

[文章编号] 1007-385X(2007)06-0593-03

血管内皮前体细胞与肿瘤血管发生

Endothelial progenitor cells and tumor vascularization

安江洪 综述, 陈正堂* 审阅 (第三军医大学 新桥医院 全军肿瘤研究所, 重庆 400037)

[摘要] 实体肿瘤的生长和演进依赖于肿瘤血管生成。肿瘤血管生成包括血管新生(angiogenesis)和血管发生(vasculogenesis), 内皮前体细胞(endothelial progenitor cells, EPC)参与的肿瘤血管发生在肿瘤血管生成中起主要作用。EPC 来源主要包括骨髓来源的 EPC、血管壁定留 EPC 和成体干细胞经血管内皮分化形成的 EPC, 不同来源 EPC 参与的血管发生过程在肿瘤血管生成中起重要作用。其中, 肿瘤干细胞作为肿瘤血管内皮前体细胞新来源的认识为研究肿瘤血管发生提供了新的思路。

[关键词] 肿瘤血管发生; 内皮前体细胞; 干细胞; 肿瘤干细胞

[中图分类号] R730.2 [文献标识码] A

实体肿瘤的生长依赖于肿瘤新生血管的形成。既往认为肿瘤血管来源于局部血管内皮细胞的迁移、增殖, 即血管新生过程(angiogenesis), 但不能很好解释肿瘤血管生成拟态(vasculogenic mimicry)等肿瘤血管生成特性, 基于肿瘤血管内皮细胞的抗肿瘤血管生成策略疗效也不尽如人意。近期研究发现内皮前体细胞(endothelial progenitor cells, EPC)参与的血管发生过程(vasculogenesis)在肿瘤血管生成中起重要作用^[1], 但 EPC 的来源和发生存在很多的争论。深入研究和阐明 EPC 的来源、增殖、分化和迁移的分子机制对设计从“源头”上抑制肿瘤血管生成的治疗策略有十分重要的意义。本文就 EPC 的来源、发生及其在肿瘤血管生成中的作用的研究进展进行综述。

1 骨髓源性 EPC 与肿瘤血管发生

在胚胎造血过程中, 造血干细胞位于卵黄囊内血岛的中央, 而 EPC 位于血岛的周边部位, 参与胚胎血管发生过程, 由于它们都表达 Flk-1、Tie-2、CD34 等分子标记, 有学者推测它们来源于共同的前体: 血液血管干细胞(hemangioblast)^[2]。1997 年 Asahara 等^[3]首次从人外周血中分离到可以分化为成熟内皮细胞的一类特殊血细胞, 命名为循环内皮祖细胞(circulating endothelial progenitor cells)。进一步研究发现, 循环 EPC 来源于骨髓干细胞, 受到动员时被激活、分化形成并释放入外周血的 EPC, 广泛参与成体组织生理性和病理性血管生成过程, 骨髓源性 EPC 也因此而备受关注。

Asahara 等^[3]利用能在血管内皮细胞特异受体基因 flk-1 或 Tie-2 启动子调控下组成性表达 β -半乳糖苷酶基因(lac-z)的转基因小鼠模型, 经体内移植结肠癌细胞后, 免疫组化观察发现移植瘤表达 flk-1 或 Tie-2 的 EPC。随后, 许多学者运用不同方法就骨髓源性 EPC 在肿瘤血管生成中的作用进行深入的研究。Beerepoot 等^[4]向骨髓 EPC 动员受到抑制的荷瘤小鼠

体内注入荧光标记的鼠源性 EPC 后, 经 PET(positron emission tomography, PET)技术直接观测到 EPC 循环定居到小鼠肿瘤血管处的整个过程。Nolan 等^[5]用清晰的成像技术观察遗传标记的 BM 前体细胞参与移植和自发性乳腺癌组织内血管发生的过程, 他们发现 BM 来源的 EPC 在肿瘤血管发生的早期阶段起关键性作用, 去除 BM 来源的 EPC 能显著得抑制肿瘤生长。恶性肿瘤细胞产生的多种细胞因子和趋化因子可能是骨髓 EPC 动员、归巢到在恶性肿瘤血管组织局部并参与肿瘤血管生成的重要分子机制。Rehman 等^[6]发现 VEGF 能迅速动员 VEGFR2⁺ 内皮前体细胞进入外周循环, VEGF/VEGFR 和 Ang-1/Tie-2 信号途径在骨髓 EPC 的动员、活化以及归巢于肿瘤局部组织并参与血管生成等过程中起重要作用。此外, Oh 等^[7]采用重组组织型纤维蛋白溶酶原激活剂 kringle 结构域通过抑制 EPC 分泌 VEGF, 从而有效地抑制 EPC 的增殖、迁移、分化, 为 EPC 作为抗肿瘤血管生长靶点提供了直接的证据。

