

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20190351

血管内皮祖细胞鉴定及其促血管新生机制的研究进展

潘天岳, 刘 浩, 符伟国, 董智慧*

复旦大学附属中山医院血管外科, 上海 200032

[摘要] 血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)既往被认为在出生后血管新生中发挥主要作用。1997年 Asahara 等从外周血分离出表达 CD34 抗原的单个核细胞,即血管内皮祖细胞(endothelial progenitor cells,EPCs)。EPCs 是一类具有促血管生成能力的干细胞总称,尚未发现特异性免疫表型,故主要根据具有形成血管的功能鉴定。目前一般认为,EPCs 来源于骨髓和外周血管壁,其中能分化为 ECs 者被称为内皮集落形成细胞(endothelial colony forming cells,ECFCs)。当组织缺血或损伤时,来自骨髓的 EPCs 被组织释放的损伤信号动员后进行迁移和归巢。活化的 EPCs 通过旁分泌作用招募更多的局部 ECFCs 和 ECs 来形成微血管,进而促进组织修复。因此,对 EPCs 的深入研究有助于临床上治疗性血管新生相关研究的进行和方法的发展。

[关键词] 血管内皮祖细胞;内皮集落形成细胞;治疗性血管新生

[中图分类号] R 783 **[文献标志码]** A

Research progress on vascular endothelial progenitor cells and their mechanism of promoting angiogenesis

PAN Tian-yue, LIU Hao, FU Wei-guo, DONG Zhi-hui*

Department of Vascular Surgery, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

[Abstract] Endothelial cells (ECs) were considered to play a main role in postnatal angiogenesis until CD34⁺ mononuclear cells were isolated from peripheral blood by Asahara et al in 1997, and these cells were named as putative endothelial progenitor cells (EPCs). EPCs are a group of stem cells with angiogenic function, and have no specific immunophenotype. Identification of EPCs is mainly based on their vasculogenic ability. It is widely recognized that EPCs originate either from bone marrow or peripheral vascular wall. The cells which can differentiate to immature endothelial cells *in vitro* are called endothelial colony forming cells (ECFCs). Signals release from ischemic tissues mobilize the EPCs from bone marrow and guide them to migrate and home to the ischemic sites. The active EPCs recruit more resident ECFCs and ECs to form neomicrovessels and then promote the tissues repair. More intensive studies on the nature of EPCs will contribute to the development of clinical therapeutic angiogenesis research and methods.

[Key Words] endothelial progenitor cells; endothelial colony forming cells; therapeutic angiogenesis

母体怀孕 3 周内,卵黄囊和母体循环系统通过弥散的方式为胚胎提供营养和氧气。3 周后,中胚层的血岛结构开始形成原始脉管系统^[1]。血岛中央为造血干细胞群,周围少量细胞为血管母细胞或更早期的干细胞群,两者可能有共同的前体,即血液母细胞。通常认为,血岛周围的内皮母细胞转化为内皮祖细胞后最终分化为内皮细胞(endothelial cells, ECs),组建毛细血管网,在所处的内环境作用

下塑形为动脉、静脉和毛细血管系统。

出生后,血管新生的主要参与者为机体局部原有的 ECs。ECs 在一定诱因(如组织损伤、缺氧、缺血、炎症)作用下发生增殖和迁移,形成新的微血管结构^[2]。1997 年,Asahara 等^[3]从人外周血中分离出表达 CD34 的单个核细胞,其在体外培养后可增殖并传代,同时 CD31、TIE-2 等内皮特异性标志物增加,形态与 ECs 相似;在小鼠缺血模型上进行尾

[收稿日期] 2019-03-17

[接受日期] 2019-05-27

[基金项目] 国家自然科学基金(81970407),上海市优秀学术带头人(19XD1401200),上海市卫生计生系统优秀学科带头人培养计划(百人计划,2018BR40),复旦大学附属中山医院人才培养计划-优秀骨干计划(2015ZSYXGG02)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81970407), Shanghai Excellent Academic Leader (19XD1401200), Shanghai Health Family Planning System Excellent Discipline Leader Training Program (Hundred Persons Program, 2018BR40), and Talent Training Program of Zhongshan Hospital, Fudan University Excellent Backbone Program (2015ZSYXGG02)。

