

细胞间相互作用在血管钙化发病机制中的研究进展

付迪¹, 甘立军^{2*}, 申程², 李传方², 神童¹

¹济宁医学院临床医学院, 山东 济宁

²济宁医学院附属医院, 山东 济宁

收稿日期: 2023年1月1日; 录用日期: 2023年1月25日; 发布日期: 2023年2月3日

摘要

血管钙化是目前心血管疾病的重要危险因素。内皮细胞(ECs)和血管平滑肌细胞(VSMCs)在这一过程中发挥着重要的作用。在炎症、剪切应力、高磷、高糖等刺激下, VSMCs会发生骨样分化, 促进钙化的形成, 这是血管钙化过程中的关键环节。同时, 内皮细胞、巨噬细胞、周细胞等在炎症、高磷、高糖等刺激下发挥促VSMCs钙化的作用。本文主要以血管钙化中VSMCs成骨样分化及ECs、周细胞、巨噬细胞发挥促VSMCs钙化的机制展开概述。

关键词

内皮细胞, 血管平滑肌细胞, 钙化, 外泌体

Research Progress of Intercellular Interaction in the Pathogenesis of Vascular Calcification

Di Fu¹, Lijun Gan^{2*}, Cheng Shen², Chuanfang Li², Tong Shen¹

¹Department of Clinical Medicine, Jining Medical University, Jining Shandong

²Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining Shandong

Received: Jan. 1st, 2023; accepted: Jan. 25th, 2023; published: Feb. 3rd, 2023

Abstract

Vascular calcification is an important risk factor for cardiovascular diseases. Endothelial cells (ECs)

*通讯作者。

文章引用: 付迪, 甘立军, 申程, 李传方, 神童. 细胞间相互作用在血管钙化发病机制中的研究进展[J]. 临床医学进展, 2023, 13(2): 1223-1230. DOI: 10.12677/acm.2023.132169

and vascular smooth muscle cells (VSMCs) play an important role in this process. Under the stimulation of inflammation, shear stress, high phosphorus and high glucose, VSMCs will undergo osteogenic differentiation and promote the formation of calcification, which is a key link in the process of vascular calcification. At the same time, endothelial cells, macrophages and pericytes play a role in promoting the calcification of VSMCs under the stimulation of inflammation, high phosphorus and high glucose. In this paper, the osteogenic differentiation of VSMCs in vascular calcification and the mechanism of ECs, pericytes and macrophages in promoting VSMCs calcification were summarized.

Keywords

Endothelial Cells, Vascular Smooth Muscle Cells, Calcification, Exosomes

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

随着人口老龄化的增长, 心血管疾病已经成为老年人最常见的疾病。血管钙化是缺血性血管疾病如冠心病、糖尿病等的危险因素[1], 并与脑血栓、动脉粥样硬化斑块破裂的风险增加相关[2]。血管钙化主要发生在大、中动脉的血管平滑肌肌层[3], 病理上表现为血管僵硬、顺应性降低、管腔狭窄[4]。目前在临床中, 冠心病的侵入性治疗也面临着钙化的问题。在经皮冠状动脉介入治疗过程中, 血管钙化使得高压扩张和支架贴壁困难, 极大地增加了剥离、血栓形成和再狭窄等手术并发症发生的风险[5]。研究表明, 减缓钙化可降低患者的死亡率[6]。因此, 阐明血管钙化的发病机制具有重要的临床意义。

2. 概述

血管钙化(vascular calcification, VC)是指动脉壁中羟基磷灰石矿物的沉积。近年研究认为, 血管钙化形成是由多种细胞参与的主动的、可调控的复杂病理生理过程[7] [8], 与骨发育和软骨形成的过程相似[6]。在高糖、高磷、炎症、氧化应激及其它钙化因素刺激下, 内皮细胞(endothelial cell, EC)、血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMCs)、周细胞、巨噬细胞等对此通过一系列反应相互作用, 从而进一步激活骨形成信号来促进血管钙化的发生[9]。VC, 类似于骨重塑, 是一个积极调节的过程, 其发生的中心环节是 VSMCs 在某些刺激因素下转化为成骨样细胞, 同时伴随着内皮细胞、巨噬细胞、周细胞等的促 VSMCs 成骨样分化, 最终促进血管钙化的形成。

