

CD146三十年研究的回顾与展望

段红霞, 熊朝亮, 景林, 徐庆吉, 刘晶玉, 马欣然, 王大吉³, 向建全³, 何志恒³, 冯静³ and 阎锡蕴³

Citation: [中国科学: 生命科学](#) **50**, 1339 (2020); doi: 10.1360/SSV-2020-0238

View online: <https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2020-0238>

View Table of Contents: <https://engine.scichina.com/publisher/scp/journal/SSV/50/12>

Published by the [《中国科学》杂志社](#)

Articles you may be interested in

[生物大灭绝研究三十年](#)

SCIENTIA SINICA Terrae **44**, 377 (2014);

[古DNA研究35年回顾与展望](#)

SCIENTIA SINICA Terrae **46**, 1564 (2016);

[三十年来的苏联天文学](#)

Chinese Science Bulletin **1**, 474 (1950);

[胚胎植入研究的回顾和展望](#)

Chinese Science Bulletin **54**, 2771 (2009);

[转基因水稻研究的回顾与展望](#)

Chinese Science Bulletin **54**, 2699 (2009);



CD146三十年研究的回顾与展望

段红霞^{1†}, 熊朝亮^{1,2†}, 景林^{1,2†}, 徐庆吉^{1,2}, 刘晶玉^{1,2}, 马欣然^{1,2}, 王大吉³, 向建全^{1,4}, 何志恒^{1,5}, 冯静^{1*}, 阎锡蕴^{1,2,6*}

1. 中国科学院生物物理研究所, 蛋白质与多肽药物重点实验室, 北京 100101;
2. 中国科学院大学生命科学学院, 北京 100049;
3. 深圳市第二人民医院/深圳大学医学部第一附属医院, 耳鼻喉科, 转化医学研究院, 深圳 518035;
4. 西南医科大学基础医学院, 生物化学与分子生物学教研室, 泸州 646000;
5. 中国科学院大学未来技术学院, 北京 100049;
6. 郑州大学基础医学院, 纳米酶医学研究中心, 郑州 450001

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: fengjing@ibp.ac.cn; yanxy@ibp.ac.cn

收稿日期: 2020-07-27; 接受日期: 2020-09-14; 网络版发表日期: 2020-11-02

摘要 CD146分子发现于1987年, 最初被认为是黑色素瘤标志分子, 随后30余年的研究, 逐渐揭示了该分子在早期发育、免疫应答、代谢等生理过程, 以及在肿瘤、炎症、自身免疫病中的重要作用及机制. 目前认为, CD146不仅是一个黏附分子, 还是新生血管、T细胞活化和多种肿瘤的标志分子, 更是一种细胞膜受体, 接受细胞外信号并调控细胞内多种重要信号途径. 最近, 越来越多的临床研究报道, 无论是细胞膜表面的CD146, 还是血清和其他体液中的可溶性CD146(soluble CD146, sCD146), 都已成为多种疾病诊断和预后评价的重要参考, 将成为疾病治疗的新靶点. 迄今, 全球已有40余株CD146抗体, 有些治疗性抗体已进入临床试验阶段. 本文全面回顾了CD146的研究历史, 分析了当前亟待解决的关键科学问题, 展望了其未来临床应用的潜能, 以期为全面认识CD146, 充分发挥其在疾病诊疗中的价值提供更多借鉴.

关键词 CD146, 可溶性CD146, 血管生成, 发育, 间充质干细胞, 肿瘤, 炎症, 自身免疫病, 信号转导, 受体, 黏附分子

1 CD146的发现及命名

人类白细胞分化抗原CD146(cluster of differentiation 146, 简称CD146)是I型跨膜糖蛋白, 非Ca²⁺依赖性细胞黏附分子, 属于免疫球蛋白超家族. 在1996年召开的第六届国际人类白细胞分化抗原会议(6th Interna-

tional Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens)之前, CD146拥有多种别称, 包括MCAM, Mel-CAM, METCAM, MUC18, A32抗原, S-Endo 1和P1H12等. 这些命名归纳起来可分为两类, 一类是以发现该分子时使用的单克隆抗体命名, 如MUC18, S-Endo 1, P1H12等; 另一类是以其功能命名,

引用格式: 段红霞, 熊朝亮, 景林, 等. CD146三十年研究的回顾与展望. 中国科学: 生命科学, 2020, 50: 1339-1387

Duan H X, Xiong C L, Jing L, et al. Review and prospect of CD146 research (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2020, 50: 1339-1387, doi: [10.1360/SSV-2020-0238](https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0238)

如MCAM, Mel-CAM, METCAM等。

1987年, Johnson团队首次发现单克隆抗体MUC18能够识别恶性黑色素瘤中的一种新抗原, 即分子量为113 kD的膜型糖蛋白。这种抗原糖蛋白在转移性黑色素瘤以及晚期的原发性癌组织中高表达, 而在相应的良性组织中几乎不表达^[1]。1989年, 将其序列克隆出来后发现, 该抗原与神经细胞黏附分子(neural cell adhesion molecule, NCAM)有较高的相似性, 是由信号肽、5个免疫球蛋白样结构域域(domain1~domain5, D1~D5)、跨膜区和一个短的胞质区组成, 其表达水平与黑色素瘤的转移正相关, 与病人预后负相关。由于该抗原是通过单克隆抗体MUC18鉴定出来, 因此被命名为MUC18^[2]。

1995年, Bardin等人^[3]在研究人类血管内皮细胞时发现, 单克隆抗体S-Endo 1识别一种抗原(命名为S-Endo 1), 在人的血管内皮细胞, 包括动脉、小动脉、静脉、小静脉、毛细血管、淋巴管等处都有表达。随后的质谱鉴定表明, 该S-Endo 1抗原即为MUC18。2001年, Hebbel团队^[4]用单克隆抗体P1H12在循环内皮细胞以及血管内皮细胞上发现了一种未知抗原, 并将其命名为P1H12。后来的序列分析发现, 该抗原也是MUC18。

1994年, Shih等人^[5]发现黑色素瘤中表达一种A32抗原, 该抗原属于整合膜蛋白, 分子量为113 kD, 其表达水平与黑色素瘤的转移直接相关。随后质谱鉴定发现, 该A32抗原也是MUC18。由于其高表达于黑色素瘤中, 并与肿瘤的转移直接相关, 于是Shih和Johnson团队于1994年和1996年先后将其命名为Mel-CAM(melanoma cell adhesion molecule)或MCAM(melanoma-associated cell adhesion molecule)^[6-8]。2005年, 吴光哲^[9]根据它与肿瘤转移直接相关, 而将其命名为MET-CAM(metastasis cell adhesion molecule)。

1996年, 第六届国际人类白细胞分化抗原会议将上述具有多个名称的同一分子命名为CD146。从此, CD146成为该分子的国际标准名称。

2003年, 阎锡蕴^[10]在寻找肿瘤血管内皮靶分子时, 用肝癌细胞培养上清刺激后的人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)作为免疫原, 制备了一株单克隆抗体名为AA98。该抗体特异性识别肿瘤血管内皮细胞, 并且显著抑制肿瘤血管的新生。经质谱鉴定, AA98识别的抗原为CD146分子。由

此开启了CD146肿瘤血管新靶点的结构与功能研究, 以及抗体AA98在肿瘤靶向治疗中的应用研究。

2 CD146的表达调控及翻译后修饰

2.1 CD146的基因组定位及结构

CD146分子在人、小鼠、大鼠、鹌鹑、鸡等物种中均有表达。如图1所示, 人类CD146基因位于第11号染色体长臂23区3带(Chr11q23.3), 由16个外显子组成, 共跨越14 kb, 编码一段包含646个氨基酸残基、相对分子量约为113 kD的蛋白。CD146为单次跨膜I型膜蛋白, 胞外区有5个免疫球蛋白样结构域, 包括2个V组结构域和3个C₂组结构域(V-V-C₂-C₂-C₂)。D1、D2和D4结构域呈疏水性, D3和D5结构域呈亲水性^[11]。CD146胞内区由63个氨基酸残基组成, 有多个潜在的蛋白激酶识别位点及与其他蛋白相互作用位点, 提示CD46可能参与信号转导。

CD146有多种存在形式。有文献报道, CD146基因可以通过第15号外显子的可变剪切, 编码一种短亚型(short isoform, CD146-s)形式, 长度为603个氨基酸, 分子量约为105 kD^[12]。此外, CD146还存在一种不包含跨膜区和胞内区的可溶性形式, 即可溶性CD146(soluble CD146, sCD146)。sCD146仅含552个氨基酸, 其分子量约为100 kD(图1), 这种可溶性形式产生的机制目前还没有定论。

2.2 CD146在胚胎发育时期的动态表达

CD146分子的表达起始于胚胎, 且在胚胎发育的不同阶段呈现动态变化。如图2所示, 在早期人类胚胎组织(孕7~12周)中, CD146的表达水平高于孕16周的胚胎组织, 而在出生后其表达水平迅速下降并维持在较低的水平^[13-15]。另外, 与成体组织相比, CD146在胚胎期多种组织器官中高表达, 如胚胎期的神经系统、气管、输卵管、肾脏等。CD146在胚胎发育中的动态表达, 提示其在胚胎发育中发挥重要作用。

CD146在神经系统的整个发育过程中均有表达。在鸡胚E8期的脊髓、背根神经节, 以及E11~E12期的小脑外颗粒层中, 均能检测到CD146的表达, 且脊髓灰质比白质中表达高。CD146在孵化后的脊髓仍有弱表达, 但在小脑外颗粒层中不再表达^[16]。此外, CD146还表达在成年大鼠的大脑海马区、小脑的浦肯野细胞

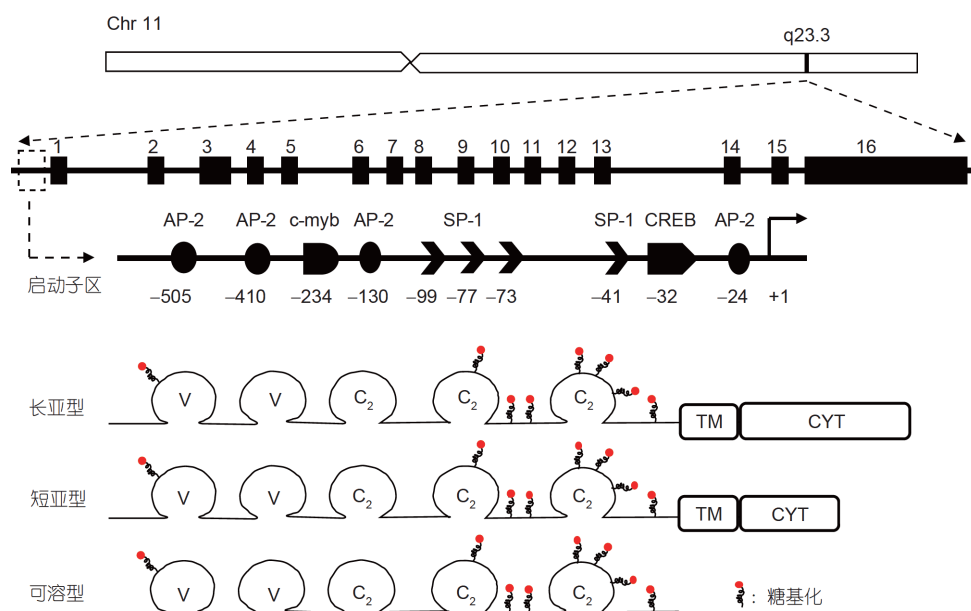


图1 CD146的基因组定位及亚型示意图(网络版彩图)

Figure 1 Schematic diagram of genomic location and subtype of CD146 (color online)

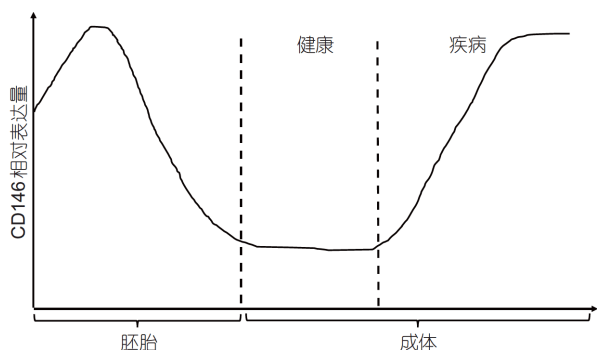


图2 在不同发育时期及正常与疾病不同状态下CD146的动态表达

Figure 2 The dynamic expression of CD146 at different development stages under normal and diseased conditions

及脊髓的感觉神经元上^[14]。在人的大脑额叶组织中也检测到CD146的表达^[17]。这种表达模式提示, CD146可能与神经轴突的伸长以及学习记忆等功能密切相关。

在视网膜的发育过程中, 如鹌鹑胚胎发育第4天, 视网膜色素上皮细胞的顶膜富集CD146分子, 第5天神经视网膜上也有CD146表达, 提示CD146可能参与视网膜的发育^[18]。在肾脏胚胎发育过程中, CD146主要在输尿管芽细胞和后肾间质细胞中高表达, 而在发育成熟的肾脏组织中表达较弱^[13]。

此外, 在脉管系统的发育过程中, CD146的表达与血管和淋巴管内皮细胞的出芽、迁移等过程密切相关^[10,19,20]。在血管和血脑屏障的发育过程中, CD146也呈现动态表达。在发育早期, CD146仅在血管内皮细胞中表达, 促进周细胞的募集并分泌TGF- β 1, 后者下调内皮细胞中CD146的表达。随着血管的不断成熟, CD146的表达也从内皮细胞过渡到周细胞, 并参与血脑屏障的发育及成熟^[21]。

2.3 CD146在正常组织中的表达

关于CD146在正常组织中的表达, 目前尚未有研究报道。在此我们根据数据库综合分析和文献调研两种途径, 将获得的信息分析、整理、概述如下: 首先, 通过GTEX, NCBI, BioGPS, ProteomicsDB, ProteinAtlas等多个公共数据库, 分别在mRNA和蛋白质水平对正常组织中CD146的表达情况进行分析。结果发现, CD146 mRNA水平和蛋白质水平在不同组织中有明显的差异(图3), 大概可分为三种类型: (i) 在血管、脂肪组织、肺、胎盘、视网膜等处, mRNA和蛋白质均高表达; (ii) 在心脏、皮肤、结肠等处, mRNA高表达, 蛋白质低表达; (iii) 在肾上腺、扁桃体等处, mRNA低表达, 蛋白质高表达。这些结果提示, CD146

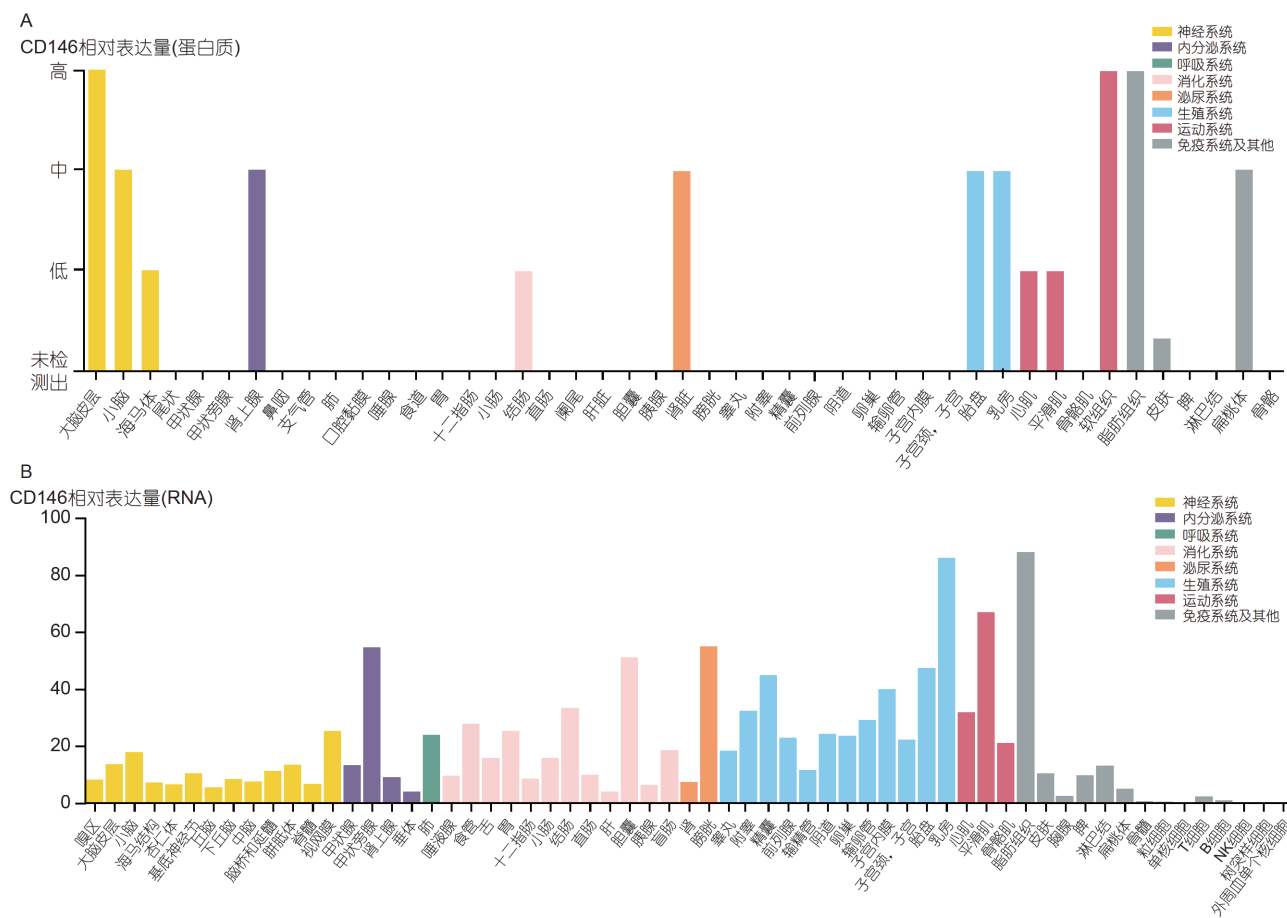


图3 正常组织中CD146 蛋白质(A)和mRNA(B)表达谱
 Figure 3 The expression profiles of CD146 protein (A) and mRNA (B) in normal tissues

的差异表达可能与特定的基因表达调控或损伤、应激等相关,也可能是由于检测通量或测序深度等因素的影响。

根据文献报道,CD146主要分布于血管内皮细胞、植入位点中间滋养层细胞、毛囊的外部基壳、乳腺上皮、视网膜、胸腺及部分免疫细胞中^[22~28]。CD146还被认为是循环内皮细胞和血管内皮细胞的重要标志分子^[29,30],并参与胚胎植入、血管新生和肿瘤转移。

2.4 CD146在病变组织中的表达

在多种疾病情况下,如肿瘤、炎症、自身免疫病、血管相关疾病及流产等,CD146表达水平发生显著变化。有趣的是,CD146分子在不同肿瘤中的表达呈现出截然相反的现象。例如,在多种肿瘤组织中都

呈现高表达,包括黑色素瘤、血管肉瘤、平滑肌肉瘤、Kaposi’s肉瘤、三阴性乳腺癌、卵巢癌、胎盘滋养层细胞瘤、绒毛膜癌、小细胞肺癌^[31~36]、肾透明细胞癌、甲状腺癌、肝癌、头颈鳞状细胞癌、胆管癌等^[37~40]。然而,在部分肿瘤组织中表达下调^[38],如乳腺癌、子宫内膜癌、肺鳞癌、肺腺癌、前列腺癌、膀胱尿路上皮癌、结直肠癌等^[41,42]。这些矛盾的现象提示,CD146在肿瘤发生和发展中具有复杂的作用(有关CD146与肿瘤的具体内容将在章节6专门综述)。

在炎症和免疫性疾病中,CD146是T细胞活化的标志分子,参与T细胞介导的免疫反应(详见章节7),并且与疾病的进展正相关。本团队^[43]于2019年发现,CD146在肺动脉高压患者的肺动脉平滑肌细胞上的表达水平明显高于相应的正常组织,并且表达水平与肺动脉高压的严重程度呈正相关。CD146基因敲除或CD146抗

体靶向治疗均能明显缓解肺动脉高压,改善心脏功能。另外,尽管正常气道上皮细胞不表达CD146,但当肺部被病毒(或细菌)感染或吸烟而导致支气管扩张时,CD146的表达上调,促进炎症因子,如IL-8的分泌。当靶向CD146治疗时,能够减弱呼吸道炎症反应和病毒感染^[44-48]。

正常肾组织中CD146的表达量比较低,然而在各种肾脏疾病中,CD146表达在肾小球内皮细胞、肾小管周围毛细血管内皮细胞、系膜细胞及肾小管上皮细胞上,其表达强度与肾小球硬化、肾间质纤维化程度、肾功能损伤情况正相关^[49,50]。在IgA肾病中,CD146的表达与IgA复合物共定位,提示CD146可能参与IgA肾病的发病进程^[51]。然而,其背后的机制还有待于进一步研究。

CD146与胚胎植入和习惯性流产关系密切。本团队于2008年发现,在习惯性流产和不明原因流产患者的子宫内膜组织中,CD146的表达明显下调。2018年,Hinduja团队^[52]比较了孕育和不孕不育患者的子宫内膜组织,发现不孕不育者的子宫内膜CD146表达水平显著降低。有意思的是,与膜型CD146相反,sCD146的含量在正常妊娠者的血清中较低,而在不明原因流产患者血清中含量增加^[53]。上述现象提示,无论是膜型CD146还是sCD146,均可作为流产的标志分子。此外,还有研究证实CD146与胚胎植入的关系密切。Bardin团队^[54]于2017年发现,体外胚胎培养液中的sCD146水平与胚胎移植的成功率呈负相关。支持CD146与胚胎植入相关的另一个实验证据是,在小鼠胚胎植入前,如果先使用CD146抗体AA98干预,也会导致小鼠妊娠失败^[55]。

2.5 CD146的表达调控

1993年,Johnson团队^[56]将CD146翻译起始位点上游1 kb定义为CD146的启动子区,并将其克隆出来。该区没有典型的CAAT盒和TATA盒,但GC含量较高。CD146启动子区含有多个转录因子的结合位点,包括4个SP1结合位点、4个AP2结合位点、1个CREB结合位点、1个c-Myb结合位点等(图1)。后续研究发现,CREB和SP1能诱导CD146的转录,而AP2则抑制其表达^[57]。

CD146的表达受多种因素的调控。在促进其表达的因素中,生长因子ET-1,IGF-1,IGFBP4,NGF等,都是通过促进CREB的磷酸化或激活Wnt/ β -catenin通路

而上调肿瘤细胞CD146的表达^[58-61];而有些细胞因子,如IL-1 α 和IL13等,是通过上调转录因子SP1,从而促进CD146的表达^[48,62];另外,还有些炎症因子,如TNF α 和IFN γ 等,可激活NF- κ B和STAT等转录因子,从而上调血管内皮细胞中CD146的表达^[63]。一些物理刺激(如低氧),也可通过上调HIF-1等途径上调CD146的表达^[43,64]。Johnson团队^[6]于1996年发现,cAMP激动剂forskolin可通过增加胞内cAMP的水平来上调黑色素瘤中CD146的表达。有关抑制CD146表达的因素,除了转录因子AP2外,还有热休克蛋白HSP27^[65]、佛波酯^[6]及CREB抑制剂H89^[66]等。某些因子对CD146的表达调控具有细胞特异性,例如,转化生长因子TGF- β 上调小鼠成纤维细胞、椎间盘纤维环细胞及部分CD4⁺ T细胞CD146的表达^[59,67,68],但在小鼠血脑屏障发育过程中,周细胞分泌的TGF- β 却能够下调脑内皮细胞CD146而不影响自身CD146的表达^[21]。这一矛盾现象导致的具体机制目前仍不清楚,可能与靶细胞自身的背景依赖性及其所处的微环境有关。

在表观遗传层面,CD146的表达还受启动子区域甲基化水平的影响。例如,前列腺癌中CD146表达水平比癌旁组织显著降低,CD146的启动子区域处于高甲基化状态,这或许可以作为前列腺癌的一种DNA诊断标志^[69]。另外,尤文肉瘤中组蛋白去甲基化酶KDM3A的表达水平明显升高,可下调CD146启动子区的甲基化水平,进而促进肿瘤的侵袭和转移^[70]。

微小RNA(microRNAs, miRNA)也会影响CD146的表达。有研究表明,miRNA329能够下调内皮细胞上CD146的表达,进而抑制血管新生^[71];而miRNA573能够抑制黑色素瘤CD146的表达,进而抑制肿瘤发生发展^[72]。

总之,CD146的异常表达与多种疾病相关。通过对其表达调控因素的研究,或许可以指导研发调控CD146表达的小分子药物,从而用于疾病的干预。

2.6 CD146的翻译后修饰

CD146作为细胞膜表面的糖蛋白,除了受转录水平的调控外,翻译后修饰对于其功能也有重要影响。目前,关于CD146翻译后修饰的研究相对较少,主要包括以下四个方面。

(1) CD146的糖基化。CD146是一个高度糖基化的分子,其中约35%的分子量是由唾液酸及其他碳水化

合物半糖组成, 分布于D1、D4和D5区域. CD146蛋白质上包含有8个糖基化位点, 且均为N-糖基化, 分别位于第56, 418, 449, 467, 508, 518, 527和544位氨基酸(图1). 2018年, 台桂花团队^[73]对内皮细胞表面CD146的糖基化位点进行了鉴定, 发现N56, N418, N449, N544等位点均存在N-糖基化, 而N508, N518, N527等位点是否存在糖基化尚不清楚.

在黑色素瘤细胞系中, CD146的糖基化因糖基化转移酶MGAT3, MGAT5以及GCNT3等的高表达而被上调, 促进黑色素瘤的迁移和浸润^[74,75]. 除黑色素瘤外, 在肾透明细胞癌和前列腺癌的研究中也有CD146的糖基化水平明显升高的报道^[76,77]. 这些结果提示, 肿瘤细胞中CD146的糖基化可能与肿瘤的恶性进展直接相关. 然而, CD146糖基化在肿瘤组织中是否具有普遍性和特异性, 以及异常糖基化是否影响CD146与其互作分子的识别, 这些问题都有待进一步研究.

(2) CD146的磷酸化. CD146的胞内区较短, 但是也有多个潜在的蛋白激酶识别位点, 以及与其他蛋白相互作用的位点, 这可能是CD146参与信号转导的结构基础. 2010年, Polakiewicz等人^[78]报道了参与信号转导的蛋白质中, 有443个新的磷酸化位点被鉴定出来, 其中包括CD146分子的Y641位氨基酸. 2019年, 崔炜和罗永挺团队^[79]通过实验证实, 在生长因子, 如Insulin, IGF1, VEGF等的刺激下, CD146的胞内区Y641位酪氨酸发生磷酸化, 增强其与mTORC2的相互作用, 从而激活PI3K/Akt信号通路, 促进细胞的增殖和存活, 提示CD146磷酸化参与细胞信号转导.

(3) CD146的泛素化. CD146的泛素化修饰与其降解相关. 在肝癌细胞中, 细胞膜蛋白CD166和CD146均上调表达. 上调的CD166可通过促进PI3K/Akt和c-Raf/MEK/ERK信号通路的激活来抑制E3泛素化连接酶 β -TrCP和Smurf1的表达, 从而减少CD146的泛素化降解, 进而上调CD146, 促进肝癌的发生发展^[80].

(4) CD146的去棕榈酰化. 棕榈酰化修饰是蛋白质翻译后脂质修饰的重要形式, 是调控蛋白质的转运、稳定、定位和功能的重要机制. 棕榈酰化修饰参与多种细胞生物学进程, 与多种疾病的发生发展密切相关. 研究表明, Wnt5a可以通过非经典的Wnt信号通路促进CD146的极化^[81,82], 其主要作用机制被认为是通过促进酰基蛋白硫酯酶APT1对CD146的去棕榈酰化, 进而使CD146发生极化. 将CD146的棕榈酰化位点C590突

变也可以促进极化产生^[83], 进一步说明了去棕榈酰化在CD146极化中的重要作用.

3 CD146与信号转导

作为免疫球蛋白样黏附分子(Ig-CAM)超家族的一员, CD146的作用机制与其他同家族蛋白质分子既有相同之处, 也有不同之处. 相同的是, CD146可介导邻近细胞间以及细胞与胞外基质间的相互接触, 调控细胞骨架重排. 不同的是, 对于Ig-CAM来说, 同嗜性互作介导黏附被认为是该家族最基本的分子功能. 然而, CD146参与的细胞黏附可能不是通过同嗜性互作, 而是依赖于与其他配体的结合. 此外, CD146还可以作为独立受体介导细胞对外界刺激的响应, 也可以作为酪氨酸激酶的共受体参与下游的信号转导途径. 因此, CD146不仅是一种黏附分子, 更是一种细胞环境感受器和信号转导调节枢纽, 介导细胞由外向内的信号转导(图4).

CD146可以以三种方式参与细胞的信号转导: 第一, 作为独立受体或共受体, 在细胞膜表面, 尤其是在脂筏上形成大型“信号接收器”, 响应生长因子等外界刺激, 以最佳效率向下游进行信号转导. 此外, 它还可以与细胞外基质结合, 使胞外基质或细胞间的黏附重塑, 从而促进细胞的生长、分化、极性和迁移. 第二, CD146使细胞内膜系统与细胞骨架产生直接联系, 影响微丝肌动蛋白骨架的组装, 建立信号募集平台, 为细胞内信号传递提供结构基础. 第三, CD146在多种信号通路中具有反馈调节机制, 使信号放大并持续, 保证下游有足够效应因子产生, 这对细胞实现相应的生物学功能至关重要. 本章节将针对CD146在生理和病理进程中涉及的主要信号转导通路进行系统总结, 并指出目前存在的问题和未来研究方向.