[作者简介] 潘天岳,博士,住院医师。E-mail:tianyuepan@126.com

*通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-64041990, E-mail: dzh926@126.com

静脉注射后,该细胞群定植于肌纤维间的新生微血管周围,其中部分参与微血管的形成。该研究团队将该细胞群称为“EC progenitors”,为从成人体内分离和鉴定内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)的最早研究成果。

1 EPCs的鉴定方法

1.1 纤维连接蛋白(FN)培养分离 使用包被 FN 的培养板接种外周血单个核细胞,48 h 后去除不贴壁的细胞,贴壁细胞中能吞噬低密度脂蛋白并与植物凝集素结合者可鉴定为 EPCs。这种方法简单易行、成本低,但是存在细胞群混杂,其中大多数细胞为外周血单核-巨噬细胞^[4]的缺点。而外周血单核-巨噬细胞既表达低密度脂蛋白受体和清道夫受体,也能吞噬低密度脂蛋白。因此,这种方法分离的 EPCs 纯度较低,不利于在后续实验中精确地分析 EPCs 的功能。

1.2 荧光激活或免疫磁珠分选 使用荧光激活分选系统(FACS)或免疫磁珠分选法分离 EPCs。其原理为使用偶联荧光素或磁珠的单克隆抗体,将其与表达相关抗原的细胞结合,再通过分选系统识别被标记的细胞并从外周血中分离出来^[5]。因此,这种方法的准确性依赖于对抗体的选择。其中,最经典的抗体组合是由 Peichev 等^[5]及 Timmermans 等^[6]提出的 $CD34^+CD133^+VEGRF2^+$,该组合引起了广泛关注。然而,Case 等^[7]指出,通过这个组合分离出的细胞群最终形成表达特异性抗原 CD45 的造血干细胞群落,而非 EPCs 群落。Duda 等^[8]提出了 $CD34^+CD31^+CD45^-CD133^+$ 组合,并通过流式细胞术在外周血单个核细胞中分离出了该细胞群落,其占单个核细胞总数的 0.01%~0.20%。总之,通过抗体介导的分选方法简单、快速,分选结果在不同个体的标本中具有较高的一致性。但是,目前研究者们仍未找到 EPCs 特异性的表面抗体,使该分选方法精确性降低。

1.3 内皮集落形成细胞(endothelial colony forming cells, ECFCs)鉴定法 该方法由 Yodar 等提出,相较于前 2 种方法,该方法更侧重于 ECs 功能学检测^[9-10]。具体方法为从外周血、骨髓或脐带血中分离单个核细胞后,将其接种于包被了 FN 的培养皿上,用含 5%~10% 胎牛血清的促血管内皮生长培养基(如 EGM-2)培养 24~48 h 后,去除未贴壁细胞,贴壁细胞继续生长,14~21 d 内出现的

典型“铺路石”样细胞集落即 ECFCs。

ECFCs 除具有已知的全部 EPCs 特性外,还表达 ECs 的标志性表面抗原,且不表达任何白细胞和髓系标志物^[11]。ECFCs 具有较强的增殖能力,在体外成小管实验中能形成内皮样管样结构,且在动物模型中参与微血管的形成^[12-13]。因此,ECFCs 常被认为是 EPCs 家族中的主要成员,甚至能代表 EPCs。另有研究^[14]将 ECFCs 称为晚期内皮祖细胞(LEPCs)或 OECs(outgrowth endothelial cells)。最近一项研究^[15]显示,在 ECFCs 群落中,可分离出 $CD34^+$ 和 $CD34^-$ 细胞。大部分 $CD34^+$ ECFCs 有较强的自我更新能力,以及高水平的 Notch 信号通路蛋白,使细胞周期处于 G_0/G_1 期;而 $CD34^-$ ECFCs 大多处于 S/ G_2 M 期,更接近于分化成熟的 ECs,自我更新能力和集落形成能力弱,但增殖能力强^[11]。这提示可以从基因及细胞周期水平鉴定 EPCs。

