

乳腺癌患者外周血中内皮祖细胞检测的临床意义

王佳铭¹ 魏刚¹ 马震² 王长青¹ 严时³ 刘岩³ 李慧³

【摘要】 目的 探讨乳腺癌患者外周血中内皮祖细胞(EPCs)检测的临床意义。**方法** 采用前瞻性研究方法,收集 2014 年 3 月至 2015 年 3 月吉林省肿瘤医院收治的、病理学证实的 70 例浸润性乳腺导管癌患者、61 例乳腺纤维腺瘤患者和 68 名健康人的外周血,利用流式细胞术检测 EPCs[CD34、CD133 和血管内皮生长因子受体(VEGFR)-2 阳性细胞]水平。采用 Fisher 确切概率检验和 Kruskal-Wallis H 检验比较 3 组间 EPCs 阳性率及其表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 表达量的差异,并用 Fisher 确切概率检验分析乳腺癌患者 EPCs 阳性率与临床病理特征的关系;采用 *t* 检验比较不同临床分期和不同淋巴结转移状态患者间 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 表达量的差异。**结果** 在乳腺癌患者、乳腺纤维腺瘤患者和健康人外周血中,EPCs 阳性率及其表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 表达量的差异均有统计学意义($\chi^2=12.811, P<0.001; F=15.275, P<0.001$);健康人及乳腺纤维腺瘤组均未检测到 EPCs,组间两两比较显示,EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 在乳腺癌患者外周血中的表达量 [$M(P_{25} \sim P_{75}); 0.006\% (0.003\% \sim 0.008\%)$] 明显高于健康人及乳腺纤维腺瘤患者 ($P=0.002, 0.003$),乳腺癌组 EPCs 阳性率也显著高于健康人及乳腺纤维腺瘤患者 [$11.4\% (8/70)$ 分别比 $0(0/68), 0(0/61), P=0.006, 0.007$]。但 EPCs 阳性率与乳腺癌患者的年龄、ER、PR 和 HER-2 状态均无关 (P 均 >0.050)。进一步分析 EPCs 阳性的 8 例乳腺癌患者临床资料后发现, I 期患者 ($n=4$) 外周血中 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 的表达量明显低于 II ~ IV 期患者 ($n=4$) [$(0.300 \pm 0.162)\%$ 比 $(1.130 \pm 0.318)\%, t=4.640, P=0.004$], 而淋巴结转移者 ($n=4$) EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 的表达量明显高于未转移者 ($n=4$) [$(1.062 \pm 0.424)\%$ 比 $(0.370 \pm 0.287)\%, t=2.700, P=0.040$]。**结论** 乳腺癌患者外周血中 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 表达水平较高,其可能是一种潜在的生物标志物和治疗靶点。

【关键词】 乳腺肿瘤; 内皮,血管; 血管内皮生长因子受体 2; 抗原, CD; 内皮祖细胞

【中图分类号】 R737.9 **【文献标志码】** A

Determination of endothelial progenitor cells in peripheral blood of breast cancer patients

Wang Jiaming¹, Wei Gang¹, Ma Zhen², Wang Changqing¹, Yan Shi³, Liu Yan³, Li Hui³. ¹Department of Breast Oncologic Surgery, ²Translational Research Laboratory of Oncology, Jilin Cancer Hospital, Changchun 130012, China; ³Department of Breast Diseases, People's Hospital of Jilin Province, Changchun 130012, China
Corresponding author: Wei Gang, Email: 414357910@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the clinical significance of endothelial progenitor cells (EPCs) in peripheral blood of breast cancer patients. **Methods** Peripheral blood from healthy volunteers (control group, $n=68$), breast fibroadenoma patients (benign group, $n=61$) and patients with invasive ductal breast cancer ($n=70$) in Jilin Cancer Hospital from March 2014 to March 2015 were collected for a prospective study. The concentration of EPCs (marked by CD34, CD133 and VEGFR-2 positive) was determined by flow cytometry. Fisher's exact probability test and Kruskal-Wallis H test were used to compare the positive rate of

