内近膜端含有一个酪氨酸

激酶域、一个 SAM(sterile-motif)结合域和 C 端一个 PDZ 结合模体^[2-3]。随后该项目组利用 Htk-Fc 融合蛋白于鼠肾小球系膜细胞株 SV40MES13 中成功克隆出配体 ephrinB2,这个跨膜分子结构上存在约 180 个氨基酸组成,大小 20kD 左右的胞外受体结合区,约 80 个氨基酸组成的胞内短尾区^[2-3]和 C 端一个 P-DZ 模体。

EphB4 与 ephrinB2 在信号传递时可互被对方激活,即受体与配体间的信号转导是双向的,这个独特、复杂的双向信号转导机制至今未完全研究清楚。一般来说,两个相邻细胞上的受、配体以膜附着方式相互接触从而启动各自下游信号转导通路。以 ephrinB2 激活 EphB4,通过受体二聚化主要使 EphB4 胞内 590/594^[4]位点酪氨酸残基发生磷酸化,从而激活下游 PI-3K、Src^[5]等信号通路为正向信号,即经典途径,而 EphB4 激活 ephrinB2 为反向信号,可通过酪氨酸磷酸化依赖性或 JNK (c-Jun N-terminal kinase)介导的路径向下游传递^[6],研究较多的是酪氨酸

* 基金项目 国家自然科学基金(81173431)

△通讯作者 高冬 E-mail: gd1026@yahoo.com.cn

(收稿日期 2011-12-06 接受日期 2011-12-30)

酸磷酸化依赖性路径, EphB4 与 ephrinB2 结合后, 通过配体多聚化快速募集 SFKs (src-family kinases) 到 ephrinB2 附近, 将其酪氨酸残基磷酸化, 并通过结合含有 SH2 和 SH3 结构域的接头蛋白 Grb4 激活下游信号通路。其配体生物学效应受多聚化类别和强度的影响^[6,7]。配体磷酸化激活后, 又可募集含 PDZ 模体的酪氨酸磷酸酶 PTP-BL 发挥去磷酸化的负调作用, 在反向信号 Src 通路开始后的短暂时间内部分关闭该信号通路^[7]。

2 EphrinB2/EphB4 在血管发育中的作用

由于 Htk 广泛表达于胚胎脑组织^[1], 最初的研究主要集中在神经发育方面的作用, 有学者研究 ephrinB2 和 EphB4 对神经发育的影响时发现, 二者基因突变会导致裸鼠心脏血管发育缺陷, 引起血管重塑时期小鼠死亡, 进而引发其在血管发育中的作用研究^[8-10]。鼠类卵黄囊中原始血管丛最初形成于胚胎早期, 稍后卵黄囊血管重塑, 含有动脉、静脉和毛细血管的血管床形成, 气体交换和物质代谢由此产生。结果表明在血管发育进程中, ephrinB2/EphB4 是否表达, 表达量的多少以及表达时间点均会显著影响胚胎血管生长。Foo^[11]等指出, ephrinB2 基因缺陷小鼠在胚胎形成初期及胚胎期 18.5 天即显示皮肤水肿和皮肤、肠道、肾小球和肺大范围出血, 出生后随即因呼吸衰竭死亡, 与他人部分结果一致^[12]。且在多种动物模型中的研究已证实, ephrinB2/EphB4 在原始卵黄囊中的表达范围优于重塑期卵黄囊^[10], 基因敲除 ephrinB2 会使卵黄囊血管失重塑, E11 天小鼠死亡^[8]。上述实验结果说明二者在胚胎血管形成中不可或缺, 有趣的是如果胚胎期 ephrinB2 过表达也会导致严重的血管发育缺陷, 鼠胚活不过妊娠中期^[12]。而且, 如果 ephrinB2 延期表达, 虽可以延长鼠胚存活期但会引起血管缺陷^[12]。

