

综述

内皮祖细胞在心血管疾病治疗中的作用机制及临床应用前景

钟友斌, 周 侗*

(中山大学中山医学院生物化学与分子生物学系, 广州 510080)

摘要: 心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)是引起死亡的重要因素之一, 造成了巨大的经济和医疗负担, 探索新的治疗方法和策略显得尤为迫切。在当代医学研究中, 内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)因具有修复受损内皮、促进血管生成和调节血管功能的能力, 作为一种具有潜在治疗价值的细胞类型备受关注。本文首先介绍EPCs的来源、特性和生物学功能, 随后重点综述其在CVD治疗中可能的作用机制。此外, 本文还总结了EPCs在临床应用中的挑战与机遇, 并展望了其在CVD治疗中的潜在应用前景, 以期对未来EPCs治疗疾病的相关研究和临床应用提供一定的理论参考。

关键词: 内皮祖细胞; 心血管疾病; 临床应用

Mechanisms and clinical application prospects of endothelial progenitor cells in the treatment of cardiovascular diseases

ZHONG Youbin, ZHOU Ti*

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Zhongshan School of Medicine,
Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: Cardiovascular diseases (CVD), as a significant factor leading to mortality, impose considerable economic and healthcare burdens, demanding urgent exploration of new treatment methods and strategies. In contemporary medical research, endothelial progenitor cells (EPCs) have garnered significant attention as a cell type with potential therapeutic value, due to their ability to repair damaged endothelium, promote vascular regeneration, and regulate vascular function. This paper firstly introduced the origin, characteristics, and biological functions of EPCs, followed by a focused review of their potential mechanisms of action in CVD treatment. Additionally, we summarized the challenges and opportunities of EPCs in clinical applications, and anticipated their potential prospects in the treatment of CVD, aiming to provide theoretical references for future research and clinical applications of EPCs in disease treatment.

Key Words: endothelial progenitor cells; cardiovascular diseases; clinical application

心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD)是当今世界严重影响人类健康和生命质量的主要疾病之一。传统的治疗方法虽然在一定程度上可以

缓解病情, 但是存在一定的局限性和不良反应^[1]。因此, 寻找新的治疗方法是当前研究的热点。内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)是一种

收稿日期: 2024-01-19

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82070882); 广东省自然科学基金面上项目(2023A1515010316); 广东省自然科学基金面上项目(2024A1515012449)

第一作者: E-mail: 2602120007@qq.com

*通信作者: E-mail: zhouti2@mail.sysu.edu.cn

能够分化为内皮细胞的干细胞,具有修复血管损伤、促进血管新生的作用,成为CVD治疗的新方向。EPCs与多种血管疾病有关,如心肌梗死、脑卒中、肢体缺血、伤口愈合受损、动脉粥样硬化、糖尿病微血管病变、缺血性视网膜病变和肺动脉高压^[2-5]。EPCs因在CVD内皮修复中的潜在作用而在再生医学中引起了人们的极大兴趣。本文将综述EPCs治疗CVD的研究进展,首先介绍EPCs的生物学特性,然后探讨其作用机制、临床应用及未来发展方向,为进一步研究提供参考和借鉴。

1 心血管疾病的流行病学

1.1 心血管疾病的发病情况

根据全球疾病负担研究,CVD是导致死亡的主要原因之一^[6],截至2019年CVD影响全球超过5.23亿人^[7]。在全球负担研究中,CVD对全球整体病死率的贡献持续增加,从1990年的1 210万增加到2019年的1 860万^[8]。CVD在发展中国家和地区仍然是一个日益严重的问题,全球近80%的CVD病例发生在低收入和中等收入国家,老龄化和城市化趋势加速了CVD负担的加重^[9]。在我国城乡居民疾病死亡构成比中CVD占首位,2020年分别占农村、城市死因的48.00%和45.86%,每5例死亡中就有2例死于CVD,推算我国CVD现患病人数达3.3亿^[10]。在过去的几十年中,虽然人们的生活水平和医疗技术都有了显著的提高,但CVD的发病率和病死率并没有明显的下降趋势。

1.2 心血管疾病的危险因素

CVD的发生与多种危险因素相关,其中一些因素是不可避免的,如年龄和遗传因素;但其他因素是可以改变的,如不健康的生活方式和环境因素。衰老是临床CVD的一个主要危险因素,而这主要是由内皮功能障碍的发展驱动的^[11,12]。目前,研究人员已经确定了常见的危险因素,如高血压、糖尿病、肥胖、高脂血症、吸烟、久坐不动的生活方式、缺乏足够的体育活动和环境污染,这些是可以预防或改变以减少CVD的风险因素^[13-16]。