EPCs and the expression of CD34, CD133 and VEGFR-2 among three groups. Fisher's exact probability test was used to analyze the relationship between the positive rate of EPCs and clinicopathological features in breast cancer patients. The expression of CD34, CD133 and VEGFR-2 (surface markers of EPCs) was compared in the patients with different clinical stages and lymph node metastasis status by *t* test. **Results** The positive rate of EPCs and the expression of CD34, CD133 and VEGFR-2 presented a significant difference among three groups ($\chi^2=12.811, P<0.001$; $F=15.275, P<0.001$). EPCs were not detected in control group and benign group. The expression of CD34, CD133 and VEGFR-2 in breast cancer group was 0.006% (0.003% - 0.008%) [$M(P_{25}-P_{75})$], significantly higher than that in control group or benign group ($P=0.002$ and $P=0.003$). The positive rate of EPCs was significantly higher than that in control group or benign group [11.4% (8/70) vs 0 (0/68), $P=0.006$; 11.4% (8/70) vs 0 (0/61), $P=0.007$]. The positive rate of EPCs was not correlated with patient age, ER, PR and HER-2 status (all $P>0.05$). In eight breast cancer patients with EPCs positive, the expression of CD34, CD133 and VEGFR-2 in stage I breast cancer was significantly lower than that in stage II-IV breast cancer [(0.300±0.162)% vs (1.130±0.318)%, $t=4.640, P=0.004$], and the expression of CD34, CD133 and VEGFR-2 in patients with lymph node metastasis was significantly higher than that in patients without [(1.062±0.424)% vs (0.370±0.287)%, $t=2.700, P=0.040$]. **Conclusion** CD34, CD133 and VEGFR-2 (surface markers of EPCs) have high expression in peripheral blood of breast cancer patients, so EPCs might serve as a potential biomarker and a therapeutic target.

【Key words】 Breast neoplasms; Endothelium, blood vessels; Endothelial growth factor receptor-2; Antigens, CD; Endothelial progenitor cells

乳腺癌是危害女性健康的头号杀手^[1]。尽管针对 HER-2 和激素受体等新型药物的问世极大地改善了乳腺癌患者的生活质量,但乳腺癌的发生及疾病进展机制仍然未知,仍需探索与乳腺癌精准诊治相关的新的生物标志物来完善乳腺癌临床转化性研究。

抗血管新生是治疗实体肿瘤的主要方向之一。贝伐珠单抗抗体及重组人血管内皮抑制素等针对血管内皮生长因子及其受体 (vascular endothelial growth factor and its receptor, VEGF/VEGFR) 的抗血管生成药物已经用于多种实体肿瘤的临床实践^[2],然而,目前仍未发现该类药物的优势人群。近年来,研究报道血管内皮细胞与实体肿瘤的血管新生相关^[3-4]。

内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) 是来源于血管内皮细胞的前体细胞,进一步分化为成熟内皮细胞,进而参与肿瘤新生血管的形成^[5]。在多种实体肿瘤患者的外周血中发现 EPCs 水平上升,如结直肠癌及肝癌等^[6],但有关乳腺癌患者外周血中是否存在 EPCs 的研究报道很少^[7-8]。EPCs 缺乏特征性血管腔样结构,仅从形态学特征上无法辨认,须借助特征性细胞表面分子才能区分和识别。CD34、CD133 和 VEGFR-2 是目前较为公认的鉴定 EPCs 的表面分子抗原组合^[9-11],因此,本研究采用

该组合对乳腺癌患者的外周血标本进行了研究。

材料与方法

一、标本来源

选取 2014 年 3 月至 2015 年 3 月吉林省肿瘤医院乳腺肿瘤外科收治的、经病理学证实为浸润性乳腺导管癌的 70 例患者作为研究对象进行前瞻性研究。乳腺癌分类标准依据 2012 年国际乳腺癌诊断标准^[12]。患者纳入标准:手术或穿刺病理学确诊;女性;年龄 18~65 岁;未接受过放化疗及免疫治疗等抗肿瘤治疗;预期生存>6 个月;血常规、肝肾功能基本正常。排除标准:(1)合并其他肿瘤或出血性疾病;(2)患有艾滋病或自身免疫性疾病;(3)临床资料不完整。纳入患者年龄范围为 32~70 岁,中位年龄为 50 岁。手术病理检查 47 例,穿刺活组织检查 23 例;淋巴结转移 46 例,无淋巴结转移 24 例。同时,选取同期本科收治的 61 例乳腺良性疾病(纤维腺瘤)患者和本院检验科提供的 68 名健康体检者的外周血作为对照。按性别和年龄进行匹配,选取本院内科收治的急性髓细胞白血病患者骨髓标本,用于 CD34 和 CD133 双抗体的阳性对照。选取长春市妇产医院提供的脐带血标本用于 CD34、CD133 和 VEGFR-2 三抗体阳性对照。本研究已获吉林省肿瘤医院医学伦理委员会批准,患者均知情同意。

