值[J]. 社区医学杂志,2011,9(20):17 - 19.
[13] 赵 明,徐 欣. B 超在神经外科手术中实时定位的应用[J]. 医药论坛杂志,2005,26(12):20 - 21.
[14] 张 华,汤 数,赵 杰,等. 术中超声在显微神经外科手术中的应用[J]. 中国微侵袭神经外科杂志,2010,15(7):298 - 300.
[15] 侯永宏,刘运生,袁贤瑞,等. 移动式 CT 在神经外科手术中的应用[J]. 中华神经外科杂志,2005,21(4):224 - 226.
[16] 邬文敏. 经桡动脉穿刺介入治疗冠心病的疗效及安全性分析[J]. 大家健康(学术版),2015,9(10):127 - 128.
[17] 高建华,戴汝平,孙宪昶,等. 64 层螺旋 CT 冠状动脉成像与冠状动脉造影对照初步研究[J]. 实用放射学杂志,2007,23(2):165 - 168.
[18] 仇昌智,陆永光,黄军章,等. 浅谈经桡动脉途径介入诊断与治疗冠心病的进展[J]. 中国现代药物应用,2015,9(14):270 - 272.
[19] 陈春林. 数字化三维重建技术在妇科疑难手术中的应用及展望[J]. 中国实用妇科与产科杂志,2012,28(1):15 - 19.
[20] 张 余,马立敏,尹庆水,等. 数字技术在骨肿瘤外科的应用临床数字骨科(三)[J]. 中国骨科临床与基础研究杂志,2012,4(1):68 - 72.

(编辑:刘 艺)

治疗性血管化策略研究进展

鲍小刚,许国华 (上海长征医院骨科医院脊柱二科,上海 200003)

Advances in therapeutic vascularization

BAO Xiao-gang, XU Guo-hua (Second Department of Spinal Surgery, Orthorpaedic Hospital, Shanghai Changzheng Hospital, Shanghai 200003, China)

[**关键词**] 组织再生;血管新生;移植;治疗;细胞
[**中图分类号**] R318.5 [**文献标识码**] A [**文章编号**] 1672-5042(2016)02-0131-05

由于疾病、创伤等导致我国每年都有成千上万人的器官功能衰竭或缺失,但可利用供体严重短缺,移植仅仅是解决小部分问题。目前本课题组从事大段骨缺损修复研究的瓶颈在于组织工程骨的活化,即成骨的同时建立一套早期、稳定的血管系统。只有实现缺损处骨移植体的快速血管化,才能发生骨生成,使修复继续进行,进而最终达到移植体与自体骨的融合。治疗性血管生成策略能辅助组织工程技术制造出可移植的组织、器官替代物而实现组织、器官再生。虽然十几年来治疗性血管生成策略取得了一系列成绩,但是在组织工程骨中创造一种仿生机体的功能性血管系统依然是骨组织工程和再生医学的一个主要瓶颈。本文旨在阐述目前组织工程和再生医学中治疗性血管化研究的新思路,并从生物组织三要素,即细胞、细胞外基质和信号系统的角度分析相关细胞分子学机制,以寻找治疗性血管化策略的新契机,为解决临床大段骨缺损修复难题提供启示。

1 新血管发生的背景

1.1 血管形成和血管生成

以往认为出生后机体只存在芽生式血管形成机制,但其实也存在胚胎时期血管生成机制,而且后者在人体损伤修复中也发挥了重要作用[1]。目前,关于治疗性血管生成策略的研究主要集中于血管形成,但逐步倾向于兼顾血管形成和血管生成这 2 种机制。特别是机体患有糖尿病、高脂血症等,他们的血管内皮细胞功能往往受损,内皮细胞对血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等促血管生成刺激反应低下。这种情况下,积极考虑血管生成机制,提供内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)直接分化为原位血管可能是更有意义的方法。此外,VEGF 与肿瘤的生长和转移,以及视网膜病和各种促炎性疾病密切相关。因此,当患者合并这些疾病时,芽生式血管形成能力有限,有理由相信 EPCs 提供原位的血管生成是更好的细胞选择[1]。

