

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2008.06.020

· 综述 ·

循环内皮祖细胞及其与肿瘤关系的研究进展

Relationship between circulating endothelial progenitor cells and tumor: recent progress

厉倩综述, 谭龙益* 审阅(上海市第一人民医院宝山分院, 上海 200940)

[摘要] 内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC)是存在于骨髓和循环外周血的祖细胞亚群,具有在体内外分化为成熟内皮细胞的能力,参与血管发生和血管稳态。恶性肿瘤细胞产生多种细胞因子,使骨髓中的EPC动员至外周血,并募集到肿瘤组织的血管床,参与肿瘤血管生成、肿瘤生长和转移。外周血EPC水平与肿瘤的体积、抗新生血管治疗的反应性和预后等密切相关,因此EPC可作为肿瘤血管新生的生物标记物。EPC还可作为靶向肿瘤的细胞载体负载自杀基因、毒素或药物,为抗肿瘤治疗提供了新的途径。

[关键词] 内皮祖细胞;肿瘤;血管发生

[中图分类号] R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2008)06-0591-03

在胚胎发育过程中,血管是通过成血管细胞原位分化成内皮细胞(血管发生)而形成的。随着胚胎的生长,血管形成开始依赖血管再生。血管再生是血管形成的又一机制,通过现有血管网中的内皮细胞出芽完成。一直以来,人们认为血管发生只在胚胎时期发生,出生后机体的血管再生完全依靠血管新生。但近年的研究发现机体存在出生后血管发生,在其中起关键作用的是内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC)。EPC能够迁移、增殖、分化为成熟内皮细胞,形成血管网络,进而在各种生理、病理条件下发挥重要作用,尤其是与肿瘤血管形成的相关性提示EPC在肿瘤治疗方面的重要价值。

1 循环EPC的发现及其生物学特性

1997年,Asahara等^[1]在人外周血单个核细胞中发现了EPC亚群。有关EPC的定义由于缺乏单个特异的标志而显得很复杂。Uribich等^[2]定义EPC为有克隆表达能力和干细胞特性的能分化为内皮细胞的非内皮细胞。但在实际工作中,许多研究小组把EPC定义为外周血或骨髓来源的单个核细胞,这些细胞黏附诸如纤维凝集素、荆豆凝集素(UEA-1)等的基质分子并且吞噬乙酰化低密度脂蛋白(acLDL),这些细胞还能在体外形成管型^[1]。综合内皮和造血细胞标志的流式细胞分析也逐渐被用来检测EPC。EPC在体外不同的分化阶段表达不同的分子标志。早期不成熟EPC表达CD133、CD34等,晚期EPC丢失造血标志,而内皮细胞标志如VEGFR-2、CD62E等上调^[3]。目前,尽管缺乏单个特异分子标志,大多数观点认为早期EPC是CD133⁺CD34⁺VEGFR2⁺细胞,晚期EPC则丢失CD133,为CD34⁺VEGFR2⁺细胞。

EPC可用磁珠或流式分选技术自骨髓、外周血、脐带血等直接分离得到,也可以经外周血单个核细胞特殊培养后富集得到。EPC的数量可以通过计数黏附细胞中acLDL、UEA双阳性细胞及集落形成单位完成,也可以通过流式细胞仪计数。各文献报道外周血中EPC的数量从70~210/ml到3000~5000/ml不等,这种差异可能主要与分离的方法和步骤有关。每毫升外周血单个核细胞特殊培养后则能获得10⁵的EPC^[4]。

2 EPC的动员

尽管有关EPC动员的分子机制研究还处在早期阶段,但许多数据表明VEGF在其中起非常重要的作用^[5]。VEGF能活化MMP-9, MMP-9剪断骨髓基质细胞膜表面的干细胞因子Kit-L,从而释放游离Kit-L,游离Kit-L刺激cKit阳性的EPC,使EPC从静止状态转为增殖状态。另外,VEGF能上调SDF-1和SDF-1受体,SDF-1是EPC趋化因子,将招募EPC移向血管新生部位^[6]。最近的动物试验表明,SDF-1受体信号的阻断将中止祖细胞的归巢,而向靶器官中注射SDF-1则增加祖细胞的归巢^[7]。但是,就在同一研究中发现,当VEGF缺失时SDF-1不能增强骨髓来源的细胞招募,当SDF-1受体信号阻断时即使在高水平VEGF情况下,靶器官中骨髓来源的细胞仍然减少。因此,单独SDF-1不足以使EPC移向肿瘤,必须有诸如VEGF等的额外信号。另一方面,

