

## 综述

## 内皮细胞间质转化的信号调节和生物学意义

何光庭、吴洁综述, 黄巧冰审校

**摘要** 在内皮细胞间质转化(Endo-MT)过程中, 内皮细胞间连接丢失, 失去内皮细胞特异性标志物血小板-内皮细胞黏附因子(CD31)和VE-钙黏蛋白(VE-cadherin), 获得间质细胞特异性标志物 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)、波形蛋白和成纤维细胞特异性蛋白1(FSP1)等, 并获得间质细胞运动和收缩的特性, 由原来的鹅卵石样结构转变为细长梭形结构, 同时其侵袭力明显增强。转化生长因子- $\beta$ 、Notch信号、Wnt信号以及MicroRNAs等参与对内皮间质转化的调节。Endo-MT参与了各种疾病, 如肿瘤、心、肺、肾等重要器官纤维化的发生、发展。

**关键词** 综述; 内皮细胞; 信号; 肿瘤; 纤维化

内皮细胞间质转化(Endo-MT)是内皮细胞间连接丢失、细胞形态改变和迁移进入周围组织的生物学过程。Endo-MT是上皮细胞间质转化(EMT)的一种, 是新近发现的一种细胞转化类型, 早期研究显示 Endo-MT 在胚胎期心内膜的发育中发挥了十分关键的作用<sup>[1]</sup>。然而, 近来研究显示 Endo-MT 与 EMT 一样, 也参与各种疾病的发生发展, 如肿瘤及心、肺、肾等重要器官的纤维化。

### 1 Endo-MT 的信号调节

Endo-MT 过程中, 内皮细胞失去特异性抗原, 如血小板-内皮细胞黏附因子(CD31)和VE-钙黏蛋白(VE-cadherin), 获得间质细胞抗原, 如 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)、波形蛋白和成纤维细胞特异性蛋白1(FSP1), 同时其功能发生明显改变, 并获得较强增殖或迁移能力。转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )、Notch信号、Wnt信号以及MicroRNAs等参与对Endo-MT的调节。

#### 1.1 TGF- $\beta$ 信号通路

TGF- $\beta$  是转化生长因子- $\beta$  超家族蛋白中的一种, 属于多功能蛋白质, 可以影响细胞的生长、分化、凋亡等过程。另外, 它还参与体内各种疾病如癌症<sup>[2]</sup>、心血管疾病<sup>[3]</sup>和组织纤维化<sup>[4]</sup>的发生。TGF- $\beta$  包括三个亚型:TGF- $\beta$  1、TGF- $\beta$  2 和 TGF- $\beta$  3。TGF- $\beta$  可以结合到细胞表面的 TGF- $\beta$  受体(TGF- $\beta$  R)从而将其激活, TGF- $\beta$  R 通过 Smad 依赖信号通路调控细胞内复杂的信号反应。

TGF- $\beta$  和骨形态发生蛋白(BMPs)均是通过具有高亲和力的跨膜 I 型和 II 型丝氨酸/苏氨酸激酶受体的联合作用介导信号从膜表面传递到细胞核<sup>[5]</sup>。配体和 II 型受体结合形成异四聚体后, 磷酸化 I 型受体使其活化。磷酸化的 I 型受体继而通过磷酸化细胞质中一组被称为 Smads (TGF- $\beta$  信号通路的主要胞内中介)的蛋白质使信号传递下去。TGF- $\beta$  I 型受体使 Smad2 和 Smad3 磷酸化, 而 BMP I 型受体则引起 Smad1、Smad5 和 Smad8 磷酸化。Smad1,2,3,5,8 为受体

