

· 综述 ·

血管平滑肌细胞表型转变的机制及在心血管疾病中的作用研究进展

温 婷^{1,2}, 王若楠^{1,2}, 张小燕¹, 孙嘉星³, 张信信⁴, 韩 骅¹, 晏贤春¹

(空军军医大学: 1.基础医学院生物化学与分子生物学教研室, 3.西京医院眼科, 陕西 西安 710032; 2.西北大学, 生命科学学院, 陕西西安 710069; 4.中国人民解放军总医院第八医学中心, 呼吸与危重医学部, 北京 100091)

摘要: 血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)的表型具有高度可塑性。在缺氧及炎症等因素作用下, VSMCs 由收缩型转变为分泌型, 表现为细胞收缩能力减弱, 而增殖、迁移和分泌能力显著增强, 这一过程是导致动脉粥样硬化、肺动脉高压等多种心血管疾病发生发展的重要原因。前期研究表明, VSMCs 表型转变受多种因素调控, 如细胞因子、信号通路、细胞外基质、生物力等, 靶向调控这些分子及信号通路可有效改善心血管疾病的进程。因此, 本文将对 VSMCs 表型转变的机制及其在心血管疾病中的作用进行阐述, 以为多种相关心血管疾病的临床治疗提供理论依据。

关键词: 血管平滑肌细胞; 表型转变; 心血管疾病; Notch; 动脉粥样硬化

中图分类号: R543.5

文献标识码: A

文章编号: 1009-7236(2023)03-0337-07



DOI: 10.12125/j.chj.202203004

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



网络出版地址: <http://www.heartj.cn/article/doi/10.12125/j.chj.202203004>

Recent advances of phenotypic switch of vascular smooth muscle cells in vascular diseases

WEN Ting^{1,2}, WANG Ruo-nan^{1,2}, ZHANG Xiao-yan¹, SUN Jia-xing³, ZHANG Xin-xin⁴, HAN Hua¹, YAN Xian-chun¹

(1. Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Basic Medical Sciences, 3. Department of Ophthalmology, Xijing Hospital, Air Force Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China; 2. Faculty of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, Shaanxi, China; 4. College of Pulmonary and Critical Care Medicine, the 8th Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100091, China)

Abstract: The phenotype of vascular smooth muscle cells (VSMCs) is highly plastic. Influenced by hypoxia, inflammation or some other factors, VSMCs often switch from a contractile into a secretory phenotype, which shows that the cell contractility is weakened, while their abilities of proliferation, migration and secretion are significantly enhanced. The phenotypic switch plays an important role in regulating the progression of multiple vascular diseases, such as atherosclerosis and pulmonary arterial hypertension. Previous studies have shown that the phenotypic switch of VSMCs is regulated by a variety of factors, such as microenvironment cytokines, metabolic remodeling signaling pathways, extracellular matrix and biological forces and targeted regulation of these molecules and signaling pathways can effectively improve the course of vascular diseases. Therefore, the mechanisms of phenotypic switch of VSMCs and its role in the progression of vascular diseases will be described in this review, in order to

基金项目: 国家自然科学基金项目(82003110, 81900870, 82103446); 肿瘤生物学国家重点实验室项目(CBSKL2019ZZ25), 空军军医大学军事医学提升计划(2020SWAQ08)

通讯作者: 晏贤春, 副教授, 主要从事血管发育研究 Email: yanxianchun@163.com

共同通讯作者: 韩骅, 教授, 主要从事发育生物学研究 Email: huahan@fmmu.edu.cn

作者简介: 温婷, 硕士生 Email: wenting202201@163.com

provide a theoretical basis for the clinical treatment of vascular diseases.

Key words: vascular smooth muscle cells; phenotypic switch; vascular diseases; Notch; atherosclerosis

心血管疾病 (cardiovascular disease), 主要指动脉粥样硬化 (AS)、肺动脉高压 (PAH) 及动脉瘤等, 是造成全球发病率与死亡率负担的主要原因之一, 并且随着社会发展、人类预期寿命延长以及肥胖高发, 各种心血管疾病的发病率均呈现上升趋势^[1]。因此, 对于心血管疾病发病的细胞与分子机制研究具有重要的理论意义和临床应用价值。

近些年来, 研究人员发现血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 表型转变在多种心血管疾病进展中发挥关键调控作用。VSMCs 位于血管中膜, 在生理状态下发挥调节血管张力、血压以及血液分布的作用, 是维持血管稳态的关键因素^[2]。在缺氧、炎症等因素作用下, VSMCs 表型具有高度可塑性, 可由收缩型转变为分泌型, 进而分泌炎症因子、金属蛋白酶等多种物质, 参与调控 AS、PAH 等心血管疾病进展, 靶向抑制 VSMCs 表型转变, 维持 VSMCs 收缩表型可有效缓解疾病的进展^[3-5]。深入探究 VSMCs 表型转变的调控机制是寻找治疗相关疾病的前提。因此, 本文将对 VSMCs 表型转变的调控机制及其在相关心血管疾病中的作用研究进展进行综述, 以期对靶向该过程治疗相关疾病提供理论依据。

