

Research progress on wound healing related to endothelial mesenchymal transition pathway

Yangeng Zhao^{1,2} Yang Xu^{1,2}

1. Department of Ulcer and Peripheral Vascular Surgery, First Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin, 300000, China

2. Department of Ulcer and Peripheral Vascular Surgery, National Clinical Research Center of Traditional Chinese Medicine, Tianjin, 300000, China

Abstract

Promoting wound healing has long been an important topic in the medical field, with angiogenesis and vascular remodeling being crucial for wound healing. Endothelial-to-Mesenchymal Transition (EndMT) plays a significant role in angiogenesis and vascular remodeling, and has been a research hotspot in recent decades. This article comprehensively analyzes the relevant signaling pathways of EndMT and its role in wound healing, aiming to elucidate the occurrence and development process of EndMT during wound healing. By adopting more promising treatment strategies to guide clinical practice, the article aims to enhance the clinical efficacy of EndMT-related treatments and promote the continuous development of the wound healing field.

Keywords

Endothelium; Mesenchymal transition; Wound healing; Blood vessel

内皮-间充质转化相关通路创面愈合方面的研究进展

赵彦庚^{1,2} 徐阳^{1,2}

1. 天津中医药大学第一附属医院疮疡及周围血管外科, 中国·天津 300000

2. 中医国家临床医学研究中心疮疡及周围血管外科, 中国·天津 300000

摘要

长期以来, 促进创面愈合一直是医学领域的重要课题, 其中, 血管生成及血管重组是创面愈合的关键。内皮-间充质转化 (Endothelial-to-Mesenchymal Transition, 简称EndMT) 在血管生成及血管重组中占据重要地位, 是近十几年来的研究热点。该文综合剖析了EndMT的相关信号通路及其在创面愈合中的作用, 旨在阐释创面愈合中EndMT的发生与发展过程, 并通过采纳更为有潜力的治疗策略来指导临床实践, 从而提升临床中EndMT相关的治疗效果, 推动创面愈合领域的持续发展。

关键词

内皮; 间充质转化; 创面愈合; 血管

1 引言

创面愈合是一个涉及多种类型细胞和细胞外基质之间复杂相互作用的生物学过程。具体来说, 这一过程涉及到血管内皮细胞、角质形成细胞、成纤维细胞, 以及募集而来的免疫细胞等。在健康人群中, 表皮层的创伤能够高效恢复, 然而当涉及到真皮层的创伤时, 皮肤的原始组织结构和功能往往遭受严重损失, 这导致慢性创面或过多疤痕组织的形成。

内皮细胞排列在所有血液和淋巴管内部, 在输送氧气和营养物质、调节血液流动、调节免疫细胞运输和维持组织

稳态方面发挥着关键作用。在整个生命过程中, 内皮细胞暴露在各种机械、炎症和代谢环境中。高低密度脂蛋白 (LDL) 胆固醇、促炎状态和导致内皮活化的湍流模式促进了表型变化, 这会导致血管舒张活性受损, 又称内皮功能障碍。糖尿病、动脉粥样硬化和高血压患者或者肥胖人群由于诱导氧化应激和炎症反应, 损害内皮信号转导, 延迟内皮细胞生长和分化而导致内皮功能障碍。内皮功能障碍分子层面的主要原因之一便是内皮间充质转化 (Endothelial to mesenchymal transition, EndMT) 异常, 包括过度EndMT以及EndMT不足。这篇综述总结了我们目前对EndMT相关信号通路的主要机制、这些通路的激活或抑制从哪些方面影响EndMT以及创面血管愈合的了解。尽管我们的讨论主要集中在EndMT相关的信号通路上, 但所提出的范例可以扩展到其他血管内皮相关的信号传导。

【作者简介】赵彦庚 (2000—), 男, 中国山西临汾人, 本科, 从事疮疡及周围血管外科研究。

2 创面愈合

创面愈合的微观过程通常被划分为四个主要的阶段：炎症阶段、血管生成阶段、再上皮化阶段以及血管消退阶段。其中，血管生成和血管消退被认为是整个愈合过程中的关键环节。

皮肤受损之初，萌发血管生成，内皮细胞基因的表达开始变化，使原始内皮细胞合并成原始血管网络。随后，内皮细胞开始增殖，在被血管生成生长因子激活后，内皮细胞释放蛋白酶，降解基底膜以释放内皮细胞，内皮细胞增殖到周围的基质中并形成连接邻近血管的实心芽。最后，血管网络开始扩张，创面通过新血管进一步为创面灌注氧气和营养物质^[1]。