1.3 心血管疾病的治疗现状和局限

目前,CVD的治疗主要包括药物治疗^[17]、介入手术^[18]和心脏移植^[19]等方法。药物治疗是最常见的治疗方式,如降胆固醇药物、抗血栓药物、

抗高血压药物和抗心绞痛药物等,但是许多CVD需要长期服药来控制病情,容易产生依赖性和不良反应,这可能影响患者的生活质量^[1]。例如,目前临床上推荐使用他汀类药物来降低血清胆固醇治疗动脉粥样硬化性CVD,然而他汀类药物会带来肌痛、肝损伤和记忆力减退等不良反应,临床上在评估利弊后往往只能采用停药的方法^[20,21]。介入手术包括冠状动脉血运重建术、支架植入术和心脏瓣膜置换术等,可以改善血液供应和修复心脏结构,但并不能完全解决疾病的根本问题^[18]。心脏移植是一种极其复杂的手术,适用于严重的心脏衰竭患者,但由于供体的限制和免疫排斥等问题,其应用受到一定的限制^[19]。除此之外,大多数CVD在早期并没有明显的症状,临床诊断时往往已发展到晚期,给治疗带来了困难。

2 内皮祖细胞的来源与特性

2.1 内皮祖细胞的定义与分类

1997年,Asahara等^[22]首次将EPCs描述为共表达造血干细胞标记物CD34和内皮细胞标记物血管内皮生长因子受体2(vascular endothelial growth factor receptor 2, VEGFR2)的细胞。但至今EPCs并没有明确的定义,其可以从骨髓、外周血和脐带血中分离出来^[23],也位于血管壁、脐带、脂肪组织、心脏组织、胎盘、脾脏和神经组织中^[24],概念上可被视为一种异质细胞群,其特点是能够在外周血中检测到不同阶段的内皮细胞分化^[25]。在实验研究中,EPCs通常被定义为单核细胞(mononuclear cells, MNCs),具备以下特点:(1)能够附着在基质分子上,如纤连蛋白;(2)在细胞培养研究中,双阳性表达乙酰化低密度脂蛋白和欧洲荚蒾凝集素I^[22,26]。

EPCs在体外培养过程中因培养时间不同表现出两种不同的形态,分别为纺锤形的早期EPCs和具有鹅卵石形态的晚期EPCs^[27]。早期EPCs在培养4~7 d内生长出现,2~3周时生长最快,4周后死亡;而晚期EPCs需要14~21 d才能在培养中出现,4~8周时疯狂生长,寿命约为12周^[27]。早期EPCs也称为循环血管生成细胞或集落形成单位内皮细胞,而晚期EPCs也称为生长内皮细胞或内皮集落形成细胞^[27]。Hur等^[28]研究表明,早期EPCs是一种

来源于血管原始细胞并分化为成熟细胞的异质细胞群, 而晚期EPCs则是同质且分化良好的细胞。早期EPCs的增殖能力有限, 这些细胞通过三种方式间接诱导血管生成: (1)通过分泌旁分泌因子来调整血管周围微环境, 如血管生成细胞因子和趋化因子^[29-31]; (2)通过分泌含有microRNA(miR-126和miR-296)的血管调节微囊体^[32]; (3)通过微管状细胞器与成熟内皮细胞进行通讯^[33]。因此, 有时将早期EPCs称为“具有促血管生成活性的造血细胞”。而晚期EPCs具有高度的增殖和迁移能力, 血管损伤时其迅速迁移到全身脉管系统, 归巢整合到受损血管中, 分化成内皮细胞, 形成稳定的血管结构, 从而直接修复受损血管^[34]。此外, 早期EPCs和晚期EPCs具有不同的细胞表面标记物, 表面标记物包括附着在细胞膜上的蛋白质和碳水化合物, 所以可以利用表面标记物进行识别。早期EPCs通过三种细胞表面标记物进行识别, 即造血抗原(CD133⁺、CD45⁺)、MNCs(CD14⁺)和内皮细胞(CD34⁺、VEGFR2⁺、CD31⁺); 而晚期EPCs在造血抗原(CD45⁻、CD177⁻和CD133⁻)和MNCs标记物(CD14⁻)阴性表达的情况下, 同时阳性表达内皮标记物(CD31⁺、VEGFR2⁺、CD34⁺、血管内皮细胞钙黏蛋白⁺、E选择素⁺和血管性血友病因子⁺)^[27]。

2.2 内皮祖细胞的生物学特性

EPCs是血管生成的关键因素, 具有动员、迁移和归巢到新血管中的能力, 从而分化为成熟的内皮细胞^[35-37]。骨髓中的EPCs受各种因素的刺激后而向外周血迁移, 增加外周血中EPCs的数量, 称为EPCs的动员^[38]。动员到外周血中的EPCs最终能分化为成熟的内皮细胞并作用于受损组织, 从而修复损伤血管, 称为EPCs的归巢^[38]。从骨髓到外周循环的EPCs动员是出生后新生血管形成的关键步骤, 但EPCs动员背后的机制尚不完全清楚^[39]。EPCs可以响应各种生长因子和趋化因子进行动员, 如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)和基质细胞衍生因子-1(stromal cell-derived factor-1, SDF-1)等, 这些生长因子和趋化因子与特异性受体结合以激活各种通路, 包括VEGF/VEGFR2、FGF/FGFR和SDF-1/CXCR4信号通路^[27]。