[基金项目] 上海卫生局青年科技基金项目(No.2007Y43)。Supported by the Science Fund for Young Scholars of Shanghai Health Bureau (No.2007Y43)

[作者简介] 厉倩(1980-),女,浙江省东阳市人,硕士,主要从事肿瘤标志物方面的研究

* Corresponding author. E-mail: aqianmerry@yahoo.com.cn

有研究表明 SDF-1 是骨髓来源的细胞黏附必须的, 而细胞黏附将大大有助于血管形成部位 EPC 的停留。综上, VEGF 通过与 MMP、SDF-1 相互作用快速诱发 EPC 释放到血流中。临床研究也发现肿瘤病人外周血中的 VEGF 水平与 EPC 水平呈正相关^[8,9]。

诱导红细胞或白细胞动员的因素同样影响 EPC 的动员^[4], 如 GM-CSF、G-CSF。最近有数据表明促红细胞生成素、胎盘生长因子、血管生成素-1、一氧化氮、体育锻炼^[4]。雌激素^[10]、胰岛素样生长因子^[11]等都能促进 EPC 的动员。而 C 反应蛋白、肿瘤坏死因子- α 则降低 EPC 的数量和功能^[4]。对 EPC 动员机制的研究有利于对 EPC 参与的血管发生的调节研究, 从而有助于血管发生参与的各种病理状态的治疗和干预^[12]。

3 循环 EPC 在肿瘤血管生成中的作用

血管生成在肿瘤的生长和转移中非常重要, 那么 EPC 在其中起什么作用呢? 尽管 EPC 本来只在胚胎形成中支持血管生长, 但在成人在特定的血管生长环境中仍保留着该功能, 该功能即为出生后的血管发生。2001 年 Lyden 等^[13]首次描述了肿瘤诱导的血管发生。他们利用血管新生缺陷的 Id 缺陷小鼠制造淋巴瘤模型, 将同系野生型小鼠骨髓移植至 Id 缺陷淋巴瘤小鼠, 阐明 EPC 参与 90% 的血管新生。后续的更完善的动物移植试验则分别报道了 EPC 参与 50% 或 10% ~ 20% 的肿瘤血管新生。最近, Gao 等^[14]发现 EPC 是肿瘤转移的关键因素。但有研究人员则认为 EPC 对肿瘤的新生血管无明显作用。De Palma 等^[15]报道表达 TIE 的单核细胞而不是 EPC 归巢到肿瘤部位, 并与血管内皮细胞相互作用, 且他们在肿瘤血管中没找到 EPC。与他们相似, Gothert 等^[16]根据转基因小鼠模型中观察到的现象推论 EPC 可能不参与血管内皮的形成。这些争议的原因可能是鉴别 EPC 的不同技术方法及不同的动物模型。

以上的研究都是基于动物模型, 最近也有不少临床试验研究了 EPC 在人类恶性肿瘤血管形成中的作用。Peters 等^[17]研究了异性骨髓移植后的患者, 利用性染色体特异性探针原位杂交荧光技术, 发现骨髓来源的内皮细胞占头颈肉瘤肿瘤血管的 1%, 占淋巴瘤血管的 12%。这些数据与小鼠自发肿瘤模型中的数据较为接近。最近有多组研究在人类肿瘤血管中发现了 CD133⁺ 的 EPC, 且多种肿瘤患者外周血中 EPC 的水平上升, 如肺癌^[18]、肝癌^[9,19]、乳腺癌^[8]、结直肠癌^[20]、淋巴瘤^[21]。Iqreja 等^[15]发现淋巴瘤患者外周血中的 EPC 水平上升, 并在淋巴结血管结构和实质中都发现了 CD133⁺ CD34⁺ VEGFR2⁺ EPC。Dome 等^[18]发现非小细胞肺癌患者体内的循环 EPC 的水平很高, 并且

EPC 的水平与临床表现有一定的相关性。

总之, 多数观点认为 EPC 支持肿瘤血管生成, 但 EPC 在肿瘤血管生成中的贡献多少依具体情况而定, 如不同的实验模型、不同的检测技术、不同的肿瘤组织类型和肿瘤分期以及是否进行了抗肿瘤治疗。

