

Wstęp: W szpiku kostnym oprócz komórek macierzystych hematopoezy znajdują się komórki macierzyste podścieliska szpiku, nazywane mezenchymalnymi komórkami macierzystymi. Są one najlepiej charakteryzowane ekspresją antygenów różnicowania komórkowego (CD – *cluster of differentiation*) CD105, CD90, CD44 i CD29.

Cel pracy: Analiza ekspresji antygeny CD105 w komórkach szpiku kostnym i krwi obwodowej u dzieci z chorobami nowotworowymi w różnych sytuacjach hematologicznych.

Materiał i metody: Badania przeprowadzono wśród 84 pacjentów, w tym u osób z ostrą białaczką limfoblastyczną w momencie rozpoznania oraz w remisji; i z guzami litymi, poddawanych przeszczepieniu autologicznych komórek hematopoetycznych oraz dzieci z prawidłowym szpikiem kostnym. We wszystkich przypadkach wykonywano oznaczenia ekspresji antygenów CD105 i CD34.

Wyniki: Stwierdzono większy odsetek komórek CD105+ w szpiku niż we krwi obwodowej u dzieci zdrowych, w trakcie chemioterapii oraz po stymulacji G-CSF. U dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną linii B-komórkowej stwierdzano podwyższony odsetek komórek CD105+ w momencie rozpoznania choroby. Odsetek ten zmniejszył się w trakcie chemioterapii. U chorych z guzami litymi, poddawanych stymulacji G-CSF (*granulocyte colony stimulating factor*, hematopoetyczny czynnik wzrostu kolonii granulocytów), przed separacją komórek hematopoetycznych, nastąpił wzrost ekspresji komórek o fenotypie CD105 w szpiku kostnym, ale nie we krwi obwodowej. U pacjentów po przeprowadzeniu zabiegu transplantacji komórek hematopoetycznych, obserwowano wzrost odsetka komórek CD105+ w szpiku kostnym. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy ekspresją CD105 i CD34 w szpiku kostnym i krwi obwodowej.

Wnioski: Ekspresja antygeny CD105 w szpiku i we krwi jest prawdopodobnie wypadkową ekspresji różnych, częściowo nakładających się populacji komórkowych. Ekspresja antygeny CD105 u dzieci może być podwyższona po chemioterapii, podawaniu G-CSF, a także przy rozpoznaniu ostrej białaczki limfoblastycznej.

Słowa kluczowe: CD105, CD34, białaczki, guzy lite, dzieci zdrowe.

Ekspresja CD105 w komórkach szpiku kostnego i krwi obwodowej u dzieci chorych na nowotwory

CD105 expression in bone marrow cells and peripheral blood lymphocytes in children with cancer

Jan Styczyński¹, Magdalena Piątkowska^{1,2}, Robert Dębski¹, Anna Krenska¹, Hanna Górnicka³, Elżbieta Hulek³, Małgorzata Kubicka¹, Beata Rafińska-Kuryło¹, Beata Kołodziej¹

¹Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, *Collegium Medicum* im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika

²Studenckie Towarzystwo Naukowe, *Collegium Medicum* im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika

³Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Bydgoszczy

Wstęp

W szpiku kostnym oprócz komórek macierzystych hematopoezy znajdują się komórki macierzyste podścieliska, nazywane mezenchymalnymi komórkami macierzystymi. Mają one zdolność do różnicowania się w komórki tkanki mezenchymalnej (takie jak osteocyty, chondrocyty i adipocyty) w warunkach *in vivo* i *in vitro* [1]. Multipotencjalne komórki mezenchymalne dawcy mogą ułatwiać rekonstrukcję hematologiczną biorcy po przeszczepieniu zarówno krwi pępowinowej, jak i szpiku kostnego. Efekt ten jest lepiej wyrażony u dzieci niż u pacjentów dorosłych. W badaniach komórek mezenchymalnych szpiku kostnego, pochodzącego od zdrowych dawców, dzieci i dorosłych wykazano, że najlepiej były one charakteryzowane ekspresją antygenów CD105, CD90, CD44 i CD29 [2], słabszymi markerami tych komórek były antygeny CD73 i CD106, natomiast komórki te były pozbawione ekspresji CD34, CD45 i CD14 [3, 4]. Obecność antygeny CD105 na komórkach szpiku kostnego umożliwia zaszeregowanie ich do populacji komórek mezenchymalnych. Zasadnicza różnica w zakresie komórek mezenchymalnych pochodzących od dzieci i dorosłych polegała na 2-krotnie większym potencjale wzrostowym komórek dziecięcych, stwierdzanym po 112 dniach hodowli [2].