2.3 内皮祖细胞的增殖与分离

EPCs的分离和培养技术是研究其生物学特性的基础。目前已经采用不同的方法来分离EPCs, 包括密度梯度离心(density gradient centrifugation, DGC)、免疫磁分离(immunomagnetic separation, IMI)和荧光激活细胞分选(fluorescence-activated cell sorting, FACS)^[22,40,41]。在DGC过程中, 首先分离MNCs并在涂盖纤维连接蛋白的培养皿中使用EBM-2培养液持续培养4 d。非贴壁细胞使用磷酸盐缓冲液洗去, 使MNCs留在培养皿上。培养4~7 d后, 获得纺锤形早期EPCs, 而培养2~3周则产生鹅卵石状的晚期EPCs^[27]。其他研究通过将贴壁的MNCs培养24 h或48 h后, 重新培养非贴壁细胞来分离EPCs^[42]。通过这种方式, 首先清除包含MNCs、巨噬细胞及循环成熟内皮细胞的初代贴壁细胞, 进而获取和收集贴壁的EPCs。IMI根据细胞表面标记物分离EPCs, 常用的细胞表面标记物包括CD133、CD34、CD90、CD31和CD14^[27]。利用FACS分离EPCs依赖于使用荧光抗体对一个或多个细胞表面标记物进行染色, 然后根据其荧光强度对目标细胞进行分选^[43]。对于FACS, 最常用的标记物是CD34、VEGFR2、CD45、CD31、CD144和CD146^[27]。还有一种混合分选方法, 首先使用IMI或DGC分离细胞, 然后进行多参数FACS分析^[44]。这些方法各有优缺点, 关于哪种方法最适合EPCs的分离仍存在争议^[27]。DGC被认为是一种粗糙的方法, 不能从形态学上确定分离的细胞是否为EPCs。依赖于细胞表面标记物的IMI和FACS可以更准确地分离EPCs, 其中IMI可以回收数量非常低的细胞, 这些细胞可能低于FACS检测阈值, 并且IMI可以对EPCs进行形态学分析。然而IMI只能基于一种抗体捕获EPCs, 而FACS可以使用多个标记物来分离EPCs并同时评估多种EPCs表型。尽管在混合分选中, 各种技术可以相互补充, 但对EPCs表面标记物尚未达成共识, 限制了这些技术的临床应用。

3 内皮祖细胞在心血管疾病治疗中的作用机制

EPCs通过多种机制在CVD治疗中发挥作用, 使其成为潜在的治疗策略, 可以改善CVD患者的预后和生活质量。

3.1 EPCs修复受损内皮

传统观点认为内皮损伤时,内皮修复通过邻近成熟内皮细胞的迁移和增殖来完成,但是成熟内皮细胞终末分化,增殖潜能低^[45]。随着研究的深入,越来越多的证据表明受损的内皮可以通过循环EPCs修复。EPCs的作用主要基于以下两种机制:一是在血管网络形成过程中,EPCs可以直接整合到新的血管组织中;二是EPCs可以释放几种促血管生成因子,包括VEGF、一氧化氮(nitric oxide, NO)和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)等,有助于内皮修复和再生^[46,47]。VEGF是一种关键的促血管生成因子,不仅可以促进内皮细胞的迁移和增殖,还可以加速血栓的溶解^[48]。Li等^[49]通过共价键将VEGF固定在三嵌段磷脂聚合物涂层MePBMTM上形成MePBMTM-VEGF样品,培养3 d后该样品表面的贴壁EPCs比其他实验对照组更多,表明MePBMTM-VEGF样品具有出色的改善快速再内皮化的能力;另外,还观察到其具有显著抑制血小板黏附和活化的能力。另一项研究发现,用VEGF培养EPCs后,EPCs表现出加速分化和连接蛋白43表达增加,促进了EPCs归巢并抑制新生内膜的形成,说明VEGF可以通过连接蛋白43促进EPCs分化和血管修复^[50]。NO也是支持内皮细胞迁移、增殖和EPCs分化行为的重要介质,在血管内皮化过程中起着关键作用。Zhen等^[51]发现,血浆NO水平与EPCs的数量或活性之间存在显著相关性,通过恢复外源性NO的产生有助于高血压前期循环EPCs的数量或活性逆转,修复内皮损伤和改善内皮功能。Yang等^[52]开发了一种“一锅法”,通过将多巴胺和硒代半胱氨酸浸泡在水溶液中,形成可以稳定产生NO的涂层,从而显著抑制平滑肌细胞的增殖和迁移,以及血小板的活化和聚集。此外,还增强了内皮细胞的黏附、增殖和迁移,并实现了快速的体内再内皮化,有效减少了新生内膜增生。MMPs是血栓形成过程中的一种重要介质,其在毛细血管形成和新血管生成中的功能日益受到重视^[53]。Kanayasu等^[54]发现,MMPs也可以通过降解细胞外基质成分来刺激内皮细胞和EPCs。内皮功能的损伤容易诱发CVD,而EPCs可以通过直接作用或者通过释放促血管生成因子修复受损的内

