

内皮-间质转化与心血管疾病的研究进展*

张晶晶^{1, 2)**} 游咏^{1)**} 李熠¹⁾ 桂庆军¹⁾ 冯聚玲¹⁾ 尹凯^{1, 3)***}

(¹⁾ 南华大学医学院转化医学研究室, 衡阳 421001; (²⁾ 南华大学附属第一医院心内科, 衡阳 421001;

(³⁾ 南华大学心血管疾病研究所, 动脉硬化学湖南省重点实验室, 衡阳 421001)

摘要 内皮-间质转化(endothelial-to-mesenchymal transition, EndMT)属于上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)的特殊类型, 是内皮细胞在多种刺激因素作用下向间充质细胞转化的过程, 在此过程中内皮细胞逐渐失去其形态和功能, 获得增殖、迁移和合成胶原等间充质细胞表型特点。近来研究发现, 内皮-间质转化在内皮功能调节, 心肌、血管及瓣膜的发育和结构重塑等方面发挥着关键的作用, 提示其在心血管疾病领域具有重要的研究意义。本文对内皮-间质转化的特点、功能、调节机制以及在心血管系统发育、心肌纤维化、肺动脉高压和动脉粥样硬化性血管重构等心血管疾病中的作用做一综述, 以期为中心血管疾病的防治提供新靶点。

关键词 内皮-间质转化, 心血管疾病, 血管重构, 心肌纤维化

学科分类号 R363

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0060

上皮-间质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)即上皮细胞失去黏附连接和极化, 向间充质细胞转化的过程, 是参与组织间质形成、调节胚胎发育、损伤后修复和恶性肿瘤发生发展的重要过程^[1]。内皮细胞作为形成血管内壁的一层扁平细胞, 与上皮细胞同属于上皮组织, 因此具有上皮细胞顶-底极性、细胞-细胞紧密黏连、形成脉管等特点。研究发现, 内皮细胞在多种因素作用下, 同样具有向间充质细胞转化的特点, 如下调内皮细胞的表面标记物、上调间充质细胞的表面标记物、改变细胞形态、增殖、侵袭和激活胞内胶原合成的信号通路等特点, 因此内皮-间质转化(endothelial-to-mesenchymal transition, EndMT)被认为是EMT的一种特殊类型^[2-3]。相对于EMT, EndMT的研究较少, 然而近年来越来越多的研究显示, EndMT在胚胎期心血管系统的发育、成人心脏、血管组织重构和心脏瓣膜病变等过程中发挥着关键的生理和病理作用, 提示EndMT可能是心血管疾病防治的重要靶点^[4-6]。本文从EndMT的特点、功能、调控机制以及在心血管疾病中的作用做一综述, 为心血管疾病提供新的防治靶点和理论依据。

1 内皮-间质转化与心血管系统

Markwald等^[7]在研究大鼠心脏发育时发现, 在房室管区域有一种特殊的内皮细胞能够转化为间充质样细胞, 该细胞具有向心内膜下迁移、增殖、合成心胶质的特点, 是胚胎时期形成心内膜垫和心脏瓣膜的关键机制。脊椎动物胚胎心脏内膜细胞最初表现为血小板-内皮细胞黏附分子(CD31)、血管内皮钙黏着蛋白(VE-cadherin)、血管生成素受体1/2(Tie1/2)和血管内皮生长因子受体1/2(vascular endothelial growth factor1/2, VEGFR1/2)阳性的内皮细胞表型。在发育过程中, 心内膜细胞逐渐失去细胞-细胞和细胞-基质之间的连接, 细胞形态逐渐转变为梭形, 表达成纤维细胞特异性蛋白1(fibroblast specific protein 1, FSP1)和 α 平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA), 并合成I型

* 国家自然科学基金资助项目(81100213, 81470569)。

** 共同第一作者。

** 通讯联系人。

Tel: 0734-8281412, E-mail: kaiyinby@hotmail.com

收稿日期: 2015-03-06, 接受日期: 2015-05-22

和Ⅲ型胶原^[8-10]。

除了调节心脏发育, EndMT 在胚胎期血管发育中同样起着关键作用。Arciniegas 等^[11]发现 EndMT 是肺动脉发育的重要机制。利用免疫胶体金技术, DeRuiter 等^[12]发现主动脉发育过程中内皮细胞逐渐向内皮下迁移并表达 α -SMA 等间充质标记物。Hall 等^[13]也证实在人类肺动脉内膜形成过程中, 内皮细胞可向平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMCs)转化。在冠状动脉形成过程中, 心外膜 EMT 可能是形成冠脉管腔平滑肌细胞和周围心肌细胞的重要因素^[14-15]。而且, 研究还发现, 间充质细胞向内皮细胞转化, 即间质 - 内皮转化(mesenchymal-endothelial transition, MEndoT)参与了急性心肌缺血损伤后血管新生的调节过程^[16], 提示 EndMT 与 MEndoT 的交互调节是保持心血管系统功能和代偿的重要机制。

2 内皮-间质转化及其机制

多种刺激因素通过胞内信号途径和转录因子, 如 Snail、核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、Slug、Zeb1/2、Twist 等参与了 EndMT 过程(图 1, 表 1)。这些信号途径和转录因子交互调节, 形成一个复杂的调控网络, 参与细胞形态和基因表达的变化^[9-10, 17-18]。近来研究还发现, 部分 EndMT (partial endothelial-to-mesenchymal transition, pEndMT), 即内皮细胞向间充质细胞转化过程中仍然保留部分内皮细胞特性, 如细胞 - 细胞黏附、顶 - 底极化等, 可能是血管新生的关键机制^[19](图 1), 然而其具体的调控机制以及与经典 EndMT 在生物学意义上的区别还有待进一步研究。最近, Welch 等^[20]发现, 在血管新生过程中, 内皮细胞 Slug 的表达明显增高, 并通过上调膜型基质金属蛋白酶 1(membrane type 1 matrix metalloproteinase, MT1-MMP)的表达, 促进内皮细胞迁移。然而, 过表达 Slug 对 VE-cadherin 的表达并无影响, 也不改变内皮细胞 - 内皮细胞之间的黏附, 提示非 VE-cadherin 依赖的 Slug 途径在 pEndMT 过程中起着关键作用。

