

# 血管平滑肌细胞在小鼠动脉血管发育与疾病中的作用研究进展

朱政怡<sup>1</sup> 龚卉<sup>1,2</sup> 程洪强<sup>1</sup> 柯越海<sup>1</sup> 张雪<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>浙江大学医学院病理与病理生理学系, 杭州 310058; <sup>2</sup>湖州师范学院附属第一医院, 湖州 313000)

**摘要** 平滑肌细胞招募和分化成熟是胚胎动脉发育的重要步骤。分化的平滑肌细胞在成年动脉中处于静息状态, 高表达与收缩有关的蛋白。平滑肌细胞的分化是可逆的, 在血管损伤后发生去分化, 静息状态转变为增殖状态。平滑肌细胞的不受控增殖造成血管狭窄甚至堵塞, 这是堵塞性血管病的主要病理过程。血管损伤后修复过程在多个方面与血管胚胎发育过程相同。过去几年对在动脉发育和疾病中平滑肌细胞的作用研究有了新的进展。该文首先明确了血管平滑肌细胞具有异质性, 不同血管的平滑肌细胞起源不同; 其次, 动脉胚胎发育中存在平滑肌自内而外逐层成熟的现象。最近研究还发现, 动脉损伤修复后增生的平滑肌细胞来源具有单(或寡)克隆性。这些最新研究有助于更好地理解平滑肌细胞在动脉血管发育与疾病中的作用, 为干预堵塞性血管病带来新的希望。

**关键词** 动脉; 血管平滑肌细胞; 发育; 血管病

## Roles of Vascular Smooth Muscle Cells in Mouse Artery Development and Disease

Zhu Zhengyi<sup>1</sup>, Gong Hui<sup>1,2</sup>, Cheng Hongqiang<sup>1</sup>, Ke Yuehai<sup>1</sup>, Zhang Xue<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Pathology and Pathophysiology, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310058, China;

<sup>2</sup>Key Laboratory for Translational Medicine, First Affiliated Hospital, Huzhou University, Huzhou 313000, China)

**Abstract** Recruitment and subsequent differentiation and maturation of vascular smooth muscle cells are key events in arterial development. In fully formed adult arteries, vascular smooth muscle cells are in a quiescent state and contractile proteins are highly expressed. In an injured condition, vascular smooth muscle cells switch from a contractile state to a proliferative state, suggesting the differentiation is reversible. Uncontrolled proliferation of vascular smooth muscle cells, leading to occlusion of vessels, is the characterized pathology of occlusive vascular disease. Vascular repair recapitulates embryonic vessel development in some cases. Recent years, great progress has been made in roles of vascular smooth muscle cells in arterial development and disease. Firstly, vascular smooth muscle cells are of heterogeneous origin. Secondly, in arterial development, vascular smooth muscle cells are sequentially inducted from surrounding mesenchyme, from inside out. Furthermore, vascular smooth muscle cells in neointima from both atherosclerosis and pulmonary artery hypertension arise from a few medial vascular smooth muscle cells, leading to the hypothesis that vascular smooth muscle cells in vascular remodeling are of monoclonal/

收稿日期: 2018-05-11 接受日期: 2018-08-16

浙江省自然科学基金(批准号: LY17H020002、LZ18H020001)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0571-88208583, E-mail: zhangxue@zju.edu.cn

Received: May 11, 2018

Accepted: August 16, 2018

This work was supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province (Grant No. LY17H020002, LZ18H020001)

\*Corresponding author. Tel: +86-571-88208583, E-mail: zhangxue@zju.edu.cn

网络出版时间: 2018-10-29 10:49:47

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20181029.1049.004.html>

oligoclonal origin. These new results give us more knowledge about vascular development and regeneration and new hopes in clinical intervening of vascular disease.