皮,进而在CVD的治疗中发挥作用。

3.2 EPCs抑制血栓形成与改善血液流变学特性

Miglionico等^[55]报道了一项临床试验,80名患者植入EPCs捕获支架16个月后,临床观察显示这些患者冠状动脉血管的平均狭窄率为 $2.2\% \pm 2.5\%$,最小管腔直径为 3.3 ± 0.5 mm,均显著低于术前水平。实验结果表明患者几乎没有血栓传播的形成,能够抵抗凝血和促进内皮化。此外,存在于血栓中的EPCs可以作为促血管生成细胞因子的来源诱导血管形成和蛋白酶分解血栓,并且EPCs可以分泌NO和前列腺素,与血小板相互作用,防止新血栓形成^[45]。研究发现,EPCs与血小板的结合主要通过环氧化酶-2的上调和前列腺素的分泌来抑制血小板活化、聚集、胶原黏附和血栓形成^[56]。EPCs移植导致循环EPCs和血管密度显著增加^[57],胸腺素 $\beta 4$ 处理的EPCs移植可增加血管密度^[58],这些结果表明EPCs可以增加血管密度,恢复血液流动。由此可见,移植EPCs可以减少患者血栓形成并改善血液流变学特性,从而缓解CVD的发展。

3.3 EPCs具有免疫调节作用

尽管功能失调的内皮细胞分泌活性氧会加速血管炎症的进展^[59],但是炎症环境促进了EPCs的迁移和血管生成功能^[60]。研究发现,EPCs抑制T细胞增殖,调节T细胞分化为促炎性和活性较低的表型;肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF α)与肿瘤坏死因子受体2(tumor necrosis factor receptor 2, TNFR2)相互作用,增强EPCs的免疫抑制和抗炎作用^[61]。一项研究表明,EPCs可减少T细胞促炎细胞因子的产生,免疫抑制作用取决于TNF/TNFR2轴^[62]。其他研究表明,来自脐带血或成人外周血的EPCs对调节T细胞的免疫抑制具有不同的影响^[63]。TNF α -TNFR2轴在EPCs免疫调节作用中起重要作用,TNFR2激动剂增强了EPCs的抗炎活性。Liang等^[64]将人脐带华通氏胶中的EPCs移植到肾脏缺血/再灌注损伤模型中,明显降低了活性氧产生以及炎性趋化因子巨噬细胞炎症蛋白-2和角质细胞源性细胞因子的表达。因此,EPCs具有免疫调节作用,可以通过释放抗炎因子和细胞因子抑制炎症反应和氧化反应,进而减少心血管组织的损伤并促进修复过程。

4 内皮祖细胞的临床应用前景

EPCs不仅可以作为预测CVD的生物标志物, 还可以作为CVD诊断和预后的生物标志物, 具有广阔的临床应用前景^[65]。Lee等^[66]将人外周血来源的EPCs输注到狗体内后, 血小板减少、VEGF和白介素10增加, 没有任何临床不良反应。在后肢缺血动物模型中, 注射从外周动脉疾病患者中分离出的EPCs, 并补充可溶性CD146血管生成因子, 改善了新血管的生成并恢复了血流^[67]。Flores-Ramírez等^[68]临床实验发现, 冠状动脉内输注CD133⁺ EPCs可改善慢性梗死后心功能不全患者的心脏功能和生活质量, 说明EPCs疗法改善了患者的心脏功能。此外, EPCs旁分泌功能能够维护血管完整性, 在治疗CVD及其高危因素方面有一定效果^[69]。EPCs产生的微小囊泡(microvesicles, MV)已被证明在动脉粥样硬化、心肌梗死和其他CVD中发挥重要作用^[70,71]。实验表明, 静脉注射EPC-MVs和细胞来源的MV均能减少动脉粥样硬化相关的细胞因子和趋化因子。此外, miRNA-223、miRNA-21、miRNA-126和miRNA-146a被转移至晚期EPCs, 显著降低了CVD的风险, 而EPC-MVs的益处大于细胞来源的MV^[70]。同样, 在心肌梗死模型中, 通过剪切稀化水凝胶将EPC-EVs注射到受损部位可改善血流并加速受损血管的恢复^[71]。Ke等^[72]发现, EPCs分泌的外泌体可以通过抑制内皮细胞向间充质细胞转化和降低高迁移性蛋白水平, 促进心肌成纤维细胞增殖和减少心肌纤维化。MiRNA-1246、miRNA-1290及其在EPCs分泌的外泌体中的过度表达可以通过上调基因*ELF5*和*SPI*在一定程度上改善心肌梗死^[73]。在小鼠心肌梗死模型中, EPCs分泌的外泌体中的*Rab27a*基因通过激活PI3K/Akt/FoxO3a通路和细胞周期蛋白D1的表达改善梗死心肌^[74]。综上所述, EPCs不仅通过抑制血栓形成来改善血管新生和心肌功能, 而且能够通过其旁分泌功能在CVD治疗中发挥关键有效的作用, 展现出广阔的临床应用前景。