无论是血管形成还是血管生成机制,VEGF 都是最重要的"配体"之一。最近发现 VEGFR-2 在转录后修饰中生成的一种高度动态的、复杂的信号系统中扮演核心角色,影响内皮细胞分化、增殖、迁移和渗透性。而且这种机制可能为其他常见系统的基本生理过程提

doi:10.11659/jjssx.07E015119
[**基金项目**] 国家自然科学基金(81271954);上海市科委课题(12QH1402700)
[**通信作者**] 许国华,E-mail:xuguohuamail@163.com
[**收稿日期**] 2015-11-03 [**修回日期**] 2015-11-23

供了独特见解,如组织分支形态发生、力传导和管型形成[2]。

1.2 血管发生的转型期

血管出芽期间,所有功能血管腔需要形成一个特定管腔建立血流。大多数多细胞血管流腔形成经历许多分散相的转型期。

1.2.1 内皮细胞(endothelial cells,EC)极化 PAR3 是细胞极性的一个关键决定因素,已知能影响上皮流腔形成并参与体外血管管形形成。血管流腔形态发生的第一阶段似乎涉及 PAR3 介导 ECs 获得底侧极性和交叉蛋白从顶端 EC 表面到血管索边缘的横向再分配[3]。此外 β1-integrin 与基质在 EC 基底表面相互作用建立了 EC 极性。血管特异表达 RASIP1 调节 RHO-GTPase 活性并通过激活 integrins 改变横向交叉蛋白和控制 PAR3 定位。因此,正确获得底侧极性和 EC-EC 连接的空间再分布将启动流腔形成[4]。

1.2.2 募集关键蛋白因子 一旦 EC 极性建立,最初处在 EC-EC 连接点的 CD34 和细胞标记蛋白 PODXL 被募集到顶端膜。β1-integrin and VE-cadherin 均调节顶端表面 PODXL 聚集,这对体内流腔形成非常重要[5]。因此获得 ECs 底侧极性似乎在某种程度上能机械性分离管型形成的重要成分。

1.2.3 管腔扩展 血管腔扩增可能由 VEGFA 信号促进非肌球蛋白Ⅱ募集到顶面,诱导形变有助于形成流腔。血管缺乏 β1-integrin 基因会累积了大量胞内囊泡,提示囊泡运输可能有助于流腔扩增。Blum 等[6]通过活体成像研究演示了斑马鱼 ISV 管型形成,提示细胞内液泡的聚结和融合,组装成 EC 流腔。并表明 ISV 流腔形成是细胞外主要形式,符合小鼠体内研究[4]。

2 治疗性血管化系统

2.1 自体血管

自体血管有:①带蒂皮瓣。自 1969 年 McLean 等开展了第一例微血管组织移植起,游离皮瓣已经彻底改变了整形外科手术,因为其比其他皮瓣更通用、更可靠。近年的穿支皮瓣更是提高了皮瓣作为重建选择的应用性[7]。②带蒂筋膜瓣。兼有血管化、膜引导作用而在愈合速度及强度上具有明显的优势[8]。③血管束。血管束移植为组织修复靶位提供了良好血运。Lokmic 等[9-10]自主开发了动静脉回路处在非折叠的聚碳酸酯室中的一个模型,旨在为移植细胞的存活提供适宜的血管化环境提供了刺激因素和良好生长环境。此类动静脉环路血管生成是在增加的血流剪切力和壁张力下诱导发生的。

2.2 人工血管

移植物新血管生成一般发生于移植后 3 ~ 4 周,组织便可以由侧支循环提供血流量。小径血管因为容易血栓,其价值在于为移植组织形成一个临时血管蒂,而不起永久作用。目前人工血管研究主要集中于静电纺丝制备超细纤维多孔支架,精密加工制备有利于细胞向内迁移的大孔支架,以及人工血管表面修饰、促内皮细胞黏附修饰和抗凝血修饰[11]。

