



冠状动脉血管发育与再生

张铭珺, 周斌*

中国科学院生物化学与细胞生物学研究所, 中国科学院分子细胞科学卓越创新中心, 细胞生物学国家重点实验室, 上海 200031

* 联系人, E-mail: zhoubin@sibs.ac.cn

收稿日期: 2021-06-12; 接受日期: 2021-08-09; 网络版发表日期: 2021-12-10

国家自然科学基金(批准号: 82088101, 32050087, 31625019)资助

摘要 心血管疾病是当今世界上主要致死性疾病, 而冠状动脉疾病则是导致心血管疾病的首要因素。然而, 目前对冠状动脉疾病仍然缺少有效的治疗手段。深入理解发育以及心脏损伤修复过程中冠状血管的形成机制, 将为发展新的冠状血管疾病治疗手段提供更多思路。近些年来, 随着体内遗传谱系示踪技术的发展, 研究人员对发育以及再生过程中冠状血管形成的细胞来源和分子机制都有了一些新的认识。这些新机制为靶向血管新生以提高心脏修复再生提供了新的可能性。因此, 本文将主要对近些年来冠状血管发育以及再生过程中的相关研究进行回顾, 并对这些研究成果在治疗局部缺血性心脏疾病中可能的应用价值进行探讨与展望。

关键词 冠状动脉, 遗传谱系示踪, 侧枝动脉, 心血管疾病

心脏通过循环系统的血管为全身泵血, 输送身体所需要的氧气、营养物质以及激素等。为了维持其自身的功能, 心脏自身也需要特定的血管为心肌细胞提供所需要的血液养分, 即冠状血管。冠状血管疾病所造成的心肌梗塞以及心衰使其成为世界范围内致死率最高的疾病之一^[1]。在心梗过程中, 由于冠状血管的阻塞, 大量有功能的心肌细胞由于缺乏养分而死亡。成体心脏的再生能力较弱, 损伤的心肌部分最终会被纤维化的“疤痕”所替代来维持结构完整性, 久而久之, 心脏长期不可逆受损会进一步导致心衰甚至死亡^[2]。目前对于冠状血管疾病的治疗手段主要包括血管成型术(angioplasty)以及冠状动脉搭桥术(coronary artery bypass surgery)^[3]。但由于很多病人病情较为严重, 不能承受这些手术治疗, 因此, 寻找冠状血管疾病的治疗新手段刻不容缓, 而这正需要对冠状血管的形成有更精细

的理解。

在早期的胚胎发育过程中, 心肌层可以通过心腔内的血流进行被动扩散来供氧。随着心脏的生长发育以及心室壁逐渐变厚, 通过被动扩散的供氧不能满足逐渐变厚的心肌层的需求, 因此心脏需要建立自己的血管系统为心肌提供养分, 即冠状血管^[4]。近年来, 人们对于冠状血管的发育过程有了更为清晰的认识。多项研究揭示了发育过程中冠状血管内皮细胞(coronary vascular population, CVP)来源的异质性, 并发现了调控冠状血管形成过程的多个信号通路。另外, 在成体心脏的损伤修复过程中, 原本的血管内皮细胞被认为是新生血管的主要细胞来源。此外, 形成侧枝动脉的潜在新机制也被提出。本文将主要对发育以及损伤应答过程中冠状动脉形成的研究成果进行梳理回顾, 并对参与这些进程的一些信号通路进行讨论。

引用格式: 张铭珺, 周斌. 冠状动脉血管发育与再生. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 606–617

Zhang M J, Zhou B. The development and regeneration of coronary artery vessels (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 606–617, doi: [10.1360/SSV-2021-0200](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0200)

1 冠状动脉血管的发育

冠状血管的发育是一个血管网络逐步生成的过程, 首先会形成一个不成熟的血管丛, 随着血管丛与动脉的相通, 开始有血流的进入, 血管丛重塑成包含动脉、静脉与毛细血管的成熟的血管网络. 成熟的冠状血管网络包含多种细胞类型. 在冠状动脉的最内层是由具有极性的单层内皮细胞腔室化排列而成, 紧密环绕着内皮细胞的是平滑肌细胞, 在大冠状动脉的最外侧还有由成纤维细胞等组成的动脉外膜. 探究冠状动脉的细胞起源以及形成机制是近些年来该领域的研究热点, 随着新技术与新实验模型的出现, 大家对于冠状动脉的细胞起源及形成机制都有了新的认识.

1.1 胚胎时期的冠状血管内皮来源

随着小鼠的胚胎不断发育, 心肌壁从E10.5到E11.5(embryonic day)期间开始逐渐变厚, 因此, 心脏的冠状血管丛在E11.5左右开始出现, 随后逐渐迁移扩散至整个心室形成最开始的冠状血管网络. 冠状血管内皮的来源历经了长期讨论, 目前至少有四种不同的细胞来源被提出参与胚胎期心脏的冠状血管发育, 分别是: 前心外膜/心外膜(proepicardium/ epicardium), 静脉窦(sinus venous, SV), 心内膜(endocardium), 以及卵黄膜来源的循环祖细胞.

(1) 前心外膜/心外膜. 前心外膜是一种在胚胎发育过程中短暂存在的心外组织, 其来源于横膈膜的突起样, 在E9.5天时嵌入心脏房室交接处. 前心外膜细胞会迁移到心脏表面并在表面延伸, 最终形成心外膜包裹整个心脏表面^[5]. 基于一系列在鸡胚模型上进行的谱系示踪的研究, (前)心外膜被认为是冠状动脉的来源^[6-10]. 在最早的研究中, Mikawa等人^[6,10]在前心外膜处注射表达lacZ的复制缺陷型慢病毒或者细胞膜红色荧光染料DiI, 随着心脏的发育, 他们在内皮细胞、平滑肌细胞以及成纤维细胞中观察到了他们所标记的细胞, 因此他们提出冠状血管的内皮细胞以及平滑肌细胞来源于前心外膜细胞. 随后, Dettman等人^[7]与Pérez-Pomares等人^[8]分别利用鹌鹑与鸡胚的嵌合体发现, 鹌鹑的前心外膜细胞可以参与形成鸡胚的冠状血管内皮细胞以及平滑肌细胞. 这一系列的实验均指示着前心外膜是冠状血管内皮的来源, 这一理论也在领域内被广泛接受. 然而, 这一系列的实验均存在着一些局限

性. 首先, 在这一系列的实验中, 细胞标记以及切割移植均是通过对空间位置的判断来进行的, 所以存在标记或者移植了一些其他的组织的可能性, 如多标记或移植了静脉窦这一被证实为胚胎心脏发育中冠状血管内皮重要来源的部位^[11]. 其次, 这一系列的研究均未能给出前心外膜/心外膜贡献的冠状血管内皮的比例, 因此, 不能排除冠状血管内皮有其他的细胞来源. 另外, 移植试验虽然能够提供一些关于细胞潜能的信息, 但是这并不能代表生理条件下的真实情况. 因此, 为了解决这些问题, 需要使用细胞类型特异性的细胞标记技术.