EPCs除了在CVD中有广阔的临床应用前景外, 在其他疾病的治疗中也具有一定的前景, 如肾脏疾病^[75]、肺部疾病^[76]、阿尔兹海默症^[77]、虚

弱^[78]等。一项针对IgA肾病模型的研究显示, 大鼠给予EPCs可降低蛋白尿和血清肌酐水平^[79]。并且, EPCs移植减少了肾小球细胞外基质和免疫球蛋白A在肾小球中的沉积, 减缓了IgA肾病的进展。Chade等^[80]发现, 在实验性肾动脉狭窄模型中, 将EPCs注射到狭窄的肾脏中可改善微血管密度和肾功能, 以及减少纤维化。一项随机实验中, 15名肺动脉高压患者接受了一次性静脉输注EPCs而16名患者仅接受常规治疗, 结果显示EPCs可显著改善肺动脉压、肺血管阻力和总心输出量, 且无严重不良影响^[81]。Zhang等^[82]将EPCs直接注射到APP/PS1转基因小鼠模型的海马体中, EPCs的移植上调了血脑屏障中的紧密连接蛋白, 增加了微血管密度并促进了海马体和皮层的血管生成。EPCs还发挥了抗凋亡作用, 促进了海马体中神经元的存活。此外, 观察到海马体和大脑皮层中 β -淀粉样蛋白斑块的面积和强度。这些结果均表明EPCs在疾病治疗中具有潜在的价值, 其临床应用前景仍有待进一步发掘。

5 总结与展望

EPCs可以促进新血管的生成和修复受损的内皮, 还可以抑制炎症反应和氧化反应, 从而增加组织血供和改善心血管功能, 提高心肌功能和生存率, 改善CVD的发生和发展。然而, 尽管EPCs治疗CVD显示出巨大的潜力, 但仍存在一些挑战。首先, 关于EPCs的来源和分离问题, 仍需要进一步解决。目前, EPCs并没有明确、标准化的定义, 主要被描述为CD34⁺CD133⁺VEGFR2⁺的细胞^[61], 对表面标记物尚未达成共识, 导致无法准确地分离出EPCs。并且, DGC、IMI和FACS等分离纯化方法都存在一定的局限性, 限制了EPCs在疾病治疗中的有效应用。其次是细胞移植效率与存活率问题。移植的EPCs需要在受体血管内壁上定植并参与新血管的形成和修复。但是由于免疫排斥和缺乏支持性的细胞和分子环境, EPCs的移植效率和存活率往往较低。第三是EPCs治疗的安全性和伦理问题。由于移植细胞来自外源, 可能会触发宿主免疫系统的排斥反应, 进而导致细胞功能丧失和治疗失败, 也可能会增加肿瘤形成等风险。不仅如此, EPCs治疗还涉及细胞来源、细

胞采集和使用等伦理方面的问题。因此, 需要进一步的研究来解决这些问题。

虽然EPCs治疗仍存在一些挑战, 但是现有的研究结果表明, 其在临床治疗上具有广阔的前景。EPCs治疗CVD具有广泛的适应性, 可以用于各种类型的CVD, 包括冠心病、心肌梗死、心力衰竭、动脉闭塞症等, 此外还可能在肾脏疾病、肺部疾病、阿尔兹海默症等疾病中发挥重要作用。相较于传统的心血管治疗手段, 如药物治疗、介入手术等, EPCs治疗有着更为理想的安全性和疗效。EPCs可以在受体体内定植并分化成内皮细胞, 参与新血管的形成和修复过程, 从而增加组织血供和改善心血管功能。此外, EPCs移植还具有可重复性、低不良反应和可定制化等优点。随着对EPCs研究和了解的逐渐深入、相关技术的不断发展和完善, 利用基因工程技术, 结合干细胞技术、纳米技术和3D打印技术等改造EPCs都是未来的发展方向之一。此外, 通过与生物学工程、生物材料学等其他学科领域的深入合作与交流, 可以共同推动EPCs治疗的发展和创新, 进而提升其治疗效果和安全性。相信EPCs治疗有望成为未来CVD治疗领域的重要新兴力量。

