

血管外膜原位干/祖细胞研究现状及进展

范书霞 综述, 韩战营, 邱春光 审校  
(郑州大学第一附属医院心血管内科, 河南省郑州市 450052)

[关键词] 原位干/祖细胞; 内皮细胞; 血管平滑肌细胞  
[摘要] 传统的观点认为血管外膜作为疏松结缔组织,包含了成纤维细胞、炎症细胞、滋养血管、神经末梢等,仅主要起到支撑、营养血管的作用。然而,近年越来越多的证据表明血管外膜中存在原位干/祖细胞。在病理情况下,这些血管壁原位干/祖细胞分化为内皮细胞或平滑肌细胞,从而参与动脉粥样硬化的进展、血管损伤后的修复与重构等。本文将对血管外膜原位干/祖细胞的研究现状及进展作一综述。  
[中图分类号] R363 [文献标识码] A

Research Status and Progress of Resident Stem/Progenitor Cells in Adventitia

FAN Shu-Xia, HAN Zhan-Ying, and QIU Chun-Guang  
(Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450052, China)

[KEY WORDS] Resident Stem/Progenitor Cell; Endothelial Cell; Vascular Smooth Muscle Cell  
[ABSTRACT] Traditionally, the tunica adventitia has been regarded as loose connective tissue, which was composed of fibroblasts, inflammatory cells, vasa vasorum, nerve endings and so on. It mainly functioned as supportive tissue and supplied nutrition to the vessel wall. Recently, accumulating data suggested that stem/progenitor cells were present in the adventitia. Under pathological conditions, resident stem/progenitor cells in the adventitia could differentiate into endothelial cells or smooth muscle cells, which were involved in atherosclerosis, vascular repair and remodeling. This article briefly reviews the research status and advancement of stem/progenitors in adventitia.

许多年来,人们认为外膜作为血管壁最外层的疏松结缔组织,包含了成纤维细胞、炎症细胞、滋养血管、末梢神经等,仅主要起到支撑血管、为管壁提供营养物质的作用。然而,新近的研究发现外膜中存在丰富的原位干/祖细胞(resident stem/progenitor cell)。各种动脉损伤时,原位干/祖细胞通常首先被激活进而影响血管壁的结构和张力<sup>[1]</sup>。比如,动脉粥样硬化时往往伴随血管内皮损伤、脂质沉积、炎症细胞浸润、细胞坏死凋亡等,这些血管壁的原位干/祖细胞可参与内皮的修复、血管再生、免疫调节作用等<sup>[2]</sup>。经皮冠状动脉腔内成形术(percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA)后的血管再狭窄中,外膜成纤维细胞(fibroblast)通常被首先激活,并发生增殖、迁移,分化为肌成纤维细胞(myofibroblast, MF),参与新生内膜的形成和血管壁

的重构<sup>[3,4]</sup>。本文主要对外膜的胚胎发育,外膜存在原位干/祖细胞的证据及可能使这些干/祖细胞分化的信号通路做一综述。

1 外膜的胚胎发育

血管壁有3层结构,分别为内膜、中膜和外膜。内膜由内弹力层和中膜隔开,是紧密排列的单层极化的内皮细胞(endothelial cell, EC),可调节血管紧张性并提供抗血栓形成的表面。中膜由大量排列规则的血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)构成,并由外弹力层和外膜分开。和内膜、中膜不同,作为血管壁最外层的外膜,组织结构相对疏松,且和周围的脂肪组织及结缔组织缺乏明确的界限。目前的研究主要集中在血管胚胎发育的

[收稿日期] 2013-03-12  
[作者简介] 范书霞,硕士研究生,研究方向为动脉硬化的机制,E-mail 为 xmsfsx@163.com。韩战营,博士,副主任医师,副教授,硕士研究生导师,研究方向为介入心脏病学,E-mail 为 hzy91@163.com。邱春光,主任医师,教授,博士研究生导师,研究方向为介入心脏病学,E-mail 为 qcgl23@163.com。