CD105 (endoglin) jest przezbłonową fosforylowaną glikoproteiną o masie 180 kDa [5]. Część CD105 jest komponentą regulatorową kompleksu receptora dla TGF- β (*transforming growth factor β*), cytokiny zaangażowanej w procesie proliferacji, różnicowania i migracji komórek różnych komórek, w tym komórek szpiku kostnego [6, 7]. Jej funkcją jest modulacja odpowiedzi komórkowej TGF- β [7]. CD105 występuje w dwóch formach – L i S. Ekspresją CD105 charakteryzują się komórki mezenchymalne szpiku i innych tkanek, komórki śródbłonna naczyń krwionośnych, makrofagi, prekursor erytroidalne szpiku płodów i dorosłych, a także syncytiotrofoblast [7–9]. Podwyższoną ekspresją CD105 stwierdzano także na komórkach endotelium naczyniowego w tkankach, w których dochodziło do intensywnej angiogenezy, takich jak tkanki regenerujące się, objęte procesem zapalnym lub w guzach nowotworowych [8, 10]. Ekspresją CD105 stwierdzono również na komórkach niemających cech endotelium o zróżnicowanej histologii [11, 12].

W guzach litych CD105 jest obecny na komórkach endotelium zarówno w naczyniach wewnątrz guza, jak i w tkankach wokół guza nowotworowego oraz w elementach podścieliska samego guza [8, 10]. W szczególności, CD105

Background: Bone marrow contains hematopoietic stem cells and mesenchymal stem cells, which are best characterized by expression of CD105, CD90, CD44 and CD29 antigens.

Aim: Analysis of CD105 expression in bone marrow and peripheral blood cells of children with cancer in various clinical stages.

Material and methods: A total number of 84 children entered the study, including: patients with acute lymphoblastic leukemia at diagnosis and in remission; patients with solid tumors undergoing transplantation of autologous hematopoietic stem cell transplantation; and healthy controls. Expression of CD105 and CD34 was analyzed in all cases.

Results: Higher percentage of CD105+ cells was found in bone marrow than in peripheral blood: in healthy children, during chemotherapy and after stimulation with G-CSF.

Children with acute lymphoblastic leukemia at diagnosis had higher expression of CD105+ cells than healthy controls, however this expression decreased during chemotherapy. Patients with solid tumors, after G-CSF priming had an increase of CD105 in bone marrow but not in peripheral blood. After hematopoietic stem cell transplantation, an increase of bone marrow CD105 was observed. There was no correlation between expression of CD105 and CD34 cells.

Conclusions: Expression of CD105 in bone marrow and peripheral blood is probably related to overlapping of expression of different cell populations. Various clinical stages, such as chemotherapy, G-CSF administration and diagnosis of acute lymphoblastic leukemia might lead to an increase of CD105+ cells in children.

Key words: CD105, CD34, leukemia, solid tumors, healthy children.

posiada intensywną ekspresję w małych i prawdopodobnie również w niedojrzałych naczyniach guza, co wykazano w guzach gruczołu sutkowego, prostaty i żołądka [13–15]. Wykazano też obecność CD105 w cytoplazmie komórek nowotworowych [11, 12]. W tkance raka płuca, barwienie na CD105 wykazało jego obecność w rejonach aktywnej angiogenezy obejmującej obrzeże guza, natomiast było mniej zaznaczone w rejonie centralnym guza oraz było niewykrywalne w przylegającej prawidłowej tkance [16].

