

血管内皮祖细胞与糖尿病微血管病变研究进展*

李志平 闫爽[△] 姜福丽 鞠佳明 刘思颖 李佳宁 周伟彧

(哈尔滨医科大学第四附属医院 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要:糖尿病微血管病变严重影响了患者生活质量,是患者致死致残主要原因。微血管病变主要表现在视网膜、肾、神经、心肌组织。微血管病变的机制尚未完全清楚,近年越来越多研究发现血管内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)是该病发病重要原因。EPCs 有分化为成熟的内皮细胞并且参与新血管形成和新生的能力。正常情况下内皮损伤和 EPCs 对内皮的修复作用处于动态平衡状态,一旦 EPCs 受损,内皮损伤和修复之间的平衡被打破,内皮层的完整性遭到破坏,必然参与糖尿病血管病变的发生发展。国内外大量研究证明糖尿病合并大血管病变 EPCs 数目功能改变,而糖尿病合并微血管病变 EPCs 的怎样变化?本文就 EPCs 与糖尿病微血管病变的关系进行系统综述。

关键词: 血管内皮祖细胞 糖尿病微血管病变 糖尿病视网膜病变 糖尿病肾病 糖尿病神经病变

中图分类号: R587.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2012)08-1597-04

Advance in Endothelial Progenitor Cells and Diabetic Microangiopathy*

LI Zhi-ping, YAN Shuang[△], JIANG Fu-li, JU Jia-ming, LIU Si-ying, LI Jia-ning, ZHOU Wei-yu

(Endocrinology and Metabolism Department, Forth affiliated Hospital of Medical College of Harbin University, Harbin, 150001, China)

ABSTRACT: Diabetic microangiopathy, which is a main cause leading to death and disability, seriously affected the quality of life in patients. Microvascular disease are mainly expressed in the retina, kidney, nerve, cardiac tissue. Microvascular mechanisms has not entirely clear and in recent years more and more study show that endothelial progenitor cells (endothelial progenitor cells, EPCs) is the important reason related to this diseases. EPCs have the ability to differentiate into mature endothelial cells and participate in the formation and the newborn of the new blood vessels. Normally endothelial damage and the function of EPCs to endothelial repair is in a state of dynamic balance, and once EPCs is damaged, the balance between endothelial damage and restoration is broken, the integrity of the endothelial layer is also compromised, which inevitably involved in the occurrence and development of diabetic angiopathy. Numerous studies at home and abroad prove that diabetes, which is combined to macroangiopathy, lead to the change about the number and function of EPCs. however, how about the changes about the combination of diabetic and microangiopathy EPCs? This article will systematically describes the relations between EPCs and diabetic microvascular disease.

Key words: Endothelial progenitor cells; Microvascular disease; Diabetic retinopathy; Diabetic nephropathy; Diabetic neuropathy

Chinese Library Classification(CLC): R587.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)08-1597-04

骨髓中含有一群能够迁移到外周血并分化为成熟内皮细胞的祖细胞,这些细胞被称为 EPCs。自 1997 年 Asahara^[1]等首次证明出生后循环外周血中存在能分化为血管内皮细胞的前体细胞,即循环 EPCs 后,越来越多的研究结果表明 EPCs 具有维持血管完整性和修复血管内皮的作用且参与生理性和病理性血管形成。糖尿病患者外周血 EPCs 数量明显下降,其增殖能力减弱,迁移能力降低,寿命明显缩短。糖尿病患者早期并发症是内皮细胞损失和功能障碍,内皮细胞修复对血管正常结构和功能起到重要作用,损失内皮修复大部分依赖于局部内皮细胞和循环 EPCs, EPCs 改变在糖尿病血管并发症发生发展起重要作用。本文就 EPCs 与糖尿病微血管病变的关系进行系统综述。

