

综述



罗金才, 北京大学未来技术学院分子医学研究所教授。致力于血管细胞分子生物学的基础及转化研究。主要方向包括血管损伤与修复, 内皮细胞分泌与血栓、炎症, 淋巴管新生与抗肿瘤免疫等。主要成果包括揭示血管新生新型信号通路, 发现内皮细胞分泌新现象、调控新基因及其与人类疾病的关联性, 发现脑膜淋巴管介导抗肿瘤免疫及其应用价值。近来, 在*Proc Natl Acad Sci USA*、*Cell Research*、*Nature Communications*、*Blood*等杂志以通讯作者发表学术论文多篇, 并受邀为*Trends in Cell Biology*、*Cardiovascular Research*等杂志撰写述评。学术服务包括杂志副主编(*Cancer Science*、*Frontiers in Physiology*)及编辑(*Angiogenesis*、*Cells*)。目前担任中国生理学会血栓与止血专业委员会副主任委员、循环生理专业委员会委员, 中国病理生理学会血管医学专业委员会委员等。北京大学/拜耳学者奖获得者(2018)。

内皮细胞分泌与基质微环境

乔梓琪[#], 赵霄美[#], 罗金才^{*}

(北京大学未来技术学院分子医学研究所, 北京 100871)

摘要: 作为人体管脉系统的重要组成部分, 内皮细胞覆盖心脏、血管和淋巴管的最内层, 在包括物质运输、细胞增殖、生理性止血、血管新生、肿瘤和炎症等多种生理及病理过程中发挥重要的调控作用。除此之外, 内皮细胞还可以通过分泌作用, 介导管腔内外和基质微环境之间的相互作用。内皮细胞能够分泌多种生物活性物质, 分为持续性的组成型分泌和在多种刺激因素调控下的囊泡分泌。在生理条件下, 内皮细胞分泌对维持细胞外环境的稳态起到至关重要的作用, 如生理性止血、血管新生等; 而在病理条件下, 内皮细胞也能够通过分泌作用来应对周围环境的失调, 如损伤修复及调控肿瘤微环境等。全面了解淋巴管和血管内皮细胞的分泌功能及其调控基质微环境的机制为其调控生理功能的研究提供了方向, 并为寻找治疗肿瘤、炎症等多种疾病的新靶点奠定了基础。

关键词: 内皮; 内皮细胞分泌; 细胞外基质; 血管新生; 肿瘤微环境

Endothelial cell secretion and matrix microenvironment

QIAO Ziqi[#], ZHAO Xiaomei[#], LUO Jincan^{*}

(Institute of Molecular Medicine, College of Future Technology, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract: As an important part of the vasculature, endothelial cells cover the innermost layer of the heart, blood vessels and lymph vessels, which plays an important regulatory role in a variety of physiological and pathological processes, including material transport, cell proliferation, hemostasis, angiogenesis, tumorigenesis and inflammation. In addition, it can also mediate the interaction between endovascular cells and extracellular matrix microenvironment through the secretion of endothelial cells. Endothelial cells can secrete a variety of bioactive substances, which can be classified into continuous constitutive secretion and exocytosis of

收稿日期: 2023-05-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(81930011)

[#]第一作者: 乔梓琪, E-mail: 245957902@qq.com; 赵霄美, E-mail: 2201112427@stu.pku.edu.cn^{*}通信作者: E-mail: jincailuo@pku.edu.cn

membranous vesicles under the regulation of multiple stimuli. Under physiological conditions, endothelial cell secretion plays a crucial role in maintaining the homeostasis of the extracellular environment, such as physiological hemostasis and angiogenesis. Under pathological conditions, endothelial cells can also respond to environmental disorders through secretion, such as damage repair and the regulation of tumor microenvironment. A comprehensive understanding of the secretory function of lymphatic vessels and blood endothelial cells and the mechanism of their regulation functions of matrix microenvironment will provide a direction for the study of their regulation of physiological functions, and lay a foundation for searching for new targets of the treatment of various diseases.

Key Words: endothelium; endothelial cell secretion; extracellular matrix; angiogenesis; tumor microenvironment

内皮是覆盖在心脏、血管和淋巴管最内层的结构,由内皮细胞组成。其中,血管内皮是覆盖在动脉、静脉、毛细血管最内层的结构,由血管内皮细胞(blood endothelial cell, BEC)组成,淋巴管内皮细胞(lymphatic endothelial cell, LEC)则覆盖于淋巴管最内层。在血管结构中,内皮细胞锚定在一层厚50~100 nm的基板上,与内皮下结缔组织共同构成血管内膜。据估计,覆盖于人体管腔的内膜总面积3 000~6 000 m²,包括 1×10^{13} ~ 6×10^{13} 个内皮细胞,是人体管脉系统的重要组成部分,在沟通管腔内血液与管壁基质微环境之间的物质交换中起到至关重要的作用,并在多种生理及病理过程中发挥重要的调控作用,包括生理止血、细胞增殖、血管新生、炎症、肿瘤等^[1]。且随着近些年淋巴管相关研究的积累,淋巴管以及淋巴内皮细胞在收集和引流淋巴液之外的功能逐渐凸显。本文主要总结了血管及淋巴管的分泌功能及其在调控细胞外基质微环境中的相关研究。

1 内皮细胞的分泌功能

1.1 内皮细胞分泌概述

内皮细胞能够分泌各种生物活性物质,其丰富的分泌功能使其作为多功能的旁分泌、内分泌、自分泌器官,在多项生命活动中发挥重要作用。

按模式的不同,分泌分为组成型分泌和调节型分泌两种类型。前者为细胞在静息状态下进行持续不断的分泌,而后者则是在受到特定刺激后胞内膜性囊泡的胞吐作用。内皮细胞的分泌具有典型的极性,其上表面朝向血管管腔的血液,与血液及管腔内细胞和物质相互作用,而基底面朝

