

间充质细胞外泌体促进小鼠胰岛内皮细胞血管生成的研究

陈俊秋^{1,3} 陈津^{1,2,3} 黄梁浒^{1,3} 赵红州¹ 付云烽¹ 林娜¹ 朱凌峰¹ 程远航^{1,3} 王水良^{1,2,3}
谭建明^{1,3}

【摘要】 目的 探讨间充质细胞(MSC)外泌体对低氧条件下胰岛内皮细胞(MS-1)血管生成的影响。方法 MSC无血清低氧条件培养48 h,超滤离心法富集条件培养基中的外泌体,采用电镜和Western Blot的方法进行鉴定;通过血管形成试验比较分析不同条件下:常氧培养组(NOR组,21% O₂、5% CO₂)、低浓度氧培养组(HYP组,2% O₂、5% CO₂)、外泌体+低浓度氧共培养组(HYP+EXO组,2% O₂、5% CO₂), MS-1细胞的血管形成能力; image J软件分析血管形成长度; PCR、Q-PCR检测血管内皮生长因子(VEGF) RNA水平的表达, Western Blot检测VEGF、HIF1 α 蛋白水平表达以及mTOR信号通路激活情况。采用单因素方差分析和SNK-*q*检验统计学分析。结果 超滤离心法富集的MSC条件培养基中的外泌体,大小为30~100 nm,表达CD9, CD63, CD81等外泌体表面标志物;血管形成试验结果显示,低氧促进MS-1血管生成, HYP+EXO组形成明显的血管网状结构; HYP+EXO组血管形成相对长度(2386.0 \pm 137.7)像素与NOR组(393.3 \pm 174.2)像素和HYP组(1467.0 \pm 230.0)像素相比增强,差异有统计学意义($t=12.30, P=0.0065; t=15.74, P=0.0040$); PCR结果显示, HYP+EXO组VEGF相对表达量(20.26 \pm 9.972)较常氧对照组(1.000)和低氧组(6.521 \pm 3.501)均增强,差异有统计学意义($t=5.462, P=0.0009; t=4.238, P=0.0038$);同时, Western Blot结果显示VEGF蛋白水平表达升高, HIF1- α 表达上调, mTOR发生磷酸化。结论 MSC外泌体可促进低氧条件下的小鼠胰岛内皮细胞血管生成。MSC外泌体可能通过上调HIF1- α , 调节VEGF表达, 激活mTOR信号通路, 促进胰岛内皮细胞血管生成。

【关键词】 外泌体; 低氧; 胰岛内皮细胞; 血管生成

Exosomes derived from mesenchymal stem cells promote islet endothelial cell angiogenesis Chen Junqiu^{1,3}, Chen Jin^{1,2,3}, Huang Lianghu^{1,3}, Zhao Hongzhou¹, Fu Yunfeng¹, Lin Na¹, Zhu Lingfeng¹, Cheng Yuanhang^{1,3}, Wang Shuilian^{1,2,3}, Tan Jianming^{1,3}. ¹Organ Transplant Institute, Fuzhou General Hospital, Fujian Key Laboratory of Transplant Biology, Fuzhou 350025, China; ²Fuzhou General Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350025, China; ³Organ Transplant Institute, Dongfang Hospital, Xiamen University, Fuzhou 350025, China

Corresponding author: Chen Jin, Email: kingchen81@qq.com

【Abstract】 Objective This study was aimed to investigate the pro-angiogenesis effect of mesenchymal stem cell exosomes (MSC-exosomes) on islet endothelial cell MS-1 in hypoxia. **Methods** MSCs were cultured with serum free medium in hypoxia condition for 48 h. The MSC-exosomes in conditioned medium were enriched by centrifugal ultrafiltration, and then characterized by electron microscopy and WB analyses. The tube formation assay was performed to assess pro-angiogenic activity of MSC-exosomes on MS-1 in normoxia (21% O₂, NOR), hypoxia (2% O₂, HYP)

DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2018.04.004

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(81601618); 福建省自然科学基金面上项目(2016J01582、2016J01580、2018J01349); 福建省科技创新联合资金重大项目(2017Y9127)

作者单位: 350025 福州总医院全军器官移植研究所(福建省移植生物学重点实验室)¹; 350025 福州, 福建医科大学附属福总临床医学院²; 350025 福州, 厦门大学附属东方医院器官移植研究所³

通信作者: 陈津, Email: kingchen81@qq.com

or hypoxia in the presence of exosomes (HYP+EXO). The length of tubes formed was quantified by image J software. The expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) was detected by PCR and WB. The expression of HIF1 α and activation of mTOR signaling pathway were revealed by WB. The differences were assayed with one-way analysis of variance or SNK-*q* test. **Results** Exosomes enriched from conditioned medium of MSCs were about 30 ~ 100 nm diameters, and expressed exosomes markers CD9, CD63, CD81 and Flotilin1. The results of tube formation assay showed that hypoxia induced MS-1 angiogenesis, which was significantly enhanced by MSCs-exosomes. The length of tubes of the HYP+EXO group (2386.00 \pm 137.70) was increased significantly ($t = 12.30$, $P = 0.0065$; $t = 15.74$, $P = 0.0040$) both than NOR group (393.30 \pm 174.20) pixels and HYP group (1467.00 \pm 230.00) pixels. PCR results showed that the relative expression of VEGF in HYP+EXO group (20.26 \pm 9.972) was significantly higher ($t = 5.462$, $P = 0.0009$; $t = 4.238$, $P = 0.0038$) than that in NOR-group (1.000) and HYP group (6.521 \pm 3.501). Meanwhile, Western blot results showed that HIF1- α and VEGF expression of MS-1 was up regulated and the mTOR signal pathway was activated after treated with MSC-exosomes. **Conclusion** MSC-exosomes could promote angiogenesis in mouse islet endothelial cells MS-1 under hypoxic condition through up-regulation of HIF1- α and VEGF expression, and activation of mTOR signaling pathway.

【Key words】 Exosomes; Hypoxia; MS-1; Angiogenesis

胰岛移植是治疗糖尿病的有效方法^[1]。2000年 Shapiro 等^[2]首次报道临床同种异体胰岛移植,使1型糖尿病患者完全脱离胰岛素。根据国际胰岛移植随访结果显示,胰岛移植可以改善血糖水平,1年后57%的患者摆脱胰岛素依赖^[3]。然而胰岛移植效果在一定程度上受到移植胰岛血管生成障碍所限制^[4]。胰岛属内分泌组织,分泌的激素直接释放入血,因此是一个高度血管化的组织细胞团,其周围的毛细血管网比外分泌组织的密度大5倍。丰富的毛细血管网络为胰岛提供信号、营养物质和氧气等,维持胰岛存活和胰岛功能^[5-6]。异体胰岛移植后,由于新血管尚未生成,无血管期的胰岛因缺血、缺氧等引起胰岛细胞大量凋亡^[7]。此外高浓度的免疫抑制药物的使用也影响胰岛新血管的生成^[4]。因此,提高移植胰岛血管生成能力对提高胰岛移植效果具有重要的意义。

间充质细胞(mesenchymal stem cells, MSC)在体内外均能延长胰岛的存活时间,起到保护胰岛的作用,但是机制尚未明确^[8]。MSC外泌体(Exosomes)是由MSC分泌的直径为30~100 nm的微小膜泡,具有脂质双层结构,可以携带MSC的膜蛋白、胞内蛋白、mRNAs和miRNAs,影响靶细胞的许多生理功能,如抑制免疫细胞增殖和活性,促进血管生成等^[9-10]。MSC外泌体是否能促进胰岛血管生成,进而提高移植胰岛存活率,还尚未见到相关报道。本研究以小鼠胰