近些年来, 利用Cre-loxp系统进行的遗传谱系示踪技术被广泛应用于小鼠模型, 并成为研究组织发育, 稳态以及疾病下细胞来源以及命运决定的有力工具^[12]. 为了研究体内前心外膜/心外膜的细胞命运决定, 一些研究者利用前心外膜/心外膜细胞不同标志物的调控元件来驱动重组酶Cre的表达, 如*Wtl*^[13-17], *Gata5*^[18], *Tbx18*^[19], *Tcf21*^[20]. 然而, 这些遗传工具所标记的前心外膜/心外膜细胞都很少甚至没有贡献到冠状血管内皮细胞中, 反而贡献给绝大多数的成纤维细胞与平滑肌细胞. 随后又有一项研究利用*Sema3D-Cre*与*Scx-Cre*标记了一群不同于*Wtl*⁺与*Tbx18*⁺的前心外膜细胞, 他们发现, 这群细胞在体内与体外均可贡献于冠状血管细胞^[21]. 另外, 近期又有研究者利用*G2-Gata4*^{Cre}转基因小鼠证明前心外膜/心外膜至少贡献了20%的冠状血管内皮^[22]. 因此, 前心外膜细胞是一群异质性的祖细胞, 可能只有其中某一小部分的特定亚群才有贡献到冠状血管内皮的能力. 但是, 由于这些研究中所采用的都是持续性表达的Cre重组酶, 从冠状血管出现到最终分析的时间段内, 一旦有其他类型的细胞曾经表达过该基因, 那么这种类型的细胞也会被标记上, 即如果冠状血管内皮细胞在该时间段内曾经瞬时表达过该基因, 那么最终所得到的结论可能会被误判. 此外, 前心外膜细胞本身可能就贡献到静脉窦中, 而静脉窦又被证明是冠状血管的主要来源^[11]. 因此, 关于前心外膜/心外膜细胞与冠状血管内皮之间的联系还有待进一步探索.

(2) 静脉窦. 静脉窦是一种在心脏发育过程中短暂存在的结构, 它收集静脉血流入心房将其返还回心脏^[23], 随着心脏的成熟, 静脉窦作为窦房结被整合进右心房. 早在一个世纪以前, 人的胚胎冠状血管网络

就被作为循环系统报道过与静脉窦相连^[2]。后来, 又有研究者研究了猪胚的冠状血管发育, 发现其来源于静脉窦^[24]。2010年, Red-Horse团队^[11]结合心脏组织学、克隆分析以及体外组织培养的研究, 正式提出了动脉、静脉以及毛细血管的内皮来源于静脉窦以及心内膜中的祖细胞这一新理论。组织学和分子标记物的分析表明, 静脉窦通过出芽式血管生成(angiogenesis)在心脏表面形成血管, 这些血管进一步垂直向内迁移至潜在的心肌层, 并形成血管网络。利用*VE-Cad-CreER*小鼠进行的克隆分析实验表明, 大部分标记的内皮细胞克隆都在邻近静脉窦附近, 这进一步证明了大部分冠状血管内皮来源于静脉窦^[11]。随后, 利用*Apln-CreER*^[25]与*Apj-CreER*^[26]的两项研究用直接的谱系示踪证据再次证明, 大多数冠状动脉起源于静脉窦来源的心外膜下内皮祖细胞。这两项遗传谱系示踪研究同时也发现, 在室间隔中有较少的冠状血管来源于标记上的内皮祖细胞, 这表明室间隔处的冠状血管有除静脉窦以外的其他细胞来源。

(3) 心内膜。心内膜是心脏最内表面的一种特化的内皮, 包围着心腔。研究者利用*VE-Cad-CreER*工具小鼠进行的克隆分析实验首次提出了心内膜可以作为冠状血管的细胞来源之一^[11]。他们发现, 有一些冠状血管内皮的克隆与心内膜相近, 他们将这种心内膜来源的血管结构称之为“血岛”(blood islands), 通过心脏组织学染色, 他们也发现了心内膜出芽式形成血岛渗入心肌层, 并与冠状血管丛相连。但由于心内膜细胞也会表达相对冠状血管内皮较低水平的*VE-Cad*, 因此有可能会存在*VE-Cad-CreER*工具小鼠标记心内膜的情况。因此, 为了进一步确定心内膜是否可以贡献到冠状血管内皮, 需要进一步利用心内膜特异性的分子标记物来验证。*Nfatc1*被认为在心内膜中高表达^[27], 因此, 有研究者利用*Nfatc1-Cre*去示踪心内膜的细胞命运^[28], 他们发现*Nfatc1-Cre*标记的细胞贡献了绝大多数的冠状血管内皮。他们认为, 心内膜细胞通过*VEGFA-VEGFR2*信号通路诱导血管形成产生血管内皮。然而, 这一结果与之前证明静脉窦是冠状血管主要来源^[11,25,26]的结论相矛盾。事实上, *Nfatc1*被发现也表达在一部分静脉窦细胞中^[27], 因为*Nfatc1-Cre*工具小鼠是持续性表达的, 如果*Nfatc1*曾经在静脉窦或者冠状血管内皮中表达过, *Nfatc1-Cre*工具小鼠的谱系示踪结果可能会被过度放大。为了解决*Nfatc1-Cre*的谱系示

踪的局限性, 后续本团队^[29]通过单细胞基因表达分析鉴定出一种新的心内膜特异性基因*Npr3*。*Npr3*表达在心内膜但不表达在静脉窦或者冠状血管中。因此, 本团队利用*Npr3-CreER*的遗传工具小鼠重新检测了发育过程中心脏心内膜的命运决定, 发现*Npr3-CreER*标记的心内膜几乎很少贡献到胚胎期心室壁的冠状血管内皮, 但却贡献了室间隔处的绝大多数内皮。本团队同时也利用*Nfatc1-Cre*小鼠模型发现, 心内膜以及静脉窦中均出现了*Nfatc1*⁺细胞, 这也解释了为什么利用*Nfatc1-Cre*工具小鼠会出现不同结果。但是, 不同于哺乳动物, 斑马鱼心脏的冠状血管却被认为主要来源于心内膜而不是静脉窦。这表明冠状血管的细胞来源在鱼、鸡以及小鼠中存在一些进化上的差异。

(4) 卵黄膜来源的循环祖细胞。之前的研究表明, 在胚胎发育E7天左右, 内皮细胞来源于一种叫做成血管细胞的间质祖细胞, 这些内皮细胞可以通过增殖, 扩散到无血管组织区域并通过合并形成血管^[30]。之后, 血管通过已存在的血管内皮细胞增殖扩增形成, 而没有新的成血管细胞或者循环中的祖细胞掺入^[31,32]。但在2018年, 有研究团队发现, 来自卵黄膜的红髓系祖细胞(erythromyeloid progenitor, EMP)能够迁移至发育早期的心脏中, 并整合进已经存在的血管中^[33]。在小鼠的胚胎发育中, 会前后出现两波EMP。在E7.5~E8.25出现来源于卵黄膜血岛的第一波EMP。第一波早期EMP可以分化为红细胞、巨核细胞以及卵黄膜巨噬细胞, 这些巨噬细胞可以定殖到胚胎组织中形成组织驻留型巨噬细胞, 如小胶质细胞等。从E8.25天开始会出现来自卵黄膜生血内皮的第二波晚期EMP。晚期EMP可以分化成卵黄膜的巨噬细胞, 从E9天胚胎的循环系统建立开始, 它们也可以迁移至胎肝(fetal liver)分化成红细胞, 大多数髓系细胞也可以定殖到多种组织中形成组织驻留型巨噬细胞^[34~37]。有研究团队利用*Csf1r-iCre*的遗传工具小鼠对*Csf1r*的细胞谱系(包括EMP)进行标记时, 标记的细胞贡献了胚胎和成体期大约10%~20%的冠状血管内皮^[33]。但这与之前认为胚胎血管只来源于已存在血管的增殖的理论相违背。随后, 又有研究者利用相同的*Csf1r-iCre*基因敲入型遗传工具小鼠重新检测EMP与内皮细胞之间的联系, 他们发现, 标记的*Csf1r*细胞谱系并不能贡献到包括心脏在内的多个器官的内皮细胞中^[38]。他们认为, 他们的结果与先前的研究结果不一致的原因是, 先前的研究采用

的*Csflr-iCre*遗传工具小鼠是转基因小鼠, 由于插入位点的不确定性, 有时候会产生脱靶效应, 因此有时候转基因小鼠并不能真实地反应内源性基因的表达. 因此, 关于循环中的祖细胞是否真的贡献到内皮细胞中还需要进行更深一步的探究.