2.1 EndMT调节因子

多种细胞因子参与了 EndMT 的调节过程(表 1)。转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF β)是调节细胞生长、分化和凋亡的多功能蛋白, 其家族成员 TGF β 1、TGF β 2 和 TGF β 3 是目前

研究调节 EndMT 最为深入的细胞因子之一^[18, 21-22]。

多种信号转导途径包括 Sma 和 Mad 相关蛋白(Sma and Mad related protein, SMAD)、RHO 小 G 蛋白相关激酶(Rho GTPase-associated kinases, ROCK)、p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38-mitogen-activated protein kinase, p38-MAPK)、细胞外信号调节激酶(extracellular-signal-regulated kinase, ERK)和磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)等介导 TGF β 对 EndMT 的调节作用^[18, 21-22]。成纤维生长因子(fibroblast growth factor, FGF)是促进血管生成和胚胎发育的一种活性多肽, FGF-2 能够通过激活 Ras/MAPK 信号途径调节淋巴管内皮 EndMT^[23]。碱性成纤维生长因子(baseline fibroblast growth factor, bFGF)能够通过调节 Let-7 小 RNA(micro RNA, miRNA)的表达激活 TGF β 信号, 参与对 EndMT 的调节过程^[24]。炎症细胞因子 - 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)和 IL-6 能够通过 NF- κ B/TGF β /FGF-2 途径促进内皮细胞 EndMT^[25-26]。胰岛素样生长因子 II (insulin-like growth factor II, IGF II)是调节血管新生的重要细胞因子, Arciniegas 等^[27]发现 IGF2 能够通过甘露糖 -6- 磷酸 / 胰岛素样生长因子 II 受体(mannose 6- phosphate/insulin like growth factor II receptor, M6P/IGF II R)依赖的途径促进人主动脉内皮细胞 EndMT。利用肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)转基因小鼠、人冠状动脉内皮细胞和人心肌成纤维细胞, Okayama 等^[28]发现 HGF 能够抑制 TGF β 1 诱导的人冠状动脉内皮细胞 EndMT 及成纤维细胞 / 肌成纤维细胞分化, 从而减轻小鼠压力负荷下的心肌纤维化。

多种血管活性物质参与了 EndMT 的调节过程(表 1)。内皮素(endothelin-1, ET-1)是由血管内皮细胞分泌的一种调节血管收缩的物质。Widyantoro 等^[29]发现, 敲除 ET-1 基因抑制糖尿病小鼠心肌组织 EndMT, 降低同时表达内皮和间充质标记物细胞的数量和心肌纤维化, 提示 ET-1 可能通过 EndMT 参与糖尿病患者心力衰竭的调节。纤溶酶原激活物抑制剂(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)是体内调节纤溶活性最重要的血管活性物质。相对于野生型小鼠, PAI-1 基因敲除小鼠 TGF β 1/2 和基质金属蛋白酶 2/9(matrix metalloproteinase-2/9)的水平明显增高, 心肌组织 EndMT 明显增强, 提示 PAI-1 抑制可能通过调节 TGF β /

EndMT 途径拮抗心肌纤维化过程^[30]。高糖和高脂是心血管疾病进展的重要危险因素, Tang 等^[31]发现高糖刺激的人主动脉内皮细胞 FSP1 和 α -SMA 的表达明显增高, 这种效应与高糖诱导血管紧张 II (angiotensin II, Ang II) 介导的 EndMT 有关。在糖尿病大鼠, 同一研究组报道, 高糖通过激活心肌组织 Ang II 介导的 EndMT, 促进心肌肥厚^[32]。这些研究提示高糖 / Ang II / EndMT 通路可能是糖尿病罹患心血管并发症的重要机制。在体外, 氧化低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoprotein, oxLDL) 能够显著增强放射线刺激下人主动脉内皮细胞 EndMT^[33]; 在体内, oxLDL 通过调节 EndMT 促进 apoE 敲除小鼠动脉粥样硬化(atherosclerosis, As) 的发生发展^[33]。

组蛋白去乙酰化酶是对染色体的结构修饰和基因表达调控发挥作用的蛋白酶。研究发现, 组蛋白去乙酰化酶 3(histone deacetylase 3, HDAC3) 的一种新的剪切体 HD3 α 通过 PI3K/Akt 依赖和 TGF β 2 依赖的途径调节 EndMT, 提示其在维持内皮完整性中的重要作用^[34]。卡波济肉瘤相关疱疹病毒(Kaposi's sarcoma -associated herpesvirus, KSHV) 是卡波济肉瘤(Kaposi's sarcoma, KS) 形成的主要因素, 研究发现, 感染 KSHV 的人皮肤微血管内皮细胞 CD31 和 VE-cadherin 的表达明显减少, 血小板源性生长因子受体 β (platelet-derived growth factor receptor β , PDGFR β) 和 α -SMA 等间充质标记物的表达明显增高, 而且细胞呈现出明显的侵袭与增殖表型, 提示 KSHV 可能通过调节 EndMT 参与 KS 的发生发展^[35]。

2.2 EndMT的信号转导机制

相对于 EMT, 研究者对 EndMT 的信号转导机制研究较少。通常认为, 有以下信号转导途径, 如 Smad、Wnt、Notch、酪氨酸激酶受体(receptor tyrosine kinases, RTK) 等参与了 EMT/EndMT 的调节过程。

a. Smad 依赖的 TGF β 信号途径。胞质蛋白 Smad 是 TGF β 受体下游最为关键的信号转导因子。在内皮细胞, 激活素受体样激酶 1 和 5(activin receptor-like kinases-1, 5, ALK-1, 5) 是 TGF β 的主要受体。TGF β 通过 Yes 相关蛋白 1(Yes-associated protein 1, YAP1) 调节 Smad2/3/4 的核内转移, 激活转录因子 Snail、Twist1 和 Slug, 参与 EndMT^[36]。Mihira 等^[37]报道, TGF β 通过 Smad 依赖的方式上