岛内皮细胞MS-1为模型,探讨低氧条件下,MSC外泌体对小鼠胰岛血管生成的影响。

材料与方 法

一、材料

DMEM高糖、低糖培养基、0.25%胰酶-EDTA、胎牛血清(美国Hyclone公司);超滤离心管(3 kDa,美国Millipore公司);Matrigel胶(美国BD公司);BCA蛋白定量试剂盒(美国Thermo公司),磷酸酶抑制剂(美国ROCH公司),蛋白酶抑制剂(美国Millipore Calbiochem公司);鼠抗 β -actin、CD63、CD81,兔抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、HIF1- α 、CD9、Flotilin 1抗体(美国Abcam公司);兔抗p-mTOR、mTOR抗体(美国CST公司);辣根过氧化物酶标记的山羊抗鼠和山羊抗兔二抗(美国Thermo公司);ECL显色液(美国Thermo公司);碳膜支持铜网、磷钨酸染液(中佳科镜公司)。

二、方法

1. 细胞培养:人脐带MSC由福建省干细胞应用工程技术研究中心提供,采用含胎牛血清10%的低糖DMEM培养基,按照本实验室的培养方法进行培养^[11]。胰岛内皮细胞MS-1购自中国科学院上海细胞库,细胞培养在含5%胎牛血清的高糖DMEM培养基中,隔天换液。

2. MSC条件培养基制备及外泌体的提取:取生长至80%~90%的第4代MSC细胞,弃去

培养基, PBS 洗涤 2 遍, 加 10 ml 无血清培养基, 放入培养箱中, 37 °C、2 % O₂、5 % CO₂ 低氧培养 48 h, 1 200×g 离心 10 min 去除细胞碎片。上清液用 0.22 μm 的抽滤器过滤后加入超滤管上柱中, 4 000×g 离心 60 min, 吸取超滤管内富集的外泌体, 用 BCA 蛋白定量试剂盒进行定量。

3. 外泌体鉴定: 吸取 10 ~ 15 μl 外泌体吸附于碳膜支持铜网上, 磷钨酸染液负染 1 ~ 2 min, PBS 洗涤后晾干, 透射电镜下观察外泌体形态大小。取 30 μg 外泌体高温变性后加样电泳并转至 PVDF 膜, Western Blot 方法检测外泌体标志物 CD9, CD81, CD63, Flotilin1 的表达。

4. 体外血管形成试验: Matrigel 胶 4 °C 冰箱融化后加入到预冷的 96 孔板中, 每孔分别加入 MS-1 细胞 2×10⁴ 个。低氧 + 外泌体组(HYP+EXO) 每孔加入 10 μg/ml 外泌体, 常氧对照组(NOR) 和低氧组(HYP) 分别加入等体积 PBS。NOR 组放入 37 °C、5 % CO₂、21 % O₂ 的常氧培养箱培养, HYP 和 HYP+EXO 组放入 37 °C、2 % O₂、5 % CO₂ 的低氧培养箱培养; 培养 24 h 后, 观察血管网形成情况, 并用 Image J 软件进行分析。

5. 细胞 mRNA 提取及 PCR 分析: 按照本实验室常用的方法 [12], 提取各组 MS-1 细胞总 RNA, 经 RNA 定量后, 反转录成 cDNA, 分别用 Q-PCR 和常规 PCR 方法检测 VEGF 等血管形成相关基因的表达情况。PCR 引物序列如下: VEGF (上游: 5'-CACGACAGAAGGAGAGCAGA-3'; 下游: 5'-CAGGGCTTCATCGTTACAGC-3')。常规 PCR 结果通过 1 % 琼脂糖凝胶电泳观察结果; Q-PCR 结果以各自 β-actin 为内参, 以常氧组为对照, 计算 2^{-ΔΔCt} 值为基因相对表达倍数。

