

# 血管性血友病因子裂解酶 对血管新生的抑制作用

金春海 王霜 赵艳红 金圣宇 李华

**【摘要】** 目的 观察血管性血友病因子裂解酶(ADAMTS13)对血管内皮细胞生长因子(VEGF)介导的血管新生的抑制作用。方法 以不同浓度的ADAMTS13(1、5、25、50、100 nmol/L)处理脐带静脉内皮细胞(HUVEC),采用MTT法检测ADAMTS13对HUVEC增殖的影响,通过管腔形成实验观察ADAMTS13对HUVEC分化的影响,通过刮伤愈合实验观察ADAMTS13对HUVEC迁移的影响,利用鸡胚绒毛尿囊膜实验和基质胶塞实验观察ADAMTS13在体内对血管新生的影响。结果 与对照组相比,25、50、100 nmol/L ADAMTS13对HUVEC增殖均有明显的抑制作用( $P$ 值均 $<0.01$ )。在刮伤愈合实验中,制造损伤8 h后,对照组HUVEC的迁移距离为 $(79\pm 22)\mu\text{m}$ , VEGF处理组为 $(250\pm 8)\mu\text{m}$ , VEGF+ADAMTS13处理组为 $(170\pm 23)\mu\text{m}$ ,组间差异均有统计学意义( $P$ 值均 $<0.05$ )。在管腔形成试验中,VEGF处理组、VEGF+ADAMTS13处理组HUVEC培养16 h后形成的管状结构长度分别是对照组的 $(450.6\pm 16.6)\%$ 、 $(235.3\pm 19.0)\%$ , VEGF+ADAMTS13处理组管状结构少于VEGF处理组( $P<0.001$ )。鸡胚绒毛尿囊膜实验中,VEGF(20 ng/ml)、ADAMTS13(100 nmol/L)、ADAMTS13(100 nmol/L)+VEGF(20 ng/ml)处理组的血管形成数量分别为对照组的 $(228.2\pm 10.8)\%$ 、 $(69.2\pm 21.1)\%$ 、 $(184.6\pm 15.2)\%$ 。基质胶塞实验结果显示VEGF+ADAMTS13处理组小鼠体内的血管数量为VEGF组的43.5%。结论 体外实验结果表明ADAMTS13对HUVEC增殖、分化、迁移能力均有抑制作用;体内实验结果提示ADAMTS13对血管新生有抑制作用。

**【关键词】** von Willebrand 因子; 血管生成抑制剂; 内皮生长因子; 人脐静脉内皮细胞

**Inhibitory effect of von Willebrand factor-cleaving protease on angiogenesis** Jin Chunhai, Wang Shuang, Zhao Yanhong, Jin Shengyu, Li Hua\*. *Medical Research Center, Yanbian University Hospital, Yanji 133000, China*

Corresponding author: Li Hua, Email: lihua0724@ybu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the inhibitory effect of von Willebrand factor-cleaving protease, a disintegrin-like and metalloprotease with thrombospondin-1 repeats (ADAMTS13) on angiogenesis induced by vascular endothelial growth factor (VEGF) in vitro and in vivo. **Methods** Cell proliferation assay, differentiation (tube formation) assay and wound migration assay were performed by using human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) to explore the effect of ADAMTS13 on angiogenesis in vitro. Cells were treated with different concentrations of ADAMTS13 (1, 5, 25, 50 and 100 nmol/L) and the number of cells was counted via MTT assay. In addition, effect of ADAMTS13 on differentiation was assessed by measuring the length of capillary-like tube structures formed by HUVECs in Matrigel. Effect of ADAMTS13 on HUVEC migration was assessed via calculation of wound healing distance after 8 hrs culture with VEGF or ADAMTS13. Chick embryo chorioallantoic membrane (CAM) assay and Matrigel plug assay were performed to investigate the effect of ADAMTS13 on angiogenesis in vivo. **Results** ADAMTS13 significantly inhibited the proliferation of HUVECs induced by VEGF in a dose-dependent manner. Migration distance of HUVECs was  $(79\pm 22)\mu\text{m}$  in control group,  $(250\pm 8)\mu\text{m}$  in VEGF-treated group and  $(170\pm 23)\mu\text{m}$  in VEGF and ADAMTS13 cotreated-group after 8 hrs, respectively. The tube length is  $(450.6\pm 16.6)\%$  in VEGF-treated group and  $(235.3\pm 19.0)\%$  in VEGF and ADAMTS13