不仅如此, 相关研究还表明 ephrinB2/EphB4 在动、静脉分化上也发挥重要作用, ephrinB2 在胚胎形成或发生后期及成人期的动脉表达, 且表达范围会从 ECs 扩大到包绕 ECs 的平滑肌细胞(SMC)和周细胞(pericytes), 提示 ephrinB2 可能在动脉壁的形成过程中扮演重要角色, 而 EphB4 在静脉表达^[8, 13-14]。因此, 靶向去除 ephrinB2 或 EphB4 的鼠胚会导致动、静脉无法界定^[15]。另外, ephrinB2/EphB4 对背主动脉(DA)和静脉(CV)这两种轴性血管的发育具有调节作用, 在斑马鱼胚胎中, CV 形成是由前体血管背侧芽生和形成静脉的 ECs 迁移导致的, 表达 EphB4a(来源于斑马鱼的 EphB4 同源受体之一)的 ECs 优先移向 CV, 而表达 ephrinB2a(哺乳动物 ephrinB2 的同源配体之一)的 ECs 背侧迁移能力有限。当用吗啉代寡核苷酸(MO)阻断 ephrinB2 表达或使用 C 端截断型 ephrinB2, 只有少量细胞滞留于 DA 中。反之, 当用 MO 靶向阻断 EphB4, 则移向 CV 的 ECs 减少^[16]。若胚胎缺乏 ephrinB2, 静脉 ECs 可能错误定位于 DA, 缺失 EphB4 的 ECs 则出现在扩大的 DA 中^[14]。同时, 这种动静脉分化的调节作用也在鼠胚中得到证实^[14]。29 例 ephrinB2 基因缺失型鼠胚中, 20 例在胚胎期 8.75 天部分 EphB4+ 细胞出现在 DA, ECs 在 DA 中的比例上升, 双侧 DA 扩大, CV 减小, 另外 9 例则在稍后阶段出现更复杂的变化, 左侧 DA 扩大伴 CV 毛细血管数量减少, 而右侧 DA 变小伴 CV 毛细血管数量增加。

3 EphrinB2/EphB4 与血管生长的关系

随着研究不断地广泛和深入, 越来越多学者指出, ephrinB2/EphB4 在胚胎后血管新生领域也有重要作用^[12, 17, 18]。Yingdi Wang^[12]等采用绿色荧光蛋白作为报告基因标记出 ephrinB2 不仅出现在动脉内皮细胞中, 还可出现在真皮和视网膜的微血管, 以及芽生血管的顶部细胞(tip cells)和底部细胞(stalk cells)中; 而其受体 EphB4 虽然在静脉中的表达量最多, 但也在视网膜微血管和芽生的血管内皮中出现。表明二者间在血管生长中具有相互作用。ephrinB2 失活会导致小鼠产后早期发育过程中血管网络的大小和复杂性减弱, 血管芽生长度, tip cells 数量和 ECs 增殖能力下降^[12]; 而 ephrinB2 过表达小鼠皮肤血管更为扩展。另外, ephrinB2 调控血管内皮性芽生过程, ECs 参与的一系列步骤, 如果将 ephrinB2 显微注射入单层内皮的各个细胞中, 细胞的运动性、芽生突起和迁移能力显著增加, 该作用部分依赖于受体 EphB4 的活化。若用 MO 注入斑马鱼胚胎下调 ephrinB2 表达, 会引起节间血管端细胞丝状伪足缩短, 细胞突触和细胞间连接大部分缺失, 血管芽生和 ECs 形成血管网的能力下降^[12]。而且 ephrinB2 与血管结构的稳定性关系密切, 活化的 ephrinB2 主要表达在内皮细胞和周细胞交汇处, 是两类细胞形成血管结构所必须的^[17]。Kuijper^[19]等也通过研究指出, ephrinB2 缺陷导致血管壁中的 SMC 与 ECs 接触不完全, 造成血管内皮层包被不严密, 容易发生内容物泄漏现象。