2 EPCs 的来源

自从 1997 年 Asahara 等提出出生后 EPCs 的概念后,有关成人体内 EPCs 的来源一直存在争议。目前,一般认为外周血 EPCs 可能同时来源于骨髓造血系干细胞和外周或骨髓组织的非造血系干细胞^[16]。

来源于骨髓造血系的 EPCs 与造血干细胞可能有相同的前体细胞,如血液母细胞。这些细胞表达与造血干细胞相同的抗原 CD34、CD133 等。在使用 ECFCs 法培养 48 h 后分离出的不贴壁细胞继续生长 5~7 d 可形成集落形成单位(colony-forming units, CFU),这些细胞被称为 CFU-ECs,或早期 EPCs。这些细胞表达 CD14、CD45 等髓系细胞表面抗原,形态呈纺锤样或多边形,能够分泌大量的促血管新生细胞因子,但很少融合入 ECs 形成的血管网^[12]。此外,有研究^[17-18]发现有些造血系来源的 EPCs 并不形成 CFU,但有潜力在体外或体内形成血管样结构。一些研究^[19-20]甚至发现,来自髓系的单核-巨噬系统的干细胞或祖细胞可在特定微环境下形成血管内皮。目前已报道的来自骨髓造血系的 EPCs 种类丰富,这些 EPCs 可能均由髓系干细胞分化而成。

非造血系来源的 EPCs 不表达或极少表达 CD14 和 CD45,且经体外培养后,其形态和功能学与造血系来源的 EPCs 也不同。Yodar 等^[21]分离出

的 ECFCs 是非造血系来源的 EPCs, 而可能直接来源于外周器官的血管壁。Fang 等^[22]发现, 这些存在于血管壁的 EPCs 表达 CD117。Schniedermann 等^[23]从小鼠肺组织微血管分离 ECFCs, 发现其具有较强的形成血管和淋巴管的潜能。Rapp 等^[24]从胎盘中分离出 ECFCs, 其不表达 CD34 和 CD45 表面抗原, 并且显示出比脐血 ECFCs 更强的血管生成能力。

上述研究表明, CFU-ECs 和其他大量表达 CD14 或 CD45 的 EPCs 来源于骨髓造血系干细胞, 而 ECFCs 来源于外周器官的血管壁和骨髓非造血系干细胞。

3 EPCs 参与出生后血管新生的机制

Asahara 等^[3]发现, 静脉注射的外周血 CD34⁺ 单个核细胞可以在小鼠缺血肢体中直接融合入新生微血管管壁, 有些直接形成微血管; 而 CD34⁻ 单个核细胞聚集在肌纤维周围, 不参与微血管形成。Schattenman 等^[25]在糖尿病免疫缺陷小鼠的肢体缺血模型中, 经肌肉注射植入人 CD34⁺ 细胞, 结果发现缺血肢体血流灌注加速恢复。上述研究提示部分 EPCs 通过融合入新生微血管壁来促进其生成, 增加血流灌注。这些直接参与新生血管形成的 EPCs 的来源一直是研究重点^[25]。HU 等^[26]将 BALB/c 小鼠的动脉移植入 C57BL/6/TIE2-LacZ 小鼠后, 观察到宿主骨髓来源的表达 β -Gal⁺ 的细胞参与供体血管壁的内皮增生。有研究^[27-28]在下肢缺血和心肌缺血造成的损伤组织中也观察到骨髓来源的 EPCs 直接参与血管新生。Perry 等^[29]来自 C57BL/6J 小鼠的骨髓细胞移植入 eNOS^{-/-} 小鼠, 4 周后仅在血液中和血管周围发现供体细胞, 而未在血管内皮中发现供体细胞嵌合, 提示骨髓 EPCs 不直接参与正常衰老的 ECs 自我更新。而 Aicher 等^[30]在异种共生态模型和 LacZ⁺ 供体/LacZ⁻ 受体模型中发现, 供体动物非骨髓来源的 EPCs 直接参与受体动物肢体缺血后的血管内皮再生, 比例高于骨髓来源的 EPCs。由此可见, 骨髓和非骨髓来源的 EPCs 都能直接参与组织损伤后新生血管内皮的形成, 而非骨髓来源的 EPCs 可能直接参与衰老血管内皮的更新。

