

# Vers de nouvelles cibles pour le traitement de l'hypertension artérielle pulmonaire : Importance des communications cellulaires

Ly Tu<sup>1,2</sup>, Maria-Rosa Ghigna<sup>1,2,3</sup>, Carole Phan<sup>1,2</sup>, Jennifer Bordenave<sup>1,2</sup>, Morane Le Hiress<sup>1,2</sup>, Raphaël Thuillet<sup>1,2</sup>, Nicolas Ricard<sup>1,2</sup>, Alice Huertas<sup>1,2,4</sup>, Marc Humbert<sup>1,2,4</sup> et Christophe Guignabert<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> INSERM UMR\_S 999, LabEx LERMIT, Hôpital Marie Lannelongue, 133 Avenue de la Résistance, 92350 Le Plessis-Robinson, France

<sup>2</sup> Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Faculté de Médecine, Le Kremlin-Bicêtre, France

<sup>3</sup> Service de Pathologie, Hôpital Marie Lannelongue, Le Plessis-Robinson, France

<sup>4</sup> AP-HP, Service de Pneumologie, Centre de Référence de l'Hypertension Pulmonaire Sévère, DHU Thorax Innovation, Hôpital Bicêtre, France

Auteur correspondant : Christophe Guignabert, [christophe.guignabert@inserm.fr](mailto:christophe.guignabert@inserm.fr)

Reçu le 15 mars 2016

**Résumé** – L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) est un désordre cardiopulmonaire caractérisé par un remodelage structurel et fonctionnel progressif du lit vasculaire pulmonaire. Cet intense remodelage vasculaire pulmonaire est en grande partie responsable de l'augmentation de la pression artérielle pulmonaire moyenne (PAPm), provoquant un déclin fonctionnel progressif des patients HTAP malgré les différentes options thérapeutiques actuellement disponibles. La physiopathologie de l'HTAP est complexe et de multiples mécanismes de prédisposition et/ou de progression de ce remodelage vasculaire pulmonaire aberrant dans l'HTAP ont été identifiés. Parmi ces acteurs au centre du développement et de la progression de la maladie, les perturbations de communications cellulaires jouent un rôle critique aussi bien dans l'inflammation et la dysimmunité, que dans l'accumulation exagérée de cellules vasculaires pulmonaires dans la paroi artérielle, l'activation excessive de certaines voies de signalisation liées aux facteurs de croissance, d'hormones, de cytokines, de chimiokines et de facteurs de transcription. De plus, il est connu que plusieurs facteurs environnementaux et génétiques, incluant entre autres les mutations avec perte de fonction du gène codant pour le récepteur de la protéine morphogénétique osseuse de type II (le gène *BMPR2*), peuvent prédisposer et/ou contribuer à la progression de l'HTAP. Bien que ces dernières années, la connaissance et la compréhension des mécanismes physiopathologiques complexes mis en jeu dans l'HTAP n'ont cessé de s'accroître, à un rythme qui continue à s'accélérer, il n'existe pas de traitement curatif pour lutter contre l'HTAP. Dans cette revue, nous discuterons donc des récentes découvertes qui nous permettent aujourd'hui de mieux comprendre le rôle critique joué par la cellule endothéliale (CE) pulmonaire et ses communications cellulaires dans l'HTAP et qui pourraient ouvrir la voie à l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques.

**Mots clés** : Hypertension pulmonaire / dysfonction endothéliale / remodelage vasculaire pulmonaire / communication cellulaire / cible thérapeutique

**Abstract** – Towards new targets for the treatment of pulmonary arterial hypertension: Importance of cell-cell communications.

Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a disorder in which mechanical obstruction of the pulmonary vascular bed is largely responsible for the rise in mean pulmonary arterial pressure (mPAP), resulting in a progressive functional decline despite current available therapeutic options. There are multiple mechanisms predisposing to and/or

promoting the aberrant pulmonary vascular remodeling in PAH, and these involve not only altered crosstalk between cells within the vascular wall but also sustained inflammation and dysimmunity, cell accumulation in the vascular wall and excessive activation of some growth factor-stimulated signaling pathways, in addition to the interaction of systemic hormones, local growth factors, cytokines, and transcription factors. Heterozygous germline mutations in the bone morphogenetic protein receptor, type-2 (*BMPR2*) gene, a gene encoding a receptor for the transforming growth factor (TGF)- $\beta$  superfamily, can predispose to the disease. Although the spectrum of therapeutic options for PAH has expanded in the last 20 years, available therapies remain essentially palliative. Over the past decade, however, a better understanding of key regulators of this irreversible remodeling of the pulmonary vasculature has been obtained. New and more effective approaches are likely to emerge. The present article profiles the innovative research into novel pathways and therapeutic targets that may lead to the development of targeted agents in PAH.

**Key words:** Pulmonary hypertension / endothelial dysfunction / pulmonary vascular remodeling / cellular crosstalk / translational targets

## Abréviations

5-HT	sérotonine
Ang-II	angiotensine-II
CE	cellule endothéliale
CML	cellule musculaire lisse
ET-1	endothéline-1
FGF-2	<i>fibroblast growth factor-2</i>
HP	hypertension pulmonaire
HTAP	hypertension artérielle pulmonaire
HTAPi	HTAP idiopathique
HTAPh	HTAP héritable
IL	interleukine
MCP-1	<i>monocyte chemoattractant protein 1</i>
MEC	matrice extracellulaire
MIF	<i>macrophage migration inhibitory factor</i>
MMP	métalloprotéase matricielle
BMPR2	<i>bone morphogenetic protein type 2 receptor</i>
PAPm	pression artérielle pulmonaire moyenne
PDK	pyruvate déshydrogénase kinase
RVP	résistance vasculaire pulmonaire
TASK-1	<i>tandem-pore acid-sensing potassium channel-1</i>
TGF	<i>tumour growth factor</i>
TNF	<i>tumour necrosis factor</i>

## 1 Introduction

L'hypertension pulmonaire (ou HP) se définit par une élévation permanente de la pression sanguine dans la circulation pulmonaire au delà de 25 mmHg au repos (la normale est de  $14 \pm 3$  mmHg), menant à l'insuffisance cardiaque droite. Il existe une classification des HP qui a pour objectif d'identifier des catégories de pathologies présentant des similitudes physiopathologiques, cliniques et de prise en charge thérapeutique (Simonneau *et al.*, 2013; Galiè *et al.*, 2015). Cette

classification distingue ainsi cinq grandes catégories d'HP : l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) (Groupe 1), l'hypertension pulmonaire due à une maladie du cœur gauche (Groupe 2), l'hypertension pulmonaire due à une pathologie respiratoire chronique et/ou à une hypoxémie chronique (Groupe 3), l'hypertension pulmonaire post-embolique chronique (Groupe 4) et l'hypertension pulmonaire due à des mécanismes multifactoriels ou incertains (Groupe 5).

Le terme « hypertension artérielle pulmonaire » (HTAP, Groupe 1) regroupe un ensemble de désordres cardio-pulmonaires caractérisé par un remodelage obstructif des artères pulmonaires distales de petit calibre ( $\leq 500 \mu\text{m}$ ), conduisant directement à l'augmentation progressive et anormale des résistances vasculaires pulmonaires (RVP) et éventuellement à une défaillance ventriculaire droite. L'échographie cardiaque permet le dépistage de l'HTAP, cependant, seul le cathétérisme cardiaque droit (et donc invasif) permet de poser le diagnostic sur la base d'une pression artérielle pulmonaire moyenne (PAPm) supérieure ou égale à 25 mmHg au repos et une pression artérielle pulmonaire d'occlusion inférieure ou égale à 15 mmHg, éliminant le diagnostic d'une cardiopathie gauche. L'HTAP peut être : (1) idiopathique (HTAPi) en l'absence de facteurs de risque connus ou associés; (2) héritable, liée soit à des mutations du gène *BMPR2* (Deng *et al.*, 2000; International PPH Consortium, 2000) ou d'autres gènes (Chaouat *et al.*, 2004; Austin *et al.*, 2012; Drake *et al.*, 2013; Eyries *et al.*, 2014); (3) associée à diverses maladies (connectivites, cardiopathies congénitales, infections par le virus de l'immunodéficience humaine, *etc.*); (4) ou encore associée à l'utilisation de drogues ou de certains médicaments (anorexigènes, dasatinib, *etc.*) (Simonneau *et al.*, 2013; Seferian *et al.*, 2013). Le pronostic de l'HTAP reste effroyable avec une médiane

de survie de l'ordre de 2,8 ans en l'absence de traitements spécifiques (Humbert *et al.*, 2010a, 2010b). Dans la majorité des cas, la maladie est progressive avec une phase initiale asymptomatique caractérisée par une augmentation de la réactivité et du remodelage des artérioles pulmonaires. Bien que la prise en charge ait considérablement évolué ces dernières années, il n'existe malheureusement aucun traitement curatif connu à ce jour (O'Callaghan *et al.*, 2011; Galie *et al.*, 2015). Néanmoins, les thérapies actuelles permettent de ralentir nettement la progression de la maladie et/ou d'améliorer le bien-être des patients. En cas d'échappement thérapeutique, la transplantation cardio-pulmonaire ou bi-pulmonaire est alors la seule alternative avec un taux de 50 % de survie à 5 ans (Fadel *et al.*, 2010).

Le remodelage vasculaire pulmonaire est un mécanisme pathologique caractéristique clé de l'HTAP, conduisant au déclin fonctionnel progressif des patients HTAP malgré l'utilisation des traitements actuels. En effet, même si les différentes formes d'HTAP font intervenir différents mécanismes pathologiques, de nombreuses évidences suggèrent fortement qu'un seul et unique dénominateur commun est responsable des altérations de communications entre les différentes cellules composant la structure du lit vasculaire pulmonaire (telles que les cellules endothéliales (CE), les cellules musculaires lisses (CML), les péricytes et les fibroblastes) et entretient la dérégulation de la composante inflammatoire (Guignabert *et al.* 2013a, 2015; Huertas *et al.* 2014). En effet, de récentes découvertes soulignent le rôle central joué par les altérations de communications entre les CE et les autres types cellulaires constituant la paroi des artérioles pulmonaires (CML, péricytes et fibroblastes) dans le développement et la progression de l'HTAP.