调 Rho 鸟嘌呤核苷酸交换因子 5(Rho guanine nucleotide exchange factor 5, ARHGEF5) 和心肌相关转录因子 A(myocardin-related transcription factor-A, MRTF-A) 促进 EndMT 过程中 α -SMA 的表达。

b. 非 Smad 依赖的 TGF β 信号途径。多种非 Smad 信号途径介导了 TGF β 调节 EndMT 的作用。Medici 等^[20]报道, TGF β 2 除了激活 Smad, 还通过激活 ERK、p38MAPK 和 PI3K 途径上调 Snail 的表达, 抑制上述信号途径明显降低 TGF β 2 对 Snail 和 EndMT 的调节作用。TGF β 3 则可通过 Rho 激酶(Rho kinase, ROCK) 和活化素受体样激酶 2(activin receptor-Like Kinase 2, ALK2) 上调 EndMT^[22]。

c. Wnt 信号通路。Wnt 信号途径主要通过 Wnt 蛋白与细胞表面受体相互作用, 从而调节细胞的增殖、分化, 并能影响细胞迁移。在急性心肌梗死动物模型, 心外膜下血管内皮细胞经典 Wnt/ β 连环蛋白信号通路迅速被激活, 并促进 EndMT 及其介导的心肌修复过程^[38]。Liu 等^[39]报道, C3a/C5a 及其下游经典 Wnt/ β 连环蛋白信号参与了 EndMT。在斑马鱼模型, KIM 等^[40]报道经典 Wnt/ β 连环蛋白通过骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP) 调节房室管内膜细胞 EndMT。然而, 在人主动脉内皮细胞, Cheng 等^[41]报道非经典 Wnt7b 信号能够抑制 EndMT, 维持内皮细胞形态和功能, 提示不同的 Wnt 信号对 EndMT 具有不同的调节作用。

d. Notch 信号通路。哺乳动物含 4 种同源 Notch 受体(Notch1~4) 和 5 种同源配体(Dll1、Dll3、Dll4、Jag1、Jag2), 配 / 受体结合激活下游靶基因 Hes 家族和 Hey 家族, 进而调控下游蛋白表达。Liu 等^[42]报道小鼠内皮细胞特异性过表达 Notch1 上调 Snail 和 α -SMA 的表达, 促进胚胎心脏 EndMT, 抑制胚胎心脏血管系统的形成。而内皮细胞特异性敲除 Notch1 的配体 Jag1 则明显抑制胚胎和成体心脏 EndMT, 降低心内膜垫的形成和心脏瓣膜钙化^[43]。

e. RTK 信号通路。Tie 是新发现的能够与血管生成素结合的酪氨酸激酶受体, 分为 Tie1 和 Tie2 两型。Garcia 等^[45]报道 Tie1 在人类内皮细胞 EndMT 中发挥着关键作用, 敲除 Tie1 通过激活 Erk1/2/5 和 Akt 上调 Snail 并介导 EndMT 发生。蛋白激酶 1(protein kinase 1, PDK1) 是酪氨酸激酶受

体 Tie2 的下游信号分子, 特异性敲除内皮细胞 PDK1 能够抑制内皮细胞 Snail 表达和 EndMT, 提示 Tie1/Tie2 对 EndMT 具有不同的调节效应, 其具体机制还有待进一步探讨^[46].

Table 1 The regulation and signal pathway of endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT)				
表 1 内皮-间质转化的调节及其信号转导机制				
细胞因子	信号途径	效应 / 转录因子	调节效应	参考文献
转化生长因子 β (TGF β)	Smad、p38MAPK、ERK、PI3K、ALK2、ROCK	Snail	上调心脏和血管内皮 EndMT	[18, 21-22]
成纤维生长因子(FGF)	Ras-MAPK、Let7、Smad2	Snail	上调淋巴管和移植动脉桥 EndMT	[23-24]
胰岛素样生长因子(IGF1)	M6P/ IGF II R	—	上调胚胎主动脉内皮细胞 EndMT	[27]
血管内皮生长因子(VEGF)	TGF β 2 相关信号通路	TGF β 2	上调人肺动脉瓣内皮细胞 EndMT	[44]
肝细胞生长因子(HGF)	抑制 TGF β 1 和血管紧张素 II 信号	—	下调人冠状动脉和心肌 EndMT	[28]
肿瘤坏死因子(TNF α)	ALK2、ALK5、AKT/ MAPK	NF-kappaB	上调猪主动脉瓣内皮细胞 EndMT	[25]
白细胞介素 6(IL-6)	—	—	—	—
白细胞介素 1 β (IL-1 β)	TRAF6、IRAK、PI3K	NF-kappaB	上调人角膜内皮细胞 EndMT	[26]
内皮素 -1(ET-1)	TGF β 相关信号通路	TGF β	上调糖尿病心脏内皮细胞 EndMT	[29]
纤溶酶原激活物抑制剂(PAI-1)	Smad2/3、ERK、AKT	抑制 MMP2/9、TGF β	下调心肌 EndMT	[30]
高糖(High glucose)	—	血管紧张素 II	上调人主动脉内皮细胞和糖尿病大鼠心肌 EndMT	[31-32]
氧化低密度脂蛋白(oxLDL)	—	放射线	上调人主动脉内皮细胞 EndMT	[33]
组蛋白去乙酰化酶 3(HDAC3)	Wnt/ β 连环蛋白、AKT	HD3 α 、TGF β 2	上调人主动脉内皮细胞 EndMT	[34, 40]
卡波济肉瘤相关疱疹病毒(KSHV)	Notch 信号途径	Slug、ZEB1	人皮肤微血管内皮细胞 EndMT	[35]