向血管管壁,能够与组织与细胞基质相互作用。血管性血友病因子(von Willebrand factor, VWF)是内皮细胞特异性的囊泡结构WP小体(Weibel-Palade body, WPB)中最丰富的内容物,可以在血管内皮细胞受到各种损伤刺激时通过胞吐作用释放至血液。VWF的分泌方式可以分为组成型分泌、基础型分泌及调节型分泌^[2]。组成型分泌不依赖WP小体,VWF前体和成熟单体组成二聚体形式,从高尔基体直接持续性地少量分泌到胞外,主要朝向细胞基底面;基础型分泌是在没有刺激的情况下以WP小体的形式分泌高聚体和二聚体VWF,从细胞上表面和基底面分泌的VWF比例约为1:3;调节型分泌指WP小体通过胞吐作用释放储存在其中的大量多聚体VWF,主要在内皮细胞受到外界机械力或化学刺激后发生。值得注意的是,三种分泌方式均会朝向基底侧进行分泌,从而与内皮下细胞基质进行相互作用^[2]。

多种刺激因素及生物活性因子能够调控内皮细胞的胞吐作用,包括凝血酶、组胺、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、肾上腺素等,根据其调控信号通路的不同可以分为钙离子通路激动剂及环磷酸腺苷通路激动剂^[3]。在血管损伤的情况下,钙离子介导的促分泌因子凝血酶、组胺等物质能够迅速诱发细胞内大量WPB的局部胞吐作用,诸多研究表明,这种作用可能是通过钙调素和一些小GTP结合蛋白介导的^[4,5]。与钙离子通路激动剂促进核周及外周分布的WP小体分泌不同,环磷酸腺苷通路激动剂仅能使分布于外周的WP小体释放至胞外^[6]。由于两类激动剂诱导内皮细胞骨架重塑的方式不同,对内皮细胞屏障功能产生的影响有显著的差异^[5]。

1.2 WP小体与BEC胞吐

WP小体是内皮细胞特异性的囊泡结构, VWF蛋白是其中最丰富的内含物, 可以在血管内皮细胞受到各种损伤刺激时通过胞吐作用释放至血液, 在生理性止血的各阶段发挥重要功能^[7]。WP小体单体为宽约0.1 μm 、长度不超过3 μm 的短棒状单层囊泡结构, 常在内皮细胞胞质内成群分布^[8]。在电子显微镜下, 可见其内平行排列的条状结构, 横截面可见内部由内径约12 nm、高电子密度的空心管状结构组成^[9]。小管数量与横截面积成正比, 每个WP小体中含有6~26个小管^[8]。

VWF是一种由内皮细胞及巨核细胞产生的前体多肽, 由2 813个氨基酸组成, 储存在血小板的 α -囊泡及内皮细胞WP小体中, 是WP小体中含量最丰富的物质^[10]。早期研究中, 免疫组织化学染色显示VWF广泛表达在不同组织来源及不同血管类型中的内皮细胞中, 但后续又陆续发现其在不同组织细胞的表达具有很大差异^[4]。近年来随着研究的深入, 除了VWF以外的WP小体内容物受到越来越多的重视, 其在包括炎症、止血、血管新生、血管收缩与舒张在内的多项生理及病理过程中发挥重要作用。当内皮细胞所处的微环境发生变化时, 其内不同内容物释放并发挥不同功能, 使内皮细胞能够迅速适应周围环境稳态的异常。例如, 在血管完整性受到破坏时诱导血管收缩的内皮素、内皮素转化酶等, 调节炎症反应并招募炎症细胞的白细胞介素-8、P-选择素、嗜酸性粒细胞活化趋化因子等^[3]。

2 BEC调控基质微环境

2.1 BEC调控生理性止血

当血管发生损伤时, 血管内皮细胞作为损伤修复的第一道防线, 通过分泌多种生物活性物质与周围的基质微环境相互作用, 响应失衡的血管内环境(图1A)。

BEC与血小板和内皮下基质相互作用。BEC通过分泌VWF介导血小板的聚集与黏附, 同时使其下方基质中的组织因子暴露于血管, 激活凝血因子Ⅶ并触发凝血^[11]。血管损伤后, VWF多聚体自内皮细胞释放过程中打开折叠并拉长成线状, 通过增大表面积介导损伤部位血小板的聚集与黏

附, 作为血小板与内皮、相邻血小板之间的黏附因子在一期止血过程中发挥至关重要的作用^[7]。除此之外, VWF也可作为凝血因子Ⅷ的载体蛋白参与二期止血, 维持凝血因子Ⅷ之间的连接并抑制其在血液中的降解, 从而维持血管的稳定状态^[7]。虽然血小板和内皮细胞均可分泌VWF进入血浆, 但后者才是在生理性止血与血栓形成中发挥关键作用的VWF来源细胞^[12]。除此之外, 内皮细胞与血小板和细胞外基质的相互作用亦可通过其上表达的其他膜分子而发挥作用。例如, BEC在VEGF的诱导下表达表面因子——细胞间黏附因子1, 通过引起血小板和淋巴细胞的黏附, 促进损伤部位的炎症反应及血栓形成, 并介导P选择素通过分泌作用释放到内皮细胞膜上, 从而促进血小板的黏附作用^[13]。

BEC与其他细胞的相互作用, 在生理性止血与血栓形成过程中至关重要。心肌细胞转化生长因子- β 能够诱导小鼠心脏微血管中内皮细胞表达内皮素-1前体, 从而控制心脏微血管张力及收缩, 并通过调控心脏微循环中的血小板活性共同发挥对心肌细胞收缩及心脏微循环系统的协调功能^[14]。此外, 心肌细胞还可诱导血管内皮细胞表达血小板衍生生长因子B并产生血小板衍生生长因子AB, 通过血小板源性生长因子——心肌细胞通路调控心脏微血管内皮细胞表达VWF, 在心脏微血管的止血与血管生成中发挥重要的调控作用^[15]。

2.2 BEC调控血管新生

血管新生是指在原有血管网络的基础上生成新的血管结构, 在机体生长发育和损伤修复的生理及病理过程中均可发生, 目的是恢复组织血供以促进伤口愈合。新血管的形成方式可以分为套叠式血管生成和出芽式血管生成。前者主要通过间质组织侵入原有的血管组织, 形成跨血管组织柱, 扩张并分裂血管; 而后者则为内皮细胞向血管生成刺激方向出芽并生长, 包括各种酶降解血管基底膜、血管内皮细胞增殖、迁移、发芽、分支和管形成^[16]。由此可见, BEC在其中扮演至关重要的作用, 可以通过多种旁分泌因子以及细胞间和细胞-基质间的相互作用, 不断地与周围环境进行交流, 从而调控该过程的发生发展(图1B)。