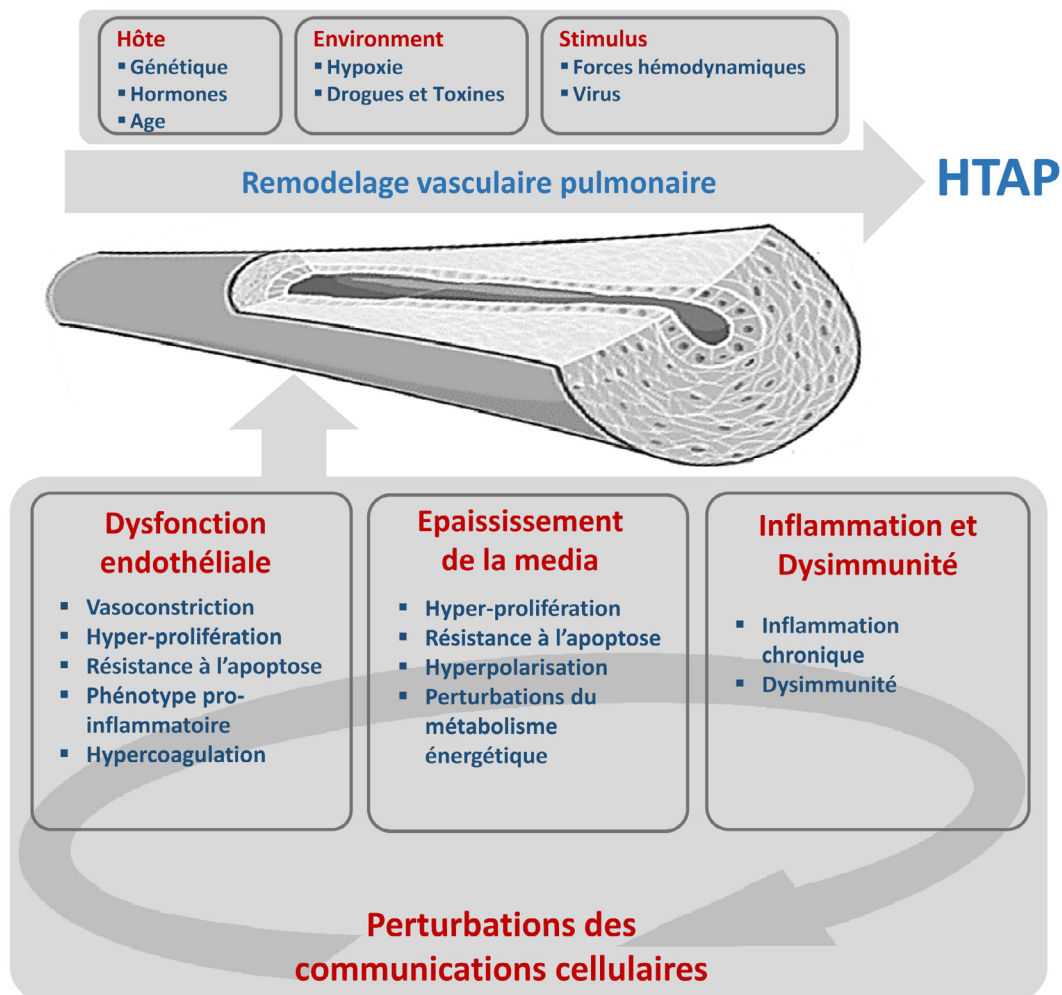
Dans cette revue, nous discuterons des avancées récentes qui nous permettent aujourd'hui de mieux comprendre le rôle critique joué par la CE pulmonaire et ses communications cellulaires dans l'HTAP et qui pourraient ouvrir la voie à l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques.

## 2 Mécanismes moléculaires et cellulaires contribuant au développement et à la progression de l'HTAP

L'HTAP est caractérisée par plusieurs anomalies structurelles et fonctionnelles des petites artères pulmonaires (Voelkel & Tuder, 1995, 1997; Rubin, 1999; Humbert *et al.*, 2004; Mandegar *et al.*, 2004; Rabinovitch, 2005, 2008; Morrell *et al.*, 2009; Guignabert *et al.*, 2013a, 2013b). Parmi celles-ci

on observe tout d'abord la raréfaction et la néomuscularisation des artérioles pré-capillaires distales de petit diamètre, normalement non musculaires jusque dans l'acinus respiratoire. Les mécanismes cellulaires responsables de ce processus de muscularisation de cette partie des vaisseaux pulmonaires ne sont pas complètement élucidés, mais l'une des hypothèses possibles est la prolifération des CML des artères pulmonaires préexistantes ou encore leur différenciation à partir de cellules progénitrices résidentes, dont les péricytes (Meyrick & Reid, 1980; Guignabert *et al.*, 2013a, 2015; Ricard *et al.*, 2014; Sheikh *et al.* 2015). De plus, les vaisseaux de plus gros calibre, entre 100 et 500  $\mu\text{m}$ , sont également touchés par l'hypertrophie médiale et adventitielle. L'épaississement de la paroi de ces artères pulmonaires a été attribué à la prolifération et à la migration anormale des CML existantes, ou à leur différenciation à partir d'une population de cellules progénitrices ou de fibrocytes (Davie *et al.*, 2004; Ricard *et al.*, 2014; Guignabert *et al.*, 2015) ou encore de CE qui sont capables d'acquérir le phénotype de CML par un processus de transdifférenciation (Frid *et al.*, 2002; Arciniegas *et al.*, 2007; Qiao *et al.*, 2014; Good *et al.*, 2015; Ranchoux *et al.*, 2015). D'autre part, on retrouve également la formation de lésions néo-intimales, qui se traduit par la mise en place d'une couche cellulaire additionnelle constituée de myofibroblastes, par l'accumulation de composés de la matrice extracellulaire (MEC) et d'infiltrats inflammatoires entre l'endothélium et la limitante élastique interne. Ces lésions néo-intimales pourraient contribuer à la formation de lésions plexiformes (aspect en « bulbe d'oignon »), dernier stade du remodelage vasculaire, plus ou moins caractéristique de l'HTAPi et héritable. Ces lésions sont formées par une prolifération exubérante de CE, CML et de myofibroblastes, formant des canaux microvasculaires endoluminaux dans une matrice oblitérante riche en collagène (Bjornsson & Edwards, 1985; Guignabert *et al.*, 2013b). Bien que nous ignorions à l'heure actuelle s'il existe un mécanisme pathogène unique à l'HTAP, plusieurs avancées récentes soulignent clairement le rôle critique joué par les perturbations de communications entre les CE et les autres types cellulaires de la paroi des artères pulmonaires, l'inflammation, les perturbations du métabolisme énergétique et des voies de l'apoptose, l'activation exagérée ou la déficience de certaines voies de signalisation notamment celles des facteurs de croissance, d'hormones, de certaines cytokines ou chimiokines ou encore de certains facteurs de transcription.

Les progrès récents réalisés dans le déchiffrement de la physiopathologie de l'HTAP soulignent clairement que les processus de développement et d'entretien de ce remodelage vasculaire pulmonaire sont complexes et multifactoriels. En effet, l'enclenchement et la



**Fig. 1.** Concepts actuels des mécanismes moléculaires et cellulaires contribuant au développement et à la progression de l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP).






progression de ce processus nécessitent la présence de plusieurs anomalies dans différentes composantes de l'HTAP, représentées par la dysfonction endothéliale pulmonaire, l'épaississement de la media et la composante inflammatoire (figure 1). Toutefois, l'identification de ces anomalies et une meilleure compréhension de leur importance physiopathologique dans l'HTAP sont une condition préalable essentielle non seulement à l'élucidation de la pathogénèse de l'HTAP, mais également au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques.

### 3 Restauration de communications cellulaires fonctionnelles au sein des parois des artères pulmonaires

Plusieurs manifestations témoignent d'altérations fonctionnelles des communications entre les cellules

vasculaires pulmonaires au sein des parois des artères pulmonaires remodelées dans l'HTAP et de leurs contributions au remodelage vasculaire obstructif (Dewachter *et al.*, 2006; Eddahibi *et al.*, 2006; de Man *et al.*, 2012; Tu *et al.*, 2011, 2012; Ricard *et al.*, 2014; Rabinovitch *et al.*, 2014; Huertas *et al.*, 2014, 2015, 2016; Freund-Michel *et al.*, 2015; Guignabert *et al.*, 2015; Le Hiress *et al.*, 2015). En effet, plusieurs données cliniques et précliniques ont permis de mettre en évidence le fait que l'endothélium pulmonaire dysfonctionnel dans l'HTAP est une source locale et anormale de divers facteurs agissant sur le contrôle de la prolifération, la migration et la différenciation des cellules vasculaires pulmonaires, comme le *fibroblast growth factor-2* (FGF-2), le *platelet derived growth factor* (PDGF), la sérotonine (5-HT), l'endothéline-1 (ET-1), l'angiotensine-II (Ang-II) et la leptine, mais également de divers médiateurs pro-inflammatoires comme l'interleukine (IL)-1, l'IL-6, le CCL2 et le

**Tableau 1.** Cibles moléculaires actuelles prometteuses pour corriger les défauts des communications cellulaires dans les parois remodelées des artères pulmonaires au cours de l'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP). 5-HT = sérotonine, Akt = *protein kinase B*, Ang-II = angiotensine-II, BCL-2 = *B-cell lymphoma 2*, BCL-xL = *B-cell lymphoma-extra large*, BMPR-II = *bone morphogenetic protein receptor II*, Ca<sup>2+</sup> = calcium, CD = *clusters de différenciation*, EGF = *epidermal growth factor*, ET-1 = endothéline-1, FGF-2 = *fibroblast growth factor-2*, GM-CSF = *granulocyte-macrophage colony stimulating factor*, HIF = *hypoxia inducible factor*, IL = interleukine, JNK = *c-Jun N-terminal kinase*, KCNK3 = *potassium channel subfamily K member 3*, Kv = *voltage gated potassium channel*, MCL-1 = *myeloid cell leukemia sequence 1*, MIF = *macrophage migration inhibitory factor*, MMP = métalloprotéinases de la matrice, mTOR = *mammalian target of rapamycin*, NF-κB = *nuclear factor-κB*, NO = monoxyde d'azote, Nox = NADPH oxydase, Nrf2 = *NF-Es-related factor 2*, PDGF = *platelet derived growth factor*, PGI<sub>2</sub> = prostacycline, ROCK = *Rho-associated protein kinase*, SERCA = *sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase*, SOD = *superoxide dismutase*, TASK = *TWIK-related acid-sensitive K1 channel*, TRPC = *transient receptor potential canonical*.