2.3 原位血管

扩散的最长毛细血管间距离是 100 ~ 200 μm,加上生物组织的复杂性,要达到原位形成组织结构良好的新血管,血管在原位再生比体外再生似乎是更可行的,即利用生物材料在体内生长自体的细胞和血管系统。目前,原位组织工程生成的血管多没有足够的力学性能,通常需要术前细胞操作或者使用生物反应器来提高性能。Wang 等[12]利用支架材料和原位细胞化技术,不但提高了管壁弹性,同时也促进了自体组织的更新。其中可降解支架较非降解支架可能在改善内膜增生和周围细胞长入有一定优势。Su 等[13]复合组织工程和配体 - 受体靶向策略,开发了一种生物降解的聚氨基甲酸乙酯多功能靶位纳米粒支架系统。该系统能显著减少血管损伤处新生内膜的增生,降低血栓形成,同时达到促进内皮再生长达 21 d。此外,去细胞支架具备了良好的天然细胞外基质性能,预植 ECs 的去细胞血管支架能替代机体血管。Dall' Olmo 等[14]报道复合去细胞支架和 ECs,1 个月达到充分内皮化,3 个月时与自体血管无异。目前仅有体外皮肤、软骨组织工程应用于临床。Kageyama 等[15]利用原位交联水凝胶和电化学细胞转移,可能达到细胞组装为组织结构性和充分血管化,从而避免了缺氧损伤。提示我们对于复杂且较厚的组织,应考虑到快速构建可灌注血管系统。原位血管系统可以在组织再生之前、期间、之后构建,相对于人工血管和自体血管移植,最佳的选择可能是在需要血管的部位再生血管。

3 治疗性血管化的种子细胞

3.1 内皮细胞

几乎所有为促进血管生成所采取的方法,它们都直接或间接包含了 ECs。此外,基于种植的 ECs 可以与宿主 ECs、脉管系统相互作用的原理,ECs 可以被用来构建形成更快的血管网。利用 EC 移植构建脉管系

统的第一手资料是 Holder 提供的[16]。成熟的 ECs 来源广泛,然而低的利用效果和增殖能力是这些细胞的主要缺点。此外,大血管中的老化状态的 ECs 降低了对血管生成因子的适宜响应;不同组织中的成熟 ECs 展现了显著异质性的表型和基因型,这些差异性可能产生不同反映效果。

3.2 内皮祖细胞

EPCs 是另一种有利于组织工程预血管化方法的自体 ECs 源。EPCs 表达量较低,但可以在培养基中扩增 1 000 多倍,而成熟 ECs 在扩增 30 倍后就开始衰老。通常将分离培养 4 ~ 7 d 的称为早期 EPCs,其有内皮细胞和单核细胞的特性,表现出扩增能力受限;相反,培养 2 ~ 3 周后成为熟知的 OECs,表现为鹅卵石样形态和长期增殖潜能是晚期 EPCs,两 EPCs 亚群在新血管生成时有协同效应[17]。EPCs 作为自体 ECs 源越来越受到组织工程预血管化研究的青睐。当涉及上述的个体差异性时,促血管生成因子的促芽生效果不好或有明显副作用,此时突显出 EPCs 能提供新的 ECs 源发生原位血管生成的优势[18]。复合细胞和生物可降解基质或者促生长因子保护移植细胞的存活力凸显出巨大前景。EPCs 源性血管与机体循环系统吻合,已经被小鼠红细胞的存在于人 CD31 阳性血管管腔证实。最适密度 EPC 种植的支架获得一个更均匀分布的血管。当与其他细胞共同移植,EPC 依然具备加速血管形成能力。体外扩增 EPCs 过多,会降低它们体内新生血管潜力[19-20]。