BEC与多种基质微环境中的细胞相互作用,

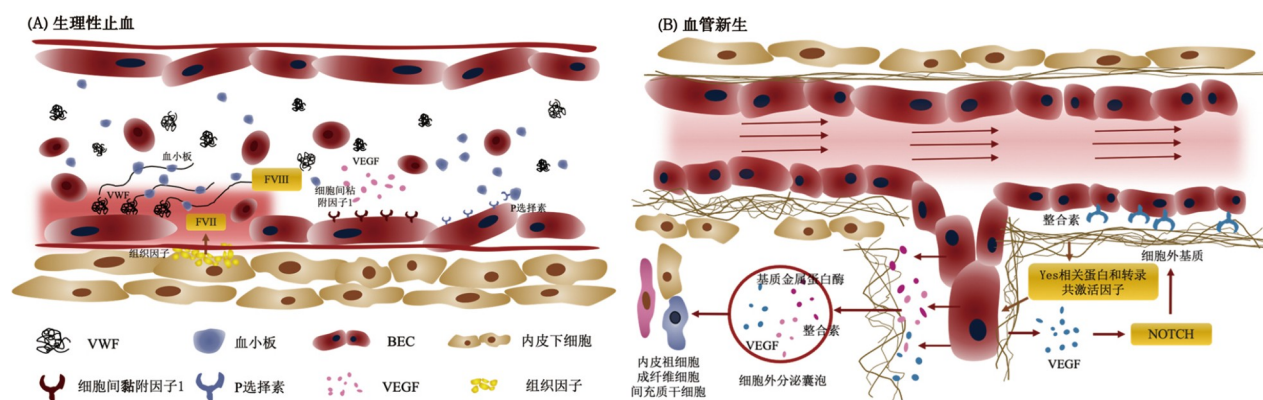


图1 血管内皮细胞调控基质微环境

例如内皮祖细胞、间充质干细胞、血小板等，主要通过分泌各种细胞外分泌小泡发挥功能。2002年，Taraboletti等^[17]报道了BEC释放的囊泡能够发挥血管生成潜能，其中的分泌囊泡含有 $\beta 1$ 整合素、基质金属蛋白酶-2和基质金属蛋白酶-9，调控血管生成过程的基质降解等过程。近年来有研究发现，内皮细胞通过尿激酶型纤溶酶原激活物/尿激酶型纤溶酶原激活物受体调控促血管生成生长因子的信号启动，将细胞表面的尿激酶型纤溶酶原激活物受体重新分配到BEC的迁移边缘^[18]。通过细胞外囊泡转运尿激酶型纤溶酶原激活物/尿激酶型纤溶酶原激活物受体复合体，将纤溶酶原激活为纤溶酶，驱动基质蛋白水解并调节内皮祖细胞功能^[19]。同时，内皮细胞产生主要的黏附分子纤维连接蛋白，启动内皮细胞中整合素的表达，随后细胞外基质和整合素之间的相互作用使新血管稳定和内聚，并介导细胞外基质和壁细胞的连接^[20]。此外，有研究表明，内皮祖细胞衍生的细胞外囊泡能够通过 $\alpha 4$ 和 $\beta 1$ 整合素的相互作用融入BEC，并通过传递与内源性一氧化氮合酶和磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶b信号通路相关的mRNA，在体外和体内水平均可刺激血管新生过程的发生^[21]。近期也有研究发现，在缺氧刺激下，骨髓来源的间充质干细胞能够释放可被BEC结合的分泌囊泡，在体外刺激血管形成，在大鼠心肌梗死模型中促进血管新生^[22]。

细胞外基质也可通过多种途径与BEC相互作用，包括生化途径和机械力的刺激等。BEC与细胞外基质的黏附作用受内皮整合素受体与细胞外基

质蛋白相互作用的影响，通过VEGF介导Notch信号通路的激活，与Notch受体胞内结合域相互作用增加茎细胞的细胞-基质连接，调节细胞外基质的增殖和迁移^[23]。机械力是由基质密度和弹性的变化产生的，前者能够影响BEC与基质的黏附作用，从而调节内皮细胞的形态和增殖速率^[24]。增加的基质密度增强并调节基质缠结和细胞与基质之间的连接，导致增殖细胞数量高于迁移细胞。除此之外，有研究表明，细胞外基质的机械力能够激活Yes相关蛋白和转录共激活因子通路，通过基质重塑影响内皮细胞迁移和丝状足的形成，进一步支持细胞外基质的形成，从而稳定BEC的功能^[25]。

3 LEC调控基质微环境

淋巴管是盲端起源的低压、单向流动的系统，几乎存在于脊椎动物身体的每个器官中。LEC是由哺乳动物胚胎发育过程的中静脉前体细胞转分化产生的。淋巴血管发育的启动对应液体引流的需要，在此过程中，LEC中整合素 $\beta 1$ 感知到机械牵拉和VEGF C/血管内皮生长因子受体3(vascular endothelial growth factor receptor 3, VEGFR3)信号协同促进LEC增殖^[26]。生理条件下，毛细淋巴管收集组织间液汇集到收集淋巴管，汇入胸导管回到静脉。毛细淋巴管基底膜薄，无支撑壁细胞，内皮细胞间形成不连续的“纽扣样”连接，这增加了通透性，有利于组织液的摄取和免疫细胞的迁移。收集淋巴管中的内皮细胞被拉长并形成连续的“拉链样”连接，并且被平滑肌细胞和基底膜包围，通透性差^[27]。管周平滑肌细胞收缩、周围