**Keywords** artery; vascular smooth muscle cells; development; vascular disease

大血管如动脉主要是由血管内皮和平滑肌两种细胞构成,除此之外还有少量的周细胞(pericytes)、成纤维细胞、免疫细胞以及神经细胞等。动脉结构上可以分成三层。血管内层由单层内皮细胞和内皮下层构成,内皮细胞之间通过胞间黏连接构成内皮屏障,维持血管稳态<sup>[1]</sup>。同时,内皮细胞分泌与血管舒张和收缩有关的分子,调节血管活动<sup>[2]</sup>。内皮下层包括一层内弹性膜和少量未成熟的平滑肌细胞,这些细胞与血管损伤后修复有关<sup>[3]</sup>。中层是动脉血管的主要部分,由丰富的弹性蛋白为主的胞外基质和同心平滑肌层组成,提供维持动脉血压所需要的生物力学<sup>[4]</sup>。外层包括周细胞、成纤维细胞以及调控血管的神经末梢。外层含有多种血管干/前体细胞,这些细胞数量少,但与血管损伤后修复有关<sup>[5]</sup>。血管损伤后,内皮分泌细胞因子,招募炎症细胞聚集,释放平滑肌细胞活化信号,后者发生迁移和增殖。成年血管损伤后发生的修复性重构,与血管发育有序性过程不同,血管细胞增生,导致血管发生狭窄,是动脉粥样硬化(atherosclerosis)、肺动脉高压(pulmonary arterial hypertension)和血管术后再狭窄(stenosis)等堵塞性血管病的特征性病理过程<sup>[6]</sup>。但成体组织的再生过程与胚胎发育过程在多个方面又具有相似性<sup>[7]</sup>,由此,剖析胚胎动脉的发育有助于我们理解血管损伤后修复的分子机制及异常修复的原因,为临床干预堵塞性血管病提供理论基础。本文对平滑肌细胞在动脉血管发育与疾病中的作用的最新进展作一综述。

## 1 血管平滑肌细胞的细胞来源和异质性

在胚胎发育早期,随着早期血管网络形成,动脉从周围组织中招募血管平滑肌细胞。小鼠胚胎发育9.5天(E9.5),背大动脉开始出现平滑肌<sup>[8]</sup>。不同血管的平滑肌细胞都表达相同的标志物,但是不同的血管甚至同一血管不同部位平滑肌细胞的来源并不相同,因此血管平滑肌细胞具有异质性。细胞示踪研究发现,主动脉根部(与心脏左心室相连)平滑肌细胞来自与右心室发育有关的第二心场(second heart field, SHF),主动脉弓平滑肌细胞来自神经脊细

胞(neural crest),而降支部分的平滑肌细胞来自前体节中胚层(prosomatic mesoderm)<sup>[9-10]</sup>。主动脉的这三段在结构上连续,然而不同来源的平滑肌细胞并没有相互混杂,因此存在边界。有趣的是,临床上的动脉病变如动脉粥样硬化恰恰发生在边界。其他血管的平滑肌细胞多来自其临近组织间质细胞,比如心脏冠状动脉平滑肌细胞来自心外膜细胞(proepicardium,属于间质细胞)<sup>[11]</sup>,肺动脉的平滑肌细胞来自肺间质细胞<sup>[12]</sup>,肠动脉及肠系膜动脉平滑肌细胞来自浆膜间皮细胞(serosal mesothelium)<sup>[13]</sup>。与平滑肌细胞一样,血管的内皮细胞也具有异质性<sup>[14]</sup>。血管系统中血管不仅具有大小上差异,而且组成其的血管细胞在发育起源上具有异质性,这些可能可以解释外周血管病变具有血管种类与部位的差异性<sup>[14]</sup>。

## 2 平滑肌细胞和动脉血管的形态发生

随着胚胎生长,循环系统的需求增加,发育早期的内皮细胞形成的血管丛通过融合形成大的血管——动脉和静脉<sup>[15]</sup>。随后,内皮细胞释放招募信号,周围间质细胞迁移到血管外周,分化成表达 $\alpha$ -SMA( $\alpha$ -smooth muscle actin)的平滑肌细胞。血管平滑肌细胞以同心圆方式排列成平滑肌层。肺中小动脉的外周有一到两层平滑肌细胞,而主动脉中平滑肌的层数可以多达数十层。目前认为,动脉平滑肌层数的差异是由其内皮释放的信号强弱决定,后者受血压与血流动力学的调控<sup>[16]</sup>。