早期阶段如血管的形成,而对晚期阶段尤其是血管外膜的发育所知甚少。新生血管的形成包括两种形式:一种称为血管形成(vasculogenesis),如大的血管主动脉弓、腹主动脉等由血管形成,即成血管干细胞(angiolast)原位分化为 EC 并形成原始新生血管;另一种称为血管新生(angiogenesis),其他的动脉则通过血管新生形成,即在已存在的血管上以出芽、增殖等方式形成毛细血管丛<sup>[5]</sup>。EC 形成后,局部的间充质细胞迁移并分化为平滑肌细胞参与形成血管中膜。VSMC 的增殖和分化伴随着细胞外基质成分及弹性纤维的产生,随着血管发育成熟,出现外膜。

## 2 外膜干/祖细胞的构成

### 2.1 成纤维细胞

血管外膜是包含多种细胞、成份复杂的组织,主要有 I 型胶原、蛋白多糖等细胞外成分,及散在分布的成纤维细胞、少量的巨噬细胞、淋巴细胞、肥大细胞,滋养血管(主要出现在大的动脉壁,为管壁提供营养)、无髓鞘神经末梢等。成纤维细胞作为外膜的主要细胞已被证实可在多种因素的刺激下发生增殖、迁移并分化为 MF。Shi 等<sup>[6]</sup>在猪的冠状动脉内皮损伤模型中,发现用 5-溴-2-脱氧尿嘧啶核苷(5-bromo-2-deoxyuridine, BrdU)标记的外膜成纤维细胞早于内膜细胞和中膜细胞首先被激活,其增殖在 3 天内达到最大,7 天后这些细胞获得了 MF 的表面标志  $\alpha$  平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA),并出现在新生内膜中,占新生内膜细胞数量的  $76\% \pm 19\%$ ,而且参与新生内膜的形成和血管重构。由成纤维细胞分化的 MF 和中膜 VSMC 并不相同,因为 MF 并不表达平滑肌肌凝蛋白(smooth muscle myosin, SMM)、结蛋白(desmin),因此可以和中膜的 VSMC 区别<sup>[7]</sup>。之后, Li 等<sup>[8]</sup>将  $\beta$  半乳糖苷酶(LacZ)基因标记的外膜成纤维细胞预先种植大鼠颈动脉外膜中,然后用球囊损伤大鼠一侧颈动脉,观察到第 7 天被标记的成纤维细胞已迁移至内膜,从而为外膜成纤维细胞的迁移、分化提供了直接证据。因此,外膜成纤维细胞也被认为是具有分化为 MF 潜能的祖细胞<sup>[9]</sup>。

### 2.2 Sca<sup>+</sup> 细胞

如上所述,新近的研究发现外膜中存在丰富的原位干/祖细胞。2004 年, Hu 等<sup>[10]</sup>最早报道在 ApoE 基因敲除的小鼠中,主动脉根部血管外膜存在干/祖细胞,占全部细胞比例的  $2\% \sim 5\%$ 。免疫组织化学法检测到了一系列的干细胞表面标志如 Sca-