1 EPCs 的分子标志和功能

1.1 当前对 EPCs 的分子标志缺乏统一性

目前普遍认为 CD34、CD14、CD133(AC133)、CD45、VEGFR-2 在早期 EPCs 中表达,晚期 EPCs 表达血管性血友因子(vWF)、内皮性一氧化氮合酶(eNOS)、血管内皮钙素^[2]。另外 EPCs 能吞噬乙酰化低密度脂蛋白、结合植物凝集素,激光共聚焦显微镜下呈双色荧光即为 EPCs。CD34 细胞是唾液酸粘蛋白,是细胞与细胞之间粘附因子,介导干细胞与骨髓胞外基质或者间质的粘附。完全表达造血干细胞,选择性表达于血液细胞、内皮细胞、上皮细胞和癌细胞。随着干细胞的分化,CD34 细胞逐渐失去祖细胞标记特征,开始表达内皮细胞标记特征。

* 基金项目 黑龙江省自然科学基金 D201020 ;黑龙江省卫生厅课题 2010-161

作者简介 李志平(1983-),硕士研究生

[△]通讯作者 闫爽,电话 0451-85939489, E-mail: humyanshuang@yahoo.com.cn

(收稿日期 2011-10-03 接受日期 2011-10-30)

CD133 细胞是胆固醇结合糖蛋白,高选择性表达于造血干细胞。血管内皮生长因子受体 2 (vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR-2) 是血管内皮生长因子酪氨酸蛋白激酶跨膜受体,在造血干细胞也高度表达。

1.2 EPCs 功能

生理状态下外周血中 EPCs 数量很少,在缺氧、动脉粥样硬化、冠状动脉血栓形成、心脏搭桥术后、下肢缺血等状态下,局部组织释放某些细胞因子、趋化因子等促进 EPCs 从骨髓动员入血^[3]。研究发现糖尿病合并下肢缺血患者外周血管内皮生长因子、促红细胞生成素等趋化因子较无下肢缺血患者数量明显增多,前者 EPCs 数目也较后者增多,研究结果表明趋化因子参与了 EPCs 动员^[4]。释放到外周血的 EPCs 迁移到组织缺血或内皮损伤部位,黏附结合到受损血管和生成新生血管过程成为归巢。研究发现 EPCs 参与受损内皮的修复,可能在再内皮化和血管再生中起关键作用。已有研究证实人脐血来源的荧光标记 EPCs 移植入大鼠缺血下肢,14 天后免疫组织学方法观察到缺血组织毛细血管密度增多及血管内皮细胞的标记 EPCs 也增多^[5]。也有研究证实将 EPCs 注入链脲霉素(STZ)诱导的糖尿病大鼠伤口内,结果发现伤口局部角化生长因子和血小板诱导生长因子等增多,毛细血管密度增加^[6]。总之,EPCs 对血管修复过程分为以下几步:1、从骨髓动员到外周血。2、趋化和粘附到成熟血管内皮细胞。3、迁移和毗邻成熟血管内皮细胞。4、分化为成熟血管内皮细胞。5、分泌血管相关因子刺激血管生成和形成。

2 EPCs 与糖尿病微血管并发症

糖尿病最常见的微血管并发症是糖尿病视网膜病变、糖尿病肾病、糖尿病神经病变。

2.1 EPCs 和糖尿病视网膜病变

糖尿病视网膜病变(DR)早期存在周细胞和内皮细胞丧失,高糖环境下周细胞和内皮细胞凋亡加速,内皮细胞凋亡和生成动态平衡打破,细胞结构及血管功能破坏,从而血管的完整性被破坏,表现为血-视网膜屏障破坏,在病理学上表现为视网膜出血、渗出和脱离。近期很多学者发现 EPCs 数目和功能改变对 DR 发生发展起重要作用。Tan^[7]研究证明,健康人外周血 EPCs 能够有效地修复损伤的视网膜血管,而糖尿病患者外周血中 EPCs 功能障碍则不能有效地对损伤血管进行修复。Asn-aghil 等^[8]对 1 型糖尿病不同时期 DR 的患者 EPCs 克隆集落进行计数,结果发现增殖性糖尿病视网膜病变(PDR)患者(15.4 ± 1.7)比无 DR 患者(1.6 ± 0.7)数目增多,健康组集落数目位于两者之间(9.5 ± 2.4);无 PDR 患者的 EPCs 集落数目与血糖具有相关性,而 PDR 患者集落数目与血糖无显著相关性。类似的研究是 Brunners 等^[9]对 90 例伴和不伴 DR 的 1 型糖尿病患者 EPCs 在 DR 不同阶段数量变化进行研究,结果发现轻中度非 PDR 患者外周血 EPCs 数量减少,PDR 患者外周血 EPCs 数量显著升高。同样的,Fadini 等^[10]对 60 名 2 型糖尿病患者合并外周血管疾病(PAD)和 DR 患者分别计数 CD34⁺KDR⁺ 数目,结果发现 DR 患者比 PAD 患者 CD34⁺KDR⁺ 细胞数目增多。Abu El-Asrard 等^[11]按照视神经乳头是否有新生血管形成,将 PDR 分成活动 PDR 组和非活动 PDR 组,利用免疫组织化学方法对