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2015.07.016

基金项目:国家自然科学基金(81360087)

作者单位:133000 吉林省延吉市,延边大学附属医院血液内科(金春海、王霜、金圣宇),中心实验室(赵艳红、李华)

通信作者:李华,Email: lihua0724@ybu.edu.cn

cotreated-group of that of control group after HUVECs cultured in matrigel for 16 hrs. The number of blood vessels decreased after treatment with ADAMTS13 in CAM assay. The number of blood vessels was  $(228.2 \pm 10.8)\%$ ,  $(69.2 \pm 21.1)\%$ ,  $(184.6 \pm 15.2)\%$  in VEGF treated-group, ADAMTS13 treated-group and VEGF and ADAMTS13 cotreated-group of that of control group, respectively. Formation of capillary-like network in matrigel plugs containing VEGF was reduced to 43.5% by ADAMTS13 in matrigel plug assay in mouse model. **Conclusion** ADAMTS13 inhibits the HUVECs proliferation, differentiation and migration in vitro. ADAMTS13 inhibits chick embryos vascularization and formation of capillary-like network in vivo.

**【Key words】** von Willebrand factor; Angiogenesis inhibitors; Endothelial growth factors; Human umbilical vein endothelial cells

血管性血友病因子裂解酶(ADAMTS13)属于 ADAMTS 家族成员,通过酶切血管性血友病因子抑制血小板聚集和微血管血栓的形成来维持正常的凝血状态<sup>[1-2]</sup>。先天性和获得性 ADAMTS13 缺陷均可导致血栓性血小板减少性紫癜<sup>[2-4]</sup>。近年来研究表明,ADAMTS13 还与心血管疾病有关<sup>[5-6]</sup>。ADAMTS13 的主要合成部位是肝脏和内皮细胞,其相对分子质量(Mr)为  $195 \times 10^3$ ,唯一所知底物是血管性血友病因子(Von Willbrand factor, VWF)<sup>[2-3]</sup>。血管生成(angiogenesis)取决于血管生成促进因子和血管生成抑制因子间的平衡状态<sup>[7-8]</sup>。当二者间的平衡状态被打破,血管生成促进因子表达或产生高于血管生成抑制因子时,血管开始形成<sup>[9]</sup>。为调节血管生成的平衡,人体内除存在许多促血管生成物质外,同时也存在多种抑制血管生成的物质,其中有来自蛋白质的水解片断,或可溶性介质分子血小板反应蛋白-1(Thrombospondin-1, TSP1)等<sup>[10]</sup>。TSP1 通过与内皮细胞表面的 VEGF 结合抑制血管新生<sup>[10-11]</sup>。ADAMTS 家族有 19 个成员,是多结构域金属蛋白酶,其生理功能有细胞基质的组合与降解、止血、调节器官和血管形成<sup>[12]</sup>。ADAMTS 家族成员中 ADAMTS1 和 ADAMTS8 具有抗血管形成功能<sup>[12-13]</sup>。ADAMTS1 的金属蛋白酶结构域(M)和 TSP1 重复序列在抑制血管形成中起着重要作用<sup>[12-13]</sup>。ADAMTS13 同 ADAMTS1 和 ADAMTS8 一样,也是一个多结构域蛋白,由金属蛋白酶结构域(metalloprotease domain, M)、去整合素样结构域(disintegrin-like domain, D)、TSP1、富含半胱氨酸结构域(cysteine-rich domain, C)、空间结构域(spacer domain, S)、7 个 TSP1 重复序列和 2 个 CUB 结构域组成<sup>[1-4]</sup>。目前认为 TSP1 是体内高度抑制血管新生的因子,能阻断生长因子诱导的毛细血管内皮细胞的增殖、迁移和管腔形成<sup>[11]</sup>。在本研究中我们采用体内外实验对 ADAMTS13 抑制血管新生的作用进行研究。