 Prolifération	 Apoptose	 Inflammation	 Vasodilatation	 Stress oxydatif
FGF-2 ↓ PDGF ↓ EGF ↓ 5-HT ↓ Ang-II ↓ Apeline ↑ Autres facteurs de croissance ↓ <u>Remodelage de la matrice extracellulaire :</u> MMP-2, MMP-9 ↓ Elastase ↓ Elafin ↑ BMPRII ↑	Survivine ↓ BCL-2 ↓ BCL-xL ↓ MCL-1 ↓ <u>Survie cellulaire :</u> MAPK ↓ Akt ↓ mTOR ↓ JNK ↓ NF-κB ↓ AP-1 ↓ BMPRII ↑	IL-6 ↓ MIF ↓ GM-CSF ↓ Leukotriène B4 ↓ Leptine ↓ Anti-CD20 BMPRII ↑	NO ↑ PGI <sub>2</sub> ↑ ET-1 ↓ 5-HT ↓ Ang-II ↓ SERCA2a ↑ TASK-1 ↑ KCNK3 ↑ Kv1.5 ↑ TRPC ↑ RhoA/ROCK ↓	NOX ↓ SOD ↑ Nrf2 ↑ <u>Phénotype Warburg :</u> HIF ↓

facteur MIF (pour *macrophage migration inhibitory factor*) (Eddahibi *et al.*, 2006; Tu *et al.*, 2011; de Man *et al.*, 2012; Huertas *et al.*, 2015; Le Hiress *et al.*, 2015). Ces anomalies sont associées également à l'acquisition et au maintien d'un phénotype endothélial dysfonctionnel qui se traduit par une prolifération excessive et une résistance à l'induction d'apoptose (Tu *et al.*, 2011, 2012). Nous avons pu démontrer qu'une boucle autocrine de production exagérée de FGF-2 fait partie, entre autres, des mécanismes impliqués dans ce phénotype endothélial aberrant, expliquant l'activité constitutive de la voie des *mitogen activated protein kinase* (MAPK) et la surexpression des deux facteurs anti-apoptotiques BCL-2 et BCL-xL (Tu *et al.*, 2011). Plusieurs autres anomalies intrinsèques dans les CE pulmonaires ont également été décrites, dont la surexpression de la protéine p130<sup>Cas</sup> qui explique les réponses amplifiées de ces cellules aux facteurs de croissance (Tu *et al.*, 2012), mais aussi la présence de désordres métaboliques dont une activation constitutive de l'*hypoxia-inducible factor* (HIF)-1α. Ces différents aspects de l'endothélium dysfonctionnel HTAP vont retentir sur le comportement des autres cellules vasculaires pulmonaires, en

particulier sur les interactions entre CE et CML en favorisant la contraction et la prolifération de ces dernières, mais également sur les liens étroits entre CE et péricytes pulmonaires et entre CE et cellules inflammatoires (Eddahibi *et al.*, 2006; Ricard *et al.*, 2014; Huertas *et al.*, 2014, 2015) (Tableau 1).

Les productions exagérées d'ET-1, de 5-HT, d'Ang-II, de FGF-2, de leptine, d'IL-6 et de MIF contribuent, de manière locale, à la prolifération, la survie et la migration exagérée des cellules vasculaires pulmonaires, et perturbent également leur différenciation cellulaire. Ces anomalies vont donc promouvoir l'accumulation cellulaire progressive au sein des parois des artères pulmonaires et contribuer à l'augmentation progressive des RVP dans l'HTAP. Sur la base de ces observations, plusieurs travaux récents ont ainsi pu démontrer les effets bénéfiques de différentes stratégies thérapeutiques ciblant ces facteurs dans les modèles expérimentaux *in vitro* et *in vivo* d'étude de l'HTAP (Guignabert *et al.*, 2005, 2013a, 2015; Izikki *et al.*, 2009; de Man *et al.*, 2012; Tu & Guignabert, 2013; Huertas *et al.*, 2015; Le Hiress *et al.*, 2015). En 2014, notre équipe de recherche a également démontré que les CE

dysfonctionnelles des artères pulmonaires de patients atteints d'HTAPi participent, par l'intermédiaire de leur production exagérée de FGF-2 et de l'IL-6, au recouvrement exagéré des artères pulmonaires par les cellules péricyaires (Ricard *et al.*, 2014). Ce recrutement exagéré et anormal de péricytes autour des artères pulmonaires dans l'HTAP représente une source potentielle de cellules contractiles. En effet, au travers de cette étude, nous avons pu démontrer que le TGF- $\beta$ 1 (qui est présent en grande quantité dans le lit vasculaire pulmonaire au cours de l'HTAP) contribue à la différenciation des péricytes pulmonaires humains en cellules contractiles de type CML/myofibroblaste. De plus, la neutralisation du FGF-2, de l'IL-6 et du TGF- $\beta$  par l'intermédiaire d'anticorps neutralisants permet de prévenir le recrutement et la différenciation de ces cellules (Ricard *et al.*, 2014). Il est donc clair que les communications cellulaires entre CE/CML et CE/péricytes sont altérées au cours de l'HTAP et ce en faveur d'un remodelage vasculaire pulmonaire avec une prolifération exagérée des CML et des péricytes. De manière intéressante, ces études montrent également que la dysfonction endothéliale est à l'origine des perturbations de ces communications intercellulaires, et que celle-ci est sous la dépendance de facteurs environnants et de certains désordres du système immunitaire (Rabinovitch *et al.*, 2014; Huertas *et al.*, 2014). Effectivement, de récentes évidences cliniques et précliniques soutiennent également que ce remodelage vasculaire pulmonaire associé à l'HTAP pourrait être ralenti voire corrigé par l'utilisation d'agents anti-inflammatoires spécifiques (Huertas *et al.*, 2014; Rabinovitch *et al.*, 2014). Il a pu être mis en évidence que le nombre de cellules immunitaires, qui s'accumulent au niveau péri-vasculaire, est en corrélation directe avec l'épaississement de la paroi artérielle des artères remodelées HTAP (Stacher *et al.*, 2012). De plus, une conjonction entre des niveaux circulants anormalement élevés de diverses cytokines et chimiokines (comme l'interleukine (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, le CCL2, CCL5, CX3CL1 et le *tumour necrosis factor* (TNF)- $\alpha$ ) et un mauvais pronostic ont pu être constaté dans différentes études. Ces observations ont même permis d'identifier lesquels, parmi ces médiateurs inflammatoires tels que l'IL-1 $\beta$ , le TNF- $\alpha$  et l'IL-6, étaient corrélés à la survie des patients HTAP (Cracowski *et al.*, 2014). De manière intéressante, l'IL-1 $\beta$  et le TNF- $\alpha$  sont connus pour faciliter l'accumulation de composés de la MEC comme le dépôt de fibronectine, tandis que l'IL-6 est connue pour faciliter la prolifération de CML d'artères pulmonaires (Savale *et al.*, 2009; Courboulin *et al.*, 2011).

Cependant des travaux de recherche supplémentaires sont nécessaires pour mieux déchiffrer ces modes de communication cellulaire entre CE/CML,

CE/péricytes et CE/cellules inflammatoires, afin de mettre en place des traitements plus adaptés pour lutter contre ce remodelage vasculaire pulmonaire dans l'HTAP. Cette meilleure connaissance devrait permettre le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques. Récemment, notre laboratoire a pu montrer que le CD74 endothélial et son ligand MIF sont deux acteurs importants au carrefour de l'inflammation et de la dysfonction endothéliale dans la pathogénèse de l'HTAP. En effet, les données présentées dans une récente étude révèlent que les CE pulmonaires de patients atteints d'HTAPi présentent une signature pro-inflammatoire très marquée *in situ* (Le Hiress *et al.*, 2015). Notamment, nous avons pu démontrer que l'endothélium pulmonaire HTAP produit et sécrète un certain nombre de cytokines pro-inflammatoires (telles que IL-1 $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-12, MCP-1) et qu'il exprime de manière exagérée diverses protéines impliquées dans le recrutement et l'adhésion des leucocytes, comme la E-sélectine, la molécule d'adhésion intercellulaire (ICAM)-1, la P-sélectine et la molécule d'adhésion vasculaire (VCAM)-1 (Le Hiress *et al.*, 2015). De plus, nous avons pu démontrer qu'une activation de la voie de signalisation endothéliale liée au CD74 peut contribuer à ce phénotype pro-inflammatoire des CE pulmonaires HTAP. En effet, le facteur MIF est une cytokine pro-inflammatoire en amont de la cascade immuno-inflammatoire, qui peut réguler des gènes cruciaux impliqués dans la prolifération, la survie cellulaire et la synthèse de divers médiateurs inflammatoires (cytokines, chimiokines et molécules d'adhésion) en se liant à son récepteur endothélial CD74. L'activation de cet axe MIF/CD74 est connue également pour jouer un rôle important dans le développement et l'initiation de diverses maladies associées à une inflammation chronique ou à une composante auto-immune, mais aussi dans divers cancers incluant le cancer de la prostate, l'adénocarcinome pulmonaire et l'athérosclérose. Dans les CE, la fixation de MIF ou du D-DT (D-dopachrome tautomérase appelé également MIF-2) au CD74 est connue pour induire la prolifération et la survie cellulaire grâce au recrutement du co-récepteur CD44 qui lie Src et c-Met et active les voies PI3K/Akt, NF- $\kappa$ B et MAPK/ERK, ainsi qu'à l'expression de molécules d'adhésion, cytokines ou chimiokines *via* l'activation de NF- $\kappa$ B. De plus, MIF peut se fixer aux récepteurs des chimiokines CXCR2 et CXCR4 (Schober *et al.*, 2008) et ainsi conduire à la prolifération des CML d'artères pulmonaires en conditions hypoxiques (Bernhagen *et al.*, 2007; Zhang B. *et al.*, 2012a, 2012b; Zhang Y. *et al.*, 2012). Enfin, notre laboratoire a démontré que l'inhibition de la sécrétion de leptine par l'endothélium pulmonaire dysfonctionnel HTAP pouvait également représenter une stratégie thérapeutique prometteuse, corrigeant à la fois la prolifération des