除直接参与血管内皮形成外, EPCs 旁分泌细胞因子也可促进血管新生。Urbich 等^[31]用基因微阵列技术对比了人外周血 EPCs、脐静脉 ECs 和微

血管 ECs 的促血管新生相关基因的表达情况, 发现血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor A, VEGF-A)、VEGF-B、基质细胞衍生因子 1 (stromal cell derived factor-1, SDF-1) 和类胰岛素生长因子 (insulin-like growth factor-1, IGF-1) 的 mRNA 在 EPCs 中的表达量明显高于 ECs; 在 EPCs 培养液中, 这些细胞因子含量也较高。Miyamoto 等^[32]从骨髓中分离出高表达 VEGF-A、成纤维细胞生长因子 2 (fibroblast growth factor-2, FGF-2) 和肝细胞生长因子 (hepatocyte growth factor, HGF) 的细胞亚群, 说明这些起旁分泌作用的 EPCs 部分来源于骨髓。研究^[33-34]在动物缺血模型中发现, 植入的 EPCs 停留于微血管壁外, 周围有大量 VEGF, 提示 EPCs 在损伤组织内通过旁分泌细胞因子促进血管新生。Sahoo 等^[35]发现, 人外周血 CD34⁺ 细胞能分泌促血管新生的外泌体; 体外和体内实验显示, 新生血管形成与外泌体含量呈剂量依赖关系。外泌体中除包含生长因子和促血管新生因子外, 还包含微小 RNAs (miRNAs)。研究^[36]证实, miRNAs 可以通过表观遗传学方式调控 EPCs 的旁分泌作用, 促进血管新生。总之, 部分 EPCs 可能通过旁分泌生长因子、细胞因子和外泌体诱导周围 ECs 迁移和增殖, 促进新生血管形成; EPCs 可能来源于骨髓造血系统。EPCs 参与新生血管形成的机制见图 1。

近期, Yodar 等^[37-38]将上述 2 种机制进行了统一: 造血系来源的 EPCs 首先归巢至缺血或损伤的组织, 然后通过旁分泌促血管新生因子招募血液中及周围组织中的 ECFCs 至损伤处, 直接介入血管内皮形成, 并进一步通过分泌细胞因子促进已有 ECs 增殖和自我更新。基于这种理论, 组织损伤的修复能力可能取决于局部 ECFCs 的含量。肾脏微血管 ECs 增殖能力较弱, 表现为急性肾损伤后组织内血管新生极少, 而有的器官 ECs 体外培养时则表现出较强的增殖能力^[39], 可能提示不同器官内 ECFCs 数量差别较大。

如前所述, 造血系来源的 EPCs 需要归巢至损伤组织才能进一步发挥作用。而在归巢前, 这些细胞须经历动员、迁移、黏附等步骤。Dawei 等^[40]总结了这些过程所涉及的细胞及相关分子机制: 组织损伤后向血液中释放 VEGF、SDF-1 等细胞因子, 通过 SDF-1/CXCR4 轴或 eNOS/NO/MMP-9/kitL 轴使骨髓造血系 EPCs 与骨髓间质细胞脱离, 并向外

周血迁移;EPCs 顺 SDF-1 浓度梯度向损伤组织处迁移,通过整联素和 P 选择素黏附和定植于损伤的血管内皮,进一步通过旁分泌作用促进血管生成。阿卡波糖、维生素 D 等药物可通过直接或间接增强

以上途径来增强 EPCs 的促血管新生作用^[41]。总之,骨髓来源的 EPCs 是修复组织损伤的先驱,为 ECFCs 和其他 EPCs 提供了增殖和分化的有利环境,且同时促进原有 ECs 的迁移和增殖。

