

## 血管钙化的基础和转化研究的探索

黄 辉<sup>1,2,3</sup>

(1. 中山大学孙逸仙纪念心血管内科, 2. 中山大学中山医学院心血管研究群体, 3. 广东省心电生理与心律失常“十二五”重点医学实验室, 广东 广州 510120)

**作者简介:**黄辉, 医学博士, 教授, 博士生导师, 广东省心血管重点医学实验室主任, 大内科副主任, 高血压科主任。目前任广东省医师协会心血管内科医师分会副主任委员, 广东省老年保健协会心脑血管慢病管理分会副主任委员, 广东省医师协会高血压分会常委, 广东省中西医结合学会冠心病分会常委; 获得国家自然科学基金优秀青年、教育部霍英东高校优秀青年教师和广州市珠江科技新星等人才称号; 先后主持国家自然科学基金7项, 发表SCI论文57篇。  
E-mail: huangh8@mail.sysu.edu.cn。



黄 辉

**摘 要:**血管钙化是动脉粥样硬化、高血压、糖尿病血管病变、慢性肾脏病、血管损伤和衰老等普遍存在的共同的病理变化, 显著增加了心血管事件的发生, 随着社会老龄化的进程, 发病率越来越高, 受到人们高度关注。本文就作者近年来在血管钙化领域的系列研究工作做一综述, 将血管钙化观念的更新、分类和发病机制、基础和转化研究中存在的困惑和希望进行剖析, 旨在推动血管钙化的机制和防治研究。

**关键词:**血管钙化; 诊断; 治疗; 转化研究

**中图分类号:** R54

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1672-3554(2017)02-0184-05

### Basic and Translational Research of Vascular Calcification

HUANG Hui<sup>1,2,3</sup>

(1. Department of Cardiology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, 2. Cardiovascular Research Program, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, 3. Guangdong Province Key Laboratory of Arrhythmia and Electrophysiology, Guangzhou 510120, China)

**Abstract:** Vascular calcification is a common pathology frequently occurred in the process of atherosclerosis, hypertension, diabetes, chronic kidney disease, vascular injury and aging, resulting in an increased prevalence of cardiovascular events. Along with the social aging process, the incidence becomes higher, and this attracts more attention. This review summarized a series of our works on vascular calcification in recent years, including the update concept of vascular calcification, recent classification and mechanism, and the confusion and hope in experimental and translational researches. This article aiming to promote further studies on the mechanisms and prevention of vascular calcification.

**Key words:** vascular calcification; diagnosis; therapy; translational research

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2017, 38(2): 184-188; 214]

血管钙化一直以来是血管领域很有争议的话题, 近年来越来越多的证据认为它是强有力的心血管死亡和总死亡风险的预测因素。在包含有

21万例患者, 随访10年的Meta分析显示, 血管钙化患者的总死亡风险和心血管事件风险是无钙化患者的3~4倍。血管钙化是动脉粥样硬化、高血

收稿日期: 2017-01-16

基金资助: 国家自然科学基金(81670676, 81422011, 81370837); 广东省自然科学基金(2014A030313035); 广州市科技计划项目(2060404)

压、糖尿病血管病变、慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)、血管损伤和衰老等普遍存在的共同的病理变化,显著增加了心血管事件的发生,随着社会老龄化的进程发病率越来越高,受到人们高度关注。本文将从血管钙化观念的更新,分类和发病机制,基础和转化研究中存在的困惑和希望进行剖析。

## 1 血管钙化的再认识

随着生活质量的提高以及人口老龄化的发展,心血管疾病的发病率也逐年升高,成为危害人类健康的主要疾病之一。在血管病变中,血管钙化是导致原发病病情恶化,死亡率增加的高危因素<sup>[1]</sup>。近年间,我及我的团队从血管钙化及其相关疾病的基础和转化研究等方面开展了一系列的探索。我国慢性肾脏病、糖尿病和高血压等慢性疾病平均患病率较高,而且随着社会老龄化进程的发展,血管钙化的患病率将迅速增多,尤其在CKD患者中,我们和其他实验室发现心血管疾病是CKD患者最重要的并发症和最主要的死亡原因,更重要的是,超过半数以上的CKD患者处于由血管钙化导致的心血管事件危险中<sup>[2-3]</sup>。因此血管钙化已成为全球范围内越来越受到关注的公共健康问题。