3. 血管平滑肌细胞是血管钙化的关键环节

VSMCs 是一种有较高分化潜能的细胞, 它能向多种细胞分化。VSMCs 已被证明可以分化为成骨样细胞, 并通过细胞程序介导骨基质在血管中的沉积, 这是平滑肌细胞参与血管钙化的主要方式[10]。

3.1. VSMCs 的成骨样分化是血管钙化的核心

动脉壁中膜主要由 VSMCs 构成。在生理状态下, 成人的血管壁中 VSMCs 呈现收缩表型, 主要表达大量的收缩蛋白, 如 α 平滑肌肌动蛋白(alpha smooth muscle actin, α -SMA)、平滑肌球蛋白重链(smooth muscle myosin heavy chain, SMM-HC)、平滑肌 22 α (smooth muscle 22 alpha, SM22 α)等, 维持其收缩功能[11]。在高磷血症、炎症、氧化应激等刺激下, VSMCs 从收缩表型向骨/软骨表型转化。这一过程的特征

是钙化囊泡的发育、钙化抑制因子的下调以及钙化倾向基质的细化。这种成骨样细胞转分化的发生伴随着收缩表型标记物的丢失和骨软骨标记物[Runx 相关转录因子 2 (Runx2)、SP7、骨桥蛋白、骨钙素和碱性磷酸酶(ALP)、Sox9、II 型和 X 型胶原(Col II 和 Col X)]的获得[4]。与骨骼一样, 这些成骨细胞会释放基质小泡(matrix vesicles, MVs)。MVs 会使钙和磷离子聚集后形成晶核, 而 MVs 中钙和磷酸盐的累积促使磷酸钙晶体的形成。随后, MVs 围绕着胶原纤维构建组织。最终, 磷酸钙晶体会从 MVs 中释放, 然后进入间质空间, 从而形成类似骨质的基质, 最终形成血管钙化[12]。

3.2. 钙化促进因子和抑制因子的失衡

钙化促进因子和抑制因子的表达失衡会导致钙化的形成。在钙化的血管中, 平滑肌细胞较高地表达成骨指标, 如 Sox9、Runx2、锌指结构转录因子(osterix)等, 而 Runx2 能够促进 VSMCs 的钙化[13]。钙化促进因子如骨形态发生蛋白和炎症介质, 以及肿瘤坏死因子- α (TNF- α)可以激活肌节同源框基因 2 (Msx2)和 Wnt 信号, 上调转录因子 Runx2 和 osterix 的表达。而 Runx2 通过与 LEF-1 相互作用, 负向调节 Runx2 在骨钙素等靶基因上的转录活性。同时, Runx2 还可以通过转录控制骨形成负调节因子、硬化蛋白和 Notch 信号修饰 Runx2 活性间接调节 Wnt 信号。硬化蛋白是 SOST 基因的产物, 几乎只在骨细胞中表达, 是 Wnt 信号传导的有效抑制剂, 充当 LRP5/6 的配体[10] [14]。钙化抑制因子如基质 GLA 蛋白 (MGP)等, 可通过阻止钙晶体沉积、拮抗 BMP-2 和 BMP-4 诱导的 VSMC 成骨样分化, 抑制血管钙化的发生[15]。

3.3. 钙化 VSMC 的细胞来源外泌体

钙化 VSMC 的细胞来源外泌体可以通过诱导细胞信号改变来促进血管钙化中受体 VSMC 的表型改变。结果表明, 在钙化的 VSMC 衍生外泌体作用下, VSMC 标记物的 mRNA 表达下调, 成骨细胞分化基因表达上调, 并伴随细胞内钙离子浓度的增加。其相关机制可能与受体 VSMC 中 NADPH 氧化酶和丝裂原活化蛋白激酶(MEK1 和 Erk1/2)信号通路的激活有关[16]。

4. 内皮细胞参与并促进血管平滑肌细胞的成骨样分化

内皮细胞(ECs)是血管的主要成分, 它形成单层细胞包裹血管腔, 并直接受到血清刺激(如葡萄糖、炎症因子、磷和血流动力学) [4] [17] [18] [19]。内皮细胞可通过内皮-间充质转化、细胞因子分泌、细胞外囊泡合成等参与血管钙化[6]。一般认为, 内皮细胞不仅本身在受到损伤/刺激后会转化成类成骨细胞参与血管钙化, 还会通过影响血管平滑肌的表型和功能参与这一过程[20] [21]。