参考文献

- [1] Gladwell LR, Ahirah C, Rasheed S, et al. Traditional therapeutics and potential epidrugs for CVD: why not both? *Life (Basel)*, 2023, 14(1): 23
- [2] Li Y, Wang J, Chen S, et al. MiR-137 boosts the neuroprotective effect of endothelial progenitor cell-derived exosomes in oxyhemoglobin-treated SH-SY5Y cells partially via COX2/PGE2 pathway. *Stem Cell Res Ther*, 2020, 11(1): 330
- [3] Altabas V, Biloš LSK. The role of endothelial progenitor cells in atherosclerosis and impact of anti-lipemic treatments on endothelial repair. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5): 2663
- [4] Dai X, Wang K, Fan J, et al. Nrf2 transcriptional upregulation of IDH2 to tune mitochondrial dynamics and rescue angiogenic function of diabetic EPCs. *Redox Biol*, 2022, 56: 102449
- [5] Wang T, Hong C, Chen L, et al. Modulation of EPC: a new hope for pulmonary artery hypertension treatment. *Int J Cardiol*, 2018, 268: 214
- [6] GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the global burden of disease study 2019. *Lancet*, 2020, 396(10258): 1204-1222
- [7] Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, et al. Global burden of cardiovascular diseases and risk factors, 1990-2019. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 76(25): 2982-3021
- [8] GBD 2019 Risk Factors Collaborators. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the global burden of disease study 2019. *Lancet*, 2020, 396(10258): 1223-1249
- [9] Li Y, Cao G, Jing W, et al. Global trends and regional differences in incidence and mortality of cardiovascular disease, 1990-2019: findings from 2019 global burden of disease study. *Eur J Prev Cardiol*, 2023, 30(3): 276-286
- [10] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 《中国心血管健康与疾病报告2022》概要. *中国介入心脏病学杂志*, 2023, 31(07): 485-508
- [11] Felice F, Chiara Barsotti M, Poredos P, et al. Effect of aging on metabolic pathways in endothelial progenitor cells. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(13): 2351-2365
- [12] Van Craenenbroeck AH, Van Craenenbroeck EM. Endothelial progenitor cells and cardiovascular risk: does ageing trump all other factors? *Ann Transl Med*, 2016, 4(24): 553
- [13] 马丽媛, 王增武, 樊静, 等. 《中国心血管健康与疾病报告2022》要点解读. *中国全科医学*, 2023, 26(32): 3975-3994
- [14] 沈霞芬, 蔡强, 俞蔚, 等. 心血管疾病高危人群的影响因素及其关联分析. *基础医学与临床*, 2023, 43(11): 1655-1661
- [15] Hajar R. Framingham contribution to cardiovascular disease. *Heart Views*, 2016, 17(2): 78-81
- [16] Teo KK, Rafiq T. Cardiovascular risk factors and prevention: a perspective from developing countries. *Can J Cardiol*, 2021, 37(5): 733-743
- [17] 张颖, 杨琳, 李军梅, 等. 心血管疾病治疗中的中西药药物相互作用. *中国中药杂志*, 2022, 47(19): 5121-5130
- [18] 汪美玲, 周晓辉. 心血管介入治疗装置的研究进展. *中国医疗设备*, 2023, 38(10): 160-164
- [19] Guglin M, Zucker MJ, Borlaug BA, et al. Evaluation for heart transplantation and LVAD implantation. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 75(12): 1471-1487
- [20] 梁思佳, 周家国. 动脉粥样硬化性心血管疾病的药物治疗研究进展. *药学进展*, 2023, 47(12): 897-904
- [21] Ward NC, Watts GF, Eckel RH. Statin toxicity. *Circ Res*, 2019, 124(2): 328-350
- [22] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science*, 1997, 275(5302): 964-966