6. Western Blot 检测 VEGF 及相关信号分子的表达: MS- 细胞分为 NOR 组、HYP 组和 HYP+EXO 组, 平行培养 24 h 后, 用 100 μl 裂解液刮下细胞, 冰上裂解 10 min, 4 °C、12 000×g 离心 30 min, 取上清液作为蛋白样本, 用 BCA 蛋白定量试剂盒进行定量。取 30 μg 蛋白高温变性后加样电泳并转至 PVDF 膜, 4 % BSA 封闭 1 h, 加入兔抗鼠 VEGF、p-mTOR、mTOR、HIF1-α 一抗(1:2 000 稀释) 或 β-actin 内参一抗(1:5 000 稀释), 4 °C 孵育过夜; TBST 洗涤 3 次后, 加对应的二抗孵育 1 h, TBST 洗涤 3 次后加入 ECL 发光液暗室曝光成像。

三、统计学分析方法

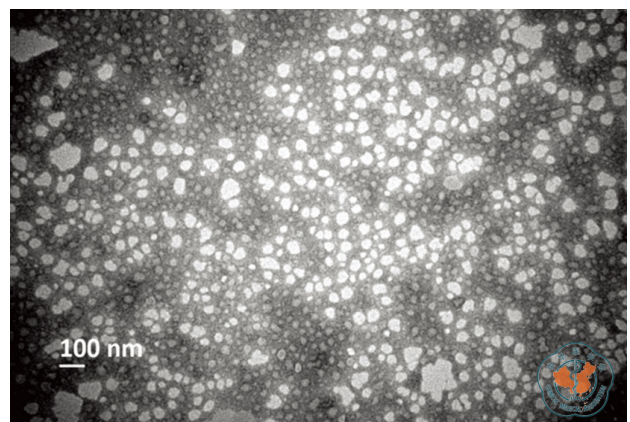
采用 Graphpad Prism 6.0 软件进行统计分析。

多组间比较采用单因素方差分析, 均数间两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

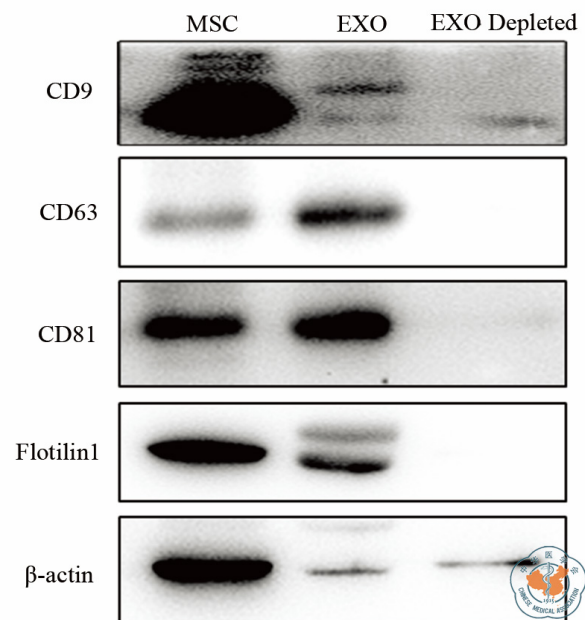
一、MSC 外泌体分离鉴定结果

收集 MSC 低氧条件培养基, 经超滤离心法富集后, 获得 MSC 培养上清液中的外泌体。经磷钨酸负染, 透射电镜检测, 获得的外泌体直径大小为 30 ~ 100 nm 的微粒(图 1)。经 Western Blot 检测, 所获得的外泌体表达 CD9, CD63, CD81 等外泌体标志物(图 2)。