1 VSMCs 表型转变的基本概念

生理状态下, VSMCs 表现为高度分化的收缩静息状态。在形态方面, 收缩型 VSMCs 一般呈现典型的拉伸形态即纺锤形, 胞质内含有丰富的肌纤维, 具有明显的致密体和致密斑^[6]。在功能方面, 收缩型 VSMCs 的收缩能力较强, 而增殖、迁移以及分泌能力较弱^[2]。在分子层面, 收缩型 VSMCs 高表达收缩相关标志分子, 如平滑肌肌球蛋白重链 (smooth muscle myosin heavy chain, SMMHC)、 α -肌动蛋白 (alpha-smooth muscle actin, α -SMA)、转凝蛋白 (transgelin, TAGLN, SM22)、钙调蛋白 1 (calponin 1, CNN1)、平滑肌特异性蛋白 (smoothelin, SMTN) 等^[7]。

收缩型 VSMCs 在缺氧、炎症、力学改变等作用下可发生去分化, 转变为分泌型。在形态方面, 分泌型 VSMCs 呈现扁平的成纤维细胞样状态, 细胞体积较收缩表型 VSMCs 显著增大, 胞质中肌纤维、结构蛋白含量减少^[6]。在功能方面, 分泌型 VSMCs 的收缩能力减弱, 增殖、迁移以及分泌能力显著增强^[7]。在分子方面, 分泌型 VSMCs 中收缩相关标志分子表

达降低, 而分泌相关分子表达显著升高, 如骨形态发生蛋白 2 (bone morphogenetic protein 2, BMP-2)、骨桥蛋白 (osteropontin, OPN)、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 以及多种炎症相关细胞因子等^[8]。

2 多种因素参与调控 VSMCs 表型转变

在 VSMCs 表型转变的过程中, 多种细胞因子、信号通路、细胞外基质成分、微小核糖核酸以及生物力等均发挥了不同程度的作用。通过干预这些信号通路及分子的活化程度或表达水平可调控 VSMCs 表型转变, 进而治疗相关心血管疾病。本部分内容将逐一对这些调控因素及其信号通路的作用及机制进行阐述。

2.1 细胞因子 疾病微环境下, 细胞中多种细胞因子的分泌增加, 这些细胞因子可参与调控 VSMCs 表型转变, 其中主要包括血小板源性生长因子 (platelet derived growth factor-B, PDGF-BB)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等。

PDGF-BB 属于 PDGF 家族, 是一种较强的促有丝分裂因子, 具有促进 VSMCs 增殖和迁移的作用^[9,10]。PDGF-BB 在正常血管中很少表达, 但在 AS 等心血管疾病中表达上调。PDGF-BB 与 PDGFR- β 受体结合后, 可激活下游 ERK1/2 和 JNK 通路, 促进 VSMCs 表型发生转变, α -SMA、CNN1 以及 SMMHC 等收缩分子表达降低, OPN 等分泌相关分子表达升高, 细胞增殖和迁移能力增强; 利用小分子抑制剂阻断 ERK1/2 可有效抑制 PDGF-BB 引起的 VSMCs 表型转变^[11]。Zhou 等^[10]研究表明, PDGF-BB 可以通过抑制 miR-214 的表达上调 Pim-1 从而促进 VSMCs 表型转变, 有效地增强 VSMCs 迁移, 而过表达 miR-214 可以通过调节上皮-间充质转化 (EMT) 从而抑制 PDGF-BB 所带来的 Pim-1 表达的上调和 VSMCs 表型转变。Zhao 等^[12]研究发现, PDGF-BB 可以通过上调 DLEU2 促进 PCNA 的表达, 抑制 α -SMA 和 CNN1 的表达, 从而促进 VSMCs 表型转变。以上研究表明 PDGF-BB 是调控 VSMCs 表型转变的关键细胞因子, 其可通过多种下游分子促进 VSMCs 发生表型转变。

血管中的内皮细胞受损时, 可释放以 TNF- α 为代表的大量的炎性因子, 引起 VSMCs 增殖、迁移增加, 诱导表型转变^[13]。体外研究结果显示, TNF- α 处

理的 VSMCs 迁移能力增强,通过抑制 Akt/AP-1 信号通路,可以抑制 VSMCs 表型转变,阻断由 TNF- α 诱导的细胞迁移^[13]。TNF- α 可通过上调转化蛋白 RhoA/细胞分裂周期蛋白途径促进 VSMCs 表型转变,而 miR-145 则可抑制 RhoA 的表达从而抑制 TNF- α 诱导的 VSMCs 表型转变^[14]。并且在颅内动脉瘤(IA)患者中 TNF- α 水平升高,敲除 TNF- α 之后可以阻止 VSMCs 的凋亡与表型转变,改善 IA 进程^[15]。

2.2 信号通路 VSMCs 表型转变的过程中有多种信号通路的参与,其中包括转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)信号通路、Notch 信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、PI3K/Akt 信号通路及 Wnt 信号通路等。本节将主要就 TGF- β 信号通路与 Notch 信号通路进行阐述。

TGF- β 信号通路是一条经典的调控 VSMCs 表型转变的信号通路,体内外研究均表明,TGF- β 对于 VSMCs 的表型转变具有重要作用。TGF- β 与 VSMCs 表面受体 TGF- β RII 和 TGF- β RI 结合后,诱导下游 Smad2 和 Smad3 磷酸化,进而与 Smad4 形成复合物并转位进入细胞核上调收缩相关基因表达,提示 TGF- β 通路可以抑制 VSMCs 表型转变,而过表达 TGF- β /Smad 通路的负调控因子 Smad7 后,可以显著降低 Smad3 的磷酸化,从而降低收缩标记基因表达,抑制收缩表型,促进 VSMCs 表型转变^[16, 17]。Zhu 等^[18] 研究发现, TGF- β 1 通过 mTOR/c-Myc/PTBP-1/hnRNP-A1 途径调节丙酮酸激酶 2(PKM2)的表达,进而增加 VSMCs 有氧糖酵解,促进 VSMCs 发生表型转变。