Celem pracy była analiza ekspresji antygeny CD105 w komórkach szpiku kostnym i krwi obwodowej u dzieci z chorobami nowotworowymi w różnych sytuacjach hematologicznych. Wyniki te odniesiono do ekspresji u dzieci zdrowych.

Pacjenci

Badania przeprowadzono wśród 84 pacjentów, których w zależności od rozpoznania klinicznego podzielono na 3 grupy (tab. 1.). Do grupy I włączono dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną (*acute lymphoblastic leukemia* – ALL) w momencie rozpoznania (szpik kostny, grupa IA) oraz w remisji, po zakończeniu terapii indukcyjnej (w szpiku kostnym, grupa IB i/lub krwi obwodowej, grupa IC). Z badań wykluczono pacjentów, u których stwierdzono ekspresję antygeny CD34 w momencie postawienia rozpoznania (ze względu na potencjalną koekspresję markera nowotworowego). Do grupy II włączono pacjentów z guzami litymi, których po zakończeniu chemioterapii, zakwalifikowano do mobilizacji komórek hematopoetycznych i poddano przeszczepieniu autologicznym komórkom hematopoetycznym. U pacjentów tych wykonywano badania we krwi obwodowej w trakcie aferez (grupa IIA). Oznaczenie wykonywano po co najmniej 3 dobach podawania G-CSF (Neupogen, Amgen, Thousand Oaks, CA, USA), w dobach 4.–8. W dniu poprzedzającym oznaczenie podawano podskórnie G-CSF. U 5 pacjentów podawano G-CSF w 2 niezależnych cyklach, ze względu na brak dostatecznej kolekcji komórek hematopoetycznych w poprzednim cyklu. Badania przeprowadzono również w aferezie (tj. produkcie aferezy komórek hematopoetycznych) krwi obwodowej (grupa IIB). W 6 przypadkach wykonano badania w szpiku kostnym po stymulacji G-CSF, który pobierano jako źródło komórek hematopoetycznych ze względu na niemożność przeprowadzenia separacji komórek krwi obwodowej (grupa IIC). U pacjentów w 28 dni po przeszczepieniu komórek hematopoetycznych (co najmniej 7 dni bez G-CSF) wykonano oznaczenia w szpiku kostnym (grupa IID). Do grupy III włączono dzieci z prawidłowym szpikiem kostnym (zdrowi dawcy szpiku kostnego lub pacjenci diagnozowani w kierunku choroby nowotworowej, u których nie potwierdzono tego rozpoznania, jak również objawów niewydolności szpiku), u których oznaczono ekspresję badanych antygenów w komórkach szpiku kostnego (grupa IIIA) i krwi obwodowej (grupa IIIB).

Metodyka

We wszystkich przypadkach wykonywano oznaczenia komórek CD105+ i komórek CD34+. Oznaczenia wykonywano na cytometrze przepływowym (Cytomics FC500, Beckman-Coulter, Miami, FL, USA). Ekspresję białego antygeny CD105 oznaczano, stosując mysie hybrydowe przeciwciała monoklonalne anti-CD105-RPE (Caltag, Burlingame, CA, USA) z mysią kontrolną izotypową anti-IgG1. Ekspresję CD34 badano stosując protokół ISHAGE, z jednoczesnym typowaniem komórek CD45+CD14- [17]. Według protokołu ISHAGE, populacja komórek hematopoetycznych znajduje się w obrębie komórek o parametrach odpowiadających limfocytom [17]. Do badań użyto następujące przeciwciała monoklonalne: anti-CD34-PerCP-Cy5.5 i CD14-PE/CD45-FITC (wszystkie Becton Dickinson Biosciences, San Jose, CA, USA). Oznaczano odsetek komórek wykazujących ekspresję badanego antygeny oraz średnią intensywność fluorescencji (MFI – *mean fluorescence intensity*) dla komórek wiążących odpowiednie przeciwciała sprzężone z fluorochromem. Aferezę komórek hematopoetycznych do ich przeszczepienia autologicznego wykonywano na separatorze Cobe-Spectra (Gambro, Lakewood,