调节性 Smads, 它们磷酸化后与共同 Smad 即 Smad4 发生联系。这些杂聚体 Smad 复合体入核后通过与其他转录因子协同作用来调节特异基因的转录应答, 调控 Endo-MT 发生<sup>[6]</sup>。TGF- $\beta$  通过 Smad4 依赖的信号途径, 上调细胞内鸟嘌呤核苷酸交换因子 Arhgef5 的表达, 参与对 Endo-MT 的调控; 研究中特异性下调 Arhgef5 的表达水平,  $\alpha$ -SMA 的表达部分减少, 但并没有被完全抑制, 说明在这个过程中可能还有其他因子参与<sup>[7]</sup>。 $\alpha$ -SMA 启动子含有心肌相关转录因子(MRTF-A)的作用位点 CArG 盒[CC(A/T)<sub>6</sub>GG], 当 TGF- $\beta$  诱导微血管内皮细胞发生 Endo-MT, MRTF-A 与血清应答因子(SRF)形成稳定的三元络合物结合到此位点, 诱导  $\alpha$ -SMA 表达, 间接参与调控 Endo-MT; 当这个位点发生突变, 间质细胞标志物表达亦受到抑制<sup>[8]</sup>。体内炎症因子<sup>[9]</sup>、血流高切应力<sup>[10]</sup>等也能够触发细胞内 TGF- $\beta$ /Smad 信号反应, 调节 Endo-MT。

除了 I 型和 II 型受体外, 参与 TGF- $\beta$  信号通路调控的还有辅助受体, 如 TGF- $\beta$  R III 和内皮糖蛋白(endoglin), 它们通过配合或增强配体和信号受体结合来调节 TGF- $\beta$  信号通路, 调节信号在细胞内的传递和定位, 参与调控 Endo-MT。

#### 1.2 Notch 信号通路

Notch 和 TGF- $\beta$  一样, 能够诱导体外培养的内皮细胞发生 Endo-MT。它通过调节转录因子 Snail、Slug 以及 ZEB1 的表达介导 Endo-MT。Notch 上调内皮细胞中 Snail 和 Slug 蛋白的表达<sup>[11]</sup>, Snail 和 Slug 是已知能抑制内皮细胞黏附分子 VE-cadherin 表达的转录因子, VE-cadherin 在维持内皮细胞间的稳定中发挥关键作用, 当它的表达受到抑制, 内皮细胞间黏附连接被破坏, 内皮细胞更容易发生表型转变。有研究表明<sup>[12]</sup>, 在房室管发育中, Notch 信号通路被激活, 诱导鸟苷酸环化酶异二聚体亚基 Gucy1a3 和 Gucy1b3 转录, Gucy1a3 和 Gucy1b3 构成 NO 受体, 同时促使内皮细胞分泌整合素 A, 进而激活磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B (PI3-kinase/

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81370226)

作者单位: 510515 广东省广州市, 南方医科大学第一临床医学院(何光庭、吴洁), 基础医学院(黄巧冰)

作者简介: 何光庭 在读本科 主要从事病理生理研究 Email: colin44@qq.com 通讯作者: 黄巧冰 Email: bing@smu.edu.cn

中图分类号: R541 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2016) 06-0622-03 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2016.06.025

Akt) 通路使 eNOS 磷酸化释放 NO, NO 与受体 Gucy1a3 和 Gucy1b3 相互作用, 调控内皮细胞转化, 促使房室管发育成熟。此过程中, Notch 信号通过释放可溶性 Notch 基因胞内段功能结构域 (NICD), 上调细胞内 Smad3 mRNA, 并且稳定 Smad3 蛋白, 与 TGF- $\beta$  共同调控 Endo-MT。

### 1.3 Wnt 信号通路

Wnt 是一种富含半胱氨酸残基的分泌型糖蛋白, Wnt- $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin) 通路是目前最经典的,  $\beta$ -catenin 是 Wnt 信号通路中的关键蛋白<sup>[13]</sup>。Wnt 配体与细胞表面受体 Frizzled 家族或低密度脂蛋白受体相关蛋白家族 LRP5/LRP6 结合形成复合物, 受体复合物招募散乱蛋白 (Dishevelled), 使 LRP5/LRP6 胞内段磷酸化, 稳定  $\beta$ -catenin, 同时抑制支架蛋白 Axin, 减弱其对  $\beta$ -catenin 的破坏, 从而引起  $\beta$ -catenin 在胞内积累<sup>[14]</sup>。大量游离  $\beta$ -catenin 在胞质中聚集并进入胞核内与 TGF- $\beta$  转录因子结合, 激活 Wnt 靶基因, 诱导内皮间质转化, 参与胚胎期心瓣膜形成<sup>[15]</sup>。