1、C-kit、CD34、Flk-1,但缺乏胚胎干细胞的特异性标志 SSEA-1(stage-specific embryonic antigen-1)。体外条件下, Sca-1<sup>+</sup> 细胞在血小板源性生长因子 BB 型(platelet-derived growth factor-BB, PDGF-BB)的刺激下可以分化为 VSMC。然后, Hu 等人将载有 LacZ 基因的 Sca-1<sup>+</sup> 细胞种植在 ApoE 基因敲除小鼠移植静脉的外膜,发现  $\beta$  半乳糖阳性的细胞出现在移植静脉内膜的粥样硬化病变中。2006 年, Zengin 等<sup>[11]</sup>发现在成年人血管壁 VSMC 和外膜之间存在特定区域,他们称之为“血管源性区域(vasculogenic zone)”,并认为该区域存在的干细胞是出生后血管新生的来源。例如, CD34<sup>+</sup>/CD31<sup>-</sup> 的内皮祖细胞(endothelial progenitor cell, EPC)可以分化为成熟的 EC,从而参与出生后血管的形成。2008 年, Passman 等<sup>[12]</sup>在外膜和中膜的交界处发现了 Shh(sonic hedgehog)蛋白结构域, Shh 基因敲除的小鼠主动脉根部外膜 Sca<sup>+</sup> 细胞数量明显减少。这些 Sca<sup>+</sup> 细胞在体内并不表达 VSMC 表面标志,但却表达向 VSMC 分化的转录因子包括血清反应因子(serum response factor, SRF)和 Myocardin 家族成员,并且在体外很容易分化成 VSMC 样细胞。因此, Shh 可能在维持外膜 VSMC 祖细胞起了重要作用。最近,科学家发现位于血管壁 Sca-1<sup>+</sup>/PDGFR- $\alpha$ <sup>-</sup>(platelet-derived growth factor receptor- $\alpha$ )细胞具有向成骨细胞和破骨细胞双向分化的潜能, Sca-1<sup>+</sup>/PDGFR- $\alpha$ <sup>+</sup> 细胞却只有向成骨细胞分化的潜能,而 Sca-1<sup>+</sup>/PDGFR- $\alpha$ <sup>-</sup> 细胞可以显著加重 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化斑块的钙化<sup>[13]</sup>。

### 2.3 间充质干细胞

有多个研究报道了血管外膜存在间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)。2007 年, Pasquinelli 等<sup>[14]</sup>从胸主动脉中膜与外膜交界处分离出了表达间充质细胞标志 CD44、CD90、CD105 的祖细胞,这些细胞可在体外分化为 EC。2008 年, Hoshino 等<sup>[15]</sup>培养肺动脉来源的人类血管外膜成纤维细胞(human vascular adventitial fibroblast, hVAF),发现它们表达波形蛋白(vimentin)、I 型胶原、CD29、CD44、CD105 等,但并不表达造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)和 EC 的表面标志。在适当的培养条件下, hVAF 具有脂源性、骨源性和肌源性分化潜能。2010 年, Campagnolo 等<sup>[16]</sup>从人类的大隐静脉外膜滋养血管附近分离出了 CD34<sup>+</sup>/CD31<sup>-</sup> 的细胞,他们称之为大隐静脉来源的祖细胞(saphenous vein-derived progenitor cell, SVP)。在含血清的培养基中 SVP 可表达间充质细胞的表面抗原,并展

示了克隆源性和多向分化潜能。在培养皿中, SVP可整合入由 EC 形成的血管网中并通过旁分泌机制促进血管新生; 在体内, 肌内注射这些细胞给小鼠缺血的下肢, 新生血管的形成明显增加。同样, Fang 等<sup>[17]</sup> 从人类胎儿的主动脉壁分离出 CD105<sup>+</sup>/CD34<sup>-</sup>/Flk-1<sup>+</sup> 细胞, 这些细胞在血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的诱导下可分化为 EC, 在 PDGF-BB 的诱导下可分化为 VSMC, 同时这些细胞也具有脂源性和骨源性分化潜能。已有许多研究证实这些间充质干细胞具有多向分化潜能, 未来这些细胞很可能在治疗血管疾病中发挥重要作用<sup>[18]</sup>。