Tabela 1. Charakterystyka pacjentów**Table 1.** Patients characteristics

Grupa	Charakterystyka	Liczba pacjentów	Wiek (mediana, zakres)	Liczba badań w podgrupach
I	ostra białaczka limfoblastyczna – nowe rozpoznanie	48	7 (1–16)	IA. Rozpoznanie (szpik) – 48 IB. Remisja (szpik) – 22 IC. Remisja (krew obwodowa) – 16
II	guzy łagodne – pacjenci poddawani TSK	25, w tym: • neuroblastoma – 12 • guzy mózgu – 7 • guzy nerki – 3 • guz Ewinga – 2 • guz germinalny – 1	7 (1–18)	podczas mobilizacji komórek hematopoetycznych: IIA. Krew obwodowa – 89 IIB. Aferezat – 78 IIC. Szpik kostny – 11 szpik kostny po przeszczepieniu – 22 (grupa IID)
III	grupa kontrolna	4 zdrowych dawców szpiku 7 pacjentów diagnozowanych w kierunku chorób nowotworowych	7 (4–13)	IIIA. Szpik kostny – 11 IIIB. Krew obwodowa – 11

Tabela 2. Ekspresja CD105 i CD34 w badanych populacjach komórkowych**Table 2.** Expression of CD105 and CD34 in studied cell populations

Grupa	Charakterystyka	CD105		CD34	
		mediana (zakres) [%]	p	mediana (zakres) [%]	p
IA	ALL (ostra białaczka limfoblastyczna) przy rozpoznaniu	1,06 (0,08–13,9)	0,001	0,18 (0,0–4,63)	<0,001
IB	szpik w trakcie chemioterapii	0,69 (0,44–2,20)	0,010	0,08 (0,00–1,21)	0,003
IC	krew w trakcie chemioterapii	0,37 (0,18–0,97)	0,030	0,02 (0,00–3,32)	0,093
IIA	krew obwodowa w trakcie aferezy	0,28 (0,02–12,0)	0,904	0,13 (0,01–4,35)	<0,001
IIB	aferezat krwi obwodowej	0,32 (0,02–5,09)	0,935	0,59 (0,03–6,80)	<0,001
IIC	szpik kostny stymulowany G-CSF	0,92 (0,67–1,17)	0,001	2,13 (0,15–16,0)	<0,001
IID	po przeszczepieniu (szpik)	1,19 (0,07–5,80)	0,001	0,61 (0,07–1,95)	<0,001
IIIA	grupa kontrolna – szpik	0,48 (0,10–2,05)	0,049	0,55 (0,08–1,24)	<0,001
IIIB	grupa kontrolna – krew	0,29 (0,11–0,39)		0,01 (0,00–0,02)	

p – wyznaczone testem U Manna-Whitney'a, w odniesieniu do wyników w grupie kontrolnej IIIB

CO, USA). Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę lokalnej komisji bioetycznej.

Metody statystyczne

Badane parametry przedstawiono jako medianę i zakres wartości. Różnice badanych parametrów pomiędzy badanymi grupami oznaczano testem U Manna-Whitneya. Korrelacje oceniono testem Spearmana.