4.1. ECs 通过成骨细胞转化参与 VC

在正常生理稳态失衡, 如糖尿病或甲状旁腺激素过高时, ECs 可以经历内皮-间充质转化(EndMT), 在此期间 ECs 特异性标记物 VE-cadherin/CD31 等的表达减少, 间充质特异性标记物 FSP-1/ α -SMA 等的表达增加[22] [23]。此外, ECs 失去了粘附的能力, 并发生细胞骨架变化, 形成长梭形形态的间充质细胞, 然后转化成类成骨细胞。然而这一过程发生的确切机制尚未明确阐明清楚。朱等[20]通过实验发现在高糖环境中, 激活的 Notch 信号促进 EndMT, 进而获得多能干细胞表型, 并在合适的诱导下分化为成骨细胞, 促进骨样物质形成。此外, Gonzalo 等[1]通过实验发现, TNF- α 和 IL-6 可通过非经典的 SMAD 信号通路诱导 EndMT 在人主动脉 ECs 中发生, 降低 BMPR2 的表达, 促进 bmp9 刺激的成骨。

4.2. ECs 通过自分泌/旁分泌途径参与 VC

近年来, 研究者特别关注 ECs 的活性旁分泌/自分泌因子, 在 VC 的发生发展中起着重要的调控作用。

4.2.1. 气体信号

一些不直接参与钙磷代谢调节的血管活性因子, 如内皮衍生气体信号分子(硫化氢、NO 和 CO), 也参与了 VC 的调控[6]。硫化氢的形成主要是由 ECs 中的胱硫氨酸- γ -裂解酶(CSE)催化的。H₂S 已被证明可以减轻动物血管中磷酸盐诱导的钙化和维生素 D₃ 和尼古丁联合诱导的钙化[24]。此外, Zhou 等[25]指出, 硫化氢可以通过抑制 Stat3/组织蛋白酶 S 信号通路来减弱高糖诱导的钙化。Ying 等[26]观察到, 硫化氢可以通过抑制内质网应激抑制 EndMT, 这可能是硫化氢发挥心脏保护作用的一种新的机制。

4.2.2. 小分子活性肽

血管内皮细胞和血管平滑肌细胞综合合成和分泌的小分子活性肽, 如肾上腺髓质素(ADM)、c 型利钠肽(CNP)和甲状旁腺激素相关肽(PTHrP)等, 都在 VC 的进展中发挥着重要的作用。ADM、CNP 和 PTHrP 能有效抑制甘油磷酸盐诱导的血管平滑肌细胞钙化, 而 PTHrP 被证明是 3 种中最有效的。PTHrP 可能通过激活 BMP-2 信号通路参与 VC, 并作为 VC 的局部调控因子[27]。而血管内皮细胞分泌的内皮素, 可以通过激活内皮素 A 型(ETA)来刺激 VSMC 中 Na 依赖的磷酸盐转运, 从而诱导 VSMC 分化为成骨细胞样表型[6]。

4.2.3. EC 来源的胞外囊泡(EV)

ECs 与血管中的 VSMCs 相邻, ECs 与 VSMCs 之间的相互作用对血管的生理和病理变化非常重要[28]。ECs 在高磷、高脂、高糖等刺激下可以释放胞外囊泡, 如内皮微粒(EMP)、外泌体(Exos)。内皮微粒源于胞吐过程中 EC 质膜上脱落的片段, 而外泌体是多泡性核内体(multivesicular bodies, MVBs)与细胞质膜融合后释放到细胞外的一种膜泡[29], 携带蛋白质、细胞因子、miRNA 等转运至靶细胞发挥作用[30][31][32][33]。