骨骼肌收缩和动脉搏动驱动淋巴液流动。收集淋巴管腔中存在淋巴瓣和静脉连接处的淋巴静脉瓣, 能够防止淋巴逆行和血液反流^[28]。收集淋巴管的专门化发生在妊娠晚期, 响应增加的淋巴流量。收集淋巴管减少或不表达参与淋巴管生成和免疫细胞运输的分子, 例如血管内皮生长因子受体3、C-C趋化因子配体21(C-C motif chemokine ligand 21, CCL21)和淋巴管内皮透明质酸受体1, 而在瓣膜区域特异性高表达叉头盒转录因子2和GATA结合蛋白2^[26]。

3.1 LEC调控淋巴结免疫响应

淋巴结(lymph node, LN)是具有高度功能分区的次级免疫器官, LN中的免疫细胞呈高度区室化分布。LN外侧皮质区主要由B细胞组成, 并呈滤泡聚集。皮质下区域弥散分布着大量的T细胞, 在免疫激活状态下, T细胞和B细胞边界处会形成生发中心。髓质由巨噬细胞和分泌抗体的浆细胞组成。LN各功能分区的维持对LN在免疫响应中发挥功能至关重要。而近些年的研究表明, LN LEC具有高内吞和转胞吞能力, 能够通过分泌具有生物活性的脂质和生长因子调控LN内的免疫微环境, 并在建立生物活性分子梯度和LN功能分区等方面发挥重要作用(图2A)。

LEC具有高内吞活力^[29]。皮下窦(subcapsular sinus, SCS) LEC利用这种能力将淋巴液携带的免疫球蛋白G内吞并快速通过转胞吞传递到LN实质中^[30]。髓质LEC使用它获取可溶性抗原并随后呈递给CD8⁺ T细胞以介导转录因子自身免疫调节因子缺失性免疫耐受^[31,32]。除此之外, 研究还表明, LN LEC能够诱导CD4⁺ T细胞失能^[33,34]。在炎症期间, 增殖的LN LEC还能够隔离抗原并在病毒感染期间对其进行长期存储。随着炎症消退, LEC死亡会将这些抗原释放出来, 树突状细胞(dendritic cell, DC)利用其进行交叉呈递诱导CD4⁺ T细胞免疫记忆的产生^[35,36]。

LEC通过参与生物活性分子梯度形成, 调节LN内的免疫细胞运输。研究最清楚的机制是1-磷酸鞘氨醇(sphingosine 1 phosphate, S1P)梯度, S1P是S1P G蛋白偶联受体家族的受体。S1P在LEC内合成, 由1-磷酸鞘氨醇转运蛋白同源物2转运, 在淋巴结中形成梯度分布并被各种免疫细胞群感知^[37]。T细胞和B细胞依赖这一梯度进入输出淋巴管, 因此这一梯度对于淋巴细胞再循环至关重要^[38]。DC细胞的迁移主要依赖CC趋化因子受体7-CCL21的趋化作用。组织驻留DC细胞主要通过外周淋巴管引流到LN的SCS区域, 进一步在CCL21

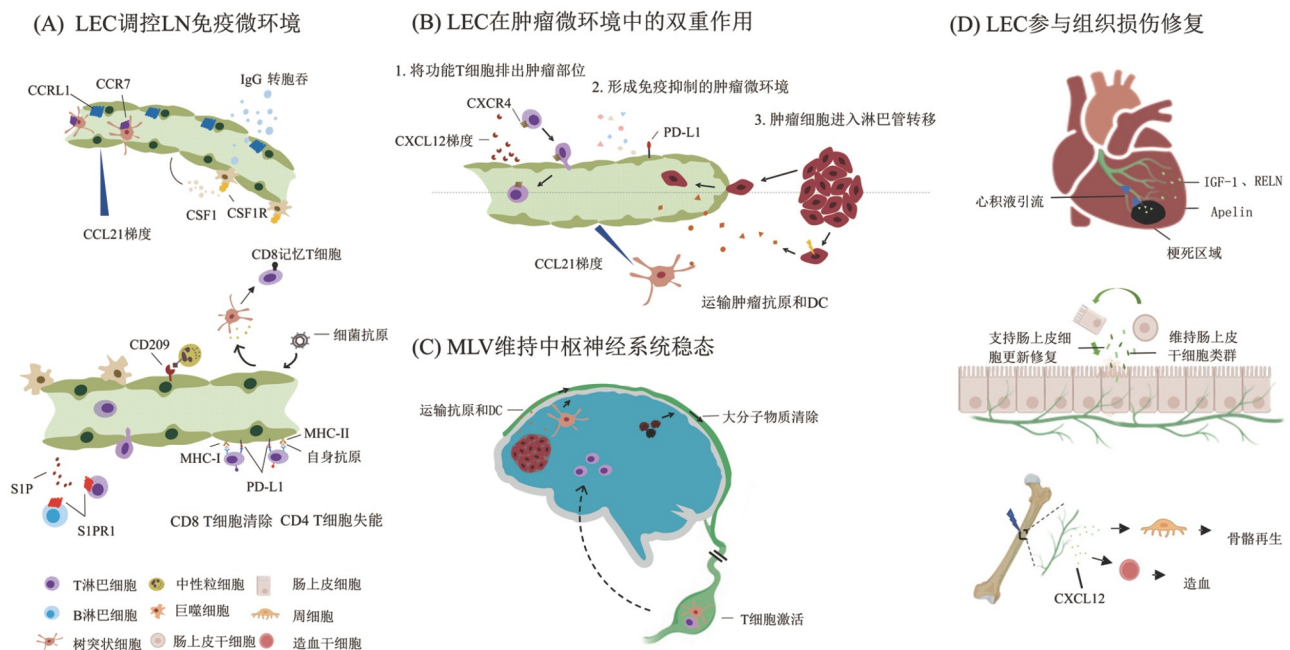


图2 淋巴内皮细胞调控组织微环境

趋化作用下迁移到LN实质中发挥抗原呈递作用^[39]。SCS外侧的LEC高表达CCL21的诱骗受体CC趋化因子受体配体1, 促进CCL21梯度形成, 并且在CC趋化因子受体配体1敲除小鼠中观察到DC向LN实质的迁移明显受阻^[40]。

