

单细胞测序技术解析血管平滑肌细胞的可塑性 在动脉粥样硬化中的作用

张昊亮¹ 林政凯¹ 陈志杰¹ 陈丽君¹ 杨阳^{1,2}

(1. 厦门大学医学院, 福建 厦门 361100; 2. 厦门大学附属翔安医院心内科, 福建 厦门 361100)

【摘要】 动脉粥样硬化 (AS) 是由多种免疫细胞参与的慢性炎症性病理过程, 其中血管平滑肌细胞 (VSMC) 在其全过程中起着关键性影响。既往研究显示 VSMC 具有很高的可塑性, 并可在收缩型与分泌型之间进行互相转化。近年来, 随着单细胞测序技术的优化和发展, 数项新的研究揭示了 VSMC 具有向其他不同类型细胞转化的能力, 且发挥特定的功能。现围绕单细胞测序技术运用下 VSMC 的可塑性、调控因素以及它们在 AS 进程中的复杂作用进行综述, 以期对全面认识 VSMC 功能提供帮助, 为临床治疗 AS 提供新的干预靶点和途径。

【关键词】 动脉粥样硬化; 血管平滑肌细胞; 可塑性; 单细胞测序

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2024.09.012

Roles of Vascular Smooth Muscle Cell Plasticity in Development of Atherosclerosis as Revealed by Single-Cell Sequencing

ZHANG Haoliang¹, LIN Zhengkai¹, CHEN Zhijie¹, CHEN Lijun¹, YANG Yang^{1,2}

(1. School of Medicine, Xiamen University, Xiamen 361100, Fujian, China; 2. Department of Cardiology, Xiang'an Hospital of Xiamen University, Xiamen 361100, Fujian, China)

【Abstract】 Atherosclerosis (AS) is a chronic inflammatory disorder involving multiple immune cells, with vascular smooth muscle cell (VSMC) being crucial at each phase. Prior research has demonstrated that VSMC has notable phenotypic plasticity and can switch between contractile and synthetic phenotypes. In recent years, with the optimization and development of single-cell sequencing technology, several new studies have uncovered that VSMC possesses the capability to transform into other cell types and perform specific functions. This review focuses on the plasticity, regulatory factors, and intricate functions of VSMC in AS process under single-cell sequencing technology, in order to offer a thorough insight into the roles of VSMC and identify new targets and pathways for treating AS clinically.

【Keywords】 Atherosclerosis; Vascular smooth muscle cell; Plasticity; Single-cell sequencing

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是一种涉及内皮细胞、淋巴细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞等众多细胞的关键病理过程, 也是导致心血管疾病的主要病理基础。随着对 AS 发病机制的不断深入了解, 研究者们更进一步认识到血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cell, VSMC) 在 AS 发生发展中的核心作用^[1]。在传统观点中, 相比于 VSMC, 高比例巨噬细胞促进斑块破裂, 而 VSMC 则被视为具备斑块稳定作用的细胞类型。然而, 随着单细胞测序技术的快速发展和应用, 此前的认知可能被证明过于简化。有研究^[2]显示, 斑块中 VSMC 所占比例实际上远大于先前基于静态标志物的研究所估计的。尤其值得注意的是, 当 VSMC 失去其固有标志物同时获得巨噬细胞等其他细

胞类型的标志物时, 仅依赖传统的基于静态标志物的识别方法来研究斑块组成变得不再可靠。这一发现指出, 应基于动态和复杂的细胞表型变化理解 VSMC 在 AS 斑块形成中的复杂和关键作用。因此, 在 AS 相关研究领域, 未来的研究应当关注利用先进的单细胞测序技术来准确识别斑块内的细胞组成, 特别是那些表型发生改变的 VSMC。这将为深入理解 VSMC 在斑块形成和稳定中的具体机制, 以及为开发新的治疗策略提供关键的分子层面的见解。

在过去 30 多年中, 大量实验研究揭示了 VSMC 具有高度的可塑性。而近年来, 随着单细胞测序技术的快速发展, 越来越多的研究证明了 VSMC 向其他类型细胞转化的可能性, 这重新定义了 VSMC 在 AS 发病过

基金项目: 国家自然科学基金 (82200372); 福建省自然科学基金 (2021J05005)