### 1.4 MicroRNAs 在调节内皮细胞间质转化中的作用

近年来发现 miRNAs 参与调节心血管的重塑<sup>[16]</sup>、纤维化变性以及肿瘤的发生发展, 并调控其中的 Endo-MT 过程。

在 Endo-MT 期间, 特定的 miRNAs 如 miR-125b, miR-Let-7c, miR-Let-7g, miR-21, miR-30b 和 miR-195 的水平显著升高, 而 miR-122a, miR-127, miR-196 和 miR-375 的水平显著下降<sup>[17]</sup>。胞内 p53 是 miR-125 的主要作用分子, 它能抑制 TGF- $\beta$  引起的纤维化反应<sup>[18]</sup>。目前的研究结果表明在心脏内皮细胞的 Endo-MT 期间胞内 p53 的水平显著降低。这提示, 增多的 miR-125 可能下调 p53, 而缺乏 p53 导致纤维化信号水平升高引发 Endo-MT<sup>[19]</sup>。另外, Kumarswamy 等<sup>[20]</sup>发现 miRNA-21 是引起人脐静脉内皮细胞发生 Endo-MT 的原因之一。但是, 关于 miRNAs 具体的调控机制尚不清楚。

## 2 Endo-MT 的生物学意义

### 2.1 Endo-MT 与肿瘤

内皮细胞是肿瘤微环境的组成成分之一<sup>[21]</sup>。因为很多肿瘤存在大量 TGF- $\beta$ , 所以肿瘤内的内皮细胞可能在旁分泌的 TGF- $\beta$  影响下发生 Endo-MT。

癌症相关纤维母细胞 (CAF) 通过自 / 旁分泌多种细胞因子如表皮细胞生长因子 (EGF)、血管内皮生长因子 (VEGF) 来促进癌细胞的新陈代谢、生长和转移, 促进癌巢的新血管生成, 吸引骨髓源细胞和免疫细胞等致瘤炎症细胞<sup>[22]</sup>。CAFs 有直接的促转移作用<sup>[23]</sup>; 具有缓冲能力, 能够移除毒性代谢物, 缓冲癌症细胞产生的酸性, 展现出一种代谢性的致癌效应<sup>[24]</sup>; 能影响恶性细胞对放化疗的敏感性<sup>[25]</sup>。而 CAF 可能来自 Endo-MT, 因为转化后的细胞同时表达内皮细胞和 CAF 的标志物 ( $\alpha$ -SMA 和 FSP1)<sup>[25]</sup>。因此, 抑制 Endo-MT 可能减少 CAF 的数量, 阻止肿瘤新血管的形成等, 抑制肿瘤的发展。

### 2.2 Endo-MT 与心脏等重要器官纤维化

心肌纤维化会导致心脏室壁硬化程度增加, 这与细胞外基质过度沉积导致正常心肌结构被破坏有关。有人认为心脏纤维化的主要介导细胞是 (肌) 成纤维细胞, 血管内皮细胞间质化是其来源之一<sup>[6]</sup>。Zeisberg 等<sup>[26]</sup>利用内皮起源的所有细胞不可逆地表达  $\beta$ -半乳糖苷酶 (LacZ) 的 Tie2-Cre/R26R-lox-STOP-lox-lacZ 转基因小鼠, 证实了 Endo-MT 是心脏成纤维细胞的来源之一, 发现纤维化的心脏中接近 1/3 的间质

细胞源自内皮细胞。

口服 NO 合酶抑制剂长期抑制 NO 合成会导致心脏在血管紧张素 II 的 I 型受体依赖性通路中提早产生 TGF- $\beta$  和心脏纤维化<sup>[27]</sup>。说明 NO 可能通过促进 TGF- $\beta$  生成参与 Endo-MT。

TGF- $\beta$  介导的 Endo-MT 不只导致促纤维化的成纤维细胞的数量增多。由于 Endo-MT, 微血管内皮细胞减少, 这可能使毛细血管密度变小导致慢性缺氧<sup>[28]</sup>。这会上调间质成纤维细胞的 TGF- $\beta$  表达, 促进炎症细胞如巨噬细胞和 T 细胞的聚集, 加剧纤维化过程。