4 基质对治疗性血管化的影响

4.1 基质指导微血管的生长并提供重要微环境

基质是由驻留的组织支持细胞的细胞外基质和微脉管系统组成的。细胞外基质组成极其复杂,不仅决定细胞的形态,而且还控制细胞的黏附、迁移、增殖与分化,为维护体外和体内的细胞生长提供重要微环境。此外,ECM 的降解产物也有生物活性[21]。

芽生式血管生成期间,基质和薄壁组织广泛输入信号刺激新血管生长。新血管与细胞外基质间有重要的互惠作用,新血管积极重塑细胞外基质,反过来导致细胞外基质变形,又反过来影响新血管生长和形态。MMPs 在新血管活跃生长的晚期被抑制或者发生了一些其他生物学过程抵消了基质降解,导致芽生生成后期基质硬度变大。因此,作为生物力学环境的细胞基质,不是一个简单的新血管必须穿行的被动结构,更是新血管生长和穿行的间接决定者[22]。

内皮细胞形成血管时,每个细胞都是一个局部生成牵引力场的中心。这种行为最终重塑 ECM 并导致细胞迁移、细胞骨架重组、并组装临近内皮细胞形成索条状和管样结构网。内皮细胞间连接被认为对传递收缩应力发挥重要作用,并产生了一种机械平衡结构(索条)[23]。

4.2 微血管网拓扑结构受基质变形的影响

在成年,为补充现存微血管循环,芽生血管生成形成新的扩增微血管系统。基质应力控制新微循环的最终血管解剖形态,包括小动脉、毛细血管、小静脉等分布[24]。

新血管将扩展到新排列区域同时胶原纤维将会在下一区域进行排列,沿着新血管生长方向基质压缩显著减少临近纤维变形,因此延迟变化的方向没有更积极的改造活动。基质顺应性和物理限制的差异可能解释或部分解释不同血管拓扑结构如何产生于不同特异性组织。新血管能够调节纤维基质变形的程度,决定了新血管尖端生长的方向,甚至可能决定新分叉点的产生。在较硬、较少变形基质中新血管能够排列在较小纤维区域有效阻滞新血管活动。相反,一个新血管能够在高度变形基质中创造大的排列纤维区域从而能够改变定向和分叉[25]。

4.3 血管链接

一般认为新血管朝向较高浓度促血管生长因子生长或者远离排斥因子。一种活性新血管如何能定位并朝着另一种活性新血管生长形成两者吻合,2 种新血管可能偶然相向生长,不能仅仅用生长因子梯度解释。此外,2 根新血管能够顺着一种共享胶原纤维轨道在中间会合。有理由相信,新生血管之前有着更大纤维排列区域,可引起更大的基质可变性,使得更多区域重叠,继而促进了更多新血管连接。芽生期间生长中的新生血管必须相互结合才能有效的扩充组织微血管循环[26-27]。近来有证据表明,生长的新生血管在三维基质空间中感应应变场而不是应力场,这种感应也影响微血管网络拓扑结构。如何整合这些不同分子和周围环境物理刺激产生一套有效的微循环仍然有待了解。基质是一种复杂的整合了粘弹性基质和许多细胞,创造了一种动态环境需要大量的生物化学或生物分子刺激及生物力学影响。就是在这种复杂环境发生了芽生式血管生成[27]。目前关于新生血管生成的诱因的研究很少、很困难,但我们必须重视实施诱导作用促进血管化[28]。

5 Notch 信号通路调控血管发生

5.1 Notch 信号调控 ECs 分化和血管分支

ECs 表达多种 Notch 受体和跨膜的 Notch 配体,近期研究证明 Notch 信号在芽生式血管生成期间在“TC”和“SC”命运决定方面有着重要作用。在小鼠和斑马鱼身上的相关研究表明:表达在“TC”的 DLL4 激活临近“SCs”Notch 信号,产生横向抑制“TCs”命运和维持芽出 ECs 结构组织性。VEGFA-VEGFR2 信号促进“TCs”中 DLL4 表达。因此,那些接受了最高水平 VEGF 信号的 ECs 将被选择为“TCs”,然而,临近细胞“TCs”命运被抑制[29-30]。

