

· 综 述 ·

改善糖尿病内皮祖细胞功能的研究进展

刘景雪, 黄 瑾(上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院药剂科, 上海 200437)

[摘要] 内皮祖细胞(EPC)为来源于骨髓及外周血中的干细胞,能定向增殖分化为内皮细胞,参与血管损伤后的修复。研究显示,改善糖尿病 EPC 功能,可以预防和降低糖尿病并发症的发生。追踪近年来改善 EPC 功能的研究进展,就其对糖尿病并发症的预防和改善作用做一综述,以期对糖尿病的治疗提供新思路。

[关键词] 糖尿病;内皮祖细胞;氧化应激;炎症

[中图分类号] R587.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2020)01-0018-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.201906065

Research on the improving function of endothelial progenitor cells in diabetes

LIU Jingxue, HUANG Jin(Department of Pharmacy, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437 China)

[Abstract] Endothelial progenitor cells (EPC) are stem cells derived from bone marrow and peripheral blood, which could proliferate and differentiate into endothelial cells and participate in repair after tube injury. Studies have shown that the improving function of diabetic EPC could prevent and reduce the occurrence of diabetic complications. The research progress in improving the function of EPC in recent years and the improvement of function in the development of diabetes were reviewed in order to provide new ideas for the treatment of diabetes.

[Key words] diabetes; endothelial progenitor cells (EPC); oxidative stress; inflammation

糖尿病^[1](diabetes mellitus, DM)是由胰岛素分泌缺陷或其生物作用受损,或两者兼有引起的以高血糖为特征的代谢性疾病。该疾病导致死亡的主要原因是长期疾病过程中引发的各种并发症,如:心脑血管病、下肢血管病、高血压等,这些并发症的发生都伴随血管组织的损伤。目前治疗血管损伤性疾病的药物主要是缓解病症、减缓疾病的发展,但在血管损伤修复和血管新生中作用不大^[2]。研究表明^[3],内皮祖细胞(endothelial progenitor, EPC)在生理或病理条件下可以从骨髓中动员至外周血,参与损伤血管的修复,并且促进缺血组织损伤后的再内皮化和生长因子释放。EPC的以上特点,为治疗糖尿病所致的血管损伤提供了新的思路和治疗靶点。

1 EPC 概述

EPC 是一类特殊的干细胞,近年来已经引起学术界的广泛关注。1997年,Asahara等^[4]首次从人

的外周血中分离出一种 CD34 阳性单核细胞,因其能表达血管内皮细胞的标志物,而且具有向血管内皮细胞分化的潜能,故将此单核细胞命名为血管 EPC。1999年,Asahara等^[5]证明 EPC 可来源于骨髓。之后的研究^[6]发现,EPC 可以出现在脾脏、脐带血等组织。

根据培养特点^[7-8],EPC 主要分为早期和晚期两类。早期 EPC 主要在含血管内皮生长因子(VEGF)的培养基中培养纤连蛋白上的外周血单核细胞产生,类似于成集落内皮细胞(CFU-ECs),培养至 2~3 周数量达到高峰,形状类似纺锤形,其寿命仅有 4 周,主要通过提供支持血管生成的多种生长因子来增强血管形成;晚期 EPC 由单核细胞培养 14d 以上获得,呈鹅卵石样,可存活 12 周,这些细胞缺乏造血和骨髓标记物,具有较低的细胞因子释放能力,因增殖能力强,常被称为生长型 EPC。EPC 的鉴定方法有很多^[4],包括用特定的生物标记联合克隆形成实验,荧光检测对乙酰化低密度脂蛋白的吸收和与凝集素的结合,以及流式细胞术检测表面标志物。其中,细胞表面标志物^[9]包括造血干细胞标记和血管内皮细胞标记物,如:CD31、血管内皮生长因子受体-2(VEGFR-2)、血管性血友病因

[作者简介] 刘景雪,硕士研究生,Email: liujingxue2018@163.com

[通讯作者] 黄 瑾,博士,副主任药师,研究方向:中药活性成分的作用机制研究,Email: john70550@163.com

子(vWF)、血管内皮钙粘蛋白(VE-cadherin 或 CD 144)。

机体在正常的稳态条件下,外周血中存在少量的循环 EPC,当机体在缺血、缺氧等情况下,刺激 EPC 动员因子,如: VEGF、成纤维细胞生长因子(bFGF)、基质细胞衍生因子-1(SDF-1)等的释放,这些因子激活一氧化氮合酶(eNOS),导致一氧化氮(NO)产生增加,NO调节基质金属蛋白酶(MMP)的活性,已活化的 MMP(如 MMP-9)使骨髓中 EPC 释放并动员进入外周循环,在受损部位归巢并分化为内皮细胞,参与内皮受损血管的再内皮化,促进缺血部位的血管新生。因此,EPC 已经成为预测血管疾病的发生、发展及预后情况的重要指标。