## 材料和方法

1. ADAMTS13 蛋白的提取:将 ADAMTS13 质粒(美国阿拉巴马大学伯明翰分校 Long X. Zheng 博士提供)转染到 HEK293 细胞(韩国庆熙大学医学院郑柱虎教授提供),大量表达 ADAMTS13-V5-His 蛋白。将收集到的培养液调 pH 值为 8.0 后,通过琼脂糖凝胶 Q-fast flow(美国 GE 公司产品)离子交换柱,用含 1 mol/L NaCl 的 20 mmol/L Tris-HCl 洗脱蛋白。洗脱下来的蛋白稀释后过 Ni-NTA 亲和柱,经 60 和 250 mmol/L Imidazole 溶液洗脱结合在亲和柱上的蛋白并浓缩。浓缩后的蛋白进一步通过 Superose6 10/300GL 层析柱(美国 GE 公司产品)进行分离。洗脱液为 20 mmol/L Hepes 缓冲液,含 150 mmol/L NaCl, pH 7.4。最后根据吸光度波峰收取蛋白。再行考马斯蓝染色,观察其纯度和浓度。利用紫外分光光度法进一步检查蛋白浓度。

2. 脐带静脉内皮细胞(HUVEC)的分离培养:参照文献[14]的方法,无菌条件下取足月顺产新生儿脐带 25~30 cm,用胰蛋白酶消化法收集 HUVEC,用含 20% 胎牛血清及 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  VEGF 的 M199 培养液在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 、饱和湿度条件下进行培养。细胞长至单层融合时,用胰蛋白酶/EDTA 混合消化液(终浓度分别为 0.1% 和 0.01%)消化,按 1:3 传代,第三代细胞长至单层融合后用于后续实验。原代及传代内皮细胞均用抗 VWF 抗体进行免疫细胞化学染色鉴定。

3. MTT 法检测 ADAMTS13 对 HUVEC 和正常人外周血单个核细胞(PBMNC)增殖的影响:用含 20% 胎牛血清的 M199 培养液培养 HUVEC 至第 4 代,用胰蛋白酶/EDTA 混合消化液消化细胞后,调整细胞密度为  $5 \times 10^4/\text{ml}$ ,将 100  $\mu\text{l}$  细胞悬液接种至 96 孔板,培养 24 h。将培养液换成含有 10 ng/ml VEGF 和 5% 胎牛血清的 M199 培养液,加入不同浓度 ADAMTS13(1、5、25、50、100 nmol/L),孵育 72 h

后,加入5 mg/ml MTT溶液(美国Sigma公司产品)20  $\mu$ l继续孵育4 h,常规处理后,在酶标仪上测定490 nm波长处吸光度(A)值,绘制细胞增殖曲线,进行结果分析。

抽取5名正常志愿者外周血6 ml,制备PBMNC悬液。同上处理后在酶标仪上测定570 nm波长处A值,绘制细胞增殖曲线,进行结果分析。

4. 通过刮伤愈合实验观察ADAMTS13对HUVEC迁移的影响:将HUVEC培养于6孔板(每孔 $8 \times 10^5$ 个细胞)。当细胞培养至均匀铺满整个培养皿时,用吸头在6孔板中间划1条线形成损伤,用PBS清洗移除脱落的细胞后,分别换用含有PBS(对照组)、10 ng/ml VEGF、10 ng/ml VEGF+100 nmol/L ADAMTS13的M199培养液继续培养8 h。在光学显微镜高倍视野( $\times 400$ )下观察细胞迁移情况,用连接到显微镜的相机记录影像,测量迁移距离。