通信作者: 杨阳, E-mail: dr.yangy@xmu.edu.cn

程中独特的功能,也揭示了 VSMC 在 AS 斑块形成过程中更为复杂的角色^[3]。现主要综述单细胞测序技术运用下 VSMC 的可塑性、调控因素以及它们在 AS 进程中的复杂作用,这对于全面理解 VSMC 的功能和为临床治疗 AS 提供新的干预靶点与途径具有重要意义。

1 单细胞测序技术弥补 VSMC 可塑性研究的不足

作为血管壁的核心构成成分,VSMC 通过其收缩特性负责维持血管张力和调节血压。在健康的动脉中,VSMC 通过表达一系列必需的收缩蛋白,如平滑肌肌动蛋白 $\alpha 2$ 和肌球蛋白重链 11,来履行其功能。然而,在应用单细胞测序技术之前,仅通过这些收缩蛋白的检测来识别 VSMC,导致那些缺失这些标志物的细胞未能被准确鉴定。

单细胞测序技术开辟了一条新途径,使得科研人员能在基因组、转录组和表观基因组层面详细探究单个细胞的可塑性和复杂性,从而深化了对组织、器官和生物体内不同细胞类型及其功能组成的理解。自 2009 年该技术首次被报道以来,基于单细胞测序技术的研究在多个领域内提供了跨不同领域的大量信息,极大地丰富了对于人类、模式动物和植物体内细胞构成及其相互作用的认识。其在心血管领域的应用进一步揭示了在 AS 斑块中,超过 80% 的 VSMC 失去了传统收缩蛋白标记^[4];30% 的 VSMC 开始表达与巨噬细胞标志物重叠的 *Lgals3/Mac2*,且有少数 VSMC 表现出干细胞/肌纤维母细胞的特征^[5]。这表明,在生物刺激的驱动下,VSMC 具有向其他细胞类型转化的能力,继而参与到 AS 的病理进程中。因此,单细胞测序技术不仅深化了研究者对于斑块内 VSMC 起源的理解,还确认了这些细胞转化为不同表型的潜力,进一步加深了对 VSMC 在 AS 中的认识,为研究 VSMC 的可塑性提供了前所未有的深度与精确度,为未来的研究和治疗提供了新的视角(图 1)。

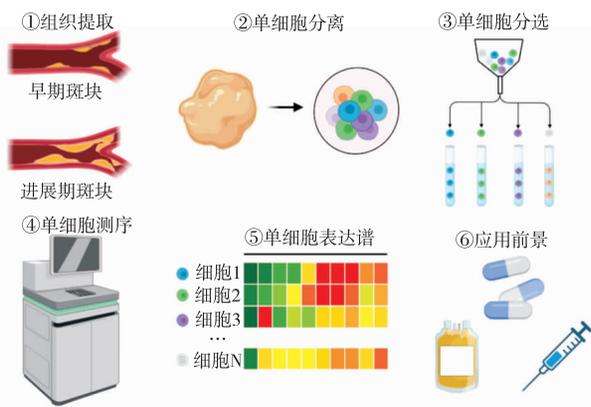


图 1 单细胞测序技术在 AS 研究中的应用

2 VSMC 是泡沫细胞的主要来源

历史上多数观点认为泡沫细胞来源于骨髓源性

巨噬细胞,但在 1968 年,Wissler 等^[6]就提出 VSMC 至少占据了 AS 斑块中泡沫细胞的一部分。随着单细胞测序技术的应用,研究发现,VSMC 能表达清道夫受体以及较低水平的胆固醇逆向运输过程中的关键蛋白 ATP 结合盒转运蛋白 A1。通过量化人类冠状动脉病变中的泡沫细胞,首次发现有一半以上表达 VSMC 标志物 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA)^[7]。不仅如此,一项研究^[8]发现,在载脂蛋白 E 基因敲除小鼠 AS 斑块中,大多数的泡沫细胞同样来自 VSMC。在向泡沫细胞转化的过程中,由于合成型 VSMC 胆固醇酯酶和胆固醇逆向运输蛋白的表达水平下降,VSMC 转化成的泡沫细胞无法有效地排出胆固醇,这使得 VSMC 相较于巨噬细胞更易形成泡沫样细胞状态^[8]。然而,由于大多数 α -SMA 阳性泡沫细胞也表达巨噬细胞标志物 CD68,尚不清楚 VSMC 是在获得了巨噬细胞样表型后才能转化为泡沫细胞,还是在成为泡沫细胞之后才开始表达巨噬细胞标志物。