总的来说, 在胚胎发育的过程中, 静脉窦主要贡献到小鼠心脏心室壁处的冠状血管, 而心内膜主要贡献到室间隔处的冠状血管(图1A). 对于前心内膜/心内膜细胞以及卵黄膜来源的红髓系祖细胞是否贡献到冠状血管中还有待进一步的探究.

1.2 新生后的冠状血管形成

小鼠胚胎的心室壁由两层心肌组成: 外侧的致密层与内侧的心肌小梁层^[39]. 出生后, 心肌小梁层会进行压实, 新的冠状血管会出现在新形成的致密心肌层为该区域提供氧气与养分. 在之前的认知中, 研究者们认为新生成的冠状血管来源于胚胎期冠状血管的扩展^[40-42]. 直到近些年, 本团队^[43]发现, 内层心肌的冠状血管是新生期小鼠从头形成的, 而不是通过已经存在的冠状血管的扩展形成的. 由于*Apln*只在冠状血管的内皮细胞中表达, 而不在心内膜表达, 因此本团队在*Apln-CreER*; *Rosa26^{RFP}*小鼠E10.5时, 即冠状血管形成早期进行它莫昔芬(tamoxifen)处理, E15.5天检测时几乎标记了所有心室壁的冠状血管内皮, 但不标记心内

膜. 如果按照先前的理论, 成体的冠状血管形成来源于胚胎期冠状血管的扩展, 那么应该可以看到在出生后小鼠心脏的几乎所有冠状血管也都表达RFP. 然而, 本团队发现, 在出生后小鼠的心脏中, 只有外层心肌壁的冠状血管是RFP阳性的, 而内侧心肌壁以及室间隔处的冠状血管却是RFP阴性的. 这表明出生后的冠状血管有一部分是从头合成的, 而不是胚胎期的冠状血管生成扩张而成的^[43]. 本团队^[44]另一项使用谱系示踪小鼠*Fabp4-CreER*标记胚胎期冠状血管而不标记心内膜的研究, 也证实了该结论. 由于新生成的冠状血管靠近于心内膜, 本团队猜测这些新生血管可能来源于心内膜. 本团队^[43]使用*Nfatc1-CreERT2*小鼠, 在E8.5天给予它莫昔芬处理, 出生后进行分析, 以此来示踪心内膜在出生后小鼠心脏中的谱系命运, 结果表明, 心内膜最终会形成新生期小鼠内侧心肌层中的冠状血管内皮. 这一研究表明, 出生后小鼠的心脏中存在两群冠状血管内皮细胞, 第一群冠状血管内皮细胞(1st CVP)被E10.5它莫昔芬处理的*Apln-CreER*标记. 第二群冠状血管内皮细胞(2nd CVP)则来源于*Nfatc1-CreERT2*标记的心内膜(图1B). 这可能是由于在心肌小梁压实这一过程中, 心内膜被嵌入心肌壁所诱导形成的^[45]. 在这一过程中, 缺氧以及VEGFA的升高可能诱导这些嵌入的心内膜变为血管内皮细胞^[43]. 因此, 探索调控心肌小梁压实以及心内膜转变为冠状血管内皮的分子机制

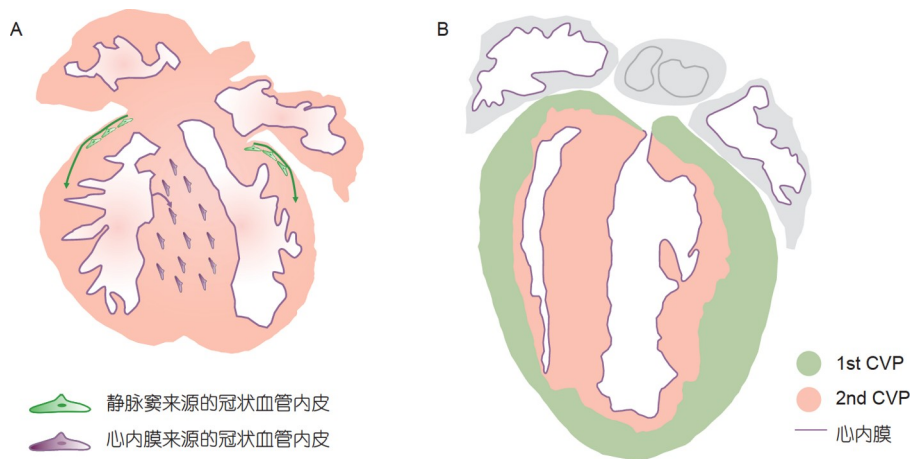


图 1 心脏发育过程中冠状血管内皮的来源. A: 胚胎期小鼠心室壁处的冠状血管内皮主要来源于静脉窦, 而室间隔处的冠状血管内皮主要来源于心内膜; B: 出生后小鼠的冠状血管由两群冠状血管内皮细胞组成, 第一群(1st CVP)位于心室壁外侧, 第二群(2nd CVP)位于心室壁内侧以及室间隔

Figure 1 The cellular origin of coronary endothelial cells (CoECs) during heart development. A: Sinus venos contributed to CoECs of the embryonic ventricular free wall, and endocardium contributed to CoECs of the embryonic interventricular septum (VS); B: there are two distinct CVP in the postnatal mice heart. 1st CVP located at the outer myocardium. 2nd CVP located at inner myocardium and VS

将成为未来研究的重要方向, 这也将对冠状血管疾病的再生治疗有重要启示作用。

1.3 冠状血管形成的分子机制

由于冠状血管内皮细胞有多种不同的来源, 因此探究这些不同来源的血管内皮细胞的分化以及形态发生过程的分子机制也极其重要。目前已有大量研究表明, 心外膜和心肌层是静脉窦来源的冠状血管丛形成的主要驱动者^[46,47]。研究证明, 静脉窦中Apj(一种刺激血管生长以及血管生成的G蛋白偶联受体^[26])阳性的细胞被心外膜来源的elabela^[48]以及VEGFC^[26]所刺激活化, 而Apj阴性的静脉窦细胞则被心肌层来源的血管生成素1(angiotensin 1)调控其迁移^[49]。在VEGFC敲除小鼠中, 虽然静脉窦来源的血管生长以及分枝有异常, 但是心内膜来源的血管发育却相对正常^[26]。类似地, VEGFA被报道分别通过VEGFR1与VEGFR2抑制以及促进心内膜的冠状血管生成^[28,50]。但在VEGFA缺失的小鼠中, 静脉窦来源的冠状血管丛发育较正常^[26]。Red-Horse团队^[51]最近的研究表明, 染色质重塑复合体Ino80对于静脉窦以及心内膜的冠状血管形成都是必要的。这些结果表明, 静脉窦与心内膜会对不同的刺激产生响应去形成冠状血管, 也会被相同的信号调节机制调节冠状血管的形成。因此, 未来对这些不同来源的冠状血管祖细胞的相同以及不同的分子调节机制, 以及各种调控因子的细胞来源还需要进一步探究。