在肾脏纤维化中, Endo-MT 有利于活化的成纤维细胞和肌成纤维细胞的积累。在肾脏纤维化中, 约有 30%~50% 的成纤维细胞表达内皮细胞标志物 CD31, 同时表达成纤维细胞和肌成纤维细胞各自的特异标志物 FSP1 和  $\alpha$ -SMA<sup>[29]</sup>。Endo-MT 是引起糖尿病肾病纤维化发展的一条新通路, 利用 TGF- $\beta$  通路抑制物如特定的 Smad3 抑制物 SIS3 阻断 Endo-MT 可能阻碍糖尿病肾病和其他纤维化的进程<sup>[30]</sup>。

在博来霉素诱导的肺纤维化模型中, 肺内皮细胞能通过 Endo-MT 使活化的成纤维细胞数量大增<sup>[31]</sup>。用肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (RAAS) 激活剂和 TGF- $\beta$  联合处理后, 肺微血管内皮细胞特定标志物大量丢失, 同时诱导出明显的间质细胞表型——纤维连接蛋白表达提高 20 倍, 胶原 I 表达提高 10 倍, 无论是在体内还是体外, 去除 TGF- $\beta$  刺激后, 只用有活性的 Ras 刺激, 上述内皮细胞标志物表达变化的情况依旧, 说明这种表型改变是不可逆的<sup>[29]</sup>。

## 3 展望

Endo-MT 参与各种疾病的发生发展, 是心、肺、肾等重要器官纤维化的一个关键转变, 还与肿瘤的发展有关, 探索 Endo-MT 过程中重要信号通路及因子的作用机制, 可能为多种疾病的预防和治疗提供新的指导意见, 为抗纤维化及肿瘤治疗提供潜在的靶点。

## 参考文献

- [1] Xu X, Tan X, Tampe B, et al. Snail is a direct target of hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF1alpha) in hypoxia-induced endothelial to mesenchymal transition of human coronary endothelial cells. *J Biol Chem*, 2015, 290: 16653-16664.
- [2] Medici D, Kalluri R. Endothelial-mesenchymal transition and its contribution to the emergence of stem cell phenotype. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22: 379-384.
- [3] 李金, 项海燕, 唐燕华. 转化生长因子- $\beta$ /Smad 信号通路在胸主动脉瘤中的研究进展. *中国循环杂志*, 2014, 29: 957-960.
- [4] 程显禄, 黄琦磊, 张建成. 转化生长因子- $\beta$ 1 和阿托伐他汀对人心房成纤维细胞 I 型胶原和 Smads 蛋白表达的影响. *中国循环杂志*, 2015, 30: 562-566.
- [5] Zeng Z, de Gorter DJ, Kowalski M, et al. Ter94/VCP is a novel component involved in BMP signaling. *PLoS One*, 2014, 9: e114475.
- [6] Kassem L, Deygas M, Fattet L, et al. TIF1gamma interferes with TGFbeta1/SMAD4 signaling to promote poor outcome in operable breast cancer patients. *BMC Cancer*, 2015, 15: 453.
- [7] Mihira H, Suzuki HI, Akatsu Y, et al. TGF-beta-induced mesenchymal transition of MS-1 endothelial cells requires Smad-dependent cooperative activation of Rho signals and MRTF-A. *J Biochem*, 2012, 151: 145-156.