5. 通过管腔形成实验观察ADAMTS13对HUVEC分化的影响:在4  $^{\circ}$ C条件下将250  $\mu$ l Matrigel基质胶(美国BD公司产品)铺于24孔板,37  $^{\circ}$ C下温育30 min后,将HUVEC(每孔 $1 \times 10^5$ 个细胞)种植在matrigel基质胶上培养约2 h,使细胞黏附在matrigel基质胶上。移除悬浮液,分别加入以下3种培养液:①PBS(对照组);②10 ng/ml VEGF;③10 ng/ml VEGF+100 nmol/L ADAMTS13。培养16 h后在光学显微镜高倍视野( $\times 400$ )下观察管腔形成情况,拍照并测量形成的管腔长度。

6. 通过鸡胚绒毛尿囊膜(CAM)实验观察ADAMTS13在体内对血管新生的影响:在38.5  $^{\circ}$ C、60%~70%湿度的孵化器里培养受精的鸡蛋48 h后,用注射器吸除2~3 ml蛋清,并在蛋壳上制作1个小窗口,在胚胎发育过程中使CAM和蛋壳分离。用透明胶布临时封口后,孵育4 d。分别将等容量的PBS(对照组)、20 ng/ml VEGF、100 nmol/L ADAMTS13、100 nmol/L ADAMTS13 + 20 ng/ml VEGF与2%甲基纤维素(Methylcellulose)溶液混合后,取20  $\mu$ l溶液滴于直径3.2 mm聚四氟乙烯棒上自然干燥。将干燥棒置于CAM上,孵育48 h后,在

奥林巴斯SZX7立体显微镜下( $\times 40$ )观察血管形成状态并拍照记录,利用iMT影像分析软件分析血管长度。每组样本数为10只。

7. 通过基质胶塞实验观察ADAMTS13在体内对血管新生的影响:6周龄C57BL/6小鼠分为2组:①VEGF处理组:于小鼠腹部中线皮下注射含250 ng VEGF的水凝胶0.5 ml;②VEGF+ADAMTS13处理组:于小鼠腹部中线皮下注射含250 ng VEGF和100 nmol/L ADAMTS13的水凝胶0.5 ml。每组样本数为10只。21 d后处死小鼠,取出胶栓及包围在周边的肉芽组织,通过病理组织切片观察水凝胶塞中的血管新生情况,比较两组小鼠水凝胶塞中的血管生成差异。

8. 统计学处理:采用SPSS 17.0软件进行统计学分析。体外实验中每组设3个复孔,实验重复3次。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用独立样本t检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 结 果

1. ADAMTS13对VEGF诱导HUVEC增殖的影响:MTT实验结果显示,与未加药对照组相比,低浓度ADAMTS13(1、5 nmol/L)组的HUVEC数量无明显变化,但是经25、50、100 nmol/L ADAMTS13处理后,HUVEC数量均较未加药对照组减少,差异有统计学意义( $P$ 值均 $< 0.01$ )(表1)。同时结果还显示ADAMTS13对HUVEC增殖的抑制作用随着浓度增高逐渐增加。

与为加药对照组比较,ADAMTS13对PBMNC的增殖未见明显的抑制作用( $P$ 值均 $> 0.05$ )(表1)。

2. ADAMTS13对HUVEC迁移的影响:制造损伤8 h后,对照组HUVEC的迁移距离为( $79 \pm 22$ )  $\mu$ m, VEGF组为( $250 \pm 8$ )  $\mu$ m, VEGF + ADAMTS13处理组为( $170 \pm 23$ )  $\mu$ m,差异有统计学意义( $P = 0.031$ )。提示ADAMTS13显著抑制VEGF诱导的HUVEC迁移(图1)。

3. ADAMTS13对HUVEC分化的影响:结果显示VEGF处理组、VEGF + ADAMTS13处理组

表1 MTT法检测不同浓度血管性血友病因子裂解酶(ADAMTS13)作用后细胞增殖率的变化(%, $\bar{x} \pm s$ )