Notch 信号通路是一条介导相邻细胞间相互作用的非常保守的信号通路,在维持 VSMCs 表型稳定中发挥关键调控作用。VSMCs 的收缩表型是由 DNA 结合蛋白 SRF 和转录共激活剂 MYOCD 的复合物转录控制,而 Notch 信号通路可以精准激活 MYOCD 表达,并且独立表达部分 VSMCs 发育晚期的结构基因^[19]。前期, Ragot 等^[20] 发现特异性敲除 VSMCs 中的 Notch 下游关键转录因子 RBP-J 可导致 VSMCs 由收缩型转变为分泌型,从而引起心脏代偿。Breikaa 等^[21] 研究发现内皮细胞中 Jagged1 的特异性缺失会导致 VSMCs 中 Jagged1 和 Notch3 表达的同时丧失,从而促进 VSMCs 细胞外基质及黏附蛋白的表达,使 VSMCs 发生表型转变。Notch 信号通路还可以通过调节 Krüppel 样因子来调控 VSMCs 表型转变。在正常生理条件下, VSMCs 中 KLF4 表达较低,但在血管损伤条件下 KLF4 表达会显著提升^[22]。KLF4 可以诱导 VSMCs 收缩表型相

关基因的表达,从而维持 VSMCs 收缩表型^[23]。课题组前期利用多种遗传修饰小鼠证实 Notch 信号活化是维持肿瘤中 VSMCs 收缩表型的关键因素,阻断 VSMCs 中 Notch 信号可促使 VSMCs 表型转变,引起肿瘤血管结构和功能破坏,进而加快肿瘤进展,表明 Notch 信号维持的 VSMCs 表型稳定在多种血管相关疾病中发挥关键作用^[24]。

2.3 细胞外基质 (extracellular matrix, ECM)

ECM 主要由胶原蛋白、弹性蛋白、糖蛋白和蛋白多糖等组成,构成支持组织完整性和微调细胞行为的动态微环境^[25]。这一微环境的变化可以在不同程度上调控 VSMCs 表型。例如软骨寡聚基质蛋白 (cargilage oligomeric matrix protein, COMP) 作为一种 ECM 蛋白,参与维持 VSMCs 的收缩表型。COMP 过表达可使 VSMCs 的形态发生改变、SM22、 α -SMA、CNN1 等收缩标志物的表达下降,显著抑制了 PDGF-BB 诱导的 VSMCs 表型转变^[26]。不同胶原蛋白对 VSMCs 表型的作用也不尽相同,在单体胶原 I 上培养的 VSMCs 中血管细胞黏附分子 VCAM-1 的表达升高并发生表型转变,而聚合型 I 型胶原则可通过上调 p27Kip1 和 p21Cip1 的表达抑制 VSMCs 表型转变进而抑制 VSMCs 迁移和增殖^[27, 28]。Mao 等^[29] 利用多种遗传修饰小鼠发现,基底膜糖蛋白 nidogen-2 可通过促进 Jagged1 与 Notch3 相互作用,维持 VSMCs 中 Notch 信号水平,进而维持 VSMCs 收缩表型,敲除 nidogen-2 会引起 Notch 信号降低,导致 VSMCs 表型转变,促进血管内膜增生。弹性蛋白作为调节 VSMCs 成熟的分子,可以调控 VSMCs 表型以及其增殖能力,Li 等^[30] 发现弹性蛋白的缺失可以导致 VSMCs 中 mTOR 信号通路的激活,进而促进表型转变。同时参与 ECM 降解的蛋白酶也可以调节 VSMCs 表型,例如 MMP-2 在 VSMCs 中通过降低 CNN1 的表达诱导 VSMCs 表型转变,增加 ERK1/2 的磷酸化进而促进细胞增殖^[31]。以上结果表明 ECM 成分改变是调控 VSMCs 表型的重要因素。

2.4 生物力 在不同的生理状态下, VSMCs 受到不同力学因素作用,如循环牵张力、压力及剪切应力等,这些力学异常改变是调控 VSMCs 表型转变的重要因素。Wang 等^[32] 研究表明,人脐动脉平滑肌细胞在高牵张力(>10%)刺激 24 h 后, CNN1、SM22、 α -SMA 水平显著下降,并伴随着炎症因子 IL-8、IL-6、IL1 β 、I 型血管细胞黏附蛋白(VCAM-1)、细胞间黏附 1 (ICAM-1)表达水平上调,提示高牵张力刺激可引起 VSMCs 表型转变。Jensen 等^[33] 同样发现大鼠 VSMCs 经 10% 牵张力的刺激 24 h 后发生表型

转变, 表现为 CNN1 和 SMTN 等收缩标志物的表达降低, 合成标记物 OPN 的水平升高。Tang 等^[34]研究发现高机械牵张力能够通过激活平滑肌细胞内的 ROCK/JNK/SP1 信号通路, 导致线粒体融合蛋白 2 (mitofusin 2, MFN2) 转录抑制; MFN2 的缺失一方面可以通过抑制由 E3 泛素连接酶 TRIM21 介导的 PFK1 泛素化与降解, 使 PFK1 蛋白含量及细胞糖酵解水平升高, 产生 Warburg 效应; 另一方面也可以直接抑制线粒体氧化磷酸化能力, 进而从两方面促进 VSMCs 发生表型转变, 促进细胞的增殖与迁移。