二、试剂与仪器

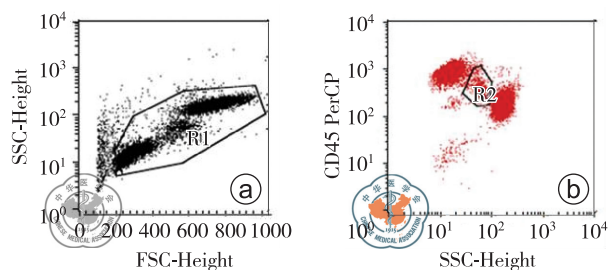
人脐静脉血管内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)购自中国科学院上海细胞生物研究所,采用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液在 37°C、5% CO₂ 恒温培养箱中培养。BD FACS Calibur 流式细胞仪、红细胞裂解液、多种抗体[抗 CD34、抗 VEGFR-2(CD309)、抗 CD45 和同型对照抗体]、鞘液及加样管均购自美国 BD 公司,抗 CD133 购自德国美天旎生物技术公司。

三、流式细胞检测

术前收集乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝静脉血 2 ml,轻微混匀后室温保存,2 h 内进行检测。每个样本取 100 μ l 加入流式细胞检测专用管,并加入相应单克隆抗体 10 μ l,混匀避光 15 min 后使用红细胞裂解液充分裂解,避光 10 min,1 500 r/min(离心机半径为 30 cm)离心 5 min 后弃上清液。加入 PBS 2 ml 后 1 500 r/min 离心 5 min,弃上清液后加入固定液。收集 10 000 个细胞进行分析,利用 CD45 和侧向角散射光(side scattering, SSC)作图,选择单核细胞群(图 1)。以 HUVEC 作为 VEGFR-2 阳性表达对照^[12],IgG 同型对照抗体作为阴性对照,应用脐带血建立标准 EPCs 检测流程^[13],将样本中 CD34、CD133 和 VEGFR-2 三抗体阳性表达的细胞定义为 EPCs^[14-15],并进行数据采集(图 2);CD34、CD133 和 VEGFR-2 阳性率>0.010%^[16]界定为 CD34、CD133 和 VEGFR-2 表达阳性。

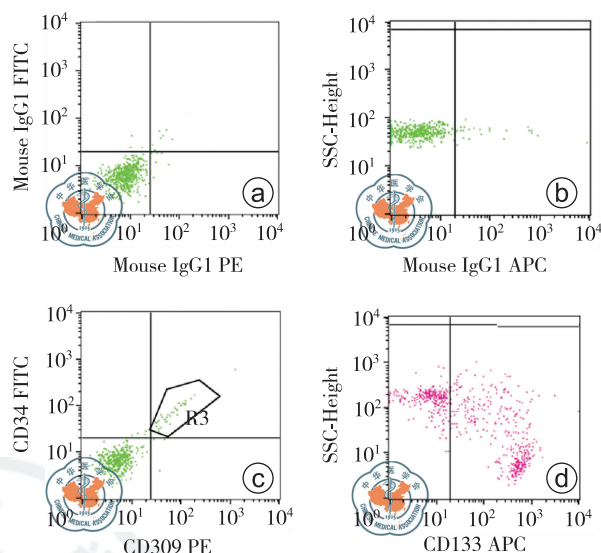
五、统计学分析

采用 SPSS24.0 统计软件进行数据分析。理论频数<5 的多组分类资料比较,采用 Fisher 确切概率



注:R1 门所圈细胞为所有的单个核细胞群;R2 门所圈细胞为单核细胞群;SSC 为侧向角散射;FSC 为前向角散射;PerCP 为多甲藻黄素-叶绿素-蛋白质复合物;CD 为白细胞分化抗原

图 1 流式细胞术检测脐带血中单个核细胞群的分布情况 a 图所示脐带血中单个核细胞群;b 图所示单个核细胞群中的 CD45⁺细胞(白细胞)



注:R3 门内细胞为脐带血单核细胞群中 CD34 和 CD309 阳性细胞;d 图中右象限内细胞为 CD34、CD133 和 VEGFR-2(CD309) 阳性细胞,即为 EPCs;FITC 为异硫氰酸荧光素;PE 为藻红蛋白;SSC 为侧向角散射;APC 为染料蛋白;CD 为白细胞分化抗原;VEGFR 为血管内皮生长因子受体