2 抑制炎症反应降低 EPC 损伤

糖尿病患者长期处于高糖环境下,其机体处于一种慢性炎症状态。全身性炎症导致糖尿病患者的新生血管形成和 EPC 功能受损,可以认为,炎症应激是导致糖尿病进展或恶化的主要原因^[10]。研究发现^[11],炎症趋化因子——巨噬细胞炎性蛋白-1 β (MIP-1 β)在糖尿病患者体内的高表达,可降低 EPC 的功能,抑制 EPC 归巢和缺血区的血管新生。

Chang 等^[12]使用特异性 MIP-1 β 抗体抑制 MIP-1 β 的活性,逆转受损 EPC 的功能,增强 EPC 的归巢能力,并增加循环 EPC 数量,进而促进血管新生。同样具有高度的增殖潜能和分化能力的祖细胞——间充质干细胞^[13](mesenchymal stemcells, MSC),通过改善 1 型糖尿病(T1DM)的免疫紊乱状态及保护残存的 β 细胞,进而有效改善血糖状态。周娜等^[14]利用间充质细胞可调控巨噬细胞表型的特性,促进其由促炎 M1 型向抗炎 M2 型极化,从而抑制炎症反应,而且移植 MSC 可通过募集 M2 型巨噬细胞使胰岛 β 细胞增殖和再生,进而影响 T1DM 的病理生理过程。Yan 等^[15]使用肌肽和积雪草酸(AA)组合共同作用于糖尿病小鼠和高糖孵育的人脐静脉内皮细胞(HUVEC),结果显示,该组合降低高糖孵育的 HUVEC 细胞中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和活性氧(ROS)的产生,提高细胞活力,改善细胞功能;同时,肌肽和 AA 组合降低糖尿病小鼠体内白细胞介素-6(IL-6)的产生,并限制肾环氧合酶-2(COX-2)活性,小鼠血糖得以控制。冯丽洁等^[16]使用二甲双胍与结合运动干预 2 型糖尿病大鼠,其研究数据显示,二甲双胍和有氧运动均可以降低糖尿病大鼠的空腹血糖,并且可以降低糖尿病大鼠血清

TNF- α 和血管细胞黏附分子-1(VCAM-1),TNF- α 和 VCAM-1 浓度的降低减少氧化应激相关分子(如: NADPH 氧化酶)的表达,进而减少对 EPC 的损伤。因此,抑制糖尿病患者的炎症反应,减轻 EPC 损伤,可有效改善糖尿病患者的自身状态。

3 抑制氧化应激降低 EPC 损伤

研究显示^[17],氧化应激在血管损伤及动脉粥样硬化形成过程中发挥关键作用。糖尿病血管并发症的病理基础是血管内皮功能受损。前期研究表明^[18],2 型糖尿病初期患者已存在血管内皮功能障碍,外周血 EPC 较健康人减少。在氧化应激状态下,机体氧化酶表达明显增加,促进 EPC 的凋亡并影响其功能,所以氧化应激是 EPC 数量改变及功能受损的因素之一^[19-20]。

李博鹏等^[21]观察在胰岛素治疗的基础上再静脉滴注 α -硫辛酸对 2 型糖尿病初诊患者超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)及 8-羟基脱氧鸟苷(8-OHDG)含量的影响,同时测定外周循环 EPC 水平,并分析这些指标间的相互关系。结果显示,应用 α -硫辛酸治疗前后,糖尿病患者(30 例)EPC 数量差值较对照组(20 例)显著增加,SOD、GSH-Px 活性的差值较对照组显著增加,MDA、8-OHDG 的差值显著下降,表明糖尿病患者通过 α -硫辛酸抗氧化治疗,降低其氧化应激水平,使循环 EPC 水平明显升高,进而预防、延缓糖尿病血管并发症的发生。Wang 等^[22]使用合成的羟基酪醇一氧化氮(HT-NO)研究对糖尿病小鼠和高糖刺激 EPC 的影响,结果显示,HT-NO 利用其良好的 NO 释放特性,促进内皮依赖性血管舒张,通过下调沉默信息调节因子 1(SIRT1)抑制活性氧(ROS)的产生,降低糖尿病小鼠和高糖刺激的 EPC 氧化应激水平。因此,降低糖尿病患者的氧化应激水平,可以减少对 EPC 的损伤,进而降低糖尿病患者血管发生并发症的风险。