CML d'artères pulmonaires et la fonction des lymphocytes T régulateurs dans les modèles expérimentaux de l'HTAP (Huertas *et al.*, 2015).

#### 4 Correction de l'immunopathologie associée à l'HTAP

Au cours des deux dernières décennies, l'accumulation des connaissances autour du rôle de l'inflammation associée à l'HTAP est passée d'une curiosité histopathologique à un mécanisme pathogénique clé qui pourrait être préjudiciable à la fois en termes de susceptibilité à la maladie et de développement du remodelage vasculaire pulmonaire.

L'inflammation est définie comme une série complexe d'interactions entre les facteurs solubles et les cellules qui peuvent participer à une réponse traumatique, infectieuse, post-ischémique, auto-immune ou liée à un accident toxique. Dans l'HTAP expérimentale et humaine, il est bien reconnu que les médiateurs inflammatoires et les cellules immunes sont impliqués dans le développement et la progression de la maladie (Huertas *et al.*, 2014). En effet, sur un plan histopathologique, les lésions vasculaires pulmonaires survenant chez les patients atteints d'HTAP, ainsi que dans des modèles animaux d'hypertension pulmonaire, sont caractérisées par des infiltrats inflammatoires périvasculaires plus ou moins importants, comprenant des lymphocytes T et B, des macrophages, des cellules dendritiques et des cellules mastocytaires. Récemment, le score d'infiltrat périvasculaire a pu être corrélé au degré d'épaississement de la média + adventice, évoquant un rôle de l'inflammation périvasculaire dans les processus de remodelage vasculaire pulmonaire (Stacher *et al.*, 2012). De plus, les patients HTAP ont des niveaux sériques élevés de cytokines, y compris des IL-1- $\beta$ , IL-6 et IL-8 (Humbert *et al.*, 1995; Montani *et al.*, 2011; Soon *et al.*, 2010) et de chimiokines telles que la CCL2 (Sanchez *et al.*, 2007), CCL5 et CXC3CL1 (Balabanian *et al.*, 2002; Dorfmueller *et al.*, 2002). Ces données suggèrent que les niveaux accrus de ces médiateurs sont communs à la pathologie en soi et ne sont pas limités à un sous-type particulier. En plus de ces facteurs circulants, des cellules immunitaires telles que les cellules dendritiques, les lymphocytes B et T et/ou des fibrocytes sont recrutés au niveau des vaisseaux remodelés (Rabinovitch *et al.*, 2014; Huertas *et al.*, 2014). De plus, des altérations fonctionnelles de certaines populations de lymphocytes T et de cellules NK (« Natural Killer ») ont été décrites dans l'HTAP ainsi que dans la maladie veino-occlusive pulmonaire (Ormiston *et al.*, 2012; Perros *et al.*, 2013). Des travaux de notre laboratoire ont également montré la présence de structures lymphoïdes tertiaires dans les poumons des pa-

tients HTAP, un élément caractéristique de processus auto-immuns.

Malgré les nombreuses données suggérant un rôle de l'inflammation dans la pathogenèse de l'HTAP, les mécanismes mis en jeu restent obscurs. Toutefois, le lien fonctionnel entre inflammation et métabolisme cellulaire pourrait expliquer, au moins en partie, l'importance de cette composante inflammatoire pour l'enclenchement et le maintien de ce remodelage vasculaire pulmonaire dans l'HTAP. Grâce à l'utilisation de plusieurs stratégies, les effets bénéfiques de la restitution d'un métabolisme oxydatif vis-à-vis du développement et de la progression de l'hypertension pulmonaire expérimentale ont pu être démontrés : (1) au travers de l'utilisation du dichloroacétate (DCA), un inhibiteur de la pyruvate déshydrogénase kinase mitochondriale (PDK) (Michelakis *et al.*, 2002; McMurtry *et al.*, 2004; Bonnet *et al.*, 2006; Guignabert *et al.*, 2009; Huertas *et al.*, 2015). La PDK inhibe la pyruvate déshydrogénase (PDH) qui est l'enzyme responsable de l'oxydation du pyruvate en acétyl-CoA, qui initie la phosphorylation oxydative par le cycle de Krebs; (2) par inhibition de l'oxydation aérobie des acides gras (effet « Randle »), qui est connu pour bloquer la phosphorylation oxydative par le cycle de Krebs. La prévention de ce *shift* métabolique semble être prometteuse pour prévenir le développement de la maladie mais requiert plus de travaux avant de pouvoir être testée chez l'Homme. En dehors du lien fonctionnel entre inflammation et métabolisme cellulaire, de récentes découvertes ont également démontré l'importance de l'activation des voies de signalisation du GM-CSF (*Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor*) et du leukotriène B<sub>4</sub> (LBT<sub>4</sub>) dans le remodelage vasculaire pulmonaire associé à l'HTAP (Tian *et al.*, 2013; Sawada *et al.*, 2014). En effet, un rôle direct des macrophages alvéolaires dans l'enclenchement et le maintien du remodelage des parois artérielles dans l'HTAP et dans l'hypertension porto-pulmonaire a pu être mis en évidence (Thenappan *et al.*, 2011; Tian *et al.*, 2013). De plus, notre laboratoire a démontré le rôle clé joué par la leptine et son récepteur ObR dans l'inactivation des lymphocytes T régulateurs (Huertas *et al.*, 2012, 2015, 2016). Cependant, étant donné la complexité de ces processus biologiques, une meilleure compréhension de l'immunopathologie de l'HTAP est une condition préalable au développement de nouvelles stratégies thérapeutiques (Huertas *et al.*, 2014; Rabinovitch *et al.*, 2014). Actuellement, un essai clinique de phase II dans l'HTAP associée à une sclérodémie systémique est en cours pour l'évaluation thérapeutique du Rituximab, un anticorps monoclonal dirigé contre la protéine CD20 présente à la surface des lymphocytes B (*Clinical-Trials.gov Identifier* : NCT01086540).

## 5 Restauration de la balance entre synthèse et dégradation de composés de la matrice extracellulaire (MEC)

Des modifications qualitatives et quantitatives de la MEC contribuent également au remodelage obstructif des artères pulmonaires dans l'HTAP, en créant un environnement favorable à la prolifération, à la survie et à la migration cellulaire. Dans l'HTAP, les CE pulmonaires expriment à des taux anormalement élevés différents composants de la MEC tels que la téna-scine, la laminine, la fibronectine et l'élastine, révélant des défauts de la balance entre la production et la dégradation de la MEC dans la paroi vasculaire (Rabinovitch, 2001; Botto *et al.*, 2006). De plus, les CML des artères pulmonaires de patients HTAP synthétisent également de manière accrue de nombreux composés de la MEC, comme le collagène, la téna-scine et la fibronectine, et participent ainsi de manière active au remodelage artériel pulmonaire de la maladie (Jones & Rabinovitch, 1996; Jones *et al.*, 1997; Rabinovitch 2001; Ma *et al.*, 2011; Wei *et al.*, 2012). En effet, la MEC constitue un réservoir très important de facteurs de croissance et de cytokines qui se retrouvent piégés temporairement avant d'être relargués par suite de l'action de diverses protéases comme les MMP et les élastases (Lepetit *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2011; Kwapiszewska *et al.*, 2012). La libération de ces différentes molécules crée un microenvironnement tissulaire favorable promouvant la prolifération, la survie et la migration des fibroblastes, des CML et des CE environnantes (Jones *et al.*, 1997; Bendeck *et al.*, 2000; Ma *et al.*, 2011). Le remodelage de la MEC, ainsi que de la membrane basale, par les protéases comme les MMP-2 et MMP-9 permet de supprimer la barrière physique qui sépare les cellules de tout ce qui les entoure. Cette modification de la MEC permet également de libérer de nombreuses molécules séquestrées dans le lit vasculaire pulmonaire et d'induire un certain nombre de signaux cellulaires (Tu & Guignabert, 2003). Ce remodelage de la MEC favorise également l'accessibilité de sites cryptiques présents dans certains composés matriciels comme le collagène, les laminines, l'élastine ou la fibronectine. De plus, divers fragments de composés de la MEC sont connus pour promouvoir directement la migration et l'accumulation cellulaire. Plusieurs protéases remodelent la MEC et certains de ces acteurs sont anormalement abondants et/ou actifs dans l'HTAP. En effet, plusieurs données révèlent des déséquilibres de la balance protéolytique en faveur des activités élastinolytiques (Kim *et al.*, 2011), gélatinolytiques (Lepetit *et al.*, 2005) et collagénolytiques (Lepetit *et al.*, 2005; George *et al.*, 2012). L'ensemble de ces activités protéasiques exagérées est connu pour entraîner le clivage de plusieurs composés de la MEC comme

par exemple la laminine et la fibronectine, conduisant donc à une stimulation du remodelage vasculaire (Duffy *et al.*, 2002). De nombreux autres facteurs qui sont présents dans la MEC sont ainsi libérés au cours de son remodelage, comme par exemple, le FGF-2, le TGF- $\beta$ , la 5-HT (Rabinovitch *et al.*, 2001; Ma *et al.*, 2011; Wei *et al.*, 2012). Les inhibiteurs de l'élastase, comme l'éla-fin, ont montré une réelle efficacité contre la progression de l'HP dans les modèles animaux (Cowan *et al.*, 2000). De manière similaire, des effets bénéfiques des inhibiteurs des MMP ont été retrouvés dans le modèle monocrotaline (Vieillard-Baron *et al.*, 2003). Cependant, d'autres études sont clairement nécessaires afin d'améliorer la compréhension du rôle de ces molécules dans la progression de l'HTAP humaine et expérimentale.