## 2.4 周细胞

周细胞 (pericytes) 又称壁细胞, 是一种扁平而有突起的细胞, 其突起以楔样穿插于 EC 之间, 并和 EC 一起构成微血管和组织间隙的屏障。周细胞可以表达胞内蛋白如结蛋白、平滑肌肌球蛋白, 细胞表面蛋白如高分子量黑色素瘤抗原 [high molecular weight melanoma antigen, HMW-MMA; 在小鼠称之为 NG-2 (nerve/glial antigen)]、血小板源性生长因子  $\beta$  受体 (platelet-derived growth factor receptor- $\beta$ , PDGFR- $\beta$ )<sup>[19]</sup>。近年来, 人们发现周细胞也存在于血管外膜组织。Howson 等<sup>[20]</sup> 从大鼠的主动脉壁分离出非内皮的间充质细胞, 在含有碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 的无血清培养基悬液中可形成球形的细胞克隆。这些细胞表达 CD34 和 Tie-2, 但并不表达 EC 表面标志 CD31、内皮型一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 和 VSMC 表面标志  $\alpha$ -SMA。重要的是, 它们也表达 NG-2、结蛋白、PDGFR, 而这些都是周细胞的特征。这表明血管壁存在具有向周细胞分化潜能的原始细胞。Campagnolo 等<sup>[16]</sup> 从人类大隐静脉分离出的 SVP 也可以分化为周细胞样的细胞, 并可以和 EC 形成血管网。有人认为周细胞可以看做是 EC 另一种形式的祖细胞, 并参与局部的血管新生, 如动脉粥样斑块中新生血管的形成<sup>[21]</sup>。此外, 周细胞还参与动脉粥样硬化晚期钙化的形成<sup>[22, 23]</sup>。在体外培养条件下, 周细胞展示了干细胞样的细胞表型, 具有干细胞的表面抗原和增殖能力, 并有向骨质、软骨及脂肪组织分化的能力, 从而参与血管的钙化。

## 3 外膜干/祖细胞向血管方向的分化

### 3.1 外膜干/祖细胞向内皮细胞的分化

如上述, 多个研究表明血管壁的原位干/祖细

胞可分化为 EC, 但其分化机制并不清楚。Ingram 等<sup>[24]</sup> 的研究证明血管壁和循环中的 EPC 有相似的克隆源性和分化潜能。有证据表明 Flk-1<sup>+</sup> 和 Sca<sup>+</sup> 的细胞是来自干细胞的 EPC<sup>[25]</sup>。事实上, VEGF 和其受体 Flk-1 在 EPC 的分化中均起了重要作用。Flk-1 是血管母细胞前体的早期标志, 尤其标志着在鼠类发育中能迁移至胚外卵黄囊而形成血管丛的细胞亚群, 缺少 VEGF 或 Flk-1 基因均可导致胚胎发育中的血管形成障碍<sup>[26, 27]</sup>。Flk-1 细胞内结构域的磷酸化和其与磷脂酶 C $\gamma$ -1 (phospholipase C $\gamma$ -1, PLC $\gamma$ -1)、磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 的相互作用对 Flk<sup>+</sup> 祖细胞的存活及向 EC 的分化起了重要作用<sup>[28]</sup>。而 PI3K/Akt 信号通路是细胞内重要的信号转导通路, 通过影响下游多种分子的活化状态, 发挥着促进细胞增殖、分化的关键作用<sup>[29]</sup>。最近的研究表明组蛋白去乙酰化酶 3 (histone deacetylase-3, HDAC-3) 也参与了 Akt 的磷酸化, 在 VEGF 诱导的 EPC 分化中起了重要作用<sup>[30]</sup>。进一步的研究表明, Akt 和 HDAC-3 的相互作用对于维持 Akt 活性的基础水平也至关重要, 而且 HDAC-3 短暂的高表达可导致 Akt 磷酸化水平和激酶活性的升高<sup>[31]</sup>。总的来说, VEGF 通过 VEGF 受体-PI3K-HDAC-3/Akt 途径可启动 EPC 的分化。