4 循环 EPC 在肿瘤治疗中的意义

4.1 肿瘤血管新生的生物标记物

由于血管生成对肿瘤的进展至关重要, 临床工作者在评价肿瘤血管形成方面作了不懈的努力, 以了解病人对抗血管新生治疗的反应性, 预测抗血管新生治疗的效果。但到目前为止还没有可用的肿瘤血管新生的生物标记。因此, 找到非侵入性的肿瘤治疗反应性及肿瘤复发的生物标记在抗血管新生药物治疗方面尤其重要。

动物模型提示外周血循环 EPC 水平与肿瘤体积有一定的关联性^[14]。有些研究人员发现 EPC 的数量随抗肿瘤抗血管新生治疗而变化。最大剂量化疗引起外周血 EPC 水平上升, 而小剂量化疗则抑制 EPC 的数量和活力。Shaked 等^[22]报道抗血管新生药物能下调血管阻断剂引起的 EPC 动员。Iqreja 等^[21]发现淋巴瘤患者外周血中的 EPC 水平与疗效相关, 获完全缓解的患者外周血 EPC 水平下降, 而治疗后无效或仅部分缓解的患者 EPC 水平则不变或持续上升, 且发现淋巴结中的 EPC 水平与病灶大小及血管生成相关。Ho 等^[9]发现晚期不可手术切除肝癌患者的循环 EPC 水平显著高于可手术切除肝癌患者和肝硬化患者, 从而提示循环 EPC 的水平可能可用于肝癌患者的预后判断。Willett 等^[20]在一期临床试验中发现某抗 VEGF 抗体降低了结直肠癌患者的 EPC 数量及肿瘤血管密度。Batchelor 等^[23]报道已进入二期临床试验的 VEGF 抗体抑制剂(AZD2171)使肿瘤血管正常化, 缓解了恶性胶质瘤患者的水肿, 但一旦药物中断后则 EPC 数量增多, 且与影像学反映的肿瘤血管大小和密度呈正相关。

以上的研究均表明 EPC 是肿瘤血管新生的良好标记物, 可能在抗肿瘤抗血管新生治疗中发挥重要的作用。

4.2 抗肿瘤治疗的细胞载体

骨髓来源的循环 EPC 能归巢到肿瘤血管的特性为抗肿瘤治疗提供了新的途径。研究人员利用从体内分离得到的 EPC 作为细胞载体来负载自杀基因、毒素或抗血管药物^[24-25]。Davidoff 等^[24]将修饰了抗血管新生的 VEGFR-2 基因的小鼠 EPC 转入荷瘤小鼠, 结果发现该 EPC 显著抑制了肿瘤生长。Wei 等^[25]报道转了自杀基因的 EPC 清除了同种异体的小鼠转移性肺癌。然而, 由于肿瘤血管形成中的不同机制、不同的实验体

系中报道的 EPC 水平差异、血管发生与肿瘤组织学类型及分期的关联性, EPC 在抗肿瘤抗血管治疗中的作用作为仍需要进一步的研究来证实。

5 结 语

总之, 大多数研究表明 EPC 参与肿瘤的新生血管形成, 在肿瘤的诊断和治疗方面有重要价值。但由于 EPC 在外周血中数量少, 缺乏特异的分子标志, EPC 参与的肿瘤血管形成是多步骤多因素的过程, EPC 在肿瘤新生血管形成中是否必不可少, 以及血管发生和血管新生在其中的比重如何等需要进一步的研究。EPC 能否作为肿瘤血管形成的生物标记及抗肿瘤治疗的细胞载体并更好地发挥抗肿瘤作用等也需要更深入的探讨。

[参 考 文 献]