然而, 近期的一些实验结果^[8-10]质疑骨髓源性 EPC 在多种肿瘤组织血管发生过程中的作用。Gothert 等^[8]用内皮细胞特异的诱导的转基因小鼠模型研究发现移植瘤血管内皮并不是来源于骨髓细胞。Vivek 等^[9]用骨髓来源的 lin-c-kit + Sca-1 + 干细胞(BM lin-细胞)移植入 Lewis 肺癌荷瘤小鼠, 以定量研究 BM lin-细胞在移植瘤内的分布, 他们发现仅有少量的 BM lin-细胞被募集到肿瘤组织内; 进一步荷瘤 EGFP 嵌合小鼠和 EGFP 转基因小鼠体内实验证实 BM lin-细胞并未

[基金项目] 国家自然科学基金项目(No. 30672076), 国家高技术研究发展计划“863”项目(2007AA02Z129)。Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30672076); The Major State Basic Research Development Program of China (No. 2007AA02Z129)

[作者简介] 安江洪(1974 -), 男, 贵州省印江市人, 博士生, 主治医师, 主要从事肿瘤生物治疗方面的研究。

* Corresponding author: E-mail: chenzhengtant@mail.tmmu.com.cn

参与功能性肿瘤血管形成;相反,新生血管主要来源于局部组织血管内皮细胞的迁移和增殖。BM 来源的 EPC 主要通过分泌肿瘤血管生成因子而不是通过直接分化为血管内皮细胞参与肿瘤血管生成^[10]。此外, Peters 等^[11]在经骨髓移植的肿瘤患者体内用染色体特异的标记定量研究发现,仅大约 5% 的新生肿瘤血管来源于 BM 的干细胞,显著低于小鼠肿瘤动物模型^[12] (大约 50% ~ 90%) 和小鼠自发性肿瘤(0 ~ 40%)^[13],提示骨髓源性 EPC 在人类肿瘤与实验性小鼠模型血管生成中的作用存在很大的差异,骨髓源性 EPC 在人类肿瘤血管生成中的作用尚需进一步观察,同时,应谨慎对待基于小鼠骨髓源性肿瘤血管生成模型的抗肿瘤血管生成策略向临床的转化应用。

2 血管壁定留 EPC 与肿瘤血管生成

有较多的实验研究发现 EPC 普遍定留于各种组织的血管壁内并参与血管壁完整性维持、血管损伤修复等生物学过程。Hu 等^[14]自小鼠主动脉外膜分离的 Sca-1⁺ EPC 具有克隆性增殖能力,在特定的培养条件下向平滑肌细胞等分化,体内实验发现 Sca-1⁺ EPC 与血管动脉粥样硬化的发生发展密切相关。Zengin 等^[15]发现 CD34⁺ CD31⁻ EPC 普遍存在于多种器官的大、中型血管壁内,体外特定条件下能分化为成熟的内皮细胞和巨噬细胞等并能形成血管腔样结构。令人感兴趣的是 CD34⁺ CD31⁻ EPC 经 DU-145 前列腺癌细胞诱导后能形成毛细血管样结构,提示血管壁定留的 EPC 可能通过分化、增殖、迁移等参与肿瘤血管发生过程。众所周知,组织器官的大、中型血管与远端的毛细血管存在异质性,血管壁内定留 EPC 是否为肿瘤血管发生新的来源尚缺乏有力的实验结果支持,相关的研究报道也较少。

3 组织干细胞和肿瘤干细胞经血管内皮分化参与肿瘤血管发生过程

在肿瘤生长的不同时期肿瘤血管生成具有不同的特点。早期肿瘤的“拟血管生成”是一种与传统的肿瘤血管生成途径完全不同的、不依赖内皮细胞的肿瘤细胞的血液供应方式,具有如下特点^[16]:(1)血管腔内层没有内皮细胞,而是一层基底膜样结构,内皮特异标记的免疫组化染色(FVⅢ、CD31、CD34 和 KDR 等)常呈阴性反应,血管壁主要由肿瘤细胞构成;(2)具有拟血管生成能力的肿瘤细胞仅存在于高侵袭性肿瘤,而非低侵袭性肿瘤或良性肿瘤;并表现出一种多能的、胚胎样的表型,与内皮细胞或基质形成有关的多种基因高表达。(3)随着肿瘤的不断生长可转化为内皮依赖的血管生成模式。早期肿瘤“拟血管生成”截然不同