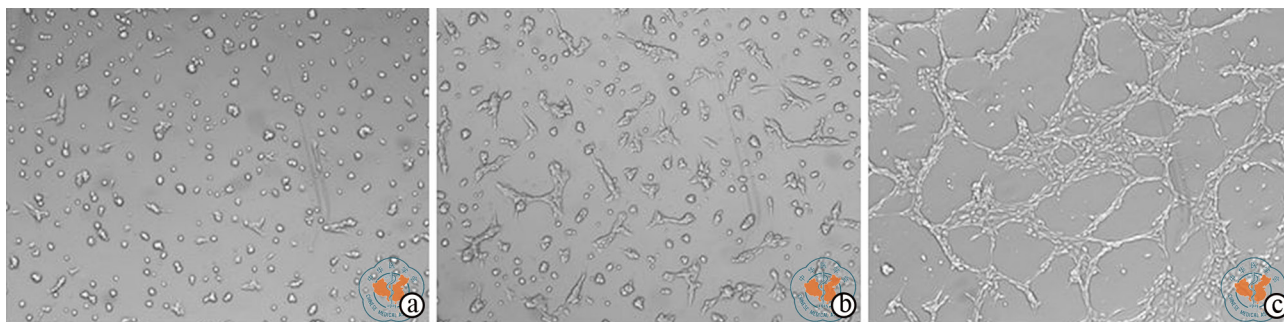
注: 富集的 MSC 外泌体大小为 30 ~ 100 nm

图 1 电镜下观察外泌体的形态大小(磷钨酸负染, ×50K)



注: MSC: MSC 细胞裂解蛋白; EXO: 外泌体蛋白, EXO Depleted 为去除外泌体的培养基浓缩蛋白; 获得的外泌体表达 CD81, CD9, CD63, Flotilin1 等外泌体表面标志物

图 2 外泌体标志物 Western Blot 检测鉴定



注: a 图为常氧对照组(NOR)未见明显的血管网形成; b 图为低氧组(HYP)可见少量网状形成; c 图为低氧组 + 外泌体组(HYP+EXO)可见明显的血管网形成

图 3 倒置相差显微镜下观察 MSC 外泌体促进胰岛内皮细胞 MS-1 血管形成($\times 100$)

二、MSC 外泌体对小鼠胰岛内皮细胞血管形成的影响

体外血管形成试验结果显示,常氧条件下,胰岛内皮细胞 MS-1 未见明显的血管网形成;低氧条件下,低氧对照组可见少量网状形成;而加入外泌体组可见大量血管网形成(图 3)。经 Image J 分析,常氧组、低氧组、低氧加外泌体组的血管形成相对长度分别为(393.30 ± 174.20 , 1467.00 ± 230.00 , 2386.00 ± 137.70) 像素。低氧条件下,胰岛内皮细胞 MS-1 较常氧对照组相比,血管形成能力增加($t = 4.874$, $P = 0.0396$),而低氧加外泌体组与常氧对照组和低氧组相比,血管形成能力均提高($t = 12.30$, $P = 0.0065$; $t = 15.74$, $P = 0.0040$, 表 1)。

三、MSC 外泌体上调胰岛内皮细胞 VEGF 表达

常规 PCR 结果显示,低氧条件下,MS-1 细胞 VEGF 表达上调, MSC 外泌体明显提高低氧条件下 MS-1 细胞 VEGF 基因的表达(图 4a, 表 1)。Q-PCR 定量结果显示,与常氧对照组(VEGF 相对表达量为 1.000)相比,低氧组 VEGF 相对表达量增高(6.52 ± 3.50),差异有统计学意义($t = 4.461$, $P = 0.0029$);低氧加外泌体组 VEGF 相对表达量为(20.26 ± 9.972),较常氧对照组和低氧组相比 VEGF 的表达量均明显提高($t = 5.462$, $P = 0.0009$; $t = 4.238$, $P = 0.0038$)。Western Blot 结果也证实,在蛋白水平, MSC 外泌体组 VEGF 表达也明显增高(图 4b)。