高血糖、氧化应激、炎症因子、血管活性物质等因素均可影响 VSMC 向泡沫细胞的转化。高血糖通过增加氧化型低密度脂蛋白 (oxidized low-density lipoprotein, oxLDL) 的摄取能力,并降低胞内胆固醇流出,进一步推动 VSMC 向泡沫细胞的转化^[9]。炎症因子白细胞介素 (interleukin, IL)-1 β 则通过提高低密度脂蛋白 (low-density lipoprotein, LDL) 受体的表达,促进 LDL 的摄取,以及增加胆固醇酯化过程,强化 VSMC 向泡沫细胞的转化^[10]。LDL 受体相关蛋白 1 (LDL receptor-related protein 1, LRP1) 介导 VSMC 转变为含有大量脂质的泡沫细胞。有研究^[11]表明,IL-19 可下调 LRP1 的表达,降低 oxLDL 的摄取,从而减少 VSMC 内的脂质积累。尤其值得一提的是 Sendra 等^[12]的研究,发现血管紧张素 II 通过增强 LRP1 介导的 LDL 摄取,以及加速细胞内胆固醇酯的积累,可加速 AS 的进展。

3 巨噬细胞样 VSMC

巨噬细胞样 VSMC 在 AS 斑块的炎症反应中扮演着关键角色,并可能成为导致斑块不稳定性的危险因素。这些细胞通过加速斑块的破裂和血栓形成,进而促进 AS 的进展。早期研究^[13]指出,在小鼠早期 AS 病变中,表达巨噬细胞标志物的细胞主要源自新招募的循环单核细胞。然而,近期的谱系追踪研究^[7]揭示了人类 AS 斑块中共表达 α -SMA 和 CD68 的细胞群,提示 VSMC 可能是表达巨噬细胞标志物的另一来源。

相较于活化的巨噬细胞,由 VSMC 衍生的巨噬细胞样细胞显示出较弱的吞噬能力。作为非专业吞噬细胞,巨噬细胞样 VSMC 能吞噬 oxLDL 和凋亡细胞,

但其排出和处理血浆脂蛋白的能力有限。这一特性导致它们在高脂血症状态下更容易转化为泡沫细胞,进而促进 AS 斑块的形成。此外,巨噬细胞样 VSMC 通过产生多种黏附分子和细胞因子,激活免疫活性细胞,并吸引循环中的炎症细胞,参与 AS 斑块的慢性炎症过程;同时,被招募的炎症细胞也促使 VSMC 转化为巨噬细胞样 VSMC,从而持续加剧炎症水平。

在 AS 早期,伴随着内膜增厚的病理性改变,VSMC 标志物的丢失是表型转化的显著特征,尤其是 α -SMA 的缺失。随着疾病的发展,VSMC 开始克隆扩增并转化为以 Lgals3 表达为特征的巨噬细胞样细胞,这种细胞成为晚期 AS 斑块的主要组成部分^[14]。这些发现为理解 AS 的病理机制提供了重要视角。VSMC 转化为巨噬细胞样表型的过程受多种因素调控。相关实验^[15]显示,VSMC 可在胆固醇负荷的情况下,通过下调 miR-143/145-心肌蛋白轴来诱导转化为巨噬细胞样表型。此外,人同源盒蛋白 A1 也是调控 VSMC 表型转化的关键。在病理条件下,人同源盒蛋白 A1 转录激活 VSMC 中的关键转录因子核因子 κ B p65 和 Krüppel 样因子 4,从而驱动 VSMC 发生表型转化,并转分化为巨噬细胞样细胞^[16]。

4 成纤维细胞样 VSMC

在小鼠与人类 AS 斑块中,VSMC 能转化为具有成纤维细胞特性的细胞,这些细胞对于斑块纤维帽的形成起着关键的保护作用,因此被称为“纤维肌细胞”^[8]。单细胞转录组分析揭示,这些成纤维细胞样 VSMC 主要承担着合成细胞外基质 (extracellular matrix, ECM)、增强细胞与基质之间的黏附,以及促进细胞增殖等功能。此外,它们还参与动脉壁的纤维化及新生内膜形成过程^[5]。可将 VSMC 向成纤维样表型转化视为由收缩型向合成型转化的正向转化,鉴于合成型 VSMC 在多种心脏修复过程中的参与,这种表型转化被认为可能有利于改善心血管疾病的预后。然而,需注意的是,VSMC 的表型转化及其功能表现可能受到其所在位置或周围微环境因素的影响,有时也可能导致动脉壁纤维化并带来潜在损害。因此,了解 VSMC 表型转化的具体条件和影响因素,对于深入理解其在 AS 中的双重角色及其潜在的临床意义至关重要。