血管钙化既往常常被认为是继发于CKD、糖尿病、高血压、动脉粥样硬化以及老龄化等患者的“良性病变”。以往观点认为血管钙化是一个被动的、退行性的由钙磷代谢失衡主导的钙盐在血管壁沉积的终末过程;作为与衰老伴行的退行性病变,是血管老化的标志。然而,近年来大量的研究发现,血管钙化类似于骨发育代谢和软骨形成,是一个主动的、多因素参与、可调控的生物学过程<sup>[4]</sup>。曾经有观点认为血管钙化,尤其是内膜的钙化可以对粥样硬化样的血管内的软斑块有稳定化的趋势,新近有文献认为这是大剂量他汀类药物稳定斑块的重要机制,但是更多的研究结果均证实血管钙化给机体带来了严重的危害<sup>[5]</sup>。它不仅导致血管顺应性降低、弹性减小,并引起血流动力学的改变,表现为血压升高、主动脉瓣狭窄、心肌肥厚和心肌缺血等。当钙化动脉弹性降低时,血管脉搏波速增加,导致胸主动脉累积了反射波和直立行走时的压力波,因此使得收缩压和脉压升高,增

加脑卒中的风险,使得心衰、左心室肥大和舒张功能不全等情况恶化,导致死亡率增加<sup>[6]</sup>。在冠状动脉中,钙质沉积可以导致冠状动脉对血管舒张药的反应降低并影响动脉粥样硬化斑块的稳定性,血管钙化可导致钙质沉积处和斑块之间接触界面应力的集中,从而使得两处顺应性不一致,最终出现机械破坏,冠脉事件发生率增加<sup>[7]</sup>。随着无创性测量血管钙化技术的发展和引入,例如电子束计算机断层扫描技术(EBCT),加深了我们对血管钙化的再认识,也引发了临床医生对血管钙化风险的重视和思考<sup>[8]</sup>。同时由于血管钙化在目前临床治疗上缺乏有效的措施,不仅难以预防,即便发现病变后,无论是常规的药物还是血管介入手段或外科手术都很难将病变血管疏通<sup>[9]</sup>。由CKD肾功能不全导致的钙磷代谢异常、继发性甲状旁腺功能亢进、骨骼成分与结构的改变和血管及软组织钙化是CKD的常见并发症,上述的病理生理改变也称为慢性肾脏病-矿物质和骨异常(chronic kidney disease-mineral and bone disorder, CKD-MBD)。而血管钙化是其中危害性最大的表现,在患者心血管事件的发生发展中发挥着极其重要的作用<sup>[10]</sup>。目前,血管钙化愈来愈引起医学研究者的重视和思考,已经成为血管病变研究领域重点关注的科学问题。

## 2 血管钙化分类和发病机制

血管钙化主要包括血管内膜钙化、中膜钙化、瓣膜钙化和钙化防御,这四种类型的病理生理机制各具独特性,但可交错重叠,尤其是内膜钙化和中膜钙化常常并存。血管内膜钙化与动脉粥样硬化病变密切相关,又称动脉粥样硬化性钙化(atherosclerotic calcification)。动脉粥样硬化患者血管内膜处于炎症状态、内膜常增厚、易发生内膜钙化;钙化灶散在分布,常局限于斑块内。此型动脉钙化常出现在大动脉,如主动脉、颈动脉等<sup>[11]</sup>。血管中膜钙化,也称为Mönckeberg's硬化,可独立于动脉粥样硬化病变存在,常见于糖尿病、慢性肾衰竭、高血压、骨质疏松、衰老等,是临床上比较普遍的病理生理变化。中膜钙化灶常见于弹性膜附近,多见于股动脉、胫动脉、桡动脉等中小动脉。此型钙化一般不影响动脉管腔,但可导致血管僵硬、顺应性下降<sup>[12]</sup>。心瓣膜钙化是血管钙化的重