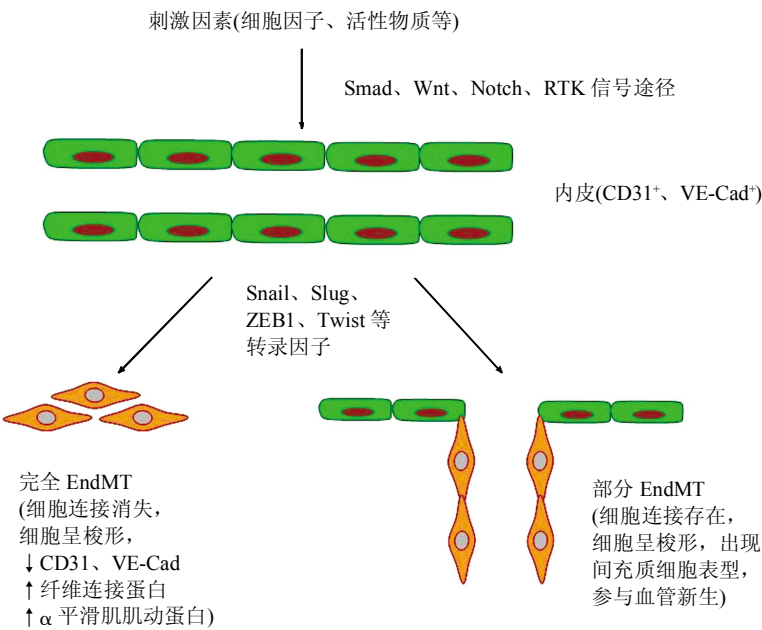


Fig. 1 Schematic representation of endothelial-to-mesenchymal transition

图 1 内皮-间质转化 (EndMT) 模式图

Smad: Sma 和 Mad 相关蛋白; Wnt: 无翅基因相关蛋白; Notch: 跨膜受体蛋白 Notch; RTK: 酪氨酸激酶受体; CD31: 血小板 - 内皮细胞黏附分子; VE-Cad: 血管内皮钙黏蛋白; Snail: Snail 锌指转录因子; Slug: Snail 锌指转录因子 2; ZEB1: 蛋白锌指 E 盒结合同源盒蛋白; Twist: 碱性螺旋 - 环 - 螺旋蛋白家族.

3 内皮-间质转化与心血管疾病

3.1 内皮-间质转化与心肌纤维化

心肌纤维化是心肌纤维持续性和(或)反复加重的心肌缺血缺氧所产生的结果,导致逐渐发展为心力衰竭,其病理形态主要表现为心肌外基质的过量沉积和心肌结构的改变^[18]。在多种龋齿类动物模型,异常的 EndMT 被证实是心肌纤维化的关键机制^[4, 18, 47]。Zeisberg 等^[18]利用压力超负荷和慢性心脏移植排斥 Tie1 过表达小鼠模型,发现在心肌纤维化过程中 TGF β 1 依赖的 Smad2/3 信号途径激活,并促进 Tie1-lacZ 阳性的细胞从血管内皮区域向纤维化组织区域分布,并表达间充质细胞标记物。而且,重组的 BMP7 可以通过抑制 EndMT 抗心肌纤维化的形成,提示过度激活的 EndMT 是心肌纤维化的关键因素^[18]。心内膜纤维弹力组织增生(endocardial fibroelastosis, EFE)是心肌纤维化的一种特殊类型, Xu 等^[4]报道心内膜内皮细胞异常的 EndMT 是 EFE 纤维细胞主要的来源,这种作用与 TGF β 1 启动子甲基化有关。最近, Murdoch 等^[48]报道内皮细胞过表达烟酰胺二磷酸腺苷氧化酶(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)通过上调炎症反应和 EndMT 促进心肌纤维化。然而,利用成纤维细胞特异标记物报告基因小鼠, Moore 等^[49]最近报道心肌纤维化过程中成纤维细胞可能并不是通过 EndMT 转化,而是由心外膜内皮起源的成纤维干细胞分化而来,提示 EndMT 在心肌纤维化过程中的作用还有待进一步明确。

最近, Charytan 等^[50]通过研究慢性肾功能不全(chronic kidney disease, CKD)接受心脏手术患者心肌样本发现, CKD 患者 EndMT 和心肌纤维化程度相对于非 CKD 患者明显增高,这种效应与 CKD 患者血清非对称二甲基精氨酸(asymmetric dimethylarginine, ADMA)、凝血酶敏感蛋白 2(thrombospondin-2, TSP)等促进 EndMT 有关。该项研究从临床角度证实了 EndMT 与心肌纤维化的关系。

3.2 内皮-间质转化与肺动脉高压

肺动脉高压(pulmonary arterial hypertension, PAH)指肺动脉压力升高超过一定界值的一种血流动力学和病理生理状态,分为原发性和继发性两种。原发性 PAH 病理表现为以肺中或小动脉内膜

增厚,不成熟的 SMCs 等间充质样细胞增加及细胞外基质增多,导致血管腔硬化和狭窄^[11]。

Arciniegas 等^[11]将鸡胚胎肺动脉移植入在体动物模型,发现新生内膜的 SMC 主要来源于血管单层内皮细胞,转化为 SMC 的内皮细胞同时表达内皮细胞标志物 vWF 和间充质细胞标志物 α -SMA。BMPR2 是主要在肺动脉内皮表达,参与调节 TGF β 1 信号通路的一种活性蛋白。BMPR2 基因突变在 70%左右的家族性 PAH 和 10%~40%左右的特发性 PAH 存在^[5]。在慢性缺氧动物模型,过表达 BMPR2 能够抑制 TGF β 1 介导的 EndMT,从而降低 PAH 及其引起的右心室肥大^[51]。在野百合碱诱导的 PAH 小鼠模型中, Li 等^[52]发现活化 NF- κ B 通过激活 Notch3 信号途径下调 BMPR2 表达,并促进肺动脉 EndMT。阻断 NF- κ B 途径能够抑制野百合碱诱导的 EndMT、PAH 和右心室肥大^[52]。最近, Ranchoux 等^[5]利用透射电镜和激光共聚焦等技术在 PAH 患者中发现了 EndMT 与 PH 相关的直接证据。进一步的体内外机制研究显示, PAH 患者异常的 EndMT 与 BMPR2 基因突变有关,突变的 BMPR2 上调转录因子 twist 和 vimentin 磷酸化,促进 EndMT^[5]。

3.3 内皮-间质转化与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一种慢性炎症性病变,以病变区域脂质蓄积和炎症细胞的募集为特点,并伴有 SMC 增殖和血管钙化^[53]。内皮功能失调是 As 的早期事件,内皮损伤导致炎症细胞黏附、浸润并吞噬脂质形成泡沫细胞^[53]。高血糖、高血脂是 As 形成的关键因素,研究显示高糖和 oxLDL 能够促进人主动脉内皮细胞 EndMT,损伤内皮细胞功能和 As^[31, 33, 54]。晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGE)通过 AKT2 上调人脐静脉内皮细胞 EndMT,损伤内皮细胞极化^[55]。多种炎症因子也被证实通过上调 EndMT,促进血管内皮损伤^[25-26]。内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPC)是血管内皮修复的关键因素,具有重要的抗 As 作用。研究发现, TGF β 1 能够促进 EPC 向 SMC 细胞转化,该过程具有类似 EndMT 的过程^[56],提示调节 EndMT 可能是调控干细胞功能防治心血管疾病的重要靶点。As 性钙化与斑块破裂相关, Cheng 等^[41]发现敲除 Wnt7 基因能够促进 As 钙化,这种效应与上调人主动脉内皮细胞 EndMT 有关。