## 6 Restitution de l'expression et de la signalisation du BMPR-II et de TASK-1

Des mutations germinales avec perte de fonction du gène codant pour *Bone Morphogenic Protein type 2 Receptor (BMPR2)*, un des membres de la famille des récepteurs du TGF- $\beta$ , sont retrouvées dans près de 58 à 74% des cas d'HTAP familiale, mais également chez 3,5 à 40% des cas d'HTAPi (Evans *et al.*, 2016). Ces patients sont regroupés sous le terme d'HTAP « héritable » (HTAPh). Les mutations *BMPR2* sont les plus fréquentes et sont transmises par mode autosomique dominant, mais la pénétrance en est toutefois faible (environ 20–30%) (Larkin *et al.*, 2012), c'est pourquoi la majorité des sujets porteurs d'une mutation ne développe jamais la maladie. Les patients atteints d'HTAPh liée aux mutations *BMPR2* sont plus jeunes et présentent une HTAP qui est souvent plus sévère au moment du diagnostic et répondent plus rarement aux vasodilatateurs en aigu par rapport aux patients atteints d'HTAPi. De plus, la présence de mutations *BMPR2* est associée à un pronostic beaucoup plus sombre (Humbert *et al.*, 2006, 2010a, 2010b; Evans *et al.*, 2016). Etant donné que la présence de mutations *BMPR2* prédispose au développement de l'HTAP, beaucoup de travaux de recherche récents visent à élaborer des stratégies pour restituer l'expression et/ou l'activité BMPR-II à la surface des cellules vasculaires pulmonaires (Morrell *et al.*, 2016). Parmi ces différentes stratégies, nous retrouvons l'ataluren aussi connu sous le nom de PTC124, utilisé dans la dystrophie musculaire de Duchenne. L'ataluren permet au système ribosomal de traduction de l'ARNm en protéine de passer outre les signaux de terminaison illicites liés à des mutations non-sens et pourrait donc représenter un réel espoir thérapeutique pour les patients HTAPh porteurs de mutation *BMPR2* non-sens (Drake *et al.*, 2013). D'autre part, des stratégies ciblant l'amélioration de la maturation et

de l'adressage du BMPR-II à la surface membranaire (Sobolewski *et al.*, 2008) ou empêchant sa dégradation pourraient être également envisagées (Dunmore *et al.*, 2013). Récemment, l'administration de protéine recombinante BMP-9, un ligand du BMPR-II, ainsi que l'utilisation de tacrolimus (connu également sous le code FK506) ont aussi été démontrées comme efficaces pour restituer l'expression et l'activité BMPR-II à la surface des cellules vasculaires pulmonaires *in vitro* et *in vivo* dans l'HP expérimentale (Spiekerkoetter *et al.*, 2013; Long *et al.*, 2015). Bien que ces approches restent encore au stade expérimental, ces travaux sont prometteurs et ont permis de mettre en lumière certains outils et stratégies expérimentales efficaces pour restaurer l'expression/activité du BMPR-II. Actuellement, ces études servent de base à plusieurs travaux de recherche, ce qui permettra de transférer ces connaissances vers la clinique.

En 2013, une étude génétique menée sur plusieurs patients présentant une HTAP sans mutations connues a révélé la présence de mutations avec perte de fonction du gène *KCNK3* codant pour le canal potassique 3 (TASK-1 pour *tandem-pore acid-sensing potassium channel-1*) de la sous famille des canaux à deux domaines P, appelés canaux K2P (Ma *et al.*, 2013). Le principal rôle des canaux TASK-1 est de participer au maintien du potentiel membranaire de repos de nombreux types de cellules, incluant les CML des artères pulmonaires et de réguler la relaxation artérielle (Patel *et al.*, 1999). Comme pour le BMPR-II, des tactiques visant à rétablir l'expression et l'activité de ces canaux TASK-1 pourraient servir de base à de nouvelles stratégies thérapeutiques pour lutter contre l'HTAP (Ma *et al.*, 2013; Antigny *et al.*, 2016).

## 7 Conclusions

Nos connaissances de la physiopathologie de l'HTAP ne cessent de s'enrichir, à un rythme qui continue à s'accroître et mettent en lumière le rôle important joué par les perturbations des communications cellulaires entre CE/CML, CE/péricytes et CE/cellules inflammatoires. Une compréhension plus fine des mécanismes à l'origine de ces anomalies et une meilleure connaissance des échanges intercellulaires devraient permettre de mieux maîtriser cette pathologie.

*Remerciements.* Les auteurs remercient l'ensemble des membres impliqués dans le Centre de Référence français de l'Hypertension Pulmonaire Sévère, du DHU *Thorax Innovation* pour les nombreuses discussions qui ont permis d'enrichir le contenu de cette revue. Les auteurs remercient également pour leur soutien : la Chancellerie des Universités de Paris (Legs Poix), l'Agence Nationale de Sécurité

du Médicament et des produits de santé (ANSM « VIGIAPATH »), la Fondation de la Recherche Médicale (Label « Equipe FRM 2015 » et financement de la thèse de Jennifer Bordenave) et l'Agence Nationale de la Recherche (ANR\_12\_JSV1\_0004\_01), le LabEx LERMIT (ANR-10-LABX-0033-LERMIT pour le financement de la thèse de Morane Le Hires) et le Fonds de Dotation « Recherche en Santé Respiratoire » – Fondation du Souffle (FRSR-Fds pour le financement de la thèse de Carole Phan).

## Références

- Antigny, F., Hautefort, A., Meloche, J., Belacel-Ouari, M., Manoury, B., Rucker-Martin, C., Pechoux, C., Potus, F., Nadeau, V., Tremblay, E., Ruffenach, G., Bourgeois, A., Dorfmueller, P., Breuils-Bonnet, S., Fadel, E., Ranchoux, B., Jourdon, P., Girerd, B., Montani, D., Provencher, S., Bonnet, S., Simonneau, G., Humbert, M., and Perros, F. (2016). Potassium-Channel Subfamily K-Member 3 (KCNK3) Contributes to the Development of Pulmonary Arterial Hypertension. *Circulation*, sous presse.
- Arciniegas, E., Frid, M.G., Douglas, I.S., and Stenmark, K.R. (2007). Perspectives on endothelial-to-mesenchymal transition: potential contribution to vascular remodeling in chronic pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 293, L1-L8.
- Austin, E.D., Ma, L., LeDuc, C., Berman Rosenzweig, E., Borczuk, A., Phillips, J.A., 3rd, Palomero, T., Sumazin, P., Kim, H.R., Talati, M.H., West, J., Loyd, J.E., and Chung, W.K. (2012). Whole exome sequencing to identify a novel gene (caveolin-1) associated with human pulmonary arterial hypertension. *Circ Cardiovasc Genet*, 5, 336-343.
- Balabanian, K., Foussat, A., Dorfmueller, P., Durand-Gasselino, I., Capel, F., Bouchet-Delbos, L., Portier, A., Marfaing-Koka, A., Krzysiek, R., Rimaniol, A.C., Simonneau, G., Emilie, D., and Humbert, M. (2002). CX(3)C chemokine fractalkine in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*, 165, 1419-1425.
- Bernhagen, J., Krohn, R., Lue, H., Gregory, J.L., Zernecke, A., Koenen, R. R., Dewor, M., Georgiev, I., Schober, A., Leng, L., Kooistra, T., Fingerle-Rowson, G., Ghezzi, P., Kleemann, R., McColl, S.R., Bucala, R., Hickey, M.J., and Weber, C. (2007). MIF is a noncognate ligand of CXC chemokine receptors in inflammatory and atherogenic cell recruitment. *Nat Med*, 13, 587-596.
- Bjornsson, J. and Edwards, W.D. (1985) Primary pulmonary hypertension: a histopathologic study of 80 cases. *Mayo Clin Proc*, 60, 16-25.
- Bonnet, S., Michelakis, E.D., Porter, C.J., Andrade-Navarro, M.A., Thebaud, B., Bonnet, S., Haromy, A., Harry, G., Moudgil, R., McMurtry, M. S., Weir, E.K., and Archer, S.L. (2006). An abnormal mitochondrial-hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ -Kv channel pathway