3.1 CD146作为细胞膜受体参与信号转导

与最常见的酪氨酸激酶受体相比, CD146受体有其相同和不同之处. 相同之处在于这两种受体在接收信号后都会迅速发生二聚化, 其胞内段的Y641被磷酸化激活, 同时发生受体内化, 通过胞内段的结合蛋白来传递信号. 然而, 与酪氨酸激酶受体不同的是, 人类CD146分子的胞内段很短, 仅有63个氨基酸, 长度仅为酪氨酸激酶受体的1/10, 所以结合蛋白数量有限, 且

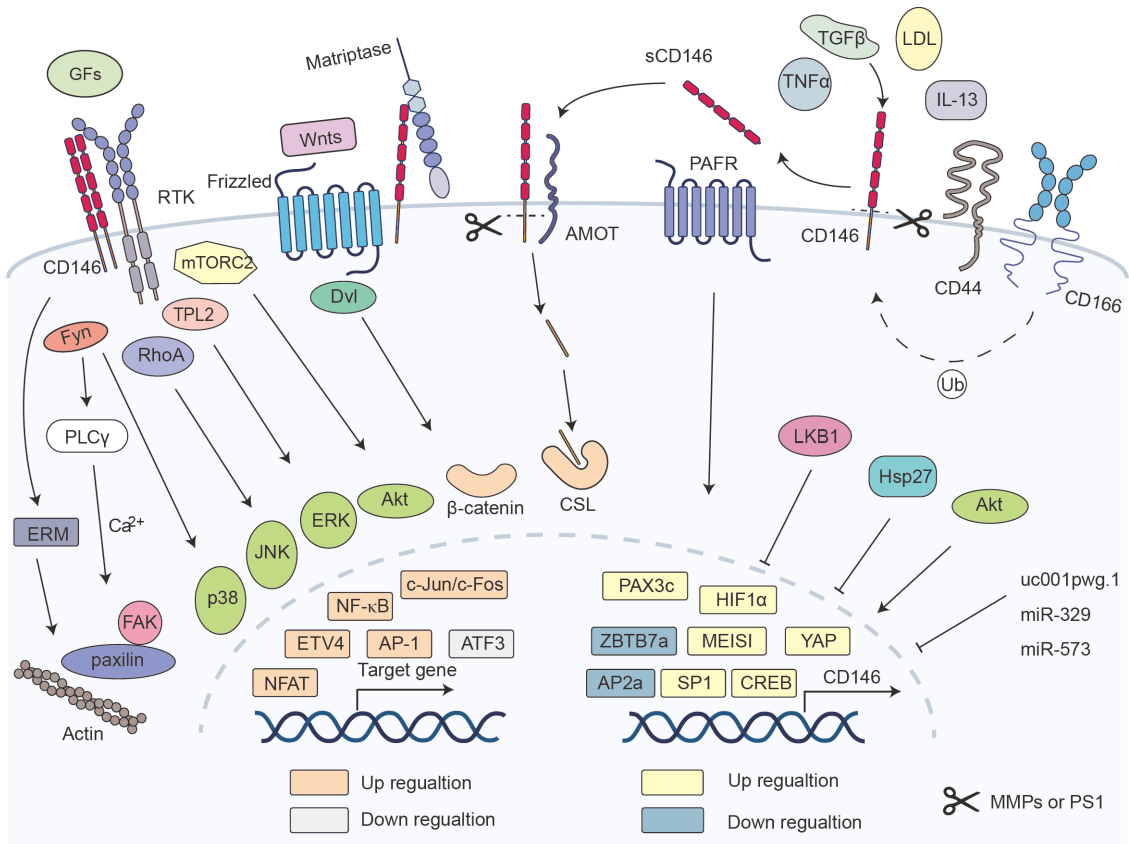


图4 CD146信号转导及其表达调控
Figure 4 CD146 signal transduction and expression regulation

不具有激酶活性。因此，深入理解和探索CD146受体是如何介导胞外信号转导已经成为其作用机制研究的重点。也许，CD146受体代表着一类新的信号传导模式。

(1) CD146作为生长因子的独立受体。受体是细胞接收外界刺激，启动生长、增殖、分化、迁移等生理过程的第一站。CD146可作为多种生长因子的独立受体，如Wnt, FGF4, Netrin-1, VEGF-C等，参与下游信号转导过程。近年来发现，CD146可与Wnt家族蛋白(Wnt5a, Wnt1, Wnt16)相互作用，选择性激活经典和非经典Wnt信号通路，影响细胞的增殖、迁移和代谢，参与多种疾病的发生发展。

在非经典信号途径中，CD146主要是与Wnt5a相互作用，激活Wnt/PCP信号途径，促进肿瘤转移。2008年，Ahn团队^[82]报道CD146与Wnt5a相互作用，通过建立细胞极性来调节细胞的运动。在Wnt5a参与的黑色素瘤细胞迁移过程中，CD146与Wnt5a结合，内化产生多囊泡结构，同时募集肌动蛋白和肌球蛋白IIB，形成Wnt5a

介导的受体肌动蛋白-肌球蛋白极性结构(Wnt5a-mediated receptor-actin-myosin polarity, W-RAMP)。在CXCL12存在的情况下，这种结构在细胞后部不对称分布，驱动细胞尾部膜的回缩，从而促进黑色素瘤细胞的迁移。后续研究发现，这一过程依赖于CD146与胞内支架蛋白IQGAP1的相互作用，并在肌球蛋白IIB的作用下拉动内质网到达细胞后方，释放钙离子，然后分解细胞尾部的锚定位点，使细胞膜回缩，完成整个运动过程^[81]。同时，Wnt5a可通过激活去棕榈酰化酶APT1，进而下调CD146在490位的棕榈酰化修饰，从而介导CD146的内化^[83,84]。

另外，CD146能够调控和整合Wnt经典和非经典信号途径，在Wnt信号通路转导过程中发挥着重要作用。本团队^[85]发现，Wnt5a能够直接与CD146相互作用。CD146与Wnt5a结合后，依赖于与下游Dvl2的互作，通过RhoA激活JNK并抑制β-catenin的核转位，从而开启非经典Wnt/PCP信号通路的激活，促进斑马鱼胚胎

发育过程中的细胞迁移及会聚延伸, 由于Wnt5a在多种疾病中均表达上调, 因此靶向Wnt5a/CD146信号通路有望成为疾病治疗新靶点^[81,85]。此外, 在骨骼发育过程中, 软骨细胞上的CD146能够与Wnt16相互作用, 激活非经典Wnt/PCP/JNK途径, 导致Raptor-mTORC1的磷酸化激活, 增加PTHrP的表达从而抑制细胞肥大, 延缓骨关节炎进展^[86]。

在Wnt经典信号途径中, CD146主要与Wnt1相互作用, 使 β -catenin入核并上调相关基因表达, 从而促进成纤维细胞的大量增殖和细胞外基质分泌, 导致组织纤维化^[87]。本团队^[85]也发现, CD146可与经典信号途径激活配体Wnt3相互作用, 但对其功能目前还不清楚。以上研究均提示, CD146在Wnt信号通路转导过程中处于中心地位。然而, 关于CD146是如何调控和整合Wnt经典和非经典途径, 以及CD146对于其他Wnt受体介导信号通路的影响, 还有待进一步研究。

除与Wnt家族相互作用外, 本团队还报道了CD146是FGF4的独立受体。与FGFR1受体相比, CD146与FGF4有着更强的亲和力, 这种相互作用精确调节细胞极性和胚胎形态发生。当CD146与FGF4结合后, 引起PLC γ 诱导内质网上的IP3R释放大量钙离子, 促进了转录因子NFAT的激活, 从而调控细胞垂直方向的顶端-底端不对称极性。与此同时, CD146还能活化JNK信号通路激活转录因子AP-1, 调控细胞水平方向上前端-后端不对称极性, 从而精确调控细胞极性的建立和维持^[88], 这个发现解释了细胞两种不对称极性的偶联机制。

此外, CD146还是VEGF-C的独立受体, 促进淋巴管生成^[19]。在VEGF-C的刺激下, CD146一方面独自激活下游p38信号通路, 另一方面通过与VEGFR3的相互作用共同激活ERK通路, 促进淋巴管内皮细胞的增殖和迁移, 进而促进淋巴管的出芽生长。该研究证明了CD146在VEGF-C信号转导中的重要作用。

本团队^[89]在发现CD146为血管新生标志分子及VEGFR2共受体之后, 又发现了其另一个重要配体Netrin-1。这一发现不仅丰富了CD146促血管生成的机制, 还解释了Netrin-1为什么既能促进又能抑制血管新生。原来, 这种矛盾现象背后的机制与其新受体CD146有关。Netrin-1有两个受体——CD146和UNC5B, 它与受体CD146的亲和力大于UNC5B受体。当Netrin-1浓度低时, 优先结合受体CD146, 激活p38和ERK信号通路, 从

而促进血管新生。然而, 当Netrin-1浓度高时, 则优先结合受体UNC5B, 从而抑制血管新生。

此外, 发现CD146与Netrin-1结合的另一个启发是, 二者是否共同参与调节神经与血管的发育及功能呢? 这是一个有趣而目前还没有被回答的问题。有些现象值得参考, 例如Netrin-1作为一种神经导向因子, 对脊椎动物神经系统的正确形成发挥重要作用^[90], 小鼠神经系统中特异敲除CD146会导致神经系统的发育缺陷^[91]。进一步探讨CD146和Netrin-1共同调节神经与血管的发育及功能, 将是未来本领域的重要研究方向。

(2) CD146作为生长因子的共受体。共受体是一种细胞表面受体, 除了协助主受体结合信号分子之外, 还能活化并调节激酶的活性, 启动信号传递。2012年, 阎锡蕴发现CD146是VEGFR2的共受体, 调节VEGF-A介导的细胞信号转导。在VEGF-A刺激下, 血管内皮细胞膜上的CD146发生二聚化, 后者激活VEGFR2的磷酸化, 介导下游Akt, p38和NF- κ B信号通路, 从而促进血管新生。这种CD146/VEGFR2相互作用能够被CD146抗体AA98和VEGF抗体贝伐单抗的协同作用所阻断, 从而抑制肿瘤的生长^[92,93]。Leroyer团队^[94]也发现, CD146参与VEGF诱导的下游FAK/VE-cadherin途径的激活。因此, CD146有望成为阻断肿瘤相关血管新生的新靶标。

2017年, 本团队报道了CD146作为PDGFR β 的共受体, 介导周细胞募集到脑血管内皮细胞上; 附着的周细胞通过分泌TGF- β 1下调内皮细胞CD146的表达, 维系其在周细胞上的表达, 促进血脑屏障的成熟^[21]。随后, 又在斑马鱼的体内实验中进一步阐明了CD146精确调控PDGFR β 信号传导的分子机制^[95]。在血脑屏障发育过程中, 敲低CD146能够抑制PDGF-B/PDGFR β 信号活化, 导致包括Akt, MAPKs(JNK, ERK和p38)等的下游信号失活。这些发现说明, 在血管生成过程中, CD146不仅直接促进血管内皮细胞的激活, 还介导了内皮细胞与周细胞的相互作用, 促进血管成熟。因此, CD146作为血管新生的标志分子, 不仅能够区分肿瘤新生血管和正常血管, 而且随着血管的发育成熟, 还能通过内皮细胞上的CD146表达下调, 维持血管的稳态。

(3) CD146作为胞外基质相关蛋白受体。作为黏附分子, CD146最基本的功能是介导细胞黏附。早期曾一度认为, CD146介导细胞黏附主要是通过同嗜性反式

相互作用^[16,61,96,97]。然而,最近研究表明,CD146可能并不存在这种作用方式^[98,99],反而更多依赖与其他配体之间的相互作用,从而促进细胞黏附及迁移。这类与CD146相互作用的配体可以是细胞外基质及相关可溶性成分,也可以是细胞上的配体,通过CD146受体促进细胞的增殖及分化、血管及神经发育,参与肿瘤转移等生物学过程。

层黏连蛋白(Laminin)作为一种细胞外基质,是最早被鉴定的CD146配体。它能够促进肿瘤、神经及免疫细胞对胞外基质的黏附,在细胞迁移过程中发挥重要作用。早在1991年,Miki团队^[16,100]便发现,鸡CD146(称为Gicerin)能结合基质中的Laminin分子(当时被命名为神经突起生长因子(neurite outgrowth factor, NOF)),使神经细胞黏附于胞外基质,从而促进鸡视网膜神经系统的发育。但受限于当时的技术条件,未能得知NOF具体的蛋白亚基构成。近期研究表明,具有 $\alpha 4$ 亚基的Laminin-411和Laminin-421都是CD146的配体。Laminin-411($\alpha 4, \beta 1, \gamma 1$)可通过 $\alpha 4$ 亚基直接与CD146相互作用,促进CD146⁺ Th17细胞与血脑屏障的血管内皮细胞黏附,从而导致中枢炎症。然而,Laminin-421($\alpha 4, \beta 2, \gamma 1$)与CD146的相互作用,则会促进多种肿瘤细胞迁移^[101]。有意思的是,Patarroyo团队^[101]通过一系列的体外分子实验发现,在肿瘤细胞上Laminin-421与CD146的亲合力要远高于Laminin-411等其他同工型蛋白。同时,CD146抗体可抑制依赖于Laminin-421而非Laminin-411介导的肿瘤细胞迁移。综上所述,CD146促进细胞迁移很可能是由于其与 $\alpha 4$ 亚基的Laminin互作导致。具体是哪一种Laminin分子发挥更主要的作用,可能与细胞所处的微环境及受体临近分子有关。

半乳糖凝集素Galectin是细胞外基质中的可溶性糖结合蛋白。已有研究表明,CD146通过N糖基化与多种Galectin分子结合,调控血管内皮的完整性并促进肿瘤的侵袭。2013年,Leroyer团队^[102]报道Galectin-1可结合血管内皮细胞上CD146的胞外糖链,抑制Galectin-1与其他促凋亡受体结合,维持内皮细胞存活,并保持血管完整性。同时,CD146还可通过与Galectin-1之间的相互作用促进黑色素瘤的恶性进程^[103]。此外,内皮细胞上CD146也可与肿瘤细胞的Galectin-3相互作用,促进CD146二聚化,从而激活PI3K/Akt信号通路,使内皮细胞分泌IL-6和G-CSF等促肿瘤转移的细胞因子,最终导致肿瘤的发展和转移^[104]。通过核磁共振成像发

现,Galectin-3的糖识别结构域与CD146的D5结构域结合,且这种结合不受乳糖的抑制,既通过经典的糖结合 β -sheet S面相互作用,也与F面有关^[73,105]。因此,CD146在Galectins信号调控中扮演着重要的角色,与细胞存活、迁移和相关细胞因子分泌等生物学过程密切相关。

此外,CD146还与细胞外基质中另一种可溶性的糖基化结合蛋白S100A8/A9异二聚体结合,促进肿瘤的侵袭和转移。在黑色素瘤中,S100A8/A9与CD146相互作用,一方面激活肿瘤细胞中NF- κ B信号通路产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)^[106],另一方面激活MAPK信号通路上游激酶MAP3K8(又称TPL2),使ERK磷酸化并促使转录因子ETV4的激活,上调金属蛋白酶MMP-25的表达,最终导致黑色素瘤发生纵向生长并向肺部转移^[107]。另外,在转移性乳腺癌中,激活S100A8/A9-CD146-ETV4轴还能促使乳腺癌细胞上调表达转录因子ZEB1,促进上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),赋予肿瘤细胞易转移的表型^[108]。通过抑制肿瘤细胞乙酰氨基葡萄糖氨基转移酶GCNT3的活性,降低CD146的糖基化水平及蛋白半衰期,从而减少CD146与S100A8/A9的相互作用,抑制黑色素瘤细胞迁移^[75]。基于上述发现,Sakaguchi团队^[75]利用重组表达的CD146胞外段融合人IgG2-Fc片段的融合蛋白,有效抑制了肿瘤转移,提示靶向CD146在肿瘤治疗中的应用潜能。

CD146还可以通过细胞间分子的相互作用,促进细胞黏附及靶细胞的激活。李小玲团队^[109]发现,神经干细胞上表达的蛋白裂解酶Matriptase可与内皮细胞上的CD146相互作用。这种细胞间的相互作用能够诱导内皮细胞p38信号的激活,使GSK3 β 磷酸化,失去对 β -catenin的活性控制,从而导致Wnt信号通路的激活。而p38和Wnt途径的激活可导致内皮细胞大量表达可以促进神经干细胞分化和迁移的细胞因子,如IL6, IL24和CXCL10等,最终促进神经系统的发育及再生。此外,Matriptase作为一种肿瘤高表达的蛋白酶,已经被证实对肿瘤的侵袭和转移有重要作用^[110]。因此,阻断肿瘤细胞Matriptase与内皮细胞上的CD146互作,有可能抑制肿瘤的恶性进展。

3.2 CD146参与调控细胞骨架重排

细胞骨架是指真核细胞中的蛋白纤维网络结构,

既能维持细胞形态及细胞内部结构,也参与细胞内物质运输、细胞运动等多种重要生命活动。CD146不仅参与调控细胞骨架重排,促进细胞运动状态的改变,还能通过细胞骨架募集相关蛋白,引发酪氨酸激酶的胞内信号转导。

早在1998年, Dignat-George团队^[111]发现, CD146抗体S-Endo 1d的F(ab')₂能够诱导CD146的二聚化,后者通过与非受体型酪氨酸激酶Fyn的相互作用,促进内皮细胞中FAK和桩蛋白Paxillin的酪氨酸磷酸化。后续研究进一步发现, CD146二聚化促进PLC γ 调控的胞内钙离子的释放。钙离子流作为信号传递的第二信使,促进PYK2募集及其酪氨酸磷酸化,并结合p130Cas和桩蛋白,将其定位于黏着斑中。此外, FAK的激活参与细胞骨架重排的相关信号通路,并调节与细胞存活及迁移相关的转录因子进入细胞核^[112]。因此, CD146是一种参与调控细胞骨架重排的重要信号分子。

Taira团队^[113]证实, CD146胞内段16~39位残基能直接与调控肌动蛋白细胞骨架,埃兹蛋白/根蛋白/膜突蛋白(Ezrin/Radixin/Moesin, ERM)蛋白家族中的Moesin相互作用,参与黑色素瘤细胞微绒毛的产生。本团队验证了CD146与Moesin的直接相互作用,在调控细胞骨架重塑、介导肿瘤迁移中发挥重要作用。这种相互作用一方面使膜蛋白CD146通过Moesin与肌动蛋白微丝直接联系,调节细胞微绒毛的形成和伸长;另一方面, Moesin的激活招募RhoGDI1,后者结合并上调RhoA活性,导致黑色素瘤细胞运动性增强。同时, RhoA的活化激活PI4P5K途径,进一步加强CD146与Moesin的相互作用^[114]。在乳腺癌中, CD146引起的RhoA激活上调Slug的表达,进而诱导EMT,使得肿瘤易于侵袭和转移^[34]。

有意思的是,后续研究发现, CD146可通过其胞质端结合Moesin蛋白和细胞骨架共同组成一个“信号平台”,诱导其共受体VEGFR2或PDGFR β 下游的p38和Akt等信号通路激活,这可能是CD146作为受体酪氨酸激酶共受体的功能之一^[93,95]。除了Moesin以外, Coombe团队^[115]通过酵母双杂交筛选出了可与CD146胞内段互作的细胞骨架调控蛋白Shroom1。该蛋白可能通过其481和543位之间的残基与CD146的胞内段进行相互作用,将CD146与肌动蛋白细胞骨架直接关联起来。

3.3 CD146的反馈调节机制

CD146信号的正反馈调节机制可使信号持续放大激活。这一反馈机制主要体现在CD146与PI3K/Akt信号通路的相互作用上。2003年, Herlyn团队^[116]发现,黑色素瘤中CD146的表达与PI3K/Akt信号通路之间存在相互调节。CD146的高表达激活PI3K/Akt信号通路,促进黑色素瘤细胞的增殖和存活;磷酸化的Akt又反过来促进CD146的表达,以正反馈的形式促进CD146/PI3K/Akt途径的持续激活。这一现象在多种CD146高表达的肿瘤及内皮细胞中被证实,并参与肿瘤耐药性的形成^[35,66,117-120]。CD146与PI3K/Akt信号通路之间的相互调节机制研究表明,生长因子,如Insulin, b-FGF IGF1和VEGF等的刺激可诱导CD146胞质区第641位酪氨酸磷酸化,增强其与mTORC2的相互作用及Rictor蛋白的稳定性,进而激活Akt等信号通路^[79]。而Akt的激活,一方面可直接促进CD146的转录,上调其表达水平;另一方面, CD166/Akt/c-Raf/ERK介导的去泛素化修饰可以抑制CD146的泛素化降解^[80]。

除了PI3K/Akt信号通路之外, CD146还可正反馈调控其他信号通路。肝细胞癌内高水平的p300能够促进YAP与CREB相互作用,并结合在CD146的启动子区,上调CD146表达。上调表达的CD146通过PI3K/Akt途径激活转录因子eIF4E,促进c-Jun/c-Fos转录表达^[66]。被CD146激活表达的c-Jun/c-Fos与CREB相互作用,上调YAP的转录表达^[121],实现CD146与YAP信号通路的正反馈调节。缺氧诱导的信号中也存在CD146相关的调控机制。缺氧可诱导乳腺癌细胞Syk和Lck之间的相互作用,促进转录因子SP1的激活继而上调CD146的表达^[122]。在肺动脉平滑肌细胞中,缺氧诱导的HIF1 α 激活能够结合CD146启动子区的HRE元件,从而上调CD146的表达。反之, CD146的上调表达通过促进NF- κ B信号激活上调HIF1 α 的表达。CD146敲除和CD146抗体AA98均能有效抑制小鼠肺动脉高压的病发发展。因此, CD146与HIF1 α 的正反馈循环是肺动脉高压及相关疾病的潜在靶标。

4 CD146与发育

CD146在胚胎发育早期的表达量较高,而在胚胎发育晚期表达水平较低。这一动态表达模式,提示其

在胚胎发育过程中发挥重要作用. 自从1991年日本科学家Miki团队发现CD146在神经系统发育中的作用以来, 后续研究先后发现了该分子参与泌尿系统、生殖系统、运动系统及循环系统发育, 及其在胚胎植入和早期极性建立过程中的作用. 本章将重点介绍CD146在神经系统和循环系统发育中的重要作用, 及其在胚胎发育过程中的“极性”特征.

4.1 CD146与神经系统发育

早在1991年, CD146就被发现是神经突起生长因子的受体^[100], 它可介导NOF诱导的中枢神经系统的神经轴突生长, 参与鸡的小脑发育^[123,124]. 此外, 斑马鱼受精卵转染鸡的CD146后, CD146原位杂交实验显示, 胞体在脊髓纵向双向投射中央轴突, 外周轴突深入皮肤并形成周围神经^[125], 表明CD146促进神经突延伸, 参与生长锥引导.

CD146在哺乳动物中枢神经系统中的功能更为复杂. 在大、小鼠的中枢神经系统中, CD146主要表达在大脑皮层神经元、小脑浦肯野细胞、海马区神经元以及脊髓中的神经元^[14,91]. 值得注意的是, CD146在大鼠海马区发育过程中的表达模式与其他区域相反. 发育早期的海马区CD146表达较低, 出生后在齿状回颗粒层细胞树突(主要延伸至颗粒层外的内分子层)表达量较高, 且在受到最大电休克刺激后表达会上调. 体外实验证明, CD146促进大鼠海马区细胞的神经突起延伸^[14]. 然而, CD146全身敲除小鼠并无海马区表型上的异常, 但小鼠空间学习和记忆能力下降^[91], 提示CD146可能促进海马区的功能.

外周神经系统发育的多项研究认为, CD146对于维持鸟类视网膜正常结构十分重要. CD146可作为NOF受体, 促进视网膜和睫状神经节细胞的神经突起生长^[100,126]. 另外, 在视网膜的发育过程中, CD146通过介导细胞迁移, 促进视网膜的正常结构分层和视网膜色素上皮层的正常发育^[18,127]. 而在低等脊椎动物视网膜发育中, CD146参与维持视顶盖的结构. 视顶盖是低等脊椎动物视网膜的神经纤维生长到脑的特定区域, 是非常重要的视觉中枢. 研究发现, 在雏鸡视顶盖的发育过程中, 靶向CD146能够阻止视顶盖第4层的向上迁移, 使雏鸡无法形成分层结构正常的视顶盖^[128].

4.2 CD146与循环系统发育

CD146与循环系统发育的研究较为深入, 主要涉及血管和淋巴管的新生及其分子机制. 2005年, Sukhatme团队^[20]发现, 敲除CD146的斑马鱼胚胎颅内血管管状结构不清晰, 间质血管变窄且其中几乎无血液流动, 尾血管丛无法重构成新的功能管腔, 提示CD146促进血管管腔的形成.

后续研究表明, CD146主要通过两种途径参与发育过程中的血管生成. 一是VEGF途径, 有研究发现, 敲除CD146可以抑制*vegfl21*及*vegfl65*过表达导致的异位血管生长. 对敲除CD146的斑马鱼使用VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂会导致血管生成的严重缺陷, 表明CD146可能通过响应VEGF-A介导的信号参与血管生成^[129]. 本团队^[89]发现了CD146参与斑马鱼发育中血管生成过程的另一途径, 结果显示, Netrin-1是CD146发挥促血管生成作用的新配体, 二者的相互作用诱导内皮细胞活化, 并协同VEGF信号促进发育中的血管新生.

除了内皮细胞的激活, CD146还介导了内皮细胞与周细胞在血管生长中的协同作用. 在血脑屏障形成过程中, CD146在脑内皮细胞上呈现动态表达. 在发育早期, 脑内皮细胞的CD146表达量较高, 促进了内皮间紧密连接的形成, 同时作为PDGFR β 的共受体招募周细胞. 然而, 随着包裹的周细胞增多, 在血脑屏障发育成熟后, 内皮细胞上CD146的表达被下调^[21], 以维持中枢神经系统的免疫稳态.

血管与淋巴管常常相伴而生, 且具有相似的新生过程. 此前的研究证明, VEGF-C与其受体VEGFR3的相互作用促进淋巴管生成. 有趣的是, 只有在小鼠中敲除VEGF-C时, 会影响胚胎发育中的淋巴管出芽^[130], 而条件敲除VEGFR3时, 却不影响该过程^[131]. 这一现象提示, VEGF-C可能还有另一个配体介导淋巴管生成中的出芽. 对此, 本团队^[19]的研究结果给出了解释: CD146是VEGF-C的另一个独立受体, 一方面介导p38的激活, 另一方面通过与VEGFR3的相互作用, 共同介导ERK的激活, 促进淋巴管内皮细胞的出芽、增殖和迁移, 从而促进淋巴管新生. 当CD146缺失时, 淋巴管新生及胸导管连续管腔的形成受到抑制. 以上结果证明, CD146参与了斑马鱼发育过程中的淋巴管形成.

血管、淋巴管、神经多相伴而生. 在血管生成和

淋巴管生成过程中, CD146介导的VEGF信号与Neurin-1信号均被报道参与神经新生^[132-134]。因此引发了一系列值得深入探讨的重要科学问题。例如, CD146在神经的发育和生成过程中发挥什么作用? CD146是否介导血管、淋巴管和神经发育的协同互作? 另外, 越来越多的研究表明, 肿瘤的发生发展过程中存在多种与胚胎发育相似的机制^[135,136]。尽管CD146促进肿瘤血管生成的机制已被阐明, 然而CD146是否同样参与肿瘤微环境中的血管、淋巴管及神经生成, 以及如何协同三者重塑肿瘤微环境中的作用, 针对这些问题的深入研究, 或许可为肿瘤微环境靶向治疗提供新的思路。

4.3 CD146与胚胎植入和极性建立

胚胎植入和胚胎早期“极性”的建立, 是发育早期的重要事件。CD146在这两个重要事件中均发挥重要作用。在胚胎植入过程中, 滋养层细胞分化为非侵袭性合体滋养层细胞和具有高度侵袭性的中间滋养层细胞。本团队通过42例正常胎盘临床样本分析发现, CD146高表达于最具侵袭性的中间滋养层细胞, 而在非侵袭性的合体滋养层细胞中不表达, 提示CD146的表达与中间滋养细胞的侵袭性相关。先兆子痫是一种以中间滋养层细胞浸润不足为特征的疾病, 研究发现该病患者胎盘的中间滋养层细胞不表达或低表达CD146。另外, 有研究报道不孕不育女性患者的子宫内膜组织CD146的表达水平也显著降低^[52]。这些都再次证明, CD146的表达与中间滋养细胞的侵袭性相关^[26]。与之相反的是, 植入部位CD146阳性中间滋养细胞数量的增加, 可能导致胎盘对子宫内膜的过度侵袭, 致使胎盘侵袭子宫肌层, 形成胎盘植入^[137]。

胚胎发育的核心是细胞分化, 而细胞的有序分化依赖于胚胎早期“极性”的建立, 包括卵裂球极性的建立、胚轴建立、胚轴特化及原肠胚形成等。CD146在胚轴特化及原肠胚形成过程中发挥重要作用。已有研究证实, CD146作为独立受体与FGF4结合后, 促进NFAT优先转录从而决定管腔发生。同时, CD146通过独立于FGF的信号激活JNK, 促进纤毛形成, 使细胞的两种极性(顶底极性和前后极性)同步建立, 从而在时空上相偶联。CD146的缺失不仅会导致斑马鱼的胚胎器官Kupffer囊腔的发育异常, 而且会引发后续的、全身性的器官左右不对称的分布异常^[88]。在胚轴特化发

生之后, CD146还进一步参与原肠形态发生。原肠形态发生是胚胎从尚未分化到分化为三个胚层, 建立胚胎形体模式和决定器官原基的关键时期。CD146可通过Wnt/Dvl/JNK级联激活非经典Wnt信号, 并通过促进 β -catenin降解抑制经典Wnt信号, 从而促进斑马鱼胚胎的会聚延伸, 帮助原肠形态发生^[85]。

4.4 CD146的“极性”特征

在胚胎发育过程中, CD146大量表达在细胞增殖和迁移过程中, 尤其是在神经突起延伸、血管和淋巴管新生、胚胎植入、输尿管形成中的“出芽”部位。这个部位是一种极化形式的管状结构或具有侵袭性的特殊结构。当细胞开始分化时, CD146的表达降低; 当组织发生损伤修复时, CD146的表达增高; 而在修复后期, CD146恢复正常表达。我们将这种现象称之为CD146的“极性”特征, 常见于神经系统、循环系统的发育期以及胚胎早期极性建立的不对称特征。

而在肿瘤中, CD146的极性特征则表现为侵袭和转移^[114,138]。无论是胚胎植入, 还是肿瘤浸润, CD146都呈现出相似的“极性”特征(图5)。在细胞功能方面, 表现为促进细胞的增殖与迁移; 在调控机制方面也呈现出惊人的相似性, 如在胚胎植入与肿瘤侵袭中, 都涉及Wnt和Notch信号通路以及钙依赖黏附素/连环蛋白途径等多个信号通路, 参与血管新生、淋巴管新生、胚胎植入和肿瘤浸润与转移。然而, 胚胎植入和肿瘤浸润又有着本质的不同。胚胎植入是一个可控而有序、有规律、几乎无个体差异的正常生理过程, 然而

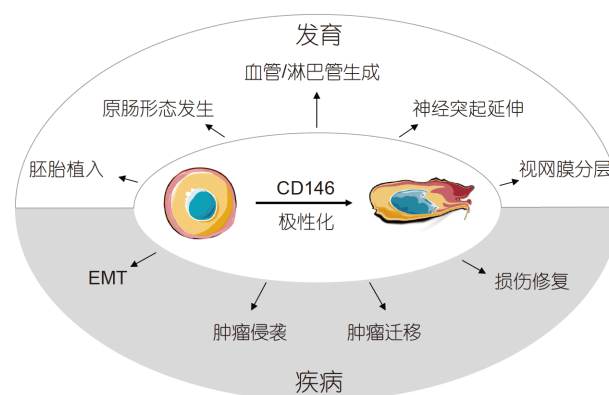


图5 CD146在胚胎发育和部分疾病中的“极化”特征(网络版彩图)

Figure 5 CD146 participates in polarity establishment during embryonic development and some disease processes (color online)

肿瘤浸润则是一种无序、无规律、个体差异明显、不可控的异常病理过程。

因此, CD146的“极性”特征, 能否成为研究胚胎发育和肿瘤发生的一个桥梁分子, 从一个新的视角去探索肿瘤浸润与转移^[135,139,140], 为肿瘤的胚胎来源学说提供支持, 将是一个有趣而重要的科学问题。早在19世纪, 肿瘤的胚胎来源学说就得到广泛认可, 其研究主要集中在早期胚胎发育和肿瘤发生之间是否存在密切联系和相互作用。研究结果虽然不足以从发育生物学角度揭示肿瘤的发生, 但有助于进一步从生命现象中认识肿瘤, 从发育生物学的角度为肿瘤的治疗提供新思路。