3.4 内皮-间质转化与缺血性心肌损伤

研究显示, EMT/EndMT 和 MEndoT 的双向调节可能在缺血性心肌损伤后修复中起着重要作用^[16, 57]. Zhou 等^[57-58]利用 P1 噬菌体 Cre-loxP 体内遗传谱系示踪技术发现, 心肌梗死(myocardial infarction, MI)后心外膜区域衍生细胞(epicardium-derived cells, EPDCs)发生 EMT, 上皮细胞转化为间充质细胞表型, 该类细胞通过旁分泌功能发挥心肌保护作用. 研究还显示, 在 MI 发生后数天, 心外膜内皮细胞经典 Wnt/ β 连环蛋白通路被激活, 并通过 EndMT 促进肌成纤维细胞、SMC 和心外膜新生血管的形成, 参与 MI 后心肌组织的修复^[38, 59]. 近来, 还有研究报道心外膜 EMT/EndMT 形成的间充质样细胞具有向心肌细胞分化的潜力^[60], 其在心肌修复中的作用还有待进一步证实. 除了 EMT/EndMT, 其反向调节机制——MEndoT 可能也在 MI 后心肌修复中起着重要作用. Ubil 等^[16]利用基因命运图谱技术证实, 在 MI 后心脏成纤维细胞可迅速转化为内皮细胞表型(MEndoT), 并促进血管形成和心功能的恢复.

3.5 内皮-间质转化与血管损伤后重构

血管损伤后重构通常发生于血管成形、血管移植等损伤性手术后, 该过程类似于伤口愈合, 包括内膜增生和外膜重构^[61]. Cooley 等^[62]报道, 将小鼠静脉移植至小鼠股动脉以模拟人类冠状动脉搭桥(coronary artery bypass grafting, CABG)手术, 结果发现 TGF β /Smad/Slug 介导的 EndMT 在静脉桥血管重构中起着关键作用. 在小型猪模型肺静脉缚扎和支架置入术过程中, 研究者发现肺静脉内膜损伤早期即出现明显的 EndMT 过程, 表现为 TGF β /Smad 信号途径的激活^[63]. 除了血管成形、血管移植等急性损伤, 慢性血管损伤引起的 EndMT 在内膜增生性血管重构中同样起着关键作用^[64]. 在此过程中, 多种致内皮损伤因素, 如炎症、低氧和机械剪切力等能够上调 TGF β 、FGF 等细胞因子表达, 促进 MMPs 和丝氨酸蛋白酶表达, 从而减少细胞-细胞或细胞-基质连接, 并促进血管内皮 EndMT, 参与动脉粥样硬化性血管钙化^[41]、支架后狭窄^[65]、肺动脉高压^[64]、动静脉瘘再狭窄^[65]等血管重构过程.

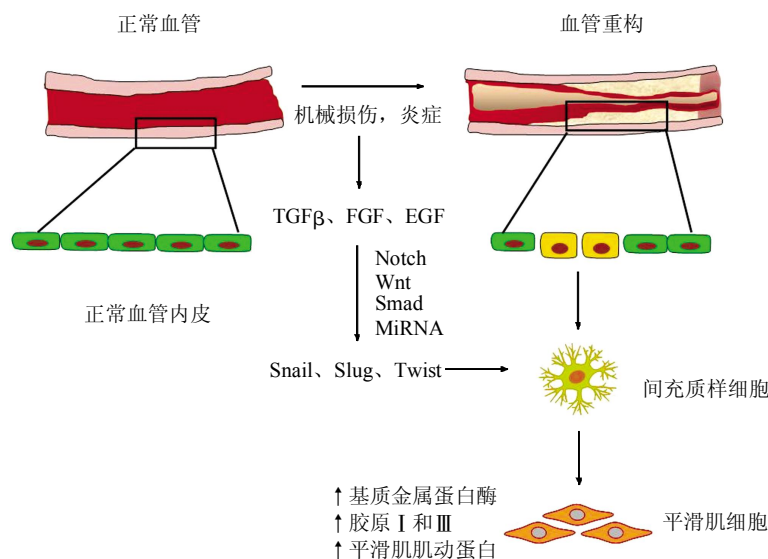


Fig. 2 Schematic representation of role of EMT in vascular remodeling

图 2 内皮-间质转化在血管重构中的作用

TGF β : 转化生长因子; FGF: 成纤维生长因子; EGF: 表皮生长因子; MiRNA: 微小 RNA.

3.6 内皮-间质转化与心脏瓣膜病变

在模式生物斑马鱼和人类早期胚胎, 研究者证实 EndMT 与心脏瓣膜的形成密切相关, PRSS23-Snail 等多种信号途径参与了该过程, 并在

进化上高度保守^[66-67]. 利用齧齿类动物敲除模型, 敲除 EndMT 相关的信号途径, 如 Notch^[68]、BMP^[69]和 YAP1^[36]等均通过抑制 EndMT 构建出先天性心脏瓣膜疾病模型. 瓣膜间质细胞是组成心脏瓣膜的

主要成分,在退行性主动脉瓣钙化病患者主动脉瓣 Wnt3a/ β 环连蛋白信号途径被激活,并通过调节 EndMT 参与瓣膜间质细胞生成和增殖^[70].缺血性二尖瓣反流 (ischemic mitral valve regurgitation, IMR) 是急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 患者常见的并发症,研究发现 EndMT 在 IMR 形成中起着关键作用,EndMT 参与了缺血导致瓣膜间质纤维化和二尖瓣瓣叶增厚的过程^[71].除了心脏瓣膜疾病,近年来也发现主动脉夹层和卵圆孔未闭等心脏疾病与 EndMT 有关^[72].