DLL4-Notch 信号在抑制“TCs”特化性方面,不仅是生理血管形成的关键,也控制肿瘤血管芽生生成。肿瘤是高度血管化,依赖抗体介导减少 DLL4-Notch 相互作用。之前,DLL4 被认为是抗癌治疗的一项有前景目标。然而,近期研究表明慢性 DLL4 阻滞可能诱发血管肿瘤。DLL4-Notch 信号通过负性调节 VEGFR 信号有效的抑制“TCs”命运。尤其,Notch 激活抑制 VEGFR2 功能和阻断“SCs”中 FLT4 表达,结果减少了他们对 VEGF 介导的“TCs”诱导信号的应答[29-31]。例如,FLT4 表达于斑马鱼通常被局限于内皮“TCs”,但是缺少 Notch 信号情况下 FLT4 广泛表达于“SC”域,结果 TC 形成增加。相反,Notch 信号正调节 FLT1 表达,敲减斑马鱼 FLT1 促进“TC”形成增加和血管高度分叉[32]。

最近数据表明体外芽生式血管出芽和斑马鱼头部血管出芽期间 ECs 能在“TC”和“SC”之间快速转变[32]。此外,sFLT1 表达于 ECs 毗邻“TCs”,近期研究表明其具有作为空间信号指导新血管生成芽远离父管[32]。因为“TC”和“SC”命运可能有几分可塑性而不是牢牢地固定。DLL4-Notch 信号控制 TC 特化性,与 D 果蝇上皮气管分支及神经轴突形成的分子机制有着显著的相似之处。特异 ECs Jagged 1 敲除,小鼠的视网膜血管中“TC”形成和血管芽生被严重破坏[33]。

5.2 影响“TC”和“SC”表达的“新星”

体外 EC 芽出实验和斑马鱼中芽生血管生成,可因 TEL 敲减而破坏,这种效应与 DLL4 表达增加有关[34]。尤其,研究表明 CXC 趋化因子受体 4(CXCR4)对“TC”行为有着重要作用以及影响 APJ 内源性配体(APELIN)在“SC”中的功能[35]。近期关于芽生式血管生成研究也点亮了在不同的细胞环境控制 Notch 信号的基本机制。例如:WNT-β-catenin 通路正调节血管系统中 DLL4 表达。DLL4-Notch 相互作用能够反馈激活“SCs”中的 WNT 信号以维持 EC-EC 连接[36]。

Notch 信号诱导 WNT 调节基因 NRARP 蛋白促进血管稳定。因此,小鼠或者斑马鱼中 Nrarp 丢失将引起异位血管退化并降低 WNT 介导的血管稳定性。因此,Notch 和 WNT 信号间功能的相互作用对血管发展非常重要[37]。乙酰化作用于 Notch1 胞内域降低了其失误,可增强了 Notch 信号通路[38]。ECs 中 SIRT1 脱乙酰基 NICD 对抗其乙酰化介导的稳定性。SIRT1 作为 Notch 信号一个潜在的通用调节器,可能对许多组织细胞命运的决定起着重要作用[39]。

6 总结

虽然治疗性血管化研究取得了傲人成绩,其中原位血管再生方法凸现出巨大前景,但就骨组织工程而言,可靠的治疗性血管化方法尚未实现。血管发生某种程度上受基因控制,促血管生成因子作为血管生成的“配体”的作用存在个体差异性,应该多发挥内皮祖细胞(EPCs)等作为“供体”的优势。此外,必需考虑到生物组织的复杂性,努力创造一种整合基质、细胞、分子信号等新微生理学系统,才能真正解决临床复杂骨组织的修复难题。计算机技术的发展,为我们开发仿生血管发生、发育所期望的刺激和生长条件的智能生物支架提供了巨大支持。

[参考文献]

[1] Balaji S, King A, Crombleholme T M, et al. The role of endothelial progenitor cells in postnatal vasculogenesis: implications for therapeutic neovascularization and wound healing[J]. Adv Wound Care (New Rochelle), 2013, 2(6): 283 – 295.