### 3.2 外膜干/祖细胞向平滑肌细胞的分化

既往研究表明多个信号通路参与了干/祖细胞向血管 VSMC 方向的分化<sup>[32]</sup>。目前较为明确的是 IV 型胶原、PDGF、转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 在 Sca<sup>+</sup> 祖细胞向 VSMC 分化中起了重要作用。大部分关于平滑肌祖细胞分化的研究强调了 IV 型胶原和整合素  $\alpha$ 1、 $\beta$ 1、 $\alpha$ 5 的相互作用<sup>[33]</sup>。当 IV 型胶原和平滑肌祖细胞表面的受体——整合素  $\alpha$ 1、 $\beta$ 1、 $\alpha$ 5 结合后, 其他的信号如 PDGF、TGF- $\beta$  对于分化信号的启动也是必要的<sup>[34-36]</sup>。然后, 位于细胞内的 NADPH 氧化酶 4 (NADPH oxidase-4, Nox-4) 被激活, 激活的 Nox4 可以产生活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS)。Nox4 来源的 ROS 可上调 SRF 的基因转录和蛋白质表达, 从而使激活的 SRF 从胞浆内转移至细胞核<sup>[37]</sup>。SRF 结合平滑肌特异性基因启动子区域的 CArG 元件, 激活 Myocardin 和其他转录因子, 调节 VSMC 的分化<sup>[38]</sup>。此外 Margariti 等<sup>[39]</sup> 的研究证实 HDAC-7 也可以介导 VSMC 的分化。在 PDGF 的刺激下, HDAC-7 经过剪切主要定位于细胞核, 在核质中和 SRF 高度结合。剪切过的 HDAC-7 还可以修饰 SRF, 增强其与平滑肌基因启动子和转录因子



Myocardin 的结合。最近,人们发现核转录因子 Nr3 也可以直接结合 VSMC 分化的启动子<sup>[40]</sup>。高表达的 Nr3 可以增强 SRF 与平滑肌细胞基因启动子的结合,而且还可以通过上调 NADPH 氧化酶的表达来增加 ROS 的产生。因此,TGF- $\beta$ /PDGF-BB/整合素-Nox4/HDAC-7-SRF/Myocardin 信号通路参与了 VSMC 的分化。

#### 4 问题与展望

总的来说,最近的研究表明了血管外膜存在干/祖细胞,这些血管前体细胞既有向 EC 分化参与新生血管形成的潜能,也有向 VSMC 分化聚集在内膜下的潜能。介导向 EC 分化的信号通路主要是 VEGF 受体-PI3K-HDAC-3/Akt 途径;介导向 VSMC 分化的主要是整合素/IV型胶原、PDGF、TGF 及它们激活的下游信号和 SRF/Myocardin 转录因子。所有的证据表明存在于外膜的干/祖细胞可能在动脉粥样硬化、血管重构中起了直接或间接的作用,然而我们也应认识到没有已知的特异性 EC 或 VSMC 前体细胞的分子标志。研究者们称这些细胞为干/祖细胞是基于几种细胞标志的综合(比如 Sca-1、C-kit、CD34、Flk-1),没有任何一个是特异性的血管祖细胞表面标志。

在我们明白这些干/祖细胞的潜在作用前,我们仍面临一系列的问题和挑战。比如,我们怎样证明这些干/祖细胞是存在于血管壁而不是短暂停留在血管壁?这些原位的干/祖可能的来源是什么?从成年人的主动脉壁分离的干/祖细胞是不是胚胎主动脉壁干细胞的延伸?它们是不是在发育阶段就存在,在成年后需要时被激活?如果我们能够回答这些问题,我们就可以控制这些干/祖细胞迁移至内膜从而减缓动脉粥样硬化。在未来,这些原位干/祖细胞很有可能成为治疗动脉粥样硬化或 PT-CA 术后血管再狭窄的新靶点。

#### [参考文献]

- [1] Michel JB, Thauinat O, Houard X, et al. Topological determinants and consequences of adventitial responses to arterial wall injury [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(6): 1 259-268.
- [2] 赵琦, 朴海南, 李婉秋. 干细胞与动脉粥样硬化[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2012, 4(6): 580-581.
- [3] Soctt NA, Cipolla GD, Ross CE, et al. Identification of a potential role for the adventitial in vascular lesion formation