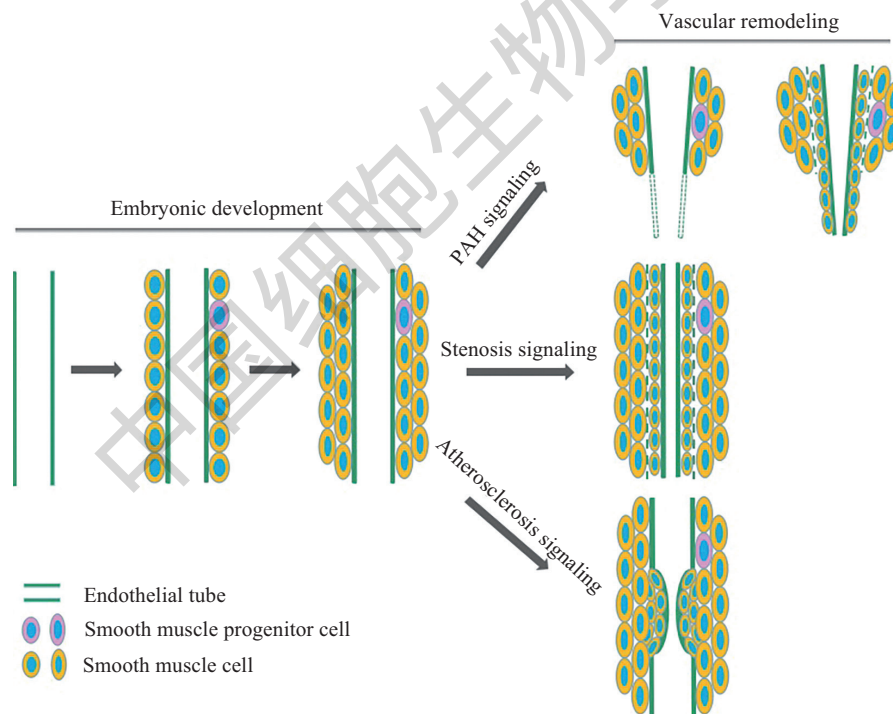
最近一项关注肺动脉发育中平滑肌包装的研究发现,动脉平滑肌细胞的包装具有两个显著特征,一是招募的间质细胞由内而外顺序分化成成熟平滑肌细胞,二是在成熟的过程中发生细胞的形态改变,由原来的沿血管长轴排列变成环血管排列<sup>[12]</sup>。小鼠胚胎发育E11.5,肺动脉外周表达血小板来源生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)的细胞开始表达平滑肌细胞标志物 $\alpha$ -SMA。此时,这些细胞 $\alpha$ -SMA表达水平低,而且集中在近内皮细胞侧。随着平滑肌细胞的其他标志物如SMMHC(smooth muscle myosin heavy chain)、SM22 $\alpha$ (22 KD  $\alpha$  smooth muscle cell specific protein,

transgelin)和NG2(chondroitin sulfate proteoglycan 4 precursor)等开始表达, PDGFR表达减弱消失, 这些细胞成为成熟平滑肌细胞(图1)。除了基因表达改变外, 在这个分化过程中, 平滑肌细胞的形态也发生明显变化, 细胞由原来的沿血管长轴排列, 转变成E14.5时的围绕血管排列, 而且这种排列方式与成年血管中平滑肌细胞的排列方式相同。在第一层平滑肌基本形成后(E13.5), 第二层细胞重复第一层细胞的变化, 基因表达以及细胞形态发生改变。在肺动脉中, 两层平滑肌层形成后, 外层细胞一直到E18.5也不表达 $\alpha$ -SMA, 因此肺动脉只有两层平滑肌层。其他动脉如颈总动脉有四层平滑肌层, 与肺动脉平滑肌层发育过程一样, 从E10.5开始, 由内而外到E16.5形成四层平滑肌层。与肺动脉不同, 在颈总动脉中没有观察到明显的平滑肌细胞形态变化<sup>[12]</sup>。弹性蛋白占血管蛋白的一半, 临床上发现其表达基因突变与主动脉瓣上狭窄症相关。编码弹性蛋白基因敲除的小

鼠发生主动脉内皮下层平滑肌细胞的增生和血管堵塞。杂合子小鼠没有明显的主动脉缺陷表型。在杂合子小鼠中敲入人弹性蛋白基因后, 主动脉的直径、管腔都显著减小, 但主动脉变长、变重, 这是由于平滑肌细胞的圆周生长减弱而转为轴向生长造成的<sup>[17-18]</sup>。