视网膜外层细胞染色,结果发现 CD133⁺ 和 CD14⁺ 细胞位于微血管的血管内皮和基质及血管内,活动 PDR 组比非活动 PDR 组细胞膜的 CD133⁺、VEGFR-2、CD14⁺ 细胞显著增多,表明 CD133⁺ 和 CD14⁺ 可能促进 PDR 视网膜外层血管增生;还发现活动期 PDR 比非活动期 PDR 的细胞和血管表达的 SDF-1 和趋化因子受体 4(CXCR4)均增多,CXCR4⁺CD34⁺ 细胞与血管生成具有显著相关性,这表明 CXCR4/SDF-1 信号通路参与 PDR 生理病理过程。最近国内学者发现,PDR 组、糖尿病组及健康组外周血 EPCs 数目分别为(49 ± 2)、(35 ± 11)、(90 ± 25)个/ml, β 组间差异均有统计学意义($F=56.260$, $P<0.05$),PDR 患者外周血 EPCs 数量与 DR 病程呈正相关($r=0.564$, $P<0.05$)^[12]。随着病程的延长,许多糖尿病患者合并缺血性大血管病变,同时合并不同程度微血管病变,PDR 患者却伴有视网膜血管新生这种现象称为“糖尿病悖论”。EPCs 在 DR 不同时期发病机制中的作用可能不同,非增生期 EPCs 数量减少和功能受损是导致视网膜血管内皮修复障碍的因素之一,增生期 EPCs 数量数目增多但功能障碍形成病理性新生血管。

生长因子对 PDR 的发生扮演重要角色。视网膜多种细胞可分泌生长因子如色素上皮衍生因子、VEGF、血小板生长因子、胰岛素样生长因子-1 等,这些因子刺激视网膜多种细胞成分增生,最终导致新生血管增生。色素上皮衍生因子是一个保护因子,不仅具有神经营养作用,也具有抗血管生成作用,VEGF 和色素上皮衍生因子之间的平衡对调节血管渗漏和新生血管形成具有重要作用。局部血管生长因子的失衡可能是导致视网膜病理性新生导致 PDR 发生。PDR 患者视网膜组织和血液中生长因子增多如血管内皮生长因子、脑源性生长因子(BDNF)、神经营养因子(NGF)、胶质细胞源性神经生长因子(GDNF)、促红细胞生成素(EPO)增多,而非增殖性视网膜病变(NPDR)患者这些生长因子不多。糖尿病患者在内高 VEGF 的刺激下,有功能障碍的 EPCs 增生并迁移到缺血位点形成病理性新生血管。叶健华等^[13]对 106 例 2 型糖尿病患者根据眼底血管荧光造影(FFA)及尿白蛋白排泄率(UAER)结果,将无微量白蛋白尿(MA-)(UAER $< 20 \mu\text{g}/\text{min}$)及视网膜病变的患者定为 A 组,合并 NPDR 患者但 MA- 为 B 组,合并微量白蛋白尿(MA+)及 NPDR 患者为 C 组,健康对照组为 D 组,各组均测定血清 VEGF。结果发现 VEGF 水平 D 组低于 A 组($P<0.05$),A 组低于 B 组,B 组低于 C 组,差异均有统计学意义($P<0.05$);发现糖尿病患者血清 VEGF 水平比健康人高,合并微血管病变患者更高,并随病变程度加重而增高;这表明 VEGF 可能是 PDR 发生和发展的重要因素之一。其他学者也发现类似结果。中山大学柳夏林等^[14]观察 T2DM 患者、DR 患者、PAD 患者、健康者外周 EPCs 和体外培养克隆集落单位数目,并对血清中的神经营养因子进行测定,结果发现 DR 患者循环 CD34⁺/CD133⁺ 细胞数目增多,血清中 NGF、BDNF 水平也增高,并且因子水平同 EPCs 数目呈正相关,视网膜细胞缺氧环境下培养释放 VEGF、NGF、BDNF、GDNF,而这些生长因子在体外可以提高 EPCs 的活性,促进大鼠缺血肢体的血管新生,推测视网膜新生血管生成可能与生长因子的过量生成导致的 EPCs 活化有关。Lee 等^[15]对 45 例 2 型糖尿病患者,其中不伴 DR 15 例,NPDR 15 例,PDR 15 例和 15 例正常人观察各组循环血中 CD34⁺ 单核