LEC通过生长因子调控LN免疫细胞定位。LN髓质窦和SCS部位的LEC表达巨噬细胞存活因子集落刺激因子1, 维持巨噬细胞在髓质窦和SCS的定位, 这些位置的巨噬细胞能够快速捕获淋巴引流的病原体, 产生细胞因子招募DC、中性粒细胞和自然杀伤细胞并将抗原传递给B细胞启动特异性免疫反应^[41,42]。最近, 对人类LN LEC的单细胞测序研究鉴定出了六个不同的LEC亚群, 其中SCS LEC产生多种中性粒细胞趋化因子, 同时髓质窦LEC特异性表达C类型凝集素CD209, 这对中性粒细胞的保留很重要。这表明髓质LEC可能通过在巨噬细胞附近积聚中性粒细胞来清除淋巴传播病原体, 预防其传播^[43]。

上述研究表明, 淋巴管除了作为被动运输管道, 将抗原和免疫细胞引流到淋巴结中, 淋巴结不同部位的LEC还通过转胞吞和分泌作用行使不同功能, 从而调控淋巴结免疫微环境, 组织免疫细胞的区室化分布, 在淋巴结免疫响应中发挥重要作用。

3.2 LEC调控肿瘤微环境

LEC在调控肿瘤微环境中发挥相对复杂的功能, 并且随着肿瘤进程不同以及肿瘤发生部位的不同, 有着看似矛盾的结果(图2B)。一方面, 肿瘤周围淋巴管具有通透性, 容易被肿瘤细胞侵染。研究表明, 在黑色素瘤、乳腺癌、前列腺癌和头颈癌中, 高水平的淋巴管生成生长因子VEGF C会增加肿瘤周围淋巴管的密度并与肿瘤的LN转移和较差临床结果有明显关联^[44]。除了作为肿瘤转移的潜在通道, 炎症状态下的LEC还能够通过多种途径促成免疫抑制的肿瘤微环境, 抑制DC细胞成熟、限制细胞毒性T淋巴细胞功能^[45]。另一方面, 肿瘤抗原和肿瘤部位的DC通过淋巴管引流到LN对抗肿瘤免疫的产生是必需的^[46-48]。近些年, 有研究表明, 肿瘤附近淋巴管缺失影响促炎性肿瘤微环境的形成和T细胞浸润, 而通过VEGF C诱导淋巴管生成则能促进肿瘤内CD8⁺ T细胞在肿瘤部位的

积累, 并在免疫疗法中取得更好效果^[26]。特别是近年在小鼠脑肿瘤模型的研究中发现, 脑部的肿瘤免疫对脑膜淋巴管表现出极强的依赖性。VEGF C在脑膜的异位表达能够促进CD8⁺ T细胞向肿瘤迁移, 对胶质母细胞瘤进行快速清除并产生持久的抗肿瘤免疫记忆, 并对放疗和免疫检查点治疗表现出明显的协同作用^[49-51]。在临床治疗中也发现, 具有高循环水平VEGF C的黑色素瘤患者对黑色素A肽治疗性疫苗接种具有更强的免疫反应, 并且对抗细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4或程序性死亡受体1免疫疗法具有更好的临床反应^[51]。因此, 虽然淋巴管系统通常促进转移, 甚至在晚期肿瘤中表现出“衰竭”和免疫抑制特征, 但它对于产生抗肿瘤免疫和对免疫治疗的促进作用是不可忽视的。

肿瘤相关淋巴管在癌症进展中有双面作用, 一些案例中, 癌症疗法会诱导淋巴管生成因子表达, 促进肿瘤淋巴管生成从而促进转移。但功能性肿瘤淋巴管对化疗和治疗性疫苗接种有辅助作用, 并增强免疫检查点抑制剂的效果^[26]。因此需要进一步的研究来了解和利用淋巴管在特定癌症类型中的作用以及特定器官微环境以及肿瘤与淋巴管之间的交互作用。最近的研究发现, 皮肤黑色素瘤周围存在部分LEC通过CXC趋化因子配体12-CXC趋化因子受体4将T细胞从肿瘤部位迁出^[52]。肿瘤部位淋巴内皮细胞具有异质性, 是肿瘤相关淋巴管双重作用的可能原因, 因此通过重新编程改变肿瘤相关LEC功能可能是比消融肿瘤相关淋巴管更现实的策略。

3.3 LEC调节中枢神经系统稳态

脑膜淋巴管(meningeal lymphatic vessels, MLV)的发现是近几十年来生命科学最激动人心的发现之一。MLV表达所有传统的组织内淋巴管内皮细胞的标志物, 并具有与外周毛细淋巴管相似的特征——缺乏淋巴瓣膜、无连续基底膜包被。此外, 功能学实验表明, 脑膜淋巴管与颈深淋巴结有直接联系, 能够引流脑脊液, 将大分子、抗原和免疫细胞清除到外周淋巴系统^[53,54]。与外周淋巴管在胚胎时期发育不同, MLV的发育发生在出生后2~3周^[55]。

MLV的发现为中枢神经系统稳态平衡调控和

免疫监视的研究开辟了新的视野。在一些与年龄相关的神经退行性疾病如阿尔茨海默病中, MLV的脑脊液清除功能具有重要的生理、病理意义。在正常年轻小鼠中, MLV的结构损伤会导致脑脊液分布异常并引起学习和记忆缺陷。在阿尔兹海默病小鼠模型中, MLV结构损伤后观察到脑淀粉样蛋白 β 和tau蛋白沉积加重, 表明MLV功能障碍可能通过干扰病理蛋白的清除参与疾病进程, 是可能的治疗靶点^[56]。相反, 在神经退行性疾病中, MLV可能促成自身免疫性神经疾病, 如多发性硬化症。在多发性硬化症模型中, 破坏脑膜淋巴管能够减少脑部T细胞引发的炎症反应^[57]。在脑肿瘤模型下, 施加VEGF C刺激MLV生成, 能够增强肿瘤抗原向颈深淋巴结的引流, 淋巴内皮细胞分泌CCL21总量增加, 有助于树突状细胞迁移, 从而增强T细胞免疫应答以提升放疗以及针对细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4或程序性死亡受体1的免疫检查点疗法的效果^[49-51]。