ECM 除了为 VSMCs 表型稳态维持提供因子及配体支持以外, 其浓度和组成改变也可以导致 VSMCs 受到外界压力发生改变, 进而发生表型转变。体外研究中, 使用不同浓度的聚两性电解质水凝胶 (PA 凝胶) 模拟不同基质硬度所带来的压力变化。VSMCs 分别培养在软、硬两种基质 (弹性模量分别为 2.16 kPa 和 16.75 kPa) 上 24 h 后, 与软基质相比, 在硬基质上培养的 VSMCs 中 SM22、CNN1、SMMHC 和 SMTN 表达下调, 去分化标记物 CyclinA、PCNA 及成骨标记物 MMP3、BMP2、RunX2 表达上调^[35]。而与弹性模量 1.2 kPa 的基质相比, VSMCs 在 0.17 kPa 的基质上培养 24 h 后, OPN、KLF5、MMPs 及炎症细胞因子均上调^[36], 表明过硬或过软的基质硬度均会导致 VSMCs 发生表型转变, 更接近生理条件的基质硬度有利于维持 VSMCs 收缩表型。VSMCs 中的盘状结构域受体 1 (DDR1) 可在这一过程中充当力学感受器, 以不依赖于其配体的方式感知细胞外基质硬度的变化, 并介导胞内力学信号转导, 从而调控 VSMCs 表型转变^[37]。

在健康的生理条件下, VSMCs 由于被内皮细胞所覆盖并不直接暴露于剪切应力之下, 但在 AS 病变破裂等对内皮层造成损伤的情况下, VSMCs 直接暴露于血流中, 进而在不同剪切应力的影响下, 表型发生不同程度的变化。Kim 等^[38]发现层流剪切应力可以通过 NOS 的表达上调 AMPK 磷酸化进而降低由 PDGF-BB 所诱导的 VSMCs 增殖, 抑制 VSMCs 发生表型转变。与此同时, Kang 等^[39]发现 HU VSMC 暴露于剪切应力 30 min 后, 可以显著诱导 VSMCs 收缩表型, 并伴有 ROCK1 上调以及 MYPT1 和 MLC 活化, 且这一现象可以通过肝素酶 III 处理完全消除。这表明, VSMCs 在剪切应力的作用下, 可通过 ROCK-MLC 磷酸酶途径维持 VSMCs 收缩表型。VSMCs 中存在的 Piezo1 分子也可以在剪切应力的作用下激活, 进而造成 Ca^{2+} 内流, 促使 VSMCs 发生表型转变、细胞增殖能力增强, 造成血管壁增厚, 管

腔缩小^[40]。

以上研究提示 VSMCs 在感受不同力学环境时会产生不同的应答, 同样, 不同疾病环境中也会引起不同力学改变。目前关于细胞感应力学变化的受体相关研究较多, 然而细胞内分子及信号通路改变以及更为深入的基因组水平的相关研究仍然缺乏。

2.5 非编码 RNA 随着高通量测序技术广泛应用, 多种非编码 RNA 被发现在 VSMCs 表型转变中发挥重要调控作用。非编码 RNA 主要包括微小核糖核酸 (microRNAs, miRNAs)、长链非编码 RNA (long non-coding RNAs, lncRNAs) 以及环形 RNA 分子 (circular RNAs, circRNAs) 等, 其中 miRNAs 在 VSMCs 表型转变中的作用被广泛报道。

miRNAs 是一类内源性非编码小分子 RNAs, 一般由 (19 ~ 22) 个核苷酸组成^[41]。近些年的研究发现多种 miRNAs 都可以促进或抑制 VSMCs 表型转变, 如 miR-375-3p、miR-214、miR-342-5p 等可促进 VSMCs 表型转变, 增强其合成分泌能力; 而 miR-145、miR-634 等可抑制 VSMCs 表型转变, 维持其收缩表型。这些 miRNAs 可通过不同的下游靶基因发挥不同的作用。研究发现, 敲除 VSMCs 中 miR-214 可以显著提高 Smad7 的水平, 降低 Smad3 的磷酸化, 从而降低收缩标记基因表达, 促进 VSMCs 表型转变^[17]。miR-375-3p 过表达可以靶向抑制 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶-1 (PDK1) 的表达, 进而促进 VSMCs 表型转变^[42]。相反, miR-145 在正常人主动脉 VSMCs 中大量表达, 而在主动脉夹层患者 VSMCs 中显著下调, 通过过表达 miR-145 可以上调 VSMCs 中收缩性标记物的表达, 抑制表型转变^[43]。Niu 等^[44]研究发现, miR-634 靶向 Wnt4 的 3'UTR, 并降低 Wnt4 在 HASMC 中的表达, 同时 miR-634 还可以抑制 β -catenin 核易位, 即 miR-634 通过抑制 Wnt4 / β -catenin 途径抑制了 HASMC 的表型转变, 进而抑制细胞增殖和迁移。以上结果表明, miRNAs 可通过调控其他信号通路等方式在 VSMCs 表型转变中发挥重要作用, 然而不同 miRNAs 作用的下游靶基因不同, 会导致其在 VSMCs 表型转变中的作用不同。