4 促进 EPC 的动员

机体处于正常生理状态时,骨髓 EPC 处于静息状态。在生理或病理因素刺激下,机体释放细胞因子促使骨髓中的 EPC 大量增殖并向外周血动员。外周血中 EPC 随着血液循环到达损伤部位,进而被归巢至血管内皮受损部位、分化为成熟内皮细胞进行内皮修复,并参与血管新生。因此,正常的 EPC 动员功能在维持内皮系统平衡中发挥重要作用。

糖尿病患者外周血中的 EPC 数量减少,而且功能受损^[23]。粒细胞集落刺激因子^[24](G-CSF)在临床上用于化疗期间中性粒细胞减少患者和增加外周血中 EPC 的数量。单一应用 G-CSF 很难有效动员骨髓 EPC 进入外周血循环中。趋化因子受体 CXCR4 拮抗剂 AMD3100^[25-26] 可增强 EPC 的动员,促进心肌梗死后的血管新生。林晓莹等^[27] 以糖尿病小鼠为研究对象,将 AMD3100 联合 G-CSF 用药观察对糖尿病小鼠骨髓 EPC 的动员。结果显示,AMD3100 联合 G-CSF 动员骨髓 EPC 的效果优于单一使用 AMD3100,而且先使用 AMD3100 再联合 G-CSF 的动员效果更佳。郑梦梦等^[28] 向 2 型糖尿病合并急性心肌缺血大鼠灌胃瓜蒌薤白半夏汤(GXB),结果显示,GXB 组 EPC 的数量同对照组相比,在第 4 天达到峰值,然后在一段时间内仍一直维持较高水平,而且 GXB 组血浆中的 VEGF、eNOS、NO 的水平均高于对照组,这也验证了骨髓中 EPC 的动员过程与这些细胞因子有关。目前研究发现,临床降糖药物阿卡波糖和二甲双胍,可以动员骨髓 EPC 至外周血,增加外周血中 EPC 的数量,缓解高糖对 EPC 的功能障碍,这将为糖尿病患者的临床治疗提供安全、精准、有效的动员方案,从而调节机体 EPC 功能,以促进糖尿病所致的血管疾病的改善。

5 抑制 EPC 的凋亡

细胞凋亡的过程是一个复杂的级联反应,细胞从接受凋亡信号到调控分子间相互作用,再到蛋白水解酶的活化,整个过程中有许多细胞分子的参与。糖尿病患者由于血糖紊乱,高/低血糖都可以引起脑内线粒体功能障碍,最终导致线粒体凋亡^[29]。线粒体具有氧化磷酸化、能量代谢、抗氧化和传递电子等生理作用,线粒体的凋亡是细胞凋亡的主要途径之一。

范艳萍等^[30] 研究发现,糖尿病阻碍心肌梗死后冠状动脉侧支循环形成并加重心肌细胞的凋亡。血糖升高后对内皮细胞的舒张功能产生影响,使血管通透性增加,CO 合成减少,其生物活性降低,进而影响侧支循环形成;血糖升高使机体出现生化异常,糖基化和磷酸化反应增加,糖基化和磷酸化的异常激活转录因子 P53, P53 在使抗凋亡基因表达减少的同时促使促凋亡基因表达升高,进而加速细胞的凋亡。如果可以减少糖尿病患者的 EPC 细胞凋亡,那么对于患者预后将有很好的效果。研究发现^[31-33],许多中药成分,如:水飞蓟素、

虾青素、红景天苷等呈剂量依赖性抑制糖尿病患者外周血 EPC 的凋亡,促进 EPC 增殖,进而达到通过抑制 EPC 的凋亡发挥预防疾病的作用。将上述改善糖尿病患者 EPC 功能的药物治疗及干预措施简略归纳如下,具体见表 1。