- [8] Penke LR, Huang SK, White ES, et al. Prostaglandin E2 inhibits alpha-smooth muscle actin transcription during myofibroblast differentiation via distinct mechanisms of modulation of serum response factor and myocardin-related transcription factor-A. *J Biol Chem*, 2014, 289: 17151-17162.
- [9] Fleenor BS, Marshall KD, Rippe C, et al. Replicative aging induces endothelial to mesenchymal transition in human aortic endothelial cells: potential role of inflammation. *J Vasc Res*, 2012, 49: 59-64.
- [10] Ten DP, Egorova AD, Goumans MJ, et al. TGF-beta signaling in endothelial-to-mesenchymal transition: the role of shear stress and primary cilia. *Sci Signal*, 2012, 5: t2.
- [11] Zhang CC, Yan Z, Zong Q, et al. Synergistic effect of the gamma-secretase inhibitor PF-03084014 and docetaxel in breast cancer models. *Stem Cells Transl Med*, 2013, 2: 233-242.
- [12] Chang AC, Fu Y, Garside VC, et al. Notch initiates the endothelial-to-mesenchymal transition in the atrioventricular canal through autocrine activation of soluble guanylyl cyclase. *Dev Cell*, 2011, 21: 288-300.
- [13] Zhang RR, Gui YH, Wang X. Role of the canonical Wnt signaling pathway in heart valve development. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*, 2015, 17: 757-762.
- [14] Verkaar F, Zaman GJ. New avenues to target Wnt/beta-catenin signaling. *Drug Discov Today*, 2011, 16: 35-41.
- [15] Balachandran K, Alford PW, Wylie-Sears J, et al. Cyclic strain induces dual-mode endothelial-mesenchymal transformation of the cardiac valve. *Proc Natl Acad Sci US A*, 2011, 108: 19943-19948.
- [16] Lovren F, Pan Y, Quan A, et al. MicroRNA-145 targeted therapy reduces atherosclerosis. *Circulation*, 2012, 126: S81-S90.
- [17] Ghosh AK, Nagpal V, Covington JW, et al. Molecular basis of cardiac endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT): differential expression of microRNAs during EndMT. *Cell Signal*, 2012, 24: 1031-1036.
- [18] Unal B, Alan S, Bassorgun CI, et al. The divergent roles of growth differentiation factor-15 (GDF-15) in benign and malignant skin pathologies. *Arch Dermatol Res*, 2015, 307: 551-557.
- [19] Wang X, Ha T, Zou J, et al. MicroRNA-125b protects against myocardial ischaemia/reperfusion injury via targeting p53-mediated apoptotic signalling and TRAF6. *Cardiovasc Res*, 2014, 102: 385-395.
- [20] Kumarwamy R, Volkmann I, Jazbutyte V, et al. Transforming growth factor-beta-induced endothelial-to-mesenchymal transition is partly mediated by microRNA-21. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32: 361-369.
- [21] 慎浩鑫, 宋虎伟, 王林, 等. 肿瘤相关成纤维细胞研究进展. *中华实验外科杂志*, 2015, 32: 2612-2614.
- [22] Horie M, Saito A, Yamaguchi Y, et al. Three-dimensional Co-culture model for tumor-stromal interaction. *J Vis Exp*. 2015, 2. doi: 10.3791/52469.
- [23] Gonzalez-Zubeldia I, Dotor J, Redrado M, et al. Co-migration of colon cancer cells and CAFs induced by TGFbeta(1) enhances liver metastasis. *Cell Tissue Res*, 2015, 359: 829-839.
- [24] Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Harris AL, et al. Comparison of metabolic pathways between cancer cells and stromal cells in colorectal carcinomas: a metabolic survival role for tumor-associated stroma. *Cancer Res*, 2006, 66: 632-637.
- [25] Zeisberg EM, Potenta S, Xie L, et al. Discovery of endothelial to mesenchymal transition as a source for carcinoma-associated fibroblasts. *Cancer Res*, 2007, 67: 10123-10128.
- [26] Zeisberg EM, Tarnavski O, Zeisberg M, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis. *Nat Med*, 2007, 13: 952-961.
- [27] Tomita H, Egashira K, Ohara Y, et al. Early induction of transforming growth factor-beta via angiotensin II type 1 receptors contributes to cardiac fibrosis induced by long-term blockade of nitric oxide synthesis in rats. *Hypertension*, 1998, 32: 273-279.
- [28] Martinez L, Gomez C, Vazquez-Padron R I. Age-related changes in monocytes exacerbate neointimal hyperplasia after vascular injury. *Oncotarget*, 2015, 6: 17054-17064.
- [29] Piera-Velazquez S, Li Z, Jimenez SA. Role of endothelial-mesenchymal transition (EndoMT) in the pathogenesis of fibrotic disorders. *Am J Pathol*, 2011, 179: 1074-1080.
- [30] Li J, Qu X, Yao J, et al. Blockade of endothelial-mesenchymal transition by a Smad3 inhibitor delays the early development of streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *Diabetes*, 2010, 59: 2612-2624.
- [31] Hashimoto N, Phan SH, Imaizumi K, et al. Endothelial-mesenchymal transition in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010, 43: 161-172.

( 收稿日期: 2015-09-29 )

( 编辑: 汪碧蓉 )