2.6 其他因素 除了以上阐述的这些因素, 糖酵解途径以及组蛋白修饰等因素也参与调控 VSMCs 表型转变。例如在 PAH 的 PASMC 中, 醛脱氢酶 1 家族成员 A3 (aldehyde dehydrogenase 1 family member A3, ALDH1A3) 水平上调最为明显, 敲除 VSMCs 中 ALDH1A3 抑制缺氧诱导的 PAH 进展^[45]。进一步研究发现, 敲除 ALDH1A3 抑制糖酵解途径, 从而抑制 VSMCs 表型转变^[45]。丙酮酸激酶 M2 (pyruvate

kinase 2, PKM2)是糖酵解途径的关键限速酶, AS进展中, VSMCs 中 PKM2 表达水平显著增加, 抑制 PKM2 降低 VSMCs 增殖和迁移能力, 延缓 AS 的疾病进程^[46]。这些结果表明靶向抑制 VSMCs 中糖酵解途径可抑制 VSMCs 表型转变, 有效缓解 AS 等相关疾病进程。

组蛋白修饰是指组蛋白在相关酶作用下发生甲基化、乙酰化、磷酸化等修饰的过程。富集在平滑肌特异性基因上的组蛋白修饰 H3K4me2 被视为血管平滑肌的表现特性, 在“分化”与“去分化”的平滑肌细胞中, H3K4me2 均被稳定地保留在平滑肌特异性基因启动子区域, 提示 H3K4me2 可能在维持 VSMCs 表型方面发挥重要作用^[47]。近期研究显示, 使用 H3K4me2 脱甲基酶消除 H3K4me2 甲基化后, VSMCs 失去其细胞特征及收缩功能, 发生表型转变^[47]。另一项研究发现, 组蛋白去乙酰化酶 6(histone deacetylase 6, HDAC6)同样在 VSMCs 表型转变中发挥关键调控作用, 抑制 HDAC6 可激活转录因子 SRF, 上调 α -SMA 和心肌蛋白相关转录因子 A(MRTF-A)等收缩蛋白表达, 从而抑制 VSMCs 表型转变^[48]。

3 VSMCs 表型转变在心血管疾病中的作用

分泌型 VSMCs 可产生大量细胞外基质及细胞因子, 招募炎症细胞, 加重血管炎症反应, 引起内皮细胞功能紊乱; 同时其增殖能力增强, 可导致血管壁异常增厚, 引起管腔狭窄, 最终导致 AS 以及 PAH 等多种疾病产生。

3.1 AS 一种以动脉内膜斑块形成为特征的慢性炎症性疾病^[49]。与正常血管中 VSMCs 相比, AS 中 VSMCs 中 SM22、 α -SMA 等收缩性分子表达减少, 而 OPN、MMPs 等分泌型的标志分子表达增多^[3]。遗传示踪实验结果显示, AS 中 70% 的 VSMCs 可由动脉中层的 VSMCs 表型转变后增殖、迁移而来, 进而参与 AS 斑块形成^[50]。Chin 等^[43]发现 miR-145 可以通过抑制 VSMCs 表型转变, 维持 VSMCs 收缩表型, 进而抑制 AS ApoE^{-/-}小鼠斑块生长。Farina 等^[4]研究发现, 在 VSMCs 表型转变过程中类端粒沉默干扰体 1(DOT1L)的表达上调, DOT1L 及其诱导的 H3K79me2 可以直接调节 NF- κ B 的转录, 从而诱导 VSMCs 发生表型转变, 促使细胞 CCL5 及 CXCL10 的表达增加, 进而促进 AS 的发展。同时, 在 AS 疾病条件下, 免疫细胞与 VSMCs 之间的相互作用也能够调控 VSMCs 表型。巨噬细胞是 AS 斑块中富集的一种免疫细胞, 抑制 Toll 样受体 4(TLR4)可以显著降低由晚期糖基化终末产物

(AGEs)所诱导的巨噬细胞 M1 型极化, 炎症因子的分泌和 RAGE/TLR4/FOXC2 信号传导, 进而抑制巨噬细胞中 Dll4 的表达, 这些巨噬细胞在主动脉中与 VSMCs 直接接触后可通过 Dll4/Notch 途径促进 VSMCs 表型转变^[51]。Chen 等^[52]研究发现在 AS ApoE^{-/-}小鼠中 T 细胞死亡相关基因 8(Tdag8)的表达显著上调, Tdag8 可以通过 cAMP/PKA 信号通路介导 VSMCs 表型转变, 进而促进 AS 的发展。以上研究结果均提示 VSMCs 表型转变参与了 AS 进程, 阻断 VSMCs 表型转变可有效缓解 AS 进展。