表 1 改善 EPC 功能的药物治疗/干预措施

作用	药物/方法
抑制炎症反应	使用特异性 MIP-1 β 抗体抑制 MIP-1 β 的活性 利用间充质细胞调控巨噬细胞表型的特性,促进其由促炎 M1 型向抗炎 M2 型极化 二甲双胍与运动联合干预 肌肽与积雪草酸联合应用
抑制氧化应激	胰岛素治疗的基础上再静脉滴注 α -硫辛酸 羟基酪醇一氧化氮 (HT-NO)
促进 EPC 的动员	AMD3100 联合 G-CSF 瓜蒌薤白半夏汤 阿卡波糖 二甲双胍
抑制 EPC 的凋亡	水飞蓟素、虾青素、红景天苷等

6 结语

糖尿病患者持续高血糖状态,并在各种因素的相互作用下,使得自身 EPC 功能受损。EPC 功能发生障碍,其内皮修复和血管新生的能力降低,从而导致血管并发症的发生。目前,用于临床降糖的药物有很多,但直接改善糖尿病患者 EPC 功能的药物鲜有报道。因此,在研究糖尿病患者 EPC 功能损伤的基础上,寻找更为有效的改善 EPC 功能的药物和方法,提高 EPC 的存活能力,对于预防或治疗糖尿病并发症有重要的临床意义。

【参考文献】

- [1] JIANG Y, WANG L P, DONG X H, et al. Trace amounts of copper in drinking water aggravate cerebral ischemic injury via impairing endothelial progenitor cells in mice[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2015, 21(8): 677-680.
- [2] HYNES B, KUMAR A H S, O'SULLIVAN J, et al. Potent endothelial progenitor cell-conditioned media-related anti-apoptotic, cardioprotective, and pro-angiogenic effects post-myocardial infarction are mediated by insulin-like growth factor-1[J]. *Eur Heart J*, 2013, 34(10): 782-789.
- [3] GOLAND S, WEINSTEIN J M, ZALIK A, et al. Angiogenic imbalance and residual myocardial injury in recovered peripartum cardiomyopathy patients[J]. *Circ Heart Fail*, 2016, 9(11): e003349.
- [4] ASAHARA T, MUROHARA T, SULLIVAN A, et al. Isolation