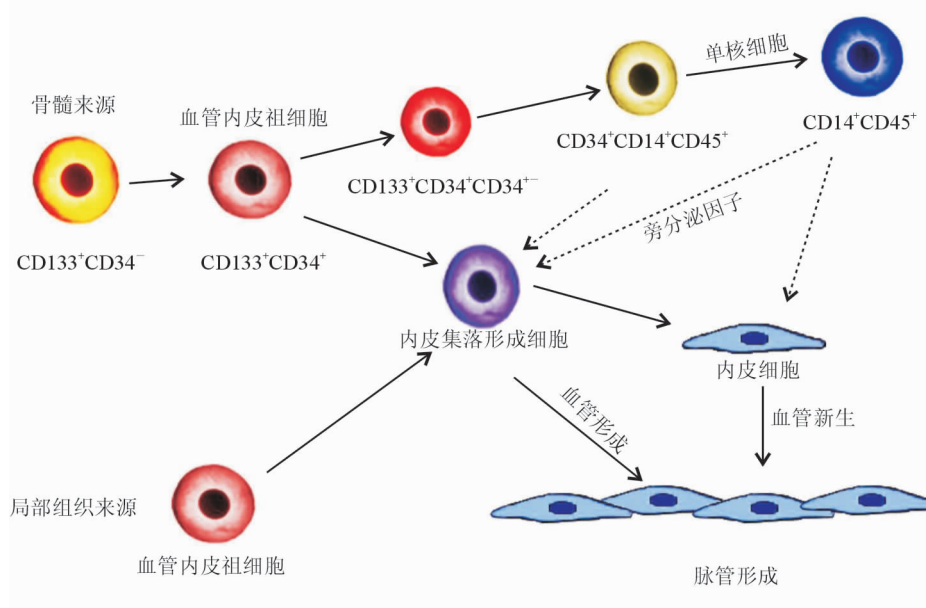


图1 血管内皮祖细胞分化过程及促进出生后血管新生机制

4 总结与展望

EPCs 的发现填补了出生后血管新生领域的空白。随后,其来源、作用和促进血管新生的机制逐渐获得深入研究。大量动物缺血和组织损伤模型验证了 EPCs 修复组织和血管再生的能力,为临床上基于 EPCs 的治疗性血管新生提供了理论依据。由于近年来发现单纯的 EPCs 移植常达不到预期的治疗目标,在此基础上加强 EPCs 的促血管新生作用的方法逐渐被探讨,如在移植前缺氧预处理 EPCs^[42]或采用微应力刺激促进 EPCs 增殖^[43]。随着 EPCs 研究的不断深入,相信 EPCs 在临床上将得到更广泛的应用。

参考文献

- [1] RISAU W, SARIOLA H, ZERWES H G, et al. Vasculogenesis and angiogenesis in embryonic-stem-cell-derived embryoid bodies[J]. *Development*, 1988, 102(3): 471-478.
- [2] QADURA M, TERENCE D C, VERMA S, et al. Concise review: cell therapy for critical limb ischemia: an integrated review of preclinical and clinical studies[J]. *Stem Cells*, 2018, 36(2): 161-171.
- [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] CHOPRA H, HUNG M K, KWONG D L, et al. Insights into endothelial progenitor cells: origin, classification, potentials, and prospects [J]. *Stem Cells Int*, 2018, 2018: 9847015.
- [5] PEICHEV M, NAIYER A J, PEREIRA D, et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors[J]. *Blood*, 2000, 95(3):952-958.
- [6] TIMMERMAN F, PLUM J, YODER M C, et al. Endothelial progenitor cells: identity defined? [J]. *J Cell Mol Med*, 2009, 13(1):87-102.
- [7] CASE J, MEAD L E, BESSLER W K, et al. Human CD34+ AC133+ VEGFR-2+ cells are not endothelial progenitor cells but distinct, primitive hematopoietic progenitors [J]. *Exp Hematol*, 2007, 35(7):1109-1118.
- [8] Duda D G, Cohen K S, Scadden D T, et al. A protocol for phenotypic detection and enumeration of circulating endothelial cells and circulating progenitor cells in human blood[J]. *Nat Protoc*, 2007, 2(4):805-810.
- [9] 李国强, 刘珍珍, 孙晟轩, 等. 人脐血来源 CD34+ 内皮祖细胞的分离、培养、鉴定及集落形成特性[J]. *中国免疫学杂志*, 2013, 29(6):575-579.
- [10] FERRERAS C, COLE C L, URBAN K, et al. Segregation of late outgrowth endothelial cells into functional endothelial CD34+ and progenitor-like CD34+ cell populations [J].

