



科研进展

周斌组揭示肺动脉高压疾病中特定内皮细胞的EndoMT激活过程

时间: 2024-12-04

12月3日, 国际学术期刊*Cell Discovery*在线发表了中国科学院分子细胞科学卓越创新中心(生物化学与细胞生物学研究所)周斌研究与上海新华医院孙锟研究组合作研究成果“Genetic Recording of Transient Endothelial Activation in Distinct Alveolar Capillary Cells during Pulmonary Fibrosis”。该工作利用双同源重组酶的遗传策略, 记录到在肺动脉高压疾病中血管内皮细胞会瞬时激活间充质基因aSMA (alpha-smooth muscle actin), 且该现象特异性地出现在肺泡特定的Plvap⁺的血管内皮细胞中, 并结合RNA-seq阐释了该类血管内皮细胞发生瞬时激活的意义。该工作为了解肺动脉高压和肺纤维化中的细胞命运及其响应提供了研究基础。

心脏与肺脏是两个高度关联的器官, 心脏功能异常会影响肺脏, 反之亦然。其中, 肺动脉高压就是一种致死率较高的疾病, 该病发展到末期会导致右心衰竭, 且目前没有很好的治疗手段。在该项工作中, 研究人员采用心脏主动脉弓缩窄模型引发肺动脉高压和退行性肺纤维化, 模拟了临床上左心疾病引起的肺动脉高压和肺纤维化。其基本原理是, 主动脉弓缩窄引起左心室压力增大和左心室肥厚, 随后引起左心房和肺动脉和肺静脉压力增大, 引起肺动脉高压, 同时引起肺纤维化、白细胞浸润和血管重塑。肺循环路径中持续升高的压力最终会增加右心室的负荷导致右心衰竭。

内皮-间充质转变 (Endothelial-to-mesenchymal Transition, EndoMT) 在胚胎发育过程中扮演着重要角色, 但是EndoMT在成体器官纤维化中的作用仍存在很大的争议。例如, 此前有研究证明在成体心脏纤维化过程中会发生EndoMT, 即内皮细胞会转化为成纤维细胞促进纤维化, 也因此EndoMT可以作为治疗心脏纤维化的靶点。但后续的一系列遗传追踪研究又证明, 成体心脏纤维化过程中不会发生EndoMT, 这个过程只存在心脏发育过程中。