在最早的冠状血管束建立后, 主动脉干附近的冠状血管向其靠近生长并与主动脉融合^[52]。冠状动脉干的生长需要CXCL12^[53]与VEGFC^[54]。同时, 静脉受信号素3d(Sema3d)调控, 与动脉窦连通形成完整的冠状血管循环系统, 从而起始血流循环^[55]。随着血流的进入, 冠状血管会进行重塑从而形成包含动脉、静脉以及毛细血管的异质性血管网络。有趣的是, Red-Horse团队近期的研究表明, 在血流出现之前, 冠状血管束中已经经历了早期的命运转换, 并形成了一群动脉前体细胞(pre-artery endothelial cell), 这些细胞随着血流进入合并形成冠状动脉^[56,57]。转录因子DACH1对于动脉前体细胞是至关重要的, 它通过CXCL12-CXCR4信号促进内皮细胞逆着血流方向迁移^[57]。在内皮细胞中过表达DACH1也会促进冠状动脉的延伸以及分枝, 同时也会提高成体心梗小鼠的生存率以及心脏功能^[58]。近期, 有研究者利用嵌合式遗传谱系示踪技术表明, 动

脉的形成发育并不直接受Notch信号诱导, 反而是依赖于动脉活化以及完全分化之前, 内皮细胞增殖以及代谢被及时抑制^[59]。关于更多调节冠状动脉发育的信号通路已经在其他更全面的综述中被讨论^[2,60,61]。

1.4 冠状动脉的平滑肌细胞

除了冠状血管内皮细胞外, 平滑肌细胞也是冠状动脉中另一种重要的细胞类型, 对生理以及病理状态下的冠状动脉极其重要^[62]。在小鼠心脏中, 靠近主动脉的冠状动脉有多层平滑肌细胞, 而远端则只有一层^[63,64]。关于这些平滑肌细胞的起源探究, 最早使用鹤鹑-鸡嵌合体以及克隆分析发现, 前心外膜细胞会贡献到平滑肌细胞中^[6,10]。随后, 一系列使用心外膜特异性驱动表达Cre重组酶的遗传谱系示踪研究均证明, 心外膜是冠状血管平滑肌细胞的主要来源^[13,17-21]。后续有研究者使用*Wnt1-Cre*的小鼠标记神经嵴细胞进行遗传谱系示踪研究, 结果表明, 标记的细胞会贡献到靠近主动脉的近端冠状动脉的平滑肌^[65]。后续有研究者证明, 神经嵴细胞分化为平滑肌细胞需要Edn1(endothelin 1)/Ednra信号通路。当缺失Edn1/Ednra或者神经嵴细胞时, 室间隔处的冠状动脉会异常扩大, 与主动脉的连接也会出现异常^[64]。这些结果均表明, 神经嵴细胞对于冠状血管的建立有重要的作用。近些年来, 也有研究表明, 心内膜来源的房室垫(cardiac cushion)间质细胞可以分化为冠状血管的平滑肌细胞以及周细胞(pericyte)。心内膜经过内皮-间质转换(endothelial-mesenchymal transformation, EMT)在房室垫处形成间质细胞并迁移至相应位置。这些间质细胞受Wnt-Fzd4- β -catenin信号调控, 主要迁移至室间隔形成平滑肌细胞以及其他类型血管壁细胞^[66]。因此, 冠状动脉平滑肌细胞的来源也是多样性的。目前已有证据表明, 不同来源的平滑肌细胞在突变的背景下可以相互补偿^[67]。例如, 当在小鼠心外膜特异性敲除*Pdgfr β* 时, 心外膜来源的血管平滑肌细胞会缺失, 但是神经嵴来源的血管平滑肌细胞会扩展来弥补这种缺失^[68]。同样地, 当在心外膜中特异性敲除Notch信号通路的效应物*Rbpj*时, 心外膜不能贡献到血管平滑肌细胞中, 并且会有未被靶向的即心外膜以外来源的血管平滑肌细胞去补充。然而, 在个体生命的后期, 这些补充来的血管平滑肌细胞会更倾向发生泄漏, 并且诱发疾病^[69]。这表明血管平滑肌细胞的来源异质性和功能性以及生理意义上都

有重要作用。

2 冠状动脉血管的再生

在心脏损伤(如心梗)后,新的冠状血管的形成对于心脏的再生尤为重要。但心梗后,内源性冠状血管的新生是远远不够的。迄今为止,临床上还未有成功促进新血管生成的方法^[67]。因此,为了发展促血管新生(neovascularization)的治疗策略,目前有大量对心脏损伤诱导的内源性冠状血管新生的研究。目前,该领域对于新血管生成的细胞来源和分子机制以及侧枝动脉的形成机制都有了一些新的认识。

2.1 血管新生

目前的主流观点认为,在成体受损伤的心脏中,冠状血管的新生主要是通过已经存在的血管延伸生长形成的(图2A)。有研究提出,一些其他类型的细胞也可以参与血管新生,如成纤维细胞、血管祖细胞和心内膜。然而,关于这些类型的细胞是否参与血管新生还存在一些争议。

(1) 心脏成纤维细胞。心脏成纤维细胞在维持心脏正常功能中扮演着重要的角色^[70]。心脏受损伤刺激后发生纤维化(fibrosis),心脏成纤维细胞增殖活化,并产生胞外基质以维持心脏的完整性,防止心脏破裂^[71]。然而在损伤后的修复过程中,过度的纤维化则会诱导心脏的病理性重塑最终导致心衰^[72,73]。有研究表明,在心脏发育过程中,内皮细胞可以到成纤维细胞中去^[66,73]。在心脏超负荷的小鼠中,内皮细胞也被报道过能通过内皮-间质转换贡献到心脏成纤维细胞中^[74],虽然这一结论与另一研究的结论有所不同^[73]。近些年,又有研究表示在成体心脏损伤后,心脏成纤维细胞可以贡献到冠状血管内皮细胞中^[75]。他们利用转基因小鼠*Col1a2-CreERT2*进行心脏成纤维细胞的遗传谱系示踪研究。在心脏缺血再灌注损伤(ischemia-reperfusion)后,损伤区30%~40% *Col1a2-CreERT2*标记的心脏成纤维细胞转变为冠状血管内皮细胞。然而,这一发现被本团队后续的研究所反驳。本团队使用相同的基因敲入小鼠*Col1a2-CreERT2*以及其他多种标记成纤维细胞以及间质细胞的小鼠品系(*Pdhgra-CreER*, *Tcf21-MerCreMer*, *Sox9-CreER*, *Postn-MerCreMer*),在心脏缺血再灌注损伤后去示踪这些标记的成

纤维细胞以及间质细胞的命运。研究发现,损伤后,标记的心脏成纤维细胞只有<0.05%会贡献给冠状血管的内皮细胞^[76]。为了进一步探究心脏损伤后是否会有非内皮细胞贡献给冠状血管内皮,本团队进行了一系列的细胞示踪稀释实验,利用*Cdh5-CreER*, *Apln-CreER*以及*Fabp4-CreER*去标记已经存在的冠状血管内皮细胞。假设内皮细胞中标记的细胞所占的比例显著下降,那么表明心脏损伤后存在非内皮细胞贡献到新生血管内皮中,反之则表明新生血管都来源于已经存在的血管内皮。这三个品系的细胞示踪稀释实验结果都一致表明,几乎所有的新生血管内皮都来源于已经存在的血管内皮,而其他的细胞类型则没有明显的贡献^[76]。

(2) 血管祖细胞。成体骨髓来源的血管祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)被报道能够在局部缺血的组织处分化成内皮细胞并掺入新生血管中^[77]。此后,有许多研究也表示,骨髓来源的细胞可以响应损伤分化成内皮细胞,迅速形成新生血管^[78-80]。EPC的发现为损伤后促进血管新生提供了新的可行的治疗策略。然而,关于EPC是直接参与血管新生还是通过分泌促生长因子来促进血管新生还存在争议^[81,82]。后续有研究表明,在血管中可能存在其他冠状血管内皮祖细胞^[83-86]。但这些细胞只能在体外进行扩增,它们在体内对血管新生的作用还没有被很好地探究^[87]。由于周细胞(pericyte)在血管壁中大量存在,并在维持血管的正常功能中发挥着重要的作用。因此,也有研究表明,周细胞也是多能祖细胞且能在损伤情况下促进血管新生^[88-90],然而这种促进作用也被认为主要是通过旁分泌来实现的^[89]。