的特性也暗示肿瘤血管发生可能直接来源于肿瘤细胞。

正常组织存在具有自我更新能力和多向分化潜能的成体干细胞群,成体干细胞的可塑性是生物体内普遍存在的现象。现已发现多种成体组织干细胞如皮肤干细胞、神经干细胞、肌干细胞等在特定的条件下定向分化为内皮细胞,而且分化过程是以信号介导的方式而非细胞融合的方式,缺氧和组织损伤是干细胞血管内皮分化的启动事件正常组织存在具有自我更新能力和多向分化潜能的成体干细胞群,成体干细胞的可塑性是生物体内普遍存在的现象。现已发现多种成体组织干细胞如皮肤干细胞、神经干细胞、肌干细胞等在特定的条件下定向分化为内皮细胞,而且分化过程是以信号介导的方式而非细胞融合的方式,缺氧和组织损伤是干细胞血管内皮分化的启动事件^[17]。近年来备受关注的肿瘤干细胞具有正常组织干细胞的基本特性,是肿瘤发生的“根源”,与肿瘤的发生、复发、侵袭转移等恶性表型密切相关。同样,肿瘤干细胞具有向其他胚层来源的细胞分化的能力^[18]。那么,正常组织干细胞和肿瘤干细胞是否经血管内皮分化参与肿瘤血管发生过程呢?

基于高侵袭性肿瘤具有多能的、胚胎样表型的研究结果,Hendrix 等^[19]用具有恶性高侵袭能力的 C8161 黑素瘤细胞移植入缺血小鼠肌肉组织中后发现,C8186 细胞表达了胚胎期血管发生特异的分子标记,并参与了缺血肌肉组织的血管网络形成,表明特定的微环境如缺氧等条件诱导下恶性肿瘤细胞向血管内皮细胞转分化(Transdifferentiation),恶性肿瘤细胞的可塑性是肿瘤血管生成的重要机制之一。最近,Bussolati 等^[20-21]的研究结果为正常组织干细胞经血管内皮分化参与肿瘤血管生成提供了直接的实验依据。他们发现自人正常肾组织和肾癌组织分离获得的 CD133⁺ 肾上皮前体细胞具有干细胞的生物学特性,但无致瘤性,当与 K1 肾癌细胞混合移植 SCID/NOD 小鼠后能明显增强癌细胞的致瘤能力并促进移植瘤的生长。移植瘤组织学检查发现肿瘤血管生成明显增强是致瘤能力增强的主要原因。进一步体内、外实验证实 CD133⁺ 肾上皮前体细胞在与肾癌细胞共培养等方式的诱导下发生血管内皮分化是其参与肾移植瘤血管生成并进而促进移植瘤生长的重要分子机制。以上研究结果表明:组织干细胞在细胞因子(包括自分泌和旁分泌)的刺激、诱导下可经血管内皮分化参与肿瘤血管生成过程,正常组织干细胞可能是肿瘤血管 EPC 新的来源。众所周知,CD133 是经典的肿瘤干细胞标记分子,除造血干细胞、血液肿瘤、内皮前体细胞和肾脏肿瘤外,CD133⁺ 细胞存在于脑肿瘤、前列腺癌、结肠癌、肝癌、肺癌等多种实

体肿瘤,具有多向分化和自我更新等干细胞特性,且 CD133⁺细胞较之于 CD133⁻细胞具有更强的致瘤能力^[22]。因此,不难推测肿瘤干细胞经血管内皮分化参与肿瘤血管生成可能是普遍的肿瘤血管发生机制。血管内皮前体细胞的肿瘤干细胞来源观点很好解释了肿瘤血管病理特点和生物学行为,也为深入研究肿瘤血管生成的分子机制提供了新的思路。

4 展 望

参与肿瘤血管发生的多种来源和发生表明肿瘤血管生成的复杂性。其中,骨髓源性 EPC 在肿瘤血管生成中的作用研究最为深入,但近年来受到一些实验结果的质疑;血管壁定留 EPC 参与肿瘤血管发生尚缺乏实验证据。正常组织干细胞和肿瘤干细胞作为肿瘤血管内皮前体细胞新来源的认识为研究肿瘤血管发生过程提供了新的切入点,逐渐受到关注,但仍有很多的问题尚未阐明:(1)肿瘤干细胞参与肿瘤发生和演进的分子机制尚不清楚;(2)肿瘤干细胞经血管内皮分化的分子机制及其与正常组织干细胞可塑性的分子机制有何差异均不了解。因此,深入阐明参与调控干细胞经血管内皮分化的分子机制,对设计基于肿瘤发生和肿瘤血管生成“源头”的肿瘤综合治疗手段有十分重要的意义。