1) 内皮微粒

BMP2 是众所周知的骨形成和骨外钙化的因素, 可能是内皮微粒(endothelial microparticles, EMP)包裹蛋白之一。目前认为, EMP 可以提供 BMP2 和钙离子(calcium ion, Ca²⁺), 并作为钙化的成核位点来诱导矿化[6]。由葡萄糖处理的 ECs 衍生的 EV 以活性氧依赖的方式激活 p38, 上调 ECs 中细胞间黏附分子 1(ICAM1)和血管细胞粘附分子 1(VCAM1)的表达, 诱导单核细胞粘附和炎症, 从而促进钙化[34][35]。Lin 等人发现, 高糖刺激的脐静脉 ECs 释放大量含有 Notch3 的 EV, 并通过激活 mTOR 通路促进 VC [36]。

2) 外泌体

研究发现, 高浓度的无机磷酸盐诱导的 ECs 衍生外泌体(ECsHPi-Exos)在体内外均可被 VSMC 吸收, 促进动脉钙化。Lin 等[37]在实验中发现当 VSMCs 与经 3.5 mmol/L β -甘油磷酸钠预处理的 ECs 共培养时, VSMCs 中的 Runx2 蛋白水平显著升高。然而, 当 ECs 在与 VSMCs 共培养前与 GW4869 孵育时, 高磷诱导的 Runx2 表达被显著阻断, 这表明在高磷诱导的 ECs 上清液中, 是外泌体而不是其他因素促进了 VSMC 的体外钙化。

Lom 等[38]发现 ECs 外泌体中的 miRNAs 可以调节 VSMCs 的基因表达和表型转化。Hergenreider 等[39]发现, 在流体剪切应力作用下, ECs 释放富含 miRNA-143/145 的外泌体, 可被 VSMC 吸收, 进而 VSMC 的表型转化被抑制, 从而阻止了 VC 的发生。

还有一些别的方面, 如骨形态发生蛋白(Bone morphogenetic protein, BMP)的来源是被激活的内皮细胞。内皮细胞在振荡剪切应力或活性氧的刺激下, 在血管内压力或炎症细胞因子的影响下产生 BMP-4 或 BMP-2。研究发现, BMP-2 通过激活 Msx-2、Runx/Cbfa 等成骨细胞基因调节 VC 中 VSMC 分化的骨诱导[5]。Kristina 等[40]通过实验发现, 体外高血糖增强了血管 BMP-2 和 BMP-4 的表达, 并与血管钙化相

关；其中，葡萄糖处理的 HAECs 条件培养基增加了 BMP-4 介导的牛主动脉内皮细胞的血管生成，以及 BMP-2 介导的钙化血管细胞的成骨；同时，糖尿病小鼠和大鼠的主动脉 BMP 活性显著增加，如 SMAD1/5/8 磷酸化所示。

综上所述，高磷、高糖、钙磷代谢紊乱、氧化应激、剪切应力、细胞凋亡、衰老等刺激会驱动钙化的发生[4] [41]。而当血管钙化被启动后，内皮细胞和血管平滑肌细胞会通过基质囊泡、外泌体、OPG/RANK/RANKL 信号通路、Notch 信号通路、BMP 信号通路、Wnt 信号通路等调控血管钙化的发生和进展[42] [43] [44] [45] [46]。

5. 巨噬细胞与血管平滑肌细胞的相互作用

巨噬细胞(macrophages, M)参与了血管钙化阶段，在这一过程中不同亚型中发挥不同的作用。M1 可通过 JAK3-STAT3 通路直接释放抑素 M-STAT3，促进 VSMCs 向成骨细胞表型分化[47]。M1 引起的慢性炎症的持续状态也可能损害 VSMCs 向成骨细胞的正常发育，干扰成骨细胞的成熟，最终显示分散和碎片化的钙化[48]。M2 可以分泌抗炎因子，吞噬坏死片段和凋亡细胞，防止钙化成核位点的形成[49]。Ricardo 等[50]通过平滑肌细胞和巨噬细胞共培养可以抑制 VSMC 的成骨转化，避免细胞间直接接触。这种抑制作用与三磷酸腺苷(ATP)分泌增加和 M2 合成焦磷酸(PPi)有关。当在不同的微环境中被不同的刺激激活时，不同亚群的巨噬细胞会发生极性漂移，即不同亚群的巨噬细胞会相互转化。