4 问题与展望

EMT 是发生在不同组织、进化上高度保守的生物学过程,在发育、慢性炎症、组织重建、癌症转移和多种纤维化疾病中起着关键作用.内皮细胞是组成心脏、血管、淋巴管内壁的主要成分,在调节心血管系统生理功能中起着重要作用,而内皮功能失调则参与了多种急、慢性心血管疾病的过程.作为 EMT 的特殊类型,EndMT 调节内皮细胞向间充质细胞转化,并伴随多种转录因子和细胞因子的表达变化,与血管内皮损伤、血管重构、心肌纤维化和瓣膜病变等密切相关.相对于 EMT,EndMT 的分子机制尚不十分明确.上皮细胞来源于内胚层,内皮细胞来源于中胚层,提示 EMT 和 EndMT 在发育中的时间节点存在差异.虽然多种刺激因素,如炎症、缺氧,均可诱导 EMT 和 EndMT,然而其不同疾病模型中的作用可能存在差异.因此,深入研究 EndMT 在心血管系统发育和不同疾病病理生理过程中的作用机理,发现调节 EndMT 进程的关键靶分子,及 EndMT/MEndoT 交互调节的机理将为心血管疾病的防治提供新的靶点.

参 考 文 献

- [1] Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, **15** (3): 178-196
- [2] Clouthier D L, Harris C N, Harris R A, *et al.* Requisite role for Nck adaptors in cardiovascular development, endothelial-to-mesenchymal transition and directed cell migration. *Mol Cell Biol*, 2015, **35** (9): 1573-1587
- [3] Kovacic J C, Mercader N, Torres M, *et al.* Epithelial-to-mesenchymal and endothelial-to-mesenchymal transition: from cardiovascular development to disease. *Circulation*, 2012, **125** (14): 1795-1808
- [4] Xu X, Friehs I, Zhong H T, *et al.* Endocardial fibroelastosis is caused by aberrant endothelial to mesenchymal transition. *Circ Res*, 2015, **116** (5): 857-866
- [5] Ranchoux B, Antigny F, Rucker-Martin C, *et al.* Endothelial-to-mesenchymal transition in pulmonary hypertension. *Circulation*, 2015, **131** (11): 1006-1018
- [6] Yao Y, Jumabay M, Ly A, *et al.* A role for the endothelium in vascular calcification. *Circ Res*, 2013, **113** (5): 495-504
- [7] Markwald R R, Fitzharris T P, Manasek F J. Structural development of endocardial cushions. *Am J Anat*, 1977, **148** (1): 85-119
- [8] Liebner S, Cattelino A, Gallini R, *et al.* Beta-catenin is required for endothelial-mesenchymal transformation during heart cushion development in the mouse. *J Cell Biol*, 2004, **166** (3): 359-367
- [9] Armstrong E J, Bischoff J. Heart valve development: endothelial cell signaling and differentiation. *Circ Res*, 2004, **95** (5): 459-470
- [10] Eisenberg L M, Markwald R R. Molecular regulation of atrioventricular valvuloseptal morphogenesis. *Circ Res*, 1995, **77** (1): 1-6
- [11] Arciniegas E, Neves C Y, Carrillo L M, *et al.* Endothelial-mesenchymal transition occurs during embryonic pulmonary artery development. *Endothelium*, 2005, **12** (4): 193-200
- [12] Deruiter M C, Poelmann R E, Vanmunsteren J C, *et al.* Embryonic endothelial cells transdifferentiate into mesenchymal cells expressing smooth muscle actins *in vivo* and *in vitro*. *Circ Res*, 1997, **80** (4): 444-451
- [13] Hall S M, Hislop A A, Pierce C M, *et al.* Prenatal origins of human intrapulmonary arteries: formation and smooth muscle maturation. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2000, **23** (2): 194-203
- [14] Tian X, Pu W T, Zhou B. Cellular origin and developmental program of coronary angiogenesis. *Circ Res*, 2015, **116** (3): 515-530
- [15] Von Gise A, Pu W T. Endocardial and epicardial epithelial to mesenchymal transitions in heart development and disease. *Circ Res*, 2012, **110** (12): 1628-1645
- [16] Ubil E, Duan J, Pillai I C, *et al.* Mesenchymal-endothelial transition contributes to cardiac neovascularization. *Nature*, 2014, **514** (7524): 585-590
- [17] Goumans M J, Van Zonneveld A J, Ten Dijke P. Transforming growth factor beta-induced endothelial-to-mesenchymal transition: a switch to cardiac fibrosis? *Trends Cardiovasc Med*, 2008, **18** (8): 293-298
- [18] Zeisberg E M, Tarnavski O, Zeisberg M, *et al.* Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis. *Nat Med*, 2007, **13** (8): 952-961
- [19] Welch-Reardon K M, Wu N, Hughes C C. A role for partial endothelial-mesenchymal transitions in angiogenesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, **35** (2): 303-308
- [20] Welch-Reardon K M, Ehsan S M, Wang K, *et al.* Angiogenic sprouting is regulated by endothelial cell expression of Slug. *Journal of Cell Science*, 2014, **127** (Pt 9): 2017-2028
- [21] Medici D, Potenta S, Kalluri R. Transforming growth factor-beta2 promotes Snail-mediated endothelial-mesenchymal transition through convergence of Smad-dependent and Smad-independent signalling. *Biochem J*, 2011, **437** (3): 515-520
- [22] Sakabe M, Sakata H, Matsui H, *et al.* ROCK1 expression is