4.5 CD146在发育领域的应用前景

CD146不仅在胚胎发育过程中发挥作用, 还参与多种组织的再生修复。因此阐明CD146在发育和再生中的作用机制, 有可能为再生医学研究和应用提供新的思路。例如, 研究表明, CD146参与神经的损伤再生, 通过促进神经再生修复外周神经和脊髓的损伤^[141~143]。据估计, 全世界有300万人患有创伤性脊髓损伤(spinal cord injury, SCI), 每年报告约18万例新病例^[144]。阐明CD146在中枢神经和外周神经损伤修复过程的机制及动态表达, 或许可以为临床神经损伤修复提供新的思路。又如, 牙髓损伤后活力的恢复及保存一直是口腔科学研究领域的难点和热点。多项研究表明, CD146⁺细胞在牙髓损伤修复中发挥重要作用, 与血管新生密切相关, 维持牙髓活力^[145,146]。因此, CD146在牙髓损伤中的修复机制值得进一步研究。

5 CD146与间充质干细胞

在与CD146分子有关的文章中, 与间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)相关的文章数量是最多的。这是因为MSCs从被发现以来就被寄予再生医学应用的厚望, 基础和转化研究热度持续几十年, 而CD146不仅是MSCs最重要的标志分子之一, 它在MSCs上的存在直接推动了人们对MSCs的认识, 并对其在再生医学中的应用有指导作用。由于对MSCs研究的最终目的是其在再生医学中的应用, 因此大多数与MSCs有关的研究都是以人MSCs为研究对象。本章节内容除特别说明外, 均指人CD146与人MSCs。

5.1 CD146是MSCs的标志分子

MSCs最早是在骨髓中被发现的^[147~149], 曾先后有过多种命名, 最被广泛接受的命名是Caplan^[150]在1991年提出的“mesenchymal stem cells”。对MSCs的概念较为统一的认识认为, MSCs是一类来自人和哺乳动物骨髓和骨膜的细胞, 可被分离及体外培养扩增, 同时保持其可被诱导形成骨、软骨、肌肉、脂肪等多种中胚层表型及组织的能力^[151,152]。根据MSCs的上述基本概念和特性, 之后陆续在脂肪组织^[153]、骨骼肌^[154]、胎盘^[155]、牙髓^[156]、牙周韧带^[157]、关节滑膜^[158]、真皮^[159]、外周血^[160]、子宫内膜^[161]、脐带及脐带血^[162]、肝脏^[163]等组织中发现了MSCs的存在。有研究提示, MSCs有可能存在于所有具有血管的组织中^[164,165]。

由于MSCs在多种组织中存在, 而且对MSCs的解剖学定位、表型和功能的认识一直在不断发展, 因此已被报道的MSCs表面标志分子为数众多^[165]。自从CD146分子被发现是MSCs标志分子以来, 已成为在多种组织中发现、鉴定和分离MSCs的有力工具。尽管任何一个标志分子都无法独立鉴定和分离MSCs, 但是CD146比其他标志分子都更具有普遍性, 被证明几乎表达于所有已知的MSCs中。因此, CD146作为MSCs标志分子的发现, 很好地指导了对MSCs解剖学定位和来源的认识。

1998年, Bradstock等人^[166]发现CD146是MSCs标志分子。他们利用骨髓基质细胞免疫小鼠, 用获得的单克隆抗体反向鉴定其识别的抗原时, 发现该抗原是CD146。更重要的是, 尽管CD146⁺细胞在所有骨髓单个核细胞(包含MSCs、造血干细胞、多能前体细胞以及各类有核血细胞)中仅占不到1%, 却包含了骨髓基质细胞中90%以上具有集落形成能力的细胞。在发现CD146是骨髓MSCs标志分子后, Gimble团队^[167]在比较脂肪来源MSCs与骨髓MSCs表型的研究中发现, 脂肪MSCs同样表达CD146, 提示其作为MSCs标志分子可能具有普遍性。此后, Gronthos与施松涛等人又在牙髓^[156]和牙周韧带^[157]中发现和鉴定了MSCs, 这两种MSCs也都表达CD146分子。此后CD146作为标志分子, 被用于发现和鉴定MSCs的研究。

5.2 CD146推动对间充质干细胞认知的发展

MSCs的存在是20世纪60年代由Friedenstein等

人^[147,148]首先在骨髓移植实验中发现的。他们发现,骨髓进行异位移植后可发育为骨。随后,有其他研究表明,骨髓移植后发育成的骨会被宿主的造血细胞占据^[168]。这两个现象提示,骨髓当中除造血干细胞(hematopoietic stem cells, HSCs)外,还存在另一类具有成骨分化潜能的干细胞,而且这类细胞为HSCs提供微环境^[169]。这两个假说对骨髓MSCs功能最初的认识。之后的研究一度聚焦在如何从骨髓中分离出这类细胞。最早的分选技术建立在骨髓MSCs在体外培养时贴壁生长的特性,及其由单个克隆形成集落(colony-forming units-fibroblastic, CFU-Fs)的能力。

单克隆抗体技术的出现,为寻找MSCs标志分子,发展基于标志分子的MSCs分离和鉴定技术,并研究其标志分子与功能的相关性提供了可能。STRO-1是最早被发现的MSCs表面标志分子,其抗体可以富集骨髓基质中的CFU-Fs^[170]。之后,陆续有SSEA-4和CD49a等其他MSCs标志分子被发现^[165]。然而,由于当时对于骨髓基质解剖学认识的不足,以及当时仅有的几个标志分子抗体不适用于组织学定位,因此,尽管可以从骨髓基质中分离出MSCs,但是MSCs在骨髓中的定位问题,在当时仍然是未解之谜。除了组织原位鉴定, MSCs研究在当时面临的另一个根本性的问题是,“干细胞”的含义包含了对其多能分化潜能和自我更新能力的要求, MSCs的分化潜能已通过移植实验证明,而只有证明其具有自我更新能力, MSCs才可以被名正言顺地称作“干细胞”^[169]。CD146作为MSCs标志分子的发现,对于认识骨髓中MSCs的定位及其干性均起到重要的推动作用。

(1) CD146是认识MSCs自我更新能力的线索,是联系骨髓内成骨和造血两种干细胞系统的桥梁。MSCs具有自我更新能力是首先在骨髓中发现的。Bianco团队^[171]在2007年发现,骨髓基质中具有成骨分化能力的细胞特征性地表达CD146分子,而CD146⁺骨髓基质细胞在组织中的定位表明,这群细胞正是骨髓基质中紧贴血窦血管壁的外膜网状细胞。其具有自我更新能力最重要的证据来自体内移植实验,由一个集落来源的单个克隆CD146⁺骨髓基质细胞可以在体内分化形成完整的骨组织,包含骨、血窦、脂肪细胞和外膜网状细胞等完整组分,其中已分化的成骨细胞和成纤维组织等组分不再表达CD146,而外膜网状细胞仍然保持CD146表达。该研究以CD146分子为线索,发现了骨髓

基质细胞中的MSCs在组织原位就是骨髓的外膜网状细胞,更重要的是证明了骨髓MSCs不仅具有多向分化潜能,还具有自我更新的能力,是名副其实的“干细胞”。不仅如此,该研究还发现,骨髓基质CD146⁺外膜网状细胞通过表达Ang-1和CXCL12等分子促进血源造血祖细胞归巢到血窦微环境,为HSCs提供微环境^[171],这样,这群CD146⁺的MSCs将发育以及生理和病理过程中骨髓的成骨作用与造血功能联系起来,证明了Friedenstein在20世纪60年代对于骨髓功能的猜想。

(2) CD146是MSCs来源于周细胞的证据。血管周细胞具有分化潜能^[172~174],牙髓、脂肪、子宫内膜等多种组织来源的MSCs与周细胞在体外培养时表现出相似的形态、分化潜能及基因表达谱^[156,161,175,176]。这些现象使人们猜测, MSCs是否来源于周细胞? 2008年, Péault团队的研究成为验证这一猜想的标志性工作。他们发现,来自胎儿和成人的多种组织,包括骨骼肌、胰、胎盘、白色脂肪、心脏、皮肤、肺、脑、眼睛、肠、骨髓及脐带等,其包围毛细血管和小动脉的细胞均有CD146和周细胞标志分子NG2和PDGF-R β 的表达。由于此前已知CD146是内皮细胞的标志分子,而这些组织中的CD146⁺/NG2⁺/PDGF-R β ⁺细胞不表达内皮细胞标志分子CD144, CD31, CD34和vWF,据此判断这些细胞是周细胞。在此基础上建立了利用CD146⁺/CD34⁻/CD45⁻/CD56⁻从多种组织中分选和纯化周细胞,并排除内皮细胞、造血细胞和成肌细胞的方法。从上述所有组织中利用这种分选方法得到的周细胞均表达已知的MSCs标志分子,如CD44, CD90和CD105等,表现出与MSCs相似的表达谱。功能研究表明,从骨骼肌、胎盘、白色脂肪和胰脏中分离的周细胞均具有成肌分化潜能。上述研究从表型和功能两方面发现,利用CD146⁺分选获得的周细胞与MSCs具有相似性,而最重要的一个证据是组织原位的情况如何。利用免疫组化,他们发现多种组织中的CD146^{high}CD34⁻CD45⁻CD56⁻细胞均表达已知的MSCs标志分子CD44, CD73, CD90和CD105等。相应地,组织中内皮细胞周围的细胞也具有MSCs特征性标志分子的表达^[164]。该研究不仅验证了CD146是MSCs标志分子,更重要的是,利用CD146在周细胞上的表达特性提供了MSCs来源于周细胞的组织原位证据。Caplan^[177]专门为该研究撰写评论,称该发现有助于理解在胚胎和成体中MSCs/周细

胞对所有具有血管的组织形成、成熟和稳态维持的作用。

有趣的是, Caplan^[177]在这篇评论中推断, 不是所有周细胞都是MSCs, 而所有MSCs都是周细胞。但是, Péault团队^[178]后续的研究表明, MSCs并非都是周细胞。他们发现, 在脂肪组织和多种胎儿器官中, 除CD146⁺ MSCs外, 还有CD146⁻ MSCs的存在。这两种亚细胞群的定位不同, CD146⁺CD34⁻ MSCs是毛细血管和微血管的周细胞, 而表型为CD146⁻CD34⁺的MSCs则位于大静脉和动脉血管的外膜, 并非周细胞。骨髓中也有相似的情况, 骨髓基质中的MSCs不仅是CD146⁺, 还有比例较少的CD146⁻亚群。这两个亚群在骨髓中的定位不同: CD146⁺细胞是血窦的周细胞, 定位于血窦内皮细胞外, 而CD146⁻细胞定位于骨内膜^[179]。除组织定位的差异外, 也有研究表明, CD146⁺细胞在骨髓MSCs中的比例与年龄相关, 年龄越小, CD146⁺细胞比例越大^[180]。这些结果提示在人的一生中, 骨髓MSCs的组分在动态变化, 不同的亚群有可能在骨髓发育、稳态维持和修复中发挥不同作用。此后, 更多的研究发现在多种组织中都有CD146⁻ MSCs的存在^[181,182]。不仅如此, 某些特定组织MSCs中CD146⁺亚群的比例与组织个体的年龄、性别及体重等相关^[183]; 并且在体外培养条件下, CD146表达水平及阳性亚群比例会随培养条件发生变化^[181,184]。那么, CD146的表达对于MSCs的生理功能及其可能的应用有什么影响呢?

5.3 CD146与MSCs功能的相关性及其在应用研究中的意义

寻找MSCs标志分子的研究最初是以建立能够替代以贴壁生长、CFU-Fs等特性鉴定和分离MSCs的方法为目的。而随着对MSCs认识的深入, 越来越多的研究开始关注标志分子与MSCs的集落形成能力和多向分化潜能等特性之间的相关性。通常认为, CD146分子与MSCs的上述干性特征是相关的。

在发现某些组织来源的MSCs既有CD146⁺亚群也有CD146⁻亚群之后, 随即有研究针对两种亚群的干性特征进行了比较。更多的研究认为, 无论是来自骨髓^[185]、脂肪^[186,187]、子宫内膜^[188]、脐带血^[189]或是骨髓^[190]等组织的MSCs, 其CD146⁺亚群均比其阴性亚群具有更高的集落形成能力、增殖能力和分化潜能。以

一项针对骨髓MSCs的研究为例, 在CD44, CD73, CD146和CD271四种被认为与干性相关的标志分子中, 只有CD146的表达水平与细胞的增殖水平和集落形成能力相关; 具有三系分化潜能的MSCs, 其CD146的表达水平是只有单系分化潜能MSCs的2倍以上^[185]。这些研究提示, CD146与MSCs的干性正相关。也有与此结论不同的报道显示, 骨髓中CD271⁺CD146⁺和CD271⁺CD146⁻两种MSCs亚群在集落形成能力和体外体内分化的三系分化能力均相同^[179], 提示CD146可能与MSCs的干性无关。这种结果上的差异可能是由于MSCs分离方法的差异造成的。MSCs异质性强, 标志分子众多, 以不同标志分子作为流式分选的标志物所获得的分离产物, 其特征及功能有可能大相径庭。总体上, CD146被认为是MSCs干性的标志分子^[165]。

尽管CD146与MSCs干性相关性背后的机制目前仍未得到阐明, 更多的研究则关注于直接利用这种相关性来指导MSCs可能的应用。比较研究表明, CD146在不同组织来源的MSCs中的表达水平或是阳性亚群的比例不尽相同, 这些不同往往与其分化潜能的特异性相关。例如, 尽管所有来源的MSCs都具有成骨、成软骨和成脂肪三种分化潜能, 但是不同组织来源的MSCs的三种分化潜能的强弱似乎呈现出组织特异性。通常认为, 骨髓来源的MSCs的CD146表达水平比其他组织MSCs更高, 而且其成骨分化潜能最强^[191]; 脂肪来源的MSCs的CD146表达水平低于骨髓MSCs, 然而其成脂分化能力高于骨髓MSCs^[192]; 胎盘来源的MSCs中, 某些表达中等或低水平的CD146, 其成骨分化能力弱于骨髓MSCs^[191], 而且胎盘MSCs中的CD146⁺亚群的成骨分化能力强于CD146⁻亚群, 但两个亚群的成软骨和脂肪的分化能力没有区别^[193]。这些研究一方面提示, CD146有可能在成骨分化过程中发挥更重要的作用, 另一方面也对MSCs在不同领域的应用有指导作用, 例如, 如果用于骨修复, 则骨髓比其他组织更适合作为MSCs来源。

MSCs从被发现之初就被再生医学寄予厚望。然而在实际研究中发现, 疾病中的损伤组织的吸收、更新和重塑是一个复杂的过程, 仅仅依靠MSCs是不能完成的^[194]。目前临床研究中MSCs的应用主要利用了其多向分化潜能之外另一方面重要的功能, 即通过分泌细胞因子等生物活性物质, 对修复中的组织发挥促血管生成、减少纤维化、免疫调理及促进内源性组织修

复等功能. 其中, 促血管生成和免疫调节功能被认为与CD146有关, 特别是抗炎和免疫抑制功能. 例如, 在骨修复、软骨再生和心肌再生的动物模型中, 来自骨髓^[195]、脂肪^[187,196]和脐带^[197]等组织的CD146⁺ MSCs均表现出更强的促血管生成功能和免疫抑制功能. 人脐带组织来源的MSCs中, 尽管CD146⁺亚群和CD146⁻亚群成软骨和成骨的分化能力相同, 但是CD146⁺亚群在小鼠的关节炎模型中表现出更强的治疗效果; 机制研究表明, 这是因为CD146⁺ MSCs表达IL-6较少, 抑制了对Th17的激活^[197]. 骨髓来源的MSCs中, CD146⁺亚群可分泌更多的抗炎蛋白, 一方面激活Treg, 同时促进巨噬细胞由M1型向M2型极化^[195]. 目前认为, 由于CD146⁺ MSCs在组织修复中表现出更强的促血管生成功能和免疫抑制功能, 所以具有更好的疗效, 但其中的分子机制仍待阐明.

综上, CD146对于MSCs的研究和应用的意义不只是作为标志分子. 它直接推动了对MSCs来源和功能的认知, 更将在MSCs的应用中发挥重要的指导作用. 目前, MSCs的干性机制是MSCs再生医学应用中最重要科学问题. 已有研究表明, 在已知的标志分子中, CD146与MSCs干性的相关性最显著, 然而其中的机制并未得到阐明. 另外, CD146是否可以指导鉴别不同来源MSCs分化潜能的组织特异性, CD146在损伤修复中发挥免疫调节功能的机制是什么, 这些问题的阐明, 不仅能够促进MSCs的生物学应用, 也将深化人们对CD146在发育和肿瘤, 以及与细胞干性和细胞分化相关功能的认识.

6 CD146与肿瘤及肿瘤微环境

CD146分子最初是作为黑色素瘤的标志分子而广为人知. 1987年, Johnson团队^[1,2]发现, 该分子在晚期原发性黑色素瘤以及转移性黑色素瘤中高表达, 而在良性病变中则很少被检测到. 而今经过30余年的研究, 人们对其在肿瘤中的认识逐步发生了改变. 首先, 除了黑色素瘤之外, CD146还是多种恶性肿瘤的标志分子(表1). 其次, 它不仅是肿瘤的标志分子, 还是一种重要的膜受体分子, 调控多条信号通路, 影响肿瘤细胞的增殖、凋亡、EMT、侵袭、迁移等重要过程. 再次, CD146既是血管新生的标志分子, 也是肿瘤微环境调控网络中的重要节点分子. 在临床研究方面, CD146

有望成为肿瘤诊断和预后的重要标志, 以及肿瘤靶向治疗的新靶标.

6.1 CD146是肿瘤“恶性”的标志分子

在肿瘤发生发展过程中, CD146分子呈现出动态变化, 大致可分为两种类型: 表达递增型和先降后升型. 以黑色素瘤为代表的“表达递增型”的特点为(图6): 在正常组织中低表达或不表达, 而在原发性肿瘤组织中表达上调, 其表达量随着肿瘤恶性程度的升高而增加, 在转移瘤中表达最高. 这类肿瘤包括: 黑色素瘤^[1,198]、肾透明细胞癌^[40]、头颈鳞状细胞癌^[199]、胆管癌、胆囊腺癌^[200]、恶性胸膜间皮瘤^[201]、肝细胞肝癌^[39,202]、宫颈癌^[203]、食管鳞癌^[204]、卵巢癌^[67,205,206]、胃癌^[207]等^[38].

以乳腺癌为代表的“先降后升型”的特点(图6): CD146在正常组织中高表达, 而在原发性肿瘤中表达下调. 随着肿瘤恶性程度的进展, 其表达量又逐渐上调. 这种动态表达的规律提示, 早期CD146可能抑制肿瘤的发生, 晚期却促进肿瘤的侵袭转移. 这类肿瘤包括: 乳腺癌^[34,208,209]、鼻咽癌^[210]、肺鳞癌、肺腺癌、前列腺癌^[211]、膀胱尿路上皮癌^[212]、子宫内膜癌^[203]、结直肠癌^[213]等^[38].

无论是“表达递增型”, 还是“先降后升型”, 都有一个共同的特点, 即在肿瘤恶性进展时, CD146的表达逐渐升高, 其阳性率及表达量与肿瘤的侵袭转移能力显著正相关^[35,39,40,198,201,202,205,206,208-210,213,214]. 临床结果也显示, 在多种肿瘤中都呈现出CD146的表达越高, 复发率也越高的情况, 而且复发期短、生存率低^[34,39,208,209,215-219]. 这些结果提示CD146是肿瘤“恶性”转移的重要标志, 也可作为判断肿瘤预后的参考.

6.2 CD146调控肿瘤增殖和转移的机制

在肿瘤发生发展过程中, CD146既影响肿瘤细胞本身的行为, 也参与肿瘤微环境的重塑. 对肿瘤细胞本身的影响主要有5个方面: 调控肿瘤细胞的增殖、迁移与凋亡; 促进肿瘤细胞EMT; 促进肿瘤的侵袭和远端转移; 影响肿瘤干细胞的干性; 促进肿瘤产生耐药性.

(1) CD146调控肿瘤细胞增殖. 在黑色素瘤、卵巢癌、肝细胞肝癌、艾洛替尼耐药肺腺癌、前列腺癌、恶性横纹肌瘤、腺样囊性癌等肿瘤细胞中, 均发现

表1 CD146在多种肿瘤中的作用机制及其应用研究

Table 1 The mechanisms by which CD146 functions in various types of tumors and the applications of CD146

所属系统	肿瘤类型	CD146的作用机制	CD146应用研究
消化系统	肝癌	促增殖 ^[66] ; 促侵袭迁移 ^[202] ; 促EMT ^[80] ; 维持干细胞干性 ^[238]	可作为总体生存率低, 复发期短的指标 ^[39,219] ; 可作为肿瘤成像靶标 ^[219]
	结直肠癌	促转移 ^[233] ; 抑制干细胞干性 ^[42] ; 抑制肿瘤的发生和耐药 ^[42]	与肿瘤组织学分级、杜克分期和肝转移线性相关, 可作为术后肝转移的标志物 ^[213]
	胆囊腺癌	促侵袭转移 ^[200]	可作为总体生存率较低的预后指标 ^[200]
	食管鳞癌	促淋巴结转移 ^[204]	与肿瘤临床分期正相关, 可作为不良预后的标志物 ^[204]
	胃癌	促EMT ^[207]	与淋巴结受累和预后不良正相关 ^[207]
	胰腺导管腺癌	促转移 ^[274]	-
	腺样囊性癌	促增殖 ^[220]	与神经侵袭性相关 ^[220]
生殖系统	乳腺癌	促增殖、抗凋亡 ^[240,275] ; 促EMT(有争议) ^[138,208,215,240] ; 促侵袭迁移(有争议) ^[34,122,138,208,276-278] ; 维持三阴性表型 ^[34,208] ; 促耐药 ^[118,240]	与乳腺癌的恶性程度和转移性正相关, 可作为肿瘤分期高、预后差、生存期短的指标 ^[34,208,209,215] ; 可作为三阴性乳腺癌的诊断指标 ^[34,215]
	卵巢癌	促增殖(有争议) ^[36,226,279] ; 促EMT ^[67] ; 促进侵袭迁移(有争议) ^[36,205,280]	与卵巢癌恶性程度正相关, 是早期复发和预后较差的指标 ^[67,205,206,281,282]
	滋养层细胞瘤	-	用于诊断鉴别滋养层细胞瘤 ^[283,284]
	子宫内膜癌	促侵袭转移 ^[203,285]	可作为子宫内膜癌诊断恶性肿瘤的潜在标志物 ^[203]
	宫颈癌	促侵袭转移 ^[203] ; 增加放射治疗的敏感性 ^[203]	可作为宫颈癌诊断恶性肿瘤的潜在标志物 ^[203]
	子宫肉瘤	促转移 ^[286]	可作为淋巴结转移和不良预后的指标 ^[286]
	输卵管癌	促进鸡肿瘤细胞转移 ^[287]	-
呼吸系统	非小细胞肺癌	促增殖 ^[221] ; 促EMT ^[221,227] ; 促侵袭转移 ^[221,227,288] ; 促进干细胞干性维持 ^[239] ; 促耐药性 ^[221,239]	与较短生存期相关, 可作为不良预后的指标 ^[227,289,290] ; 可作为肿瘤成像靶标 ^[291,292]
	小细胞肺癌	促增殖 ^[35] ; 促耐药 ^[35]	-
	胸膜间皮瘤	促转移 ^[257]	与肿瘤恶性程度正相关, 可用于区分良恶性肿瘤 ^[201,293-295] ; 作为CTC的筛选标志 ^[257]
	鼻咽癌	抑制增殖; 促转移 ^[210]	-
	喉鳞状细胞癌	促侵袭转移 ^[199]	可作为肿瘤不良预后的标志物 ^[199]
泌尿系统	前列腺癌	促增殖 ^[120] ; 促进EMT ^[214,296] ; 促侵袭迁移 ^[211,214,297,298]	与肿瘤的恶性程度正相关, 可作为早期诊断、不良预后和易复发的指标 ^[211,214,299,300]
	肾透明细胞癌	促侵袭转移 ^[301]	与肿瘤的复发和转移正相关, 可作为肿瘤早期复发的预测指标 ^[40,258,301,302]
	尿路上皮癌	促侵袭浸润和淋巴结转移 ^[212]	与肿瘤的病理分期分级以及恶性程度正相关 ^[212]
	肾母细胞癌	在鸡中可能参与肿瘤的发生 ^[303]	-
免疫系统	B细胞急性淋巴细胞白血病	-	与不良预后和成年期发病正相关
	T细胞急性淋巴细胞白血病	-	较高的表达率, 可能与肿瘤的恶性程度相关 ^[166,304]
	淋巴瘤	促进鸡肿瘤细胞向肺、肝、肾转移 ^[305]	-
运动系统	恶性横纹肌瘤	促侵袭 ^[222] ; 维持干性 ^[222]	与患者的不良预后相关 ^[222]
	骨肉瘤	促肺转移 ^[232] ; 促进干细胞干性维持 ^[235]	可作为肿瘤进展和复发的指标 ^[235]
	尤文氏肉瘤	促转移 ^[70]	与患者生存率较差正相关 ^[70]
皮肤	黑色素瘤	促增殖 ^[216,223,224,306] ; 促侵袭转移 ^[8,106,107,114,198,216,223,224,230,231,306-308]	与患者的预后不良和总生存率较差密切相关 ^[216-218] ; 可作为前哨淋巴结检测的补充指标 ^[309] ; 是外周血黑色素瘤循环细胞的重要筛选指标 ^[218]
	Kaposi's肉瘤	高表达 ^[310]	-
	黏膜表皮样癌	高表达 ^[311]	可作为诊断指标之一 ^[311]
神经系统	脑胶质瘤	促EMT ^[236] ; 促进干性维持 ^[236,237]	与肿瘤的分期分级正相关 ^[237] ; 可作为肿瘤成像靶标 ^[228,236]
内分泌系统	甲状腺瘤	可能与肿瘤早期发生相关; 促侵袭迁移 ^[37]	与肿瘤分期分级负相关 ^[37]

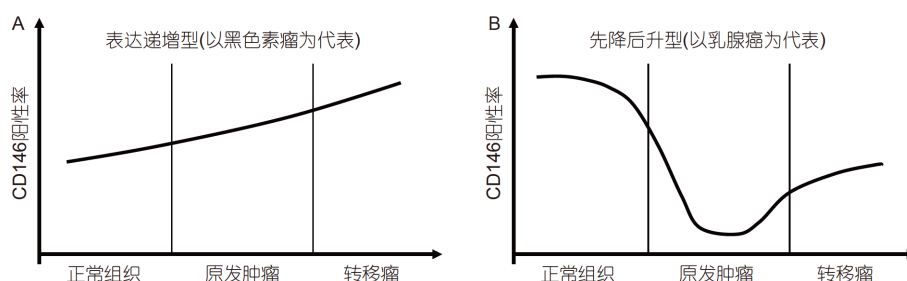


图 6 肿瘤发生发展过程中CD146动态表达谱示意图. A: 表达递增型(以黑色素瘤为代表), CD146在正常组织中低表达或不表达, 而在原发性肿瘤组织中表达上调, 其表达量随着肿瘤恶性程度的升高而增加; B: 先降后升型(以乳腺癌为代表), CD146在正常组织中高表达, 而在原发性肿瘤中表达下调, 随着肿瘤恶性程度的进展, 其表达量又逐渐上调

Figure 6 Schematic diagram of the expression level of CD146 in the process of tumorigenesis. A: The expression of CD146 is low or not detected in normal tissue, while it is up-regulated in primary tumor tissue, and increased with the development of tumor; B: the expression of CD146 is high in normal tissue, but is down-regulated in primary tumor. With the progression of tumor, the CD146 expression level is up-regulated

CD146促进肿瘤细胞的增殖^[66,120,220-223]。然而, 有关CD146促黑色素瘤和卵巢癌细胞增殖的作用, 还存在争议。Dorothea团队通过对黑色素瘤的全基因组芯片分析, 发现CD146与黑色素瘤细胞的生长或增殖无关^[216,224]。但是, 吴光哲和龚宝兰等人却曾先后证明, 在卵巢癌细胞系SK-OV-3中, 过表达CD146能够显著抑制其体外增殖及裸鼠体内的成瘤^[225,226]。因此, CD146对这两类肿瘤细胞的作用, 还有待进一步研究。

在CD146促肿瘤细胞生长和增殖的过程中, 主要分子调控机制是通过促进Akt信号通路的活化。目前, 在黑色素瘤^[116]、卵巢癌、前列腺癌、恶性横纹肌瘤以及肝细胞肝癌^[66]中, 均发现CD146可以调控Akt信号通路的活化, 从而促进肿瘤细胞生长。在黑色素瘤中, CD146的高表达可激活Akt信号通路, 抑制促凋亡蛋白BAD的表达, 从而促进肿瘤细胞的存活和生长^[116]。在肝癌细胞系中, CD146也是通过Akt信号的活化, 促进真核细胞起始因子4E与c-Jun/c-Fos的结合, 激活c-Jun/c-Fos的转录活性, 从而促进肝癌细胞的生存与转化。此外, c-Jun/c-Fos可促进转录因子CREB的表达, 上调YAP的表达, 而YAP又反过来可以上调CD146的表达。这种正反馈的调节方式, 是CD146调控肿瘤细胞生长和增殖的特征之一^[66]。

(2) CD146促肿瘤细胞EMT. EMT是指上皮细胞通过特定程序, 转化为间质表型细胞的可逆生物学过程。在EMT过程中, 上皮细胞改变其原有的形态和细胞结构, 失去上皮细胞特征, 而获得具有侵袭性和迁移性的间充质细胞表型。多项研究表明, CD146是肿瘤细胞发生EMT的重要标志分子和诱导因子, 在多种

肿瘤发生发展过程中发挥着关键作用。

在乳腺癌^[34,208]、前列腺癌^[214]、胃癌^[207]、非小细胞肺癌^[227]、脑胶质瘤^[228]、肝细胞肝癌^[39]、卵巢癌^[67]中, 均发现CD146的表达与上皮标志分子E-cadherin和 α -catenin呈显著负相关, 而与间质标志分子 β -catenin和veimentin的表达呈正相关, 说明CD146可能促进肿瘤EMT的发生。然而也有研究不支持这一观点。例如, Sleijfer团队^[215]通过对临床样本的基因表达分析发现, 在原发性乳腺癌中, CD146并不足以单独诱导EMT的发生。这种矛盾的结果, 可能是由于选取临床样本的差异, 也可能是处理和分析方法的不同所致, 具体原因有待更多临床试验数据和全面、深入的分析探讨。

CD146促进EMT的分子机制, 在乳腺癌细胞中主要是通过抑制钙黏蛋白E-cadherin的表达。过表达CD146能诱导RhoA的激活, 进一步促进F-actin细胞骨架的重排和slug的表达。而slug能够抑制E-cadherin的转录, 导致E-cadherin的表达减少, 破坏细胞间紧密接触, 最终导致EMT的发生^[34]。然而, 在卵巢癌中, CD146分子抑制E-cadherin表达则是通过激活STAT3/twist信号通路实现的。此外, CD146还通过激活ERK信号促进N-cadherin的表达, 从而促进cadherin转变, 导致卵巢癌细胞EMT的发生^[67]。