图 2 流式细胞术检测脐带血中 EPCs 分布情况 a 和 b 图分别为 CD309 PE 和 CD133 APC 同型阴性对照抗体表达图;c 图为脐带血单核细胞群中 CD34 和 CD309 的表达;d 图为脐带血单核细胞群中 CD133 在 R3 门内细胞中的表达

检验,组间两两比较时检验水平调整为 $\alpha' = 0.050/3 \approx 0.017$ 。正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布的计量资料用 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示。2 组计量资料(疾病分期和淋巴结转移组间 CD34、CD133 和 VEGFR-2 表达量)比较采用 t 检验;健康人群、乳腺纤维腺瘤患者和乳腺癌患者的 CD34、CD133 和 VEGFR-2 表达量比较,以及 3 组间年龄分布的比较均采用 Kruskal-Wallis H 检验。以 $P < 0.050$ 为差异有统计学意义。

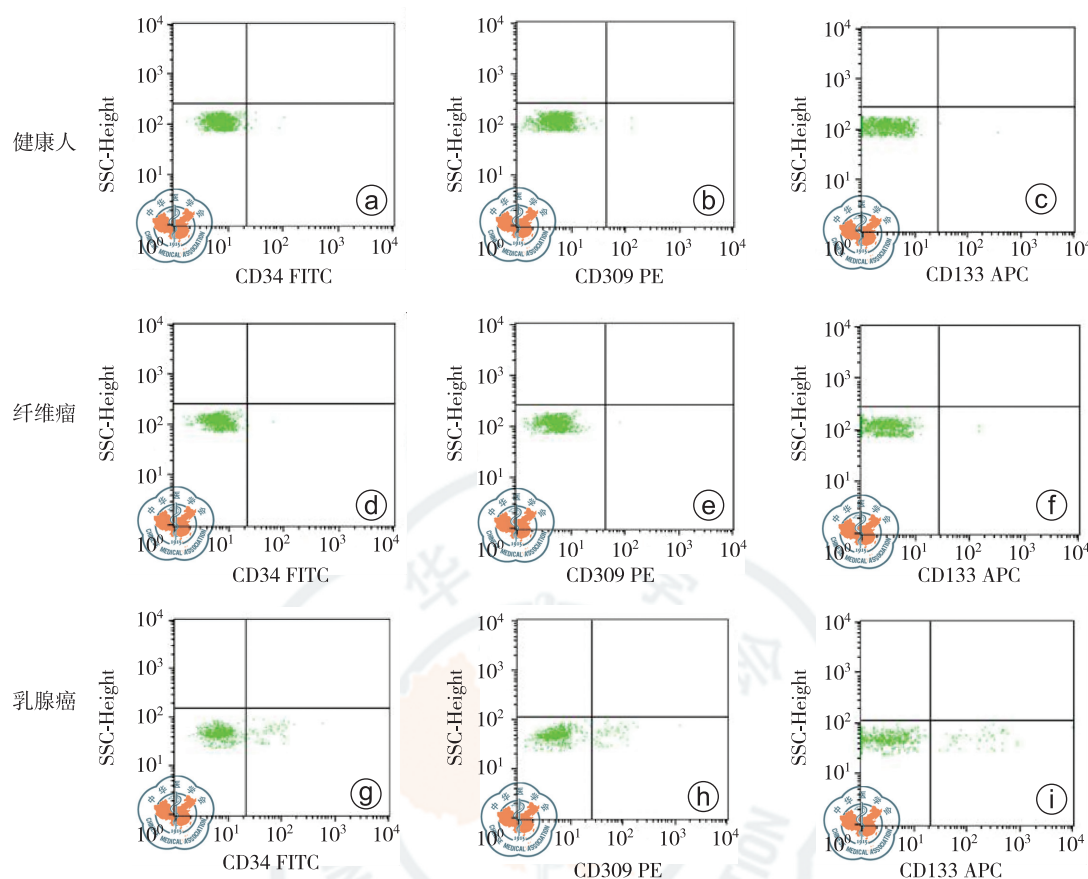
结 果

一、3 组研究对象的基线资料比较

乳腺癌患者和健康人年龄分布均为正态分布($W = 0.987, P = 0.713$; $W = 0.970, P = 0.098$),其年龄的 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 分别为 50(46~56)岁和 48(39~56)岁;良性患者的年龄分布为非正态分布($W = 0.928, P = 0.001$),其年龄的 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 为 48(39~57)岁;3 组间年龄差异无统计学意义($\chi^2 = 2.245, P = 0.325$),组间具有可比性。