许多来源于巨噬细胞的细胞因子参与了血管钙化的过程。在血管钙化过程中，巨噬细胞在受到多种刺激，如干扰素 γ (IFN- γ)、脂多糖(LPS)、白介素(IL)-4、氧化修饰低密度脂蛋白(ox-LDL)后会分泌多种细胞因子，如 TNF- α 、抑瘤素 M (OSM)等，促使 VSMCs 的 ALP, BMP2 表达升高，促进血管钙化的发生。除了分泌可溶性的细胞因子，巨噬细胞还可以通过与血管平滑肌的直接接触导致血管的钙化[51]。

因此，巨噬细胞被认为是血管钙化过程中的一把双刃剑。巨噬细胞可以通过释放炎症因子和细胞外囊泡来促进血管钙化，但巨噬细胞也可以通过分泌抗炎因子并向破骨细胞样细胞分化来抑制血管钙化。

6. 周细胞在血管钙化中的作用

周细胞(pericyte, PC)是位于血管壁的一种星形多能细胞，有收缩、支持、调节血管生长等功能。PC 在不同的诱导刺激下可分化为成骨细胞、VSMCs、M 细胞、脂肪细胞、软骨细胞等[52] [53] [54]。PC 在诱导分化为成骨细胞后会分泌 I 型胶原、OPN、MGP 和 OCN 等，形成大量钙化结节。Kirton 等[55]研究表明糖皮质激素地塞米松可通过减少周细胞中血管钙化抑制因子基质 Gla 蛋白(matrix Glaprotein, MGP)、骨桥蛋白和血管钙化相关因子的表达，致 ALP 活性增加，从而诱导 PC 成骨样分化并且加速微血管 PC 的成骨分化。

7. 总结

血管钙化是一个复杂、活跃、可调节的过程，并且是心血管疾病发病率和死亡率的一个强有力的预测因子，但其机制尚未得到充分证实。而研究 VC 的治疗靶点也成为了未来的一个重点。本文系统论述了血管钙化中 VSMCs 的作用以及 ECs、巨噬细胞、周细胞发挥的促 VSMCs 成骨样分化的作用。目前对于 ECs 和 VSMs 参与血管钙化进程的研究主要集中在临床前研究阶段，需要进一步研究二者参与血管钙化的相关机制，为血管钙化防治提供更充分的依据，从而在未来停止甚至逆转血管钙化。