- [23] Peters EB. Endothelial progenitor cells for the vascularization of engineered tissues. *Tissue Eng Part B Rev*, 2018, 24(1): 1-24
- [24] Chopra H, Hung MK, Kwong DL, et al. Insights into endothelial progenitor cells: origin, classification, potentials, and prospects. *Stem Cells Int*, 2018, 2018: 9847015
- [25] Kutikhin AG, Sinitsky MY, Yuzhalin AE, et al. Shear stress: an essential driver of endothelial progenitor cells. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 118: 46-69
- [26] Carneiro GD, Godoy JAP, Werneck CC, et al. Differentiation of C57/BL6 mice bone marrow mononuclear cells into early endothelial progenitors cells in different culture conditions. *Cell Biol Int*, 2015, 39(10): 1138-1150
- [27] Chen Y, Wan G, Li Z, et al. Endothelial progenitor cells in pregnancy-related diseases. *Clin Sci*, 2023, 137(22): 1699-1719
- [28] Hur J, Yoon CH, Kim HS, et al. Characterization of two types of endothelial progenitor cells and their different contributions to neovasclogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(2): 288-293
- [29] Goligorsky MS, Yasuda K, Ratliff B. Dysfunctional endothelial progenitor cells in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(6): 911-919
- [30] Fadini GP, Losordo D, Dimmeler S. Critical reevaluation of endothelial progenitor cell phenotypes for therapeutic and diagnostic use. *Circ Res*, 2012, 110(4): 624-637
- [31] Basile DP, Yoder MC. Circulating and tissue resident endothelial progenitor cells. *J Cell Physiol*, 2014, 229(1): 10-16
- [32] Cantaluppi V, Gatti S, Medica D, et al. Microvesicles derived from endothelial progenitor cells protect the kidney from ischemia-reperfusion injury by microRNA-dependent reprogramming of resident renal cells. *Kidney Int*, 2012, 82(4): 412-427
- [33] Yasuda K, Khandare A, Burianovskyy L, et al. Tunneling nanotubes mediate rescue of prematurely senescent endothelial cells by endothelial progenitors: exchange of lysosomal pool. *Aging*, 2011, 3(6): 597-608
- [34] Hu L, Dai SC, Luan X, et al. Dysfunction and therapeutic potential of endothelial progenitor cells in diabetes mellitus. *J Clin Med Res*, 2018, 10(10): 752-757
- [35] Naito H, Iba T, Takakura N. Mechanisms of new blood-vessel formation and proliferative heterogeneity of endothelial cells. *Int Immunol*, 2020, 32(5): 295-305
- [36] Shi X, Seidle KA, Simms KJ, et al. Endothelial progenitor cells in the host defense response. *Pharmacol Ther*, 2023, 241: 108315
- [37] Wang X, Wang R, Jiang L, et al. Endothelial repair by stem and progenitor cells. *J Mol Cell Cardiol*, 2022, 163: 133-146
- [38] 覃小燕, 胡珍, 陈景瑞, 等. 内皮祖细胞介导的组织损伤修复的研究进展. *中国临床药理学杂志*, 2017, 33(24): 2633-2636
- [39] 李婧娴, 韩兴龙, 涂元媛, 等. 内皮祖细胞在血管损伤修复中的研究进展. *中华细胞与干细胞杂志(电子版)*, 2022, 12(3): 176-180
- [40] Kourek C, Briasoulis A, Zouganeli V, et al. Exercise training effects on circulating endothelial and progenitor cells in heart failure. *J Cardiovasc Dev Dis*, 2022, 9(7): 222
- [41] Michalska-Jakubus MM, Rusek M, Kowal M, et al. Anti-endothelial cell antibodies are associated with apoptotic endothelial microparticles, endothelial sloughing and decrease in angiogenic progenitors in systemic sclerosis. *Postepy Dermatol Alergol*, 2020, 37(5): 725-735
- [42] Chen C, Dai P, Nan L, et al. Isolation and characterization of endothelial progenitor cells from canine bone marrow. *Biotech Histochem*, 2021, 96(2): 85-93
- [43] Tanaka R, Ito-Hirano R, Fujimura S, et al. *Ex vivo* conditioning of peripheral blood mononuclear cells of diabetic patients promotes vasculogenic wound healing. *Stem Cells Transl Med*, 2021, 10(6): 895-909
- [44] Choi YH, Neef K, Reher M, et al. The influence of pre-operative risk on the number of circulating endothelial progenitor cells during cardiopulmonary bypass. *Cytotherapy*, 2010, 12(1): 79-87
- [45] Li WD, Li XQ. Endothelial progenitor cells accelerate the resolution of deep vein thrombosis. *Vascul Pharmacol*, 2016, 83: 10-16
- [46] Cai X, Chen Z, Pan X, et al. Inhibition of angiogenesis, fibrosis and thrombosis by tetramethylpyrazine: mechanisms contributing to the SDF-1/CXCR4 axis. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88176
- [47] Asahara T, Takahashi T, Masuda H, et al. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *EMBO J*, 1999, 18(14): 3964-3972
- [48] Meng Q, Wang W, Yu X, et al. Upregulation of microRNA-126 contributes to endothelial progenitor cell function in deep vein thrombosis via Its target PIK3R2. *J Cell Biochem*, 2015, 116(8): 1613-1623
- [49] Li P, Luo Z, Li X, et al. Preparation, evaluation and functionalization of biomimetic block copolymer coatings for potential applications in cardiovascular implants. *Appl Surf Sci*, 2020, 502: 144085
- [50] Li L, Liu H, Xu C, et al. VEGF promotes endothelial progenitor cell differentiation and vascular repair through connexin 43. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 237
- [51] Zhen Y, Xiao S, Ren Z, et al. Increased endothelial progenitor cells and nitric oxide in young prehypertensive