二、3 组研究对象外周血 EPCs 水平比较

乳腺癌患者外周血中检测到 EPCs,阳性细胞分



注: SSC 为侧向角散射; PE 为藻红蛋白; APC 为染料蛋白; FITC 为异硫氰酸荧光素; CD 为白细胞分化抗原; EPCs 为内皮祖细胞; VEGFR 为血管内皮生长因子受体

图 3 乳腺癌患者、乳腺纤维腺瘤患者及健康人外周血中 EPCs 表面标志物 CD34、CD133、VEGFR-2 (CD309) 的表达 a、b、c 图, d、e、f 图以及 g、h、i 图分别为健康人、乳腺纤维腺瘤患者和乳腺癌患者外周血中 EPCs 细胞表面标志物 CD34、VEGFR-2 和 CD133 的表达

布于单核细胞群中, EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 表达量的 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 为 0.006% (0.002% ~ 0.008%), 而乳腺纤维腺瘤患者和健康人外周血中未检测到 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 表达(图 3), 3 组间比较, 差异有统计学意义 ($F=15.275, P<0.001$), 其中, 乳腺癌患者 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 表达量明显高于健康人和乳腺纤维腺瘤患者 ($P=0.002, 0.003$); 并且, 乳腺癌患者、乳腺纤维腺瘤患者及健康人 EPCs 阳性率分别为 11.4% (8/70)、0 (0/68) 和 0 (0/61), 3 组间比较, 差异也有统计学意义 ($\chi^2=12.811, P<0.001$), 其中, 乳腺癌患者 EPCs 阳性率均明显高于健康人和乳腺纤维腺瘤患者 ($P=0.006, 0.007$)。

三、EPCs 与乳腺癌临床病理特征的关系

EPCs 阳性率与乳腺癌患者年龄以及 ER、PR、HER-2 表达等临床病理特征均无关(表 1)。进一步

分析 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 表达阳性的乳腺癌患者临床病理特征后发现, 淋巴结转移者 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 表达量明显高于未转移者 ($t=2.700, P=0.004$), 临床分期为 I 期者外周血中 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 的表达量明显低于 II ~ IV 期患者 ($t=4.640, P=0.040$) (表 2)。

讨 论

1999 年, Crisa 等^[17] 在人外周血单核细胞中发现了 EPCs 亚群, 并将其命名为内皮祖细胞。EPCs 起源于骨髓, 与造血干细胞具有共同的前体, 并且在特定条件下能够分化为成熟的内皮细胞。EPCs 不仅参与了胚胎期血管的生成, 同时在维持血管的正常结构、功能以及损伤后的修复中均发挥着至关重要的作用。研究发现, 内皮祖细胞可能参与肿瘤的

表 1 乳腺癌患者 EPCs 阳性率与临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	EPCs 阳性[例(%)]	检验值	P 值
年龄				
<50 岁	23	2(8.7)		1.000 ^a
≥50 岁	47	6(12.8)		
淋巴结转移				
有	46	5(10.9)		1.000 ^a
无	24	3(12.5)		
ER				
阳性	46	6(13.0)		0.760 ^a
阴性	24	2(8.3)		
PR				
阳性	48	7(14.6)		0.420 ^a
阴性	22	1(4.5)		
HER-2				
阳性	23	2(8.7)		1.000 ^a
阴性	47	6(12.8)		
临床分期			$\chi^2 = 1.121$	0.806 ^a
I	23	4(17.4)		
II	21	2(9.5)		
III	12	1(8.3)		
IV	14	1(7.1)		

注:^aFisher 确切概率检验;EPCs 为内皮祖细胞;ER 为雌激素受体;PR 为孕激素受体;HER 为人表皮生长因子受体

表 2 8 例 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 阳性表达的乳腺癌患者临床病理特征

临床病理特征	例数	CD34、CD133、VEGFR-2 表达量(%)	t 值	P 值
疾病分期				
I 期	4	0.300±0.162	4.640	0.004
II~IV 期	4	1.130±0.318		
淋巴结转移				
是	4	1.062±0.424	2.700	0.040
否	4	0.370±0.287		