另外, 通过 Salvucci^[17]等人采用的 2 个血管生成模型实验说明了 ephrinB2 活化具有促血管新生作用。在早产儿视网膜病变(ROP)实验中, 作者通过免疫染色、免疫印迹等实验方法证实: 发育中的视网膜血管存在 ephrinB2 磷酸化激活, 而成年期的视网膜血管无 ephrinB2 磷酸化; 在小鼠皮肤伤口愈合模型(skin wounded-healing model)中观察到类似现象, 小鼠皮肤伤口愈合前出现 ephrinB2 磷酸化, 7 天伤口愈合后, ephrinB2 磷酸化消失, 与正常小鼠 ephrinB2 活性状态一致。

4 EphrinB2/EphB4 双向信号通路对血管新生的影响

内皮细胞参与血管新生的过程涉及毛细血管基底膜水解, ECs 从基底膜分离、迁移到血管周围缝隙, 粘附、增殖, 随之形成管腔等一系列过程。ephrinB2/EphB4 双向信号参与了这些步骤的调节, 但由于双向信号通路的复杂性, 且各实验条件和实验设计不统一, 引发信号或封闭信号的方式多种多样, 以及受到实验手段的限制, 有关双向信号在血管新生中的作用易产生一些有争议的结论。Adams^[20]等人实验结果表明由 EphB4 激活 ephrinB2 的反向信号具有促血管新生作用, 而将表达 EphB4 的基质细胞和表达 ephrinB2 的内皮细胞共同培养, 却得到相反的结论^[21]。这个现象不是单一存在的, 如有关正向信号的研究中, 有的实验采用 ephrinB2-Fc 刺激正向信号, 产生抗 ECs 粘附并诱导内皮细胞分离^[22-23], 而有的实验同样采用 ephrinB2-Fc 刺激正向信号^[5, 24], 导致 PI3K/Akt 通路激活, PI3K 活性升高 38%, 进而分别上调下游内皮型 NO 合成酶/PKG/MAPK 信号通路, PKB 信号通路或 MMP 信号途径促进细胞增殖和迁移, 与前述正向信号抑制血管新生的结论相反。

为了得到更明确的结论, 研究人员采用^[23]传统检测粘附、

迁移和趋化的技术手段结合特定的基质胶 3D 成血管体系,分析正常表达 ephrinB2/EphB4 的人脐静脉内皮细胞与过表达的内皮细胞间血管新生差异,结果显示 EphB4 介导的正向信号通过抑制 ECs 粘附、迁移和血管芽生,进而抑制血管新生;而反向信号作用相反,与其他分别从正向或方向单方面的实验结论一致^[17,20,22-23]。应该说,不论实验设计如何,以何种方式引发或封闭信号,但双向信号引发血管新生作用效应相反这个结论得到了认同^[23],多数研究认为刺激正向信号,产生抗血管新生的效应^[23],而诱发反向信号,则促进血管新生^[20,23]。

5 EphrinB2/EphB4 与其他血管新生调控因子的相互作用

在血管发育过程中 ephrinB2 与 VEGF、Notch 信号通路关系密切,虽然三者可各自独立发挥不同作用,如动静脉血管生成方面,Notch 并不能影响 ECs 的数量,其作用在于平衡动静脉中 ECs 的比例,由此调控不同类型血管的大小,而 ephrinB2/EphB4 信号通路则能分选动、静脉 ECs 使之形成各自的血管结构,但三者之间也存在相互作用,早期鼠胚 DA 和 CV 的管径发育在 Notch 和 ephrinB2/EphB4 相互作用下保持相对稳定^[14]。VEGF-A 及受体 VEGFR2 以及 Notch 均可上调 ephrinB2 表达,促 DA 形成并防止其过度芽生。而 VEGF-C 及受体 VEGFR3 可正向调控细胞 EphB4 的表达促 CV 形成^[25]。Charles^[4]等通过实验进一步指出,它们之间的相互作用极为复杂,在胚胎背侧可分化为动脉内皮细胞的成血管细胞中,VEGF 通过 PLC γ /Raf/MEK/ERK/Foxc1/2 通路激活 Dll4 介导的 Notch 信号通路,进一步促进 ephrinB2 表达,同时 Foxc1/2 诱导 Gr1 阻断 EphB4 表达,促使细胞分化成动脉细胞,而在腹侧成血管细胞中,VEGF 激活 PI3K/Akt 信号通路,抑制上述的 PLC γ -ERK/MAPK 路径,通过诱导 COUP-TFII 抑制 ephrinB2 的表达,使得细胞分化成静脉细胞。