(3) CD146促肿瘤侵袭和转移. 肿瘤侵袭是指恶性肿瘤细胞从起源部位, 沿组织间隙向周围正常组织扩张的过程。肿瘤转移是指肿瘤细胞脱离原发部位, 通过血管或淋巴管, 转移到机体远端的器官或组织继续增殖生长的过程。肿瘤转移是一个复杂而连续的过程: 首先, 肿瘤细胞脱离原发部位, 侵破基底膜向周围间质

浸润性生长; 然后穿越局部毛细血管或淋巴管壁; 随血液或淋巴液运动到达靶器官; 穿越管壁和基底膜进入组织器官形成转移瘤。多项研究表明, CD146分子在肿瘤侵袭和转移的多个步骤中均发挥重要作用。

肿瘤细胞脱离原发部位是肿瘤转移的第一步。如前所述, CD146分子可以促进多种肿瘤细胞发生EMT, 为其侵袭和转移做准备。CD146通过抑制肿瘤细胞表面E-cadherin的表达, 减少细胞间同型黏附, 促进肿瘤细胞脱离原位组织。此外, CD146调控细胞的运动和迁移, 是其促进肿瘤侵袭和转移的另一重要功能。Chabannon团队^[208]通过基因表达分析发现, CD146能够促进与肿瘤细胞运动相关基因的表达; 本团队^[34]发现, CD146可与ERM蛋白发生直接的相互作用, 将ERM引入凸起, 不仅促进黑色素瘤微绒毛的形成和延长, 还能募集Rho特异鸟苷酸解离抑制因子1(RhoGDI1), 激活Rho活性并增加黑色素瘤细胞的运动能力。

肿瘤细胞侵袭基底膜的过程包括两个步骤: 一是通过配体与基底膜和细胞外基质结合; 二是在多种基质金属蛋白酶的作用下, 突破基底膜向下侵袭。CD146在这两个过程中均发挥作用。首先, 肿瘤细胞膜表面的CD146结合基底膜上的Laminin-411和Laminin-421蛋白, 促进细胞迁移^[229]; 其次, 肿瘤细胞上高表达的CD146分子, 促进基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)和基质金属蛋白酶25(MMP-25)的表达和激活, 从而增强黑色素瘤突破基底膜的能力, 促进肿瘤侵袭转移^[107,230]。

CD146分子被认为是新生血管的标志分子, 在肿瘤细胞与血管内皮细胞相互结合过程中起到桥梁作用。例如, 在黑色素瘤和骨肉瘤中, CD146参与肿瘤细胞与血管内皮细胞之间的异型黏附, 促进肿瘤细胞由原发部位向血管内迁移^[231,232]。大鼠结肠腺癌上的CD146分子参与肿瘤细胞与肝血窦内皮细胞之间的相互作用, 从而促进血液中的结肠腺癌细胞向肝脏转移^[233]; 此外, CD146还能调节肿瘤血管的通透性, 从而影响肿瘤细胞的跨内皮迁移^[94]。

正如“CD146与发育”章节中所述, CD146促肿瘤侵袭转移也是其“极性”特征的表现, 其表达量均随着细胞迁移能力的提升而上调, 说明CD146的本质可能是一种促运动分子, 在肿瘤转移全过程中均发挥重要作用。因此, 以CD146作为肿瘤转移治疗的新靶标, 极具临床应用潜力。

(4) CD146对肿瘤干细胞的影响。肿瘤干细胞具备高度增殖能力与自我更新能力, 也具备分化为异质性肿瘤细胞的潜能。这类细胞虽然在肿瘤中只占少部分, 但对肿瘤的存活、增殖、转移、复发、耐药等关键事件都具有重要作用。近年来, 肿瘤干细胞已在多种肿瘤组织中被发现, 包括乳腺癌、脑肿瘤、前列腺癌、肺癌、肝癌、结直肠癌、皮肤癌等^[234]。

CD146是间充质干细胞的重要标志分子, 也在多种干细胞中高表达, 是目前干细胞筛选的常用标志之一。然而, CD146在不同类型的肿瘤干细胞中的作用并不一致。在人类原发性肉瘤^[235]、胶质母细胞瘤^[236]、脑胶质瘤^[237]、肝细胞肝癌^[238]、肺腺癌^[239]、恶性横纹肌瘤^[222]中, 存在一群CD146高表达的肿瘤细胞亚群, 该群细胞在行为、表征以及特征上与肿瘤干细胞高度一致, 提示CD146在维持这类肿瘤干细胞的干性方面发挥作用; 而在结直肠癌的干细胞中, 敲除CD146后其干性标志物表达上调, 提示CD146可能抑制结直肠癌干细胞的干性^[42]。关于CD146为何在不同肿瘤干细胞中发挥不同作用的机制暂不清楚。

目前认为, CD146促进肿瘤细胞干性维持的机制, 主要是通过促进一些干性相关分子, 如Notch1、周期相关蛋白、Sox-2、Nanog、Oct4、CD133和CD44等^[235,237,239], 从而影响其分裂增殖以及自我更新, 但其中具体的信号通路调控网络仍需进一步探索。在结直肠癌干细胞中, 有关CD146抑制其干性维持的分子机制, 被认为与经典的Wnt信号有关: 首先, 结直肠癌干细胞中下调表达的CD146能够显著抑制GSK3 β 的表达, 进而减少GSK3 β 对 β -Catenin的磷酸化, 减少 β -Catenin的降解, 促进其核转运和活性, 激活经典Wnt信号通路, 进而促进结直肠癌细胞的干细胞特征^[42]。

(5) CD146对肿瘤耐药性的影响。肿瘤耐药是目前肿瘤治疗的最大障碍之一, 深入阐明其分子机制对克服耐药十分必要。研究表明, CD146分子参与多种肿瘤的耐药性, 例如, 其在雌激素受体阳性(estrogen receptor-positive, ER⁺)的乳腺癌和非小细胞肺癌的耐药过程中均具有一定的调控作用。

目前, 治疗ER⁺乳腺癌最有效的手段是用抗雌激素药物——他莫昔芬。然而, ER⁺乳腺癌极易对他莫昔芬产生耐药, 主要原因是雌激素受体的表达下调。多项研究表明, 乳腺癌细胞表面CD146与ER的表达量呈显著负相关^[34,208,240]。通过对乳腺癌细胞系的耐药性筛选

发现, 耐药性细胞系中CD146表达显著上调; 上调表达的CD146通过Akt信号通路抑制ER的表达, 进而导致他莫昔芬耐药的产生^[118]。另外, 乳腺癌细胞表面CD146与ER的表达量呈显著负相关, 与本团队报道的“CD146是三阴性乳腺癌标志分子”一致^[34,208,240]。

用EGFR-TKI靶向治疗非小细胞肺癌已成为EGFR敏感突变癌患者的临床一线治疗方案。虽然此方案的无进展生存期和总生存期均优于常规化疗, 但大多数患者会对其产生获得性耐药, 给非小细胞肺癌的治疗带来新的挑战。研究发现, CD146在艾洛替尼(一代EGFR-TKI)耐药的肺腺癌细胞系上的表达显著上调^[221], 提示CD146与EGFR-TKI耐药之间有关联。机制研究认为, CD146表达上调能促进耐药的肺腺癌细胞维持干细胞特征, 并促进耐药细胞的EMT和迁移^[239]。

多种化疗药物联合治疗是目前小细胞肺癌临床治疗的主要方法。尽管初期治疗效果良好, 但是患者常常在一年内复发, 并对多种药物产生耐药性。因此多药耐药是临床上治疗小细胞肺癌的巨大挑战。Hanash团队^[35]发现, 在产生多药耐药的小细胞肺癌细胞中, PI3K/Akt通过激活下游的SOX2和CREB表达, 上调CD146的表达, 而CD146表达上调进一步激活PI3K/Akt通路, 形成正反馈循环。同时, CD146通过PI3K/Akt通路促进一些耐药相关蛋白(如Mrp1蛋白等)的表达, 从而促进小细胞肺癌耐药性的产生。激活的PI3K/Akt信号还能改变细胞的代谢方式, 增加乳酸的产生并降低氧化磷酸化, 进一步促进小细胞肺癌的耐药表型。因此, CD146有可能成为小细胞肺癌多药耐药的新靶点。

6.3 CD146重塑肿瘤微环境

肿瘤微环境是由肿瘤细胞、常驻和招募的宿主细胞(如与癌症相关的成纤维细胞和免疫细胞)、上述细胞的分泌产物(如细胞因子和趋化因子)、细胞外基质中的非细胞成分, 以及肿瘤新生血管组成。肿瘤的发生、发展、侵袭、转移都与肿瘤微环境密切相关。CD146分子在肿瘤血管新生以及多种肿瘤的跨血管内皮迁移方面都具有重要作用。近年来, CD146在肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)上的作用也逐渐得到重视。因此, 本节主要介绍CD146与肿瘤血管新生以及肿瘤相关成纤维细胞之间的关系。

(1) CD146促肿瘤血管生成。肿瘤血管生成是指肿瘤细胞诱导的微血管生长以及肿瘤中血液循环建立的

过程。肿瘤血管生成为肿瘤细胞提供营养物质和氧气, 促进肿瘤发生发展。同时, 肿瘤血管还为肿瘤细胞向远处转移和扩散提供途径。因此, 肿瘤血管的形成对肿瘤的发生进展以及恶性转化均起到了至关重要的作用。研究表明, CD146分子是肿瘤血管的标志分子, 并促进肿瘤的血管新生。

早期Dignat-George团队^[3,241,242]发现了CD146与血管内皮细胞的关系, 随后Johnson团队^[243]也报道了CD146不仅表达于黑色素瘤细胞上, 还存在于黑色素瘤的新生血管的现象。但是直到2003年, 本团队^[10]的工作才开启了CD146作为肿瘤血管新靶点及其作用机制的系统研究。首先我们用抗体AA98筛选了10余种不同的肿瘤组织, 证实了CD146是肿瘤新生血管的标志分子; 随后以CD146为靶点, 用抗体AA98通过阻断血管生成机制, 实现了对肝癌、胰腺癌、骨肉瘤等多种肿瘤的生长和转移的抑制。更重要的是, 本团队发现了CD146促肿瘤血管新生的多种机制: (i) 在肿瘤细胞分泌因子的诱导下, 膜受体CD146发生二聚化, 激活下游p38/Ikk/NF- κ B信号, 促进MMP9和ICAM-1的表达, 进而促进内皮细胞的迁移和血管的形成^[244,245]; (ii) CD146作为VEGFR2的共受体, 辅助激活VEGF诱导的VEGFR2磷酸化/Akt/p38/MAPK/NF- κ B信号通路^[93]; (iii) CD146作为Netrin-1的独立受体, 促进其诱导内皮细胞激活, 从而促进血管的生成^[89]; (iv) CD146作为Galectin-1的诱骗受体, 抑制Galectin-1诱导的内皮细胞凋亡^[102]; (v) sCD146诱导血管内皮细胞中动蛋白的表达, 从而增加血管内皮细胞的运动能力, 促进内皮细胞迁移, 从而促进肿瘤血管生成^[246]; (vi) CD146还能通过调控血管内皮细胞的代谢来影响肿瘤血管的形成。在生长因子刺激条件下, CD146分子的胞内段发生磷酸化, 使其带正电荷的KKGK基序与mTORC2的Rictor亚基直接相互作用。CD146-Rictor/mTORC2复合物的形成保护了Rictor不被降解, 从而上调了mTORC2的活性, 进而促进内皮细胞的增殖和存活^[79]。

综上所述, CD146是肿瘤血管新生的标志分子, 也是肿瘤微环境网络调控的节点分子。CD146通过多种途径调控肿瘤血管生成, 以此为靶点有望成为阻断肿瘤血管生成的肿瘤治疗新策略。

(2) CD146抑制肿瘤相关成纤维细胞。CAFs是指存在于肿瘤间质中活化的成纤维细胞, 它可通过直接接触或以旁分泌的方式分泌多种细胞因子和代谢产

物, 促进肿瘤细胞的生长、增强、侵袭和转移. CAFs是近期肿瘤研究的热点之一.

研究发现, CD146分子在某些类型的CAFs上高表达, 并且抑制该细胞的功能. 2016年, Tanaka团队^[247]首次较为系统地研究了CD146在CAFs上的作用. 他们发现, CD146在部分胰腺癌间质的CAFs上表达, 且其表达量与胰腺癌的恶性程度负相关. 结合临床信息分析发现, CD146在CAFs上的低表达是患者预后较差的指标. CD146过表达的CAFs活性显著降低, 导致与其共培养的肿瘤细胞的迁移和侵袭能力降低, 而用抗体封闭CAFs上的CD146可增强肿瘤细胞的迁移和侵袭能力. CD146⁺ CAFs能够抑制胰腺癌的发生发展, 表明CD146可能是CAFs的抑制因子.

同样, 在ER⁺乳腺癌中也存在CD146⁺和CD146⁻两种类型的CAFs, 并且这两群CAFs表现出了截然不同的功能. CD146⁻ CAFs抑制ER⁺乳腺癌细胞中ER的表达, 降低肿瘤细胞对雌激素的敏感性, 增加肿瘤细胞对他莫西芬治疗的耐药性; 与此相反的是, CD146⁺ CAFs的存在维持了ER⁺乳腺癌细胞中ER的表达, 促进了肿瘤对他莫西芬的敏感性^[248]. 2018年, Verma团队^[249]发表的一篇关于CAFs的综述中将CD146列为CAFs的重要的抑制因子之一, 其在CAFs中的重要性逐渐被重视.

6.4 CD146成为肿瘤治疗新靶点

肿瘤细胞上CD146分子的表达量和表达率随肿瘤的恶性进展而逐渐增加, 因此CD146被认为是多种肿瘤恶性发展和转移的重要标志(表1). CD146不仅表达于原位肿瘤, 同时也影响肿瘤生长和转移的全过程, 包括肿瘤细胞侵入血管进入血循环, 以及形成循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)及转移灶等. 多项研究表明, CD146分子是多种肿瘤CTCs的筛选标志, 如黑色素瘤^[250~253]、转移性乳腺癌^[254,255]、卵巢癌^[256]、恶性胸膜间皮瘤^[257]、肾细胞癌^[258]等, 因此CD146可用于分离外周血中的CTCs.

CD146几乎在所有肿瘤血管上高表达, 是肿瘤血管内皮细胞的标志分子. 在肿瘤发生发展过程中, 肿瘤血管新生旺盛以及肿瘤在侵袭转移的过程中对血管完整性的破坏, 使得外周血中产生大量的血管内皮细胞, 即循环内皮细胞(circulating endothelial cells, CECs). 肿瘤患者CECs的数量显著高于正常人, 因此

CECs常被用在外周血的肿瘤检测、诊断、疗效的评价以及预后的判断中. CD146常被用于筛选和检测外周血中的CECs. 在多发性骨髓瘤^[259]、转移性乳腺癌^[260]、结直肠癌^[260]、肾透明细胞癌^[261]、非小细胞肺癌^[262,263]、前列腺癌^[260]、慢性淋巴细胞白血病^[264]、恶性胸膜间皮瘤^[265]、急性淋巴细胞白血病^[266]等恶性肿瘤中, CD146均被报道作为筛选标志之一, 用来进行外周血CECs的筛选检测.

另外, CD146的表达量与肿瘤的分期分级和复发率呈等正相关(表1). 陈敏斌团队^[267]利用PubMed, Web of Science和EMBASE数据库的文献信息, 对实体肿瘤CD146表达的预后价值进行汇集分析后发现, CD146的表达与总生存期(overall survival, OS)和疾病进展的时间(time to progress, TTP)显著负相关, 表明CD146高表达与肿瘤的不良预后相关. 因此, CD146可作为肿瘤预后标志物.

在30多年的研究历程中, “CD146分子作为潜在的肿瘤治疗靶点”已被广泛接受^[11,268~272]. *Chemical Reviews*杂志将CD146列为39个肿瘤新靶点之一^[273], 并录入新靶点数据库(Therapeutic Targets Database, by Bioinformatics and Drug Design Group); 靶向CD146的治疗性抗体, ABX-M1, PXR003, M2J-1等, 都曾经或正在进行临床试验; 特异性识别肿瘤血管CD146的AA98抗体、特异性识别肿瘤组织CD146而不识别正常组织CD146的TsCD146抗体等一系列特异性更强、安全性更高的靶向抗体的研究也在不断地完善. 相信在不远的将来, CD146分子将是一种可以广泛使用的肿瘤诊疗新靶标.

7 CD146与免疫

1997年, Knapp团队发现, 植物血凝素PHA能够诱导培养的T细胞表达CD146分子, 开启了CD146在免疫领域的研究. 之后陆续发现了CD146在B细胞、NK细胞及髓样细胞上的表达. 此外, 在类风湿性病人的滑膜液中检测到CD146⁺ T细胞的研究, 开启了CD146⁺ T细胞与自身免疫性疾病, 特别是多发性硬化症的相关研究. 目前, CD146被认为是T细胞活化相关的标记分子, 并且通过与血管内皮细胞上配体的相互作用, 促进T细胞的跨内皮迁移和炎症因子的表达. 鉴于近20年来CD146与免疫研究大多数集中在T细胞及

其相关疾病上,而在B细胞、NK细胞、巨噬细胞及其他髓样细胞上仅偶有报道,缺乏系统研究,因此本章节将主要综述CD146⁺ T细胞的特点及其在T细胞相关免疫性疾病中的作用,并探讨CD146在免疫领域未来的研究方向。

7.1 CD146是T细胞活化的标志分子

CD146表达在活化的T细胞上,而T细胞的活化又进一步促进其上调表达^[312]。此外,丝裂原等能够诱导T细胞表达CD146分子^[28],也证明了CD146与T细胞活化的关系。然而,CD146与其他已知T细胞活化相关抗原,如CD25, CD38, CD69, HLA-DR等,并没有明显的相关性^[313]。因此,CD146⁺ T细胞可能是一个新的T细胞亚群。

为了明确CD146⁺ T细胞特征,McCoy团队^[313]通过对比CD146⁺ T细胞和CD146⁻ T细胞的基因表达谱,鉴定了84个CD146⁺ T细胞特异性基因,这些基因的编码产物主要涉及细胞黏附、信号转导和细胞通讯。进一步分析发现,CD146⁺ T细胞具有效应记忆性细胞特性,即表达CD45RO和CD28等T细胞活化标志,但缺失CCR7和CD45RA等naïve T细胞标志。因此,CD146可能参与T细胞的免疫记忆,在机体免疫防御中发挥重要作用。

7.2 CD146⁺ T细胞的功能

如前文所述,CD146作为重要的黏附分子,介导内皮细胞间黏附以及内皮细胞和肿瘤细胞的迁移。这一CD146⁺ T细胞在炎症部位富集的现象提示,活化的T细胞上表达的CD146在炎症过程中同样介导T细胞的黏附和迁移。体外实验证明,相比于CD146⁻ T细胞,CD146⁺ T细胞具有更强的与血管内皮细胞黏附的能力^[313,314]。在中枢神经系统炎症中,CD146⁺ T细胞穿越血脑屏障的能力更强,并且这一过程可被抗CD146抗体阻断^[68]。机制研究表明,CD146⁺ T细胞跨越血管内皮可能是通过CD146与血管内皮细胞上Laminin-411之间的异型黏附介导实现的^[101,315,316]。

除了介导免疫细胞黏附和穿越血管内皮之外,CD146⁺ T细胞还能分泌细胞因子。最早McCoy团队^[313]发现,IL-8和RORC2基因的上调与CD146表达具有正相关。随后,Brucklacher-Waldert等人^[314]发现,在Th17

细胞中约有69%为CD146阳性细胞,提示CD146可能与CD146⁺ Th17分泌IL-17相关。Dagur和McCoy Jr^[317]检测到CD146⁺ T细胞表达IL-17水平较高,而CD146⁻ T细胞的IL-17表达量很少,说明CD146⁺ T细胞具有Th17细胞特性。不仅是IL-17,陆续有更多研究表明,CD146⁺ T细胞还表达更高的IL6ST(GP130), IL6R, IL-22, IL-23R, IL-26, RORC和CCL20等一系列Th17特征性的细胞因子^[101,315,318-320]。Th17在自身免疫病中发挥重要的致炎作用,是导致疾病发生的主要病因之一^[321]。在CD4⁺ T细胞中,CCR6⁺CD146⁺ T细胞比CCR6⁺CD146⁻ T细胞产生更多的IL-17^[322,323],提示CD146⁺ Th17细胞可能是一群效应性更强的Th17亚群。

目前,关于Th17亚群的划分主要有两类:稳态下存在的非致炎性Th17以及炎症环境中存在的致炎性Th17。其中,非致炎性Th17主要由IL-6和TGF-β联合诱导产生,分泌炎性因子IL-17;致炎性Th17主要由IL-6, IL-1β和IL-23等联合诱导产生,分泌炎性因子IL-17和IFN-γ^[324]。体外实验发现,致炎性Th17诱导分化因子IL-23/TGF-β或IL-23/IL-1β均可明显促进CD146在CD4⁺CD45RO⁺ T细胞中的表达^[68],提示CD146⁺CD4⁺ T细胞主要与致炎性Th17相关。Th17的分化受外界环境的影响,与多种免疫细胞之间存在动态平衡,尤其是与Treg细胞具有密切联系^[325]。研究发现,在人的部分Treg细胞上也会检测到CD146的表达。但相比CD146⁻ Treg, CD146⁺ Treg会表达更高的Th17转录因子RORγt,且抑制T细胞增殖的能力减弱^[326]。因此,CD146可能在调控Th17和Treg稳态中发挥重要作用,这对机体的免疫稳态调控具有重要意义。

此外,在某些病理条件下,CD8⁺ T细胞也会发生CD146表达上调,并且这群细胞也具有分泌IL-17的功能,同时高表达CD161, CD26, CCR6, CCR5等Th17相关分子。然而,CD146⁺CD8⁺ T细胞不表达穿孔素和颗粒酶B,却分泌IFN-γ, G-MCSF和TNF-α等炎症因子^[327,328]。因此,CD146在CD8⁺ T细胞中的表达可能与其杀伤功能相关。

7.3 CD146与T细胞免疫相关疾病

与CD146⁺ T细胞相关的疾病主要包括自身免疫病和移植物抗宿主病。此外,也有部分研究表明,CD146与免疫系统来源的肿瘤相关,在此一并介绍(表2)。

表2 CD146与免疫炎症

Table 2 CD146 and immune inflammation

疾病	CD146 ⁺ 细胞比例(患者vs.健康人)	功能与意义	参考文献
多发性硬化症	外周血: CD4 T细胞: 5%~8% vs. 2%~4%. 脑脊液: CD8 T细胞: 约8%; CD4 T细胞: 约17%; Th1细胞: 约6%; Th17细胞: 约38%.	CD146促进T细胞迁移, 进入中枢神经系统; 促进T细胞炎症反应、且CD146 ⁺ T细胞具有Th17特征; 其表达与疾病进程呈正相关; 在EAE模型中, CD146抗体有效缓解疾病进程且是阻止Th17通过血脑屏障的唯一途径.	[68,101,314~316]
银屑病	外周血: CD4 T细胞: (5.50±0.41)% vs. (3.55±0.21)%.	CD146与T细胞分泌炎症因子IL-17的能力具有密切联系; 外周CD146 ⁺ CCR6 ⁺ T细胞数量有助于临床病情评估.	[323,331]
关节炎和脊柱炎	外周血: CD4 T细胞: (4.71±2.48)% vs. (2.53±1.08)%. 滑膜液: CD8 T细胞: (6.19±5.22)%; CD4 T细胞: (24.06±8.02)%.	CD146 ⁺ T细胞分泌更多的炎症因子, 促进炎症反应; CD146 ⁺ T细胞和CD146在T细胞中的表达量均与患者疾病严重程度呈正相关; CD146可作为疾病的潜在治疗靶点.	[318,320,338]
白塞病	外周血: CD8 T细胞: (3.40±2.32)% vs. (2.16±1.49)%; CD4 T细胞: (5.7±0.9)% vs. (3.04±0.20)%.	CD146 ⁺ T细胞具有Th17特征; CD8 ⁺ T细胞中CD146表达水平升高, 促进疾病进程.	[319,327,335]
克罗恩病	外周血: CD4 T细胞: (5.2±0.4)% vs. (3.04±0.20)%.	CD4 ⁺ CD146 ⁺ T细胞的增加与疾病严重程度呈正相关.	[319]
移植物抗宿主病	外周血: Treg: 约24% vs. 约15%(慢性排斥).	CD146 ⁺ Treg免疫抑制功能减弱; 在急性排斥患者中, CD4 ⁺ CD146 ⁺ CCR5 ⁺ Treg在外周血中比例越高, 患者越易发生排斥反应; CD146 ⁺ CD4 ⁺ T细胞比例与疾病进程呈正相关.	[326,332]
肺炎	-	CD146促进人肺巨噬细胞炎症反应.	[336]
动脉粥样硬化	-	CD146高表达在人动脉粥样硬化斑块上, CD146促进小鼠巨噬细胞泡沫化和炎症反应.	[337]
淋巴瘤	-	CD146在约50%的T/B淋巴瘤患者的肿瘤细胞上高表达; CD146的表达与预后较差的抗原的表达呈正相关, 推测与病人愈后呈负相关.	[166,304,333]

(1) 自身免疫病. 早在1997年, Knapp团队^[312]首次在类风湿性关节炎患者的滑膜液中检测到CD146⁺ T细胞. 后续研究发现, 除了类风湿性关节炎, CD146⁺ T细胞在多种其他自身免疫性疾病(系统性红斑狼疮、半月板损伤、银屑病)患者的外周血和滑膜液中均有明显升高, 在滑膜液中的比例可达到30%^[318]. 在强制性脊柱炎中也发现了类似现象, 并且CD146⁺ T细胞的比例与关节炎和脊柱炎患者的疾病严重程度呈正相关^[320]. 这些研究提示, CD146⁺ T细胞比例可能反映局部的炎症状态.

迄今为止, 有关CD146⁺ T细胞与自身免疫性疾病的研究, 大部分集中在多发性硬化症上. 多发性硬化症是一个典型的由自身反应性T细胞介导的免疫性疾病, Th17细胞在其中发挥重要作用. Brucklacher-Waldert等

人^[314]在2009年发现, 多发性硬化症患者的脑脊液中存在CD146⁺ Th17细胞, 并且相对于缓解期的病人来说, 该群细胞在急性期的病人脑脊液中更多, 提示其与疾病的进展相关. 后续研究进一步发现, 多发性硬化症患者外周血和中枢损伤部位存在大量表达CD146的CD4⁺ T细胞, 并且能分泌IL-17和IFN- γ 等细胞因子^[68]. 除CD4⁺ T细胞以外, 在CNS损伤部位也观察到CD146⁺的CD8 T细胞. 相较于CD146⁻CD8 T细胞, CD146⁺CD8 T细胞对少突胶质细胞的杀伤能力更强^[328]. 体外实验发现, CD146⁺ T细胞跨越血管内皮细胞的能力更强, 提示CD146在炎症性T细胞的迁移过程中发挥重要作用^[68]. 有研究报道, T细胞上CD146可能与胞外基质Laminin-411结合从而促进该群细胞向中枢损伤部位的浸润^[101]. 本团队^[329]的研究则表明, 内皮

细胞上的CD146也发挥介导CD146⁺ T细胞迁移的功能。此外, CD146⁺ Th17细胞的跨内皮迁移已被证明依赖于CD146的表达, 而不依赖于已知的T细胞迁移途径(VCAM-1-VLA-4)。因此, 临床上那他珠单抗(VLA-4抗体)治疗并不能减少损伤部位CD146⁺ Th17细胞的浸润^[330], 提示以CD146为靶点阻断自身免疫性疾病中T细胞迁移策略的必要性。在小鼠EAE模型中, 抗CD146抗体可减少CD146⁺ T细胞在脑内的浸润, 抑制疾病进展^[68,101,315,328], 这一结果在动物水平验证了该策略的可行性。因此, CD146有可能作为多发性硬化症的潜在治疗靶标。

此外, 在其他类型的炎症性疾病中也发现外周血中CD146⁺ T细胞的增加, 如干燥综合征和银屑病等。银屑病是一个主要由IL-17介导的疾病, 研究者们发现, 在银屑病活动性的皮肤损伤部位, CD146⁺ T细胞是IL-17的主要来源, 而且皮损部位的CD146⁺ T细胞分泌的IL-17明显多于外周循环CD146⁺ T所分泌的IL-17^[331], 强烈暗示CD146⁺ T细胞与银屑病进程正相关。另外, 在结节病、白塞氏病、克罗恩病及视网膜脉络膜病变等自身免疫性疾病中也发现了CD146⁺ T细胞, 且与疾病严重程度呈正相关^[319,327], 说明该群细胞在自身免疫性疾病中是非常普遍的。CD146不仅在CD4⁺ T细胞中表达, CD8⁺ T细胞中也存在CD146⁺亚群, 并且同样分泌IL-17, 与CD8⁺ T细胞的效应功能有关。有意思的是, CD146⁺CD8 T细胞在HLA I类分子相关的自身免疫性疾病中升高, 而CD146⁺CD4 T细胞则没有这种相关性, 提示这种关联可应用于HLA I类分子相关性自身免疫性疾病的鉴别诊断。

(2) 移植物抗宿主病。造血干细胞移植可以治疗多种血液病。然而, 临床上面临的一个重要问题是移植患者易发生移植物抗宿主排斥反应, 导致移植失败甚至宿主死亡。在造血干细胞移植患者中, CD146⁺CCR5⁺CD4⁺ T细胞在胃肠道移植物抗宿主疾病(gastrointestinal acute graft-versus-host disease, GI-GVHD)的早期明显升高, 预示其可作为早期监测发病风险的血液性指标。而且, 该群细胞具有Th17的分化潜能, 下调CD146的表达可减少其跨内皮迁移能力, 减少Th17细胞的浸润, 改善生存率。CD146⁺CCR5⁺CD4⁺ Treg细胞同样具有Th17细胞分化能力。因此, CD146⁺CCR5⁺CD4⁺ T细胞可用于早期风险评估, 以及作为骨髓移植后的预防性治疗靶标^[332]。此外, 在造血干细胞移植患

者中, 伴有慢性移植物抗宿主排斥反应的患者外周血中CD146⁺CD4⁺ T细胞比例增加, 且与疾病进程呈正相关^[326]。因此, CD146⁺ T细胞可作为潜在的治疗靶点, 用于GVHD治疗。

(3) 淋巴瘤。CD146在免疫系统来源的肿瘤细胞中也有表达。早在1998年人们就发现, CD146在20%的急性B淋巴瘤细胞(B lymphoblastic leukaemia, B-ALL, 4/20)、1/3的急性T淋巴瘤细胞(T lymphoblastic leukaemia, T-ALL, 1/3)以及15%的急性髓系白血病(acute myelocytic leukemia, AML, 2/13)细胞上表达^[166]。后续研究进一步表明, CD146在所有检测的费城染色体阳性的B-ALL细胞中表达^[304]。孙慧团队^[333]发现, 成人B-ALL患者的CD146表达率高于儿童患者, 且CD146的表达与指征预后差的抗原呈正相关。因此, CD146在淋巴瘤细胞的表达可能与疾病预后负相关。