### 3 平滑肌细胞与动脉血管疾病

成年血管中, 平滑肌细胞高度分化, 主要合成与收缩有关的蛋白, 增殖能力弱。小鼠主动脉平滑肌细胞更新的半衰期长达一年<sup>[19]</sup>。尽管成熟血管平滑肌细胞处于高度分化和静息状态, 血管损伤后, 内皮释放修复信号, 损伤部位出现增殖和迁移能力强、胞外基质分泌旺盛的未分化平滑肌细胞。这些细胞被认为是由原来稳定的分化型平滑肌细胞去分化而来, 此过程特指血管平滑肌细胞的表型转换或可塑性<sup>[20]</sup>。可塑性或表型转换与平滑肌细胞衰老以及整



血管发育阶段, 内皮细胞形成内膜层后, 释放信号招募组织周围间质细胞, 间质细胞经过分化成熟, 逐层形成平滑肌细胞。少量未完全成熟的平滑肌细胞处于静息状态存储于平滑肌层, 并一直维持至成年期。在引发肺动脉高压的因素作用下, 比如低氧, 存留在血管中膜的数个未成熟平滑肌细胞进入活跃状态。这些细胞迁移至肺动脉远端增殖、分化形成新的平滑肌细胞, 使原先没有平滑肌细胞的肺小动脉发生肌化, 逐渐狭窄血管。在术后血管狭窄和动脉粥样硬化中新增的平滑肌细胞也被认为是来自数个既有的平滑肌细胞。

After establishment of endothelium, chemical signals were released by endothelia cells to recruit mesenchymal cells, which could be differentiated into mature smooth muscle cells in vascular development. A tiny fraction of undifferentiated smooth muscle cells exist quiescently within the media even in the adult vascular. These undifferentiated smooth muscle cells were activated and acquired uncontrolled proliferation ability by such as hypoxia, leading to occlusion of vessels. It is the characterized pathology of occlusive vascular disease, including pulmonary artery hypertension, atherosclerosis and stenosis.

图1 血管发育与疾病中平滑肌细胞的作用

Fig.1 Roles of vascular smooth muscle cells in artery development and disease

体血管老化(vascular aging)或硬化(stiffness)有关。随着年龄增加, 正常的血管也会因为胞外基质的增加和血管中层结构细胞数量的增加以及细胞与胞外基质作用减弱导致对血压的可扩张性减弱, 表现为血管老化或硬化<sup>[21-22]</sup>。早期血管老化多见于年轻高血压患者, 是心血管疾病的独立危险因素。动脉血管疾病主要有动脉粥样硬化、肺动脉高压和血管术后再狭窄。这些疾病的共同特征是平滑肌细胞的异常增生造成血管狭窄。传统观点认为, 发生异常增生的平滑肌细胞是原有平滑肌细胞通过表型转换而来的。

肺动脉高压是以肺动脉血压升高(肺动脉平均压 $\geq 25$  mmHg)及右心功能下降、衰竭为特征, 生存期短的恶性疾病。肺动脉高压的病理特征表现为肺中小动脉发生以血管平滑肌细胞为主的增生性重构与增厚, 造成肺循环阻力增加, 顺应性下降, 右心负荷增加以致发生心衰。目前临床上使用药物扩张肺血管, 不能有效阻止肺血管重构, 治疗效果不佳。小鼠低氧诱导后会发生肺动脉高压, 小鼠肺动脉远端没有平滑肌细胞的小血管发生肌化, 也就是平滑肌包裹的肺小动脉向远端延伸。利用CreER-loxP技术进行细胞示踪研究发现, 绝大部分( $>80\%$ )新生的平滑肌细胞来自既有的平滑肌细胞, 而不是从干/前体细胞分化产生。肺动脉平滑肌细胞表达平滑肌细胞的标志物 $\alpha$ -SMA, 但是不表达PDGFR。在远端分界区存在少量未成熟平滑肌细胞或平滑肌前体细胞, 既表达平滑肌细胞标志物 $\alpha$ -SMA也表达间质细胞标志物PDGFR。在低氧情况下, 最远端的平滑肌细胞发生去分化, 降低平滑肌细胞标志物(SMMHC)的表达, 同时向小动脉远端迁移、增殖。而最初迁移的平滑肌细胞发生分化成熟, 表达平滑肌标志物, PDGFR表达下降, 成为小动脉新的平滑肌层。低氧诱导下, 肺小动脉平滑肌细胞的行为与发育过程中动脉平滑肌的形成具有很高的相似性<sup>[23]</sup>。重要的是, 新生的平滑肌细胞不是原有的平滑肌细胞整体发生表型转换后增殖而来, 而是从非常有限的细胞通过多次增殖而来<sup>[23]</sup>(图1)。