- of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis[J]. *Science*, 1997, 275(5302): 964-967.
- [5] ASAHARA T, MASUDA H, TAKAHASHI T, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for post-natal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization[J]. *Circ Res*, 1999, 85(3): 221-228.
- [6] BAI Y Y, WANG L S, PENG X G, et al. Non-invasive monitoring of transplanted endothelial progenitor cells in diabetic ischemic stroke models[J]. *Biomaterials*, 2015, 40: 43-50.
- [7] FADINI G P, LOSORDO D, DIMMELER S. Critical reevaluation of endothelial progenitor cell phenotypes for therapeutic and diagnostic use[J]. *Circ Res*, 2012, 110(4): 624-637.
- [8] ZHAO Y H, YUAN B, CHEN J, et al. Endothelial progenitor cells: therapeutic perspective for ischemic stroke[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2013, 19(2): 67-75.
- [9] PELOSI E, CASTELLI G, TESTA U. Endothelial progenitors[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2014, 52(4): 186-194.
- [10] DOMINGUETI C P, DUSSE L M, CARVALHO M D, et al. Diabetes mellitus: The linkage between oxidative stress, inflammation, hypercoagulability and vascular complications[J]. *J Diabetes Complicat*, 2016, 30(4): 738-745.
- [11] SWATHI B, CHARITHA M, MANDAVA D, et al. Evaluation of levels of proinflammatory chemokines MIP-1 α and MIP-1 β in gingival crevicular fluid of primary, mixed and permanent dentition[J]. *J Int Soc Prev Community Dent*, 2019, 9(2): 205-209.
- [12] CHANG T T, LIN L Y, CHEN J W. Inhibition of macrophage inflammatory protein-1 β improves endothelial progenitor cell function and ischemia-induced angiogenesis in diabetes[J]. *Angiogenesis*, 2019, 22(1): 53-65.
- [13] SHOU P, CHEN Q, JIANG J, et al. Type I interferons exert anti-tumor effect via reversing immunosuppression mediated by mesenchymal stromal cells[J]. *Oncogene*, 2016, 35(46): 5953-5962.
- [14] 周娜, 刘伟江, 李苹, 等. 间充质干细胞通过调控巨噬细胞极化减轻1型糖尿病模型小鼠炎症反应[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2018, 32(11): 876-884.
- [15] YAN S L, WANG Z H, MONG M C, et al. Combination of carnosine and asiatic acid provided greater anti-inflammatory protection for HUVE cells and diabetic mice than individual treatments of carnosine or Asiatic acid alone[J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 126: 192-198.
- [16] 冯丽洁, 李俊. 二甲双胍与有氧运动对2型糖尿病大鼠血管氧化应激的影响[J]. *中国比较医学杂志*, 2019, 29(4): 58-63.
- [17] ODEGAARD A O, JACOBS D R Jr, SANCHEZ O A, et al. Oxidative stress, inflammation, endothelial dysfunction and incidence of type 2 diabetes[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2016, 15: 51.
- [18] 夏文华, 饶玉霞. 2型糖尿病患者内皮祖细胞数量和功能研究[J]. *咸宁学院学报(医学版)*, 2012, 26(1): 12-14.
- [19] 陈树春, 宋光耀. 内皮祖细胞与氧化应激研究进展[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2011, 15(6): 1119-1122.
- [20] CHEN D D, DONG Y G, YUAN H, et al. Endothelin 1 activation of endothelin A receptor/NADPH oxidase pathway and diminished antioxidants critically contribute to endothelial progenitor cell reduction and dysfunction in salt-sensitive hypertension[J]. *Hypertension*, 2012, 59(5): 1037-1043.
- [21] 李博鹏, 陈树春, 唐勇, 等. α -硫辛酸改善初诊2型糖尿病患者循环内皮祖细胞水平[J]. *中国组织工程研究*, 2019, 23(5): 803-808.
- [22] WANG W R, SHANG C X, ZHANG W, et al. Hydroxytyrosol NO regulates oxidative stress and NO production through SIRT1 in diabetic mice and vascular endothelial cells[J]. *Phytomedicine*, 2019, 52: 206-215.
- [23] FADINI G P, AVOGARRO A. Potential manipulation of endothelial progenitor cells in diabetes and its complications[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2010, 12(7): 570-583.
- [24] HSU Y M, CUSHING M M. Autologous stem cell mobilization and collection[J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2016, 30(3): 573-589.
- [25] JUJO K, HAMADA H, IWAKURA A, et al. CXCR4 blockade augments bone marrow progenitor cell recruitment to the neovasculature and reduces mortality after myocardial infarction[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(24): 11008-11013.
- [26] IM J Y, MIN W K, PARK M H, et al. AMD3100 improves ovariectomy-induced osteoporosis in mice by facilitating mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells[J]. *BMB Rep*, 2014, 47(8): 439-444.
- [27] 林晓莹, 汪虹. AMD3100联合G-CSF对糖尿病小鼠骨髓内皮祖细胞的动员作用[J]. *重庆医科大学学报*, 2019, 44(3): 247-254.
- [28] 郑梦梦, 赵启韬, 周继栋, 等. 瓜蒌薤白半夏汤促进2型糖尿病合并急性心肌缺血大鼠内皮祖细胞动员的作用及其机制[J]. *暨南大学学报(自然科学与医学版)*, 2018, 39(5): 435-441.
- [29] LEE S, CHOI D, JEONG W K. Hepatic enhancement of Gd-EOB-DTPA-enhanced 3 Tesla MR imaging: Assessing severity of liver cirrhosis[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2016, 44(5): 1339-1345.
- [30] 范艳萍, 李勇峰, 林彦杰, 等. 糖尿病对心肌梗死后冠状动脉侧支循环形成及细胞凋亡影响的研究[J]. *中国卫生工程学*, 2019, 18(1): 117-118.
- [31] 张鹏, 乔昆, 任雨笙, 等. 水飞蓟素对内皮祖细胞增殖、迁移功能的影响研究[J]. *重庆医学*, 2014, 43(11): 1341-1343.
- [32] 龚志刚, 张再伟, 姜其钧, 等. 虾青素预处理对体外氧化应激诱导内皮祖细胞凋亡的保护作用[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2014, 35(5): 599-604.
- [33] 刘善淘, 朱锦灿, 陈小宇, 等. 红景天苷对内皮祖细胞的辐射防护作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32(2): 240-244.

【收稿日期】 2019-06-21 【修回日期】 2019-09-23

【本文编辑】 李睿旻