- disrupts oxygen sensing and triggers pulmonary arterial hypertension in fawn hooded rats : similarities to human pulmonary arterial hypertension. *Circulation*, 113, 2630-2641.
- Botto, L., Beretta, E., Daffara, R., Miserocchi, and G., Palestini, P. (2006). Biochemical and morphological changes in endothelial cells in response to hypoxic interstitial edema. *Respir Res*, 7, 7.
- Chaouat, A., Coulet, F., Favre, C., Simonneau, G., Weitzenblum, E., Soubrier, F., and Humbert, M. (2004). Endoglin germline mutation in a patient with hereditary haemorrhagic telangiectasia and dexfenfluramine associated pulmonary arterial hypertension. *Thorax*, 59, 446-448.
- Courboulin, A., Tremblay, V.L., Barrier, M., Meloche, J., Jacob, M.H., Chapolard, M., Bissierier, M., Paulin, R., Lambert, C., Provencher, S., and Bonnet, S. (2011). Kruppel-like factor 5 contributes to pulmonary artery smooth muscle proliferation and resistance to apoptosis in human pulmonary arterial hypertension. *Respir Res*, 12, 128.
- Cowan, K.N., Heilbut, A., Humpl, T., Lam, C., Ito, S., and Rabinovitch, M. (2000). Complete reversal of fatal pulmonary hypertension in rats by a serine elastase inhibitor. *Nat Med*, 6, 698-702.
- Cracowski, J.L., Chabot, F., Labarere, J., Faure, P., Degano, B., Schwebel, C., Chaouat, A., Reynaud-Gaubert, M., Cracowski, C., Sitbon, O., Yaici, A., Simonneau, G., and Humbert, M. (2014). Proinflammatory cytokine levels are linked to death in pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J*, 43, 915-917.
- Davie, N.J., Crossno, J.T., Jr., Frid, M.G., Hofmeister, S.E., Reeves, J.T., Hyde, D.M., Carpenter, T.C., Brunetti, J.A., McNiece, I.K., and Stenmark, K.R. (2004). Hypoxia-induced pulmonary artery adventitial remodeling and neovascularization: contribution of progenitor cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 286, L668-78.
- de Man, F.S., Tu, L., Handoko, M.L., Rain, S., Ruiters, G., Francois, C., Schlij, I., Dorfmüller, P., Simonneau, G., Fadel, E., Perros, F., Boonstra, A., Postmus, P.E., van der Velden, J., Vonk-Noordegraaf, A., Humbert, M., Eddahibi, S., and Guignabert, C. (2012). Dysregulated renin-angiotensin-aldosterone system contributes to pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*, 186, 780-789.
- Deng, Z., Morse, J.H., Slager, S.L., Cuervo, N., Moore, K.J., Venetos, G., Kalachikov, S., Cayanis, E., Fischer, S.G., Barst, R.J., Hodge, S.E., and Knowles, J.A. (2000). Familial primary pulmonary hypertension (gene PPH1) is caused by mutations in the bone morphogenetic protein receptor-II gene. *Am J Hum Genet*, 67, 737-744.
- Dewachter, L., Adnot, S., Fadel, E., Humbert, M., Maitre, B., Barlier-Mur, A.M., Simonneau, G., Hamon, M., Naeije, R., and Eddahibi, S. (2006). Angiotensin/Tie2 pathway influences smooth muscle hyperplasia in idiopathic pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*, 174, 1025-1033.
- Dorfmueller, P., Zarka, V., Durand-Gasselin, I., Monti, G., Balabanian, K., Garcia, G., Capron, F., Coulomb-Lhermine, A., Marfaing-Koka, A., Simonneau, G., Emilie, D., and Humbert, M. (2002). Chemokine RANTES in severe pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*, 165, 534-539.
- Drake, K.M., Dunmore, B.J., McNelly, L.N., Morrell, N.W., and Aldred, M.A. (2013). Correction of nonsense BMPR2 and SMAD9 mutations by ataluren in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 49, 403-409.
- Duffy, M.J. (2002). Urokinase plasminogen activator and its inhibitor, PAI-1, as prognostic markers in breast cancer : from pilot to level 1 evidence studies. *Clin Chem*, 48, 1194-1197.
- Dunmore, B.J., Drake, K.M., Upton, P.D., Toshner, M.R., Aldred, M.A., and Morrell, N.W. (2013). The lysosomal inhibitor, chloroquine, increases cell surface BMPR-II levels and restores BMP9 signalling in endothelial cells harbouring BMPR-II mutations. *Hum Mol Genet*, 22, 3667-3679.
- Eddahibi, S., Guignabert, C., Barlier-Mur, A.M., Dewachter, L., Fadel, E., Darteville, P., Humbert, M., Simonneau, G., Hanoun, N., Saurini, F., Hamon, M., and Adnot, S. (2006). Cross talk between endothelial and smooth muscle cells in pulmonary hypertension : critical role for serotonin-induced smooth muscle hyperplasia. *Circulation*, 113, 1857-1864.
- Evans, J.D., Girerd, B., Montani, D., Wang, X.J., Galiè, N., Austin, E. D., Elliott, G., Asano, K., Grunig, E., Yan, Y., Jing, Z.C., Manes, A., Palazzini, M., Wheeler, L.A., Nakayama, I., Satoh, T., Eichstaedt, C., Hinderhofer, K., Wolf, M., Rosenzweig, E.B., Chung, W.K., Soubrier, F., Simonneau, G., Sitbon, O., Graf, S., Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Humbert, M., and Morrell, N.W. (2016). BMPR2 mutations and survival in pulmonary arterial hypertension : an individual participant data meta-analysis. *Lancet Respir Med*, 4, 129-137.
- Eyries, M., Montani, D., Girerd, B., Perret, C., Leroy, A., Lonjou, C., Chelghoum, N., Coulet, F., Bonnet, D., Dorfmueller, P., Fadel, E., Sitbon, O., Simonneau, G., Tregouet, D.A., Humbert, M., and Soubrier, F. (2014). EIF2AK4 mutations cause pulmonary veno-occlusive disease, a recessive form of pulmonary hypertension. *Nat Genet*, 46, 65-69.
- Fadel, E., Mercier, O., Mussot, S., Leroy-Ladurie, F., Cerrina, J., Chapelier, A., Simonneau, G., and Darteville, P. (2010). Long-term outcome of double-lung and heart-lung transplantation for pulmonary hypertension : a comparative retrospective study of 219 patients. *Eur J Cardiothorac Surg*, 38, 277-284.
- Freund-Michel, V., Cardoso Dos Santos, M., Guignabert, C., Montani, D., Phan, C., Coste, F., Tu, L., Dubois, M., Girerd, B., Courtois, A., Humbert, M., Savineau, J.P., Marthan, R., and Muller, B. (2015). Role of Nerve Growth Factor in Development and Persistence of Experimental Pulmonary Hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*, 192, 342-355.

- Frid, M.G., Kale, V.A., and Stenmark, K.R. (2002). Mature vascular endothelium can give rise to smooth muscle cells via endothelial-mesenchymal transdifferentiation : in vitro analysis. *Circ Res*, 90, 1189-1196.
- Galiè, N., Humbert, M., Vachieri, J.L., Gibbs, S., Lang, I., Torbicki, A., Simonneau, G., Peacock, A., Vonk Noordegraaf, A., Beghetti, M., Ghofrani, A., Gomez Sanchez, M.A., Hansmann, G., Klepetko, W., Lancellotti, P., Matucci, M., McDonagh, T., Pierard, L.A., Trindade, P.T., Zompatori, M., and Hoeper, M. (2015). 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Respir J*, 46, 903-975.
- George, J., Sun, and J., D'Armiento, J. (2012). Transgenic expression of human matrix metalloproteinase-1 attenuates pulmonary arterial hypertension in mice. *Clin Sci (Lond)*, 122, 83-92.
- Good, R.B., Gilbane, A.J., Trinder, S.L., Denton, C.P., Coghlan, G., Abraham, D.J., and Holmes, A.M. (2015). Endothelial to Mesenchymal Transition Contributes to Endothelial Dysfunction in Pulmonary Arterial Hypertension. *Am J Pathol*, 185, 1850-1858.
- Guignabert, C., Raffestin, B., Benferhat, R., Raoul, W., Zadigue, P., Rideau, D., Hamon, M., Adnot, S., and Eddahibi, S. (2005). Serotonin transporter inhibition prevents and reverses monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rats. *Circulation*, 111, 2812-2819.
- Guignabert, C., Tu, L., Izikki, M., Dewachter, L., Zadigue, P., Humbert, M., Adnot, S., Fadel, E., and Eddahibi, S. (2009). Dichloroacetate treatment partially regresses established pulmonary hypertension in mice with SM22alpha-targeted overexpression of the serotonin transporter. *FASEB J*, 23, 4135-4147.
- Guignabert, C. and Dorfmueller, P. (2013a). Pathology and pathobiology of pulmonary hypertension. *Semin Respir Crit Care Med*, 34, 551-559.
- Guignabert, C., Tu, L., Le Hiress, M., Ricard, N., Sattler, C., Seferian, A., Huertas, A., Humbert, M., and Montani, D. (2013b). Pathogenesis of pulmonary arterial hypertension : lessons from cancer. *Eur Respir Rev*, 22, 543-551.
- Guignabert, C., Tu, L., Girerd, B., Ricard, N., Huertas, A., Montani, D., and Humbert, M. (2015). New molecular targets of pulmonary vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension : importance of endothelial communication. *Chest*, 147, 529-537.
- Huertas, A., Tu, L., Gambaryan, N., Girerd, B., Perros, F., Montani, D., Fabre, D., Fadel, E., Eddahibi, S., Cohen-Kaminsky, S., Guignabert, C., and Humbert, M. (2012). Leptin and regulatory T-lymphocytes in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J*, 40, 895-904.
- Huertas, A., Perros, F., Tu, L., Cohen-Kaminsky, S., Montani, D., Dorfmueller, P., Guignabert, C., and Humbert, M. (2014). Immune dysregulation and endothelial dysfunction in pulmonary arterial hypertension : a complex interplay. *Circulation*, 129, 1332-1340.
- Huertas, A., Tu, L., Thuillet, R., Le Hiress, M., Phan, C., Ricard, N., Nadaud, S., Fadel, E., Humbert, M., and Guignabert, C. (2015). Leptin signalling system as a target for pulmonary arterial hypertension therapy. *Eur Respir J*, 45, 1066-1080.
- Huertas, A., Phan, C., Bordenave, J., Tu, L., Thuillet, R., Le Hiress, M., Avouac, J., Tamura, Y., Allanore, Y., Jovan, R., Sitbon, O., Guignabert, C., and Humbert, M. (2016). Regulatory T cell dysfunction in idiopathic, heritable and connective tissue-associated pulmonary arterial hypertension. *Chest*.
- Humbert, M., Monti, G., Brenot, F., Sitbon, O., Portier, A., Grangeot-Keros, L., Duroux, P., Galanaud, P., Simonneau, G., and Emilie, D. (1995). Increased interleukin-1 and interleukin-6 serum concentrations in severe primary pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*, 151, 1628-1631.
- Humbert, M., Morrell, N.W., Archer, S.L., Stenmark, K.R., MacLean, M.R., Lang, I.M., Christman, B.W., Weir, E.K., Eickelberg, O., Voelkel, N.F., and Rabinovitch, M. (2004). Cellular and molecular pathobiology of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol*, 43, 13S-24S.
- Humbert, M., Sitbon, O., Chaouat, A., Bertocchi, M., Habib, G., Gressin, V., Yaici, A., Weitzenblum, E., Cordier, J.F., Chabot, F., Dromer, C., Pison, C., Reynaud-Gaubert, M., Haloun, A., Laurent, M., Hachulla, E., and Simonneau, G. (2006). Pulmonary arterial hypertension in France : results from a national registry. *Am J Respir Crit Care Med*, 173, 1023-1030.
- Humbert, M., Sitbon, O., Chaouat, A., Bertocchi, M., Habib, G., Gressin, V., Yaici, A., Weitzenblum, E., Cordier, J.F., Chabot, F., Dromer, C., Pison, C., Reynaud-Gaubert, M., Haloun, A., Laurent, M., Hachulla, E., Cottin, V., Degano, B., Jais, X., Montani, D., Souza, R., and Simonneau, G. (2010a). Survival in patients with idiopathic, familial, and anorexigen-associated pulmonary arterial hypertension in the modern management era. *Circulation*, 122, 156-163.
- Humbert, M., Sitbon, O., Yaici, A., Montani, D., O'Callaghan, D.S., Jais, X., Parent, F., Savale, L., Natali, D., Gunther, S., Chaouat, A., Chabot, F., Cordier, J.F., Habib, G., Gressin, V., Jing, Z.C., Souza, R., and Simonneau, G., French Pulmonary Arterial Hypertension Network (2010b). Survival in incident and prevalent cohorts of patients with pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J*, 36, 549-555.
- International PPH consortium, Lane, K.B., Machado, R.D., Pauciulo, M.W., Thomson, J.R., Phillips, J.A., 3rd, Loyd, J.E., Nichols, W.C., and Trembath, R.C. (2000) Heterozygous germline mutations in BMPR2, encoding a TGF-beta receptor, cause familial primary pulmonary hypertension. *Nat Genet*, 26, 81-4.