虽然MLV的发现使业内对中枢神经系统稳态平衡和免疫监视的理解更进了一步, 但目前对脑膜淋巴系统的研究主要集中在MLV的引流功能上, LEC的分泌功能以及对脑部微环境调控作用的研究仍有待进一步深入(图2C)。

3.4 LEC在组织损伤修复中的作用

目前为止, 有研究表明, 淋巴管在组织损伤后修复和再生中发挥了重要作用^[58](图2D)。

心肌梗塞是最常见的心脏损伤, 是一种危及生命的疾病, 通常由冠状动脉中血液突然受阻引发, 会导致组织损伤和大量心肌细胞死亡。反过来又导致受损部位纤维化组织的形成, 最终造成心力衰竭^[59]。一系列研究发现, 心肌梗塞能够诱导心脏淋巴管新生并且心肌梗塞发生后的心脏淋巴管生成能够促进消除心肌水肿和炎症, 改善心肌收缩功能延迟动脉粥样硬化斑块的形成。心肌梗塞模型小鼠腹腔注射重组VEGF C蛋白诱导心脏淋巴管生成能够改善心肌液平衡, 减轻心肌炎症、纤维化和心肌功能障碍^[60,61]。Vuorio等^[62]进一步用表达可溶性诱骗受体VEGFR3和*Vegfr3*基因失活突变的淋巴管缺陷小鼠进行研究, 发现这些小鼠在生理情况下心脏淋巴管结构发生改变但心脏功能未受影响, 但在心肌梗塞后这些小鼠出现心

肌内出血和梗死区域心脏结构改变并伴随着更高的死亡率。除此之外, 有研究发现, 缺血导致的心脏新生淋巴管高表达脂肪因子能够调节心肌梗塞后的炎症状态和心肌收缩力^[63]。最近的研究还证明了VEGFR3依赖性淋巴管生成对介导运动诱导的生理性心脏生长是必需的。实验发现, LEC条件培养基中含有更高水平的络丝蛋白和胰岛素样生长因子1, 能够激活磷酸激酶B和调控CCAAT/增强子结合蛋白 β -辅助转录因子CITED4轴促进心肌细胞生理性增大和增殖, 并且发现络丝蛋白对新生小鼠心肌梗塞后的心脏再生是必需的^[64,65]。这些研究都表明, 淋巴管新生在心脏损伤后恢复心脏功能方面具有有益作用, 心脏淋巴管可能是改善损伤后心脏功能的潜在治疗靶点。

除了心脏, 最近在其他器官和组织中的研究也报道了淋巴管具有参与损伤修复和再生的功能。肠上皮细胞在成体后依然经历持续更新, 并在损伤后具有非凡的再生能力, 其再生能力依赖肠黏膜的特殊微环境。最近的研究发现, 肠系膜LEC能抑制肠上皮干细胞分化以维持干细胞类群, 并分泌支持肠上皮细胞更新和修复的分子, 在调控肠上皮微环境中发挥重要作用^[66,67]。最新的一项研究通过高分辨率光片显微镜成像发现骨骼中存在淋巴管, 并且损伤后的新生淋巴管通过分泌CXC趋化因子配体12促进肌球蛋白重链11阳性、CXC趋化因子受体4阳性的周细胞增殖分化, 促进骨骼和血细胞再生^[68]。

总之, 上述研究表明, 淋巴管新生在组织和器官的损伤后修复中发挥重要作用。除了通过引流功能消除损伤区域的局部水肿和炎症, LEC能够通过分泌和表达生物活性分子, 塑造局部微环境, 支持损伤部位细胞的增殖和功能恢复。

4 总结与展望

本文主要综述了近几年来内皮细胞在多种生理和病理状态下参与调控局部组织微环境的研究进展。血管内皮细胞与基质微环境相互作用, 通过内皮细胞特有的WP小体在损伤修复、凝血和血管新生等方面发挥重要作用。在最近几年的研究中, 淋巴管作为组织间液运输管道之外的功能逐渐受到重视。如淋巴内皮细胞能够通过分泌多种

活性因子塑造淋巴结和肿瘤部位的免疫微环境，调控免疫响应；维持中枢神经系统稳态；促进组织损伤修复。在以往的研究中，内皮细胞分泌与微环境的相互作用曾一度被低估，而本文展示了内皮细胞分泌在调控生理和病理过程中的作用具有广泛的潜在研究价值，值得进一步探究。