血管生成阶段后，分裂血管生成需要重组现有的内皮细胞，并且不依赖于现有的内皮增殖或迁移，血管重组并成熟为分层网络架构^[1]。原来的动脉的内皮细胞群停止增殖，静脉和毛细血管募集细胞，由静脉内皮细胞逆流迁移，形成新的毛细血管和动脉^[2]。

3 EndMT 的作用

EndMT是指内皮细胞内皮表型的进行性和动态性丧失，同时获得间充质特征，这一现象在血管生成和消退的过程中尤为显著。EndMT的过程涉及一系列细胞重排，其中包括基因和蛋白质表达的变化，包括内皮标志物的丢失和间充质或肌成纤维细胞标志物的增长。继而，其表型变化也出现间充质样改变，包括细胞迁移增加、胶原产生增加、收缩能力增强以及通过基质和其他底物侵入的能力增加^[3]。

EndMT程序的激活可以诱导内皮细胞完全放弃其内皮细胞状态并转化为间充质细胞表型，也可以仅部分进行或逆向进行，以致暂时或可逆地出现兼具内皮和间充质特征的中间细胞^[4]。间充质向上皮转化和间充质向内皮转化作为EndMT反向过程，也已经被提出和观察到。EndMT在过去十几年中常常与血管生成异常相联系，但据近期报道，短暂的EndMT有助于血管再生，这种现象被称为“内皮细胞的瞬时间充质激活(EC acquire a transient mesenchymal activation, EndMA)”，部分EndMA可能通过增强促迁移和促侵袭状态来促进新血管生长^[5,6]。

在异常伤口(如感染伤口或具有严重炎症反应的伤口)中，EndMT与炎症因子(如IL-6、TNF- α)相互作用，通过激活HIF-1 α 、NLRP3炎症小体等通路，加剧局部炎症反应，延长创口炎症期；同时促进黏附分子(如VCAM1、ICAM1)表达，增强炎症细胞(如巨噬细胞、中性粒细胞)在创口的浸润，导致组织损伤持续。继而EndMT失控，在异常伤口的微环境下(内皮细胞与EndMT诱导剂共存)，异常的细胞因子会引发过度EndMT的持续存在，继而过度产生纤维化^[7]，破坏血管完整性及再生能力，当修复过程没有得到适当控制时，修复过程会变得致病，导致ECM成分

大量沉积，其中正常组织被永久性瘢痕组织取代。

4 创面愈合与 EndMT

在创面愈合的复杂过程中，尤其是在炎症、氧化应激、高血糖和低剪切应激等状态下^[8]，内皮细胞表现出极强的可塑性和异质性。活化的内皮细胞具有EndMT的能力。在血管生成阶段早期，短暂的EndMT可促进血管再生^[6]。在其后的血管生成阶段，内皮细胞中EndMT程序的激活必须是部分和可逆的，以支持灌注和功能性血管的形成^[4]。

慢性创面被定义为3个月内未愈合的屏障缺损，它不符合导致健康急性创面愈合的细胞事件和分子事件的标准时间过程^[8]。慢性创面中发现有较高表达水平的具有抗血管生成特性的蛋白质，致使血管生成减少，导致营养供应不足以及细胞死亡增加，严重影响创面愈合。其中，过度的EndMT是这个过程的关键因素之一。

5 EndMT 的相关信号通路

TGF- β /Smad信号通路 转化生长因子 β (Transforming growth factor- β , TGF- β)信号通路被认为是EndMT的关键影响因素。

在人体内，只有TGF- β 1~TGF- β 3三种亚型存在，都可以诱导EndMT，其中TGF- β 2是这些亚型中最有效的^[9]。激活素信号传导通过信号网络会产生一些矛盾作用，揭示了TGF- β 家族成员在某些情况下，即使存在共同的典型细胞内途径，诱导的反应却截然相反^[10]。