VSMC 的成纤维细胞样表型的转化主要由斑块内细胞的生物刺激和 ECM 微环境的变化驱动与维持。细胞外高胆固醇负荷可引发 VSMC 向成纤维细胞样表型转化,其主要机理可能与内质网应激而产生的未折叠蛋白反应有关,这种效应显著减弱了 VSMC 收缩性标志物的表达,并增加了成纤维细胞特征基因的表

达^[17]。此外,AS 斑块微环境中的细胞因子也有助于调节成纤维细胞样 VSMC 的形成^[18]。最新的单细胞 RNA 测序研究^[19]表明转录因子 21 (transcription factor 21, TCF21) 能促进 AS 斑块中 VSMC 向成纤维细胞样表型转化,增强保护性纤维帽的形成;而在敲除 TCF21 的载脂蛋白 E 基因敲除小鼠的 AS 斑块中,VSMC 向纤维肌细胞的转化显著减少,纤维帽变薄,最终使得 AS 斑块的稳定性下降,斑块更易发生破裂。此外,核心生物钟基因脑和肌肉芳香烃受体核转运样蛋白 1 在调节 VSMC 向成纤维细胞样细胞的表型转化中也发挥着重要作用,可通过上调 Yes 相关蛋白 1 促进 VSMC 表型向成纤维细胞样细胞的转化,并可抑制 VSMC 迁移,从而稳定斑块并减轻斑块负担^[20]。

5 成骨细胞样 VSMC

冠状动脉钙化是一种病理性状态,特征为钙在动脉壁内膜中异常沉积^[21]。微钙化 (直径 $< 50 \mu\text{m}$) 的沉积是易损斑块的重要特征之一。当 AS 斑块内形成微小钙化沉积物时,通常引发炎症反应;并且这些微小的钙化物影响纤维帽的应力分布,使得斑块易损性增加,更容易发生破裂和血栓形成^[22]。相反地,较大的钙化沉积物 (直径 $> 200 \mu\text{m}$) 通常积聚在深层内膜或坏死核心区,这些沉积物的存在能提供类似于骨骼的结构支撑,有助于增强斑块稳定性^[22]。

一项针对小鼠的谱系追踪研究^[23]指出,在 AS 斑块中 98% 的骨软骨形成细胞均由 VSMC 衍化而来。在受到多种刺激后,VSMC 会下调平滑肌特异性标志物的表达,转化为成骨细胞或软骨细胞样表型^[24-26]。成骨细胞或软骨细胞样 VSMC 会增强骨软骨形成关键因子的表达,同时降低血管钙化抑制因子的表达,并积累易于钙化的基质,如 II 型和 X 型胶原等;而且,这些成骨细胞或软骨细胞样 VSMC 可通过分泌基质囊泡促进血管钙化^[27]。至今,血管钙化尚无有效干预手段。由于成骨细胞或软骨细胞样 VSMC 在 ECM 矿化和血管钙化过程中扮演核心角色,它们已受到越来越多的关注,成为 AS 斑块治疗中具有巨大潜力的“明星靶点”。

VSMC 向成骨细胞或软骨细胞样表型转化,有赖于微环境中磷酸盐和钙离子浓度的调控。当 VSMC 暴露于高浓度的磷酸盐或钙离子时,它们会通过上调 Runt 相关转录因子 2 的表达,激活骨形态发生蛋白和 Wnt 信号通路^[28-30],推动其向成骨细胞样表型转化。除了磷酸盐和钙离子浓度,还有许多不同的调节因素能调控这一过程。在长期单独暴露于高糖或与 oxLDL 共存环境下,都会加强 VSMC 中骨形态发生蛋白 2 和碱性磷酸酶的表达,进一步推动其向成骨细胞转分

化^[31-32]。Lee 等^[33]的研究发现破骨细胞调节因子核因子 κ B 受体活化因子配体可刺激 VSMC 的成骨分化。此外,有研究^[24,34-35]表明,硫酸吡哆酚、雌激素和晚期糖基化终末产物等均可能促进 VSMC 向成骨细胞样表型转化。