(3) 心内膜。心内膜是胚胎以及新生期心脏冠状血管的主要来源之一^[28,43]。近些年,有研究表明,心内膜是心梗后冠状血管的主要来源^[91]。他们使用*CX40-GFP*的小鼠去探究心脏损伤后冠状动脉的血管重塑。该小鼠只在冠状动脉的血管内皮中表达GFP绿色荧光蛋白。心梗后,在损伤部位的心内膜处出现了新的冠状动脉团,他们称之为“心内膜之花”(endocardial flowers)。这种结构的细胞有动脉的特性($Cx40^+$, $VEGFR2^+$, $endoglin^-$),而周围的心内膜细胞则是 $Cx40^-$, $VEGFR2^-$, $endoglin^+$ 。随后,他们使用*CX40-CreER-RFP*; *R26-YFP*小鼠进行了示踪稀释实验,结果表明,这种“心内膜之花”结构是 $Cx40^-$ 的心内膜细胞以及原有

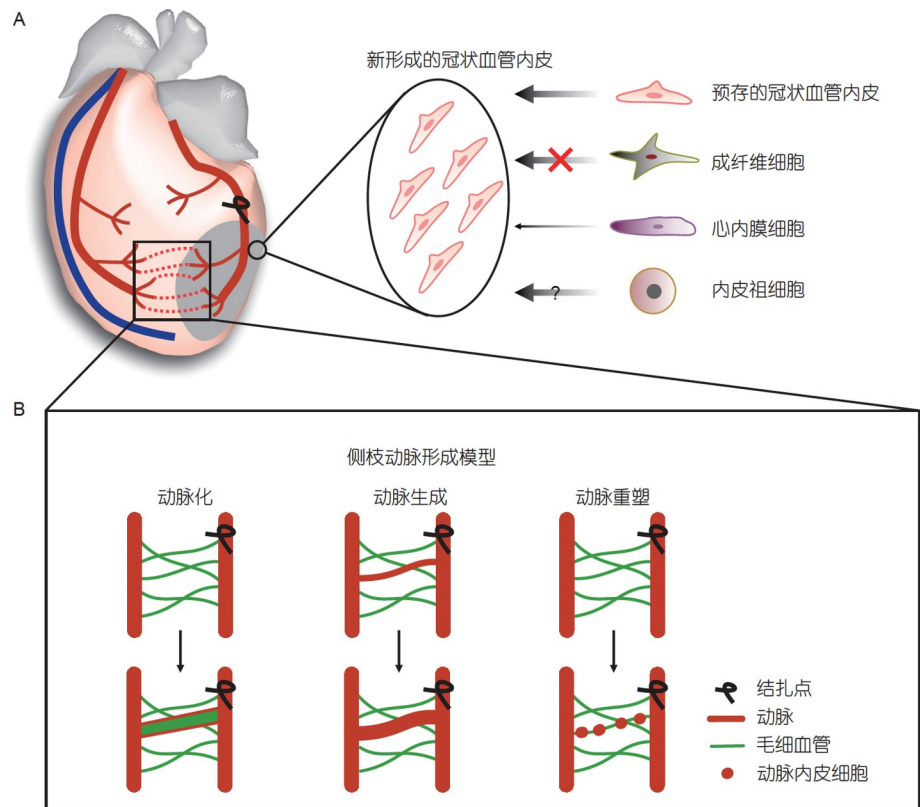


图 2 心脏损伤后冠状血管的再生。A: 心脏缺血性损伤后, 新的冠状血管内皮主要来源于原本已经存在的冠状血管内皮; B: 三种侧枝动脉形成机制的模型

Figure 2 The regeneration of coronary vessel after heart injury. A: New coronary mainly derived from preexisting coronary endothelial cells (CoECs); B: the three models of collateral artery formation

的冠状动脉内皮细胞共同形成的^[91]。随后, 又有另一项研究表明在心梗后, 心内膜细胞可以贡献给冠状血管内皮^[92]。他们使用*Pdgfrb-CreERT2*的小鼠进行示踪稀释实验, 该小鼠可以高效标记冠状血管内皮细胞。在心梗模型中, 他们发现损伤区的冠状血管内皮大约有26%未被标记, 这表明新生血管内皮有除原有的冠状血管以外的来源。同时他们发现, 在心内膜表面会出现过度心肌小梁化的情况, 而且在心内膜下, 中等形状的血管进一步增加。他们认为这种心内膜形态上的变化是心内膜转变为冠状血管内皮的证据。但是以上这些研究都缺少直接证据。为了直接探究心脏损伤后心内膜转变为冠状血管内皮的潜能, 本团队使用*Npr3-CreER*的小鼠直接标记心内膜细胞并示踪损伤后其命运转变^[93]。使用4种心脏损伤模型(心梗模型、心肌缺血再灌注模型、低温损伤以及主动脉缩窄模型), 但结果表明, 标记的心内膜细胞几乎很少贡献到冠状血管中。但是, 当将心内膜细胞移植到心肌层或者

利用手术将心内膜嵌入心肌层时, 心内膜可以贡献给冠状血管内皮^[93]。这表示在成体心脏中, 心内膜嵌入到心肌层对于其向冠状血管的转换是必要的。近期有研究表示, 虽然损伤后心内膜几乎很少贡献到冠状血管内皮, 但当在心脏中过表达VEGF-B时, 会显著增加心内膜细胞贡献给冠状血管的比例并促进心脏功能的恢复^[94]。这为心梗后促进血管新生的治疗提供了新的可能性。

2.2 侧枝动脉的形成

在一些器官中会存在两根动脉直接吻合连接的现象, 连接两根主动脉间的桥梁称之为侧枝动脉。小鼠正常心脏中几乎很少有侧枝动脉的存在, 但是在局部缺血的心脏中, 会诱导冠状血管重塑为侧枝动脉^[95,96]。侧枝动脉能够交换血流, 为堵塞血管的下游提供血液供给并减少心脏损伤面积^[97-99]。目前有两种侧枝动脉形成的模型^[100,101]。第一种是“动脉化”(arterialization),

即毛细血管转变为动脉. 第二种为“动脉生成”(arteriogenesis), 即先前存在的小侧枝动脉扩大形成大的侧枝动脉输送血流(图2B). 由于侧枝动脉缺少相应的分子标记物, 以上模型都是通过血管成像技术提出的, 但由于血管成像术分辨率的限制, 无法精准地描绘出侧枝动脉形成的过程. 随着遗传谱系示踪技术的发展, 本团队^[102]利用*Apln-CreER*的小鼠, 新生期给予它莫昔芬诱导只标记毛细血管内皮而不标记动脉内皮, 对该小鼠进行心梗手术后发现, 被标记的毛细血管内皮不会贡献到冠状动脉内皮, 即侧枝动脉并不是通过“动脉化”形成的. 然而, 有其他研究表明, 在小鼠心脏中没有预先存在的侧枝动脉进行“动脉生成”, 在动脉阻塞模型后, 侧枝动脉是从头形成的, 并且巨噬细胞会促进侧枝动脉的形成^[103]. 近期, 又有一种新的侧枝动脉形成机制被提出, 称之为动脉重塑(artery reassembly)^[104]. 他们在新生小鼠出生后第二天(postnatal day2, P2)进行心梗手术, 对P6心脏进行全组织成像, 发现在原本没有动脉的地方(“分水岭”)出现了一些侧枝动脉连接两根大动脉, 这也表示侧枝动脉不是通过“动脉生成”形成的. 随后他们分别使用*APJ-CreER*和*Cx40-CreER*小鼠, 在P0给予它莫昔芬处理去分别标记毛细血管内皮与动脉内皮. 同样在P2进行心梗手术, P6收取心脏进行分析, 结果表明侧枝动脉很少来源于*APJ-CreER*标记的毛细血管内皮, 而主要来源于*Cx40-CreER*标记的动脉内皮. 通过在不同时间点进行收样分析, 发现动脉内皮会从动脉血管中迁移出来, 并沿着毛细血管内皮层移动到“分水岭”区域, 随后进行大量扩增并合并形成侧枝动脉. 这一过程受CXCL12-CXCR4信号所调控. 这种内源性的侧枝动脉形成只限定在小鼠新生期的心脏中, 在P7天后就丢失了该能力. 但当在成体小鼠心脏“分水岭”区域外源性注射CXCL12则可成功诱