7.4 CD146与其他免疫细胞

除T细胞外, CD146在部分B细胞和髓样细胞中也有表达, 并参与相关疾病的进展。健康人外周血中约有0.5%的B细胞和2%的中性粒细胞表达CD146, 但NK细胞和单核细胞上基本不表达(0.1%)^[28,68,313]。然而, 在正常小鼠外周血中, 单核细胞不表达CD146, 但在中性粒细胞和成熟NK细胞中CD146⁺亚群的比例分别高达30%和80%。CD146被认为是小鼠NK细胞成熟相关分子, 其表达水平与NK细胞活化负相关^[334]。因此, CD146在这些免疫细胞上的表达谱可能存在种属差异。

CD146还表达在部分肿瘤相关的B-1细胞上^[16]。B-1细胞是一群非骨髓来源的B淋巴细胞亚群, 在黑色素瘤病人体内的B-1细胞中有CD146的表达; 这群细胞被认为与黑色素瘤转移相关, 但是缺乏进一步的研究。

在多种炎症中, CD146在髓样来源细胞中的表达也会增高。多种血管炎患者外周血中CD146⁺中性粒细胞比例高达40%^[335], 提示其参与炎症的进展。在巨噬细胞中, 正常生理情况下其CD146表达很低, 但是在炎症中CD146明显上调。例如, 在肺部细菌性炎症中, 巨噬细胞上调表达的CD146通过活化NF- κ B信号增强巨噬细胞的炎症反应, 促进TNF- α 等炎性因子的表达以及肺部的炎症反应^[336]; 在非可控性炎症动脉粥样硬化斑块中, 巨噬细胞高表达的CD146促进低密度脂蛋白的内吞和巨噬细胞的泡沫化, 进而促进斑块的坏死和

疾病进展^[337]。

另外, CD146还表达在银屑病性关节炎患者滑膜液中的固有淋巴样细胞ILC3细胞上^[338]。固有淋巴样细胞分为ILC1, ILC2及ILC3三类, 其中ILC3表达转录因子ROC, 分泌细胞因子IL-22及IL-17等, 与黏膜组织的免疫反应有关。在银屑病关节炎滑膜液中有大量的CCR6⁺ ILC3, 且高表达CD146及自然杀伤性受体Nkp44, 分泌细胞因子IL-17, 与疾病的进程相关^[338], 但其中的具体作用及机制还有待进一步探究。

综上所述, 尽管已证明CD146⁺免疫细胞在多种疾病的发生发展中发挥重要作用, 然而其具体的作用机制并不完全清楚。CD146分子是否直接参与免疫细胞的活化; 作为Th17细胞的重要标志分子, CD146在Th17的分化或者转分化中如何发挥作用, 都是该领域重要的科学问题。除免疫疾病外, CD146⁺ T细胞如何在肿瘤免疫中发挥作用也是值得探索的问题。另外, 尽管目前关于CD146在巨噬细胞及其他天然免疫细胞上的研究相对较少, 但鉴于髓样细胞在肿瘤及代谢相关性疾病中的重要作用, CD146是否在此类细胞表达、CD146的功能及在相关疾病中的作用也将是值得期待的研究方向。

8 可溶性CD146

如前文所述, CD146分子具有跨膜和可溶两种存在形式。sCD146广泛存在于血清和组织液中。与膜型CD146不同, sCD146缺少跨膜区和胞质区, 仅含552个氨基酸组成的胞外区。自从1998年首次报道以来, sCD146经历了20余年的研究历程, 主要研究集中在与疾病的关系, 但对其功能的研究甚少。本章节将介绍sCD146的发现、来源、在疾病中的变化规律、分子调控网络及其在疾病诊断和治疗中的应用探索。

8.1 sCD146的来源

最早发现sCD146的研究始于1998年, Bardin等人^[339]在培养HUVEC上清中发现并鉴定了sCD146, 其分子量比膜型CD146(646个氨基酸, 分子量约为130 kD)小10 kD。随后, 科学家开始思考sCD146是如何产生的。根据可溶性黏附分子主要产生的两种途径: 一种是mRNA前体发生选择性剪切, 形成可溶性黏附分子

的剪接体, 翻译后直接释放到血液或组织液中; 另一种是膜型黏附分子在特定条件下, 通过蛋白酶的作用从膜上脱落释放到血清或组织液中。目前的研究证据更多地支持sCD146来自于膜型CD146的途径。例如, Boneberg等人^[340]发现, sCD146是由膜型分子通过Ca²⁺诱导, 在基质金属蛋白酶(MMPs)的作用下, 释放胞外端到组织液或血清中形成的。利用高尔基体蛋白分泌抑制剂Brefeldin A阻断人的微血管内皮细胞HMVEC-L的蛋白生成时, 发现HMVEC-L培养上清中的sCD146水平未发生显著下降。Blot-Chaubaud团队^[341]也确认了sCD146是通过MMPs酶切而产生的, 并发现酶切后胞外端sCD146进入体液, 而胞内端被酶切后入核, 与经典Notch通路的重要转录因子CSL结合, 促进膜型CD146分子的转录, 形成一个正调控的过程。本团队的研究结果也证实了sCD146主要来自于膜型CD146。但值得注意的是, 本团队发现MMPs抑制剂并不能完全阻断sCD146的产生, 提示sCD146可能还存在其他生成途径。关于sCD146是否存在其他来源途径, 以及是否通过转录翻译产生还需进一步研究和确认。

8.2 sCD146与疾病诊断

多项研究表明, sCD146在健康人的血清中浓度为300 ng/mL左右, 而在脑脊液、关节液等其他组织液中很难被检测到; sCD146在多种疾病病人的血清或组织液中显著升高, 如糖尿病、多发性硬化症、动脉粥样硬化等, 而在某些特定生理或疾病情况下血清中sCD146水平下降, 如妊娠和克罗恩病等(表3), 提示sCD146水平的变化对于相关疾病的辅助诊断、药效评价和预后具有重要的指导意义。近年来, sCD146与疾病的关系得到广泛研究, 其主要病理功能表现为参与炎症反应和病理性血管新生等。

(1) 血清sCD146与疾病。sCD146的血清水平在大多数自身免疫性疾病中都有变化。2009年, 本团队^[342]发现, sCD146在活动期系统性血管炎病人的血清中升高, 且膜型CD146在病人的白细胞上高表达。在接受免疫抑制剂治疗后, 病人血清中sCD146水平和白细胞上膜型CD146的表达均显著降低。这一现象一方面说明了sCD146的水平可能与膜型CD146的表达水平相关, 另一方面也揭示了sCD146的升高可能与系统性血管炎的发生发展密切相关。

此外, 在多肌炎^[343]、慢性肺阻塞^[47]病人的血清中

表3 sCD146作为多种疾病诊断的标志物^{a)}Table 3 sCD146 is a marker for various disease diagnosis^{a)}

	表达部位	sCD146平均值(病人/健康人, ng/mL)	参考文献
血清	系统性血管炎	血清中升高(445/309)	[342]
	多肌炎	血清中升高(322/222)	[343]
	慢性肺阻塞	血清中升高(400/200)	[47]
	肠炎	血清中降低(266/359)	[344,345]
	不明原因流产	血清中升高(未注明)	[53]
	抗磷脂综合征	血清中升高(未注明)	[348]
	I型糖尿病	血清中升高(315/208)	[350]
	失代偿性心衰	血清中升高(576/345)	[351]
	二尖瓣狭窄	血清中升高(562/320)	[352]
	急性冠脉综合征	血清中升高(438/316)	[353]
	系统性心脏充血	血清中升高(481/442)	[354]
	非小细胞肺癌	血清中升高(275/78)	[263]
	动脉瘤	血清中升高(338.1/282.8)	[355]
	肾透明细胞癌	血清中升高(未注明)	[302]
	系统性硬化	血清中升高(14/7)	[347]
	肝硬化	血清中升高(639/310)	[360]
	动脉粥样硬化	血清中升高(215/180)	[361]
	老年黄斑变性	血清中升高(172/126)	[362]
关节液	类风湿性关节炎	关节液中升高(39/10)	[356]
脑脊液	多发性硬化	脑脊液中升高(49/5)	[358]
	神经炎症性疾病	脑脊液中升高(37/5)	[357]
培养上清	胚胎移植	培养上清升高(8.45/1.31)	[54]

a) 目前检测sCD146的方法均为酶联免疫吸附试验法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 但由于不同研究中使用的检测抗体对于sCD146的亲合力不同, 检测样本数不同, 以及实验过程中所用的病人血清和组织液样品稀释倍数的差异, 导致sCD146浓度的检测绝对值差异较大。

均有sCD146显著升高的现象, 提示其与炎症性疾病的密切关系。有趣的是, sCD146并非在所有炎症性疾病患者的血清中都增高, 在克罗恩病和溃疡性结肠炎病人血清中, sCD146水平较正常人显著降低, 推测血清sCD146水平变化可能与疾病类型相关。此外, 血清中sCD146水平异常, 还能反映内皮细胞连接受损程度和血管的通透性^[344,345]。

随着sCD146与炎症研究的不断深入, 其参与炎症反应的机制研究也陆续被报道。Bardin等人^[99]发现, 在炎症反应中, sCD146结合单核细胞膜上的未知受体, 促进单核细胞跨内皮迁移; 同时, TNF可促进MMPs对内皮细胞上膜型CD146的剪切, 上调血清中sCD146的水平。无独有偶, Garibaldi等人^[346]也发现, sCD146可优

先结合CD16⁺的单核细胞, 促进其跨内皮迁移能力来参与炎症反应。最近, Ito等人^[347]报道了sCD146在系统性硬化症病人血清中显著上调, 但在系统性硬化症伴随肺动脉高压病人的血清中却发现sCD146水平下降, 其中的病理机制还有待进一步探索。

除自身免疫病外, sCD146在胚胎植入过程中也发挥重要作用。Bardin团队认为, sCD146可作为胚胎移植的生物标志物^[54]。在胚胎的培养上清中, sCD146浓度偏高的胚胎后期移植的成功率显著低于sCD146水平较低的胚胎, 这一发现有助于提高试管婴儿的成活率。此外, 血清中sCD146水平在正常孕妇中较低, 而在不明原因流产妇女中较正常人显著升高, 其机制可能与sCD146促进妊娠过程中的内皮细胞功能紊乱及滋养

层细胞的功能障碍相关^[53]。Bardin团队的研究验证了这一假设, 他们发现, 血清中sCD146水平在抗磷脂抗体综合征(孕妇早产、胎儿死亡、习惯性流产等妊娠期疾病)患者中显著升高, 并抑制胎盘绒毛膜外滋养层(extravillous trophoblast, EVT)细胞向子宫肌层的迁移和侵袭, 从而导致肌层螺旋动脉重塑不足, 引起流产、先兆子痫、胎儿生长迟缓等多种妊娠合并综合征^[348]。

由于sCD146与血管生成和血管稳态维持的密切关系, 因此它与血管性疾病的发生发展也密切相关。Ishikawa团队^[349]发现, 血清中sCD146水平与糖尿病肾病的病理进程显著正相关, 在一定程度上可以反映糖尿病患者微血管和大血管综合征的进展。2013年, Helvacı团队^[350]发现, 早期I型糖尿病病人血清中sCD146水平显著高于正常人, 认为其变化可反映内皮细胞损伤程度和疾病的进展。

此外, 在预测这些病人出现动脉粥样硬化的发生率上, 血清sCD146的量变比颈动脉内膜厚度更灵敏, 二者联合应用可以更准确地监测糖尿病发展的进程^[350]。Mebazaa团队^[351]发现, sCD146的表达水平与左心室收缩和器官充血有关, 认为sCD146诊断心源性急性呼吸困难的能力与临床诊断标准脑钠肽(NT-proBNP)相近。更重要的是, sCD146可在NT-proBNP诊断的“灰色区域”发挥判断疾病进展程度的功能, 可作为急性失代偿性心衰的诊断标志物来监测疾病进程。最近研究发现, sCD146在二尖瓣狭窄^[352]、急性冠脉综合征^[353]、心衰系统性充血^[354]等病人血清中均有明显的上升。因此, sCD146可作为这些血管性疾病的诊断标志物。

肿瘤的发生常常伴随着新生血管的异常发生。2014年, Hofman团队^[263]发现, 在非小细胞肺癌病人的血清中, sCD146的水平较正常人显著升高, 而且sCD146水平越高, 患者生存期越短, 提示sCD146水平与非小细胞肺癌发展及预后密切相关。此外, 在动脉瘤^[355]、透明细胞肾细胞癌^[302]等癌症病人的血清中均发现sCD146水平的升高。2016年, Blot-Chabaud等人发现, 表达膜型CD146的肿瘤细胞, 如黑色素瘤、结直肠癌和胰腺癌等细胞, 均可产生sCD146。后者一方面诱导肿瘤的EMT、肿瘤干细胞的产生和组织因子的表达, 另一方面通过旁分泌促进肿瘤血管的新生, 并诱导一些促血管生长因子的分泌来促进肿瘤血管的发生发展。

(2) 滑膜液sCD146与类风湿性关节炎。除血清外, sCD146在相关疾病的其他体液中也有异常变化。例如, 1999年Gay团队^[356]发现, sCD146水平在类风湿性关节炎患者的关节滑膜液中显著升高((51 ± 15) ng/mL), 而在正常关节液中几乎检测不到; 而且sCD146水平的升高在疾病早期更为明显, 提示其可能反映关节部位的内皮细胞活化和血管新生。

(3) 脑脊液sCD146与血脑屏障损伤。2013年, 本团队发现, 正常脑脊液检测不到sCD146分子, 当血脑屏障损伤时其浓度明显增高。例如, 在多发硬化症患者的活动期, 脑脊液中sCD146水平明显升高。经过激素治疗之后, 疾病缓解期脑脊液中的sCD146水平显著下降。随后, 本团队又发现脑脊液中sCD146水平的增高, 不仅限于发性硬化症, 很多其他疾病, 如中枢神经系统感染、特发性炎性脱髓鞘病、慢性/急性炎性脱髓鞘多发性神经病、肌无力综合征和肌萎缩等, 都伴有脑脊液sCD146水平增高, 而且与临床生化指标(如血脑屏障通透性、脑脊液少突胶质细胞糖蛋白抗体、脑脊液髓鞘碱性蛋白抗体等)呈显著正相关。因此, 脑脊液中sCD146是血脑屏障损伤和神经炎症的标志物^[357], 其表达水平的变化可作为监测多发硬化症等疾病进程的指标^[358], 评价血脑屏障损伤的程度。

8.3 sCD146的生理功能

尽管目前已有更多关于sCD146在血清或体液中异常的报道, 这对临床诊断有着十分重要的意义, 然而其生理和病理功能的研究较少。2013年, Blot-Chabaud团队^[341]首次发现, sCD146可以作为结合内皮细胞祖细胞上的血管动蛋白Angiomotin, 活化下游的FAK, Akt和JNK等信号通路, 进而促进内皮细胞祖细胞的迁移、增殖以及血管生成能力。此外, 利用血管动蛋白抑制剂可抑制sCD146的作用, 并与sCD146竞争血管动蛋白的结合。不仅如此, sCD146与膜型CD146之间存在反馈机制。sCD146能结合内皮细胞祖细胞上的短型CD146与血管内皮生长因子受体VEGFR1和VEGFR2、Angiomotin和早老蛋白presenilin-1形成的信号小体, 促进短型CD146的胞外端酶切形成sCD146。而短型CD146的胞内端在presenilin-1的作用下入核, 促进膜CD146的转录和翻译。这一重要发现对于开发基于内皮细胞祖细胞的缺血性疾病治疗策略具有重要意义^[359]。本团队^[357]则发现了sCD146在

中枢神经炎症中参与血脑屏障损伤的机制。研究表明, sCD146能够结合血脑屏障内皮细胞上的整合素 $\alpha\beta 1$, 激活MAPK, Akt和NF- κ B, 增强血脑屏障的通透性, 进而导致神经炎症的发生发展。

目前, 回顾性研究血清/组织液中的sCD146与疾病的关系仍是该领域的主要研究方向。值得注意的是, 回顾性研究无法判断sCD146水平的变化与疾病发生发展之间的因果关系。因此, 前瞻性研究sCD146与疾病发生发展之间的先后关系, 以及sCD146在疾病不同进展阶段的水平差异, 无论对理解sCD146在疾病发展中的作用, 还是对相关疾病的诊断和治疗都具有重要的科学研究价值。总之, 研究表明, sCD146在多种重大疾病中均发挥病理功能, 提示sCD146分子的重要性(图7)。深入研究sCD146与疾病发生发展的因果关系及其作用机制将成为sCD146研究领域的主要研究方向。

9 CD146抗体

从最早发现第一株CD146抗体MUC18开始, 至今共有40余株抗体被报道。在早期阶段, 大多数抗体是以黑色素瘤或血管内皮细胞作为抗原, 经过免疫小鼠而获得单克隆抗体, 其目的都是为了在肿瘤或新生血管上寻找新的标志分子, 抗体只是用于反向鉴定抗原的工具, 这一类抗体包括MUC18, Gicerin, S-Endo 1, A32, PIH12, CC9/WM85/EB4和AA98。这些抗体对于开辟CD146研究领域发挥了重要作用(表4)。

随着CD146功能研究的不断深入, 研究者们开始以CD146分子作为抗原, 有目的地制备抗体。例如, 本团队针对CD146分子的不同表位, 研制出一系列针对CD146不同表位的抗体, 并系统鉴定了每一株抗体的亚型、识别表位、特异性、亲和力及其功能, 为CD146结构与功能的研究提供了最重要的研究工具。特异识别sCD146的单克隆抗体M2J-1^[246]以及特异识别肿瘤细胞CD146的抗体TsCD146^[363]的制备, 也是近几年CD146抗体研究领域的重要突破。

9.1 CD146抗体与靶向治疗

目前, 具有治疗作用的CD146抗体有5株: ABX-M1, PXR003, AA98, M2J-1和TsCD146。其中, 两株识别肿瘤细胞膜上CD146的抗体, ABX-M1和PXR003, 曾进入临床一期试验, 分别用于黑色素瘤和银屑病的

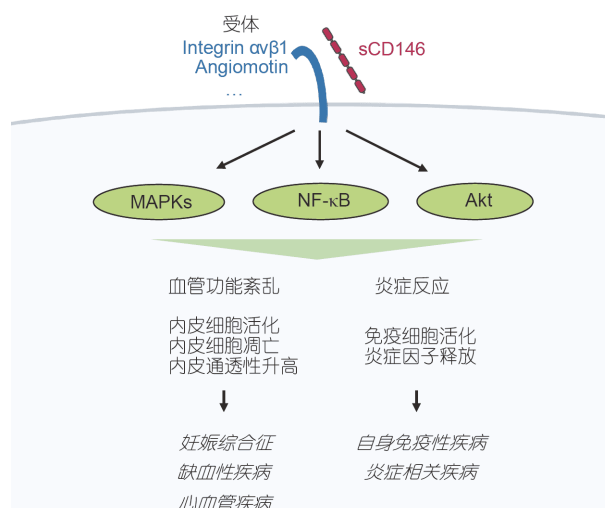


图7 sCD146的病理学功能示意图

Figure 7 Schematic diagram of pathological functions of sCD146

治疗, 但因未达到预期疗效而分别于2005年和2017年终止。另外一株抗体AA98是迄今研究最多、靶向肿瘤新生血管的治疗性抗体。它在临床前研究中显示出对多种肿瘤的显著疗效。M2J-1是首个特异性识别sCD146的抗体, 而TsCD146则是首个特异性识别肿瘤细胞上CD146的单克隆抗体。本节将简要介绍这5株治疗性抗体。

ABX-MA1是由Bar-Eli团队采用杂交瘤单克隆抗体技术, 通过人皮肤恶性黑色素瘤细胞SK-Mel28免疫转基因小鼠而获得的人源抗体。该抗体可结合HUVEC与转移黑色素瘤细胞, 并且能抑制黑色素瘤细胞的成球, 减少其转移以及肿瘤血管的新生。抑制肿瘤的机制研究表明, 该抗体主要通过抑制MMP-2的表达和活性, 从而抑制肿瘤转移^[224,370]。此外, 在免疫缺陷小鼠中, 注射ABX-MA1可明显减少人骨肉瘤细胞在肺的转移性播散^[232]。

PXR003是由Prothena生物公司研发的人源化抗体, 该抗体靶向CD146⁺ Th17, 被用于治疗银屑病的临床试验。但因疗效不理想, 2017年Prothena公司宣布终止实验。此外, PXR003抗体还能够缓解中枢神经炎症, 这是通过阻断Tc17^[328]和Th17^[316,328]细胞上CD146介导的跨内皮迁移功能而实现的; 其后, PXR003被证实能在抑制前列腺骨转移方面具备良好的应用前景^[298]。

AA98是目前研究最多、最深入的一株治疗性抗体, 它识别新生血管(188/193), 对正常血管结合较少(9/

48), 可有效抑制血管生成. AA98结合不同种属的CD146, 如人^[366]、恒河猴^[387]、小鼠^[55]、大鼠及鸡^[10]. 该抗体是本团队^[244]用肿瘤细胞培养上清活化的HU-VEC细胞作为免疫原, 制备出的单克隆抗体(IgG2a). 经过抗原鉴定, 证明其抗原是CD146, 表位位于D5的C452~C499二硫键形成的空间构象表位. AA98有鼠单抗、人鼠嵌合和人源化抗体三种.

抗体AA98作为重要的研究工具, 揭示了CD146的新功能: (i) 证明CD146是肿瘤新生血管的标志分子, 也是肿瘤及免疫疾病治疗新靶点. AA98在多种疾病模型中均显示良好的治疗效果, 如肝癌^[366]、骨肉瘤、胰腺癌、卵巢癌^[119,279]、宫颈癌^[219]、肠炎^[368]、多发硬化症^[329]、动脉粥样硬化^[337]等. (ii) 证明了CD146的独立受体功能. CD146响应FGF4, Wnt5, VEGF-C及Netrin-1等信号刺激, 激活信号途径, 促进血管新生、活化T细胞、促肿瘤生长及转移. (iii) 揭示了CD146的作用机制. 晶体结构解析证明CD146的二聚化是其传递信号的结构基础, AA98能够有效抑制细胞表面CD146的二聚化, 从而抑制其功能. (iv) 解释了识别不同表位的CD146抗体功能各有不同. 首先, 构建了一系列针对CD146不同表位的抗体^[388]. 尽管这些抗体都识别重组的CD146蛋白质, 然而不是所有的抗体都能识别细胞膜表面的CD146, 也不是所有抗体都具有抑制血管新生和肿瘤转移的功能. AA98的治疗作用依赖于其识别位于C452~C499二硫键形成的空间构象表位, 而这正是CD146发挥受体功能形成二聚体的关键部位.

M2J-1是目前唯一特异性识别sCD146的鼠源单克隆抗体. 2016年, Blot-Chabaud团队^[246]用重组sCD146作为免疫原, 通过杂交瘤技术制备了单克隆抗体. 该抗体特异识别sCD146, 而不结合膜型CD146, 提示其结合位点可能为sCD146所特有的空间构象表位, 这对于研究sCD146的来源、结构以及生理功能具有重要意义. 研究表明, M2J-1可抑制sCD146诱导的肿瘤血管新生以及肿瘤细胞的增殖存活, 在动物模型中表现出了对黑色素瘤和胰腺癌的治疗效果^[246], 以及抑制卵巢癌和黑色素瘤的转移和癌栓形成的作用.

TsCD146, 一株特异识别肿瘤细胞上的CD146而不结合内皮细胞和平滑肌细胞上CD146的鼠源单克隆抗体(IgG1)于2017年问世^[363], 这是近几年CD146抗体研究领域的一个重要的突破. 该抗体之所以如此特异,

缘于 Blot-Chabaud团队用CD146胞外重组蛋白作为免疫原, 特别是在筛选抗体时, 用了严格的两步法: 首先, 筛选出识别肿瘤细胞表面CD146的抗体; 然后, 从中再筛选出只结合肿瘤细胞上的CD146, 而不结合内皮细胞和平滑肌细胞上CD146的特异性抗体. 由于其肿瘤特异性, TsCD146可用于检测患者外周血中黑色素瘤细胞碎片; 通过其Fab'2与核素耦连制备的⁶⁸Ga-Fab'2-TsCD146, 在动物模型体内实现了肿瘤的PET成像. 此外, TsCD146被证实能够结合并内化肿瘤细胞膜上的CD146, 从而抑制肿瘤细胞增殖, 进而抑制移植瘤的生长. 因此, TsCD146有望成为一株理想的诊疗一体化抗体.

9.2 CD146抗体的临床诊断意义

CD146抗体可用于CEC或CTC检测、sCD146检测以及肿瘤可视化成像.

在CEC检测方面, 以S-Endo 1和P1H12为代表的CD146抗体被广泛研究, 相关报道占CD146诊断类文章的40%以上. 常用的方法包括免疫磁珠、流式细胞术和微流控技术等. 其中, 最广泛使用的是免疫磁珠法, 该方法能简单快速地捕获外周血中的CEC^[242], 评估血管病变及肿瘤的进展^[389]. 免疫磁珠法除了用于CEC检测外, 也用于CTC的检测^[255,390], 评估转移瘤的治疗效果与生存预后^[252,253].

sCD146的检测, 主要是用酶联免疫吸附试验法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清、脑脊液、滑膜液中的sCD146, 以评估血脑屏障完整性、胚胎移植、二尖瓣吻合术预后、肾透析和心血管风险等疾病的进展. 使用的抗体组合包括S-Endo 1/COM7A4^[391], AA1/AA98^[357,358,361], Clone 128018/SHM45^[347], CD146蛋白/OJ79抗体(竞争抑制性ELISA)^[356]以及来自Uscn Life Science^[346,392], SinoBiologicals^[47]和R&D Systems公司^[393]的三个商品化试剂盒.

抗体YY146是蔡伟波和卞修武等人制备的单克隆抗体, 可以识别人类10余种肿瘤. 蔡伟波等人制备了YY146-核素^[228,236,291,373-375]、YY146-纳米磁颗粒-荧光素^[376]、荧光素-YY146-核素^[219]以及YY146-光敏剂^[375], 用于肿瘤可视化成像的应用研究. 这些抗体主要集中在肿瘤成像分级评估以及术中导航, 包括神经胶质瘤、胃癌、肺癌、肝癌、黑色素瘤、非小细胞肺癌.

表 4 CD146抗体

Table 4 Antibodies to CD146

序号	抗体名称	亚型	种属来源	识别表位	特异性	功能	临床应用研究
1	MUC18	IgG2a	鼠单抗	胞外段	黑色素瘤细胞、血管平滑肌细胞	抑制颅内黑色素瘤 ^[364]	无
2	AA98	IgG2a/k	鼠单抗、人单链抗体	Domain 5 (空间表位)	肿瘤血管、新生血管	阻断二聚化及下游NF-κB信号通路; 阻断与Netrin-1和VEGFR2等配体的结合; 抑制胚胎着床; 治疗肝癌、卵巢癌、宫颈癌、肠炎、神经性炎症以及动脉粥样硬化 ^[55,89,93,119,244,245,279,329,337,365-368]	AA1、AA98检测脑脊液及血清中sCD146, 评估血脑屏障完整性以及中枢神经系统炎症活性 ^[357,358]
3	S-Endo 1	IgG1	鼠单抗	胞外段	内皮细胞	阻断Ca ²⁺ 流的信号传导以及与Galectin-1, Laminin-421等配体的结合; 促进过继性内皮祖细胞向病灶处归巢治疗动脉闭塞疾病 ^[101,102,112,369]	CEC检测
4	P1H12	IgG1	鼠单抗	胞外段	内皮细胞	体外增加人微血管内皮的渗透性 ^[4]	CEC检测
5	ABX-M1	IgG2	人源化单抗	胞外段	转移黑色素瘤、HUVEC	抑制黑色素瘤和骨肉瘤的转移、克服黑色素瘤化疗耐药 ^[224,232,370,371]	黑色素瘤治疗临床 I 期终止 ^[117]
6	PRX003	不明	人源化单抗	不明	T细胞	抑制Tc17和Th17跨脑内皮迁移, 缓解中枢神经系统炎症; 抑制小鼠前列腺骨转移 ^[298,316,328]	银屑病治疗临床 I 期终止 ^[117]
7	M2J-1	IgG1	鼠单抗	胞外段	sCD146	抑制黑色素瘤和胰腺癌生长、抑制卵巢癌和黑色素瘤的转移和癌栓形成 ^[246,372]	无
8	YY146	IgG2	鼠单抗	胞外段	肿瘤、新生血管	耦连核素监测血管新生; 耦连核素、纳米磁颗粒、荧光素以及光敏剂用于肿瘤成像分级评估、术中导航(神经胶质瘤、胃癌、肺癌、肝癌、黑色素瘤、非小细胞肺癌) ^[219,228,236,291,373-376]	无
9	AA1~5 AA7	IgG1k	鼠单抗	AA1: aa44~63; AA2: aa24~127; AA3/4/5/7: aa336~380	黑色素瘤、血管内皮、平滑肌细胞	AA4评估CD146表达与宫颈癌、子宫内膜癌临床标本分级分型的关系 ^[203]	AA1、AA98检测脑脊液及血清中sCD146, 评估血脑屏障完整性以及中枢神经系统炎症活性 ^[357,358]
10	TsCD146	IgG1	鼠单抗	胞外段	肿瘤	检测患者外周血中黑色素瘤的细胞碎片; 耦连核素用于体内PET成像; 内化膜CD146后减少肿瘤细胞增殖、增加凋亡 ^[363]	无
其他抗体	A32 ^[5] , MN-4 ^[377] , MUCBA18.1-18.5 ^[2] , M18/4G5 ^[378] , ME-9F1 ^[379] , OI-3 ^[380] , WM85/CC9/EB4 ^[166] , Shih IM-pAb ^[381] , IgY-pAb ^[382] , Antisera to shCD146/lgCD146 ^[383] , Gicerin ^[15] m146-pAb ^[384] , sc-Fv-B6-11 ^[385] , sc-Fv-M1 ^[295] , sc-Fv-IR94 ^[386]						

9.3 CD146的其他抗体

除上述介绍的代表性抗体外, 不同的实验室还根据其需求制备了多种抗体, 包括单克隆抗体、多克隆抗体、纳米抗体、单链抗体. 其中, 单克隆抗体包括MUC18, A32, MN-4等. MUC18是CD146研究历程中的第一个抗体, 由Johnson团队在1987年制备; 抗体A32识别痣、血管平滑肌、血管内皮(脐静脉除外)、毛

囊、小脑皮质等正常组织, 同时也识别黑色素瘤^[5]; MN-4是一株识别CD146的D4结构域的抗体, 不受甲醛固定影响, 广泛用于各类组织的石蜡切片检测中^[377], 还可阻断CD146在抑制中间滋养层细胞向子宫肌层迁移方面的功能^[394]; ME-9F1是常用的商品化用于流式检测等抗体, 由Klugewitz团队^[379]在2008年首次报道, 特异识别鼠内皮细胞上CD146, 却不影响内