6 间充质样 VSMC

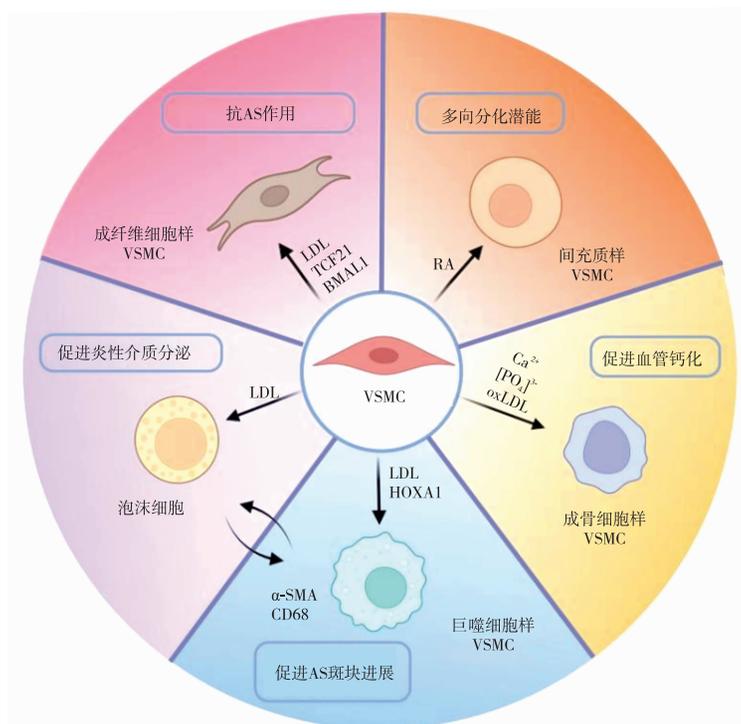
目前,尽管间充质样 VSMC 的概念尚无完全明确的定义,但在某种程度上,可将表达部分间充质标志物的 VSMC 视为间充质样 VSMC。有些学者定义间充质样 VSMC 为表达干细胞标志物的 VSMC,其功能和间充质干细胞相似^[36]。有研究^[37-38]利用单细胞测序技术描绘 VSMC 的细胞图谱,发现在人类颈动脉和冠状动脉粥样硬化斑块中,VSMC 可转变为中间态细胞,这种由 VSMC 衍生后形成的中间细胞,被称为“SEM”细胞,具有多能性,可分化为成骨细胞样细胞、软骨细胞样细胞、脂肪细胞样细胞和巨噬细胞样细胞,甚至还能向原始的 VSMC 进行再分化。

间充质样 VSMC 对 AS 疾病发生和进展的作用仍不完全明确。早期研究^[39]认为源自血管外膜的间充质样 VSMC 可能促进 AS 斑块的生长和慢性肾脏病患者的血管钙化。然而,最近的遗传谱系追踪研究^[40]显示,作为 VSMC 重要来源的外膜血管干细胞对组织修复和再生有显著贡献。关于间充质样 VSMC 在 AS 疾病中具体功能,尚需进行更多的研究。

VSMC 转变为“SEM”细胞的过程中,视黄酸 (retinoic acid, RA) 信号被认为是一种关键的调节因子。在症状性 AS 患者中,这一信号常处于失调状态。全基因组关联分析研究^[38]已发现,冠状动脉疾病的信号在 RA 信号靶基因位点上有明显的富集,而风险等位基因与这些基因表达呈现负相关。RA 可结合于靶基因中的 RA 反应元件特异性地调控 VSMC 的表型转化。而 RA 受体特异性激动剂 Am80 能抑制转录因子 Kruppel 样因子 5 的活性,从而抑制 VSMC 的表型转变^[41]。这些研究结果均反映出 RA 信号在 VSMC 向间充质样细胞转化过程中的关键调控作用。

7 结语

近年来,单细胞测序技术的广泛应用极大地拓宽了对 VSMC 可塑性以及其在 AS 中的具体功能的理解。慢性炎症导致的细胞外环境紊乱也会引发包括内皮细胞、ECM 等在内的其他血管成分的改变,这些变化与 VSMC 的表型转化协同作用,进一步加重 AS。一系列利用单细胞测序技术对斑块内 VSMC 类型进行检测的最新研究进一步印证了 VSMC 具有广泛可塑性的观点(图 2)。然而,VSMC 转化的各种表型及其功能尚未完全明晰,仍需更深入的研究来阐明。深化对 VSMC 可塑性的研究,将为 AS 疾病治疗提供新的突破方向。