四、MSC 外泌体上调 HIF1- α 和促进 mTOR 发生磷酸化

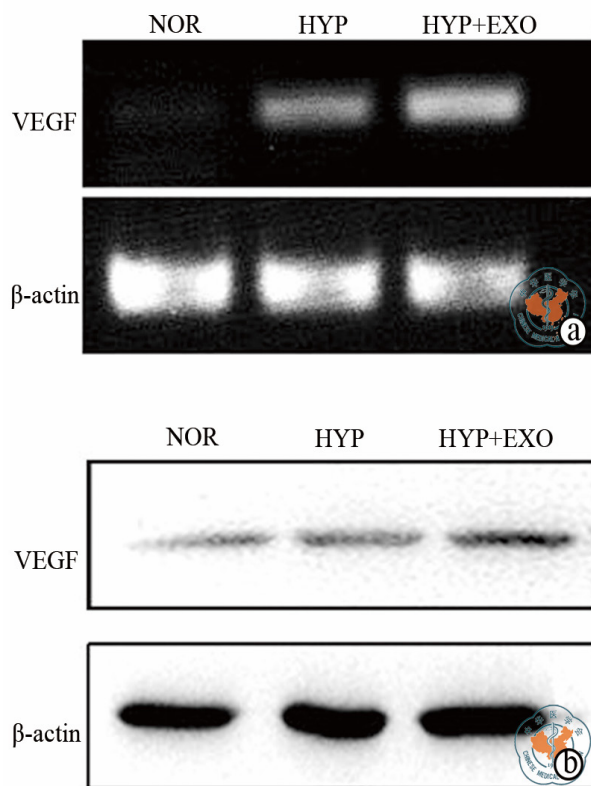
在含氧量正常的条件下, HIF1- α 被蛋白酶迅速降解;在低氧条件下, HIF1- α 可稳定表达。加入 MSC 外泌体后, HIF1- α 表达显著上调。同时还发现,

mTOR 信号通路在低氧时发生磷酸化, MSC 外泌体可显著增强 mTOR 信号通路的磷酸化。(图 5)

表 1 Image J 血管形成长度分析和 VEGF 相对表达量

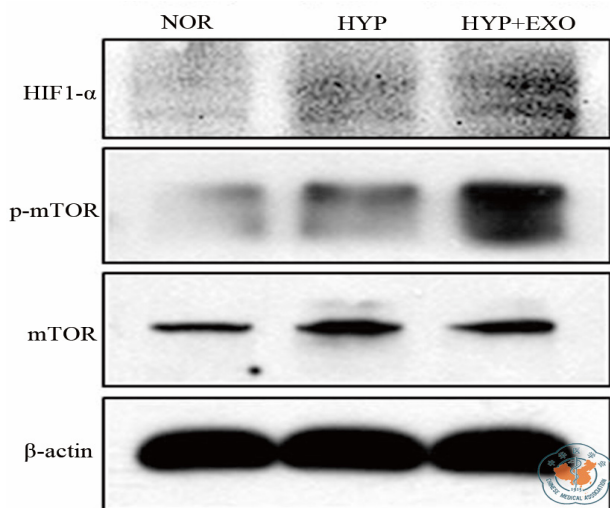
分组	血管形成长度分析($n = 3$)	VEGF 相对表达量($n = 8$)
Nor	393.30 ± 174.20	1.000
Hyp	1467.00 ± 230.00^a	6.52 ± 3.50^a
Hyp+EXO	2386.00 ± 137.70^{ab}	20.26 ± 9.97^{ab}
F 值	87.59	24.11
P 值	< 0.01	< 0.01

注:与常氧对照组(Nor)比较 $^aP < 0.01$,与低氧组(Hyp)比较 $^bP < 0.01$



注: a 图为常规 PCR 凝胶电泳结果; b 图为 Western Blot 结果; NOR: 常氧对照组; HYP: 低氧组; HYP+EXO: 低氧 + 外泌体组

图 4 MSC 外泌体上调血管内皮生长因子基因表达



注: NOR 为常氧对照组; HYP 为低氧组; HYP+EXO 为低氧 + 外泌体组
图 5 MSC 外泌体上调 HIF1- α 表达和促进 mTOR 发生磷酸化