细胞、原癌基因(c2Kit) 阳性单核细胞及其调节因子 VEGF、EP-O、P 物质水平,发现在 NPDR 和 PDR 组 CD34+ 单核细胞、c2Kit+ 单核细胞数量明显增加 ($P<0.01$), 调节因子水平升高 ($P<0.05$), 说明循环 EPCs 及其调节因子可能参与了糖尿病视网膜病变的发生。总之,各种生长因子参与了 EPCs 介导的 DR 发生过程。基于以上实验研究,很多学者提出疑问体外移植 EPCs 是否促使 NPDR 向 PDR 发展。但 Losordo^[16]观察了 900 余例接受过治疗性血管新生的糖尿病患者,并未发现 EPCs 移植能增加 DR 的或加重 DR 的进展。

Busik 等^[17]利用 DR 大鼠模型观察发现由于骨髓支配神经病变引起中央钟和外周钟的昼夜节律改变,则骨髓释放到外周血 EPCs 减少导致 EPCs 错过修复最佳时间,另外 EPCs 功能障碍均导致 DR 发生发展。昼夜节律改变本身可引起糖尿病生态环境变化。大鼠钟基因突变而引起内皮血管形成功能障碍和内皮衰老加速及 EPCs 介导的修复功能损伤^[18]。恢复骨髓交感神经支配可以增加骨髓释放到外周 EPCs 数目及改善视网膜血管修复^[19]。使外周钟基因表达正常化有可能是未来预防糖尿病微血管并发症的希望。

2.2 EPCs 和糖尿病肾病

内皮损伤和微循环障碍是糖尿病肾病的早期发病机制,而内皮损伤又与 EPCs 数目和功能障碍密切相关。糖尿病肾病患者早期即存在 EPCs 数量和功能的异常、循环血管的损伤。Makino 等^[20]对 85 例 2 型糖尿病患者分成两组,MA+ 组和 MA- 组,进行 CD34+ 细胞计数,并且确定尿蛋白排泄率(UAER)与细胞数目的关系,结果发现 CD34+ 细胞与 UAER 负相关。并且 CD34+ 细胞少的组 12 月后 UAER 显著增加;而循环 CD34+ 细胞数量较多的患者,UAER 并未明显增加。表明 CD34+ 可能参与肾脏血管生成并且与 DN 进展具有相关性,CD34+ 细胞数目可能是该病的预测因子,可以用于筛查早期 DN。Dessapt 等^[21]对 44 名 T1DM 伴 MA+ 和不伴 MA- 患者进行 CD34+ 和 CD34+/CD133+ 计数,结果发现 MA+ 患者比 MA- 患者 CD34+ 和 CD34+/CD133+ 数目少,并且 MA+ 患者比 MA- 患者细胞克隆集落减少和 VEGF 介导的血管形成减少。EPCs 数量的减少可能是导致肾小球修复障碍和疾病进展的机制之一。