导侧枝动脉的形成. 但是由于目前对小鼠心脏进行长时程成像还未实现, 因此对于该侧枝动脉形成的模型还没有直接的证据. 另外, 由于Cx40阳性的动脉前体细胞的存在^[56], 这些细胞在损伤后也有可能参与侧枝动脉的形成. 因此, 侧枝动脉形成的更精细的机制还需要进一步探究. 虽然这些侧枝动脉形成机制在人体中是否相同还未知, 但这也为未来心梗治疗提供了新的临床可能性.

3 总结与展望

综上所述, 目前认为在胚胎期心脏发育过程中心室壁处的冠状血管内皮主要来源于静脉窦, 即第一群冠状血管内皮, 而室间隔处的冠状血管内皮主要来源于心内膜. 而新生期心脏内侧心室壁的冠状血管内皮主要来源于心内膜, 所有心内膜来源的冠状血管内皮称之为第二群冠状血管内皮. 在心脏缺血性损伤后, 新生的冠状血管内皮细胞主要来源于之前已经存在的血管内皮细胞, 但当在心脏中过表达VEGF-B时可以诱导心内膜转变为冠状血管内皮, 促进血管新生. 侧枝动脉主要是通过原本已经存在的动脉血管内皮细胞顺着毛细血管迁移增殖最后合并形成的.

尽管在哺乳动物中促进心肌细胞再生一直是一个极大的挑战, 但新血管的生成对于心脏整体的再生也是至关重要的. 虽然目前促进血管新生的有效治疗方法还没有完全实现, 但对冠状血管发育以及再生过程的细胞来源以及分子机制的认识, 可以为促进新生血管的治疗提供一些可能性, 如促进心内膜向新生冠状血管转化, 促进侧枝动脉的形成等. 因此, 未来更多关于直接调节新生血管生成的分子机制还需要科学家们进一步探索.

参考文献

- Virani S S, Alonso A, Aparicio H J, et al. Heart disease and stroke statistics—2021 update. *Circulation*, 2021, 143: e254
- Tian X, Pu W T, Zhou B. Cellular origin and developmental program of coronary angiogenesis. *Circ Res*, 2015, 116: 515–530
- Potluri R, Baig M, Mavi J S, et al. The role of angioplasty in patients with acute coronary syndrome and previous coronary artery bypass grafting. *Int J Cardiol*, 2014, 176: 760–763
- He L, Lui K O, Zhou B. The formation of coronary vessels in cardiac development and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2020, 12: a037168
- Männer J, Pérez-Pomares J M, Macías D, et al. The origin, formation and developmental significance of the epicardium: a review. *Cells Tissues Organs*, 2001, 169: 89–103

- 6 Mikawa T, Gourdie R G. Pericardial mesoderm generates a population of coronary smooth muscle cells migrating into the heart along with ingrowth of the epicardial organ. [Dev Biol](#), 1996, 174: 221–232
- 7 Dettman R W, Denetclaw Jr. W, Ordahl C P, et al. Common epicardial origin of coronary vascular smooth muscle, perivascular fibroblasts, and intermyocardial fibroblasts in the avian heart. [Dev Biol](#), 1998, 193: 169–181
- 8 Pérez-Pomares J M, Phelps A, Sedmerova M, et al. Experimental studies on the spatiotemporal expression of WT1 and RALDH2 in the embryonic avian heart: a model for the regulation of myocardial and valvuloseptal development by epicardially derived cells (EPDCs). [Dev Biol](#), 2002, 247: 307–326
- 9 Guadix J A, Carmona R, Muñoz-Chápuli R, et al. *In vivo* and *in vitro* analysis of the vasculogenic potential of avian proepicardial and epicardial cells. [Dev Dyn](#), 2006, 235: 1014–1026
- 10 Mikawa T, Fischman D A. Retroviral analysis of cardiac morphogenesis: discontinuous formation of coronary vessels. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 1992, 89: 9504–9508
- 11 Red-Horse K, Ueno H, Weissman I L, et al. Coronary arteries form by developmental reprogramming of venous cells. [Nature](#), 2010, 464: 549–553
- 12 Kretzschmar K, Watt F M. Lineage tracing. [Cell](#), 2012, 148: 33–45
- 13 Zhou B, Ma Q, Rajagopal S, et al. Epicardial progenitors contribute to the cardiomyocyte lineage in the developing heart. [Nature](#), 2008, 454: 109–113
- 14 Norden J, Grieskamp T, Lausch E, et al. Wt1 and retinoic acid signaling in the subcoelomic mesenchyme control the development of the pleuropericardial membranes and the sinus horns. [Circ Res](#), 2010, 106: 1212–1220
- 15 del Monte G, Casanova J C, Guadix J A, et al. Differential notch signaling in the epicardium is required for cardiac inflow development and coronary vessel morphogenesis. [Circ Res](#), 2011, 108: 824–836
- 16 Wessels A, van den Hoff M J B, Adamo R F, et al. Epicardially derived fibroblasts preferentially contribute to the parietal leaflets of the atrioventricular valves in the murine heart. [Dev Biol](#), 2012, 366: 111–124
- 17 Kolander K D, Holtz M L, Cossette S M, et al. Epicardial GATA factors regulate early coronary vascular plexus formation. [Dev Biol](#), 2014, 386: 204–215
- 18 Merki E, Zamora M, Raya A, et al. Epicardial retinoid X receptor is required for myocardial growth and coronary artery formation. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2005, 102: 18455–18460
- 19 Cai C L, Martin J C, Sun Y, et al. A myocardial lineage derives from Tbx18 epicardial cells. [Nature](#), 2008, 454: 104–108
- 20 Acharya A, Baek S T, Banfi S, et al. Efficient inducible Cre-mediated recombination in Tcf21 cell lineages in the heart and kidney. [genesis](#), 2011, 49: 870–877
- 21 Katz T C, Singh M K, Degenhardt K, et al. Distinct compartments of the proepicardial organ give rise to coronary vascular endothelial cells. [Dev Cell](#), 2012, 22: 639–650
- 22 Cano E, Carmona R, Ruiz-Villalba A, et al. Extracardiac septum transversum/proepicardial endothelial cells pattern embryonic coronary arterio-venous connections. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2016, 113: 656–661
- 23 Vrancken Peeters P M, Gittenberger-de Groot A C, Mentink M M, et al. Differences in development of coronary arteries and veins. [Cardiovasc Res](#), 1997, 36: 101–110
- 24 Bennett H S. The development of the blood supply to the heart in the embryo pig. [Am J Anat](#), 1936, 60: 27–53
- 25 Tian X, Hu T, Zhang H, et al. Subepicardial endothelial cells invade the embryonic ventricle wall to form coronary arteries. [Cell Res](#), 2013, 23: 1075–1090
- 26 Chen H I, Sharma B, Akerberg B N, et al. The sinus venosus contributes to coronary vasculature through VEGFC-stimulated angiogenesis. [Development](#), 2014, 141: 4500–4512
- 27 Zhou B, Wu B, Tompkins K L, et al. Characterization of Nfatc1 regulation identifies an enhancer required for gene expression that is specific to pro-valve endocardial cells in the developing heart. [Development](#), 2005, 132: 1137–1146
- 28 Wu B, Zhang Z, Lui W, et al. Endocardial cells form the coronary arteries by angiogenesis through myocardial-endocardial VEGF signaling. [Cell](#), 2012, 151: 1083–1096
- 29 Zhang H, Pu W, Li G, et al. Endocardium minimally contributes to coronary endothelium in the embryonic ventricular free walls. [Circ Res](#), 2016, 118: 1880–1893