动脉粥样硬化是冠心病、脑梗和周围血管病的主要原因。血管炎症以及脂质代谢异常使得脂质(胆固醇、脂蛋白等)在血管壁上堆积, 活化血管内皮细胞。活化的内皮细胞招募单核细胞, 后者分化为巨噬细胞, 吞噬脂质。巨噬细胞吞噬大量脂质后转变成泡沫细胞, 与活化内皮细胞一起使得内皮下的血

管平滑肌细胞发生表型转换, 参与动脉粥样硬化的斑块形成过程。斑块堵塞血管, 不稳定斑块增加血管破裂以及发生血栓的风险。早期利用X染色体选择性沉默这一特性研究人动脉硬化斑块中平滑肌细胞的来源, 发现具有明显的克隆性<sup>[24]</sup>。也就是在人动脉粥样硬化斑块中的平滑肌细胞是由一个或少数几个既有平滑肌细胞增殖产生的。这一点最近通过细胞示踪技术在小鼠模型中得到确认<sup>[25]</sup>。在动脉粥样硬化的小鼠模型研究中发现, 单个既有平滑肌细胞增殖覆盖斑块的顶部, 继续增殖并侵入斑块的中心, 与其他细胞(比如泡沫细胞)一起组成斑块<sup>[26]</sup>。

除了上述研究表明新生内膜主要来自于既有平滑肌细胞, 不少研究认为, 血管干/前体细胞在血管损伤后修复中发挥重要作用<sup>[27]</sup>。血管壁三层中都存在血管干/前体细胞, 除此之外还有骨髓来源的干细胞, 比如内皮祖细胞。血管干/前体细胞在血管损伤后修复中的作用目前仍存在很大的争议。如果今后有更多确凿的研究证实增生的平滑肌细胞是来自于既有的平滑肌细胞, 那么血管干/前体细胞在增生性血管病中的贡献值便微乎其微, 以血管干细胞为靶点的干预价值则不大。

#### 4 血管发育与血管病中调控平滑肌细胞的分子机制

血管发育过程中平滑肌前体细胞的招募和成熟受复杂的分子调控。在未成熟与新生血管中, 血管内皮细胞合成并分泌血小板来源生长因子-B(platelet derived growth factor-B, PDGF-B), 而其受体PDGFR表达在血管平滑肌细胞和周细胞的前体细胞中。如前文所述, 血管发育中血管内皮细胞通过分泌PDGF-B招募表达PDGFR的间质细胞, 后者分化成熟为血管平滑肌细胞, 同时PDGFR的表达下调<sup>[12]</sup>。除了PDGF/PDGFR信号外, TGF $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ )信号在平滑肌细胞成熟中也发挥重要作用。TGF $\beta$ 信号下游转录因子SMADs(SMAD2/3/4)调控血管平滑肌细胞核心转录因子myocardin的表达。胚胎发育过程中, TGF $\beta$ 信号缺失导致血管新生异常, 继发器官发育迟缓与异常以及胚胎死亡<sup>[28]</sup>。除了以上信号通路外, 研究还发现, Notch3信号参与动脉血管多层平滑肌细胞的形成, 这个过程中还有HIPPO信号通路的重要蛋白YAP1的共同参与<sup>[29]</sup>。

血管发育成熟后,血管平滑肌细胞中PDGFR的表达下调。在肺动脉高压小鼠模型的研究中发现,在肺中小动脉有平滑肌细胞包裹的最远端(也就是边界),存在少量维持PDGFR表达的平滑肌细胞,这群细胞表达干细胞多能因子KLF4(Kruppel-like factor 4)和HIF1- $\alpha$ (hypoxia-inducible factor 1- $\alpha$ )。在低氧条件下,这群细胞中的单个细胞发生迁移、去分化、增殖及以分化形成新的平滑肌细胞,使得肺中小动脉的平滑肌层数增加,肌化的动脉向更远端发展,形成肺动脉高压典型的病理特征。正常情况下,小鼠肺动脉平滑肌细胞不表达KLF4, KLF4在低氧诱导的新增平滑肌细胞中表达。平滑肌细胞缺失KLF4的小鼠在低氧作用下不发生肺动脉高压。因此, KLF4是一个很好的防治肺动脉高压的靶点<sup>[30]</sup>。在动脉粥样硬化斑块中的平滑肌细胞由一个既有平滑肌细胞增殖而来,小鼠中这种明显的克隆性被认为是由整合素beta3(integrin  $\beta$ 3)控制的。缺失整合素beta3的小鼠形成的动脉粥样硬化斑块中,增生的平滑肌细胞不再具有单克隆性,而是由多个既有平滑肌细胞增殖产生。因此,整合素beta3控制平滑肌细胞的增殖和迁移,这可能是一个新的动脉粥样硬化干预靶点<sup>[26]</sup>。