要病理类型之一。对于无症状的主动脉瓣狭窄患者而言,中至重度的瓣膜钙化是决定其疾病进展的重要因素。在瓣膜钙化的早期阶段可出现脂质沉积,瓣膜纤维化,新生血管生成,间质斑点状钙盐沉积,同时伴有T细胞和巨噬细胞的浸润。瓣膜钙化的发生与机械应激、炎症反应密切相关,常见于糖尿病、血脂异常、尿毒症等代谢性疾病<sup>[13]</sup>。钙化防御是以系统性小动脉中膜钙化和组织缺血坏死为特征的一种罕见、死亡率高的血管性疾病,常见于CKD,继发性甲状旁腺功能亢进,糖尿病以及使用免疫抑制剂患者,尤其是终末期肾脏病透析治疗或接受肾移植的患者<sup>[14]</sup>。

关于血管钙化的发生机制,纷繁复杂,众说纷纭。其中,近年来提出的骨-血管轴(bone vascular axis/bone-vascular cross-talk),这些崭新的观念为血管钙化机制的研究带来新的启发和理解。目前,对于血管钙化机制比较明确的观点主要包括以下三个方面学说:

(1)钙磷代谢紊乱学说。CKD患者常伴有钙磷代谢紊乱,这与其血管钙化的高发生率密切相关。大量的研究工作表明,机体内钙磷水平的升高可直接影响血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)的代谢和功能,并促进VSMC发生钙化<sup>[15]</sup>。高磷通过诱导VSMC凋亡促进血管钙化。在高磷诱导的人VSMC钙化模型中,发现生长抑制特异性基因6(growth arrest-specific gene 6, GAS6)及其受体Ax1的表达明显下调,这提示GAS6可能是高磷参与VSMC凋亡的潜在机制<sup>[16]</sup>。进一步的研究发现,GAS6通过Bcl-2介导的磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)信号通路发挥抗凋亡效应。磷酸化使Bcl-2失活,并激活致凋亡蛋白Bcl-2-相关死亡促进因子,导致caspase-3失活,从而引起凋亡<sup>[17]</sup>。在高磷饮食诱导的小鼠血管钙化在体模型中,发现动脉中膜VSMC数量明显减少<sup>[18]</sup>。此外,高磷还促进VSMC胞外基质的重构。在CKD诱导的中膜钙化模型中,常可出现沿动脉弹力膜呈线性矿物质沉积的典型现象,这是由于弹力蛋白降解,使得细胞外基质对Ca<sup>2+</sup>的亲合力增加,进而促进羟基磷灰石沿弹力膜沉积。有趣的是,在高磷诱导的大鼠血管钙化模型中,基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)——弹性蛋白降解酶表达上

调,同时伴有TGF- $\beta$ 信号通路激活,VSMC向成骨表型转化现象<sup>[19]</sup>。Pai等<sup>[20]</sup>的在体试验也进一步证实:高磷可通过升高弹性蛋白酶(如MMP-2, MMP-9)水平,促进胞外基质的重构,加速血管钙化的发展。与磷的作用不同,钙主要作为羟基磷灰石晶体的成核剂参与血管钙化的发生。钙能够诱导VSMC凋亡和基质小泡释放,通过形成矿物质成核位点,参与早期钙化的级联反应<sup>[21]</sup>。胞外Ca<sup>2+</sup>浓度升高,VSMC吸收Ca<sup>2+</sup>增加,通过形成膜联蛋白A6和磷脂酰丝氨酸复合物诱导VSMC基质小泡发生钙化。值得注意的是,在正常的生理环境下,钙依赖性的基质小泡成分的改变可通过囊泡摄入的钙化阻滞剂所逆转。当胞内Ca<sup>2+</sup>升高,循环中的钙化阻滞剂,MGP和胎球蛋白-A(fetuin-A),被吸收并进入基质小泡,抵抗Ca诱导的基质小泡钙化,这是VSMC为了适应内环境改变的自主反应。但是,当持续刺激超过正常范围,将导致内质网应激,以及内质网上的羧化作用通路失调,非羧化形式的MGP(无抑制钙化效应)生成增多。有关研究发现,在高钙环境中,VSMC基质小泡内MGP失活,基质小泡钙化增多。同时,该研究中也观察到进入基质小泡的MMP-2含量增加,提示钙能够通过增加金属蛋白酶的活化,进一步加速弹性蛋白降解,从而促进钙化的发展<sup>[22]</sup>,可以参考图1。