注:BMAL1,脑和肌肉芳香烃受体核转运蛋白 1;HOXA1,人同源盒蛋白 A1;[PO₄]³⁻,磷酸根离子。

图 2 AS 斑块内 VSMC 的可塑性

利益冲突 所有作者均声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] Bennett MR, Sinha S, Owens GK. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2016, 118(4):692-702.
- [2] Grootaert MOJ, Bennett MR. Vascular smooth muscle cells in atherosclerosis: time for a re-assessment[J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(11):2326-2339.
- [3] Zhang F, Guo XQ, Xia YP, et al. An update on the phenotypic switching of vascular smooth muscle cells in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 79(1):6.
- [4] Shankman LS, Gomez D, Cherepanova OA, et al. KLF4-dependent phenotypic modulation of smooth muscle cells has a key role in atherosclerotic plaque pathogenesis[J]. *Nat Med*, 2015, 21(6):628-637.
- [5] Alencar GF, Owsiany KM, Karnear S, et al. Stem cell pluripotency genes Klf4 and Oct4 regulate complex SMC phenotypic changes critical in late-stage atherosclerotic lesion pathogenesis[J]. *Circulation*, 2020, 142(21):2045-2059.
- [6] Wissler RW, Vesselinovitch D. Comparative pathogenetic patterns in atherosclerosis[J]. *Adv Lipid Res*, 1968, 6:181-206.
- [7] Allahverdian S, Chehroudi AC, McManus BM, et al. Contribution of intimal smooth muscle cells to cholesterol accumulation and macrophage-like cells in human atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2014, 129(15):1551-1559.
- [8] Wang Y, Dubland JA, Allahverdian S, et al. Smooth muscle cells contribute the majority of foam cells in ApoE (apolipoprotein E)-deficient mouse atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(5):876-887.
- [9] Xue JH, Yuan ZY, Wu Y, et al. High glucose promotes intracellular lipid accumulation in vascular smooth muscle cells by impairing cholesterol influx and efflux balance[J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 86(1):141-150.
- [10] Ruan XZ, Moorhead JF, Tao JL, et al. Mechanisms of dysregulation of low-density lipoprotein receptor expression in vascular smooth muscle cells by inflammatory cytokines[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(5):1150-1155.
- [11] Gabunia K, Herman AB, Ray M, et al. Induction of MiR133a expression by IL-19 targets LDLRAP1 and reduces oxLDL uptake in VSMC[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2017, 105:38-48.
- [12] Sendra J, Llorente-Cortes V, Costales P, et al. Angiotensin II upregulates LDL receptor-related protein (LRP1) expression in the vascular wall: a new pro-atherogenic mechanism of hypertension[J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 78(3):581-589.
- [13] Moore KJ, Sheedy FJ, Fisher EA. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance[J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(10):709-721.
- [14] Lu S, Weiser-Evans MCM. Lgals3-transitioned inflammatory smooth muscle cells; major regulators of atherosclerosis progression and inflammatory cell recruitment[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2022, 42(8):957-959.
- [15] Vengrenyuk Y, Nishi H, Long XC, et al. Cholesterol loading reprograms the microRNA-143/145-myocardin axis to convert aortic smooth muscle cells to a dysfunctional macrophage-like phenotype[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(3):535-546.
- [16] Han ZY, Hu HD, Yin MZ, et al. HOXA1 participates in VSMC-to-macrophage-like cell transformation via regulation of NF- κ B p65 and KLF4: a potential mechanism of atherosclerosis pathogenesis[J]. *Mol Med*, 2023, 29(1):104.
- [17] Chattopadhyay A, Kwartler CS, Kaw K, et al. Cholesterol-induced phenotypic modulation of smooth muscle cells to macrophage/fibroblast-like cells is driven by an unfolded protein response[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(1):302-316.
- [18] Cao GM, Xuan XZ, Hu J, et al. How vascular smooth muscle cell phenotype switching contributes to vascular disease[J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20(1):180.
- [19] Wirka RC, Wagh D, Paik DT, et al. Atheroprotective roles of smooth muscle cell phenotypic modulation and the TCF21 disease gene as revealed by single-cell analysis[J]. *Nat Med*, 2019, 25(8):1280-1289.
- [20] Shen Y, Xu LR, Yan D, et al. BMAL1 modulates smooth muscle cells phenotypic switch towards fibroblast-like cells and stabilizes atherosclerotic plaques by upregulating YAP1[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2022, 1868(9):166450.