## 5 总结与展望

过去几年,得益于新的技术,比如细胞示踪、基因敲除等在血管研究中的应用,我们对血管发育和血管病变的细胞生物学的认知有了显著增加。我们明确了堵塞性血管病中增生的平滑肌细胞主要来自既有平滑肌细胞,更重要的是,新生的平滑肌细胞基本上是由单一细胞扩增而来的。这一特性可能是目前临床上对堵塞性血管病没有有效干预手段的原因之一。将来,血管研究中有以下两个方面值得关注。一是加强血管细胞间通讯的研究<sup>[31]</sup>。堵塞性血管病如血管术后再狭窄,发生的原因是手术造成血管内皮损伤或功能下降,释放信号引起平滑肌细胞的增殖。而在动脉粥样硬化中,巨噬细胞等免疫细胞发挥了重要的作用。因此,研究和理解不同细胞间的相互作用以及异种细胞间通讯可以让我们更全面地理解血管病变的机制。二是将动物模型中的研究发现转化成临床,尤其是发展堵塞性血管病新的干预靶点和手段。最新的研究,比如动脉粥样硬化斑块中平滑肌细胞的寡克隆性,以及肺动脉高压肺小动脉肌化平滑肌细胞来自少数几个既有平滑肌细胞,

都迫切需要引入新兴的技术(如单细胞测序技术)进行明确<sup>[32]</sup>。同时,单细胞测序技术也许能够找到堵塞性血管病中平滑肌细胞不可控增殖的分子基础。更深入的研究可以帮助我们科学技术进步中获益,维护我们的健康,降低心血管疾病造成的致残和致死率。

## 参考文献 (References)

- 1 Komarova YA, Kruse K, Mehta D, Malik AB. Protein interactions at endothelial junctions and signaling mechanisms regulating endothelial permeability. *Circ Res* 2017; 120(1): 179-206.
- 2 Vanhoutte PM. Nitric oxide: from good to bad. *Ann Vasc Dis* 2018; 11(1): 41-51.
- 3 Roostalu U, Aldeiri B, Albertini A, Humphreys N, Simonsen-Jackson M, Wong JKF, *et al.* Distinct cellular mechanisms underlie smooth muscle turnover in vascular development and repair. *Circ Res* 2018; 122(2): 267-81.
- 4 Durham AL, Speer MY, Scatena M, Giachelli CM, Shanahan CM. Role of smooth muscle cells in vascular calcification: implications in atherosclerosis and arterial stiffness. *Cardiovasc Res* 2018; 114(4): 590-600.
- 5 Wang G, Jacquet L, Karamariti E, Xu Q. Origin and differentiation of vascular smooth muscle cells. *J Physiol* 2015; 593(14): 3013-30.
- 6 Yahagi K, Kolodgie FD, Otsuka F, Finn AV, Davis HR, Joner M, *et al.* Pathophysiology of native coronary, vein graft, and in-stent atherosclerosis. *Nat Rev Cardiol* 2016; 13(2): 79-98.
- 7 Vining KH, Mooney DJ. Mechanical forces direct stem cell behaviour in development and regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017; 18(12): 728-42.
- 8 Majesky MW. Vascular development. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2018; 38(3): e17-24.
- 9 Roostalu U, Wong JK. Arterial smooth muscle dynamics in development and repair. *Dev Biol* 2018; 435(2): 109-21.
- 10 Sawada H, Rateri DL, Moorleghen JJ, Majesky MW, Daugherty A. Smooth muscle cells derived from second heart field and cardiac neural crest reside in spatially distinct domains in the media of the ascending aorta—brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017; 37(9): 1722-6.
- 11 Sharma B, Chang A, Red-Horse K. Coronary artery development: progenitor cells and differentiation pathways. *Annu Rev Physiol* 2017; 79: 1-19.
- 12 Greif DM, Kumar M, Lighthouse JK, Hum J, An A, Ding L, *et al.* Radial construction of an arterial wall. *Dev Cell* 2012; 23(3): 482-93.
- 13 Wilm B, Ipenberg A, Hastie ND, Burch JB, Bader DM. The serosal mesothelium is a major source of smooth muscle cells of the gut vasculature. *Development* 2005; 132(23): 5317-28.
- 14 Augustin HG, Koh GY. Organotypic vasculature: from descriptive heterogeneity to functional pathophysiology. *Science* 2017; doi: 10.1126/science.aal2379.
- 15 Jones EA. The initiation of blood flow and flow induced events in early vascular development. *Semin Cell Dev Biol* 2011; 22(9): 1028-35.
- 16 Simons M, Eichmann A. Molecular controls of arterial morpho-