组别	ADAMTS13(nmol/L)					
	0	1	5	25	50	100
HUVEC组	100.0 $\pm$ 0.0	98.6 $\pm$ 1.4	90.2 $\pm$ 1.8	73.9 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	45.3 $\pm$ 2.2 <sup>a</sup>	34.5 $\pm$ 2.1 <sup>a</sup>
PBMNC组	100.0 $\pm$ 0.0	98.6 $\pm$ 1.6	91.3 $\pm$ 2.1	92.5 $\pm$ 2.1	89.2 $\pm$ 1.1	88.8 $\pm$ 1.6

注:HUVEC:脐带静脉内皮细胞,每组设3个复孔,实验重复3次;PBMNC:正常志愿者外周血单个核细胞,样本数为5。与未加ADAMTS13组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$

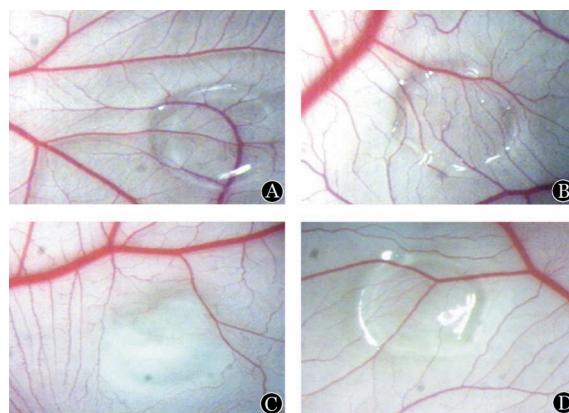
HUVEC 培养 16 h 后形成的管状结构长度分别为对照组的  $(450.6 \pm 16.6)\%$ 、 $(235.3 \pm 19.0)\%$ 。VEGF + ADAMTS13 处理组管状结构少于 VEGF 处理组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.001$ ) (图 2)。

4. ADAMTS13 对 CAM 血管新生的影响: 对照组的血管分布均匀正常 (图 3A), ADAMTS13 处理组 CAM 的血管形成无或明显少于对照组 (图 3C)。将对照组的血管形成数设为 100%, VEGF 处理组 (图 3B)、ADAMTS13 处理组 (图 3C)、ADAMTS13 + VEGF 处理组 (图 3D) 的血管形成数分别为对照组的  $(228.2 \pm 10.8)\%$ 、 $(69.2 \pm 21.1)\%$ 、 $(184.6 \pm 15.2)\%$ ; 对照组与 ADAMTS13 处理组比较差异有统计学意义 ( $P = 0.021$ ); VEGF 处理组与 VEGF + ADAMTS13 处理组比较差异有统计学意义 ( $P = 0.032$ )。

5. ADAMTS13 对基质胶塞血管新生的影响: 基质胶塞实验结果显示, 与 VEGF 处理组比较, VEGF + ADAMTS13 处理组形成的血管数明显减少 (图 4)。将 VEGF 处理组所生成的血管数设为 100.0%, VEGF + ADAMTS13 组的血管数量为 VEGF 组的 43.5%, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

## 讨 论

近年来, 有文献相继报道 ADAMTS13 与多种疾病相关<sup>[5-6]</sup>。除 ADAMTS13 外, ADAMTS 家族中还有 19 个成员, 其生理学功能有细胞基质的组合、降解、止血、器官和血管形成的调节。ADAMTS 家族成员中 ADAMTS1、ADAMTS8 具有抗血管形成