[2] Rahimi N, Costello CE. Emerging roles of post-translational modifications in signal transduction and angiogenesis[J]. Proteomics, 2015, 15(2-3): 300 – 309.

[3] Zovein AC, Luque A, Turlo KA, et al. Beta1 integrin establishes endothelial cell polarity and arteriolar lumen formation via a Par3-dependent mechanism[J]. Dev Cell, 2010, 18(1): 39 – 51.

[4] Xu K, Chong DC, Rankin SA, et al. Rasip1 is required for endothelial cell motility, angiogenesis and vessel formation[J]. Dev Biol, 2009, 329(2): 269 – 279.

[5] Giannotta M, Trani M, Dejana E. VE-cadherin and endothelial adherens junctions: active guardians of vascular integrity[J]. Dev Cell, 2013, 26(5): 441 – 454.

[6] Blum Y, Belting HG, Affolter, et al. Complex cell rearrangements during intersegmental vessel sprouting and vessel fusion in the zebrafish embryo[J]. Dev Biol, 2008, 316(2): 312 – 322.

[7] Ahmad QG, Shankhdhar VK. Novel flaps for head and neck reconstruc-

tion[J]. Indian J Surg Oncol,2010,1(2):120 – 124.

[8] 王海波,杨新明,赵御森. 带蒂筋膜瓣的稳定性对其促超临界骨缺损成骨作用影响的实验研究[J]. 安徽医科大学学报,2013(9):1044 – 1048.

[9] Lokmic Z, Stillaert F, Morrison WA, et al. An arteriovenous loop in a protected space generates a permanent, highly vascular, tissue-engineered construct[J]. FASEB J,2007,21(2):511 – 522.

[10] Lokmic Z, Thomas JL, Morrison WA, et al. An endogenously deposited fibrin scaffold determines construct size in the surgically created arteriovenous loop chamber model of tissue engineering[J]. J Vasc Surg, 2008,48(4):974 – 985.

[11] Duan HY, Ye L, Wu X, et al. The in vivo characterization of electrospun heparin-bonded polycaprolactone in small-diameter vascular reconstruction[J]. Vascular,2015,23(4):358 – 365.

[12] Wang F, Mohammed A, Li C, et al. Degradable/non-degradable polymer composites for in-situ tissue engineering small diameter vascular prosthesis application[J]. Biomed Mater Eng,2014,24(6):2127 – 2133.

[13] Su LC, Xu H, Tran RT, et al. In situ re-endothelialization via multifunctional nanoscaffolds[J]. ACS Nano, 2014, 8(10): 10826 – 10836.

[14] Dall'Olmo L, Zanusso I, Di LR, et al. Blood vessel-derived acellular matrix for vascular graft application[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014(3):1439.

[15] Kageyama T, Kakegawa T, Osaki T, et al. Rapid engineering of endothelial cell-lined vascular-like structures in in situ crosslinkable hydrogels[J]. Biofabrication,2014,6(2):025006.

[16] Holder WD Jr, Gruber HE, Moore AL, et al. Cellular ingrowth and thickness changes in poly-L-lactide and polyglycolide matrices implanted subcutaneously in the rat[J]. Biomed Mater Res,1998,41(3): 412 – 421.

[17] Zisch AH. Tissue engineering of angiogenesis with autologous endothelial progenitor cells[J]. Curr Opin Biotechnol,2004,15(5):424 – 429.

[18] Annex BH. Therapeutic angiogenesis for critical limb ischaemia[J]. Nat Rev Cardiol,2013,10(7):387 – 396.

[19] Nemeno-Guanzon JG, Lee S, Berg JR, et al. Trends in tissue engineering for blood vessels[J]. J Biomed Biotechnol,2012:956345.

[20] Seebach C, Henrich D, Kahling C, et al. Endothelial progenitor cells and mesenchymal stem cells seeded onto beta-TCP granules enhance early vascularization and bone healing in a critical-sized bone defect in rats[J]. Tissue Eng Part A,2010,16(6):1961 – 1970.