- genesis. *Circ Res* 2015; 116(10): 1712-24.
- 17 Jiao Y, Li G, Korneva A, Caulk AW, Qin L, Bersi MR, *et al.* Deficient circumferential growth is the primary determinant of aortic obstruction attributable to partial elastin deficiency. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017; 37(5): 930-41.
- 18 Angelov SN, Zhu J, Hu JH, Dichek DA. What's the skinny on elastin deficiency and supraaortic stenosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017; 37(5): 740-2.
- 19 Neese RA, Misell LM, Turner S, Chu A, Kim J, Cesar D, *et al.* Measurement *in vivo* of proliferation rates of slow turnover cells by 2h2o labeling of the deoxyribose moiety of DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99(24): 15345-50.
- 20 Gomez D, Owens GK. Smooth muscle cell phenotypic switching in atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2012; 95(2): 156-64.
- 21 Lacolley P, Regnault V, Segers P, Laurent S. Vascular smooth muscle cells and arterial stiffening: Relevance in development, aging, and disease. *Physiol Rev* 2017; 97(4): 1555-617.
- 22 Lacolley P, Regnault V, Avolio AP. Smooth muscle cell and arterial aging: basic and clinical aspects. *Cardiovasc Res* 2018; 114(4): 513-28.
- 23 Sheikh AQ, Lighthouse JK, Greif DM. Recapitulation of developing artery muscularization in pulmonary hypertension. *Cell Rep* 2014; 6(5): 809-17.
- 24 Chung IM, Schwartz SM, Murry CE. Clonal architecture of normal and atherosclerotic aorta: Implications for atherogenesis and vascular development. *Am J Pathol* 1998; 152(4): 913-23.
- 25 Chappell J, Harman JL, Narasimhan VM, Yu H, Foote K, Simons BD, *et al.* Extensive proliferation of a subset of differentiated, yet plastic, medial vascular smooth muscle cells contributes to neointimal formation in mouse injury and atherosclerosis models. *Circ Res* 2016; 119(12): 1313-23.
- 26 Misra A, Feng Z, Chandran RR, Kabir I, Rotllan N, Aryal B, *et al.* Integrin beta3 regulates clonality and fate of smooth muscle-derived atherosclerotic plaque cells. *Nat Commun* 2018; 9(1): 2073.
- 27 Wang D, Li LK, Dai T, Wang A, Li S. Adult stem cells in vascular remodeling. *Theranostics* 2018; 8(3): 815-29.
- 28 Guo X, Chen SY. Transforming growth factor-beta and smooth muscle differentiation. *World J Biol Chem* 2012; 3(3): 41-52.
- 29 Manderfield LJ, Aghajanian H, Engleka KA, Lim LY, Liu F, Jain R, *et al.* Hippo signaling is required for notch-dependent smooth muscle differentiation of neural crest. *Development* 2015; 142(17): 2962-71.
- 30 Sheikh AQ, Saddouk FZ, Ntokou A, Mazurek R, Greif DM. Cell autonomous and non-cell autonomous regulation of smc progenitors in pulmonary hypertension. *Cell Rep* 2018; 23(4): 1152-65.
- 31 Nagaraja S, Kapela A, Tsoukias NM. Intercellular communication in the vascular wall: a modeling perspective. *Microcirculation* 2012; 19(5): 391-402.
- 32 Pijuan-Sala B, Guibentif C, Gottgens B. Single-cell transcriptional profiling: a window into embryonic cell-type specification. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2018; 19(6): 399-412.