TGF- β 相关配体结合II型受体使II型受体激酶磷酸化，由此激活I型受体并结合。在该复合物的下游，Smad蛋白是TGF- β 家族成员信号传导的关键介质^[11,12,13]，然后，这些受体激活的Smads(R-Smads)与Smad4形成三聚体复合物，与Smad复合物相互作用的特定转录因子包括Snail和Slug。TGF- β /Smad/Snail/Slug信号可以下调内皮基因的表达以及上调间充质基因的表达。在EndMT的过程中，虽然BMP诱导Snail和Slug表达，但同时BMP诱导ID蛋白(inhibitor of DNA binding protein, DNA结合抑制蛋白)生成，ID蛋白会拮抗EndMT，反而会抑制EndMT反应^[13]。

Notch信号通路 Notch信号通路被认为是调控血管生成中的重要影响因素，其对血管生成调控主要体现于对EndMT的调控上^[14]。

细胞膜上的成熟Notch受体是异二聚体，异二聚化结构域在高尔基体中被切割(S1切割)。通常，结合Notch受体的胞外结构域激活配体的内吞作用。这种内吞作用诱导受体改变其构象，暴露S2切割的酶位点^[15]。然后在S3位点进一步切割，释放Notch胞内结构域(Notch intracellular domain, NICD)，NICD进入细胞核与重组信号结合蛋白J(RBP-1)结合，在转录激活因子的作用下激活下游靶基因的转录，诱导转录因子Snail与Slug激活EndMT程序。NICD进入细胞内可稳定Smad3蛋白，此两者均可调节EndMT^[16]。

SRY-box 转录因子 9 (SRY-box transcription factor 9, Sox9) 和免疫球蛋白 kappa J 区重组信号结合蛋白 (Recombination signal binding protein for immunoglobulin kappa J region, Rbpj) 是 Notch 信号通路调控 TGF- β /Smad 信号通路的关键开关。Sox9 与 Notch 受体是负反馈关系, 而 Sox9 则会单向促进 TGF- β /Smad 信号通路; Rbpj 与 Notch 受体是正反馈关系, 而 Rbpj 则会单向抑制 TGF- β /Smad 信号通路。Notch 受体抑制 TGF- β /Smad 信号通路进而抑制 EndMT, TGF- β /Smad 信号通路主管内皮生长, Notch 信号通路主管内皮重组^[17]。

Hippo 信号通路 Hippo 信号通路所介导的 EndMT 在调节皮肤创面愈合方面具有重要作用^[18]。

Yes 相关蛋白 (YAP) 和含有 PDZ 结合位点转录共激活因子 (TAZ) 是 Hippo 信号通路关键分子, 通过调节细胞外基质 (ECM) 刚度调节 TGF- β 诱导的典型 Smad2/3 信号传导^[19]。组织受损抑制了由排列紧密的细胞激活的 Hippo 信号传导, 促进 TGF- β 介导的 EndMT。

NF- κ B 通路 NF- κ B 通路所介导的 EndMT 在调节高血糖诱导的代谢记忆方面起到重要作用。

近期研究表明, 高血糖激活 NF- κ B 信号, 从而增加 miR-27a-3p 的表达, 导致内皮细胞中 NRF2 下调, 继而调节氧化应激反应, 通过 Smad 途径诱导 EndMT, 该回路负责高血糖诱导的代谢记忆^[20,21]。

6 靶向 EndMT 的治疗策略

6.1 生物制品

源自海胆壳的棘皮色素 A (EchA) 可以抑制内皮细胞中 TGF- β 2 和 IL-1 β 诱导的 EndMT, 并下调 NF- κ B, 间接抑制了内源性 TGF- β 表达, 进而抑制 EndMT^[22]。胎盘来源的人羊膜上皮细胞 (hAECs) 促进了伤口组织中 VEGFA 的分泌, 从而增强了血管生成和愈合过程^[23]。抑瘤素 M (OSM) 可以抑制 SPARC/SMAD 信号传导, 减弱 TGF β 诱导的内皮细胞的 EndMT、侵袭和迁移^[24]。

6.2 中药提取物

葛根素可以通过抑制 NADPH 氧化酶激活和抑制活性氧依赖性氧化来减少活性氧的产生, 并通过调节内源性氧化剂和抗氧化剂的平衡以及激活 Pi3K/AKT 来抑制 EndMT, 并上调了氧化应激下的内皮中的 MMP2 和 MMP9 的表达, 抑制了基质降解, 减少内皮细胞的迁移^[25]。