皮的功能, 曾被报道在肝癌成像和治疗方面具有潜能^[395]; OI-3是一株特异识别人骨肉瘤的鼠源单克隆抗体, 被进一步改造成人鼠嵌合抗体后, 耦连核素用于靶向治疗研究^[380]; 为了研究骨髓基质细胞对造血功能的调控, Bradstock团队^[166]制备了WM85, CC9和EB4等单克隆抗体, 它们能够识别CD146⁺骨髓成纤维细胞以及部分血液肿瘤, 其中CC9作为检测抗体, 被广泛用于干细胞相关的研究中, 开拓了CD146在作为标志分子鉴定分选间充质干细胞方面的应用。

除单克隆抗体外, 多克隆抗体也被应用于CD146的研究。Shih等人^[33,381]制备的多克隆抗体, 被用于中间滋养层细胞的检测, 证实了CD146在滋养细胞中的差异表达; 吴光哲等人^[382]曾用METCAM命名CD146, 制备了识别人类CD146的鸡源多克隆抗体IgY, 具有抑制前列腺癌^[297,396]以及乳腺癌^[278]转移的功能; Blot-Chaubaud团队^[341,383]制备了识别CD146长短亚型的抗血清, 证实了CD146长短亚型具有不同的生物学功能。Gicerin是胚胎发育研究领域的代表性抗体, 是1991年Miki团队^[100]在寻找NOF的结合蛋白的过程中, 为了证明Gicerin结合NOF, 利用Gicerin蛋白免疫家兔制备的多克隆抗体。由此, CD146作为NOF受体被引入了

神经系统发育的研究领域, 奠定了此后CD146在泌尿系统、生殖系统、运动系统及循环系统的发育以及胚胎植入等胚胎发育领域中的功能机制研究。2019年报道的兔多抗m146-pAb修饰的纳米材料被用于超声成像^[384]。

此外, 还有一些从人类单链抗体(sc-Fv)噬菌体文库中筛选出来的单链抗体, 如能够结合人血管内皮和黑色素瘤的抗体B6-11^[385]、识别间皮瘤的抗体M1^[295], 还有能够抑制乳腺癌中Wnt-5a与CD146结合的抗体IR94等^[386]。

CD146抗体是研究该分子结构与功能的重要工具, 也是发展针对CD146检测和靶向治疗策略的基础。目前, CD146的结构与功能仍有许多关键问题有待阐明, 例如, 其长、短膜型及可溶性形式的产生机制、组织特异性和功能的关系, 是否存在疾病特异性的CD146形式等。这些问题为未来开发针对不同形式和功能的CD146检测性抗体或治疗性抗体提出了更大的挑战。

综上所述, CD146分子从被发现迄今仅有30余年的研究历史(图8)。然而, 随着对其参与多种肿瘤和免疫疾病发生发展功能的发现, 以及作为细胞膜受体

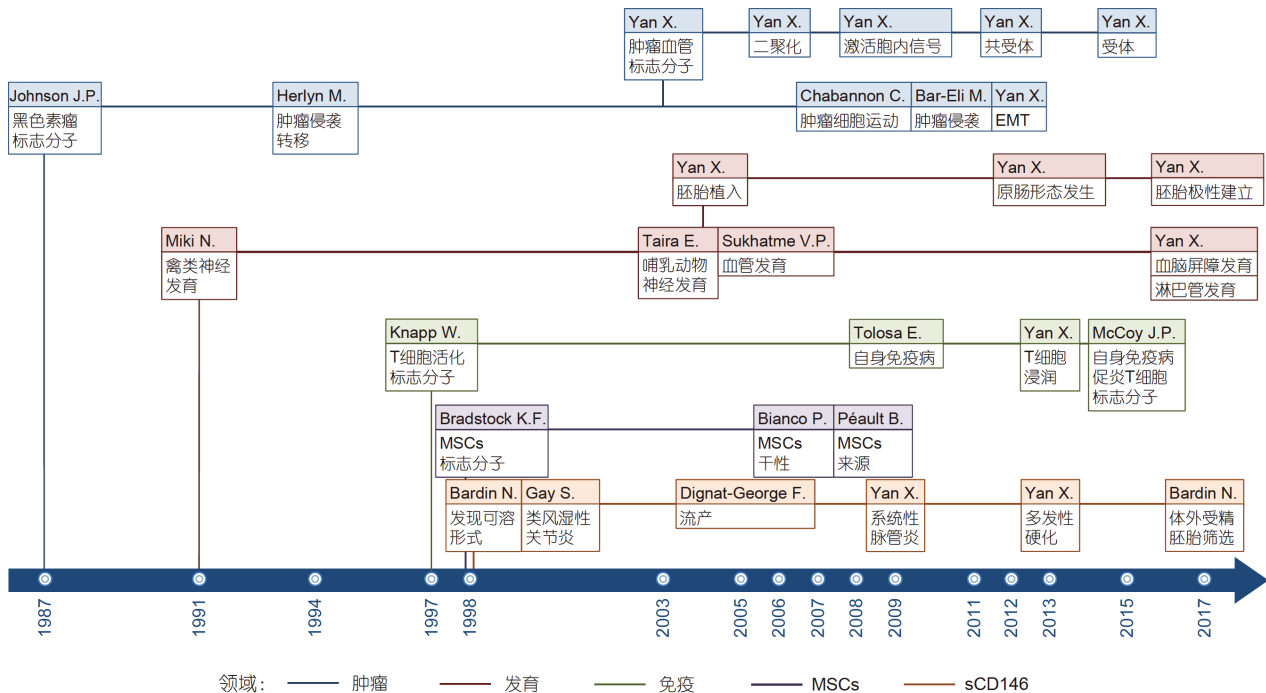


图8 CD146研究历史中的重要发现
Figure 8 Milestones in the research history of CD146

介导多种疾病相关的信号途径机制的阐明, CD146 已成为多种疾病的诊断标志分子和潜在治疗靶标。

而CD146在发育和间充质干细胞研究领域的发展, 也将为其在再生医学中的应用奠定基础。

参考文献

- 1 Lehmann J M, Holzmann B, Breitbart E W, et al. Discrimination between benign and malignant cells of melanocytic lineage by two novel antigens, a glycoprotein with a molecular weight of 113,000 and a protein with a molecular weight of 76,000. *Cancer Res*, 1987, 47: 841–845
- 2 Lehmann J M, Riethmuller G, Johnson J P. MUC18, a marker of tumor progression in human melanoma, shows sequence similarity to the neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86: 9891–9895
- 3 Bardin N, Francès V, Lesaule G, et al. Identification of the S-Endo 1 endothelial-associated antigen. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 218: 210–216
- 4 Solovey A N, Gui L, Chang L, et al. Identification and functional assessment of endothelial P1H12. *J Lab Clin Med*, 2001, 138: 322–331
- 5 Shih I M, Elder D E, Speicher D, et al. Isolation and functional characterization of the A32 melanoma-associated antigen. *Cancer Res*, 1994, 54: 2514–2520
- 6 Rummel M M, Sers C, Johnson J P. Phorbol ester and cyclic AMP-mediated regulation of the melanoma-associated cell adhesion molecule MUC18/MCAM. *Cancer Res*, 1996, 56: 2218–2223
- 7 Xie S, Luca M, Huang S, et al. Expression of MCAM/MUC18 by human melanoma cells leads to increased tumor growth and metastasis. *Cancer Res*, 1997, 57: 2295–2303
- 8 Shih I M, Elder D E, Hsu M Y, et al. Regulation of Mel-CAM/MUC18 expression on melanocytes of different stages of tumor progression by normal keratinocytes. *Am J Pathol*, 1994, 145: 837–845
- 9 Wu G. METCAM/MUC18 expression and cancer metastasis. *Curr Genomics*, 2005, 6: 333–349
- 10 Yan X. A novel anti-CD146 monoclonal antibody, AA98, inhibits angiogenesis and tumor growth. *Blood*, 2003, 102: 184–191
- 11 Wang Z, Yan X. CD146, a multi-functional molecule beyond adhesion. *Cancer Lett*, 2013, 330: 150–162
- 12 Guezguez B, Vigneron P, Alais S, et al. A dileucine motif targets MCAM-I cell adhesion molecule to the basolateral membrane in MDCK cells. *FEBS Lett*, 2006, 580: 3649–3656
- 13 Takaha N, Taira E, Taniura H, et al. Expression of gicerin in development, oncogenesis and regeneration of the chick kidney. *Differentiation*, 1995, 58: 313–320
- 14 Taira E, Kohama K, Tsukamoto Y, et al. Characterization of Gicerin/MUC18/CD146 in the rat nervous system. *J Cell Physiol*, 2004, 198: 377–387
- 15 Tsukamoto Y, Taira E, Kotani T, et al. Involvement of gicerin, a cell adhesion molecule, in tracheal development and regeneration. *Cell Growth Differ*, 1996, 7: 1761–1767
- 16 Taira E, Takaha N, Taniura H, et al. Molecular cloning and functional expression of gicerin, a novel cell adhesion molecule that binds to neurite outgrowth factor. *Neuron*, 1994, 12: 861–872
- 17 Hampel H, Körschenhausen D A, Schwarz M J, et al. Detection of the novel cell adhesion molecule MUC18 in human brain tissue. *Neuroimmunomodulation*, 1997, 4: 57–61
- 18 Tsukamoto Y, Taira E, Nakane Y, et al. Expression of gicerin, a cell adhesion molecule, in the abnormal retina in silver plumage color mutation of Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Neurosci Lett*, 1999, 266: 53–56
- 19 Yan H, Zhang C, Wang Z, et al. CD146 is required for VEGF-C-induced lymphatic sprouting during lymphangiogenesis. *Sci Rep*, 2017, 7: 7442
- 20 Chan B, Sinha S, Cho D, et al. Critical roles of CD146 in zebrafish vascular development. *Dev Dyn*, 2005, 232: 232–244
- 21 Chen J, Luo Y, Hui H, et al. CD146 coordinates brain endothelial cell-pericyte communication for blood-brain barrier development. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: E7622–E7631
- 22 Vasyliov R G, Gubar O S, Gordienko I M, et al. Comparative analysis of biological properties of large-scale expanded adult neural crest-derived stem cells isolated from human hair follicle and skin dermis. *Stem Cells Int*, 2019, 2019: 1–20
- 23 Kim J M, Hong K S, Song W K, et al. Perivascular progenitor cells derived from human embryonic stem cells exhibit functional characteristics of pericytes and improve the retinal vasculature in a rodent model of diabetic retinopathy. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5: 1268–1276

- 24 Sani M, Hosseini S M, Salmannejad M, et al. Origins of the breast milk-derived cells; an endeavor to find the cell sources. *Cell Biol Int*, 2015, 39: 611–618
- 25 Liu Q, Zhao X G, Zhang Y, et al. Melanoma cell adhesion molecule (MCAM/CD146) is a critical molecule in trophoblast invasion (in Chinese). *Prog Biochem Biophys*, 2004, 31: 309–312 [刘琴, 赵心刚, 张莹, 等. 粘附分子CD146是影响滋养层细胞侵入行为的关键分子. *生物化学与生物物理进展*, 2004, 31: 309–312]
- 26 Liu Q, Yan X, Li Y, et al. Pre-eclampsia is associated with the failure of melanoma cell adhesion molecule (MCAM/CD146) expression by intermediate trophoblast. *Lab Invest*, 2004, 84: 221–228
- 27 Şeftalioglu A, Karakoç L. Expression of CD146 adhesion molecules (MUC18 or MCAM) in the thymic microenvironment. *Acta Histochem*, 2000, 102: 69–83
- 28 Elshal M F, Khan S S, Takahashi Y, et al. CD146 (Mel-CAM), an adhesion marker of endothelial cells, is a novel marker of lymphocyte subset activation in normal peripheral blood. *Blood*, 2005, 106: 2923–2924
- 29 Pytlík R, Kideryova L, Benesova K, et al. Circulating endothelial precursor cells (EPC) in patients undergoing allogeneic haematopoietic progenitor cell transplantation. *Folia Biol*, 2010, 56: 32–35
- 30 Wills T B, Heaney A M, Jane Wardrop K, et al. Immunomagnetic isolation of canine circulating endothelial and endothelial progenitor cells. *Vet Clin Pathol*, 2009, 38: 437–442
- 31 Wu G J. Ectopic expression of MCAM/MUC18 increases *in vitro* motility and invasiveness, but decreases *in vivo* tumorigenesis and metastasis of a mouse melanoma K1735-9 subline in a syngeneic mouse model. *Clin Exp Metastasis*, 2016, 33: 817–828
- 32 Caraffi S, Corradi D, Campanini N, et al. Microcirculation density and maturity in uterine and soft tissue leiomyosarcomas: an immunohistochemical study. *Histol Histopathol*, 2015, 30: 69–76
- 33 Shih I M, Kurman R J. Ki-67 labeling index in the differential diagnosis of exaggerated placental site, placental site trophoblastic tumor, and choriocarcinoma: A double immunohistochemical staining technique using Ki-67 and Mel-CAM antibodies. *Hum Pathol*, 1998, 29: 27–33
- 34 Zeng Q, Li W, Lu D, et al. CD146, an epithelial-mesenchymal transition inducer, is associated with triple-negative breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 1127–1132
- 35 Tripathi S C, Fahrman J F, Celiktas M, et al. MCAM mediates chemoresistance in small-cell lung cancer via the PI3K/AKT/SOX2 signaling pathway. *Cancer Res*, 2017, 77: 4414–4425
- 36 Wu Z, Wu Z, Li J, et al. MCAM is a novel metastasis marker and regulates spreading, apoptosis and invasion of ovarian cancer cells. *Tumor Biol*, 2012, 33: 1619–1628
- 37 Abd Elmageed Z Y, Moroz K, Kandil E. Clinical significance of CD146 and latexin during different stages of thyroid cancer. *Mol Cell Biochem*, 2013, 381: 95–103
- 38 An Y, Wei N, Cheng X, et al. MCAM abnormal expression and clinical outcome associations are highly cancer dependent as revealed through pan-cancer analysis. *Brief Bioinf*, 2020, 21: 709–718
- 39 Jiang G, Zhang L, Zhu Q, et al. CD146 promotes metastasis and predicts poor prognosis of hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res*, 2016, 35: 38
- 40 Feng G, Fang F, Liu C, et al. CD146 gene expression in clear cell renal cell carcinoma: a potential marker for prediction of early recurrence after nephrectomy. *Int Urol Nephrol*, 2012, 44: 1663–1669
- 41 Vasiljević N, Wu K, Brentnall A R, et al. Absolute quantitation of DNA methylation of 28 candidate genes in prostate cancer using pyrosequencing. *Dis Markers*, 2011, 30: 151–161
- 42 Liu D, Du L, Chen D, et al. Reduced CD146 expression promotes tumorigenesis and cancer stemness in colorectal cancer through activating Wnt/ β -catenin signaling. *Oncotarget*, 2016, 7: 40704–40718
- 43 Luo Y, Teng X, Zhang L, et al. CD146-HIF-1 α hypoxic reprogramming drives vascular remodeling and pulmonary arterial hypertension. *Nat Commun*, 2019, 10: 3551
- 44 Berman R, Jiang D, Wu Q, et al. MUC18 regulates lung rhinovirus infection and inflammation. *PLoS ONE*, 2016, 11: e0163927
- 45 Berman R, Huang C, Jiang D, et al. MUC18 differentially regulates pro-inflammatory and anti-viral responses in human airway epithelial cells. *J Clin Cell Immunol*, 2014, 05
- 46 Schulz C, Petrig V, Wolf K, et al. Upregulation of MCAM in primary bronchial epithelial cells from patients with COPD. *Eur Respir J*, 2003, 22: 450–456

- 47 Kratzer A, Chu H W, Salys J, et al. Endothelial cell adhesion molecule CD146: implications for its role in the pathogenesis of COPD. *J Pathol*, 2013, 230: 388–398
- 48 Simon G C, Martin R J, Smith S, et al. Up-regulation of MUC18 in airway epithelial cells by IL-13. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 44: 606–613
- 49 Daniel L, Bardin N, Moal V, et al. Tubular CD146 expression in nephropathies is related to chronic renal failure. *Nephron Exp Nephrol*, 2005, 99: e105–e111
- 50 Fan Y, Wang N S. The progresses of studies on cell-cell adhesion molecule CD146 (in Chinese). *Clin Med J China*, 2007, 14: 97–99 [范瑛, 汪年松. 细胞间黏附分子CD146的研究进展. *中国临床医学*, 2007, 14: 97–99]
- 51 Zhang A P, Liu P P, Wang Y X, et al. Expression of CD146 in renal tissue and peripheral blood of IgA nephropathy and its significance (in Chinese). *Shandong Med J*, 2012, 52: 17–19 [张爱平, 刘培培, 王艳侠, 等. CD146在IgA肾病患者肾组织和外周血中的表达及意义. *山东医药*, 2012, 52: 17–19]
- 52 Chaudhari-Kank M S, Zaveri K, Antia V, et al. Comparison of CD9 & CD146 markers in endometrial stromal cells of fertile & infertile females. *Ind J Med Res*, 2018, 147: 552
- 53 Pasquier E, Bardin N, Martin L D S, et al. The first assessment of soluble CD146 in women with unexplained pregnancy loss. *Thromb Haemost*, 2005, 94: 1280–1284
- 54 Bouvier S, Paulmyer-Lacroix O, Molinari N, et al. Soluble CD146, an innovative and non-invasive biomarker of embryo selection for *in vitro* fertilization. *PLoS ONE*, 2017, 12: e0173724
- 55 Liu Q, Zhang B, Zhao X, et al. Blockade of adhesion molecule CD146 causes pregnancy failure in mice. *J Cell Physiol*, 2008, 215: 621–626
- 56 Sers C, Kirsch K, Rothbacher U, et al. Genomic organization of the melanoma-associated glycoprotein MUC18: implications for the evolution of the immunoglobulin domains. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 8514–8518
- 57 Karlen S, Braathen L R. Role of the initiator element in the regulation of the melanoma cell adhesion molecule gene. *J Invest Dermatol*, 2000, 115: 668–673
- 58 Ouhitit A, Gaur R L, Abd Elmageed Z Y, et al. Towards understanding the mode of action of the multifaceted cell adhesion receptor CD146. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1795: 130–136
- 59 Nakai T, Sakai D, Nakamura Y, et al. CD146 defines commitment of cultured annulus fibrosus cells to express a contractile phenotype. *J Orthop Res*, 2016, 34: 1361–1372
- 60 Ueno K, Hirata H, Majid S, et al. IGFBP-4 activates the Wnt/beta-catenin signaling pathway and induces M-CAM expression in human renal cell carcinoma. *Int J Cancer*, 2011, 129: 2360–2369
- 61 Taira E, Kohama K, Tsukamoto Y, et al. Gicerin/CD146 is involved in neurite extension of NGF-treated PC12 cells. *J Cell Physiol*, 2005, 204: 632–637
- 62 Yoshioka S, Fujiwara H, Higuchi T, et al. Melanoma cell adhesion molecule (MCAM/CD146) is expressed on human luteinizing granulosa cells: enhancement of its expression by hCG, interleukin-1 and tumour necrosis factor-alpha. *Mol Hum Reprod*, 2003, 9: 311–319
- 63 Kouroupis D, Bowles A, Willman M, et al. Enhanced immunomodulatory profile of infrapatellar fat pad (IFP)-derived MSC after inflammatory priming, 3D spheroid culture and CD146 selection: a cellular alternative for bone marrow (BM) in Orthopedics. In: *International Society for Cell & Gene Therapy 2019 Melbourne Australia*. Melbourne. 2019. S66–S67
- 64 Tsang W P, Shu Y, Kwok P L, et al. CD146⁺ human umbilical cord perivascular cells maintain stemness under hypoxia and as a cell source for skeletal regeneration. *PLoS ONE*, 2013, 8: e76153
- 65 Aldrian S, Kindas-Mügge I, Trautinger F, et al. Overexpression of Hsp27 in a human melanoma cell line: regulation of E-cadherin, MUC18/MCAM, and plasminogen activator (PA) system. *Cell Stress Chaper*, 2003, 8: 249
- 66 Wang J, Tang X, Weng W, et al. The membrane protein melanoma cell adhesion molecule (MCAM) is a novel tumor marker that stimulates tumorigenesis in hepatocellular carcinoma. *Oncogene*, 2015, 34: 5781–5795
- 67 Ma Y, Zhang H, Xiong C, et al. CD146 mediates an E-cadherin-to-N-cadherin switch during TGF- β signaling-induced epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Lett*, 2018, 430: 201–214
- 68 Larochelle C, Cayrol R, Kebir H, et al. Melanoma cell adhesion molecule identifies encephalitogenic T lymphocytes and promotes their recruitment to the central nervous system. *Brain*, 2012, 135: 2906–2924
- 69 Liu J W, Nagpal J K, Jeronimo C, et al. Hypermethylation of MCAM gene is associated with advanced tumor stage in prostate cancer. *Prostate*,

- 2008, 68: 418–426
- 70 Sechler M, Parrish J K, Birks D K, et al. The histone demethylase KDM3A, and its downstream target MCAM, promote Ewing Sarcoma cell migration and metastasis. *Oncogene*, 2017, 36: 4150–4160
- 71 Wang P, Luo Y, Duan H, et al. MicroRNA 329 suppresses angiogenesis by targeting CD146. *Mol Cell Biol*, 2013, 33: 3689–3699
- 72 Wang H F, Chen H, Ma M W, et al. miR-573 regulates melanoma progression by targeting the melanoma cell adhesion molecule. *Oncol Rep*, 2013, 30: 520–526
- 73 Zhang Z, Zheng Y, Wang H, et al. CD146 interacts with galectin-3 to mediate endothelial cell migration. *FEBS Lett*, 2018, 592: 1817–1828
- 74 Bubka M, Link-Lenczowski P, Janik M, et al. Overexpression of N-acetylglucosaminyltransferases III and V in human melanoma cells. Implications for MCAM N-glycosylation. *Biochimie*, 2014, 103: 37–49
- 75 Tomonobu N, Kinoshita R, Sakaguchi M. exMCAM-Fc, an S100A8/A9-mediated-metastasis blocker, efficiently reduced the number of circulating tumor cells that appeared in the blood flow. *Mol Biol Rep*, 2020, 47: 4879–4883
- 76 Gbormittah F O, Lee L Y, Taylor K O, et al. Comparative studies of the proteome, glycoproteome, and N-glycome of clear cell renal cell carcinoma plasma before and after curative nephrectomy. *J Proteome Res*, 2014, 13: 4889–4900
- 77 Hubbard S C, Boyce M, McVaugh C T, et al. Cell surface glycoproteomic analysis of prostate cancer-derived PC-3 cells. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 4945–4950
- 78 Polakiewicz R, Guo A, Moritz A, et al. Reagents for the detection of protein phosphorylation in carcinoma signaling pathways. US Patent 2009061459. 2008 Feb 29
- 79 Xu W, Hua H, Chiu Y H, et al. CD146 regulates growth factor-induced mTORC2 activity independent of the PI3K and mTORC1 pathways. *Cell Rep*, 2019, 29: 1311–1322.e5
- 80 Tang X, Chen X, Xu Y, et al. CD166 positively regulates MCAM via inhibition to ubiquitin E3 ligases Smurf1 and β TrCP through PI3K/AKT and c-Raf/MEK/ERK signaling in Bel-7402 hepatocellular carcinoma cells. *Cellular Signalling*, 2015, 27: 1694–1702
- 81 Witze E S, Connacher M K, Houel S, et al. Wnt5a directs polarized calcium gradients by recruiting cortical endoplasmic reticulum to the cell trailing edge. *Dev Cell*, 2013, 26: 645–657
- 82 Witze E S, Litman E S, Argast G M, et al. Wnt5a control of cell polarity and directional movement by polarized redistribution of adhesion receptors. *Science*, 2008, 320: 365–369
- 83 Wang W, Runkle K B, Terkowski S M, et al. Protein depalmitoylation is induced by Wnt5a and promotes polarized cell behavior. *J Biol Chem*, 2015, 290: 15707–15716
- 84 Sadeghi R S, Kulej K, Kathayat R S, et al. Wnt5a signaling induced phosphorylation increases APT1 activity and promotes melanoma metastatic behavior. *eLife*, 2018, 7: e34362
- 85 Ye Z, Zhang C, Tu T, et al. Wnt5a uses CD146 as a receptor to regulate cell motility and convergent extension. *Nat Commun*, 2013, 4: 2803
- 86 Tong W, Zeng Y, Chow D H K, et al. Wnt16 attenuates osteoarthritis progression through a PCP/JNK-mTORC1-PTHrP cascade. *Ann Rheum Dis*, 2019, 78: 551–561
- 87 Zhang L, Luo Y, Teng X, et al. CD146: a potential therapeutic target for systemic sclerosis. *Protein Cell*, 2018, 9: 1050–1054
- 88 Gao Q, Zhang J, Wang X, et al. The signalling receptor MCAM coordinates apical-basal polarity and planar cell polarity during morphogenesis. *Nat Commun*, 2017, 8: 15279
- 89 Tu T, Zhang C, Yan H, et al. CD146 acts as a novel receptor for netrin-1 in promoting angiogenesis and vascular development. *Cell Res*, 2015, 25: 275–287
- 90 Dun X P, Parkinson D. Role of netrin-1 signaling in nerve regeneration. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: 491
- 91 Tu T, Gao Q, Luo Y, et al. CD146 deletion in the nervous system impairs appetite, locomotor activity and spatial learning in mice. *PLoS ONE*, 2013, 8: e74124
- 92 Zeng Q, Wu Z, Duan H, et al. Impaired tumor angiogenesis and VEGF-induced pathway in endothelial CD146 knockout mice. *Protein Cell*, 2014, 5: 445–456
- 93 Jiang T, Zhuang J, Duan H, et al. CD146 is a coreceptor for VEGFR-2 in tumor angiogenesis. *Blood*, 2012, 120: 2330–2339
- 94 Jouve N, Bachelier R, Despoix N, et al. CD146 mediates VEGF-induced melanoma cell extravasation through FAK activation. *Int J Cancer*, 2015, 137: 50–60
- 95 Chen J, Luo Y, Huang H, et al. CD146 is essential for PDGFR β -induced pericyte recruitment. *Protein Cell*, 2018, 9: 743–747

- 96 Staquicini F I, Tandle A, Libutti S K, et al. A subset of host B lymphocytes controls melanoma metastasis through a melanoma cell adhesion molecule/MUC18-dependent interaction: evidence from mice and humans. *Cancer Res*, 2008, 68: 8419–8428
- 97 Taira E, Nagino T, Taniura H, et al. Expression and functional analysis of a novel isoform of gicerin, an immunoglobulin superfamily cell adhesion molecule. *J Biol Chem*, 1995, 270: 28681–28687
- 98 Johnson J P, Bar-Eli M, Jansen B, et al. Melanoma progression-associated glycoprotein MUC18/MCAM mediates homotypic cell adhesion through interaction with a heterophilic ligand. *Int J Cancer*, 1997, 73: 769–774
- 99 Bardin N, Blot-Chaubaud M, Despoix N, et al. CD146 and its soluble form regulate monocyte transendothelial migration. *Arterioscl Throm Vas Bio*, 2009, 29: 746–753
- 100 Taniura H, Kuo C H, Hayashi Y, et al. Purification and characterization of an 82-kD membrane protein as a neurite outgrowth factor binding protein: possible involvement of NOF binding protein in axonal outgrowth in developing retina. *J Cell Biol*, 1991, 112: 313–322
- 101 Ishikawa T, Wondimu Z, Oikawa Y, et al. Laminins 411 and 421 differentially promote tumor cell migration via $\alpha 6 \beta 1$ integrin and MCAM (CD146). *Matrix Biol*, 2014, 38: 69–83
- 102 Jouve N, Despoix N, Espeli M, et al. The involvement of CD146 and its novel ligand Galectin-1 in apoptotic regulation of endothelial cells. *J Biol Chem*, 2013, 288: 2571–2579
- 103 Yazawa E M, Geddes-Sweeney J E, Cedeno-Laurent F, et al. Melanoma cell galectin-1 ligands functionally correlate with malignant potential. *J Invest Dermatol*, 2015, 135: 1849–1862
- 104 Colomb F, Wang W, Simpson D, et al. Galectin-3 interacts with the cell-surface glycoprotein CD146 (MCAM, MUC18) and induces secretion of metastasis-promoting cytokines from vascular endothelial cells. *J Biol Chem*, 2017, 292: 8381–8389
- 105 Zhang Z, Miller M C, Xu X, et al. NMR-based insight into galectin-3 binding to endothelial cell adhesion molecule CD146: Evidence for noncanonical interactions with the lectin's CRD β -sandwich F-face. *Glycobiology*, 2019, 29: 608–618
- 106 Ruma I M W, Putranto E W, Kondo E, et al. MCAM, as a novel receptor for S100A8/A9, mediates progression of malignant melanoma through prominent activation of NF- κ B and ROS formation upon ligand binding. *Clin Exp Metastasis*, 2016, 33: 609–627
- 107 Chen Y, Sumardika I W, Tomonobu N, et al. Melanoma cell adhesion molecule is the driving force behind the dissemination of melanoma upon S100A8/A9 binding in the original skin lesion. *Cancer Lett*, 2019, 452: 178–190
- 108 Chen Y, Sumardika I W, Tomonobu N, et al. Critical role of the MCAM-ETV4 axis triggered by extracellular S100A8/A9 in breast cancer aggressiveness. *Neoplasia*, 2019, 21: 627–640
- 109 Tung H H, Lee S L. Physical binding of endothelial MCAM and neural transmembrane protease matriptase—Novel cell adhesion in neural stem cell vascular niche. *Sci Rep*, 2017, 7: 4946
- 110 Lin C Y, Chen Y W, Xu Z, et al. Matriptase. In: *Handbook of Proteolytic Enzymes*. Amsterdam: Elsevier Ltd. 2013. 2969–2675
- 111 Anfosso F, Bardin N, Francès V, et al. Activation of human endothelial cells via S-Endo-1 antigen (CD146) stimulates the tyrosine phosphorylation of focal adhesion kinase p125^{FAK}. *J Biol Chem*, 1998, 273: 26852–26856
- 112 Anfosso F, Bardin N, Vivier E, et al. Outside-in signaling pathway linked to CD146 engagement in human endothelial cells. *J Biol Chem*, 2001, 276: 1564–1569
- 113 Okumura S, Muraoka O, Tsukamoto Y, et al. Involvement of gicerin in the extension of microvilli. *Exp Cell Res*, 2001, 271: 269–276
- 114 Luo Y, Zheng C, Zhang J, et al. Recognition of CD146 as an ERM-binding protein offers novel mechanisms for melanoma cell migration. *Oncogene*, 2012, 31: 306–321
- 115 Dye D E, Karlen S, Rohrbach B, et al. hShroom1 links a membrane bound protein to the actin cytoskeleton. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66: 681–696
- 116 Li G, Kalabis J, Xu X, et al. Reciprocal regulation of MelCAM and AKT in human melanoma. *Oncogene*, 2003, 22: 6891–6899
- 117 Huang C Y, Wu G J. METCAM/MUC18 promoted tumorigenesis of human breast cancer SK-BR-3 cells in a dosage-specific manner. *Taiwanese J Obstetr Gynecol*, 2016, 55: 202–212
- 118 Liang Y K, Zeng D, Xiao Y S, et al. MCAM/CD146 promotes tamoxifen resistance in breast cancer cells through induction of epithelial-mesenchymal transition, decreased ER α expression and AKT activation. *Cancer Lett*, 2017, 386: 65–76
- 119 Ma X, Liu J, Wu J, et al. Synergistic killing effect between vorinostat and target of CD146 in malignant cells. *Clin Cancer Res*, 2010, 16: 5165–5176
- 120 Wu G J, Wu M W H, Wang C, et al. Enforced expression of METCAM/MUC18 increases tumorigenesis of human prostate cancer LNCaP cells