基金项目

济宁市重点研发计划项目(2020JKNS006)。

参考文献

- [1] Sánchez-Duffhues, G., García de Vinuesa, A., van de Pol, V., *et al.* (2019) Inflammation Induces Endothelial-to-Mesenchymal Transition and Promotes Vascular Calcification through Downregulation of BMP2. *The Journal of Pathology*, **247**, 333-346. <https://doi.org/10.1002/path.5193>
- [2] Nicoll, R. and Henein, M.Y. (2014) The Predictive Value of Arterial and Valvular Calcification for Mortality and Cardiovascular Events. *IJC Heart & Vessels*, **3**, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.ijchv.2014.02.001>
- [3] Andrews, J., Psaltis, P.J., Bartolo, B., Nicholls, S.J. and Puri, R. (2018) Coronary Arterial Calcification: A Review of Mechanisms, Promoters and Imaging. *Trends in Cardiovascular Medicine*, **28**, 491-501. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2018.04.007>
- [4] Durham, A.L., Speer, M.Y., Scatena, M., Giachelli, C.M. and Shanahan, C.M. (2018) Role of Smooth Muscle Cells in Vascular Calcification: Implications in Atherosclerosis and Arterial Stiffness. *Cardiovascular Research*, **114**, 590-600. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvy010>
- [5] Panh, L., Lairez, O., Ruidavets, J.B., Galinier, M., Carrié, D. and Ferrières, J. (2017) Coronary Artery Calcification: From Crystal to Plaque Rupture. *Archives of Cardiovascular Diseases*, **110**, 550-561. <https://doi.org/10.1016/j.acvd.2017.04.003>
- [6] Yuan, C., Ni, L., Zhang, C., Hu, X. and Wu, X. (2021) Vascular Calcification: New Insights into Endothelial Cells. *Microvascular Research*, **134**, Article ID: 104105. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2020.104105>
- [7] Hjortnaes, J., New, S.E. and Aikawa, E. (2013) Visualizing Novel Concepts of Cardiovascular Calcification. *Trends in Cardiovascular Medicine*, **23**, 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2012.09.003>
- [8] Rocha-Singh, K.J., Zeller, T. and Jaff, M.R. (2014) Peripheral Arterial Calcification: Prevalence, Mechanism, Detection, and Clinical Implications. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, **83**, E212-E220. <https://doi.org/10.1002/ccd.25387>
- [9] 齐永芬. 关注血管钙化的基础和临床研究[J]. 中国动脉硬化杂志, 2015, 23(5): 433-436.
- [10] Leopold, J.A. (2015) Vascular Calcification: Mechanisms of Vascular Smooth Muscle Cell Calcification. *Trends in Cardiovascular Medicine*, **25**, 267-274. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2014.10.021>
- [11] Sinha, S., Iyer, D. and Granata, A. (2014) Embryonic Origins of Human Vascular Smooth Muscle Cells: Implications for in Vitro Modeling and Clinical Application. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **71**, 2271-2288. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1554-3>
- [12] Golub, E.E. (2011) Biomineralization and Matrix Vesicles in Biology and Pathology. *Seminars in Immunopathology*, **33**, 409-417. <https://doi.org/10.1007/s00281-010-0230-z>
- [13] Byon, C.H. and Chen, Y. (2015) Molecular Mechanisms of Vascular Calcification in Chronic Kidney Disease: The Link between Bone and the Vasculature. *Current Osteoporosis Reports*, **13**, 206-215. <https://doi.org/10.1007/s11914-015-0270-3>
- [14] Lian, J.B., Stein, G.S., Javed, A., *et al.* (2006) Networks and Hubs for the Transcriptional Control of Osteoblastogenesis. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, **7**, 1-16. <https://doi.org/10.1007/s11154-006-9001-5>
- [15] 凌晓欢, 刘剑. 冠状动脉钙化相关研究进展[J]. 现代医药卫生, 2019, 35(6): 859-861.
- [16] Chen, N.X., O'Neill, K.D. and Moe, S.M. (2018) Matrix Vesicles Induce Calcification of Recipient Vascular Smooth Muscle Cells through Multiple Signaling Pathways. *Kidney International*, **93**, 343-354. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.07.019>
- [17] Jaminon, A., Reesink, K., Kroon, A. and Schurgers, L. (2019) The Role of Vascular Smooth Muscle Cells in Arterial Remodeling: Focus on Calcification-Related Processes. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article No. 5694. <https://doi.org/10.3390/ijms20225694>
- [18] Chen, W.R., Zhou, Y.J., Yang, J.Q., Liu, F., Zhao, Y.X. and Sha, Y. (2019) Melatonin Attenuates β -Glycerophosphate-Induced Calcification of Vascular Smooth Muscle Cells via a Wnt1/ β -Catenin Signaling Pathway. *BioMed Research International*, **2019**, Article ID: 3139496. <https://doi.org/10.1155/2019/3139496>
- [19] Cao, J., Chen, L., Zhong, X., *et al.* (2020) miR32-5p Promoted Vascular Smooth Muscle Cell Calcification by Upregulating TNF α in the Microenvironment. *BMC Immunology*, **21**, Article No. 3. <https://doi.org/10.1186/s12865-019-0324-x>
- [20] 朱冬冬. 高糖对内皮-成骨细胞转分化的影响及机制探讨[D]: [博士学位论文]. 南京: 东南大学, 2016.
- [21] Kostina, A., Semenova, D., Kostina, D., *et al.* (2019) Human Aortic Endothelial Cells Have Osteogenic Notch-Dependent Properties in Co-Culture with Aortic Smooth Muscle Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **514**, 462-468. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.04.177>
- [22] Hong, L., Du, X., Li, W., Mao, Y., Sun, L. and Li, X. (2018) EndMT: A Promising and Controversial Field. *European*