有学者认为 ephrinB2 同 VEGF 和 Angiopoietins 一起可作为血管新生三大关键调控因子^[26],它们之间存在相互作用。Kim^[27]等人发现,ephelinB2 虽然不能影响 VEGF 和 Ang-1 诱导的受体活化,但可抑制二者诱导的 Ras/MAPK 信号通路,进而抑制 ECs 增殖和/或迁移。另外,VEGF-C 受体 VEGFR3 的内吞作用和信号转导过程都需要有 ephrinB2 的参与。在 ephrinB2 基因敲除的细胞中,VEGF-C 诱导的 VEGFR3 酪氨酸磷酸化和小 G 蛋白 Rac1 的活性显著下降,下调细胞动力作用和细胞突触形成,在血管发育早期阶段即可下调 ECs 芽生活动,从而影响血管形态发育。同时 Akt、Erk 磷酸化活动减弱,由此导致 ECs 增殖及其它活动信号显著减弱^[12]。此外,ephelinB2 敲除后,由 VEGF-C 刺激引发的 VEGFR3 内吞作用大大下降^[12]。ephelinB2 同时还调控 VEGFR2 信号通路的活性及其受体内吞作用^[28],提示 ephelinB2 可能在 VEGF 信号通路中扮演一个总调控者的角色,并在血管生长中发挥核心作用^[12]。

6 中医药展望

迄今为止,ephelinB2/EphB4 在血管生长的作用已被初步阐明,但 ephelinB2 和 EphB4 双向信号调节作用机制复杂,且血管新生涉及 ECs 增殖、迁移等环节较多,为我们进一步深入研究

提出了极大的挑战。令人惊喜的是,虽然中医药促血管新生领域起步较晚,其中有关 ephrin 家族的作用机制研究甚少,但已有初步成果发现血府逐瘀汤可通过调控 ephrin 家族进而促进血管新生^[29]。利用基因芯片技术该项目组的研究发现血府逐瘀汤含药血清作用内皮细胞 ECV304 不同时间段促血管新生作用不同,所影响到的家族成员各异,药物促血管新生作用最为显著的 48h 下调 ephrinA1 的表达,而促血管新生作用较弱的 24h 和 72h 却上调 ephrinB2 的表达,说明药物通过调控 ephrin-B2/EphB4 进而促进血管新生,该研究部分结果已发表^[29],同时项目组已着手就 ephrinB2/EphB4 在其中的关键作用取得国家自然科学基金的资助,为下一步深入探讨 ephrinB2/EphB4 在中医药影响血管新生中的重要作用带来新思路。

随着中医药,尤其是活血化瘀中药对 ephrinB2/EphB4 双向信号通路影响研究的不断深入开展,我们将有可能更多地了解活血化瘀中药在血管新生上的作用机制,也能更好地将现代研究成果应用于实践中去,指导中医药临床处方用药。

参考文献(References)