青蒿琥酯 (ART) 可以抑制 Pi3K/Akt/mTOR 和 TGF- β /Smad 级联反应, 通过调节免疫微环境、抑制内皮细胞的成纤维细胞活化和 EndMT、重塑 ECM 组织和减少胶原蛋白沉积来减弱增生性瘢痕的形成^[26]。

高山根茎 (EOFAZ) 可以通过下调 Krüppel 样因子 4 (KLF4), 减少组蛋白 H3 乙酰化, 并抑制 Notch/Snail 信号轴的转导, 继而抑制 EndMT, 减轻在 TGF- β 1 刺激条件下的内皮细胞的损伤及迁移^[27,28]。

7 结语

从该综述中显而易见的是, 十几年来关于 EndMT 在血管生成方面是否有促进作用的争议有了一定的进展, EndMT 促进内皮细胞迁移和侵袭的作用在创面愈合的早期是有助于血管新生, 所以在治疗过程中不能盲目抑制 EndMT, 要注意时机的把握。尽管从 EndMT 的早期定义来说, EndMT 是两种细胞表型间永久性的完全转变, 但近年来的大量研究表明, 这一过程具有更大的灵活性, 现在学界普遍接受经历 EndMT 的细胞需要通过一系列的中间阶段, 并且在某些条件下可能会发生该过程的部分或全部逆转, 以支持灌注和功能性血管的形成。由不同通路介导的 EndMT 在创面愈合的过程中的作用是不同的。虽然主流仍是通过 TGF- β 通路进行调控的, 但创面恢复的不同阶段的不同通路的激活与抑制都会影响创面恢复的最终结果。故而未来应该更多的关注创口恢复的宏观症状与微观情况的联系, 指导创面恢复的治疗工作, 为多靶点动态治疗奠定基础。人类对 EMT 和 EndoMT 潜在机制的了解正在迅速进步, 但是据笔者现可查询到的文献, 仍有许多关键问题亟待研究。与动脉和毛细血管内皮细胞相比, 论述 EndMT 对静脉中内皮细胞发育和维持作用的文献相对不足。最后, 笔者相信, 这篇综述肯定会鼓励开发和测试新的和可能有效的药物和其他治疗方法, 以克服 EndMT 对大量和多种人类疾病的诸多有害的影响。

参考文献

- [1] Qiu J, Hirschi KK. Endothelial Cell Development and its Application to Regenerative Medicine. *Circ Res*. 2019 Aug 2;125(4):489-501.
- [2] Trimm E, Red-Horse K. Vascular endothelial cell development and diversity. *Nat Rev Cardiol*. 2023 Mar;20(3):197-210.
- [3] Kovacic JC, Dimmeler S, Harvey RP, et al. Endothelial to Mesenchymal Transition in Cardiovascular Disease: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol*. 2019 Jan 22;73(2):190-209.
- [4] Welch-Reardon KM, Wu N, Hughes CC. A role for partial endothelial-mesenchymal transitions in angiogenesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015 Feb;35(2):303-8.
- [5] Tombor LS, John D, Glaser SF, et al. Single cell sequencing reveals endothelial plasticity with transient mesenchymal activation after myocardial infarction. *Nat Commun*. 2021 Jan 29;12(1):681.
- [6] Xu Y, Kovacic JC. Endothelial to Mesenchymal Transition in Health and Disease. *Annu Rev Physiol*. 2023 Feb 10;85:245-267.
- [7] Guo L, Mi JW, Zhang HC, et al. Endothelial-mesenchymal transition as a novel mechanism for generating myofibroblasts during wound healing and scarring. *J Cosmet Dermatol*. 2023 Feb;22(2):661-668.
- [8] Martin P, Nunan R. Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. *Br J Dermatol*. 2015 Aug;173(2):370-8.