目前对 EPCs 参与肾脏内皮修复的研究很少,机制更不清楚。研究发现干细胞或者祖细胞起源的细胞可以分化成肾小球系膜细胞和肾小管上皮细胞。骨髓起源的单核细胞参与肾脏内皮细胞损伤后修复^[22]。Chade 等^[23]将肾动脉狭窄猪模型移植 EPCs 后,测定肾动脉狭窄程度、肾血流量、估算肾小球滤过率,通过免疫印记和免疫染色方法观察 EPCs 趋化因子及其配体表达情况,他们发现 EPCs 移植后肾动脉狭窄、肾血流量得到改善,肾小球滤过率增加,肾皮质外层毛细血管密度增加。另外,肾动脉狭窄模型的 EPCs 的趋化因子 SDF-1、血管生成素-1、EPO 及其受体表达也增强,他们还发现 EPCs 移植可以改善肾皮质外层肾小球硬化、肾小管间质纤维化和血管周围纤维化,刺激 EPCs 归巢参与肾脏血管修复,对肾脏具有保护作用。这为糖尿病肾病的细胞治疗提供了实验依据。

据统计糖尿病肾病已成为导致慢性肾衰竭的首要因素,占慢性肾衰发病率的 52.3%,糖尿病肾病所致慢性肾衰竭,占透析患者的 36%。Eizawa^[24]、Ueno 等^[25]先后发现等对血液透析患

者进行外周血 EPCs 细胞和体外培养细胞进行计数,结果发现细胞数目分别比健康组减少,血液透析患者克隆集落比健康组减少。同样的, Krenning 等^[26]对 50 名慢性肾脏疾病(CKD)患者 CD14+ 和 CD34+ 细胞计数,并且观察其粘附功能,结果发现 EPCs 数目随着肾功能下降 CD34+ 细胞数目逐渐减少且功能逐渐降低,还发现 EPCs 与尿素氮水平呈负相关,透析能增加 EPCs 数目,但不能改善粘附功能。CD34+ 细胞修复肾小球内皮损伤或者改善 DN 慢性缺血,延缓肾病发展。以上实验进一步证明 EPCs 血液透析患者 EPCs 数目减少且存在功能障碍。EPCs 功能障碍机制尚未明确,De Groot 等^[27]研究肾病患者 EPCs 与肌酐的关系,对 46 名肾病患者和健康组观察 CD34+ 数目,结果发现肾病患者 CD34+ 数目比健康组显著减少 ($P<0.05$),在含肌酐的培养基培养的 EPCs 与对照组相比,EPCs 内皮化和生成血管能力下降,表明肌酐可能抑制 EPCs 内皮化和血管修复作用。

2.3 EPCs 和糖尿病神经病变

糖尿病神经病变(DPN)发病机制尚未完全明确,目前主要是统一机制学说即经典的多元醇途径、糖激化终产物途径、蛋白激酶 C 途径和己糖胺途径等激活,导致血液供应和神经代谢异常。目前关于 EPCs 参与 DPN 发生发展的实验证据不多。

DPN 是高血糖诱导神经微血管损伤引起的神经病变,因此血管新生或者血管修复可能对改善神经病变有利。关于干/祖细胞治疗 DPN 的研究已有很多。Hasegawa 等^[28]研究发现糖尿病导致运动神经传导速度和血供分别下降 20%、50%。 ($P<0.01$) 将外周血单核细胞(PBMNCs)和骨髓单核细胞(BMMNCs)移植入 STZ 诱导的糖尿病大鼠后肢骨骼肌,第四周后发现 PMMNCs、BMMNCs 分别提高运动神经速度 54%、67% ($P<0.01$)。移植入两种干细胞后血供均有改善。予 VEGF 中和抗体治疗后 8 周的大鼠坐骨神经血供减少了 80%。表明 VEGF 促进干细胞对神经的治疗作用。细胞治疗可能是神经病变治疗新方法。Jeong 等^[29]试验中也证实了骨髓来源的 EPCs 能改善糖尿病神经病变的各种症状,他们发现 STZ 所致糖尿病大鼠坐骨神经的感觉和运动神经传导速度、血流以及毛细血管密度均下降,给下肢局部注射骨髓来源 EPCs 后可恢复至正常水平。他们用红色荧光染色标记示踪 EPCs,神经滋养血管激光多普勒灌注显像显影坐骨神经滋养血管的灌注情况,观察到注射的 EPCs 可优先、经久地进入坐骨神经,而且植入的 EPCs 部分局限在靠近神经滋养血管部位,另有少部分 EPCs 与内皮细胞共存。他们通过定量逆转录聚合酶链反应在 mRNA 和蛋白质水平发现经注射 EPCs 神经的多种血管生成因子和神经营养因子明显增加,后者被证实是 EPCs 培养基培养的内皮细胞与雪旺细胞(一种神经胶质细胞)增殖力增高的原因。从而说明了 EPCs 的这种血管生成和神经营养双重效应。Naruse 等^[30]研究者采用人体 EPCs 移植到糖尿病大鼠后肢,用盐水注入对侧后肢和非糖尿病大鼠后肢做为对照组,研究发现 EPCs 可以改善坐骨神经传导速度和血流。他们还发现,向糖尿病大鼠下肢注入骨髓来源的 EPCs,感觉和运动神经传导速度和血流、微血管密度都得到改善。尽管 EPCs 对于神经滋养血管和神经功能作用的具体机制有待进一步阐明,但可以肯定的是 EPCs 的异常与糖尿病神经病变的发病有关。糖尿病足发病原因是血管和神经病变共同