注:EPCs 为内皮祖细胞;CD 为白细胞分化抗原;VEGFR 为血管内皮生长因子受体

生长和转移,如肿瘤生长的早期阶段,EPCs 能够通过定植到局部的血管床部位而参与血管的生成,后期则可以通过不断分裂、增殖促进肿瘤血管生长^[3]。此外,EPCs 所分泌的多种细胞因子(如 VEGF、粒细胞集落刺激因子)对于肿瘤血管的生长也起到了一定的促进作用。这些细胞因子不仅能够促进肿瘤血管成熟,而且还可以降低血管壁的通透性,从而减少肿瘤内部的血管破裂及组织坏死^[4]。因此,本研究以血管 EPCs 为研究重点,探索其在乳腺癌诊断和治疗中的临床价值。

关于内皮祖细胞的鉴定已有许多研究报道,现阶段主要通过其细胞表面标志来进行定义,常用的细胞表面标志物包括 VEGFR-2、趋化因子受体 4、CD133、CD34、CD31、CD144、CD14、c-Kit 等^[18-19]。Hristor 等^[9]采用 CD34、CD133 和 VEGFR-2 三分子组合,Fadini 等^[10]选择 CD34 和 CD133 双表达组合,Liu^[11]等选择 CD34 和 VEGFR-2 双表达组合。Yoder 等^[20]总结了近 20 位研究者关于 EPCs 免疫表型的分析结果后,认为最经典的鉴定 EPCs 的抗原组合为 CD34、CD133 和 VEGFR-2。因此,本研究采用目前公认的 CD34、CD133 和 VEGFR-2 三分子表达来定义乳腺癌 EPCs。

本研究设立了多个阳性对照组,分别采用不同的标本类型,对试验方法进行了多种验证和质量评估,包括 HUVEC(VEGFR-2 阳性),急性髓细胞白血病患者骨髓(CD34 和 CD133),脐带血(CD34、CD133 和 VEGFR-2 共表达)和 IgG 同型抗体(阴性对照)等,建立了科学而可信的检测方法学。

本研究发现健康人外周血中不存在 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2,该结果与文献^[21]的结果一致,但在乳腺癌患者中发现了 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 阳性者,尽管阳性率仅为 11.4%,但由于乳腺癌患者的人群基数大,因此以 EPCs 作为诊断或治疗的靶点也会使众多的乳腺癌患者受益。目前研究发现,EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 表达量与淋巴瘤、肝癌、结肠癌等肿瘤的大小、对抗血管生成药物的反应性和预后等密切相关^[22]。厉倩等^[4]采用流式细胞术检测肝癌患者外周血中 EPCs 水平,发现 EPCs 水平明显高于健康对照者,且循环 EPCs 水平与肝癌分期呈正相关。Yang 等^[23]通过检测患者外周血中 EPCs 的数量发现,其含量增加与疾病分期及进展呈正相关,提示 EPCs 是这些肿瘤治疗的潜在靶点。因此,理论上 EPCs 有潜力作为生物标志物用于肿瘤的诊断及治疗等临床实践。

尽管在乳腺癌入组患者中未发现 EPCs 与临床病理特征相关,但在 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 阳性患者中,本研究发现疾病分期早或无淋巴结转移的患者,其 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 表达量较低,提示 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 与乳腺癌的发生和发展可能具有关联性。

本研究存在一定缺陷,主要是病例数较少,患者分布不均衡,研究结果还需要扩大样本量进一步验证。并且,由于本研究结果为观察性研究,影响因素较多,还需设计更加严谨的前瞻性研究提供高级别证据证实 EPCs 表面标志物 CD34、CD133 和 VEGFR-2 的临床价值。

综上所述,本研究提供了一种简单、有效的方法可用于检测乳腺癌患者外周血内皮祖细胞,并分析了内皮祖细胞在乳腺癌诊疗中的临床意义,为乳腺癌的早期诊断、疾病分期和预后判断提供了新的思路。