[参 考 文 献]

- [1] Hillen F, Griffioen AW. Tumour vascularization: sprouting angiogenesis and beyond[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2007, 26(3-4): 489-502.
- [2] Wood HB, May G, Healy L, *et al.* CD34 expression patterns during early mouse development are related to modes of blood vessel formation and reveal additional sites of hematopoiesis[J]. *Blood*, 1997, 90(6): 2300-2311.
- [3] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, *et al.* Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis[J]. *Science*, 1997, 275(5302):964-967.
- [4] Beerepoot LV, Mehra N, Vermaat JSP, *et al.* Increased levels of viable circulating endothelial cells are an indicator of progressive disease in cancer patients[J]. *Ann Oncol*, 2004, 15(1):139-145.
- [5] Nolan DJ, Ciarrocchi A, Mellick AS, *et al.* Bone marrow-derived endothelial progenitor cells are a major determinant of nascent tumor neovascularization[J]. *Genes Dev*, 2007, 21(12): 1546-1558.
- [6] Rehman J, Li J, Orschell CM, *et al.* Peripheral bod “endothelial progenitor cells” are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors[J]. *Circulation*, 2003, 107(8): 1164-1169.
- [7] Oh HK, Ha JM, O E, *et al.* Tumor angiogenesis promoted by *ex vivo* differentiated endothelial progenitor cells is effectively inhibited

by an angiogenesis inhibitor, TK1-2[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(10): 4851-4859.

- [8] Gothert JR, Gustin SE, van Eekelen JA, *et al.* Genetically tagging endothelial cells *in vivo*: bone marrow-derived cells do not contribute to tumor endothelium[J]. *Blood*, 2004, 104(6):1769-1777.
- [9] Vivek R, Shinde Patil, Erik B, *et al.* Bone marrow-derived *lin-c-kit*⁺ *Sca-1*⁺ stem cells do not contribute to vasculogenesis in lewis lung carcinoma[J]. *Neoplasia*, 2005, 7(3):234-240.
- [10] De Palma M, Venneri MA, Galli R, *et al.* Tie2 identifies a hematopoietic lineage of proangiogenic monocytes required for tumor vessel formation and a mesenchymal population of pericyte progenitors[J]. *Cancer Cell*. 2005, 8(3):211-226.
- [11] Peters BA, Diaz LA, Polyak K, *et al.* Contribution of bone marrow-derived endothelial cells to human tumor vasculature[J]. *Nat Med*, 2005, 11(3):261-262.
- [12] Garcia-Barros M, Paris F, Cordon-Cardo C, *et al.* Tumor response to radiotherapy regulated by endothelial cell apoptosis[J]. *Science*, 2003, 300(5622):1155-1159.
- [13] Spring H, Schuler T, Arnold B, *et al.* Chemokines direct endothelial progenitors into tumor neovessels[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(50):18111-18116.
- [14] Hu Y, Zhang Z, Torsney E, *et al.* Abundant progenitor cells in the adventitia contribute to atherosclerosis of vein grafts in ApoE-deficient mice[J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(9):1258-1265.
- [15] Zengin E, Chalajour F, Gehling UM, *et al.* Vascular wall resident progenitor cells: a source for postnatal vasculogenesis[J]. *Development*, 2006, 133(8):1543-1551.
- [16] Furuya M, Nishiyama M, Kasaya Y, *et al.* Pathophysiology of tumor neovascularization[J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2005, 1(4): 277-290.
- [17] Wurmser AE, Nakashima K, Summers RG, *et al.* Cell fusion-independent differentiation of neural stem cells to the endothelial lineage[J]. *Nature*, 2004, 430(6997):350-356.
- [18] Zhang M, Rosen JM. Stem cells in the etiology and treatment of cancer[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2006, 16(1):60-64.
- [19] Hendrix MJ, Sefter RE, Sefter EA, *et al.* Transendothelial function of human metastatic melanoma cells: role of the microenvironment in cell-fate determination[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(3): 665-668.
- [20] Bussolati B, Bruno S, Grange C, *et al.* Isolation of renal progenitor cells from adult human kidney[J]. *Am J Pathol*, 2005, 166(2): 545-555.
- [21] Bruno S, Bussolati B, Grange C. *et al.* CD133⁺ renal progenitor cells contribute to tumor angiogenesis[J]. *Am J Pathol*, 2006, 169(6):2223-2235.
- [22] Eramo A, Lotti F, Sette G, *et al.* Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population[J]. *Cell Death Differ*, 2007, Nov 30 [Epub ahead of print].

[收稿日期] 2007-07-29

[修回日期] 2007-10-29

[本文编辑] 韩 丹