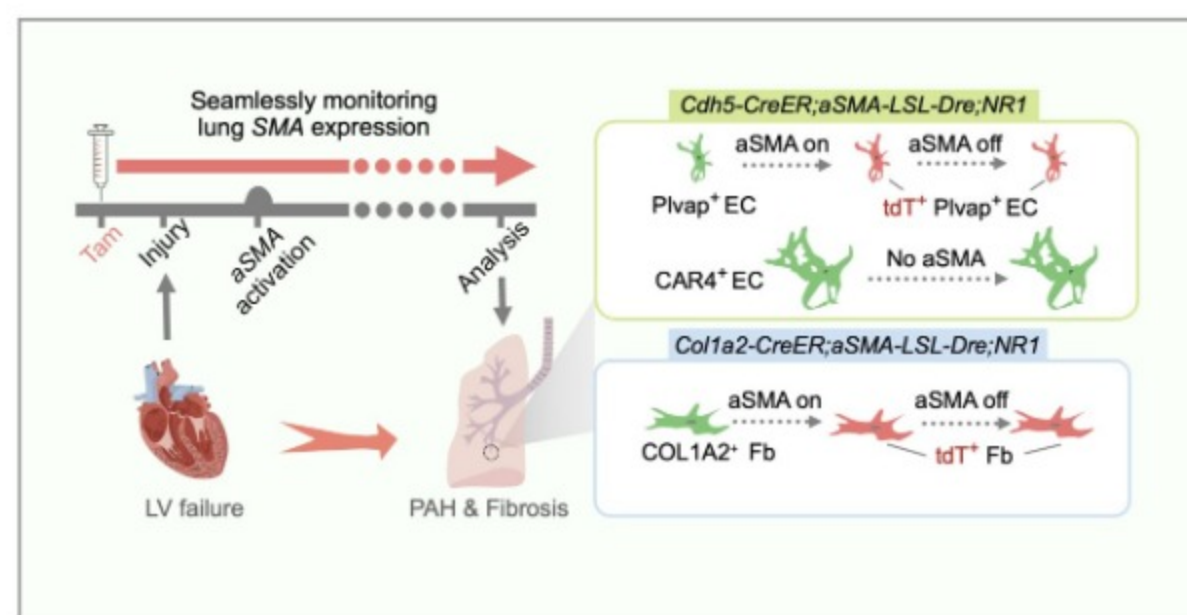
为了探究在肺动脉高压和肺纤维化模型下EndoMT是否会发生, 同时为了更精确地捕捉这一事件, 研究人员采用了双同源重组酶报告系统 (*Cdh5-CreER; aSMA-LSL-Dre; NR1*, 即*aSMA-EndoMTracer*)。该策略的作用原理是: 内皮特异性的*Cdh5-CreER*在他莫昔芬的诱导作用下与*aSMA-LSL-Dre*发生Cre-loxp同源重组使其变为*aSMA-Dre*, 同时与*NR1*重组使内皮细胞被标记为ZsGreen阳性。若在内皮细胞中发生aSMA的激活表达, 即使是短暂的表达, 也会驱动Dre表达出来与*NR1*发生Dre-rox重组, 使该细胞由ZsGreen阳性转变为tdT阳性。实验中该遗传策略排除了Cre对rox位点发生交叉识别的可能性。因此, 该遗传策略可以特异性地在内皮细胞中无缝隙地捕捉aSMA的激活。在小鼠进行心脏主动脉弓缩窄手术10w后, 肺脏会出现慢性纤维化的现象。对*aSMA-EndoMTracer*小鼠进行手术, 研究人员发现在不同的肺叶上均出现了tdT⁺ CDH5⁺的内皮细胞, 说明在损伤过程中内皮细胞发生过aSMA的激活, 但最终仍然维持了内皮细胞的命运。尽管在没有进行手术的小鼠 (Sham) 的肺中也检测到了很少量的tdT⁺ CDH5⁺的信号, 但是手术后小鼠肺中tdT⁺ CDH5⁺的信号显著增加, 同时在肺纤维化损伤越严重的区域, tdT⁺细胞的信号越密集。此外, 研究人员也利用*Col1a2-CreER; aSMA-LSL-Dre; NR1*证明在主动脉弓缩窄诱导肺纤维化损伤过程中, 肺泡区域大量的成纤维细胞会激活aSMA (PDGFRa⁺ tdT⁺), 并有一部分tdT⁺的细胞会维持aSMA的表达, 说明有一部分成纤维细胞会转化为肌成纤维细胞促进组织纤维化。

近来有研究表明小鼠肺脏中毛细血管的内皮细胞具有异质性, 分为两个不同的亚群: gCap (Plvap⁺) 和aCap (Car4⁺), 两群内皮细胞具有不同的功能。免疫荧光染色结果表明发生过aSMA瞬时激活的tdT⁺的内皮细胞几乎都是Plvap⁺的。为了探究这群Plvap⁺的内皮细胞发生瞬时激活的意义, 研究人员分选了ZsGreen⁺和tdT⁺的内皮细胞进行RNA-seq, 测序结果表明tdT⁺的细胞相比于ZsGreen⁺的细胞上调的信号通路可能会破坏血管完整性的维持、促进细胞外基质的重塑。

综上, 以上研究证明了在左心疾病诱导的肺动脉高压和肺纤维化过程中, 内皮细胞会应答损伤, 发生短暂的间充质基因的激活, 这种短暂激活可能会影响细胞外基质、血管完整性及内皮细胞与其他细胞之间的相互作用。

分子细胞卓越中心博士研究生李洪鑫和张少华博士为该论文共同第一作者。分子细胞卓越中心周斌研究员和上海新华医院孙锟教授为该论文共同通讯作者。该研究得到分子细胞卓越中心动物实验技术平台和细胞分析技术平台的大力支持。该工作得到中国科学院、基金委、科技部、上海市科委、新基石科学基金会等支持。

文章链接: <https://www.nature.com/articles/s41421-024-00745-1>



肺纤维化中特定内皮细胞EndoMT激活