讨 论

外泌体是直径 30 ~ 100 nm 的脂质双分子层包裹有蛋白质和核酸的小囊泡^[9], 是细胞外膜微囊结构重要组成部分^[13]。外泌体可以在培养细胞的上清液中, 以及许多类型体液中分离得到。MSC 可以释放外泌体, 尤其是在低氧环境下 MSC 能释放出大量的外泌体^[14]。本研究中通过低氧条件培养 MSC, 通过超滤离心法, 成功的富集 MSC 条件培养上清液中的外泌体。经鉴定大小为 30 ~ 100 nm, 表达 CD9, CD63, CD81 等外泌体标志物^[15]。

MSC 来源的外泌体具有多种 MSC 的生物活性。MSC 外泌体具有免疫抑制的作用, 可以抑制 T 细胞增殖和诱导 CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ 调节性 T 细胞增殖, 增强异体皮肤移植存活^[16]; 可以促进异体移植植物存活和诱导供体特异的异体移植植物免疫耐受^[17]。近年来研究发现, MSC 及其来源的外泌体可以介导调节血管生成^[18-19]。MSC 来源的外泌体含有丰富的促血管生成作用的效应分子, 如血小板衍生生长因子, 表皮细胞生长因子, 成纤维细胞生长因子等, 可通过激活 NF κ B 信号通路调节血管生成^[20]。一些研究者也在肾缺血再灌注和心肌损伤修复中证实了 MSC 膜微囊具有促进血管再生的作用^[21-22]。本研究证实了 MSC 外泌体在低氧条件下, 能够促进胰岛内皮细胞 MS-1 分化形成血管。进一步研究发现, MSC 外泌体能够上调 MS-1 细胞 HIF1- α 和 VEGF 的表达水平, 并激活 mTOR 信号通路。

HIF1- α 可调节多种血管生成因子的表达如促红细胞生成素, 表皮细胞生长因子, 基质金属蛋白

酶和血管生成素 2 等。在含氧量正常的条件下, HIF1- α 被蛋白酶迅速降解; 而在低氧条件下, 可通过限制脯氨酰羟化酶的活性从而抑制 HIF 的羟基化, 稳定 HIF1- α 的表达^[23]。VEGF 是在内皮细胞中分离和鉴定出来的特异性有丝分裂原, 具有诱发血管再生的能力。在血管再生过程中发挥重要作用。它可以刺激血管内皮细胞增殖和迁移, 增加血管的通透性^[24]。VEGF 与 VEGFR 结合后, 可以通过激活 PLCr-mTORC1 信号通路, 调节 ATF6 和 PERK 表达, 促进内皮细胞存活和血管生成^[25]。

本研究结果表明, 在体外细胞实验中, MSC 外泌体可促进低氧条件下的小鼠胰岛内皮细胞血管生成。MSC 外泌体有可能通过上调 HIF1- α , 调节 VEGF 表达, 激活 mTOR 信号通路, 促进胰岛内皮细胞血管生成。

参 考 文 献

- 1 刘英, 江霞. 糖尿病细胞治疗的研究进展[J]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2017, 7(01):59-63.
- 2 Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen[J]. N Engl J Med, 2000, 343(4):230-238.
- 3 Shapiro A, Ricordi C, Hering BJ, et al. International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation[J]. N Engl J Med, 2006, 355(13):1318-1330.
- 4 Smink AM, Faas MM, De Vos P. Toward engineering a novel transplantation site for human pancreatic islets[J]. Diabetes, 2013, 62(5):1357-1364.
- 5 Del Toro-Arreola A, Robles-Murillo AK, Rivas-Carrillo JD. The role of endothelial cells on islet function and revascularization after islet transplantation[J]. Organogenesis, 2016, 12(1):28-32.
- 6 Cao ZL, Wang XY. The endocrine role between beta cells and intra-islet endothelial cells[J]. Endocr J, 2014, 61(7):647-654.
- 7 Carlsson PO, Palm F, Andersson A, et al. Markedly decreased Oxygen tension in transplanted rat pancreatic islets irrespective of the implantation site[J]. Diabetes, 2001, 50(3):489-495.
- 8 Chen J, Ye Y, Liao L, et al. Mesenchymal stem cells promote islet survival *in vitro* and function *in vivo*[J]. CellRes, 2013, 1(2):128-136.
- 9 Ailawadi S, Wang X, Gu H, et al. Pathologic function and therapeutic potential of exosomes in cardiovascular disease[J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852(1):1-11.
- 10 Chen JY, Liu ZJ, Hong MM, et al. Proangiogenic compositions of microvesicles derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells[J]. PLoS One, 2014, 9(12):e115316.
- 11 Chen J, Ren Q, Cai YM, et al. Mesenchymal stem cells drive paclitaxel resistance in ErbB2/ErbB3-coexpressing breast cancer cells via paracrine of neuregulin 1[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 501(1):212-219.
- 12 Chen J, Ma Y, Wang Z, et al. Thrombin promotes fibronectin secretion by bone marrow mesenchymal stem cells via the protease-activated receptor mediated signalling pathways[J]. Stem Cell Res Ther, 2014, 5(2):36.
- 13 Yáñez-Mó M, Siljander PR, Andreu Z, et al. Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions[J]. J Extracell Vesicles, 2015, 4(1):27066.