- women. *J Clin Hypertens*, 2015, 17(4): 298-305
- [52] Yang Z, Yang Y, Zhang L, et al. Mussel-inspired catalytic selenocystamine-dopamine coatings for long-term generation of therapeutic gas on cardiovascular stents. *Biomaterials*, 2018, 178: 1-10
- [53] Deatrick KB, Eliason JL, Lynch EM, et al. Vein wall remodeling after deep vein thrombosis involves matrix metalloproteinases and late fibrosis in a mouse model. *J Vasc Surg*, 2005, 42(1): 140-148
- [54] Kanayasu-Toyoda T, Tanaka T, Ishii-Watabe A, et al. angiogenic role of MMP-2/9 expressed on the cell surface of early endothelial progenitor cells/myeloid angiogenic cells. *J Cell Physiol*, 2015, 230(11): 2763-2775
- [55] Miglionico M, Patti G, D'Ambrosio A, et al. Percutaneous coronary intervention utilizing a new endothelial progenitor cells antibody-coated stent: a prospective single-center registry in high-risk patients. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2008, 71(5): 600-604
- [56] Abou-Saleh H, Yacoub D, Theoret JF, et al. Endothelial progenitor cells bind and inhibit platelet function and thrombus formation. *Circulation*, 2009, 120(22): 2230-2239
- [57] Huang X, Li M, Zhou D, et al. Endothelial progenitor cell transplantation restores vascular injury in mice after whole-brain irradiation. *Brain Res*, 2020, 1746: 147005
- [58] Zhu J, Song J, Yu L, et al. Safety and efficacy of autologous thymosin β 4 pre-treated endothelial progenitor cell transplantation in patients with acute ST segment elevation myocardial infarction: a pilot study. *Cytotherapy*, 2016, 18(8): 1037-1042
- [59] Caja S, Enriquez JA. Mitochondria in endothelial cells: sensors and integrators of environmental cues. *Redox Biol*, 2017, 12: 821-827
- [60] Prisco AR, Hoffmann BR, Kaczorowski CC, et al. Tumor necrosis factor α regulates endothelial progenitor cell migration via CADM1 and NF- κ B. *Stem Cells*, 2016, 34(7): 1922-1933
- [61] Xiao ST, Kuang CY. Endothelial progenitor cells and coronary artery disease: current concepts and future research directions. *World J Clin Cases*, 2021, 9(30): 8953-8966
- [62] Naserian S, Abdelgawad ME, Afshar Bakshloo M, et al. The TNF/TNFR2 signaling pathway is a key regulatory factor in endothelial progenitor cell immunosuppressive effect. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1): 94
- [63] Nouri Barkestani M, Shamdani S, Afshar Bakshloo M, et al. TNF α priming through its interaction with TNFR2 enhances endothelial progenitor cell immunosuppressive effect: new hope for their widespread clinical application. *Cell Commun Signal*, 2021, 19(1): 1
- [64] Liang CJ, Shen WC, Chang FB, et al. Endothelial progenitor cells derived from Wharton's jelly of human umbilical cord attenuate Ischemic acute kidney injury by increasing vascularization and decreasing apoptosis, inflammation, and fibrosis. *Cell Transplant*, 2015, 24(7): 1363-1377
- [65] Gendron N, Smadja DM. Circulating endothelial cells: a new biomarker of endothelial dysfunction in hematological diseases. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2016, 74(4): 395-404
- [66] Lee SH, Ra JC, Oh HJ, et al. Clinical assessment of intravenous endothelial progenitor cell transplantation in dogs. *Cell Transplant*, 2019, 28(7): 943-954
- [67] Essaadi A, Nollet M, Moyon A, et al. Stem cell properties of peripheral blood endothelial progenitors are stimulated by soluble CD146 via miR-21: potential use in autologous cell therapy. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 9387
- [68] Flores-Ramírez R, Uribe-Longoria A, Rangel-Fuentes MM, et al. Intracoronary infusion of CD133⁺ endothelial progenitor cells improves heart function and quality of life in patients with chronic post-infarct heart insufficiency. *Cardiovasc Revasc Med*, 2010, 11(2): 72-78
- [69] Yang Z, von Ballmoos MW, Faessler D, et al. Paracrine factors secreted by endothelial progenitor cells prevent oxidative stress-induced apoptosis of mature endothelial cells. *Atherosclerosis*, 2010, 211(1): 103-109
- [70] Alexandru N, Andrei E, Safciuc F, et al. Intravenous administration of allogenic cell-derived microvesicles of healthy origins defends against atherosclerotic cardiovascular disease development by a direct action on endothelial progenitor cells. *Cells*, 2020, 9(2): 423
- [71] Chen CW, Wang LL, Zaman S, et al. Sustained release of endothelial progenitor cell-derived extracellular vesicles from shear-thinning hydrogels improves angiogenesis and promotes function after myocardial infarction. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(7): 1029-1040
- [72] 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. *DNA Cell Biol*, 2017, 36(11): 1018-1028
- [73] Huang Y, Chen L, Feng Z, et al. EPC-derived exosomal miR-1246 and miR-1290 regulate phenotypic changes of fibroblasts to endothelial cells to exert protective effects on myocardial infarction by targeting ELF5 and SP1. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 647763
- [74] Zhou W, Zheng X, Cheng C, et al. Rab27a deletion impairs the therapeutic potential of endothelial progenitor cells for myocardial infarction. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(2): 797-807
- [75] Ozkok A, Yildiz A. Endothelial progenitor cells and

- kidney diseases. *Kidney Blood Press Res*, 2018, 43(3): 701-718
- [76] Kolesnichenko OA, Whitsett JA, Kalin TV, et al. Therapeutic potential of endothelial progenitor cells in pulmonary diseases. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2021, 65(5): 473-488
- [77] Custodia A, Ouro A, Romaus-Sanjurjo D, et al. Endothelial progenitor cells and vascular alterations in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13: 811210
- [78] Komici K, Perna A, Guerra G. Role of endothelial progenitor cells in frailty. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(3): 2139
- [79] Guo W, Feng JM, Yao L, et al. Transplantation of endothelial progenitor cells in treating rats with IgA nephropathy. *BMC Nephrol*, 2014, 15(1): 110
- [80] Chade AR, Zhu XY, Krier JD, et al. Endothelial progenitor cells homing and renal repair in experimental renovascular disease. *Stem Cells*, 2010, 28(6): 1039-1047
- [81] Wang XX, Zhang FR, Shang YP, et al. Transplantation of autologous endothelial progenitor cells may be beneficial in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 49(14): 1566-1571
- [82] Zhang S, Zhi Y, Li F, et al. Transplantation of *in vitro* cultured endothelial progenitor cells repairs the blood-brain barrier and improves cognitive function of APP/PS1 transgenic AD mice. *J Neurol Sci*, 2018, 387: 6-15