- [1] Bennett BD, Wang Z, Kuang WJ, et al. Cloning and Characterization of HTK, a Novel Transmembrane Tyrosine Kinase of the EPH Subfamily[J]. J Biol Chem, 1994, 269(19):14211-14218
- [2] Bennett BD, Zeigler FC, Gu Q, Fendly B, Goddard AD, Gillett N, et al. Molecular cloning of a ligand for the EPH-related receptor protein-tyrosine kinase Htk[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1995,92(6):1866-1870
- [3] Chrencik JE, Brooun A, Kraus ML, Recht MI, Kolatkar AR, Han GW, et al. Structural and biophysical characterization of the EphB4*ephrin-B2 protein-protein interaction and receptor specificity[J]. J Biol Chem, 2006,281(38):28185-28192
- [4] Hong CC, Kume T, Peterson RT. Role of crosstalk between phosphatidylinositol 3-kinase and extracellular signal-regulated kinase/mitogen-activated protein kinase pathways in artery-vein specification [J]. Circ Res, 2008,103 (6):573-579
- [5] Steinle JJ, Meininger CJ, Forough R, Wu G, Wu MH, Granger HJ. Eph B4 receptor signaling mediates endothelial cell migration and proliferation via the phosphatidylinositol 3-kinase pathway [J]. J Biol Chem, 2002, 277(46):43830-43835
- [6] Bochenek ML, Dickinson S, Astin JW, Adams RH, Nobes CD. Ephrin-B2 regulates endothelial cell morphology and motility independently of Eph-receptor binding[J]. J Cell Sci., 2010, 123(8): 1235-1246
- [7] Palmer A, Zimmer M, Erdmann KS, Eulenburg V, Porthin A, Heumann R, et al. EphrinB Phosphorylation and Reverse Signaling: Regulation by Src Kinases and PTP-BL Phosphatase [J]. Mol Cell, 2002,9(4): 725-737
- [8] Wang HU, Chen ZF, Anderson DJ. Molecular distinction and angiogenic interaction between embryonic arteries and veins revealed by ephrin-B2 and its receptor EphB4[J]. Cell, 1998,93(5): 741-753
- [9] Adams RH, Wilkinson GA, Weiss C, Diella F, Gale NW, Deutsch U, et al. Roles of ephrinB ligands and EphB receptors in cardiovascular development: demarcation of arterial/venous domains, vascular morphogenesis, and sprouting angiogenesis[J]. Genes Dev, 1999,13(3):295-306
- [10] Gerety SS, Wang HU, Chen ZF, Anderson DJ. Symmetrical mutant phenotypes of the receptor EphB4 and its specific transmembrane lig-