参考文献

- [1] Krüger-Genge A, Blocki A, Franke RP, et al. Vascular endothelial cell biology: an update. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4411
- [2] Lopes da Silva M, Cutler DF. von Willebrand factor multimerization and the polarity of secretory pathways in endothelial cells. *Blood*, 2016, 128(2): 277-285
- [3] Rondaij MG, Bierings R, Kragt A, et al. Dynamics and plasticity of weibel-palade bodies in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(5): 1002-1007
- [4] van Mourik JA, Romani de Wit T, Voorberg J. Biogenesis and exocytosis of Weibel-Palade bodies. *Histochem Cell Biol*, 2002, 117(2): 113-122
- [5] Vischer UM, Barth H, Wollheim CB. Regulated von willebrand factor secretion is associated with agonist-specific patterns of cytoskeletal remodeling in cultured endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(3): 883-891
- [6] Kaufmann JE, Oksche A, Wollheim CB, et al. Vasopressin-induced von Willebrand factor secretion from endothelial cells involves V2 receptors and cAMP. *J Clin Invest*, 2000, 106(1): 107-116
- [7] Kazmi R, Boyce S, Lwaleed B. Homeostasis of hemostasis: the role of endothelium. *Semin Thromb Hemost*, 2015, 41(6): 549-555
- [8] Weibel ER, Palade GE. New cytoplasmic components in arterial endothelia. *J Cell Biol*, 1964, 23(1): 101-112
- [9] Valentijn KM, Sadler JE, Valentijn JA, et al. Functional architecture of Weibel-Palade bodies. *Blood*, 2011, 117(19): 5033-5043
- [10] Lenting PJ, Christophe OD, Denis CV. von Willebrand factor biosynthesis, secretion, and clearance: connecting the far ends. *Blood*, 2015, 125(13): 2019-2028
- [11] Sang Y, Roest M, de Laat B, et al. Interplay between platelets and coagulation. *Blood Rev*, 2021, 46: 100733
- [12] Verhenne S, Denorme F, Libbrecht S, et al. Platelet-derived VWF is not essential for normal thrombosis and hemostasis but fosters ischemic stroke injury in mice. *Blood*, 2015, 126(14): 1715-1722
- [13] Hao Q, Wang L, Tang H. Vascular endothelial growth factor induces protein kinase D-dependent production of proinflammatory cytokines in endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2009, 296(4): C821-C827
- [14] Nishida M, Springhorn JP, Kelly RA, et al. Cell-cell signaling between adult rat ventricular myocytes and cardiac microvascular endothelial cells in heterotypic primary culture. *J Clin Invest*, 1993, 91(5): 1934-1941
- [15] Edelberg JM, Aird WC, Wu W, et al. PDGF mediates cardiac microvascular communication. *J Clin Invest*, 1998, 102(4): 837-843
- [16] Todorova D, Simoncini S, Lacroix R, et al. Extracellular vesicles in angiogenesis. *Circ Res*, 2017, 120(10): 1658-1673
- [17] Taraboletti G, D'Ascenzo S, Borsotti P, et al. Shedding of the matrix metalloproteinases MMP-2, MMP-9, and MT1-MMP as membrane vesicle-associated components by endothelial cells. *Am J Pathol*, 2002, 160(2): 673-680
- [18] Stepanova V, Jayaraman PS, Zaitsev SV, et al. Urokinase-type plasminogen activator (uPA) promotes angiogenesis by attenuating proline-rich homeodomain protein (PRH) transcription factor activity and de-repressing vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor expression. *J Biol Chem*, 2016, 291(29): 15029-15045
- [19] Lacroix R, Sabatier F, Mialhe A, et al. Activation of plasminogen into plasmin at the surface of endothelial microparticles: a mechanism that modulates angiogenic properties of endothelial progenitor cells *in vitro*. *Blood*, 2007, 110(7): 2432-2439
- [20] Turner CJ, Badu-Nkansah K, Hynes RO. Endothelium-derived fibronectin regulates neonatal vascular morphogenesis in an autocrine fashion. *Angiogenesis*, 2017, 20(4): 519-531
- [21] Deregibus MC, Cantaluppi V, Calogero R, et al. Endothelial progenitor cell-derived microvesicles activate an angiogenic program in endothelial cells by a horizontal transfer of mRNA. *Blood*, 2007, 110(7): 2440-2448
- [22] Teng X, Chen L, Chen W, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes improve the microenvironment of infarcted myocardium contributing to angiogenesis and anti-inflammation. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(6): 2415-2424
- [23] Estrach S, Cailleteau L, Franco CA, et al. Laminin-binding integrins induce Dll4 expression and notch signaling in endothelial cells. *Circ Res*, 2011, 109(2): 172-182
- [24] Shamloo A, Mohammadaliha N, Heilshorn SC, et al. A comparative study of collagen matrix density effect on endothelial sprout formation using experimental and computational approaches. *Ann Biomed Eng*, 2016, 44(4): 929-941
- [25] Neto F, Klaus-Bergmann A, Ong YT, et al. YAP and TAZ regulate adherens junction dynamics and endothelial cell