- [1] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, *et al.* Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis[J]. *Science*, 1997, 275(5302): 964-947.
- [2] Urbich C, Dimmeler S. Endothelial progenitor cells functional characterization[J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2004, 14(8):318-322.
- [3] Murohara T, Ikeda H, Duan J, *et al.* Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization[J]. *J Clin Invest*, 2000, 105(11):1527-1536.
- [4] Dome B, Dobos J, Tovari J, *et al.* Circulating bone marrow-derived endothelial progenitor cells: characterization, mobilization, and therapeutic considerations in malignant disease[J]. *Cytometry (Part A)*, 2008, 73(3):186-193.
- [5] Khakoo AY, Finkel T. Endothelial progenitor cells[J]. *Annu Rev Med*, 2005, 56: 79-101.
- [6] De Falco E, Porcelli D, Torella AR, *et al.* SDF-1 involvement in endothelial phenotype and ischemia-induced recruitment of bone marrow progenitor cells[J]. *Blood*, 2004, 104(12): 3472-3482.
- [7] Kollet O, Spiegel A, Peled A, *et al.* Rapid and efficient homing of human CD34(+)CD38(-/low)CXCR4(+) stem and progenitor cells to the bone marrow and spleen of NOD/SCID and NOD/SCID/B2m(null) mice[J]. *Blood*, 2001, 97(10):3283-3291.
- [8] Furstenberger G, von Moos R, Lucas R, *et al.* Circulating endothelial cells and angiogenic serum factors during neoadjuvant chemotherapy of primary breast cancer[J]. *Br J Cancer*, 2006, 94(4):524-531.
- [9] Ho JW, Pang RW, Lau C, *et al.* Significance of circulating endothelial progenitor cells in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2006, 44(4):836-843.
- [10] Suriano R, Chaudhuri D, Johnson RS, *et al.* 17Beta-estradiol mobilizes bone marrow-derived endothelial progenitor cells to tumors [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(15): 6038-6042.
- [11] Maeng YS, Choi HJ, Kwon JY, *et al.* Endothelial progenitor cell homing: prominent role of the IGF2-IGF2R-PLC β 2 axis[J]. *Blood*, [2008 - 10 - 02]. [Epub ahead of print]
- [12] Zhang GY, Yi CG, Li X, *et al.* Proliferation hemangiomas formation through dual mechanism of vascular endothelial growth factor mediated endothelial progenitor cells proliferation and mobilization through matrix metalloproteinases 9[J]. *Med Hypotheses*, 2008, 70(4): 815-818.
- [13] Lyden D, Hattori K, Dias S, *et al.* Impaired recruitment of bone marrow-derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumor angiogenesis and growth[J]. *Nat Med*, 2001, 7(11):1194-1201.
- [14] Gao DC, Nolan DJ, Mellick AS, *et al.* Endothelial progenitor cells control the angiogenic switch in mouse lung metastasis[J]. *Science*, 2008, 319(5860):195-198.
- [15] De Palma M, Venneri MA, Roca C, *et al.* Targeting exogenous genes to tumor angiogenesis by transplantation of genetically modified hematopoietic stem cells[J]. *Nat Med*, 2003, 9(6):789-795.
- [16] Gothert JR, Gustin SE, van Edkelen 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.
- [17] 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.
- [18] Dome B, Timar J, Dobos J, *et al.* Identification and clinical significance of circulating endothelial progenitor cells in human non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(14):7341-7347.
- [19] Yu D, Sun X, Qiu Y, *et al.* Identification and clinical significance of mobilized endothelial progenitor cells in tumor vasculogenesis of hepatocellular carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(13): 3814-3824.
- [20] Willett G, Boucher Y, di Tomaso E, *et al.* Direct evidence that the VEGF-specific antibody bevacizumab has antivascular effects in human rectal cancer[J]. *Nat Med*, 2004, 10(2):145-147.
- [21] Igreja C, Courinha M, Cachaco AS, *et al.* Characterization and clinical relevance of circulating and biopsy-derived endothelial progenitor cells in lymphoma patients[J]. *Haematologica*, 2007, 92(4): 469-477.
- [22] Shaked Y, Ciarrocchi A, Franco M, *et al.* Therapy-induced acute recruitment of circulating endothelial progenitor cells to tumors[J]. *Science*, 2006, 313(5794):1785-1787.
- [23] Batchelor TT, Sorensen AG, di Tomaso E, *et al.* AZD2171, a pan-VEGF receptor tyrosine kinase inhibitor, normalizes tumor vasculature and alleviates edema in glioblastoma patients[J]. *Cancer Cell*, 2007, 11(1):83-95.
- [24] Davidoff AM, Ng CY, Brown P, *et al.* Bone marrow-derived cells contribute to tumor neovascular and, when modified to express an angiogenesis inhibitor, can restrict tumor growth in mice[J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(9): 2870-2879.
- [25] Wei J, Blum S, Unger M, *et al.* Embryonic endothelial progenitor cells armed with a suicide gene target hypoxic lung metastases after intravenous delivery[J]. *Cancer Cell*, 2004, 5(5): 477-488.

[收稿日期] 2008 - 10 - 15

[修回日期] 2008 - 12 - 01

[本文编辑] 韩丹