[21] Mettouchi A. The role of extracellular matrix in vascular branching morphogenesis[J]. Cell Adh Miqr,2012,6(6):528 – 534.

[22] Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis[J]. Nature,2011,473(7347):298 – 307.

[23] Leslie-Barbick JE, Shen C, Chen C, et al. Micron-scale spatially patterned, covalently immobilized vascular endothelial growth factor on hydrogels accelerates endothelial tubulogenesis and increases cellular angiogenic responses[J]. Tissue Eng Part A,2011,17(1-2):221 – 229.

[24] Chang CC, Krishnan L, Nunes SS, et al. Determinants of microvascular network topologies in implanted neovasculatures[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2012,32(1):5 – 14.

[25] Hoying JB, Utzinqer U, Weiss JA. Formation of microvascular networks: role of stromal interactions directing angiogenic growth[J]. Microcirculation,2014,21(4):278 – 289

[26] Raimondi C, Ruhrberg C. Neuropilin signalling in vessels, neurons and tumours[J]. Semin Cell Dev Biol,2013,24(3):172 – 178

[27] Chauvet S, Burk K, Mann F. Navigation rules for vessels and neurons: cooperative signaling between VEGF and neural guidance cues[J]. Cell Mol Life Sci,2013,70(10):1685 – 1703.

[28] Anisi F, Salehi-Nik N, Amoabediny G, et al. Applying shear stress to endothelial cells in a new perfusion chamber: hydrodynamic analysis[J]. J Artif Organs,2014,17(4):329 – 336.

[29] Zhang P, Yan XC, Chen Y, et al. Notch signaling in blood vessels: from morphogenesis to homeostasis[J]. Sci China Life Sci,2014,57(8): 774 – 780.

[30] Jakobsson L, Bentley K, Gerhardt H. VEGFRs and Notch: a dynamic collaboration in vascular patterning[J]. Biochem Soc Trans, 2009, 37(6):1233 – 1236.

[31] Liebler SS, Feldner A, Adam MG, et al. No evidence for a functional role of bi-directional Notch signaling during angiogenesis[J]. PloS one,2012,7(12):e53074.

[32] Krueger J, Liu D, Scholz K, et al. Flt1 acts as a negative regulator of tip cell formation and branching morphogenesis in the zebrafish embryo[J]. Development,2011,138(10):2111 – 2120.

[33] Yu PC, Du JL. Transient receptor potential canonical channels in angiogenesis and axon guidance[J]. Cell Mol Life Sci,2011,68(23): 3815 – 3821.

[34] Roukens MG, Alloul-Ramdhani M, Baan B, et al. Control of endothelial sprouting by a Tel-CtBP complex[J]. Nat Cell Biol,2010,12(10): 933 – 942.

[35] Strasser GA, Kaminker JS, Tessier-Lavigne M. Microarray analysis of retinal endothelial tip cells identifies CXCR4 as a mediator of tip cell morphology and branching[J]. Blood,2010,115(24):5102 – 5110.

[36] Corada M, Nyqvist D, Orsenigo F, et al. The Wnt/beta-catenin pathway modulates vascular remodeling and specification by upregulating Dll4/Notch signaling[J]. Dev Cell,2010,18(6):938 – 949.

[37] Reis M, Liebner S. Wnt signaling in the vasculature[J]. Exp Cell Res, 2013,319(9):1317 – 1323.

[38] Guarani V, Deflorian G, Franco CA, et al. Acetylation-dependent regulation of endothelial Notch signalling by the SIRT1 deacetylase[J]. Nature,2011,473(7346):234 – 238.

[39] Zu Y, Liu L, Lee MY, et al. SIRT1 promotes proliferation and prevents senescence through targeting LKB1 in primary porcine aortic endothelial cells[J]. Circ Res,2010,106(8):1384 – 1393

(编辑:杨 颖)