- 14 Zhang HC, Liu XB, Huang S, et al. Microvesicles derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells stimulated by hypoxia promote angiogenesis both *in vitro* and *in vivo*[J]. Stem Cells Dev, 2012, 21(18):3289-3297.
- 15 Xu R, Simpson RJ, Greening DW. A Protocol for Isolation and Proteomic Characterization of Distinct Extracellular Vesicle Subtypes by Sequential Centrifugal Ultrafiltration[J]. Methods Mol Biol, 2017, 1545:91-116.
- 16 Zhang B, Yin Y, Lai RC, et al. Mesenchymal stem cells secrete immunologically active exosomes[J]. Stem Cells Dev, 2014, 23(11): 1233-1244.
- 17 Plock JA, Schnider JT, Zhang W, et al. Adipose- and bone Marrow-Derived mesenchymal stem cells prolong graft survival in vascularized composite allotransplantation[J]. Transplantation, 2015, 99(9):1765-1773.
- 18 Gai C, Carpanetto A, Deregibus MC, et al. Extracellular vesicle-mediated modulation of angiogenesis[J]. Histol Histopathol, 2016, 31(4):379-391.
- 19 Merino-Gonzalez C, Zuniga FA, Escudero CA, et al. Mesenchymal stem Cell-Derived extracellular vesicles promote angiogenesis: potential clinical application[J]. Front Physiol, 2016, 7:24.
- 20 Anderson JD, Johansson HJ, Graham CS, et al. Comprehensive proteomic analysis of mesenchymal stem cell exosomes reveals modulation of angiogenesis via nuclear Factor-KappaB signaling[J]. Stem Cells, 2016, 34(3):601-613.
- 21 Tetta C, Bruno S, Fonsato V, et al. The role of microvesicles in tissue repair[J]. Organogenesis, 2011, 7(2):105-115.
- 22 Zhang ZW, Yang JJ, Yan WY, et al. Pretreatment of cardiac stem cells with exosomes derived from mesenchymal stem cells enhances myocardial repair[J]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(1): pii: e002856.
- 23 Binet F, Sapieha P. ER stress and angiogenesis[J]. Cell Metab, 2015, 22(4):560-575.
- 24 Rosen R, Vagaggini T, Chen YE, et al. Zeaxanthin inhibits hypoxia-induced VEGF secretion by RPE cells through decreased protein levels of hypoxia-inducible factors-1 α [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 687386.
- 25 Karali E, Bellou S, Stellas D, et al. VEGF signals through ATF6 and PERK to promote endothelial cell survival and angiogenesis in the absence of ER stress[J]. Mol Cell, 2014, 54(4):559-572.

(收稿日期: 2018-03-12)

(本文编辑: 陈媛媛)

陈俊秋, 陈津, 黄梁浒, 等. 间充质细胞外泌体促进小鼠胰岛内皮细胞血管生成的研究 [J/CD]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2018, 8(4): 212-217.