- Angiogenesis, 2015, 18(1):47-68.
- [11] PATEL J, DONOVAN P, KHOSROTEHRANI K. Concise review: functional definition of endothelial progenitor cells: a molecular perspective[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5(10):1302-1306.
- [12] ATTAR A, MONABATI A, PARSANEZHAD M E. Endothelial progenitor cell subsets and preeclampsia: Findings and controversies[J]. *J Chin Med Assoc*, 2017, 80(10): 615-622.
- [13] KEIGHRON C, LYONS C J, CREANE M, et al. Recent advances in endothelial progenitor cells toward their use in clinical translation [J] . *Front Med (Lausanne)*, 2018, 5: 354.
- [14] MA B, DOHLE E, LI M, et al. TLR4 stimulation by LPS enhances angiogenesis in a co-culture system consisting of primary human osteoblasts and outgrowth endothelial cells [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017, 11(6): 1779-1791.
- [15] TASEV D, KONIJNENBERG L S, AMADO-AZEVEDO J, et al. CD34 expression modulates tube-forming capacity and barrier properties of peripheral blood-derived endothelial colony-forming cells (ECFCs) [J]. *Angiogenesis*, 2016, 19(3): 325-338.
- [16] ASAHARA T, KAWAMOTO A, MASUDA H. Concise review: Circulating endothelial progenitor cells for vascular medicine[J]. *Stem Cells*, 2011,29(11):1650-1655.
- [17] SHARPE E R 3RD, TELERON A A, LI B, et al. The origin and in vivo significance of murine and human culture-expanded endothelial progenitor cells [J]. *Am J Pathol*, 2006,168(5):1710-1721.
- [18] HARRAZ M, JIAO C, HANLON H D, et al. CD34⁺ blood-derived human endothelial cell progenitors[J]. *Stem Cells*, 2001,19(4):304-312.
- [19] FADINI G P, FERRARO F, QUAINI F, et al. Concise review: diabetes, the bone marrow niche, and impaired vascular regeneration[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2014, 3(8): 949-957.
- [20] MOLDOVAN N I. Role of monocytes and macrophages in adult angiogenesis: a light at the tunnel's end [J]. *J Hematother Stem Cell Res*, 2002,11(2):179-194.
- [21] FERRERAS C, COLE C L, URBAN K, et al. Segregation of late outgrowth endothelial cells into functional endothelial CD34⁺ and progenitor-like CD3⁺ cell populations [J]. *Angiogenesis*, 2015, 18(1):47-68.
- [22] FANG S, WEI J, PENTINMIKKO N, et al. Generation of functional blood vessels from a single c-kit⁺ adult vascular endothelial stem cell [J]. *Plos Biology*, 2012, 10(10):e1001407.
- [23] SCHNIEDERMANN J, RENNECKE M, BUTTLER K, et al. Mouse lung contains endothelial progenitors with high capacity to form blood and lymphatic vessels[J]. *BMC Cell Biol*, 2010,11:50.
- [24] RAPP B M, SAADATZEDEH M R, OFSTEIN R H, et al. Resident endothelial progenitor cells from human placenta have greater vasculogenic potential than circulating endothelial progenitor cells from umbilical cord blood[J]. *Cell Med*, 2012, 2(3):85-96.
- [25] SCHATTEMAN G C, HANLON H D, JIAO C, et al. Blood-derived angioblasts accelerate blood-flow restoration in diabetic mice[J]. *J Clin Invest*, 2000,106(4):571-578.
- [26] HU Y, DAVISON F, ZHANG Z, et al. Endothelial replacement and angiogenesis in arteriosclerotic lesions of allografts are contributed by circulating progenitor cells[J]. *Circulation*, 2003,108(25):3122-3127.
- [27] LIU X, YANG J, LI Z, et al. Hyperbaric oxygen preconditioning promotes neovascularization of transplanted skin flaps in rats[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(8): 4734-4744.
- [28] LANDERS-RAMOS R Q, SAPP R M, JENKINS N T, et al. Chronic endurance exercise affects paracrine action of CD31⁺ and CD34⁺ cells on endothelial tube formation[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2015, 309(3): H407- H420.
- [29] PERRY T E, SONG M, DESPRES D J, et al. Bone marrow-derived cells do not repair endothelium in a mouse model of chronic endothelial cell dysfunction [J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 84(2):317-325.
- [30] AICHER A, RENTSCH M, SASAKI K, et al. Nonbone marrow-derived circulating progenitor cells contribute to postnatal neovascularization following tissue ischemia [J]. *Circ Res*, 2007,100(4):581-589.
- [31] URBICH C, AICHER A, HEESCHEN C, et al. Soluble factors released by endothelial progenitor cells promote migration of endothelial cells and cardiac resident progenitor cells[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2005,39(5):733-742.
- [32] MIYAMOTO Y, SUYAMA T, YASHITA T, et al. Bone marrow subpopulations contain distinct types of endothelial progenitor cells and angiogenic cytokine-producing cells. [J]. *J Mol Cell Cardiol* 2007, 43(5): 627-635.
- [33] GUERRA G, PERROTTA F, TESTA G. Circulating endothelial progenitor cells biology and regenerative medicine in pulmonary vascular diseases[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2018, 19(9): 700-707.
- [34] KE X, YANG D, LIANG J, et al. Human endothelial progenitor cell-derived exosomes increase proliferation and angiogenesis in cardiac fibroblasts by promoting the mesenchymal-endothelial transition and reducing high mobility group box 1 protein b1 expression[J]. *DNA Cell Biol*, 2017, 36(11): 1018-1028.
- [35] SAHOO S, KLYCHKO E, THORNE T, et al. Exosomes from human CD34(+) stem cells mediate their proangiogenic paracrine activity[J]. *Circ Res*, 2011,109(7):724-728.