Wyniki

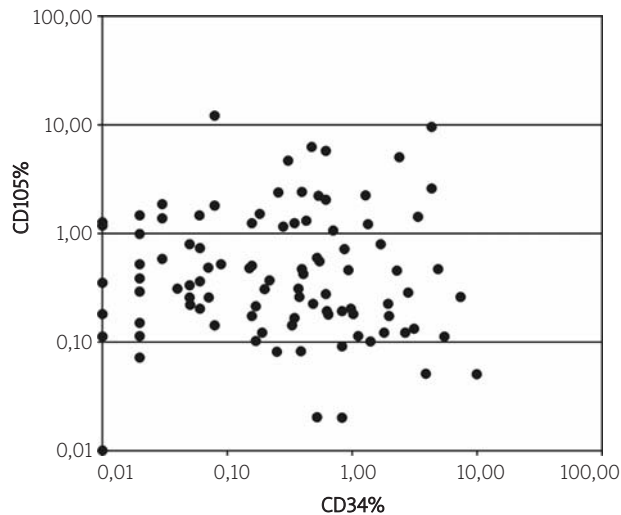
W badaniach wykazano dużą zmienność wyników w obrębie grup oraz pomiędzy grupami (tab. 2.). Stwierdzono większy odsetek komórek CD105 w szpiku niż we krwi obwodowej u dzieci zdrowych (mediana 0,48 vs 0,29%, $p=0,049$), w trakcie chemioterapii (mediana 0,69 vs 0,28%, $p=0,042$) oraz po stymulacji G-CSF (mediana 0,92 vs 0,28%, $p=0,001$).

U dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną linii B-komórkowej w momencie rozpoznania stwierdzano podwyższony odsetek komórek CD105 (grupa IA). Odsetek ten zmniejszał się w trakcie chemioterapii (grupa IB), lecz był wyższy niż w grupie kontrolnej (grupa IIIA).

U pacjentów z guzami litymi, poddawanych stymulacji G-CSF przed separacją komórek hematopoetycznych, nastąpił wzrost ekspresji komórek o fenotypie CD105 w szpiku kostnym (mediana 0,92 vs 0,48% w prawidłowym szpiku kostnym, $p=0,065$). Zjawiska tego nie obserwowano we krwi obwodowej po stymulacji G-CSF (mediana 0,29 vs 0,28%, grupa IIA). Afereza komórek jednojądrzastych również nie powodowała wzrostu kolekcji komórek CD105 (mediana 0,32 vs 0,28%, grupa IIB).

Po 28 dniach po przeprowadzeniu zabiegu transplantacji komórek hematopoetycznych, stwierdzono wzrost odsetka komórek CD105 w szpiku kostnym (1,19 vs 0,48% u pacjentów zdrowych).

W równolegle wykonanych badaniach ekspresji swoistego antygenu komórek hematopoetycznych CD34+ wykazano większą ekspresję tego antygenu w szpiku kostnym niż we krwi obwodowej u osób zdrowych (mediana 0,55 vs 0,01%, $p<0,001$), w trakcie chemioterapii (0,08 vs 0,02%, $p=0,003$) oraz po stymulacji G-CSF, zarówno w szpiku kostnym (mediana 2,13 vs 0,55%, $p<0,001$), jak i we krwi obwodowej (mediana 0,13 vs 0,01%, $p<0,001$). Odsetek komórek



Ryc. 1. Zależność pomiędzy ekspresją CD34 i CD105
Fig. 1. Relation between expression of CD105 and CD34

CD34 w aferezacie był 4,5-krotnie wyższy niż w odpowiadającym mu odsetkowi komórek CD34 we krwi obwodowej oznaczanym równolegle (mediana 0,59 vs 0,13%, $p < 0,001$). Wzrost odsetka komórek CD34 po 3-dniowej stymulacji G-CSF był wyższy w szpiku niż we krwi obwodowej (mediana 2,13 vs 0,13%, $p = 0,002$).

Po przeszczepieniu komórek hematopoetycznych, w odróżnieniu od komórek CD105, nie stwierdzono istotnego wzrostu odsetka komórek CD34 (0,61 vs 0,55%).

Nie stwierdzono korelacji pomiędzy ekspresją CD105 i CD34 ani w badaniach szpiku kostnego, ani krwi obwodowej, ani dla wszystkich badań łącznie ($p = 0,211$, ryc. 1).

Dyskusja

Antygen CD105 występuje na błonie komórkowej komórek mezenchymalnych, jak również proliferujących komórek śródbłonkowych. W hodowli komórek mezenchymalnych szpiku kostnego pacjentów z nowotworami hematologicznymi, o fenotypie CD105, CD90, CD184, HLA-DR stwierdzono, że wraz z nasileniem procesu angiogenezy następował spadek ekspresji CD105 i CD90 [18].