- after overstretch ballon injury of porcine coronary[J]. *Circulation*, 1996, 93(12): 2 178-187.
- [4] Coen M, Gabbiani G, Bochaton-Piallat ML. Myofibroblast-mediated adventitial remodeling: an underestimated player in arterial pathology [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Bio*, 2011, 31(11): 2 391-396.
- [5] Swift MR, Weinstein BM. Arterial-venous specification during development [J]. *Circ Res*, 2009, 104(5): 576-588.
- [6] Shi Y, O'Brien JE, Fard A, et al. Adventitial myofibroblasts contribute to neointimal formation in injured porcine coronary arteries [J]. *Circulation*, 1996, 94(7): 1 655-664.
- [7] Shi Y, O'Brien JE Jr, Mannion JD, et al. Remodeling of autologous saphenous vein grafts: the role of perivascular myofibroblasts [J]. *Circulation*, 1997, 95(12): 2 684-693.
- [8] Li G, Chen SJ, Oparil S, et al. Direct in vivo evidence demonstrating neointimal migration of adventitial fibroblasts after balloon injury of rat carotid arteries[J]. *Circulation*, 2000, 101(12): 1 362-365.
- [9] Sartore S, Chiavegato A, Faggin E, et al. Contribution of adventitial fibroblasts to neointima formation and vascular remodeling: from innocent bystander to active participant [J]. *Circ Res*, 2001, 89(12): 1 111-121.
- [10] Hu Y, Zhang Z, Torsney E, et al. Abundant progenitor cells in the adventitia contribute to atherosclerosis of vein grafts in ApoE-deficient mice[J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(9): 1 258-265.
- [11] Zengin E, Chalajour F, Gehling UM, et al. Vascular wall resident progenitor cells: a source for postnatal vasculogenesis [J]. *Development*, 2006, 133(8): 1 543-551.
- [12] Passman JN, Dong XR, Wu SP, et al. A sonic hedgehog signaling domain in the arterial adventitia supports resident Sca-1 smooth muscle progenitor cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(27): 9 349-354.
- [13] Cho HJ, Cho HJ, Lee HJ, et al. Vascular calcifying progenitor cells possess bidirectional differentiation potentials [J]. *Plos Biol*, 2013, 11(4): e1001534.
- [14] Pasquinelli G, Tazzari PL, Vaselli C, et al. Thoracic aortas from multiorgan donors are suitable for obtaining resident angiogenic mesenchymal stromal cells [J]. *Stem Cells*, 2007, 25(7): 1 627-634.
- [15] Hoshino A, Chiba H, Nagai K, et al. Human vascular adventitial fibroblasts contain mesenchymal stem/progenitor cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 368(2): 305-310.
- [16] Campagnolo P, Cesselli D, Alhajzen A, et al. Human adult vena saphena contains perivascular progenitor cells