- Journal of Cell Biology*, **97**, 493-500. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2018.07.005>
- [23] Souilhoul, C., Harmsen, M.C., Evans, P.C. and Krenning, G. (2018) Endothelial-Mesenchymal Transition in Atherosclerosis. *Cardiovascular Research*, **114**, 565-577. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvx253>
- [24] Yang, G. and Wang, R. (2015) H₂S and Blood Vessels: An Overview. In: Moore, P. and Whiteman, M., Eds., *Chemistry, Biochemistry and Pharmacology of Hydrogen Sulfide. Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol. 230, Springer, Cham, 85-110. https://doi.org/10.1007/978-3-319-18144-8_4
- [25] Zhou, Y.-B., Zhou, H., Li, L., *et al.* (2019) Hydrogen Sulfide Prevents Elastin Loss and Attenuates Calcification Induced by High Glucose in Smooth Muscle Cells through Suppression of Stat3/Cathepsin S Signaling Pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**, Article No. 4202. <https://doi.org/10.3390/ijms20174202>
- [26] Ying, R., Wang, X.-Q., Yang, Y., *et al.* (2016) Hydrogen Sulfide Suppresses Endoplasmic Reticulum Stress-Induced Endothelial-to-Mesenchymal Transition through Src Pathway. *Life Sciences*, **144**, 208-217. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.11.025>
- [27] Liu, F., Fu, P., Fan, W., *et al.* (2012) Involvement of Parathyroid Hormone-Related Protein in Vascular Calcification of Chronic Haemodialysis Patients. *Nephrology*, **17**, 552-560. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1797.2012.01601.x>
- [28] Sandoo, A., van Zanten, J.J., Metsios, G.S., Carroll, D. and Kitas, G.D. (2010) The Endothelium and Its Role in Regulating Vascular Tone. *Open Cardiovascular Medicine Journal*, **4**, 302-312. <https://doi.org/10.2174/1874192401004010302>
- [29] van Niel, G., D'Angelo, G. and Raposo, G. (2018) Shedding Light on the Cell Biology of Extracellular Vesicles. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **19**, 213-228. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.125>
- [30] Buendía, P., de Oca, A.M., Madueño, J.A., *et al.* (2015) Endothelial Microparticles Mediate Inflammation-Induced Vascular Calcification. *The FASEB Journal*, **29**, 173-181. <https://doi.org/10.1096/fj.14-249706>
- [31] Tang, R., Gao, M., Wu, M., Liu, H., Zhang, X. and Liu, B. (2012) High Glucose Mediates Endothelial-to-Chondrocyte Transition in Human Aortic Endothelial Cells. *Cardiovascular Diabetology*, **11**, Article No. 113. <https://doi.org/10.1186/1475-2840-11-113>
- [32] Zhang, H., Liu, J., Qu, D., *et al.* (2018) Serum Exosomes Mediate Delivery of Arginase 1 as a Novel Mechanism for Endothelial Dysfunction in Diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **115**, E6927-E6936. <https://doi.org/10.1073/pnas.1721521115>
- [33] Van den Bergh, G., Opdebeeck, B., D'Haese, P.C. and Verhulst, A. (2019) The Vicious Cycle of Arterial Stiffness and Arterial Media Calcification. *Trends in Molecular Medicine*, **25**, 1133-1146. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2019.08.006>
- [34] Jansen, F., Yang, X., Franklin, B.S., *et al.* (2013) High Glucose Condition Increases NADPH Oxidase Activity in Endothelial Microparticles That Promote Vascular Inflammation. *Cardiovascular Research*, **98**, 94-106. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvt013>
- [35] Kargl, C.K., Nie, Y., Evans, S., *et al.* (2019) Factors Secreted from High Glucose Treated Endothelial Cells Impair Expansion and Differentiation of Human Skeletal Muscle Satellite Cells. *The Journal of Physiology*, **597**, 5109-5124. <https://doi.org/10.1113/JP278165>
- [36] Lin, X., Li, S., Wang, Y.J., *et al.* (2019) Exosomal Notch3 from High Glucose-Stimulated Endothelial Cells Regulates Vascular Smooth Muscle Cells Calcification/Aging. *Life Sciences*, **232**, Article ID: 116582. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116582>
- [37] Lin, X., Shan, S.-K., Xu, F., *et al.* (2022) The Crosstalk between Endothelial Cells and Vascular Smooth Muscle Cells Aggravates High Phosphorus-Induced Arterial Calcification. *Cell Death & Disease*, **13**, Article No. 650. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-05064-5>
- [38] Lombardo, G., Dentelli, P., Togliatto, G., *et al.* (2016) Activated Stat5 Trafficking via Endothelial Cell-Derived Extracellular Vesicles Controls IL-3 Pro-Angiogenic Paracrine Action. *Scientific Reports*, **6**, Article No. 25689. <https://doi.org/10.1038/srep25689>
- [39] Hergenreider, E., Heydt, S., Tréguer, K., *et al.* (2012) Atheroprotective Communication between Endothelial Cells and Smooth Muscle Cells through miRNAs. *Nature Cell Biology*, **14**, 249-256. <https://doi.org/10.1038/ncb2441>
- [40] Boström, K.I., Jumabay, M., Matveyenko, A., Nicholas, S.B. and Yao, Y. (2011) Activation of Vascular Bone Morphogenetic Protein Signaling in Diabetes Mellitus. *Circulation Research*, **108**, 446-457. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.236596>
- [41] Pescatore, L.A., Gamarra, L.F. and Liberman, M. (2019) Multifaceted Mechanisms of Vascular Calcification in Aging. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **39**, 1307-1316. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.118.311576>
- [42] Zhang, C., Zhang, K., Huang, F., *et al.* (2018) Exosomes, the Message Transporters in Vascular Calcification. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **22**, 4024-4033. <https://doi.org/10.1111/jcmm.13692>