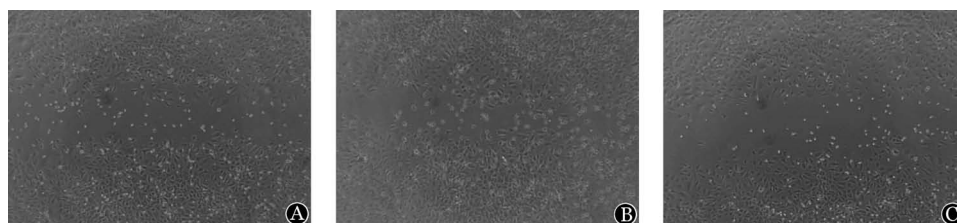
A: 对照组; B: 20 ng/ml VEGF 处理组; C: ADAMTS13 (100 nmol/L) 处理组; D: 100 nmol/L ADAMTS13 + 20 ng/ml VEGF 处理组

图 3 通过鸡胚绒毛尿囊膜实验观察血管性血友病因子裂解酶 (ADAMTS13) 对血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 诱导血管新生的影响



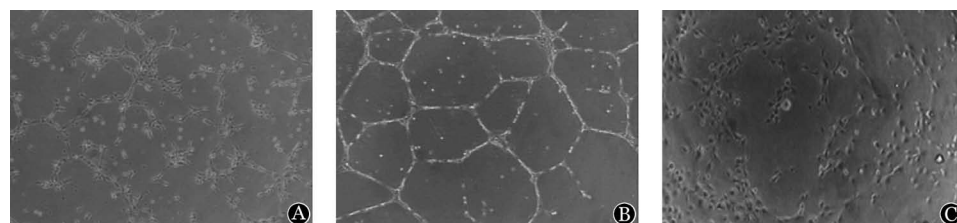
A: VEGF (250 ng) 处理组; B: VEGF (250 ng) + 100 nmol/L ADAMTS13 处理组

图 4 通过基质胶塞实验观察血管性血友病裂解酶 (ADAMTS13) 对血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 诱导血管新生的影响



A: 对照组; B: 10 ng/ml VEGF 处理组; C: 10 ng/ml VEGF + 100 nmol/L ADAMTS13 处理组

图 1 通过刮伤愈合实验观察血管性血友病因子裂解酶 (ADAMTS13) 对血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 诱导脐带静脉内皮细胞 (HUVEC) 迁移的影响 ( $\times 400$ )



A: 对照组; B: 10 ng/ml VEGF 处理组; C: 100 nmol/L ADAMTS13 + 10 ng/ml VEGF 处理组

图 2 通过管腔形成实验观察血管性血友病因子裂解酶 (ADAMTS13) 对血管内皮细胞生长因子 (VEGF) 诱导脐带静脉内皮细胞分化的影响 ( $\times 400$ )

功能<sup>[7-8]</sup>。ADAMTS13和其他家族成员有着相似的结构和氨基酸序列,特别是ADAMTS13具有8个I型TSP1<sup>[9-10]</sup>。TSP1是由血小板分泌的糖蛋白,也是多种细胞外基质的组成成份,是体内自然存在的血管新生抑制物。Simantov等<sup>[11]</sup>证实TSP1抑制血管新生是通过一种组氨酸含量丰富的糖蛋白介导的TSP1与CD36的交互作用来实现的。Lee等<sup>[15]</sup>发现ADAMTS13可抑制VEGF介导的血管形成,但ADAMTS13具有促进血管形成功能。本研究我们采用多种体内外实验证明ADAMTS13抑制VEGF介导的血管形成功能。ADAMTS13抑制HUVEC增殖,对内皮细胞和末梢PBMNC具有不同的易感性,对内皮细胞更为敏感。ADAMTS13并不抑制PBMNC的增殖。说明ADAMTS13的作用具有选择性和特异性。同样,ADAMTS13抑制内皮细胞的迁移和形成管状结构。ADAMTS13抑制VEGF诱导的内皮细胞增殖,ADAMTS13显著抑制VEGF诱导的内皮细胞迁移和分化成管状结构。VEGF诱导内皮细胞分化为管状结构[相对于对照组的比率是(450.6±16.6)%],ADAMTS13显著抑制VEGF诱导的内皮细胞分化成管状结构[相对于对照组的比率是(235.3±19.0)%]。与VEGF处理组相比,管状结构减少至52.2%。体外实验证明,ADAMTS13具有抑制内皮细胞增殖、迁移、分化功能。虽然ADAMTS13作用浓度(100 nmol/L)高于正常血浆浓度(5 nmol/L),但是高浓度蛋白酶对其他细胞无明显毒性。而且研究表明,ADAMTS13在体外的活性明显低于体内,可能是因为在体外缺少ADAMTS13的辅助因子和体内微环境。为了进一步证实体外实验结果,我们进行了体内抗血管生成实验。CAM实验和基质胶塞实验证明了体外实验的结果,ADAMTS13抑制CAM和基质胶塞血管形成,而且这个抑制作用是通过VEGF完成的。ADAMTS13的其他作用通道和VEGF相关的信号传导通路尚需进行深入的研究予以证实。