W przeprowadzonych badaniach w prawidłowym szpiku kostnym, po stymulacji z G-CSF stwierdzono prawie 2-krotny wzrost ekspresji komórek CD105+, co wskazuje na podatność tej populacji komórek na działanie czynników wzrostu hematopoetycy. W populacji tej były zarówno komórki mezenchymalne, jak i związane z angiogenezą [1, 9]. We krwi obwodowej odsetek komórek CD105 był niższy niż w szpiku kostnym, a po stymulacji z G-CSF ich odsetek nie wzrastał ani we krwi (grupa IIA), ani w aferezacie (grupa IIB). Ta populacja komórek była związana głównie z angiogenezą, a w znacznym mniejszym stopniu z komórkami mezenchymalnymi.

U dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną z prekursorów linii B-komórkowej (poza białaczkami z koekspresją antygeny CD34), odsetek komórek z ekspresją CD105 był wyższy niż w prawidłowym szpiku kostnym i wynosił 1,06%. W tej grupie pacjentów, antygen CD105 był związany z obecnością ko-

mórek mezenchymalnych, komórkami uczestniczącymi w angiogenezie, jak również występował częściowo na komórkach nowotworowych jako marker złośliwości komórek [18, 19]. W badaniach Al-Mowallad i wsp. u dzieci z ALL, w porównaniu z dziećmi zdrowymi, stwierdzono podwyższoną ekspresję osocznego antygeny CD105, przy jednoczesnym obniżeniu stężenia TGF- β 3, jednak zarówno CD105, jak i TGF- β 3 nie miały znaczenia prognostycznego [19].

Zaobserwowaliśmy również, że w stosunku do grupy kontrolnej, odsetek komórek z ekspresją CD105 był wyższy w pozostałych badanych grupach. Zarówno w szpiku kostnym, jak i krwi obwodowej w trakcie chemioterapii ostrej białaczki limfoblastycznej (w remisji, podczas badań kontrolnych wykonywanych planowo przed kolejnym etapem chemioterapii) wyższa ekspresja CD105 niż w grupie kontrolnej mogła się wiązać zarówno z pobudzeniem angiogenezy, jak również ze wzrostem potencjału regeneracyjnego związanego z obecnością komórek mezenchymalnych; ale może też oznaczać przetrwanie komórek białaczkowych, czyli obecność minimalnej choroby resztkowej. Znaczący wzrost odsetka komórek CD105 dodatnich obserwowano natomiast u pacjentów w 28 dni po przeszczepieniu autologicznych komórek hematopoetycznych. Zjawisko to było związane ze zwiększoną odbudową szpiku kostnego, przy niewątpliwym dużym udziale komórek mezenchymalnych.

Antygen CD105 występuje również z różną ekspresją na komórkach nowotworowych, mając różne znaczenie prognostyczne. Wysoka ekspresja tego antygeny okazała się niekorzystnym czynnikiem rokowniczym u pacjentów z rakiem jamy ustnej [20], jajnika [21], krtani [22], języka [23], jelita grubego [24]. Ekspresja antygeny CD105 w mikrokrążeniu (w badaniu immunohistochemicznym) była niezależnym czynnikiem prognostycznym wznowy i przerzutów u pacjentów z rakiem wątroby (*hepatocellular carcinoma*) [25]. Natomiast wysoka ekspresja CD105 w tkance raka jąsnokomórkowego nerki miała korzystne znaczenie prognostyczne [26].