- regulated by *tgfbeta3* and *ALK2* during valvuloseptal endocardial cushion formation. *Anat Rec (Hoboken)*, 2008, **291**(7): 845–857
- [23] Ichise T, Yoshida N, Ichise H. FGF2-induced Ras-MAPK signalling maintains lymphatic endothelial cell identity by upregulating endothelial-cell-specific gene expression and suppressing *tgfbeta* signalling through *Smad2*. *Journal of Cell Science*, 2014, **127**(Pt 4): 845–857
- [24] Chen P Y, Qin L, Barnes C, *et al.* FGF regulates TGF- β signaling and endothelial-to-mesenchymal transition *via* control of *let-7* mirna expression. *Cell Rep*, 2012, **2**(6): 1684–1696
- [25] Mahler G J, Farrar E J, Butcher J T. Inflammatory cytokines promote mesenchymal transformation in embryonic and adult valve endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, **33** (1): 121–130
- [26] Lee J G, Kay E P. NF-kappab is the transcription factor for FGF-2 that causes endothelial mesenchymal transformation in cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, **53**(3): 1530–1538
- [27] Arciniegas E, Neves Y C, Carrillo L M. Potential role for insulin-like growth factor II and vitronectin in the endothelial-mesenchymal transition process. *Differentiation*, 2006, **74**(6): 277–292
- [28] Okayama K, Azuma J, Dosaka N, *et al.* Hepatocyte growth factor reduces cardiac fibrosis by inhibiting endothelial-mesenchymal transition. *Hypertension*, 2012, **59**(5): 958–965
- [29] Widyantoro B, Emoto N, Nakayama K, *et al.* Endothelial cell-derived endothelin-1 promotes cardiac fibrosis in diabetic hearts through stimulation of endothelial-to-mesenchymal transition. *Circulation*, 2010, **121**(22): 2407–2418
- [30] Ghosh A K, Bradham W S, Gleaves L A, *et al.* Genetic deficiency of plasminogen activator inhibitor-1 promotes cardiac fibrosis in aged mice: involvement of constitutive transforming growth factor- β signaling and endothelial-to-mesenchymal transition. *Circulation*, 2010, **122**(12): 1200–1209
- [31] Tang R, Li Q, Lv L, *et al.* Angiotensin II mediates the high-glucose-induced endothelial-to-mesenchymal transition in human aortic endothelial cells. *Cardiovasc Diabetol*, 2010, **9**: 31
- [32] Tang R N, Lv L L, Zhang J D, *et al.* Effects of angiotensin II receptor blocker on myocardial endothelial-to-mesenchymal transition in diabetic rats. *Int J Cardiol*, 2013, **162**(2): 92–99
- [33] Kim M, Choi S H, Jin Y B, *et al.* The effect of oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) on radiation-induced endothelial-to-mesenchymal transition. *Int J Radiat Biol*, 2013, **89**(5): 356–363
- [34] Zeng L, Wang G, Umharino D, *et al.* Histone deacetylase 3 unconventional splicing mediates endothelial-to-mesenchymal transition through transforming growth factor β 2. *J Biol Chem*, 2013, **288**(44): 31853–31866
- [35] Gasperini P, Espigol-Frigole G, McCormick P J, *et al.* Kaposi sarcoma herpesvirus promotes endothelial-to-mesenchymal transition through Notch-dependent signaling. *Cancer Res*, 2012, **72**(5): 1157–1169
- [36] Zhang H, Von Gise A, Liu Q, *et al.* Yap1 is required for endothelial to mesenchymal transition of the atrioventricular cushion. *J Biol Chem*, 2014, **289**(27): 18681–18692
- [37] Mihira H, Suzuki H I, Akatsu Y, *et al.* TGF- β -induced mesenchymal transition of MS-1 endothelial cells requires Smad-dependent cooperative activation of Rho signals and MRTF-A. *J Biochem*, 2012, **151** (2): 145–156
- [38] Aisagbonhi O, Rai M, Ryzhov S, *et al.* Experimental myocardial infarction triggers canonical Wnt signaling and endothelial-to-mesenchymal transition. *Dis Model Mech*, 2011, **4**(4): 469–483
- [39] Li L, Chen L, Zang J, *et al.* C3a and C5a receptor antagonists ameliorate endothelial-myofibroblast transition *via* the Wnt/ β -catenin signaling pathway in diabetic kidney disease. *Metabolism*, 2015, **64**(5): 597–610
- [40] Kim Y S, Kim M J, Koo T H, *et al.* Histone deacetylase is required for the activation of Wnt/ β -catenin signaling crucial for heart valve formation in zebrafish embryos. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, **423**(1): 140–146
- [41] Cheng S L, Shao J S, Behrmann A, *et al.* Dkk1 and MSX2-Wnt7b signaling reciprocally regulate the endothelial-mesenchymal transition in aortic endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, **33**(7): 1679–1689
- [42] Liu J, Dong F, Jeong J, *et al.* Constitutively active Notch1 signaling promotes endothelial-mesenchymal transition in a conditional transgenic mouse model. *Int J Mol Med*, 2014, **34**(3): 669–676
- [43] Hofmann J J, Briot A, Enciso J, *et al.* Endothelial deletion of murine *Jag1* leads to valve calcification and congenital heart defects associated with Alagille syndrome. *Development*, 2012, **139** (23): 4449–4460
- [44] Paruchuri S, Yang J H, Aikawa E, *et al.* Human pulmonary valve progenitor cells exhibit endothelial/mesenchymal plasticity in response to vascular endothelial growth factor-A and transforming growth factor- β 2. *Circ Res*, 2006, **99**(8): 861–869
- [45] Garcia J, Sandi M J, Cordelier P, *et al.* Tiel deficiency induces endothelial-mesenchymal transition. *EMBO Rep*, 2012, **13** (5): 431–439
- [46] Feng Q, Di R, Tao F, *et al.* PDK1 regulates vascular remodeling and promotes epithelial-mesenchymal transition in cardiac development. *Mol Cell Biol*, 2010, **30**(14): 3711–3721
- [47] Ma K L, Liu J, Ni J, *et al.* Inflammatory stress exacerbates the progression of cardiac fibrosis in high-fat-fed apolipoprotein E knockout mice *via* endothelial-mesenchymal transition. *Int J Med Sci*, 2013, **10**(4): 420–426
- [48] Murdoch C E, Chaubey S, Zeng L, *et al.* Endothelial NADPH oxidase-2 promotes interstitial cardiac fibrosis and diastolic dysfunction through proinflammatory effects and endothelial-mesenchymal transition. *J Am Coll Cardiol*, 2014, **63**(24): 2734–2741
- [49] Moore-Morris T, Guimaraes-Camboa N, Banerjee I, *et al.* Resident fibroblast lineages mediate pressure overload-induced cardiac fibrosis. *J Clin Invest*, 2014, **124**(7): 2921–2934
- [50] Charytan D M, Padera R, Helfand A M, *et al.* Increased concentration of circulating angiogenesis and nitric oxide inhibitors induces endothelial to mesenchymal transition and myocardial