- and ephrin-B2 in cardiovascular development[J]. *Mol Cell*,1999,4(3): 403-414
- [11] Foo SS, Turner CJ, Adams S, Compagni A, Aubyn D, Kogata N ,et al.Ephrin-B2 controls cell motility and adhesion during blood-vessel-wall assembly[J]. *Cell*, 2006, 124(1):161-173
- [12] Wang Y, Nakayama M, Pitulescu ME, Schmidt TS, Bochenek ML, Sakakibara A, et al. Ephrin-B2 controls VEGF-induced angiogenesis and lymphangiogenesis[J]. *Nature*,2010,4 (65):483-489
- [13] Brantley-Sieders DM, Chen J. Eph receptor tyrosine kinases in angiogenesis; from development to disease [J]. *Angiogenesis*, 2004,7(1): 17-28
- [14] Kim YH, Hu H, Guevara-Gallardo S, Lam MT, Fong SY, Wang RA. Artery and vein size is balanced by Notch and ephrinB2/EphB4 during angiogenesis[J].*Development*, 2008,135(22): 3755-3764
- [15] Krebs LT, Starling C, Chervonsky AV, Gridley T. Notch1 activation in mice causes arteriovenous malformations phenocopied by ephrinB2 and EphB4 mutants[J]. *Genesis*,2010, 48(3): 146-150
- [16] Herbert SP, Huisken J, Kim TN, Feldman ME, Houseman BT, Wang RA, et al. Arterial- venous segregation by selective cell sprouting: An alternative mode of blood vessel formation [J]. *Science*,2009,326 (5950): 294-298
- [17] Salvucci O, Maric D, Economopoulou M, Sakakibara S, Merlin S, Follenzi A, et al. EphrinB reverse signaling contributes to endothelial and mural cell assembly into vascular structures[J]. *Blood*, 2009,114 (8):1707-1716
- [18] Gale NW, Baluk P, Pan L, Kwan M, Holash J, DeChiara TM, et al. Ephrin-B2 selectively marks arterial vessels and neovascularisation sites in the adult, with expression in both endothelial and smooth-muscle cells[J]. *Dev.Biol*, 2002, 230(2):151-160
- [19] Kuijper S, Turner CJ, Adams RH. Regulation of angiogenesis by Eph-ephrin interactions [J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2007,17 (5): 145-151
- [20] Adams RH, Diella F, Hennig S, Helmbacher F, Deutsch U, Klein R. The cytoplasmic domain of the ligand EphrinB2 is required for vascular morphogenesis but not cranial neural crest migration [J]. *Cell*, 2001,104(1):57-69
- [21] Zhang XQ, Takakura N, Oike Y, Inada T, Gale NW, Yancopoulos GD, et al. Stromal cells expressing ephrin-B2 promote the growth and sprouting of ephrin-B2(+) endothelial cells[J]. *Blood*, 2001, 98(4): 1028-1037
- [22] Hamada K, Oike Y, Ito Y, Maekawa H, Miyata K, Shimomura T, et al. Distinct roles of ephrin-B2 forward and EphB4 reverse signaling in endothelial cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(2): 190-197
- [23] Füller T, Korff T, Kilian A, Dandekar G, Augustin HG. Forward EphB4 signaling in endothelial cells controls cellular repulsion and segregation from ephrinB2 positive cells[J]. *J Cell Sci*, 2003,116(12): 2461- 2470
- [24] Maekawa H, Oike Y, Kanda S, Ito Y, Yamada Y, Kurihara H, et al. EphrinB2 induces migration of endothelial cells through the phosphatidylinositol-3 kinase pathway and promotes angiogenesis in adult vasculature[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(11):2008-2014
- [25] Carlson TR, Yan Y, Wu X, Lam MT, Tang GL, Beverly LJ, et al. Endothelial expression of constitutively active Notch4 elicits reversible arteriovenous malformations in adult mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*,2005, 102(28): 9884-9889
- [26] Zhang J, Hughes S. Role of the ephrin and Eph receptor tyrosine kinase families in angiogenesis and development of the cardiovascular system[J]. *J Pathol*, 2006, 208(4):453-461
- [27] Kim I, Ryu YS, Kwak HJ, Ahn SY, Oh JL, Yancopoulos GD, et al. EphB ligand, ephrinB2, suppresses the VEGF- and angiopoietin 1-induced Ras/mitogen-activated protein kinase pathway in venous endothelial cells[J]. *FASEB J*, 2002, 16(9):1126-1128
- [28] Sawamiphak S, Seidel S, Essmann CL, Wilkinson GA, Pitulescu ME, Acker T, et al. Ephrin-B2 regulates VEGF-R2 function in developmental and tumour angiogenesis[J]. *Nature*, 2010,465(7297):487-491
- [29] 高冬,陈文元,吴立娅,等.血府逐瘀汤诱导内皮细胞促血管新生的基因调控研究[J].*中国中西医结合杂志*, 2010, 30(2):153-156
- Gao D, Chen WY, Wu LY, et al. Effect of xuefu zhuyu decoction in inducing angiogenesis gene regulation of endothelial cell[J]. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine*, 2010, 30(2): 153-156

(上接第 1600 页)

- [27] Krenning G, Dankers PY, Drouven JVV, et al. Endothelial progenitor cell dysfunction in patients with progressive chronic kidney disease [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2009, 296(6):1314-1322
- [28] De Groot K, Bahlmann FH, et al. Uremia causes endothelial progenitor cell deficiency[J]. *Kidney Int*, 2004, 66(2):641-646
- [29] Hasegawa T, Kosaki A, Toyoda N,et al. Amelioration of diabetic peripheral neuropathy by implantation of hematopoietic mononuclear cells in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Exp Neurol*, 2006, 199: 274-280
- [30] Jeong JO, Kim MO, Lee MY, et al. Dual angiogenic and neurotrophic effects of bone marrow-derived endothelial progenitor cells on diabetic neuropathy [J]. *Circulation*, 2009, 119:699-708
- [31] Naruse K, Hamada Y, Nakashima E, et al. Therapeutic neovascularization using cord blood-derived endothelial progenitor cells for diabetic neuropathy [J]. *Diabetes*, 2005, 54 :1823-1828
- [32] Cantas Alev, Masaaki Ii, Takayuki Asahara1.Endothelial Progenitor Cells:A Novel Tool for the Therapy of Ischemic Diseases [J]. *Antioxid. Redox Signal*, 2010, 15:949-965