- 30 Coultas L, Chawengsaksophak K, Rossant J. Endothelial cells and VEGF in vascular development. *Nature*, 2005, 438: 937–945
- 31 Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell*, 2011, 146: 873–887
- 32 Yancopoulos G D, Davis S, Gale N W, et al. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature*, 2000, 407: 242–248
- 33 Plein A, Fantin A, Denti L, et al. Erythro-myeloid progenitors contribute endothelial cells to blood vessels. *Nature*, 2018, 562: 223–228
- 34 Hoeffel G, Ginhoux F. Fetal monocytes and the origins of tissue-resident macrophages. *Cell Immunol*, 2018, 330: 5–15
- 35 Gomez Perdiguero E, Klapproth K, Schulz C, et al. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors. *Nature*, 2015, 518: 547–551
- 36 Schulz C, Gomez Perdiguero E, Chorro L, et al. A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells. *Science*, 2012, 336: 86–90
- 37 Ginhoux F, Williams M. Tissue-resident macrophage ontogeny and homeostasis. *Immunity*, 2016, 44: 439–449
- 38 Feng T, Gao Z, Kou S, et al. No evidence for erythro-myeloid progenitor-derived vascular endothelial cells in multiple organs. *Circ Res*, 2020, 127: 1221–1232
- 39 Sedmera D, Pexieder T, Vuillemin M, et al. Developmental patterning of the myocardium. *Anat Rec*, 2000, 258: 319–337
- 40 Bermanke D H, Velkey J M. Development of the coronary blood supply: changing concepts and current ideas. *Anat Rec*, 2002, 269: 198–208
- 41 Muñoz-Chápuli R, González-Iriarte M, Carmona R, et al. Cellular precursors of the coronary arteries. *Texas Heart Inst J*, 2002, 29: 243–249
- 42 Tomanek R J. Formation of the coronary vasculature during development. *Angiogenesis*, 2005, 8: 273–284
- 43 Tian X, Hu T, Zhang H, et al. *De novo* formation of a distinct coronary vascular population in neonatal heart. *Science*, 2014, 345: 90–94
- 44 He L, Tian X, Zhang H, et al. Fabp4-Cre^{ER} lineage tracing reveals two distinctive coronary vascular populations. *J Cell Mol Med*, 2014, 18: 2152–2156
- 45 Tian X, Li Y, He L, et al. Identification of a hybrid myocardial zone in the mammalian heart after birth. *Nat Commun*, 2017, 8: 87
- 46 Olivey H E, Svensson E C. Epicardial-myocardial signaling directing coronary vasculogenesis. *Circ Res*, 2010, 106: 818–832
- 47 Pérez-Pomares J M, de la Pompa J L. Signaling during epicardium and coronary vessel development. *Circ Res*, 2011, 109: 1429–1442
- 48 Sharma B, Ho L, Ford G H, et al. Alternative progenitor cells compensate to rebuild the coronary vasculature in Elabela- and Apj-deficient hearts. *Dev Cell*, 2017, 42: 655–666.e3
- 49 Arita Y, Nakaoka Y, Matsunaga T, et al. Myocardium-derived angiopoietin-1 is essential for coronary vein formation in the developing heart. *Nat Commun*, 2014, 5: 4552
- 50 Zhang Z, Zhou B. Accelerated coronary angiogenesis by Vegfr1-knockout endocardial cells. *PLoS ONE*, 2013, 8: e70570
- 51 Rhee S, Chung J I, King D A, et al. Endothelial deletion of Ino80 disrupts coronary angiogenesis and causes congenital heart disease. *Nat Commun*, 2018, 9: 368
- 52 Bogers A J J C, Gittenberger-de Groot A C, Poelmann R E, et al. Development of the origin of the coronary arteries, a matter of ingrowth or outgrowth? *Anat Embryol*, 1989, 180: 437–441
- 53 Ivins S, Chappell J, Vernay B, et al. The CXCL12/CXCR4 axis plays a critical role in coronary artery development. *Dev Cell*, 2015, 33: 455–468
- 54 Chen H I, Poduri A, Numi H, et al. VEGF-C and aortic cardiomyocytes guide coronary artery stem development. *J Clin Invest*, 2014, 124: 4899–4914
- 55 Aghajanian H, Cho Y K, Manderfield L J, et al. Coronary vasculature patterning requires a novel endothelial ErbB2 holoreceptor. *Nat Commun*, 2016, 7: 12038
- 56 Su T, Stanley G, Sinha R, et al. Single-cell analysis of early progenitor cells that build coronary arteries. *Nature*, 2018, 559: 356–362
- 57 Chang A H, Raftrey B C, D'Amato G, et al. DACH1 stimulates shear stress-guided endothelial cell migration and coronary artery growth through the CXCL12-CXCR4 signaling axis. *Genes Dev*, 2017, 31: 1308–1324
- 58 Raftrey B, Williams I M, Rios Coronado P E, et al. Dach1 extends artery networks and protects against cardiac injury. *Circ Res*, 2021, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.318271
- 59 Luo W, Garcia-Gonzalez I, Fernández-Chacón M, et al. Arterialization requires the timely suppression of cell growth. *Nature*, 2021, 589: 437–441
- 60 Sharma B, Chang A, Red-Horse K. Coronary artery development: progenitor cells and differentiation pathways. *Annu Rev Physiol*, 2017, 79: 1–19