- [36] GORETTI E, ROLLAND-TURNER M, LÉONARD F, et al. MicroRNA-16 affects key functions of human endothelial progenitor cells[J]. J Leukoc Biol, 2013,93(5):645-655.
- [37] YODER M C, INGRAM D A. The definition of EPCs and other bone marrow cells contributing to neoangiogenesis and tumor growth; is there common ground for understanding the roles of numerous marrow-derived cells in the neoangiogenic process? [J]. Biochim Biophys Acta, 2009,1796(1):50-54.
- [38] BASILE D P, YODER M C. Circulating and tissue resident endothelial progenitor cells[J]. J Cell Physiol, 2014, 229(1):10-16.
- [39] SIEVERS H, BAHRAMSOLTANI M, KÄSSMEYER S, et al. *In vitro* angiogenic potency in human microvascular endothelial cells derived from myocardium, lung and skin[J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2011, 49(1-4): 473-486.
- [40] LI D W, LIU Z Q, WEI J, et al. Contribution of endothelial progenitor cells to neovascularization (Review)[J]. Int J Mol Med, 2012,30(5):1000-1006.
- [41] AMBASTA R K, KOHLI H, KUMAR P. Multiple therapeutic effect of endothelial progenitor cell regulated by drugs in diabetes and diabetes related disorder[J]. J Transl Med, 2017, 15(1):185.
- [42] KUDO T, KUBO M, KATSURA S, et al. Hypoxically preconditioned human peripheral blood mononuclear cells improve blood flow in hindlimb ischemia xenograft model[J]. Am J Transl Res, 2014, 6(5): 570-579.
- [43] ZHAO B, ZHAO Z, SUN X, et al. Effect of micro strain stress on proliferation of endothelial progenitor cells *in vitro* by the MAPK-ERK1/2 signaling pathway [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 492(2):206-211.

[本文编辑] 姬静芳