- [43] Boström, K.I. (2016) Where Do We Stand on Vascular Calcification. *Vascular Pharmacology*, **84**, 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2016.05.014>
- [44] Wu, M., Rementer, C. and Giachelli, C.M. (2013) Vascular Calcification: An Update on Mechanisms and Challenges in Treatment. *Calcified Tissue International*, **93**, 365-373. <https://doi.org/10.1007/s00223-013-9712-z>
- [45] Chen, B., Zhao, Y., Han, D., et al. (2019) Wnt1 Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Calcification by Promoting ANKH Expression. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, **135**, 10-21. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2019.07.008>
- [46] Dai, X.-Y., Zhao, M.-M., Cai, Y., et al. (2013) Phosphate-Induced Autophagy Counteracts Vascular Calcification by Reducing Matrix Vesicle Release. *Kidney International*, **83**, 1042-1051. <https://doi.org/10.1038/ki.2012.482>
- [47] Zhang, X., Li, J., Qin, J.J., et al. (2017) Oncostatin M Receptor β Deficiency Attenuates Atherogenesis by Inhibiting JAK2/STAT3 Signaling in Macrophages. *Journal of Lipid Research*, **58**, 895-906. <https://doi.org/10.1194/jlr.M074112>
- [48] Kraft, C.T., Agarwal, S., Ranganathan, K., et al. (2016) Trauma-Induced Heterotopic Bone Formation and the Role of the Immune System: A Review. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, **80**, 156-165. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000000883>
- [49] Braga, T.T., Agudelo, J.S. and Camara, N.O. (2015) Macrophages during the Fibrotic Process: M2 as Friend and Foe. *Frontiers in Immunology*, **6**, Article No. 602. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00602>
- [50] Villa-Bellosta, R., Hamczyk, M.R. and Andrés, V. (2016) Alternatively Activated Macrophages Exhibit an Anticalcifying Activity Dependent on Extracellular ATP/Pyrophosphate Metabolism. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, **310**, C788-C799. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00370.2015>
- [51] 周子皓, 李春坚, 王芳. 血管钙化中多种细胞的作用[J]. 心血管康复医学杂志, 2020, 29(5): 611-615.
- [52] Avolio, E., Rodriguez-Arabaolaza, I., Spencer, H.L., et al. (2015) Expansion and Characterization of Neonatal Cardiac Pericytes Provides a Novel Cellular Option for Tissue Engineering in Congenital Heart Disease. *Journal of the American Heart Association*, **4**, e002043. <https://doi.org/10.1161/JAHA.115.002043>
- [53] 严泽振, 沈玲红, 何奔. 血管钙化中成骨样细胞来源及其转化的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25(11): 1169-1173.
- [54] 董谦谦, 颜建云. 血管钙化参与细胞相关研究的新进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(11): 1111-1115.
- [55] Kirton, J.P., Wilkinson, F.L., Canfield, A.E. and Alexander, M.Y. (2006) Dexamethasone Downregulates Calcification-Inhibitor Molecules and Accelerates Osteogenic Differentiation of Vascular Pericytes: Implications for Vascular Calcification. *Circulation Research*, **98**, 1264-1272. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000223056.68892.8b>