引起的。Alev 等^[11]将 CD34 细胞移植入一名 36 岁男性糖尿病患者的下肢 3 月后溃疡显著改善, 血流增多, 1 年内足溃疡复发率降低, 趾压力指数、总步行距离、无疼痛步行距离等都得到改善。这个实验不是随机对照实验, 将来还需要大规模临床实验进行评估。

3 问题和展望

EPCs 参与出生后器官和组织的血管新生以及受损血管的修复, 对维持血管壁的完整性起着重要的作用, 在糖尿病的早期阻止血管并发症的发生非常必要。EPCs 治疗糖尿病血管并发症将成为一个新的治疗靶点。虽然对 EPCs 已经有大量研究, 对其有较为系统的了解, 但仍存在很多有争议的问题。EPCs 的定义和表型没有完全明确, 分离并纯化 EPCs 还有一定难度。EPCs 的细胞治疗大部分停留在动物实验, EPCs 移植的安全性、靶向性、效应性还不明确。将 EPCs 细胞治疗预防糖尿病血管并发症还需要更多的基础研究。

参考文献(References)

- [1] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis [J]. Science, 1997, 275:964-967
- [2] Peiche M, Naiyer AJ, Perira D, et al. Expression of VEGFR-2 and AC-133 by circulating human CD34(+) cells identifies a populational endothelial precursors [J]. Blood, 2000, 95 (3):952-958
- [3] Takahashi T, Kalka C, Masuda H, et al. Ischemia-and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization [J]. Nat Med, 1999, 5(4):434-438
- [4] Chen MC, Sheu JJ, Wang PW, et al. Complications impaired endothelial progenitor cell function in Type 2 diabetic patients with or without critical limb ischaemia implication for impaired neovascularization in diabetes [J]. Diabet Med, 2009, 26(2):134-141
- [5] Takahashi T, Kalka C, Masuda H, et al. Ischemia-and cytokine-induced mobilization of bone-marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization [J]. Nature Medicine, 1999, 5:434-438
- [6] Ji Yeon Kim, Sun-Hwa Song, Kyoung Li Kim, et al. Human cord blood-derived endothelial progenitor cells and their conditioned media exhibit therapeutic equivalence for diabetic wound healing [J]. Cell Transplantation, 2010, 19:1635-1644
- [7] Tan K, Lessieur E, Cutler A, et al. Impaired function of circulating CD34 (+)CD45 (-) cells in patients with proliferative diabetic retinopathy [J]. Exp Eye Res, 2010, 91: 229-237
- [8] Asnaghi V, Lattanzio R, Mazzolari G, et al. Increased clonogenic potential of circulating endothelial progenitor cells in patients with type 1 diabetes and proliferative retinopathy [J]. Diabetologia, 2006, 49(5): 1109-1111
- [9] Brunner S, Scherthaner GH, Satler M, et al. Correlation of different circulating endothelial progenitor cells to stages of diabetic retinopathy: first in vivo data [J]. Invest Ophthalmol VisSci, 2009, 50:392-398
- [10] Fadini GP, Sartore S, Baesso I, et al. Endothelial progenitor cells and the diabetic paradox [J]. Diabetes Care, 2006, 29(3):714-716
- [11] Abu El-Asra AM, Struyf S, Versbeke H, et al. Circulating bone-marrow-derived endothelial precursor cells contribute to neovascularization in diabetic epiretinal membranes [J]. Acta Ophthalmol, 2011, 89(3):222-228
- [12] 张惟, 韩琪, 陈松, 等. 增生型糖尿病视网膜病变患者内皮祖细胞的数量变化及意义 [J]. 中华眼底病杂志, 2011, 27(3):218-221
- [13] Zhang Wei, Han Qi, Chen Song, et al. Quantitative analysis of endothelial progenitor cells in the peripheral blood of patients with proliferative diabetic retinopathy [J]. Chinese Journal of Ocular Fundus Diseases, 2011, 27(3): 218-221