参 考 文 献

- [1] 王殊. 2017 年美国临床肿瘤学会年会乳腺癌研究进展回顾:加减均是精准路上的一步[J/CD]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2017, 11(6): 321-324.
- [2] Estes ML, Mund JA, Mead LE, et al. Application of polychromatic flow cytometry to identify novel subsets of circulating cells with angiogenic potential[J]. Cytometry A, 2010, 77(9): 831-839.
- [3] Stou BR, Migliorini C, Kadambi A, et al. A mathematical model of the contribution of endothelial progenitor cells to angiogenesis in tumors: implications for antiangiogenic therapy [J]. Blood, 2003, 102(7): 2555-2561.
- [4] 厉倩, 洪茂, 谭龙益, 等. 循环内皮祖细胞计数在肝细胞肝癌中的临床意义[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2011, 18(5): 548-551.
- [5] Nowak K, Rafat N, Belle S, et al. Circulating endothelial progenitor cells are increased in human lung cancer and correlate with stage of disease [J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2010, 37(4): 758-763.
- [6] Vizio B, Novarino A, Giacobino A, et al. Pilot study to relate clinical outcome in pancreatic carcinoma and angiogenic plasma factors/circulating mature/progenitor endothelial cells: Preliminary results [J]. Cancer Sci, 2010, 101(11): 2448-2454.
- [7] 许良中. 乳腺病理学[M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1999: 359.
- [8] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis [J]. Science, 1997, 275(5302): 964-967.
- [9] Hristor M, Erl W, Weber PC, et al. Endothelial progenitor cells: isolation and characterization [J]. Trends Cardiovasc Med, 2003, 13(5): 201-206.
- [10] Fadini GP, Coracina A, Baesso I, et al. Peripheral blood CD34+KDR+ endothelial progenitor cells are determinants of subclinical atherosclerosis in a middle-aged general population [J]. Stroke, 2006, 37(9): 2277-2282.
- [11] Liu P, Zhou B, Gu D, et al. Endothelial progenitor cell therapy in atherosclerosis: a double-edged sword? [J]. Ageing Res Rev, 2009, 8(2): 83-93.
- [12] Cerezo AB, Hornedo-Ortega R, Álvarez-Fernández MA, et al. Inhibition of VEGF-induced VEGFR-2 activation and HUVEC migration by melatonin and other bioactive indolic compounds [J]. Nutrients, 2017, 9(3): E249.
- [13] 周斌, 刘世伟, 高国璇, 等. 2016 年 NCCN 乳腺癌临床实践指南(第 1 版)更新与解读[J]. 中国实用外科杂志, 2016, 36(10): 1066-1072.
- [14] Rafii S, Lyden D, Benezra R, et al. Vascular and hematopoietic stem cells: novel targets for anti-angiogenesis therapy? [J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2(11): 826-835.
- [15] Hagensen MK, Shim J, Thim T, et al. Circulating endothelial progenitor cells do not contribute to plaque endothelium in murine atherosclerosis [J]. Circulation, 2010, 121(7): 898-905.
- [16] Steurer M, Kern J, Zitt M, et al. Quantification of circulating endothelial and progenitor cells: comparison of quantitative PCR and four-channel flow cytometry [J]. BMC Res Notes, 2008, 1: 71.
- [17] Crisa L, Cirulli V, Smith K, et al. Human cord blood progenitors sustain thymic T-cell development and a novel form of angiogenesis [J]. Blood, 1999, 94(11): 3928-3940.
- [18] Timmermans F, Plum J, Yöder MC, et al. Endothelial progenitor cells: identity defined? [J]. J Cell Mol Med, 2009, 13(1): 87-102.
- [19] 刘隽炜. 内皮祖细胞研究进展[J]. 心血管病学进展, 2011, 32(4): 528-531.
- [20] Yoder MC. Endothelial progenitor cell: a blood cell by many other names may serve similar functions [J]. J Mol Med (Berl), 2013, 91(3): 285-295.
- [21] Nowak K, Jachol N, Rafat N, et al. Alterations of circulating bone marrow-derived VEGFR-2+ progenitor cells in isolated limb perfusion with or without rhTNF- α [J]. Ann Surg Oncol, 2013, 20(11): 3694-3701.
- [22] 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.
- [23] Yang B, Gu W, Peng B, et al. High level of circulating endothelial progenitor cells positively correlates with serum vascular endothelial growth in patients with renal cell carcinoma [J]. J Urol, 2012, 188(6): 2055-2061.

(收稿日期:2016-09-07)

王佳铭, 魏刚, 马震, 等. 乳腺癌患者外周血中内皮祖细胞检测的临床意义[J/CD]. 中华乳腺病杂志(电子版), 2018, 12(5): 270-275.