3.2 PAH 一种较为常见的心血管疾病, 其病理特征为非肌性远端肺小动脉的异常肌化, 促使肺动脉血管收缩性增加, 肺动脉阻力升高, 最终导致心脏衰竭, 引起病人死亡^[53]。血管中膜平滑肌细胞发生表型转变进而异常增殖是造成肺动脉管腔狭窄, 血管重构的主要原因。Xu 等^[54]研究发现, 在 PAH 组织中收缩型 VSMCs 标记基因如 α -SMA、SMMHC 等表达缺失, 而 OPN 等分泌型标志分子及生长诱导因子 FOXM1、PLK1 表达上调。在发病早期, 肺动脉中 VSMCs 通过下调 SMMHC 和上调 PDGFR- β 而发生表型转变, 增殖、迁移能力增强, 进而向远端迁移, 然后再次分化, 参与 PAH 疾病进展^[55]。而敲除 VSMCs 中 KLF4 或敲除内皮细胞和巨噬细胞中 PDGFB 可有效抑制 VSMCs 表型转变, 进而缓解 PAH 疾病进程^[56]。miR-663 是 PAH 的潜在生物标志物, miR-663 可以通过靶向 TGF- β 1/smad2/3 信号传导, 抑制 PDGF-BB 诱导的 VSMCs 表型转变及增殖, 防止肺血管重塑^[57]。同时 Yeo 等^[53]发现阻断 BMP 信号通路会使肺动脉中 VSMCs 发生表型转变, 加重 PAH 进程。Hu 等^[58]发现, 肺动脉平滑肌细胞(PASMCs)中异常的 m⁶A RNA 甲基化修饰与 PAH 的进展密切相关。RNA 甲基化识别蛋白(YTHDF1)在 PAH 患者中表达明显上调, 而 YTHDF1 基因敲除明显改善小鼠 PASMCs 表型转变及 PAH 进程。与 AS 相同, 在 PAH 中也存在免疫细胞与 VSMCs 的相互作用, 在 PAH 患者及小鼠模型中, 血清和 M1 型极化的巨噬细胞中 MMP-1、MMP-10 水平显著升高, MMP-10 可通过 Cyclin D1 的上调来促进 VSMCs 发生表型转变, 细胞增殖与迁移, 促进 PAH 进程^[59]。以上研究结果表明靶向抑制 VSMCs 表型转变可以作为 PAH 治疗的重要手段。

4 展望与总结

前期研究表明, VSMCs 表型转变中涉及去分化过程, 这一过程促使 VSMCs 获得多向分化潜能, 具

备向巨噬细胞、肌成纤维细胞等转变的能力,进而参与不同的疾病进展,表明 VSMCs 的表型转变受到严格且精准的调控,深入探究这些信号通路及分子可以提高调控 VSMCs 表型的效率,具有重要的理论意义和临床应用价值。目前关于 VSMCs 表型转换的研究仍面临着一些问题,比如不同 VSMCs 表型转变程度的分子标记物需进一步明确;新的 VSMCs 表型转换的分子机制仍需进一步阐明;不同 VSMCs 表型转变程度在各种疾病中的作用仍需更加细致的阐明等,随着单细胞组学技术以及其他高通量手段的广泛应用,未来探究 VSMCs 表型转变的细胞与分子机制将会更加全面,进而为心血管疾病的治疗提供更加可行的靶点和策略。

参考文献:

- [1] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告2020概要[J]. *中国循环杂志*, 2021, 36(6): 521–545.
- [2] Campbell JH, Campbell GR. Smooth muscle phenotypic modulation—a personal experience[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(8): 1784–1789.
- [3] Chen MY, Zhang ZH, Ke JF, et al. Chaetocin attenuates atherosclerosis progression and inhibits vascular smooth muscle cell phenotype switching[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2022, 15(6): 1270–1282.
- [4] Farina FM, Serio S, Hall IF, et al. The epigenetic enzyme DOT1L orchestrates vascular smooth muscle cell-monocyte crosstalk and protects against atherosclerosis via the NF- κ B pathway[J]. *Eur Heart J*, 2022, 43(43): 4562–4576.
- [5] Fang X, Xie M, Liu X, et al. REDD1 gene knockout alleviates vascular smooth muscle cell remodeling in pulmonary hypertension[J]. *Am J Transl Res*, 2022, 14(3): 1578–1591.
- [6] 吴珊珊, 谢亮, 刘翰旻, 等. PDGF-BB诱导肺动脉平滑肌细胞表型转换时细胞骨架的变化[J]. *四川大学学报(医学版)*, 2018, 49(4): 524–529.
- [7] Bhattacharyya A, Lin S, Sandig M, et al. Regulation of vascular smooth muscle cell phenotype in three-dimensional coculture system by Jagged1-selective Notch3 signaling[J]. *Tissue Eng Part A*, 2014, 20(7-8): 1175–1187.
- [8] Zheng H, Qiu Z, Chai T, et al. Insulin resistance promotes the formation of aortic dissection by inducing the phenotypic switch of vascular smooth muscle cells[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 732122.
- [9] Zaidi M, Lizneva D, Yuen T. The role of PDGF-BB in the bone-vascular relationship during aging[J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(20): e153644.
- [10] Zhou J, Shao L, Yu J, et al. PDGF-BB promotes vascular smooth muscle cell migration by enhancing Pim-1 expression via inhibiting miR-214[J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(23): 1728.
- [11] Han JH, Park HS, Lee DH, et al. Regulation of autophagy by controlling Erk1/2 and mTOR for platelet-derived growth factor-BB-mediated vascular smooth muscle cell phenotype shift[J]. *Life Sci*, 2021, 267: 118978.
- [12] Zhao Z, Zhang G, Yang J, et al. DLEU2 modulates proliferation, migration and invasion of platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB)-induced vascular smooth muscle cells (VSMCs) via miR-212-5p/YWHAZ axis[J]. *Cell Cycle*, 2022, 21(19): 2013–2026.
- [13] Chou CC, Wang CP, Chen JH, et al. Anti-atherosclerotic effect of hibiscus leaf polyphenols against tumor necrosis factor- α -induced abnormal vascular smooth muscle cell migration and proliferation[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(12): 620.
- [14] Chung DJ, Wu YL, Yang MY, et al. Nelumbo nucifera leaf polyphenol extract and gallic acid inhibit TNF- α -induced vascular smooth muscle cell proliferation and migration involving the regulation of miR-21, miR-143 and miR-145[J]. *Food Funct*, 2020, 11(10): 8602–8611.
- [15] Fan W, Liu Y, Li C, et al. MicroRNA-331-3p maintains the contractile type of vascular smooth muscle cells by regulating TNF- α and CD14 in intracranial aneurysm[J]. *Neuropharmacology*, 2020, 164: 107858.
- [16] Bobik A. Transforming growth factor- β s and vascular disorders[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(8): 1712–1720.
- [17] Li Y, Li H, Xing W, et al. Vascular smooth muscle cell-specific miRNA-214 knockout inhibits angiotensin II-induced hypertension through upregulation of Smad7[J]. *FASEB J*, 2021, 35(11): e21947.
- [18] Zhu Y, Shu D, Gong X, et al. Platelet-derived TGF (transforming growth factor)- β 1 enhances the aerobic glycolysis of pulmonary arterial smooth muscle cells by PKM2 (pyruvate kinase muscle isoform 2) upregulation[J]. *Hypertension*, 2022, 79(5): 932–945.
- [19] Kurz J, Weiss AC, Thiesler H, et al. Notch signaling is a novel regulator of visceral smooth muscle cell differentiation in the murine ureter[J]. *Development*, 2022, 149(4): dev199735.
- [20] Ragot H, Monfort A, Baudet M, et al. Loss of Notch3 signaling in vascular smooth muscle cells promotes severe heart failure upon hypertension[J]. *Hypertension*, 2016, 68(2): 392–400.
- [21] Breikaa RM, Denman K, Ueyama Y, et al. Loss of Jagged1 in mature endothelial cells causes vascular dysfunction with alterations in smooth muscle phenotypes[J]. *Vascul Pharmacol*, 2022, 145: 107087.
- [22] Liu Y, Sinha S, McDonald OG, et al. Kruppel-like factor 4 abrogates myocardin-induced activation of smooth muscle gene expression[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(10): 9719–9727.
- [23] Zheng B, Han M, Bernier M, et al. Kruppel-like factor 4 inhibits proliferation by platelet-derived growth factor receptor beta-mediated, not by retinoic acid receptor alpha-mediated, phosphatidylinositol 3-kinase and ERK signaling in vascular smooth muscle cells[J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(34): 22773–22785.
- [24] Zhang X, Yan X, Cao J, et al. SM22 α (+) vascular mural cells are essential for vessel stability in tumors and undergo phenotype transition regulated by Notch signaling[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 124.
- [25] Su C, Menon NV, Xu X, et al. A novel human arterial wall-on-a-chip to study endothelial inflammation and vascular smooth muscle cell migration in early atherosclerosis[J]. *Lab Chip*, 2021, 21(12): 2359–2371.
- [26] Wang L, Zheng J, Du Y, et al. Cartilage oligomeric matrix protein maintains the contractile phenotype of vascular smooth muscle cells by interacting with α (7) β (1) integrin[J]. *Circ Res*, 2010, 106(3): 514–525.
- [27] Koyama H, Raines EW, Bornfeldt KE, et al. Fibrillar collagen inhibits arterial smooth muscle proliferation through regulation of Cdk2 inhibitors[J]. *Cell*, 1996, 87(6): 1069–1078.
- [28] Orr AW, Lee MY, Lemmon JA, et al. Molecular mechanisms of collagen isotype-specific modulation of smooth muscle cell phenotype[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(2): 225–231.
- [29] Mao C, Ma Z, Jia Y, et al. Nidogen-2 maintains the contractile phenotype of vascular smooth muscle cells and prevents neointima formation via bridging Jagged1-Notch3 signaling[J]. *Circulation*, 2021, 144(15): 1244–1261.
- [30] Li W, Li Q, Qin L, et al. Rapamycin inhibits smooth muscle cell proliferation and obstructive arteriopathy attributable to elastin