综上,本研究通过多种体内、外实验证实了ADAMTS13抑制血管形成的作用,有助于进一步了解在体内生理和病理情况下ADAMTS13的功能。

#### 参考文献

[1] Levy GG, Nichols WC, Lian EC, et al. Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytope-

nic purpura[J]. Nature, 2001, 413(6855):488-494.

- [2] Zheng X, Chung D, Takayama TK, et al. Structure of von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13), a metalloprotease involved in thrombotic thrombocytopenic purpura[J]. J Biol Chem, 2001, 276(44):41059-41063.
- [3] Schulman I, Pierce M, Lukens A, et al. Studies on thrombopoiesis. I. A factor in normal human plasma required for platelet production; chronic thrombocytopenia due to its deficiency[J]. Blood, 1960, 16:943-957.
- [4] Upshaw JD Jr. Congenital deficiency of a factor in normal plasma that reverses microangiopathic hemolysis and thrombocytopenia[J]. N Engl J Med, 1978, 298(24):1350-1352.
- [5] Horii M, Uemura S, Uemura M, et al. Acute myocardial infarction as a systemic prothrombotic condition evidenced by increased von Willebrand factor protein over ADAMTS13 activity in coronary and systemic circulation[J]. Heart Vessels, 2008, 23(5):301-307.
- [6] Jin SY, Tohyama J, Bauer RC, et al. Genetic ablation of Adamts13 gene dramatically accelerates the formation of early atherosclerosis in a murine model[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32(8):1817-1823.
- [7] Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications[J]. N Engl J Med, 1971, 285(21):1182-1186.
- [8] Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer[J]. N Engl J Med, 2004, 350(23):2335-2342.
- [9] Nyberg P, Xie L, Kalluri R. Endogenous inhibitors of angiogenesis[J]. Cancer Res, 2005, 65(10):3967-3979.
- [10] Ren B, Yee KO, Lawler J, et al. Regulation of tumor angiogenesis by thrombospondin-1[J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1765(2):178-188.
- [11] Simantov R, Febbraio M, Crombie R, et al. Histidine-rich glycoprotein inhibits the antiangiogenic effect of thrombospondin-1[J]. J Clin Invest, 2001, 107(1):45-52.
- [12] Apte SS. A disintegrin-like and metalloprotease (reprolysin-type) with thrombospondin type 1 motif (ADAMTS) superfamily: functions and mechanisms[J]. J Biol Chem, 2009, 284(46):31493-31497.
- [13] Le Goff C, Cormier-Daire V. The ADAMTS (L) family and human genetic disorders[J]. Hum Mol Genet, 2011, 20(R2):R163-R167.
- [14] Jaffe EA, Nachman RL, Becker CG, et al. Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria[J]. J Clin Invest, 1973, 52(11):2745-2756.
- [15] Lee M, Rodansky ES, Smith JK, et al. ADAMTS13 promotes angiogenesis and modulates VEGF-induced angiogenesis[J]. Microvasc Res, 2012, 84(2):109-115.

(收稿日期:2015-04-15)

(本文编辑:徐茂强)