- in nude mice. *J Urol*, 2011, 185: 1504–1512
- 121 Qiao Y, Qian Y, Wang J, et al. Melanoma cell adhesion molecule stimulates yes-associated protein transcription by enhancing CREB activity via c-Jun/c-Fos in hepatocellular carcinoma cells. *Oncol Lett*, 2016, 11: 3702–3708
- 122 Chakraborty G, Rangaswami H, Jain S, et al. Hypoxia regulates cross-talk between Syk and Lck leading to breast cancer progression and angiogenesis. *J Biol Chem*, 2006, 281: 11322–11331
- 123 Hiroi S, Tsukamoto Y, Sasaki F, et al. Involvement of gicerin, a cell adhesion molecule, in development and regeneration of chick sciatic nerve. *FEBS Lett*, 2003, 554: 311–314
- 124 Kato S, Taniura H, Taira E, et al. Involvement of a receptor for neurite outgrowth factor (NOFR) in cerebellar neurogenesis. *Neurosci Lett*, 1992, 140: 78–80
- 125 Kim C H, Taira E, Kuo C H, et al. Neuron-specific expression of a chicken gicerin cDNA in transient transgenic zebrafish. *Neurochem Res*, 1996, 21: 231–237
- 126 Taira E, Nagino T, Tsukamoto Y, et al. Neurite promotion from ciliary ganglion neurons by gicerin. *Neurochem Int*, 1998, 32: 23–29
- 127 Tsukamoto Y, Taira E, Yamate J, et al. Gicerin, a cell adhesion molecule, participates in the histogenesis of retina. *J Neurobiol*, 1997, 33: 769–780
- 128 Taira E, Tsukamoto Y, Kohama K, et al. Expression and involvement of gicerin, a cell adhesion molecule, in the development of chick optic tectum. *J Neurochem*, 2004, 88: 891–899
- 129 So J H, Hong S K, Kim H T, et al. Gicerin/Cd146 is involved in zebrafish cardiovascular development and tumor angiogenesis. *Genes Cells*, 2010, 15: 1099–1110
- 130 Karkkainen M J, Haiko P, Sainio K, et al. Vascular endothelial growth factor C is required for sprouting of the first lymphatic vessels from embryonic veins. *Nat Immunol*, 2004, 5: 74–80
- 131 Zhang L, Zhou F, Han W, et al. VEGFR-3 ligand-binding and kinase activity are required for lymphangiogenesis but not for angiogenesis. *Cell Res*, 2010, 20: 1319–1331
- 132 Nowacka M M, Obuchowicz E. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its role in the central nervous system: a new element in the neurotrophic hypothesis of antidepressant drug action. *Neuropeptides*, 2012, 46: 1–10
- 133 Zhang H Y, Jin X B, Lue T F. Three important components in the regeneration of the cavernous nerve: brain-derived neurotrophic factor, vascular endothelial growth factor and the JAK/STAT signaling pathway. *Asian J Androl*, 2011, 13: 231–235
- 134 Wen C. Progress on role of netrin-1 in tumorigenesis (in Chinese). *J Reg Anat Operat Surg*, 2011, 20: 78–80 [文灿. 神经突起导向因子Netrin-1参与肿瘤发生研究进展. 局解手术学杂志, 2011, 20: 78–80]
- 135 Ma Y L, Qin H L. Research progress in correlation between early embryo development and tumorigenesis (in Chinese). *World Chin J Digestol*, 2008, 12: 1337–1343 [马延磊, 秦环龙. 早期胚胎发育与肿瘤发生的相关性研究进展. 世界华人消化杂志, 2008, 12: 1337–1343]
- 136 Yang J, Weinberg R A. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. *Dev Cell*, 2008, 14: 818–829
- 137 Kim K R, Jun S Y, Kim J Y, et al. Implantation site intermediate trophoblasts in placenta cretas. *Mod Pathol*, 2004, 17: 1483–1490
- 138 Zeng Q, Zhang P, Wu Z, et al. Quantitative proteomics reveals ER- α involvement in CD146-induced epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cells. *J Proteomics*, 2014, 103: 153–169
- 139 Xiao J P. Transformation of apoptotic pathway: A development-biological concept of tumor formation (in Chinese). *Life Sci Res*, 2015, 19: 1–5 [肖敬平. 细胞凋亡途径转向: 肿瘤形成的发育生物学观. 生命科学研究, 2015, 19: 1–5]
- 140 Liu H Q, Cai W Q. *Medical Developmental Biology* (in Chinese). 3rd ed. Beijing: Science Press, 2012. 406–424 [刘厚奇, 蔡文琴. 医学发育生物学. 3版. 北京: 科学出版社. 2012. 406–424]
- 141 Liu C J, Xie L, Cui C, et al. Beneficial roles of melanoma cell adhesion molecule in spinal cord transection recovery in adult zebrafish. *J Neurochem*, 2016, 139: 187–196
- 142 Li B S, Su Q N, Kiyama H, et al. Expression of gicerin, a novel cell adhesion molecule, is upregulated in the astrocytes after hypoglossal nerve injury in rats. *Neurosci Lett*, 1999, 260: 149–152
- 143 Kajikawa H, Umemoto M, Taira E, et al. Expression of neurite outgrowth factor and gicerin during inner ear development and hair cell regeneration in the chick. *J Neurocytol*, 1997, 26: 501–509
- 144 Assinck P, Duncan G J, Hilton B J, et al. Cell transplantation therapy for spinal cord injury. *Nat Neurosci*, 2017, 20: 637–647
- 145 Komichi S, Takahashi Y, Okamoto M, et al. Protein S100-A7 derived from digested dentin is a critical molecule for dentin pulp regeneration.

- Cells, 2019, 8: 1002
- 146 Yang W, Harris M A, Cui Y, et al. Bmp2 is required for odontoblast differentiation and pulp vasculogenesis. *J Dent Res*, 2012, 91: 58–64
- 147 Friedenstein A J, Piatetzky-Shapiro I, Petrakova K V. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J Embryol Exp Morphol*, 1966, 16: 381–390
- 148 Friedenstein A J, Petrakova K V, Kurolesova A I, et al. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. *Transplantation*, 1968, 6: 230–247
- 149 Bab I, Passi-Even L, Gazit D, et al. Osteogenesis in *in vivo* diffusion chamber cultures of human marrow cells. *Bone Miner*, 1988, 4: 373–386
- 150 Caplan A I. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res*, 1991, 9: 641–650
- 151 Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2006, 8: 315–317
- 152 Caplan A I. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol*, 2007, 213: 341–347
- 153 Zuk P A, Zhu M, Mizuno H, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*, 2001, 7: 211–228
- 154 Lecourt S, Marolleau J P, Fromig e O, et al. Characterization of distinct mesenchymal-like cell populations from human skeletal muscle *in situ* and *in vitro*. *Exp Cell Res*, 2010, 316: 2513–2526
- 155 Fukuchi Y, Nakajima H, Sugiyama D, et al. Human placenta-derived cells have mesenchymal stem/progenitor cell potential. *Stem Cells*, 2004, 22: 649–658
- 156 Shi S, Gronthos S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *J Bone Miner Res*, 2003, 18: 696–704
- 157 Seo B M, Miura M, Gronthos S, et al. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet*, 2004, 364: 149–155
- 158 Hermida-g omez T, Fuentes-boquete I, Gimeno-longas M J, et al. Quantification of cells expressing mesenchymal stem cell markers in healthy and osteoarthritic synovial membranes. *J Rheumatol*, 2011, 38: 339–349
- 159 Feisst V, Brooks A E S, Chen C J J, et al. Characterization of mesenchymal progenitor cell populations directly derived from human dermis. *Stem Cells Dev*, 2014, 23: 631–642
- 160 Tondreau T, Meuleman N, Delforge A, et al. Mesenchymal stem cells derived from CD133-positive cells in mobilized peripheral blood and cord blood: proliferation, Oct4 expression, and plasticity. *Stem Cells*, 2005, 23: 1105–1112
- 161 Schwab K E, Gargett C E. Co-expression of two perivascular cell markers isolates mesenchymal stem-like cells from human endometrium. *Hum Reprod*, 2007, 22: 2903–2911
- 162 Baksh D, Yao R, Tuan R S. Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow. *Stem Cells*, 2007, 25: 1384–1392
- 163 Porretti L, Cattaneo A, Colombo F, et al. Simultaneous characterization of progenitor cell compartments in adult human liver. *Cytometry*, 2009, 9999A: NA
- 164 Crisan M, Yap S, Casteilla L, et al. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell Stem Cell*, 2008, 3: 301–313
- 165 Lv F J, Tuan R S, Cheung K M C, et al. Concise review: the surface markers and identity of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells*, 2014, 32: 1408–1419
- 166 Filshie R, Zannettino A, Makrynika V, et al. MUC18, a member of the immunoglobulin superfamily, is expressed on bone marrow fibroblasts and a subset of hematological malignancies. *Leukemia*, 1998, 12: 414–421
- 167 Gronthos S, Franklin D M, Leddy H A, et al. Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells. *J Cell Physiol*, 2001, 189: 54–63
- 168 Tavassoli M, Crosby W H. Transplantation of marrow to extramedullary sites. *Science*, 1968, 161: 54–56
- 169 Bianco P. “Mesenchymal” stem cells. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, 30: 677–704
- 170 Simmons P J, Torok-Storb B. Identification of stromal cell precursors in human bone marrow by a novel monoclonal antibody, STRO-1. *Blood*, 1991, 78: 55–62
- 171 Sacchetti B, Funari A, Michienzi S, et al. Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic

- microenvironment. *Cell*, 2007, 131: 324–336
- 172 Diaz-Flores L, Gutierrez R, Varela H, et al. Microvascular pericytes: a review of their morphological and functional characteristics. *Histol Histopathol*, 1991, 6: 269–286
- 173 Tintut Y, Alfonso Z, Saini T, et al. Multilineage potential of cells from the artery wall. *Circulation*, 2003, 108: 2505–2510
- 174 Abedin M, Tintut Y, Demer L L. Mesenchymal stem cells and the artery wall. *Circ Res*, 2004, 95: 671–676
- 175 Covas D T, Panepucci R A, Fontes A M, et al. Multipotent mesenchymal stromal cells obtained from diverse human tissues share functional properties and gene-expression profile with CD146⁺ perivascular cells and fibroblasts. *Exp Hematol*, 2008, 36: 642–654
- 176 Zannettino A C W, Paton S, Arthur A, et al. Multipotential human adipose-derived stromal stem cells exhibit a perivascular phenotype *in vitro* and *in vivo*. *J Cell Physiol*, 2008, 214: 413–421
- 177 Caplan A I. All MSCs are pericytes? *Cell Stem Cell*, 2008, 3: 229–230
- 178 Corselli M, Chen C W, Sun B, et al. The tunica adventitia of human arteries and veins as a source of mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev*, 2012, 21: 1299–1308
- 179 Tormin A, Li O, Brune J C, et al. CD146 expression on primary nonhematopoietic bone marrow stem cells is correlated with *in situ* localization. *Blood*, 2011, 117: 5067–5077
- 180 Maijenburg M W, Kleijer M, Vermeul K, et al. The composition of the mesenchymal stromal cell compartment in human bone marrow changes during development and aging. *Haematologica*, 2012, 97: 179–183
- 181 Paduano F, Marrelli M, Palmieri F, et al. CD146 expression influences periapical cyst mesenchymal stem cell properties. *Stem Cell Rev Rep*, 2016, 12: 592–603
- 182 Wang Y, Xu J, Chang L, et al. Relative contributions of adipose-resident CD146⁺ pericytes and CD34⁺ adventitial progenitor cells in bone tissue engineering. *NPJ Regen Med*, 2019, 4: 1
- 183 James A W, Zara J N, Corselli M, et al. An abundant perivascular source of stem cells for bone tissue engineering. *Stem Cells Transl Med*, 2012, 1: 673–684
- 184 Gharibi B, Hughes F J. Effects of medium supplements on proliferation, differentiation potential, and *in vitro* expansion of mesenchymal stem cells. *Stem Cells Transl Med*, 2012, 1: 771–782
- 185 Russell K C, Phinney D G, Lacey M R, et al. *In vitro* high-capacity assay to quantify the clonal heterogeneity in trilineage potential of mesenchymal stem cells reveals a complex hierarchy of lineage commitment. *Stem Cells*, 2010, 28: 788–798
- 186 Zimmerlin L, Donnenberg V S, Pfeifer M E, et al. Stromal vascular progenitors in adult human adipose tissue. *Cytometry A*, 2010, 77: 22–30
- 187 Li X, Guo W, Zha K, et al. Enrichment of CD146⁺ adipose-derived stem cells in combination with articular cartilage extracellular matrix scaffold promotes cartilage regeneration. *Theranostics*, 2019, 9: 5105–5121
- 188 Schwab K E, Hutchinson P, Gargett C E. Identification of surface markers for prospective isolation of human endometrial stromal colony-forming cells. *Hum Reprod*, 2008, 23: 934–943
- 189 Jin H J, Kwon J H, Kim M, et al. Downregulation of melanoma cell adhesion molecule (MCAM/CD146) accelerates cellular senescence in human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells Transl Med*, 2016, 5: 427–439
- 190 Tavangar M S, Hosseini S M, Dehghani-Nazhvani A, et al. Role of CD146 enrichment in purification of stem cells derived from dental pulp polyp. *Iran Endod J*, 2017, 12: 92–97
- 191 Pilz G A, Ulrich C, Ruh M, et al. Human term placenta-derived mesenchymal stromal cells are less prone to osteogenic differentiation than bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Stem Cells Dev*, 2011, 20: 635–646
- 192 Pachón-Peña G, Yu G, Tucker A, et al. Stromal stem cells from adipose tissue and bone marrow of age-matched female donors display distinct immunophenotypic profiles. *J Cell Physiol*, 2011, 226: 843–851
- 193 Ulrich C, Abruzzese T, Maerz J K, et al. Human placenta-derived CD146-positive mesenchymal stromal cells display a distinct osteogenic differentiation potential. *Stem Cells Dev*, 2015, 24: 1558–1569
- 194 Pittenger M F, Discher D E, Péault B M, et al. Mesenchymal stem cell perspective: cell biology to clinical progress. *NPJ Regen Med*, 2019, 4: 22
- 195 Bowles A C, Kouroupis D, Willman M A, et al. Signature quality attributes of CD146⁺ mesenchymal stem/stromal cells correlate with high therapeutic and secretory potency. *Stem Cells*, 2020, 38: 1034–1049
- 196 Lee N E, Kim S J, Yang S J, et al. Comparative characterization of mesenchymal stromal cells from multiple abdominal adipose tissues and

- enrichment of angiogenic ability via CD146 molecule. *Cytotherapy*, 2017, 19: 170–180
- 197 Wu C C, Liu F L, Sytwu H K, et al. CD146⁺ mesenchymal stem cells display greater therapeutic potential than CD146⁻ cells for treating collagen-induced arthritis in mice. *Stem Cell Res Ther*, 2016, 7: 23
- 198 Luca M, Hunt B, Bucana C D, et al. Direct correlation between MUC18 expression and metastatic potential of human melanoma cells. *Melanoma Res*, 1993, 3: 35–42
- 199 Li Y Z, Yang X M, Tang Q L. Expression of MUC18 and its correlation with counts of microvessel and lymph vessel in laryngeal squamous cell carcinoma tissues (in Chinese). *Cancer Res Prevent Treatment*, 2010, 37: 795–798 [李友忠, 杨新明, 唐青来. 喉鳞状细胞癌组织中MUC18的表达及其与微血管和淋巴管计数的关系. *肿瘤防治研究*, 2010, 37: 795–798]
- 200 Wang W, Yang Z, Liu J, et al. Identification of CD146 expression, angiogenesis, and lymphangiogenesis as progression, metastasis, and poor-prognosis related markers for gallbladder adenocarcinoma. *Tumor Biol*, 2012, 33: 173–182
- 201 Sato A, Torii I, Okamura Y, et al. Immunocytochemistry of CD146 is useful to discriminate between malignant pleural mesothelioma and reactive mesothelium. *Mod Pathol*, 2010, 23: 1458–1466
- 202 Song B, Tang J W, Wang B, et al. Screening for lymphatic metastasis-associated genes in mouse hepatocarcinoma cell lines Hca-F and Hca-P using gene chip (in Chinese). *Chin J Cancer*, 2005, 24: 774–780 [宋波, 唐建武, 王波, 等. 基因芯片筛选小鼠肝癌淋巴道转移相关基因. *癌症*, 2005, 24: 774–780]
- 203 Zhang H, Zhang J, Wang Z, et al. CD146 is a potential marker for the diagnosis of malignancy in cervical and endometrial cancer. *Oncol Lett*, 2013, 5: 1189–1194
- 204 Li Y, Yu J M, Zhan X M, et al. Correlation of CD146 expression and clinicopathological characteristics in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Lett*, 2014, 8: 859–863
- 205 Wu G J, Dickerson E B. Frequent and increased expression of human METCAM/MUC18 in cancer tissues and metastatic lesions is associated with the clinical progression of human ovarian carcinoma. *Taiwanese J Obstetr Gynecol*, 2014, 53: 509–517
- 206 Ge Q Q, Chen X Q, Guo Q, et al. Expressions and clinical significance of CD146 and TfR1 in ovarian epithelial cancer (in Chinese). *J Xi'an Jiaotong Univ (Med Sci)*, 2017, 38: 104–107+135 [葛倩倩, 陈秀芹, 郭琦, 等. CD146和TfR1在上皮性卵巢癌中的表达及临床意义. *西安交通大学学报(医学版)*, 2017, 38: 104–107+135]
- 207 Liu W F, Ji S R, Sun J J, et al. CD146 expression correlates with epithelial-mesenchymal transition markers and a poor prognosis in gastric cancer. *Int J Mol Sci*, 2012, 13: 6399–6406
- 208 Zabouo G, Imbert A M, Jacquemier J, et al. CD146 expression is associated with a poor prognosis in human breast tumors and with enhanced motility in breast cancer cell lines. *Breast Cancer Res*, 2009, 11: R1
- 209 Li W, Yang D, Wang S, et al. Increased expression of CD146 and microvessel density (MVD) in invasive micropapillary carcinoma of the breast: Comparative study with invasive ductal carcinoma-not otherwise specified. *Pathol Res Pract*, 2011, 207: 739–746
- 210 Lin J C, Chiang C F, Wang S W, et al. Significance of expression of human METCAM/MUC18 in nasopharyngeal carcinomas and metastatic lesions. *Asian Pac J Cancer Prevent*, 2014, 15: 245–252
- 211 Ma J H, Bai J L, Fu W, et al. Study on the correlation between the expression of CD146 and MVD in prostate cancer (in Chinese). *Chin J Androl*, 2005, 19: 12–14 [马建华, 白进良, 傅梧, 等. CD146与前列腺癌微血管生成关系的研究. *中国男科学杂志*, 2005, 19: 12–14]
- 212 Dong Z Q, Yuan H G, Long B, et al. The expression of CD146 gene in urothelial cancer and its relationship with tumor invasion and metastasis (in Chinese). *Tumor*, 2010, 30: 515–518 [董自强, 袁红纲, 龙兵, 等. CD146在尿路上皮癌组织中的表达及其与肿瘤浸润和转移的关系. *肿瘤*, 2010, 30: 515–518]
- 213 Tian B, Zhang Y, Li N. CD146 protein as a marker to predict postoperative liver metastasis in colorectal cancer. *Cancer Biother Radiopharm*, 2013, 28: 466–470
- 214 Wu G J, Varma V A, Wu M W H, et al. Expression of a human cell adhesion molecule, MUC18, in prostate cancer cell lines and tissues. *Prostate*, 2001, 48: 305–315
- 215 de Kruijff I, Timmermans A, den Bakker M, et al. The prevalence of CD146 expression in breast cancer subtypes and its relation to outcome. *Cancers*, 2018, 10: 134
- 216 Watson-Hurst K, Becker D. The role of N-cadherin, MCAM, and $\beta 3$ integrin in melanoma progression, proliferation, migration and invasion. *Cancer Biol Ther*, 2006, 5: 1375–1382
- 217 Pacifico M D, Grover R, Richman P I, et al. Development of a tissue array for primary melanoma with long-term follow-up: Discovering

- melanoma cell adhesion molecule as an important prognostic marker. *Plast Reconstr Surg*, 2005, 115: 367–375
- 218 Rapanotti M C, Suarez Viguria T M, Costanza G, et al. Sequential molecular analysis of circulating MCAM/MUC18 expression: a promising disease biomarker related to clinical outcome in melanoma. *Arch Dermatol Res*, 2014, 306: 527–537
- 219 Hernandez R, Sun H, England C G, et al. CD146-targeted immunoPET and NIRF imaging of hepatocellular carcinoma with a dual-labeled monoclonal antibody. *Theranostics*, 2016, 6: 1918–1933
- 220 Chen W, Zhang H L, Shao X J, et al. Gene expression profile of salivary adenoid cystic carcinoma associated with perineural invasion. *Tohoku J Exp Med*, 2007, 212: 319–334
- 221 Zhang X J, Wang Z, An Y X, et al. CD146 contributes to epithelial-mesenchymal transition of acquired resistance to erlotinib in non-small cell lung cancer *in vitro* and *in vivo* (in Chinese). *Chin J Exp Surg*, 2014, 31: 1642–1644 [张晓菊, 汪铮, 安云霞, 等. CD146对获得性Erlotinib耐药肺腺癌细胞上皮-间充质转化的影响. *中华实验外科杂志*, 2014, 31: 1642–1644]
- 222 Nodomi S, Umeda K, Saida S, et al. CD146 is a novel marker for highly tumorigenic cells and a potential therapeutic target in malignant rhabdoid tumor. *Oncogene*, 2016, 35: 5317–5327
- 223 Satyamoorthy K, Muylers J, Meier F, et al. Mel-CAM-specific genetic suppressor elements inhibit melanoma growth and invasion through loss of gap junctional communication. *Oncogene*, 2001, 20: 4676–4684
- 224 Mills L, Tellez C, Huang S Y, et al. Fully human antibodies to MCAM/MUC18 inhibit tumor growth and metastasis of human melanoma. *Cancer Res*, 2002, 62: 5106–5114
- 225 Wu G J, Zeng G. METCAM/MUC18 is a novel tumor and metastasis suppressor for the human ovarian cancer SKOV3 cells. *BMC Cancer*, 2016, 16: 136
- 226 Fan L, Liu Y, Gong B L. The effects of CD146 overexpression on the tumorigenesis of ovarian cancer SKOV3 cells in nude mice (in Chinese). *J Nanjing Med Univ (Nat Sci Ed)*, 2018, 38: 44–48 [范丽, 刘莹, 龚宝兰. CD146过表达对SKOV3细胞在裸鼠体内成瘤能力的影响. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2018, 38: 44–48]
- 227 Zhang X, Wang Z, Kang Y, et al. MCAM expression is associated with poor prognosis in non-small cell lung cancer. *Clin Transl Oncol*, 2014, 16: 178–183
- 228 Hernandez R, Sun H, England C G, et al. ImmunoPET imaging of CD146 expression in malignant brain tumors. *Mol Pharm*, 2016, 13: 2563–2570
- 229 Ishikawa T, Wondimu Z, Oikawa Y, et al. Monoclonal antibodies to human laminin $\alpha 4$ chain globular domain inhibit tumor cell adhesion and migration on laminins 411 and 421, and binding of $\alpha 6 \beta 1$ integrin and MCAM to $\alpha 4$ -laminins. *Matrix Biol*, 2014, 36: 5–14
- 230 Zigler M, Villares G J, Dobroff A S, et al. Expression of Id-1 is regulated by MCAM/MUC18: A missing link in melanoma progression. *Cancer Res*, 2011, 71: 3494–3504
- 231 Shih I M, Speicher D, Hsu M Y, et al. Melanoma cell-cell interactions are mediated through heterophilic Mel-CAM/ligand adhesion. *Cancer Res*, 1997, 57: 3835–3840
- 232 Mcgary E C, Heimberger A, Mills L, et al. A fully human antimelanoma cellular adhesion molecule/MUC18 antibody inhibits spontaneous pulmonary metastasis of osteosarcoma cells *in vivo*. *Clin Cancer Res*, 2003, 9: 6560–6566
- 233 Adachi K, Hattori M, Kato H, et al. Involvement of gicerin, a cell adhesion molecule, in the portal metastasis of rat colorectal adenocarcinoma cells. *Oncol Rep*, 2010, 24: 1427–1431
- 234 Li Y, Atkinson K, Zhang T. Combination of chemotherapy and cancer stem cell targeting agents: Preclinical and clinical studies. *Cancer Lett*, 2017, 396: 103–109
- 235 Wei Q, Tang Y J, Voisin V, et al. Identification of CD146 as a marker enriched for tumor-propagating capacity reveals targetable pathways in primary human sarcoma. *Oncotarget*, 2015, 6: 40283–40294
- 236 Yang Y, Hernandez R, Rao J, et al. Targeting CD146 with a ^{64}Cu -labeled antibody enables *in vivo* immunoPET imaging of high-grade gliomas. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: E6525–E6534
- 237 Yawata T, Higashi Y, Kawanishi Y, et al. CD146 is highly expressed in glioma stem cells and acts as a cell cycle regulator. *J Neurooncol*, 2019, 144: 21–32
- 238 Chen K, Ding A, Ding Y, et al. High-throughput flow cytometry screening of human hepatocellular carcinoma reveals CD146 to be a novel marker of tumor-initiating cells. *Biochem Biophys Res*, 2016, 8: 107–113
- 239 Zhang F, Wang J, Wang X, et al. CD146-mediated acquisition of stemness phenotype enhances tumour invasion and metastasis after EGFR-TKI

- resistance in lung cancer. *Clin Respir J*, 2019, 13: 23–33
- 240 Imbert A M, Garulli C, Choquet E, et al. CD146 expression in human breast cancer cell lines induces phenotypic and functional changes observed in epithelial to mesenchymal transition. *PLoS ONE*, 2012, 7: e43752
- 241 George F, Poncelet P, Laurent J C, et al. Cytofluorometric detection of human endothelial cells in whole blood using S-Endo 1 monoclonal antibody. *J Immunol Methods*, 1991, 139: 65–75
- 242 George F, Brisson C, Poncelet P, et al. Rapid isolation of human endothelial cells from whole blood using S-Endo1 monoclonal antibody coupled to immuno-magnetic beads: demonstration of endothelial injury after angioplasty. *Thromb Haemost*, 1992, 67: 147–153
- 243 Sers C, Riethmuller G, Johnson J P. MUC18, a melanoma-progression associated molecule, and its potential role in tumor vascularization and hematogenous spread. *Cancer Res*, 1994, 54: 5689–5694
- 244 Zheng C, Qiu Y, Zeng Q, et al. Endothelial CD146 is required for *in vitro* tumor-induced angiogenesis: The role of a disulfide bond in signaling and dimerization. *Int J Biochem Cell Biol*, 2009, 41: 2163–2172
- 245 Bu P, Gao L, Zhuang J, et al. Anti-CD146 monoclonal antibody AA98 inhibits angiogenesis via suppression of nuclear factor- κ B activation. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5: 2872–2878
- 246 Stalin J, Nollet M, Garigue P, et al. Targeting soluble CD146 with a neutralizing antibody inhibits vascularization, growth and survival of CD146-positive tumors. *Oncogene*, 2016, 35: 5489–5500
- 247 Zheng B, Ohuchida K, Chijiwa Y, et al. CD146 attenuation in cancer-associated fibroblasts promotes pancreatic cancer progression. *Mol Carcinog*, 2016, 55: 1560–1572
- 248 Brechbuhl H M, Finlay-Schultz J, Yamamoto T M, et al. Fibroblast subtypes regulate responsiveness of luminal breast cancer to estrogen. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 1710–1721
- 249 von Ahrens D, Bhagat T D, Nagrath D, et al. The role of stromal cancer-associated fibroblasts in pancreatic cancer. *J Hematol Oncol*, 2017, 10: 76
- 250 Schittek B, Blaheta H J, Ellwanger U, et al. Polymerase chain reaction in the detection of circulating tumour cells in peripheral blood of melanoma patients. In: Reinhold U, Tilgen W, eds. *Minimal Residual Disease in Melanoma: Biology, Detection and Clinical Relevance*. Heidelberg: Springer. 2001: 93–104
- 251 Rapanotti M C, Bianchi L, Ricozzi I, et al. Melanoma-associated markers expression in blood: MUC-18 is associated with advanced stages in melanoma patients. *Br J Dermatol*, 2009, 160: 338–344
- 252 Klinac D, Gray E S, Freeman J B, et al. Monitoring changes in circulating tumour cells as a prognostic indicator of overall survival and treatment response in patients with metastatic melanoma. *BMC Cancer*, 2014, 14: 423
- 253 Rao C, Bui T, Connelly M, et al. Circulating melanoma cells and survival in metastatic melanoma. *Int J Oncol*, 2011, 38: 755–760
- 254 Danova M, Delfanti S, Manzoni M, et al. Tissue and soluble biomarkers in breast cancer and their applications: ready to use? *J Natl Cancer Inst Monogr*, 2011, 2011(43): 75–78
- 255 Mostert B, Kraan J, Bolt-de Vries J, et al. Detection of circulating tumor cells in breast cancer may improve through enrichment with anti-CD146. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 127: 33–41
- 256 Blassl C, Kuhlmann J D, Webers A, et al. Gene expression profiling of single circulating tumor cells in ovarian cancer—Establishment of a multi-marker gene panel. *Mol Oncol*, 2016, 10: 1030–1042
- 257 Aida S, Aida J, Naoi M, et al. Measurement of telomere length in cells from pleural effusion: Asbestos exposure causes telomere shortening in pleural mesothelial cells. *Pathol Int*, 2018, 68: 503–508
- 258 Yang X, Zhang D, Chong T, et al. Expression of CK19, CD105 and CD146 are associated with early metastasis in patients with renal cell carcinoma. *Oncol Lett*, 2018, 15: 4229–4234
- 259 Zhang H, Vakil V, Braunstein M, et al. Circulating endothelial progenitor cells in multiple myeloma: implications and significance. *Blood*, 2005, 105: 3286–3294
- 260 Smirnov D A, Foulk B W, Doyle G V, et al. Global gene expression profiling of circulating endothelial cells in patients with metastatic carcinomas. *Cancer Res*, 2006, 66: 2918–2922
- 261 García-Donas J, Leon L A, Esteban E, et al. A prospective observational study for assessment and outcome association of circulating endothelial cells in clear cell renal cell carcinoma patients who show initial benefit from first-line treatment. The CIRCLES (CIRCulating Endothelial cells) study (SOGUG-CEC-2011-01). *Eur Urol Focus*, 2017, 3: 430–436