- deficiency[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(5): 1028 – 1035.
- [31] Castro MM, Cena J, Cho WJ, *et al.* Matrix metalloproteinase-2 proteolysis of calponin-1 contributes to vascular hypocontractility in endotoxemic rats[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(3): 662 – 668.
- [32] Wang Y, Cao W, Cui J, *et al.* Arterial wall stress induces phenotypic switching of arterial smooth muscle cells in vascular remodeling by activating the YAP/TAZ signaling pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 51(2): 842 – 853.
- [33] Jensen LF, Bentzon JF, Albarrán-Juárez J. The phenotypic responses of vascular smooth muscle cells exposed to mechanical cues[J]. *Cells*, 2021, 10(9): 2209.
- [34] Tang Y, Jia Y, Fan L, *et al.* MFN2 prevents neointimal hyperplasia in vein grafts via destabilizing PFK1[J]. *Circ Res*, 2022, 130(11): e26 – e43.
- [35] Xie SA, Zhang T, Wang J, *et al.* Matrix stiffness determines the phenotype of vascular smooth muscle cell in vitro and in vivo: Role of DNA methyltransferase 1[J]. *Biomaterials*, 2018, 155: 203 – 216.
- [36] Shao Y, Li G, Huang S, *et al.* Effects of extracellular matrix softening on vascular smooth muscle cell dysfunction[J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2020, 20(6): 548 – 556.
- [37] Wang J, Xie SA, Li N, *et al.* Matrix stiffness exacerbates the proinflammatory responses of vascular smooth muscle cell through the DDR1-DNMT1 mechanotransduction axis[J]. *Bioact Mater*, 2022, 17: 406 – 424.
- [38] Kim SA, Sung JY, Woo CH, *et al.* Laminar shear stress suppresses vascular smooth muscle cell proliferation through nitric oxide-AMPK pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490(4): 1369 – 1374.
- [39] Kang H, Liu J, Sun A, *et al.* Vascular smooth muscle cell glycocalyx mediates shear stress-induced contractile responses via a Rho kinase (ROCK)-myosin light chain phosphatase (MLCP) pathway[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42092.
- [40] Retailleau K, Duprat F, Arhatte M, *et al.* Piezo1 in smooth muscle cells is involved in hypertension-dependent arterial remodeling[J]. *Cell Rep*, 2015, 13(6): 1161 – 1171.
- [41] Hall IF, Climent M, Viviani Anselmi C, *et al.* rs41291957 controls miR-143 and miR-145 expression and impacts coronary artery disease risk[J]. *EMBO Mol Med*, 2021, 13(10): e14060.
- [42] Chen J, Lai K, Yong X, *et al.* Silencing METTL3 stabilizes atherosclerotic plaques by regulating the phenotypic transformation of vascular smooth muscle cells via the miR-375-3p/PDK1 axis[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2022. doi: 10.1007/s10557-022-07348-6.
- [43] Chin DD, Poon C, Wang J, *et al.* MiR-145 micelles mitigate atherosclerosis by modulating vascular smooth muscle cell phenotype[J]. *Biomaterials*, 2021, 273: 120810.
- [44] Niu L, Sun N, Kong L, *et al.* MiR-634 inhibits human vascular smooth muscle cell proliferation and migration in hypertension through Wnt4/ β -catenin pathway[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2021, 26(8): 395 – 404.
- [45] Li D, Shao NY, Moonen JR, *et al.* ALDH1A3 coordinates metabolism with gene regulation in pulmonary arterial hypertension[J]. *Circulation*, 2021, 143(21): 2074 – 2090.
- [46] Zhao X, Tan F, Cao X, *et al.* PKM2-dependent glycolysis promotes the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells during atherosclerosis[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2020, 52(1): 9 – 17.
- [47] Liu M, Espinosa-Diez C, Mahan S, *et al.* H3K4 di-methylation governs smooth muscle lineage identity and promotes vascular homeostasis by restraining plasticity[J]. *Dev Cell*, 2021, 56(19): 2765 – 2782.e10.
- [48] Zhang M, Urabe G, Little C, *et al.* HDAC6 regulates the MRTF-A/SRF axis and vascular smooth muscle cell plasticity[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2018, 3(6): 782 – 795.
- [49] Zhang F, Guo X, Xia Y, *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.
- [50] Pan H, Xue C, 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.
- [51] Xing Y, Pan S, Zhu L, *et al.* Advanced glycation end products induce atherosclerosis via RAGE/TLR4 signaling mediated-M1 macrophage polarization-dependent vascular smooth muscle cell phenotypic conversion[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 9763377.
- [52] Chen LD, Zhu WT, Cheng YY, *et al.* T-cell death-associated gene 8 accelerates atherosclerosis by promoting vascular smooth muscle cell proliferation and migration[J]. *Atherosclerosis*, 2020, 297: 64 – 73.
- [53] Yeo Y, Yi ES, Kim JM, *et al.* FGF12 (fibroblast growth factor 12) inhibits vascular smooth muscle cell remodeling in pulmonary arterial hypertension[J]. *Hypertension*, 2020, 76(6): 1778 – 1786.
- [54] Xu T, Shao L, Wang A, *et al.* CD248 as a novel therapeutic target in pulmonary arterial hypertension[J]. *Clin Transl Med*, 2020, 10(5): e175.
- [55] Sheikh AQ, Lighthouse JK, Greif DM. Recapitulation of developing artery muscularization in pulmonary hypertension[J]. *Cell Rep*, 2014, 6(5): 809 – 817.
- [56] Ntokou A, Dave JM, Kauffman AC, *et al.* Macrophage-derived PDGF-B induces muscularization in murine and human pulmonary hypertension[J]. *JCI Insight*, 2021, 6(6): e139067.
- [57] Li P, Song J, Du H, *et al.* MicroRNA-663 prevents monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension by targeting TGF- β 1/smad2/3 signaling[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2021, 161: 9 – 22.
- [58] Hu L, Wang J, Huang H, *et al.* YTHDF1 regulates pulmonary hypertension through translational control of MAGED1[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2021, 203(9): 1158 – 1172.
- [59] Chi PL, Cheng CC, Hung CC, *et al.* MMP-10 from M1 macrophages promotes pulmonary vascular remodeling and pulmonary arterial hypertension[J]. *Int J Biol Sci*, 2022, 18(1): 331 – 348.

(收稿日期: 2022-03-01; 接受日期: 2022-09-06)