- [14] 叶健华, 马承红, 周斌兵, 等. 血管内皮生长因子在早期糖尿病微血管病变中的变化及意义 [J]. 广东药学院学报, 2006, 2(22): 197-198
- [15] Ye Jian-hua, Ma Cheng-hong, Zhou Bin-bing, et al. The change and significance of serum vascular endothelial growth factor level in the patients with diabetic microvascular complication [J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical College, 2006, 2(22): 197-198
- [16] Liu XL, Li Y, Liu Y, et al. Endothelial progenitor cells (EPCs) mobilized and activated by neurotrophic factors may contribute to pathologic neovascularization in diabetic retinopathy [J]. Am J Pathol, 2010, 176(1): 504-515
- [17] Lee IG, Chae SL, Kim JC. Involvement of circulating endothelial progenitor cells and vasculogenic factors in the pathogenesis of diabetic retinopathy [J]. Eye, 2007, 21(6):838-839
- [18] Losordo WD, Di mmeler S. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for ischemic disease. Part 2: cell based therapies [J]. Circulation, 2004, 109:2692-2697
- [19] Busik JV, Tikhonenko M, Bhatwadekar A, et al. Diabetic retinopathy is associated with bone marrow neuropathy and a depressed peripheral clock [J]. J Exp Med, 2009, 206(13):2897-2906
- [20] Wang CY, Wen MS, Wang HW, et al. Increased vascular senescence and impaired endothelial progenitor cell function mediated by mutation of circadian gene Per2 [J]. Circulation, 2008, 118:2166-2173
- [21] Thomas HE, Redgrave R, Cunningham MS, et al. Circulating endothelial progenitor cells exhibit diurnal variation [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28(3):21-22
- [22] Makino H, Okada S, Nagumo A, et al. Decreased circulating CD34 cells associated with progression of diabetic nephropathy [J]. Diabet Med, 2009, 26(2):171-173
- [23] Dessapt C, Karalliedde J, Hernandez-Fuentes Martin PP, et al. Circulating vascular progenitor cells in patient with type 1 diabetes and microalbuminuria [J]. Diabetes care, 2010, 33(4): 875-877
- [24] Ikarashi K, Suwa M, Kawamura K, et al. Bone marrow cells contribute to regeneration of damaged glomerular endothelial cells [J]. Kidney Int, 2005, 67:1925-1933
- [25] Chade AR, Zhu XY, Krier JD, et al. Endothelial progenitor cells homing and renal repair in experimental renovascular disease [J]. Stem Cells, 2010, 28(6):1039-1047
- [26] Eizawa T, Murakami Y, Matsui K, et al. Circulating endothelial progenitor cells are reduced in hemodialysis patients [J]. Curr Med Res Opin, 2003, 19:627-633
- [27] Kwon O, Miller S, Li N, Khan A, et al. Diabetic retinopathy is associated with bone marrow neuropathy and a depressed peripheral clock [J]. J Histochem Cytochem, 2010, 58(8):687-694
- [28] Ueno H, Koyama H, Fukumoto S, et al. Dialysis modality is indently associated with circulating endothelial progenitor cells in End-stage renal disease patients [J]. Nephrol Dial Transplant, 2010, 25 (2): 581-56

(下转第 1579 页)

- 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