- [21] Onnis C, Virmani R, Kawai K, et al. Coronary artery calcification: current concepts and clinical implications[J]. *Circulation*, 2024, 149(3):251-266.
- [22] Nakahara T, Dweck MR, Narula N, et al. Coronary artery calcification: from mechanism to molecular imaging[J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2017, 10(5):582-593.
- [23] Naik V, Leaf EM, Hu JH, et al. Sources of cells that contribute to atherosclerotic intimal calcification: an in vivo genetic fate mapping study[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 94(3):545-554.
- [24] McRobb LS, McGrath KCY, Tsalralis T, et al. Estrogen receptor control of atherosclerotic calcification and smooth muscle cell osteogenic differentiation[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(6):1127-1137.
- [25] Seime T, Akbulut AC, Liljeqvist ML, et al. Proteoglycan 4 modulates osteogenic smooth muscle cell differentiation during vascular remodeling and intimal calcification[J]. *Cells*, 2021, 10(6):1276.
- [26] Skenteris NT, Seime T, Witasap A, et al. Osteomodulin attenuates smooth muscle cell osteogenic transition in vascular calcification[J]. *Clin Transl Med*, 2022, 12(2):e682.
- [27] Li TT, Yu HC, Zhang DM, et al. Matrix vesicles as a therapeutic target for vascular calcification[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2022, 10:825622.
- [28] Willems BA, Furmanik M, Caron MMJ, et al. Ucpa/GRP inhibits phosphate-induced vascular smooth muscle cell calcification via SMAD-dependent BMP signalling[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):4961.
- [29] Lanzer P, Hannan FM, Lanzer JD, et al. Medial arterial calcification: JACC state-of-the-art review[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2021, 78(11):1145-1165.
- [30] Park HJ, Kim MK, Kim Y, et al. Neuromedin B modulates phosphate-induced vascular calcification[J]. *BMB Rep*, 2021, 54(11):569-574.
- [31] Lin X, Li S, Wang YJ, et al. Exosomal Notch3 from high glucose-stimulated endothelial cells regulates vascular smooth muscle cells calcification/aging[J]. *Life Sci*, 2019, 232:116582.
- [32] Xu SN, Zhou X, Zhu CJ, et al. N ϵ -carboxymethyl-lysine deteriorates vascular calcification in diabetic atherosclerosis induced by vascular smooth muscle cell-derived foam cells[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11:626.
- [33] Lee GL, Yeh CC, Wu JY, et al. TLR2 promotes vascular smooth muscle cell chondrogenic differentiation and consequent calcification via the concerted actions of osteoprotegerin suppression and IL-6-mediated RANKL induction[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(3):432-445.
- [34] Yang R, Zhu Y, Wang Y, et al. HIF-1 α /PDK4/autophagy pathway protects against advanced glycation end-products induced vascular smooth muscle cell calcification[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 517(3):470-476.
- [35] Lano G, Burtsey S, Sallee M. Indoxyl sulfate, a uremic endotheliotoxin[J]. *Toxins (Basel)*, 2020, 12(4):229.
- [36] Yap C, Mieremet A, de Vries CJM, et al. Six shades of vascular smooth muscle cells illuminated by KLF4 (Krüppel-like factor 4)[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(11):2693-2707.
- [37] Chen PY, Qin L, Li G, et al. Smooth muscle cell reprogramming in aortic aneurysms[J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 26(4):542-557. e11.
- [38] Pan HZ, Xue CY, Auerbach BJ, et al. Single-cell genomics reveals a novel cell state during smooth muscle cell phenotypic switching and potential therapeutic targets for atherosclerosis in mouse and human[J]. *Circulation*, 2020, 142(21):2060-2075.
- [39] Kramann R, Goettsch C, Wongboonsin J, et al. Adventitial MSC-like cells are progenitors of vascular smooth muscle cells and drive vascular calcification in chronic kidney disease[J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 19(5):628-642.
- [40] Wang HX, Zhao H, Zhu H, et al. Scap⁺ cells minimally contribute to smooth muscle cells in atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2021, 128(1):133-135.
- [41] Fujii K, Manabe I, Ishihara A, et al. Synthetic retinoid Am80 suppresses smooth muscle phenotypic modulation and in-stent neointima formation by inhibiting KLF5[J]. *Circ Res*, 2005, 97(11):1132-1141.

收稿日期:2024-03-13