- 262 Najjar F, Alammam M, Bachour M, et al. Circulating endothelial cells as a biomarker in non-small cell lung cancer patients: correlation with clinical outcome. *Int J Biol Markers*, 2014, 29: E337–E344
- 263 Ilie M, Long E, Hofman V, et al. Clinical value of circulating endothelial cells and of soluble CD146 levels in patients undergoing surgery for non-small cell lung cancer. *Br J Cancer*, 2014, 110: 1236–1243
- 264 Rigolin G M, Maffei R, Rizzotto L, et al. Circulating endothelial cells in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer*, 2010, 116: 1926–1937
- 265 Yoneda K, Tanaka F, Kondo N, et al. Circulating endothelial cell (CEC) as a diagnostic and prognostic marker in malignant pleural mesothelioma (MPM). *Ann Surg Oncol*, 2012, 19: 4229–4237
- 266 Wu J Y, Zhou J F, Pei R Z, et al. Expression of FGFR3 in acute lymphoblastic leukemia patients and its contribution to proliferation of circulating endothelial cells (in Chinese). *Chin J Pathophysiol*, 2017, 33: 694–698 [吴静怡, 周剑峰, 裴仁治, 等. 急性淋巴细胞白血病患者FGFR3表达对循环内皮细胞增殖的影响. *中国病理生理杂志*, 2017, 33: 694–698]
- 267 Zeng P, Li H, Lu P H, et al. Prognostic value of CD146 in solid tumor: A systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*, 2017, 7: 4223
- 268 Johnson J P, Rothbacher U, Sers C. The progression associated antigen MUC18: a unique member of the immunoglobulin supergene family. *Melanoma Res*, 1993, 3: 337–340
- 269 Johnson J P, Rummel M M, Rothbacher U, et al. MUC18: A cell adhesion molecule with a potential role in tumor growth and tumor cell dissemination. In: Gunthert U, Birchmeier W, eds. *Attempts to Understand Metastasis Formation I: Metastasis-Related Molecules*. Heidelberg: Springer. 1996: 95–105
- 270 Wu G J. Dual roles of *METCAM* in the progression of different cancers. *J Oncol*, 2012, 2012: 1–13
- 271 Johnson J P. Cell adhesion molecules in the development and progression of malignant melanoma. *Cancer Metastasis Rev*, 1999, 18: 345–357
- 272 Stalin J, Nolle M, Dignat-George F, et al. Therapeutic and diagnostic antibodies to CD146: Thirty years of research on its potential for detection and treatment of tumors. *Antibodies*, 2017, 6: 17
- 273 Labib M, Sargent E H, Kelley S O. Electrochemical methods for the analysis of clinically relevant biomolecules. *Chem Rev*, 2016, 116: 9001–9090
- 274 von Burstin J, Bachhuber F, Paul M, et al. The TALE homeodomain transcription factor MEIS1 activates the pro-metastatic melanoma cell adhesion molecule *Mcam* to promote migration of pancreatic cancer cells. *Mol Carcinog*, 2017, 56: 936–944
- 275 Zeng G, Cai S, Liu Y, et al. METCAM/MUC18 augments migration, invasion, and tumorigenicity of human breast cancer SK-BR-3 cells. *Gene*, 2012, 492: 229–238
- 276 Tsukamoto Y, Sakaiuchi T, Hiroi S, et al. Expression of gicerin enhances the invasive and metastatic activities of a mouse mammary carcinoma cell line. *Int J Oncol*, 2003, 23: 1671–1677
- 277 Ouhtit A, Abdrahoh M E, Hollenbach A D, et al. CD146, a novel target of CD44-signaling, suppresses breast tumor cell invasion. *Cell Commun Signal*, 2017, 15: 45
- 278 Zeng G, Cai S, Wu G J. Up-regulation of METCAM/MUC18 promotes motility, invasion, and tumorigenesis of human breast cancer cells. *BMC Cancer*, 2011, 11: 113
- 279 Ma X, Wang J, Liu J, et al. Targeting CD146 in combination with vorinostat for the treatment of ovarian cancer cells. *Oncol Lett*, 2017, 13: 1681–1687
- 280 Guang J. Enforced expression of METCAM/MUC18 enhances *in vitro* motility and invasiveness and *in vivo* tumor-take and metastasis of a human ovarian cancer cell line, BG-1. *Clin Exp Metast*, 2009, 26: 884
- 281 Aldovini D, Demichelis F, Doglioni C, et al. M-CAM expression as marker of poor prognosis in epithelial ovarian cancer. *Int J Cancer*, 2006, 119: 1920–1926
- 282 Onisim A, Vlad C, Simon I, et al. The role of CD146 in serous ovarian carcinoma. *J Buon*, 2019, 24: 1009–1019
- 283 Li B Z, Zhu L, Duan W. Clinicopathologic study of tumors of intermediate trophoblasts (in Chinese). *Chin J Pathol*, 2006, 35: 722–726 [李宝珠, 朱力, 段微. 中间型滋养细胞肿瘤的临床病理分析. *中华病理学杂志*, 2006, 35: 722–726]
- 284 Li J, Shi Y, Wan X, et al. Epithelioid trophoblastic tumor: a clinicopathological and immunohistochemical study of seven cases. *Med Oncol*, 2011, 28: 294–299
- 285 Chen Y, Saini S, Zaman M S, et al. Cytochrome P450 17 (CYP17) is involved in endometrial carcinogenesis through apoptosis and invasion pathways. *Mol Carcinog*, 2011, 50: 16–23

- 286 Zhou Y, Huang H, Yuan L J, et al. CD146 as an adverse prognostic factor in uterine sarcoma. *Eur J Med Res*, 2015, 20: 67
- 287 Tsukamoto Y, Taira E, Kajimura K, et al. Involvement of gicerin, a cell adhesion molecule, in development and regeneration of oviduct and metastasis of oviductal adenocarcinomas of the chicken. *Exp Cell Res*, 1999, 247: 329–338
- 288 Wang D P, Wen Y C, Tong X. To investigate the expression and clinical significance of CD146 and HBME-1 in lung adenocarcinoma (in Chinese). *J Qiqihar Univ Med*, 2017, 38: 2369–2371 [王大鹏, 温义成, 佟旭. 探讨CD146、HBME-1在肺腺癌中的表达及临床意义. 齐齐哈尔医学院学报, 2017, 38: 2369–2371]
- 289 Kristiansen G, Yu Y, Schlüns K, et al. Expression of the cell adhesion molecule CD146/MCAM in non-small cell lung cancer. *Anal Cell Pathol*, 2003, 25: 77–81
- 290 Oka S, Uramoto H, Chikaishi Y, et al. The expression of CD146 predicts a poor overall survival in patients with adenocarcinoma of the lung. *Anticancer Res*, 2012, 32: 861–864
- 291 Sun H, England C G, Hernandez R, et al. ImmunoPET for assessing the differential uptake of a CD146-specific monoclonal antibody in lung cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imag*, 2016, 43: 2169–2179
- 292 Ehlerding E, England C, Hernandez R, et al. Molecular imaging of CD146 expression in orthotopic models of lung cancer. *J Nucl Med*, 2017, 58: 623
- 293 Okazaki Y, Nagai H, Chew S H, et al. CD146 and insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 3 predict prognosis of asbestos-induced rat mesothelioma. *Cancer Sci*, 2013, 104: 989–995
- 294 Cova E, Pandolfi L, Colombo M, et al. Pemetrexed-loaded nanoparticles targeted to malignant pleural mesothelioma cells: an *in vitro* study. *Int J Nanomed*, 2019, 14: 773–785
- 295 Bidlingmaier S, He J, Wang Y, et al. Identification of MCAM/CD146 as the target antigen of a human monoclonal antibody that recognizes both epithelioid and sarcomatoid types of mesothelioma. *Cancer Res*, 2009, 69: 1570–1577
- 296 Dudzik P, Trojan S E, Ostrowska B, et al. The epigenetic modifier 5-aza-2-deoxycytidine triggers the expression of *CD146* gene in prostate cancer cells. *Anticancer Res*, 2019, 39: 2395–2403
- 297 Wu G J, Peng Q, Fu P, et al. Ectopical expression of human MUC18 increases metastasis of human prostate cancer cells. *Gene*, 2004, 327: 201–213
- 298 Zoni E, Astrologo L, Ng C K Y, et al. Therapeutic targeting of CD146/MCAM reduces bone metastasis in prostate cancer. *Mol Cancer Res*, 2019, 17: 1049–1062
- 299 Fritzsche F R, Wassermann K, Rabien A, et al. CD146 protein in prostate cancer: revisited with two different antibodies. *Pathology*, 2008, 40: 457–464
- 300 Brait M, Banerjee M, Maldonado L, et al. Promoter methylation of MCAM, ER α and ER β in serum of early stage prostate cancer patients. *Oncotarget*, 2017, 8: 15431–15440
- 301 Feng G, Huang H B, Ye X B, et al. CD146 promoter polymorphism (rs3923594) is associated with recurrence of clear cell renal cell carcinoma in chinese population. *Dis Markers*, 2017, 2017: 1–7
- 302 Dufies M, Nollet M, Ambrosetti D, et al. Soluble CD146 is a predictive marker of pejorative evolution and of sunitinib efficacy in clear cell renal cell carcinoma. *Theranostics*, 2018, 8: 2447–2458
- 303 Tsukamoto Y, Matsumoto T, Taira E, et al. Adhesive activity of gicerin, a cell-adhesion molecule, in kidneys and nephroblastomas of chickens. *Cell Tissue Res*, 1998, 292: 137–142
- 304 Cavazzini F, Campioni D, Ferrari L, et al. Expression of the immunoglobulin superfamily cell membrane adhesion molecule CD146 in acute leukemia. *Cytometry*, 2016, 90: 247–256
- 305 Tsuchiya S, Tsukamoto Y, Furuya M, et al. Gicerin, a cell adhesion molecule, promotes the metastasis of lymphoma cells of the chicken. *Cell Tissue Res*, 2003, 314: 389–397
- 306 Lai K, Sharma V, Jager M J, et al. Expression and distribution of MUC18 in human uveal melanoma. *Virchows Arch*, 2007, 451: 967–976
- 307 Karlen S, Braathen L R. Regulation of the melanoma cell adhesion molecule gene in melanoma: Modulation of mRNA synthesis by cyclic adenosine monophosphate, phorbol ester, and stem cell factor/c-Kit signaling. *J Invest Dermatol*, 1999, 113: 711–719
- 308 Wu G J, Fu P, Wang S W, et al. Enforced expression of MCAM/MUC18 increases *in vitro* motility and invasiveness and *in vivo* metastasis of two mouse melanoma K1735 Sublines in a syngeneic mouse model. *Mol Cancer Res*, 2008, 6: 1666–1677
- 309 Pearl R A, Pacifico M D, Richman P I, et al. Stratification of patients by melanoma cell adhesion molecule (MCAM) expression on the basis of

- risk: implications for sentinel lymph node biopsy. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2008, 61: 265–271
- 310 Shih I M, Wang T L, Westra W H. Diagnostic and biological implications of Mel-CAM expression in mesenchymal neoplasms. *Clin Cancer Res*, 1996, 2: 569–575
- 311 Pires F R, Shih I M, da Cruz Perez D E, et al. Mel-CAM (CD146) expression in parotid mucoepidermoid carcinoma. *Oral Oncol*, 2003, 39: 277–281
- 312 Pickl W F, Majdic O, Fischer G F, et al. MUC18/MCAM (CD146), an activation antigen of human T lymphocytes. *J Immunol*, 1997, 158: 2107–2115
- 313 Elshal M F, Khan S S, Raghavachari N, et al. A unique population of effector memory lymphocytes identified by CD146 having a distinct immunophenotypic and genomic profile. *BMC Immunol*, 2007, 8: 29
- 314 Brucklacher-Waldert V, Stuermer K, Kolster M, et al. Phenotypical and functional characterization of T helper 17 cells in multiple sclerosis. *Brain*, 2009, 132: 3329–3341
- 315 Flanagan K, Fitzgerald K, Baker J, et al. Laminin-411 is a vascular ligand for MCAM and facilitates TH17 cell entry into the CNS. *PLoS ONE*, 2012, 7: e40443
- 316 Breuer J, Korpos E, Hannocks M J, et al. Blockade of MCAM/CD146 impedes CNS infiltration of T cells over the choroid plexus. *J Neuroinflammation*, 2018, 15: 236
- 317 Dagur P K, McCoy Jr J P. Endothelial-binding, proinflammatory T cells identified by MCAM (CD146) expression: Characterization and role in human autoimmune diseases. *Autoimmun Rev*, 2015, 14: 415–422
- 318 Dagur P K, Tatlici G, Gourley M, et al. CD146⁺ T lymphocytes are increased in both the peripheral circulation and in the synovial effusions of patients with various musculoskeletal diseases and display pro-inflammatory gene profiles. *Cytometry*, 2009, 78: 88–95
- 319 Dagur P K, Biancotto A, Wei L, et al. MCAM-expressing CD4⁺ T cells in peripheral blood secrete IL-17A and are significantly elevated in inflammatory autoimmune diseases. *J Autoimmun*, 2011, 37: 319–327
- 320 Wu C, Goodall J C, Busch R, et al. Relationship of CD146 expression to secretion of interleukin (IL)-17, IL-22 and interferon- γ by CD4⁺ T cells in patients with inflammatory arthritis. *Clin Exp Immunol*, 2015, 179: 378–391
- 321 Liu X, Leung S, Wang C, et al. Crucial role of interleukin-7 in T helper type 17 survival and expansion in autoimmune disease. *Nat Med*, 2010, 16: 191–197
- 322 Acosta-Rodriguez E V, Rivino L, Geginat J, et al. Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells. *Nat Immunol*, 2007, 8: 639–646
- 323 Kamiyama T, Watanabe H, Iijima M, et al. Coexpression of CCR6 and CD146 (MCAM) is a marker of effector memory T-helper 17 cells. *J Dermatol*, 2012, 39: 838–842
- 324 Lee Y, Awasthi A, Yosef N, et al. Induction and molecular signature of pathogenic TH17 cells. *Nat Immunol*, 2012, 13: 991–999
- 325 Cheng H, Guan X, Chen D, et al. The Th17/Treg cell balance: a gut microbiota-modulated story. *Microorganisms*, 2019, 7: 583
- 326 Forcade E, Paz K, Flynn R, et al. An activated Th17-prone T cell subset involved in chronic graft-versus-host disease sensitive to pharmacological inhibition. *JCI Insight*, 2017, 2
- 327 Dagur P K, Biancotto A, Stansky E, et al. Secretion of interleukin-17 by CD8⁺ T cells expressing CD146 (MCAM). *Clin Immunol*, 2014, 152: 36–47
- 328 Larochelle C, Lécuyer M A, Alvarez J I, et al. Melanoma cell adhesion molecule-positive CD8 T lymphocytes mediate central nervous system inflammation. *Ann Neurol*, 2015, 78: 39–53
- 329 Duan H, Xing S, Luo Y, et al. Targeting endothelial CD146 attenuates neuroinflammation by limiting lymphocyte extravasation to the CNS. *Sci Rep*, 2013, 3: 1687
- 330 Schneider-Hohendorf T, Rossaint J, Mohan H, et al. VLA-4 blockade promotes differential routes into human CNS involving PSGL-1 rolling of T cells and MCAM-adhesion of TH17 cells. *J Exp Med*, 2014, 211: 1833–1846
- 331 Mehta N N, Dagur P K, Rose S M, et al. IL-17A production in human psoriatic blood and lesions by CD146⁺ T cells. *J Invest Dermatol*, 2015, 135: 311–314
- 332 Li W, Liu L, Gomez A, et al. Proteomics analysis reveals a Th17-prone cell population in presymptomatic graft-versus-host disease. *JCI Insight*, 2016, 1
- 333 Xie X Q, Wang W M, Gan S L, et al. Expression of CD146 in adult and children's acute B cell lymphoblastic leukemia and its significance (in

- Chinese). *J Exp Hematol*, 2017, 25: 5 [谢晓晴, 王卫敏, 甘思林, 等. CD146在儿童与成人急性B淋巴细胞白血病细胞中表达及其意义. *中国血液学杂志*, 2017, 25: 5]
- 334 Despoix N, Walzer T, Jouve N, et al. Mouse CD146/MCAM is a marker of natural killer cell maturation. *Eur J Immunol*, 2008, 38: 2855–2864
- 335 Li L, Zhang B R, Zeng X F, et al. A pilot study on the significance of leucocyte CD146 expression in vasculitis (in Chinese). *Chin J Int Med*, 2006, 45: 748–751 [李玲, 张佰茹, 曾小峰, 等. CD146在血管炎患者外周血白细胞表达的意义初探. *中华内科杂志*, 2006, 45: 748–751]
- 336 Wu Q, Case S R, Minor M N, et al. A novel function of MUC18: amplification of lung inflammation during bacterial infection. *Am J Pathol*, 2013, 182: 819–827
- 337 Luo Y, Duan H, Qian Y, et al. Macrophagic CD146 promotes foam cell formation and retention during atherosclerosis. *Cell Res*, 2017, 27: 352–372
- 338 Leijten E F A, van Kempen T S, Boes M, et al. Brief report: enrichment of activated group 3 innate lymphoid cells in psoriatic arthritis synovial fluid. *Arthritis Rheumatol*, 2015, 67: 2673–2678
- 339 Bardin N, Francès V, Combes V, et al. CD146: biosynthesis and production of a soluble form in human cultured endothelial cells. *FEBS Lett*, 1998, 421: 12–14
- 340 Boneberg E M, Illges H, Legler D F, et al. Soluble CD146 is generated by ectodomain shedding of membrane CD146 in a calcium-induced, matrix metalloprotease-dependent process. *Microvasc Res*, 2009, 78: 325–331
- 341 Stalin J, Harhour K, Hubert L, et al. Soluble CD146 boosts therapeutic effect of endothelial progenitors through proteolytic processing of short CD146 isoform. *Cardiovasc Res*, 2016, 111: 240–251
- 342 Zhang B, Li L, Feng L, et al. Elevated levels of soluble and neutrophil CD146 in active systemic vasculitis. *Lab Med*, 2009, 40: 351–356
- 343 Figarella-Branger D, Schleinitz N, Boutiere-Albanese B, et al. Platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 and CD146: soluble levels and in situ expression of cellular adhesion molecules implicated in the cohesion of endothelial cells in idiopathic inflammatory myopathies. *J Rheumatol*, 2006, 33: 1623–1630
- 344 Bardin N, Reumaux D, Geboes K, et al. Increased expression of CD146, a new marker of the endothelial junction in active inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*, 2006, 12: 16–21
- 345 Reumaux D, Bardin N, Colombel J F, et al. Restoration of soluble CD146 in patients with Crohn's disease treated with the TNF- α antagonist infliximab. *Inflamm Bowel Dis*, 2007, 13: 1315–1317
- 346 Garibaldi S, Barisione C, Ghigliotti G, et al. Soluble form of the endothelial adhesion molecule CD146 binds preferentially CD16⁺ monocytes. *Mol Biol Rep*, 2012, 39: 6745–6752
- 347 Ito T, Tamura N, Okuda S, et al. Elevated serum levels of soluble CD146 in patients with systemic sclerosis. *Clin Rheumatol*, 2017, 36: 119–124
- 348 Kaspi E, Chabaud M B, George F D, et al. Soluble CD146 and APS: a potential biomarker of obstetrical complications? *Lupus*, 2012, 21: 779–780
- 349 Saito T, Saito O, Kawano T, et al. Elevation of serum adiponectin and CD146 levels in diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract*, 2007, 78: 85–92
- 350 Dogansen S, Helvacı A, Adas M, et al. The relationship between early atherosclerosis and endothelial dysfunction in type 1 diabetic patients as evidenced by measurement of carotid intima-media thickness and soluble CD146 levels: a cross sectional study. *Cardiovasc Diabetol*, 2013, 12: 153
- 351 Gayat E, Caillard A, Laribi S, et al. Soluble CD146, a new endothelial biomarker of acutely decompensated heart failure. *Int J Cardiol*, 2015, 199: 241–247
- 352 Badoz M, Arrigo M, Iung B, et al. Role of cardiovascular biomarkers for the assessment of mitral stenosis and its complications. *Eur J Internal Med*, 2016, 34: 58–62
- 353 Kubena P, Arrigo M, Parenica J, et al. Plasma levels of soluble CD146 reflect the severity of pulmonary congestion better than brain natriuretic peptide in acute coronary syndrome. *Ann Lab Med*, 2016, 36: 300–305
- 354 Arrigo M, Truong Q A, Onat D, et al. Soluble CD146 is a novel marker of systemic congestion in heart failure patients: an experimental mechanistic and transcardiac clinical study. *Clin Chem*, 2017, 63: 386–393
- 355 Touat Z, Lepage L, Ollivier V, et al. Dilation-dependent activation of platelets and prothrombin in human thoracic ascending aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28: 940–946
- 356 Neidhart M, Wehrli R, Brhlmann P, et al. Synovial fluid CD146 (MUC18), a marker for synovial membrane angiogenesis in rheumatoid

- arthritis. *Arthrit Rheumat*, 1999, 42: 622–630
- 357 Wang D, Duan H, Feng J, et al. Soluble CD146, a cerebrospinal fluid marker for neuroinflammation, promotes blood-brain barrier dysfunction. *Theranostics*, 2020, 10: 231–246
- 358 Duan H, Luo Y, Hao H, et al. Soluble CD146 in cerebrospinal fluid of active multiple sclerosis. *Neuroscience*, 2013, 235: 16–26
- 359 Stalin J, Harhour K, Hubert L, et al. Soluble melanoma cell adhesion molecule (sMCAM/sCD146) promotes angiogenic effects on endothelial progenitor cells through angiomin. *J Biol Chem*, 2013, 288: 8991–9000
- 360 Nomikou E, Alexopoulou A, Vasilieva L, et al. Soluble CD146, a novel endothelial marker, is related to the severity of liver disease. *Scand J Gastroenterol*, 2015, 50: 577–583
- 361 Qian Y N, Luo Y T, Duan H X, et al. Adhesion molecule CD146 and its soluble form correlate well with carotid atherosclerosis and plaque instability. *CNS Neurosci Ther*, 2014, 20: 438–445
- 362 Liu Y Y, Bin Y, Wang X, et al. Increased serum levels of soluble CD146 and vascular endothelial growth factor receptor 2 in patients with exudative age-related macular degeneration. *Int J Ophthalmol*, 2019, 12: 457–463
- 363 Nollet M, Stalin J, Moyon A, et al. A novel anti-CD146 antibody specifically targets cancer cells by internalizing the molecule. *Oncotarget*, 2017, 8: 112283
- 364 Langone P, Debata P R, Dolai S, et al. Coupling to a cancer cell-specific antibody potentiates tumoricidal properties of curcumin. *Int J Cancer*, 2012, 131: E569–E578
- 365 Bu P, Zhuang J, Feng J, et al. Visualization of CD146 dimerization and its regulation in living cells. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1773: 513–520
- 366 Zhou J, Hu P, Si Z, et al. Treatment of hepatocellular carcinoma by intratumoral injection of ¹²⁵I-AA98 mAb and its efficacy assessments by molecular imaging. *Front Bioeng Biotechnol*, 2019, 7: 319
- 367 Cheng H. Inhibiting CD146 by its monoclonal antibody AA98 improves radiosensitivity of cervical cancer cells. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 3328–3333
- 368 Xing S, Luo Y, Liu Z, et al. Targeting endothelial CD146 attenuates colitis and prevents colitis-associated carcinogenesis. *Am J Pathol*, 2014, 184: 1604–1616
- 369 Garrigue P, Hache G, Bennis Y, et al. Erythropoietin pretreatment of transplanted endothelial colony-forming cells enhances recovery in a cerebral ischemia model by increasing their homing ability: A SPECT/CT study. *J Nucl Med*, 2016, 57: 1798–1804
- 370 Leslie M C, Bar-Eli M. Regulation of gene expression in melanoma: new approaches for treatment. *J Cell Biochem*, 2005, 94: 25–38
- 371 Zigler M, Villares &NA; G J, Lev D C, et al. Tumor immunotherapy in melanoma. *Am J Clin Dermatology*, 2008, 9: 307–311
- 372 Stalin J, Traboulsi W, Vivancos-Stalin L, et al. Therapeutic targeting of soluble CD146/MCAM with the M2J-1 monoclonal antibody prevents metastasis development and procoagulant activity in CD146-positive invasive tumors. *Int J Cancer*, 2020, 147: 1666–1679
- 373 England C G, Jiang D, Hernandez R, et al. ImmunoPET imaging of CD146 in murine models of intrapulmonary metastasis of non-small cell lung cancer. *Mol Pharm*, 2017, 14: 3239–3247
- 374 Ferreira C A, Hernandez R, Yang Y, et al. ImmunoPET of CD146 in a murine hindlimb ischemia model. *Mol Pharm*, 2018, 15: 3434–3441
- 375 Wei W, Jiang D, Ehlerding E B, et al. CD146-targeted multimodal image-guided photoimmunotherapy of melanoma. *Adv Sci*, 2019, 6: 1801237
- 376 Wang P, Qu Y, Li C, et al. Bio-functionalized dense-silica nanoparticles for MR/NIRF imaging of CD146 in gastric cancer. *IJN*, 2015, 10: 749
- 377 Shih I M, Nesbit M, Herlyn M, et al. A new Mel-CAM (CD146)-specific monoclonal antibody, MN-4, on paraffin-embedded tissue. *Mod Pathol*, 1998, 11: 1098–1106
- 378 Diedrichs-Möhrling M, Kaufmann U, Wildner G. The immunopathogenesis of chronic and relapsing autoimmune uveitis—Lessons from experimental rat models. *Prog Retinal Eye Res*, 2018, 65: 107–126
- 379 Schrage A, Lodenkemper C, Erben U, et al. Murine CD146 is widely expressed on endothelial cells and is recognized by the monoclonal antibody ME-9F1. *Histochem Cell Biol*, 2008, 129: 441–451
- 380 Westrom S, Bonsdorff T B, Abbas N, et al. Evaluation of CD146 as target for radioimmunotherapy against osteosarcoma. *PLoS ONE*, 2016, 11: e0165382
- 381 Shih I M, Kurman R J. Expression of melanoma cell adhesion molecule in intermediate trophoblast. *Lab Invest*, 1996, 75: 377–388
- 382 Wu G J, Wu M W H, Wang S W, et al. Isolation and characterization of the major form of human MUC18 cDNA gene and correlation of MUC18 over-expression in prostate cancer cell lines and tissues with malignant progression. *Gene*, 2001, 279: 17–31

- 383 Kebir A, Harhour K, Guillet B, et al. CD146 short isoform increases the proangiogenic potential of endothelial progenitor cells *in vitro* and *in vivo*. *Circ Res*, 2010, 107: 66–75
- 384 Hamano N, Kamoshida S, Kikkawa Y, et al. Development of antibody-modified nanobubbles using Fc-region-binding polypeptides for ultrasound imaging. *Pharmaceutics*, 2019, 11: 283
- 385 Keller T, Kalt R, Raab I, et al. Selection of scFv antibody fragments binding to human blood versus lymphatic endothelial surface antigens by direct cell phage display. *PLoS ONE*, 2015, 10: e0127169
- 386 Mohammadi M, Nejatollahi F, Ghasemi Y, et al. Anti-metastatic and anti-invasion effects of a specific anti-MUC18 scFv antibody on breast cancer cells. *Appl Biochem Biotechnol*, 2017, 181: 379–390
- 387 Wei P, Zhang Z H, Chen X L, et al. The expression and function of TARGET molecules of AA98 in the placenta of Rhesus monkeys (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2003, 48: 817–821 [魏鹏, 张志宏, 陈鑫磊, 等. AA98靶分子在恒河猴胎盘发生过程中的表达及功能. 科学通报, 2003, 48: 817–821]
- 388 Zhang Y, Zheng C, Zhang J, et al. Generation and characterization of a panel of monoclonal antibodies against distinct epitopes of human CD146. *Hybridoma*, 2008, 27: 345–352
- 389 Schweitzer C M, van Der Schoot C E, Drager A M, et al. Isolation and culture of human bone marrow endothelial cells. *Exp Hematol*, 1995, 23: 41–48
- 390 Onstenk W, Kraan J, Mostert B, et al. Improved circulating tumor cell detection by a combined EpCAM and MCAM CellSearch enrichment approach in patients with breast cancer undergoing neoadjuvant chemotherapy. *Mol Cancer Ther*, 2015, 14: 821–827
- 391 Bardin N, Moal V, Anfosso F, et al. Soluble CD146, a novel endothelial marker, is increased in physiopathological settings linked to endothelial junctional alteration. *Thromb Haemost*, 2003, 90: 915–920
- 392 Sari I, Yuksel A, Kozaci D, et al. The effect of regular colchicine treatment on biomarkers related with vascular injury in newly diagnosed patients with familial Mediterranean fever. *Inflammation*, 2012, 35: 1191–1197
- 393 Xia Y, Yang J, Sanyal A J, et al. Persistent hyperactivation of endothelial cells in patients with alcoholic hepatitis. *Alcohol Clin Exp Res*, 2020, 44: 1075–1087
- 394 Shih I, Wang T, Wu T, et al. Expression of Mel-CAM in implantation site intermediate trophoblastic cell line, IST-1, limits its migration on uterine smooth muscle cells. *J Cell Sci*, 1998, 111: 2655–2664
- 395 Thomann S, Longerich T, Bazhin A V, et al. Selective targeting of liver cancer with the endothelial marker CD146. *Oncotarget*, 2014, 5: 8614–8624
- 396 Pong Y H, Su Y R, Lo H W, et al. METCAM/MUC18 is a new early diagnostic biomarker for the malignant potential of prostate cancer: Validation with Western blot method, enzyme-linked immunosorbent assay and lateral flow immunoassay. *Cancer Biomark*, 2020, 27: 377–387

Review and prospect of CD146 research

DUAN HongXia¹, XIONG ChaoLiang^{1,2}, JING Lin^{1,2}, XU QingJi^{1,2}, LIU JingYu^{1,2}, MA XinRan^{1,2},
WANG DaJi³, XIANG JianQuan^{1,4}, HE ZhiHeng^{1,5}, FENG Jing¹ & YAN XiYun^{1,2,6}

1 Key Laboratory of Protein and Peptide Drugs, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

2 College of Life Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

3 Department of Otolaryngology and Institute of Translational Medicine, Shenzhen Second People's Hospital/the First Affiliated Hospital of Shenzhen University Health Science Center, Shenzhen, 518035, China;

4 Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China;

5 School of Future Technology, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;

6 Nanozyme Medical Center, School of Basic Medical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China

CD146 was initially identified as a marker of melanoma in 1987. The research history of more than 30 years revealed its physiological functions in early development, immune response, metabolism, and pathological functions in inflammation, autoimmune diseases, tumor and pregnancy diseases. The understanding of the functional mechanisms of CD146 has also changed from mediating cell migration as an adhesion molecule to receiving extracellular signals and activating various intracellular signaling pathways as a cell membrane receptor. The correlation of CD146 to various diseases, especially its roles in tumors, inspired the application explorations of CD146 in diagnosis, prognosis and targeted therapy of those diseases, some of which has entered the clinical stage. In this review, to understand CD146 in an all-round way and develop its application potential in biomedicine, we comprehensively reviewed and summarized the research history of CD146 and addressed the prospect of the fundamental questions in its research and development.

CD146, soluble CD146, angiogenesis, development, mesenchymal stem cells, tumor, inflammation, autoimmune disease, signal transduction, receptor, adhesion molecule

doi: [10.1360/SSV-2020-0238](https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0238)