- 61 Red-Horse K, Siekmann A F. Veins and arteries build hierarchical branching patterns differently: bottom-up versus top-down. [Bioessays](#), 2019, 41: 1800198
- 62 Shi J, Yang Y, Cheng A, et al. Metabolism of vascular smooth muscle cells in vascular diseases. [Am J Physiol Heart Circ Physiol](#), 2020, 319: H613–H631
- 63 Greif D M, Kumar M, Lighthouse J K, et al. Radial construction of an arterial wall. [Dev Cell](#), 2012, 23: 482–493
- 64 Arima Y, Miyagawa-Tomita S, Maeda K, et al. Preotic neural crest cells contribute to coronary artery smooth muscle involving endothelin signalling. [Nat Commun](#), 2012, 3: 1267
- 65 Jiang X, Rowitch D H, Soriano P, et al. Fate of the mammalian cardiac neural crest. [Development](#), 2000, 127: 1607–1616
- 66 Chen Q, Zhang H, Liu Y, et al. Endothelial cells are progenitors of cardiac pericytes and vascular smooth muscle cells. [Nat Commun](#), 2016, 7: 12422
- 67 Lupu I E, De Val S, Smart N. Coronary vessel formation in development and disease: mechanisms and insights for therapy. [Nat Rev Cardiol](#), 2020, 17: 790–806
- 68 Mellgren A M, Smith C L, Olsen G S, et al. Platelet-derived growth factor receptor β signaling is required for efficient epicardial cell migration and development of two distinct coronary vascular smooth muscle cell populations. [Circ Res](#), 2008, 103: 1393–1401
- 69 Sinha S, Iyer D, Granata A. Embryonic origins of human vascular smooth muscle cells: implications for *in vitro* modeling and clinical application. [Cell Mol Life Sci](#), 2014, 71: 2271–2288
- 70 Moore-Morris T, Cattaneo P, Puceat M, et al. Origins of cardiac fibroblasts. [J Mol Cell Cardiol](#), 2016, 91: 1–5
- 71 Christia P, Bujak M, Gonzalez-Quesada C, et al. Systematic characterization of myocardial inflammation, repair, and remodeling in a mouse model of reperfused myocardial infarction. [J Histochem Cytochem](#), 2013, 61: 555–570
- 72 Davis J, Molkentin J D. Myofibroblasts: trust your heart and let fate decide. [J Mol Cell Cardiol](#), 2014, 70: 9–18
- 73 Moore-Morris T, Guimarães-Camboa N, Banerjee I, et al. Resident fibroblast lineages mediate pressure overload-induced cardiac fibrosis. [J Clin Invest](#), 2014, 124: 2921–2934
- 74 Zeisberg E M, Tarnavski O, Zeisberg M, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis. [Nat Med](#), 2007, 13: 952–961
- 75 Ubil E, Duan J, Pillai I C L, et al. Mesenchymal-endothelial transition contributes to cardiac neovascularization. [Nature](#), 2014, 514: 585–590
- 76 He L, Huang X, Kanisicak O, et al. Preexisting endothelial cells mediate cardiac neovascularization after injury. [J Clin Invest](#), 2017, 127: 2968–2981
- 77 Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. [Science](#), 1997, 275: 964–966
- 78 Jujo K, Li M, Losordo D W. Endothelial progenitor cells in neovascularization of infarcted myocardium. [J Mol Cell Cardiol](#), 2008, 45: 530–544
- 79 Kwon S M, Eguchi M, Wada M, et al. Specific Jagged-1 signal from bone marrow microenvironment is required for endothelial progenitor cell development for neovascularization. [Circulation](#), 2008, 118: 157–165
- 80 Takahashi T, Kalka C, Masuda H, et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. [Nat Med](#), 1999, 5: 434–438
- 81 Rehman J, Li J, Orschell C M, et al. Peripheral blood “endothelial progenitor cells” are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors. [Circulation](#), 2003, 107: 1164–1169
- 82 Bautch V L. Stem cells and the vasculature. [Nat Med](#), 2011, 17: 1437–1443
- 83 Klein D, Weisshardt P, Kleff V, et al. Vascular wall-resident CD44⁺ multipotent stem cells give rise to pericytes and smooth muscle cells and contribute to new vessel maturation. [PLoS ONE](#), 2011, 6: e20540
- 84 Tang Z, Wang A, Yuan F, et al. Differentiation of multipotent vascular stem cells contributes to vascular diseases. [Nat Commun](#), 2012, 3: 875
- 85 Psaltis P J, Puranik A S, Spoon D B, et al. Characterization of a resident population of adventitial macrophage progenitor cells in postnatal vasculature. [Circ Res](#), 2014, 115: 364–375
- 86 Ingram D A, Mead L E, Moore D B, et al. Vessel wall-derived endothelial cells rapidly proliferate because they contain a complete hierarchy of endothelial progenitor cells. [Blood](#), 2005, 105: 2783–2786
- 87 Psaltis P J, Simari R D. Vascular wall progenitor cells in health and disease. [Circ Res](#), 2015, 116: 1392–1412
- 88 Kelly-Goss M R, Sweat R S, Stapor P C, et al. Targeting pericytes for angiogenic therapies. [Microcirculation](#), 2014, 21: 345–357
- 89 Katare R, Riu F, Mitchell K, et al. Transplantation of human pericyte progenitor cells improves the repair of infarcted heart through activation of

- an angiogenic program involving micro-RNA-132. *Circ Res*, 2011, 109: 894–906
- 90 Chen C W, Okada M, Proto J D, et al. Human pericytes for ischemic heart repair. *Stem Cells*, 2013, 31: 305–316
- 91 Miquerol L, Thireau J, Bideaux P, et al. Endothelial plasticity drives arterial remodeling within the endocardium after myocardial infarction. *Circ Res*, 2015, 116: 1765–1771
- 92 Dubé K N, Thomas T M, Munshaw S, et al. Recapitulation of developmental mechanisms to revascularize the ischemic heart. *JCI Insight*, 2017, 2
- 93 Tang J, Zhang H, He L, et al. Genetic fate mapping defines the vascular potential of endocardial cells in the adult heart. *Circ Res*, 2018, 122: 984–993
- 94 Räsänen M, Sultan I, Paech J, et al. VEGF-B promotes endocardium-derived coronary vessel development and cardiac regeneration. *Circulation*, 2021, 143: 65–77
- 95 Red-Horse K, Das S. New research is shining light on how collateral arteries form in the heart: a future therapeutic direction? *Curr Cardiol Rep*, 2021, 23: 30
- 96 Khand A, Fisher M, Jones J, et al. The collateral circulation of the heart in coronary total arterial occlusions in man: systematic review of assessment and pathophysiology. *Am Heart J*, 2013, 166: 941–952
- 97 Seiler C, Meier P. Historical aspects and relevance of the human coronary collateral circulation. *Curr Cardiol Rev*, 2014, 10: 2–16
- 98 Seiler C, Stoller M, Pitt B, et al. The human coronary collateral circulation: development and clinical importance. *Eur Heart J*, 2013, 34: 2674–2682
- 99 Helisch A, Schaper W. Arteriogenesis the development and growth of collateral arteries. *Microcirculation*, 2003, 10: 83–97
- 100 Simons M, Eichmann A. Molecular controls of arterial morphogenesis. *Circ Res*, 2015, 116: 1712–1724
- 101 Faber J E, Chilian W M, Deindl E, et al. A brief etymology of the collateral circulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34: 1854–1859
- 102 He L, Liu Q, Hu T, et al. Genetic lineage tracing discloses arteriogenesis as the main mechanism for collateral growth in the mouse heart. *Cardiovasc Res*, 2016, 109: 419–430
- 103 Zhang H, Faber J E. *De-novo* collateral formation following acute myocardial infarction: dependence on CCR2⁺ bone marrow cells. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 87: 4–16
- 104 Das S, Goldstone A B, Wang H, et al. A unique collateral artery development program promotes neonatal heart regeneration. *Cell*, 2019, 176: 1128–1142.e18

The development and regeneration of coronary artery vessels

ZHANG MingJun & ZHOU Bin

State Key Laboratory of Cell Biology, Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Center for Excellence in Molecular Cell Science, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China

Cardiovascular disease is the leading cause of death worldwide, and the coronary artery disease (CAD) is the main factor leading the cardiovascular disease. However, there is still lacking efficient clinical treatment to CAD until now. An in-depth understanding of the formation of coronary vessels during development and regeneration after heart injury will provide more ideas for developing treatment strategies of coronary diseases. Recently, with the development of the genetic lineage tracing technology *in vivo*, scientists have gained some new insights into the cellular origins and molecular mechanisms of coronary blood vessel formation during development and regeneration. These mechanisms provide new possibility for improving heart repair by targeting new vessels formation. Here, we highlight these recent findings about the development and regeneration of coronary vessels and discuss the possible application value in the treatment of ischemic heart disease.

coronary artery, genetic lineage tracing, collateral artery, cardiovascular diseases

doi: 10.1360/SSV-2021-0200