- endowed with clonogenic and proangiogenic potential[J]. *Circulation*, 2010, 121(15): 1 735-745.
- [17] Fang B, Li Y, Song Y, et al. Isolation and characterization of multipotent progenitor cells from the human fetal aorta wall[J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2010, 235(1): 130-138.
- [18] Pasquinelli G, Pacilli A, Alviano F, et al. Multidistrict human mesenchymal vascular cells: pluripotency and stemness characteristic[J]. *Cytotherapy*, 2010, 12(3): 275-287.
- [19] 孙慧琴, 邹仲敏. 周细胞的生物学特性及其在血管生成中的作用[J]. *中华病理学杂志*, 2008, 37(11): 771-774.
- [20] Howson KM, Aplin AC, Gelati M, et al. The postnatal rat aorta contains pericyte progenitor cells that form spheroidal colonies in suspension culture[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2005, 289(6): C1 396-407.
- [21] Juchem G, Weiss DR, Gansera B, et al. Pericytes in the macrovascular intima: possible physiological and pathogenic impact[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010, 298(3): H754-H770.
- [22] Canfield AE, Doherty MJ, Wood AC, et al. Role of pericytes in vascular calcification: a review[J]. *Z Kardiol*, 2000, 89(Suppl 2): 20-27.
- [23] Shao JS, Cai J, Towler DA. Molecular mechanisms of vascular calcification: lessons learned from the aorta[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(7): 1 423-430.
- [24] Ingram DA, Mead LE, Moore DB, et al. Vessel wall-derived endothelial cells rapidly proliferate because they contain a complete hierarchy of endothelial progenitor cells[J]. *Blood*, 2005, 105(7): 2 783-786.
- [25] Xu Q. Stem cells and transplant arteriosclerosis[J]. *Cir Res*, 2008, 102(9): 1 011-024.
- [26] Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, et al. Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice[J]. *Nature*, 1995, 376(6535): 62-66.
- [27] Carmeliet P, Ferrerira V, Breier G, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF-allele[J]. *Nature*, 1996, 380(6573): 435-439.
- [28] Sase H, Watabe T, Kawasaki K, et al. VEGFR2-PLC gamma 1 axis is essential for endothelial specification of VEGFR2<sup>+</sup> vascular progenitor cells[J]. *J Cell Sci*, 2009, 122(Pt 18): 3 303-311.
- [29] 程千鹏, 吕肖锋. 内皮祖细胞与 PI3K/Akt 信号转导通路[J]. *心血管病学进展*, 2009, 30(Suppl 1): 33-35.
- [30] Zeng L, Xiao Q, Margariti A, et al. HDAC-3 is crucial in shear- and VEGF-induced stem cell differentiation toward endothelial cells[J]. *J Cell Biol*, 2006, 174(7): 1 059-069.
- [31] Zampetaki A, Zeng L, Margariti A, et al. Histone deacetylase 3 is critical in endothelial survival and atherosclerosis development in response to disturbed flow[J]. *Circulation*, 2010, 121(1): 132-142.
- [32] Zhang L, Zhou Y, Zhu J, et al. An update view on stem cell differentiation into smooth muscle cells[J]. *Vascul Pharmacol*, 2012, 56(5-6): 280-287.
- [33] Xiao Q, Zeng L, Zhang Z, et al. Stem cell-derived Sca-1<sup>+</sup> progenitors differentiate into smooth muscle cells, which is mediated by collagen IV-integrin alpha 1/beta 1/alpha 5 and PDGF receptor pathways[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 292(1): C342-C352.
- [34] Hautmann MB, Madsen CS, Owen GK. A transforming growth factor beta (TGF beta) control element drives TGF beta-induced stimulation of smooth muscle alpha-actin gene expression in concert with two CArG elements[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(16): 10 948-956.
- [35] Adam PJ, Regan CP, Hautmann MB, et al. Positive- and negative-acting Kruppel-like transcription factor bind a transforming growth factor beta control element required for expression of the smooth muscle cell differentiation marker SM22 alpha vivo[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(48): 37 798-806.
- [36] 朱斌, 柳茵, 刘维军, 等. 转化生长因子 beta1 在心血管病中的研究进展[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2011, 4(1): 67-70.
- [37] Xiao Q, Luo Z, Pepe AE, et al. Embryonic stem cell differentiation into smooth muscle cells is mediated by Nox4-produced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2009, 296(4): C711-C723.
- [38] Owens GK, Kumar MS, Wamhoff BR. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease[J]. *Physiol Rev*, 2004, 84(3): 767-801.
- [39] Margariti A, Xiao Q, Zampetaki A, et al. Splicing of HDAC-7 modulates the SRF-myocardin complex during stem-cell differentiation towards smooth muscle cells[J]. *J Cell Sci*, 2009, 122(Pt 4): 460-470.
- [40] Pepe AE, Xiao Q, Zampetaki A, et al. Crucial role of Nrf3 in smooth muscle cell differentiation from stem cell[J]. *Cir Res*, 2010, 106(5): 870-879.

(此文编辑 曾学清)