- distribution during vascular development. *E Life*, 2018, 7: e31037
- [26] Petrova TV, Koh GY. Biological functions of lymphatic vessels. *Science*, 2020, 369(6500): eaax4063
- [27] Baluk P, Fuxe J, Hashizume H, et al. Functionally specialized junctions between endothelial cells of lymphatic vessels. *J Exp Med*, 2007, 204(10): 2349-2362
- [28] Escobedo N, Oliver G. Lymphangiogenesis: origin, specification, and cell fate determination. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2016, 32(1): 677-691
- [29] Triacca V, Güç E, Kilarski WW, et al. Transcellular pathways in lymphatic endothelial cells regulate changes in solute transport by fluid stress. *Circ Res*, 2017, 120(9): 1440-1452
- [30] Kähäri L, Fair-Mäkelä R, Auvinen K, et al. Transcytosis route mediates rapid delivery of intact antibodies to draining lymph nodes. *J Clin Invest*, 2019, 129(8): 3086-3102
- [31] Hirosue S, Vokali E, Raghavan VR, et al. Steady-state antigen scavenging, cross-presentation, and CD8⁺ t cell priming: a new role for lymphatic endothelial cells. *J Immunol*, 2014, 192(11): 5002-5011
- [32] Cohen JN, Guidi CJ, Tewalt EF, et al. Lymph node-resident lymphatic endothelial cells mediate peripheral tolerance via Aire-independent direct antigen presentation. *J Exp Med*, 2010, 207(4): 681-688
- [33] Dubrot J, Duraes FV, Potin L, et al. Lymph node stromal cells acquire peptide-MHCII complexes from dendritic cells and induce antigen-specific CD4⁺ T cell tolerance. *J Exp Med*, 2014, 211(6): 1153-1166
- [34] Rouhani SJ, Eccles JD, Riccardi P, et al. Roles of lymphatic endothelial cells expressing peripheral tissue antigens in CD4 T-cell tolerance induction. *Nat Commun*, 2015, 6(1): 6771
- [35] Kedl RM, Lindsay RS, Finlon JM, et al. Migratory dendritic cells acquire and present lymphatic endothelial cell-archived antigens during lymph node contraction. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 2034
- [36] Tamburini BA, Burchill MA, Kedl RM. Antigen capture and archiving by lymphatic endothelial cells following vaccination or viral infection. *Nat Commun*, 2014, 5(1): 3989
- [37] Yanagida K, Hla T. Vascular and immunobiology of the circulatory sphingosine 1-phosphate gradient. *Annu Rev Physiol*, 2017, 79(1): 67-91
- [38] Pham THM, Baluk P, Xu Y, et al. Lymphatic endothelial cell sphingosine kinase activity is required for lymphocyte egress and lymphatic patterning. *J Exp Med*, 2010, 207(1): 17-27
- [39] Ohl L, Mohaupt M, Czeloth N, et al. CCR7 governs skin dendritic cell migration under inflammatory and steady-state conditions. *Immunity*, 2004, 21(2): 279-288
- [40] Ulvmar MH, Werth K, Braun A, et al. The atypical chemokine receptor CCRL1 shapes functional CCL21 gradients in lymph nodes. *Nat Immunol*, 2014, 15(7): 623-630
- [41] Camara A, Cordeiro OG, Alloush F, et al. Lymph node mesenchymal and endothelial stromal cells cooperate via the RANK-RANKL cytokine axis to shape the sinusoidal macrophage niche. *Immunity*, 2019, 50(6): 1467-1481.e6
- [42] Mondor I, Baratin M, Lagueyrie M, et al. Lymphatic endothelial cells are essential components of the sub-capsular sinus macrophage niche. *Immunity*, 2019, 50(6): 1453-1466
- [43] Takeda A, Hollmén M, Dermadi D, et al. Single-cell survey of human lymphatics unveils marked endothelial cell heterogeneity and mechanisms of homing for neutrophils. *Immunity*, 2019, 51(3): 561-572.e5
- [44] Wilczak W, Wittmer C, Clauditz T, et al. Marked prognostic impact of minimal lymphatic tumor spread in prostate cancer. *Eur Urol*, 2018, 74(3): 376-386
- [45] Garnier L, Gkoutidi AO, Hugues S. Tumor-associated lymphatic vessel features and immunomodulatory functions. *Front Immunol*, 2019, 10: 720
- [46] Salmon H, Idoyaga J, Rahman A, et al. Expansion and activation of CD103⁺ dendritic cell progenitors at the tumor site enhances tumor responses to therapeutic PD-L1 and BRAF inhibition. *Immunity*, 2016, 44(4): 924-938
- [47] Fransen MF, Schoonderwoerd M, Knopf P, et al. Tumor-draining lymph nodes are pivotal in PD-1/PD-L1 checkpoint therapy. *JCI Insight*, 2018, 3(23): e124507
- [48] Hu X, Deng Q, Ma L, et al. Meningeal lymphatic vessels regulate brain tumor drainage and immunity. *Cell Res*, 2020, 30(3): 229-243
- [49] Zhou C, Ma L, Xu H, et al. Meningeal lymphatics regulate radiotherapy efficacy through modulating anti-tumor immunity. *Cell Res*, 2022, 32(6): 543-554
- [50] Song E, Mao T, Dong H, et al. VEGF-C-driven lymphatic drainage enables immunosurveillance of brain tumours. *Nature*, 2020, 577(7792): 689-694
- [51] Fankhauser M, Broggi MAS, Potin L, et al. Tumor lymphangiogenesis promotes T cell infiltration and potentiates immunotherapy in melanoma. *Sci Transl Med*, 2017, 9(407): eaal4712
- [52] Steele MM, Jaiswal A, Delclaux I, et al. T cell egress via lymphatic vessels is tuned by antigen encounter and limits tumor control. *Nat Immunol*, 2023, 24(4): 664-675
- [53] Aspelund A, Antila S, Proulx ST, et al. A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *J Exp Med*, 2015, 212(7): 991-999

- [54] Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*, 2015, 523(7560): 337-341
- [55] Izen RM, Yamazaki T, Nishinaka-Arai Y, et al. Postnatal development of lymphatic vasculature in the brain meninges. *Dev Dyn*, 2018, 247(5): 741-753
- [56] Da Mesquita S, Louveau A, Vaccari A, et al. Functional aspects of meningeal lymphatics in ageing and Alzheimer's disease. *Nature*, 2018, 560(7717): 185-191
- [57] Louveau A, Herz J, Alme MN, et al. CNS lymphatic drainage and neuroinflammation are regulated by meningeal lymphatic vasculature. *Nat Neurosci*, 2018, 21(10): 1380-1391
- [58] Bei Y, Liu J, Xiao J. Lymphatic regulation in tissue repair and regeneration: recent advances and future perspective. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2023, 18(6): 730-732
- [59] Oliver G, Kipnis J, Randolph GJ, et al. The lymphatic vasculature in the 21st century: novel functional roles in homeostasis and disease. *Cell*, 2020, 182(2): 270-296
- [60] Henri O, Poueche C, Houssari M, et al. Selective stimulation of cardiac lymphangiogenesis reduces myocardial edema and fibrosis leading to improved cardiac function following myocardial infarction. *Circulation*, 2016, 133(15): 1484-1497
- [61] Klotz L, Norman S, Vieira JM, et al. Cardiac lymphatics are heterogeneous in origin and respond to injury. *Nature*, 2015, 522(7554): 62-67
- [62] Vuorio T, Ylä-Herttuala E, Laakkonen JP, et al. Down-regulation of VEGFR3 signaling alters cardiac lymphatic vessel organization and leads to a higher mortality after acute myocardial infarction. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 16709
- [63] Tatin F, Renaud-Gabardos E, Godet AC, et al. Apelin modulates pathological remodeling of lymphatic endothelium after myocardial infarction. *JCI Insight*, 2017, 2(12): e93887
- [64] Liu X, De la Cruz E, Gu X, et al. Lymphoangiocrine signals promote cardiac growth and repair. *Nature*, 2020, 588(7839): 705-711
- [65] Bei Y, Huang Z, Feng X, et al. Lymphangiogenesis contributes to exercise-induced physiological cardiac growth. *J Sport Health Sci*, 2022, 11(4): 466-478
- [66] Niec RE, Chu T, Scherthanner M, et al. Lymphatics act as a signaling hub to regulate intestinal stem cell activity. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(7): 1067-1082
- [67] Palikuqi B, Rispal J, Reyes EA, et al. Lymphangiocrine signals are required for proper intestinal repair after cytotoxic injury. *Cell Stem Cell*, 2022, 29(8): 1262-1272
- [68] Biswas L, Chen J, De Angelis J, et al. Lymphatic vessels in bone support regeneration after injury. *Cell*, 2023, 186(2): 382-397