- Izikki, M., Guignabert, C., Fadel, E., Humbert, M., Tu, L., Zadigue, P., Dartevielle, P., Simonneau, G., Adnot, S., Maitre, B., Raffestin, B., and Eddahibi, S. (2009). Endothelial-derived FGF2 contributes to the progression of pulmonary hypertension in humans and rodents. *J Clin Invest*, 119, 512-523.
- Jones, P.L. and Rabinovitch, M. (1996). Tenascin-C is induced with progressive pulmonary vascular disease in rats and is functionally related to increased smooth muscle cell proliferation. *Circ Res*, 79, 1131-1142.
- Jones, P.L., Cowan, K.N., and Rabinovitch, M. (1997). Tenascin-C, proliferation and subendothelial fibronectin in progressive pulmonary vascular disease. *Am J Pathol*, 150, 1349-1360.
- Kim, Y.M., Haghighat, L., Spiekerkoetter, E., Sawada, H., Alvira, C.M., Wang, L., Acharya, S., Rodriguez-Colon, G., Orton, A., Zhao, M., and Rabinovitch, M. (2011). Neutrophil elastase is produced by pulmonary artery smooth muscle cells and is linked to neointimal lesions. *Am J Pathol*, 179, 1560-1572.
- Kwapiszewska, G., Markart, P., Dahal, B.K., Kojonazarov, B., Marsh, L.M., Schermuly, R.T., Taube, C., Meinhardt, A., Ghofrani, H.A., Steinhoff, M., Seeger, W., Preissner, K.T., Olschewski, A., Weissmann, N., and Wygrecka, M. (2012). PAR-2 inhibition reverses experimental pulmonary hypertension. *Circ Res*, 110, 1179-1191.
- Larkin, E.K., Newman, J.H., Austin, E.D., Hemnes, A.R., Wheeler, L., Robbins, I.M., West, J.D., Phillips, J.A., 3rd, Hamid, R., and Loyd, J. E. (2012). Longitudinal analysis casts doubt on the presence of genetic anticipation in heritable pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*, 186, 892-896.
- Le Hirsch, M., Tu, L., Ricard, N., Phan, C., Thuillet, R., Fadel, E., Dorfmüller, P., Montani, D., de Man, F., Humbert, M., Huertas, A., and Guignabert, C. (2015). Proinflammatory Signature of the Dysfunctional Endothelium in Pulmonary Hypertension. Role of the Macrophage Migration Inhibitory Factor/CD74 Complex. *Am J Respir Crit Care Med*, 192, 9839-97.
- Lepetit, H., Eddahibi, S., Fadel, E., Frisdal, E., Munaut, C., Noel, A., Humbert, M., Adnot, S., D'Ortho, M.P., and Lafuma, C. (2005). Smooth muscle cell matrix metalloproteinases in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Eur Respir J*, 25, 834-842.
- Long, L., Ormiston, M.L., Yang, X., Southwood, M., Graf, S., Machado, R. D., Mueller, M., Kinzel, B., Yung, L.M., Wilkinson, J.M., Moore, S.D., Drake, K.M., Aldred, M.A., Yu, P.B., Upton, P.D., and Morrell, N.W. (2015). Selective enhancement of endothelial BMPR-II with BMP9 reverses pulmonary arterial hypertension. *Nat Med*, 21, 777-785.
- Ma, L., Roman-Campos, D., Austin, E.D., Eyries, M., Sampson, K.S., Soubrier, F., Germain, M., Tregouet, D.A., Borczuk, A., Rosenzweig, E.B., Girerd, B., Montani, D., Humbert, M., Loyd, J.E., Kass, R.S., and Chung, W.K. (2013). A novel channelopathy in pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med*, 369, 351-361.
- Mandegar, M., Fung, Y.C., Huang, W., Remillard, C.V., Rubin, L.J., and Yuan, J.X. (2004). Cellular and molecular mechanisms of pulmonary vascular remodeling : role in the development of pulmonary hypertension. *Microvasc Res*, 68, 75-103.
- McMurtry, M.S., Bonnet, S., Wu, X., Dyck, J.R., Haromy, A., Hashimoto, K., and Michelakis, E.D. (2004). Dichloroacetate prevents and reverses pulmonary hypertension by inducing pulmonary artery smooth muscle cell apoptosis. *Circ Res*, 95, 830-840.
- Meyrick, B. and Reid, L. (1980). Ultrastructural findings in lung biopsy material from children with congenital heart defects. *Am J Pathol*, 101, 527-542.
- Michelakis, E.D., McMurtry, M.S., Wu, X.C., Dyck, J.R., Moudgil, R., Hopkins, T.A., Lopaschuk, G.D., Puttagunta, L., Waite, R., and Archer, S. L. (2002). Dichloroacetate, a metabolic modulator, prevents and reverses chronic hypoxic pulmonary hypertension in rats : role of increased expression and activity of voltage-gated potassium channels. *Circulation*, 105, 244-250.
- Montani, D., Humbert, M., and Souza, R. (2011). Letter by Montani *et al.* regarding article, "Elevated levels of inflammatory cytokines predict survival in idiopathic and familial pulmonary arterial hypertension". *Circulation*, 123, e614, author reply e615.
- Morrell, N.W., Adnot, S., Archer, S.L., Dupuis, J., Jones, P.L., MacLean, M.R., McMurtry, I.F., Stenmark, K.R., Thistlethwaite, P.A., Weissmann, N., Yuan, J.X., and Weir, E.K. (2009). Cellular and molecular basis of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol*, 54, S20-31.
- Morrell, N.W., Bloch, D.B., Ten Dijke, P., Goumans, M.J., Hata, A., Smith, J., Yu, P.B., and Bloch, K.D. (2016). Targeting BMP signalling in cardiovascular disease and anaemia. *Nat Rev Cardiol*, 13, 106-120.
- O'Callaghan, D.S., Savale, L., Montani, D., Jais, X., Sitbon, O., Simonneau, G., and Humbert, M. (2011). Treatment of pulmonary arterial hypertension with targeted therapies. *Nat Rev Cardiol*, 8, 526-538.
- Ormiston, M.L., Chang, C., Long, L.L., Soon, E., Jones, D., Machado, R., Treacy, C., Toshner, M.R., Campbell, K., Riding, A., Southwood, M., Pepke-Zaba, J., Exley, A., Trembath, R.C., Colucci, F., Wills, M., Trowsdale, J., and Morrell, N.W. (2012). Impaired natural killer cell phenotype and function in idiopathic and heritable pulmonary arterial hypertension. *Circulation*, 126, 1099-1109.
- Patel, A.J., Honore, E., Lesage, F., Fink, M., Romey, G., and Lazdunski, M. (1999). Inhalational anesthetics activate two-pore-domain background K<sup>+</sup> channels. *Nat Neurosci*, 2, 422-426.
- Perros, F., Cohen-Kaminsky, S., Gambaryan, N., Girerd, B., Raymond, N., Klingelschmitt, I., Huertas, A., Mercier, O., Fadel, E., Simonneau, G., Humbert, M., Dorfmüller, P., and Montani, D. (2013). Cytotoxic cells and granulysin in pulmonary arterial hypertension and pulmonary veno-occlusive disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 187, 189-196.
- Qiao, L., Nishimura, T., Shi, L., Sessions, D., Thrasher, A., Trudell, J. R., Berry, G.J., Pearl, R.G., Kao, P.N.