W przeprowadzonych badaniach nie stwierdzono korelacji pomiędzy odsetkami komórek CD34 i komórek CD105, co wynika z faktu, że markery te charakteryzują odmienne populacje komórkowe. Niewielki odsetek progenitorowych komórek hematopoetycznych, który posiada fenotypowe i funkcjonalne cechy bardzo niedojrzałych komórek hematopoetycznych, posiada jednak ekspresję antygeny CD105. Komórki CD34+/CD105+ krążą we krwi obwodowej w wyniku mobilizacji. Potencjał hematopoetyczny komórek CD34+/CD105+ jest wzmacniany poprzez skojarzone działanie cytokin zarówno o działaniu hematopoetycznym, jak i niezwiązanym bezpośrednio z hematopoezą, takich jak ligand Flt3, erytropoetyna, interleukina-15, naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF) oraz endogenne TGF- β 1. CD105 jest nieobecny na bardzo prymitywnych ludzkich komórkach hematopoetycznych CD34-/lineage-/CD45+ (CD34-Lin-) obecnych we krwi pępowinowej. Jednak komórki te poddane działaniu TGF- β 1 *in vitro*, podlegają dojrzewaniu i różnicowaniu do komórek CD34+/CD105+ [27].

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że ekspresja antygeny CD105 u dzieci może być podwyższona w różnych sytuacjach. Na jego ekspresję może mieć wpływ

chemioterapia, podawanie hematopoetycznych czynników wzrostu, jak również rozwój ostrej białaczki limfoblastycznej. Ekspresja antygenu CD105 w szpiku i we krwi jest prawdopodobnie wypadkową ekspresji różnych, częściowo nakładających się populacji komórkowych. Otrzymane wyniki należy jednak traktować ostrożnie, ponieważ najczęściej porównywano grupy różnych pacjentów.

Praca powstała w ramach realizacji projektu uczelnianego BW 22/2006.