- fibrosis in patients with chronic kidney disease. *Int J Cardiol*, 2014, **176**(1): 99–109
- [51] Reynolds A M, Holmes M D, Danilov S M, *et al.* Targeted gene delivery of BMPR2 attenuates pulmonary hypertension. *Eur Respir J*, 2012, **39**(2): 329–343
- [52] Li L, Wei C, Kim I K, *et al.* Inhibition of nuclear factor-kappaB in the lungs prevents monocrotaline-induced pulmonary hypertension in mice. *Hypertension*, 2014, **63**(6): 1260–1269
- [53] 李金凤, 谢 笛, 何平平, 等. NLRP3 炎性体与代谢性疾病的研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2014, **41**(5): 425–434
- Li J F, Xie D, He P P, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2014, **41**(5): 425–434
- [54] Tang R, Gao M, Wu M, *et al.* High glucose mediates endothelial-to-chondrocyte transition in human aortic endothelial cells. *Cardiovasc Diabetol*, 2012, **11**: 113
- [55] Ma J, Liu T, Dong X. Advanced glycation end products of bovine serum albumin-induced endothelial-to-mesenchymal transition in cultured human and monkey endothelial cells *via* protein kinase B signaling cascades. *Mol Vis*, 2010, **16**: 2669–2679
- [56] Diez M, Musri M M, Ferrer E, *et al.* Endothelial progenitor cells undergo an endothelial-to-mesenchymal transition-like process mediated by tgfbeta1. *Cardiovasc Res*, 2010, **88**(3): 502–511
- [57] Zhou B, Pu W T. Epicardial epithelial-to-mesenchymal transition in injured heart. *J Cell Mol Med*, 2011, **15**(12): 2781–2783
- [58] Zhou B, Honor L B, He H, *et al.* Adult mouse epicardium modulates myocardial injury by secreting paracrine factors. *J Clin Invest*, 2011, **121**(5): 1894–1904
- [59] Duan J, Gherghe C, Liu D, *et al.* Wnt1/betacatenin injury response activates the epicardium and cardiac fibroblasts to promote cardiac repair. *EMBO J*, 2012, **31**(2): 429–442
- [60] Van Wijk B, Gunst Q D, Moorman A F, *et al.* Cardiac regeneration from activated epicardium. *Plos One*, 2012, **7**(9): e44692
- [61] Yin K, Agrawal D K. High-density lipoprotein: a novel target for antirestenosis therapy. *Clin Transl Sci*, 2014, **7**(6): 500–511
- [62] Cooley B C, Nevado J, Mellad J, *et al.* TGF-beta signaling mediates endothelial-to-mesenchymal transition (endmt) during vein graft remodeling. *Sci Transl Med*, 2014, **6**(227): 227–234
- [63] Kato H, Fu Y Y, Zhu J, *et al.* Pulmonary vein stenosis and the pathophysiology of "upstream" pulmonary veins. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2014, **148**(1): 245–253
- [64] Arciniegas E, Frid M G, Douglas I S, *et al.* Perspectives on endothelial-to-mesenchymal transition: potential contribution to vascular remodeling in chronic pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, **293**(1): L1–8
- [65] Simone S, Loverre A, Cariello M, *et al.* Arteriovenous fistula stenosis in hemodialysis patients is characterized by an increased adventitial fibrosis. *J Nephrol*, 2014, **27**(5): 555–562
- [66] Chen I H, Wang H H, Hsieh Y S, *et al.* PRSS23 is essential for the Snail-dependent endothelial-to-mesenchymal transition during valvulogenesis in zebrafish. *Cardiovasc Res*, 2013, **97**(3): 443–453
- [67] Balachandran K, Alford P W, Wylie-Sears J, *et al.* Cyclic strain induces dual-mode endothelial-mesenchymal transformation of the cardiac valve. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(50): 19943–19948
- [68] Li Z, Feng L, Wang C M, *et al.* Deletion of RBP-J in adult mice leads to the onset of aortic valve degenerative diseases. *Mol Biol Rep*, 2012, **39**(4): 3837–3845
- [69] Zhang J, Chang J Y, Huang Y, *et al.* The FGF-BMP signaling axis regulates outflow tract valve primordium formation by promoting cushion neural crest cell differentiation. *Circ Res*, 2010, **107**(10): 1209–1219
- [70] Xu S, Gotlieb A I. Wnt3a/beta-catenin increases proliferation in heart valve interstitial cells. *Cardiovasc Pathol*, 2013, **22**(2): 156–166
- [71] Shapero K, Wylie-Sears J, Levine R A, *et al.* Reciprocal interactions between mitral valve endothelial and interstitial cells reduce endothelial-to-mesenchymal transition and myofibroblastic activation. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, **80**: 175–185
- [72] Elliott G C, Gurtu R, Mccollum C, *et al.* Foramen ovale closure is a process of endothelial-to-mesenchymal transition leading to fibrosis. *Plos One*, 2014, **9**(9): e107175

Research Advances of The Endothelial-to-mesenchymal Transition and Cardiovascular Disease*

ZHANG Jing-Jing^{1,2)**}, YOU Yong^{1)**}, LI Yi¹⁾, GUI Qing-Jun¹⁾, FENG Ju-Ling¹⁾, YIN Kai^{1,3)***}

¹⁾ Research Laboratory of Translational Medicine, Medical School, University of South China, Hengyang 421001, China;

²⁾ Department of Internal Medicine in Cardiovascular, The First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang 421001, China;

³⁾ Institute of Cardiovascular Disease, Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province, Hengyang 421001, China)

Abstract Endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT) is a parallel process of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT), during which endothelial cells down-regulate the endothelial cells markers and acquire the phenotype of mesenchymal cells including proliferation, migration and collagen synthesize. Recent studies have shown that EndMT plays crucial physiological and pathophysiological roles in regulation of endothelial function, the development and structural remodel of cardiac muscle, cardiac valve and blood vessels. In this review, we summary the function and the regulation of the EndMT, and then discuss the potential roles of the EndMT in cardiovascular diseases including cardiac fibrosis, pulmonary hypertension and arteriosclerotic vascular remodeling, which may provide novel targets for the prevention and treatment of cardiovascular diseases.

Key words endothelial-to-mesenchymal transition, cardiovascular disease, vascular remodel, cardiac fibrosis

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0060

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81100213, 81470569).

**These authors contributed equally to this work.

***Corresponding author.

Tel: 86-734-8281412, E-mail: kaiyinby@hotmail.com

Received: March 6, 2015 Accepted: May 22, 2015