- (2014). Endothelial fate mapping in mice with pulmonary hypertension. *Circulation*, 129, 692-703.
- Rabinovitch, M. (2001). Pathobiology of pulmonary hypertension. Extracellular matrix. *Clin Chest Med*, 22, 433-49, viii.
- Rabinovitch, M. (2005). Cellular and molecular pathobiology of pulmonary hypertension conference summary. *Chest*, 128, 642S-646S.
- Rabinovitch, M. (2008). Molecular pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *J Clin Invest*, 118, 2372-2379.
- Rabinovitch, M., Guignabert, C., Humbert, M., and Nicolls, M.R. (2014). Inflammation and immunity in the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension. *Circ Res*, 115, 165-175.
- Ranchoux, B., Antigny, F., Rucker-Martin, C., Hautefort, A., Pechoux, C., Bogaard, H.J., Dorfmueller, P., Remy, S., Lecerf, F., Plante, S., Chat, S., Fadel, E., Houssaini, A., Anegon, I., Adnot, S., Simonneau, G., Humbert, M., Cohen-Kaminsky, S., and Perros, F. (2015). Endothelial-to-mesenchymal transition in pulmonary hypertension. *Circulation*, 131, 1006-1018.
- Ricard, N., Tu, L., Le Hiress, M., Huertas, A., Phan, C., Thuillet, R., Sattler, C., Fadel, E., Seferian, A., Montani, D., Dorfmueller, P., Humbert, M., and Guignabert, C. (2014). Increased pericyte coverage mediated by endothelial-derived fibroblast growth factor-2 and interleukin-6 is a source of smooth muscle-like cells in pulmonary hypertension. *Circulation*, 129, 1586-1597.
- Rubin, L.J. (1999). Cellular and molecular mechanisms responsible for the pathogenesis of primary pulmonary hypertension. *Pediatr Pulmonol Suppl*, 18, 194-197.
- Sanchez, O., Marcos, E., Perros, F., Fadel, E., Tu, L., Humbert, M., Darteville, P., Simonneau, G., Adnot, S., and Eddahibi, S. (2007). Role of endothelium-derived CC chemokine ligand 2 in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*, 176, 1041-1047.
- Savale, L., Tu, L., Rideau, D., Izziki, M., Maitre, B., Adnot, S., and Eddahibi, S. Impact of interleukin-6 on hypoxia-induced pulmonary hypertension and lung inflammation in mice. (2009). *Respir Res*, 10, 6.
- Sawada, H., Saito, T., Nickel, N.P., Alastalo, T.P., Glotzbach, J.P., Chan, R., Haghghat, L., Fuchs, G., Januszyk, M., Cao, A., Lai, Y.J., Perez Vde, J., Kim, Y.M., Wang, L., Chen, P.I., Spiekerkoetter, E., Mitani, Y., Gurtner, G.C., Sarnow, P., and Rabinovitch, M. (2014). Reduced BMPR2 expression induces GM-CSF translation and macrophage recruitment in humans and mice to exacerbate pulmonary hypertension. *J Exp Med*, 211, 263-280.
- Schober, A., Bernhagen, J., and Weber, C. (2008). Chemokine-like functions of MIF in atherosclerosis. *J Mol Med (Berl)*, 86, 761-770.
- Seferian, A., Chaumais, M.C., Savale, L., Gunther, S., Tubert-Bitter, P., Humbert, M., Montani, D. (2013). Drugs induced pulmonary arterial hypertension. *Presse Med*, 42, e303-10.
- Sheikh, A.Q., Misra, A., Rosas, I.O., Adams, R.H., and Greif, D.M. (2015). Smooth muscle cell progenitors are primed to muscularize in pulmonary hypertension. *Sci Transl Med*, 7, 308ra159.
- Simonneau, G., Gatzoulis, M.A., Adatia, I., Celermajer, D., Denton, C., Ghofrani, A., Gomez Sanchez, M.A., Krishna Kumar, R., Landzberg, M., Machado, R.F., Olschewski, H., Robbins, I.M., and Souza, R. (2013). Updated clinical classification of pulmonary hypertension. *J Am Coll Cardiol*, 62, D34-41.
- Sobolewski, A., Rudarakanchana, N., Upton, P.D., Yang, J., Crilley, T.K., Trembath, R.C., and Morrell, N.W. (2008). Failure of bone morphogenetic protein receptor trafficking in pulmonary arterial hypertension : potential for rescue. *Hum Mol Genet*, 17, 3180-3190.
- Soon, E., Holmes, A.M., Treacy, C.M., Doughty, N.J., Southgate, L., Machado, R.D., Trembath, R.C., Jennings, S., Barker, L., Nicklin, P., Walker, C., Budd, D.C., Pepke-Zaba, J., and Morrell, N.W. (2010). Elevated levels of inflammatory cytokines predict survival in idiopathic and familial pulmonary arterial hypertension. *Circulation*, 122, 920-927.
- Spiekerkoetter, E., Tian, X., Cai, J., Hopper, R.K., Sudheendra, D., Li, C. G., El-Bizri, N., Sawada, H., Haghghat, R., Chan, R., Haghghat, L., de Jesus Perez, V., Wang, L., Reddy, S., Zhao, M., Bernstein, D., Solow-Cordero, D.E., Beachy, P.A., Wandless, T.J., Ten Dijke, P., and Rabinovitch, M. (2013). FK506 activates BMPR2, rescues endothelial dysfunction, and reverses pulmonary hypertension. *J Clin Invest*, 123, 3600-3613.
- Stacher, E., Graham, B.B., Hunt, J.M., Gandjeva, A., Groshong, S.D., McLaughlin, V.V., Jessup, M., Grizzle, W.E., Aldred, M.A., Cool, C.D., and Tuder, R.M. (2012). Modern age pathology of pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*, 186, 261-272.
- Thenappan, T., Goel, A., Marsboom, G., Fang, Y.H., Toth, P.T., Zhang, H. J., Kajimoto, H., Hong, Z., Paul, J., Wietholt, C., Pogoriler, J., Piao, L., Rehman, J., and Archer, S.L. (2011). A central role for CD68(+) macrophages in hepatopulmonary syndrome. Reversal by macrophage depletion. *Am J Respir Crit Care Med*, 183, 1080-1091.
- Tian, W., Jiang, X., Tamosiuniene, R., Sung, Y.K., Qian, J., Dhillon, G., Gera, L., Farkas, L., Rabinovitch, M., Zamanian, R.T., Inayathullah, M., Fridlib, M., Rajadas, J., Peters-Golden, M., Voelkel, N.F., and Nicolls, M. R. (2013). Blocking macrophage leukotriene b4 prevents endothelial injury and reverses pulmonary hypertension. *Sci Transl Med*, 5, 200ra117.
- Tu, L., Dewachter, L., Gore, B., Fadel, E., Darteville, P., Simonneau, G., Humbert, M., Eddahibi, S., and Guignabert, C. (2011). Autocrine fibroblast growth factor-2 signaling contributes to altered endothelial phenotype in pulmonary hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 45, 311-322.
- Tu, L., De Man, F.S., Girerd, B., Huertas, A., Chaumais, M.C., Lecerf, F., François, C., Perros, F., Dorfmueller,

- P., Fadel, E., Montani, D., Eddahibi, S., Humbert, and M., Guignabert, C. (2012). A critical role for p130Cas in the progression of pulmonary hypertension in humans and rodents. *Am J Respir Crit Care Med*, 186, 666-76.
- Tu, L. and Guignabert, C. Emerging Molecular Targets for Anti-proliferative Strategies in Pulmonary Arterial Hypertension. (2013). *Handb Exp Pharmacol*, 218, 409-436.
- Vieillard-Baron, A., Frisdal, E., Raffestin, B., Baker, A.H., Eddahibi, S., Adnot, S., and D'Ortho, M.P. (2003). Inhibition of matrix metalloproteinases by lung TIMP-1 gene transfer limits monocrotaline-induced pulmonary vascular remodeling in rats. *Hum Gene Ther*, 14, 861-869.
- Voelkel, N.F. and Tuder, R.M. (1995). Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of severe pulmonary hypertension. *Eur Respir J*, 8, 2129-2138.
- Voelkel, N.F. and Tuder, R.M. (1997). Cellular and molecular biology of vascular smooth muscle cells in pulmonary hypertension. *Pulm Pharmacol Ther*, 10, 231-241.
- Wei, L., Warburton, R.R., Preston, I.R., Roberts, K.E., Comhair, S.A., Erzurum, S.C., Hill, N.S., and Fanburg, B.L. (2012). Serotonylated fibronectin is elevated in pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 302, L1273-L1279.
- Zhang, B., Shen, M., Xu, M., Liu, L.L., Luo, Y., Xu, D.Q., Wang, Y.X., Liu, M.L., Liu, Y., Dong, H.Y., Zhao, P.T., and Li, Z.C. (2012a). Role of macrophage migration inhibitory factor in the proliferation of smooth muscle cell in pulmonary hypertension. *Mediators Inflamm*, 840737.
- Zhang, B., Luo, Y., Liu, M.L., Wang, J., Xu, D.Q., Dong, M.Q., Liu, Y., Xu, M., Dong, H.Y., Zhao, P.T., Gao, Y.Q., and Li, Z.C. (2012b). Macrophage migration inhibitory factor contributes to hypoxic pulmonary vasoconstriction in rats. *Microvasc Res*, 83, 205-212.
- Zhang, Y., Talwar, A., Tsang, D., Bruchfeld, A., Sadoughi, A., Hu, M., Omonuwa, K., Cheng, K.F., Al-Abed, Y., and Miller, E.J. (2012). Macrophage migration inhibitory factor mediates hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Mol Med*, 18, 215-223.