Piśmiennictwo

- Oswald J, Boxberger S, Jorgensen B, Feldmann S, Ehninger G, Bornhauser M, Werner C. Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells in vitro. *Stem Cells* 2004; 22: 377-84.
- Mareschi K, Ferrero I, Rustichelli D, Aschero S, Gammaitoni L, Aglietta M, Madon E, Fagioli F. Expansion of mesenchymal stem cells isolated from pediatric and adult donor bone marrow. *J Cell Biochem* 2006; 97: 744-54.
- Pozzi S, Lisini D, Podesta M, et al. Donor multipotent mesenchymal stromal cells may engraft in pediatric patients given either cord blood or bone marrow transplantation. *Exp Hematol* 2006; 34: 934-42.
- Finney MR, Greco NJ, Haynesworth SE, et al. Direct comparison of umbilical cord blood versus bone marrow-derived endothelial precursor cells in mediating neovascularization in response to vascular ischemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12: 585-93.
- Gougos A, Letarte M. Primary structure of endoglin, an RGD-containing glycoprotein of human endothelial cells. *J Biol Chem* 1990; 265: 8361-4.
- Lastres P, Martin-Perez J, Langa C, Bernabeu C. Phosphorylation of the human-transforming-growth-factor-beta-binding protein endoglin. *Biochem J* 1994; 301: 765-8.
- Lastres P, Letamendia A, Zhang H, et al. Endoglin modulates cellular responses to TGF-beta 1. *J Cell Biol* 1996; 133: 1109-21.
- Burrows FJ, Derbyshire EJ, Tazzari PL, et al. Up-regulation of endoglin on vascular endothelial cells in human solid tumors: implications for diagnosis and therapy. *Clin Cancer Res* 1995; 1: 1623-34.
- Fonsatti E, Jekunen AP, Kairemo KJ, et al. Endoglin is a suitable target for efficient imaging of solid tumors: in vivo evidence in a canine mammary carcinoma model. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 2037-43.
- Wang JM, Kumar S, Pye D, van Agthoven AJ, Krupinski J, Hunter RD. A monoclonal antibody detects heterogeneity in vascular endothelium of tumours and normal tissues. *Int J Cancer* 1993; 54: 363-70.
- Fonsatti E, Altomonte M, Nicotra MR, Natali PG, Maio M. Endoglin (CD105): a powerful therapeutic target on tumor-associated angiogenic blood vessels. *Oncogene* 2003; 22: 6557-63.
- Fonsatti E, Altomonte M, Arslan P, Maio M. Endoglin (CD105): a target for anti-angiogenic cancer therapy. *Curr Drug Targets* 2003; 4: 291-6.
- Wang JM, Kumar S, Pye D, Haboubi N, al-Nakib L. Breast carcinoma: comparative study of tumor vasculature using two endothelial cell markers. *J Natl Cancer Inst* 1994; 86: 386-8.
- Wikstrom P, Lissbrant IF, Stattin P, Egevad L, Bergh A. Endoglin (CD105) is expressed on immature blood vessels and is a marker for survival in prostate cancer. *Prostate* 2002; 51: 268-75.
- Yu JX, Zhang XT, Liao YQ, Zhang QY, Chen H, Lin M, Kumar S. Relationship between expression of CD105 and growth factors in malignant tumors of gastrointestinal tract and its significance. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2866-9.
- Miller DW, Graulich W, Karges B, et al. Elevated expression of endoglin, a component of the TGF-beta-receptor complex, correlates with proliferation of tumor endothelial cells. *Int J Cancer* 1999; 81: 568-72.
- Barnett D, Janossy G, Lubenko A, Matutes E, Newland A, Reilly JT. Guideline for the flow cytometric enumeration of CD34+ haematopoietic stem cells. Prepared by the CD34+ haematopoietic stem cell working party. General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. *Clin Lab Haematol* 1999; 21: 301-8.
- Campioni D, Moretti S, Ferrari L, Punturieri M, Castoldi GL, Lanza F. Immunophenotypic heterogeneity of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells from patients with hematologic disorders: correlation with bone marrow microenvironment. *Haematologica* 2006; 91: 364-8.
- Al-Mowallad A, Carr T, Al-Qouzi A, Li C, Byers R, Kumar S. Plasma CD105, TGFbeta-1, TGFbeta-3 and the ligand/receptor complexes in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Anticancer Res* 2006; 26: 543-7.
- Chien CY, Su CY, Hwang CF, Chuang HC, Chen CM, Huang CC. High expressions of CD105 and VEGF in early oral cancer predict potential cervical metastasis. *J Surg Oncol* 2006; 94: 413-17.
- Taskiran C, Erdem O, Onan A, et al. The prognostic value of endoglin (CD105) expression in ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16: 1789-93.
- Marioni G, Ottaviano G, Giacomelli L, Staffieri C, Casarotti-Todeschini S, Bonandini E, Staffieri A, Blandamura S. CD105-assessed micro-vessel density is associated with malignancy recurrence in laryngeal squamous cell carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2006.
- Chuang HC, Su CY, Huang HY, Chien CY, Chen CM, Huang CC. High expression of CD105 as a prognostic predictor of early tongue cancer. *Laryngoscope* 2006; 116: 1175-9.
- Romani AA, Borghetti AF, Del Rio P, Sianesi M, Soliani P. The risk of developing metastatic disease in colorectal cancer is related to CD105-positive vessel count. *J Surg Oncol* 2006; 93: 446-55.
- Yang LY, Lu WQ, Huang GW, Wang W. Correlation between CD105 expression and postoperative recurrence and metastasis of hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer* 2006; 6: 110.
- Sandlund J, Hedberg Y, Bergh A, Grankvist K, Ljungberg B, Rasmuson T. Endoglin (CD105) expression in human renal cell carcinoma. *BJU Int* 2006; 97: 706-10.
- Pierelli L, Bonanno G, Rutella S, Marone M, Scambia G, Leone G. CD105 (endoglin) expression on hematopoietic stem/progenitor cells. *Leuk Lymphoma* 2001; 42: 1195-206.

Adres do korespondencji

dr hab. med. **Jan Styczyński**

Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii
Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy
 Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika
 ul. Skłodowskiej-Curie 9
 85-094 Bydgoszcz
 tel. +48 52 585 48 60
 faks +48 52 585 48 67
 e-mail: jstyczynski@cm.umk.pl