- [9] Sabbineni H, verma A, Somanath PR. isoform-specific effects of transforming growth factor β on endothelial-to-mesenchymal transition. *J Cell Physiol.* 2018 Nov;233(11):8418-8428.
- [10] Abarca-Buis RF, Mandujano-Tinoco EA, Cabrera-Wrooman A, et al. The complexity of TGF β /activin signaling in regeneration. *J Cell Commun Signal.* 2021 Mar;15(1):7-23.
- [11] Battle E, Massagué J. Transforming Growth Factor- β Signaling in immunity and Cancer. *immunity.* 2019 Apr 16;50(4):924-940.
- [12] Ma J, van der Zon G, Gonçalves MAFV, et al. TGF- β -induced Endothelial to Mesenchymal Transition is Determined by a Balance Between SNAIL and ID Factors. *Front Cell Dev Biol.* 2021 Feb 12;9:616610.
- [13] Moore-Morris T, Cattaneo P, Puceat M, et al. Origins of cardiac fibroblasts. *J Mol Cell Cardiol.* 2016 Feb;91:1-5.
- [14] Patel J, Baz B, Wong HY, et al. Accelerated Endothelial to Mesenchymal Transition increased Fibrosis via Deleting Notch Signaling in Wound Vasculature. *J invest Dermatol.* 2018 May;138(5):1166-1175.
- [15] Langridge PD, Struhl G. Epsin-Dependent Ligand Endocytosis Activates Notch by Force. *Cell.* 2017 Nov 30;171(6):1383-1396.e12.
- [16] Mao YZ, Jiang L. Effects of Notch signalling pathway on the relationship between vascular endothelial dysfunction and endothelial stromal transformation in atherosclerosis. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2018 Jun;46(4):764-772.
- [17] Zhao J, Patel J, Kaur S, et al. Sox9 and Rbpj differentially regulate endothelial to mesenchymal transition and wound scarring in murine endovascular progenitors. *Nat Commun.* 2021 May 7;12(1):2564.
- [18] Yang S, Wang S, Chen L, et al. Neutrophil Extracellular Traps Delay Diabetic Wound Healing by inducing Endothelial-to-Mesenchymal Transition via the Hippo pathway. *int J Biol Sci.* 2023 Jan 1;19(1):347-361.
- [19] Szeto SG, Narimatsu M, Lu M, et al. YAP/TAZ Are Mechanoregulators of TGF- β -Smad Signaling and Renal Fibrogenesis. *J Am Soc Nephrol.* 2016 Oct;27(10):3117-3128.
- [20] Yao Y, Song Q, Hu C, et al. Endothelial cell metabolic memory causes cardiovascular dysfunction in diabetes. *Cardiovasc Res.* 2022 Jan 7;118(1):196-211.
- [21] Kim R, Kim M, Jeong S, et al. Melatonin alleviates myocardial dysfunction through inhibition of endothelial-to-mesenchymal transition via the NF- κ B pathway. *J Pineal Res.* 2024 May;76(4):e12958.
- [22] Song BW, Kim S, Kim R, et al. Regulation of inflammation-Mediated Endothelial to Mesenchymal Transition with Echinochrome a for improving Myocardial Dysfunction. *Mar Drugs.* 2022 Nov 30;20(12):756.
- [23] Biniazan F, Rajaei F, Darabi S, et al. Effects of Placenta-Derived Human Amniotic Epithelial Cells on the Wound Healing Process and TGF- β induced Scar Formation in Murine ischemic-Reperfusion injury Model. *Stem Cell Rev Rep.* 2022 Aug;18(6):2045-2058.
- [24] Zhu Y, Xu Z, Chen M. Study on the mechanism of OSM participating in myocardial fibrosis by inhibiting TGF β -induced EndMT of cardiac microvascular endothelial cells through SPARC/SMAD signaling. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2025 Apr;398(4):4479-4489.
- [25] Li X, Sun S, Chen D, et al. Puerarin attenuates the endothelial-mesenchymal transition induced by oxidative stress in human coronary artery endothelial cells through Pi3K/AKT pathway. *Eur J Pharmacol.* 2020 Nov 5;886:173472.
- [26] Shang RY, Yang JC, Hu WG, et al. Artesunate attenuates skin hypertrophic scar formation by inhibiting fibroblast activation and EndMT of vascular endothelial cells. *Phytomedicine.* 2025 May;140:156498.
- [27] Zhang Y, Li C, Huang Y, et al. EOFAZ inhibits endothelial to mesenchymal transition through downregulation of KLF4. *int J Mol Med.* 2020 Jul;46(1):300-310.
- [28] Zhang Y, Zhao S, Tu M, et al. inhibitory Effect of Essential Oil From Fructus of *Alpinia zerumbet* on Endothelial-to-Mesenchymal Transformation induced by TGF- β 1 and Downregulation of KLF4. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2022 Jul 1;80(1):82-94.