(2)血管平滑肌细胞成骨样表型转化学说。多项研究发现,在钙化的血管壁上VSMC可以向成骨样细胞转分化,并通过细胞内信号介导骨基质在管壁上沉积。骨相关转录因子(如Msx2、Sox9、Runx2和Osterix等)是调控成骨细胞表型转化的关键环节。然而,我们在钙化血管中发现,这些骨相关转录因子也能够上调VSMC骨和软骨蛋白的表达。在致骨化因子(如骨形态发生蛋白)和炎症介质(TNF- $\alpha$ )作用下,Msx2和Wnt信号通路被激活,进而上调转录因子Runx2和Osterix表达<sup>[23-26]</sup>。Runx2上调促进了下游骨相关蛋白如骨钙蛋白(osteocalcin)、硬化蛋白(sclerostin)等,受体活化因子(RANKL)表达增多。转录因子Osterix作为Runx2的下游,也可激活其他骨相关蛋白如骨涎蛋白(bone sialoprotein)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)表达上调<sup>[25]</sup>。不管在体还是离体试验均证实VSMC可以向成骨样细胞转分化。成骨表型的VSMC通过表达骨相关转录因子以及

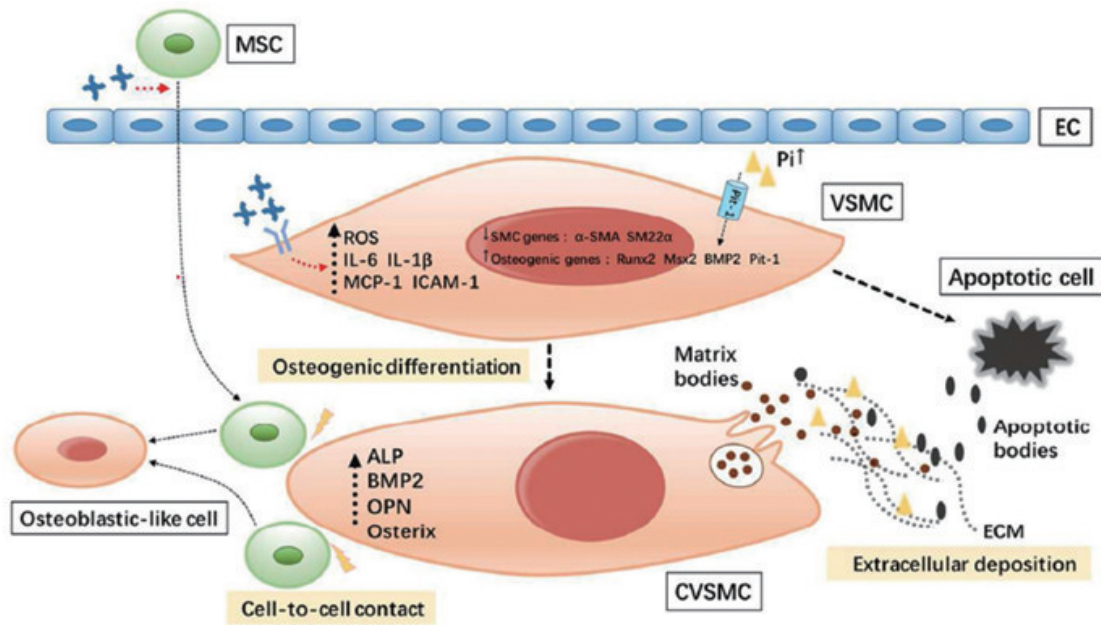


图1 血管平滑肌细胞表型转化与钙磷代谢紊乱

Fig.1 The phenotype transformation of vascular smooth muscle cell and disorder of calcium phosphate metabolism

骨基质相关蛋白参与了血管钙化的发生发展过程<sup>[26]</sup>。也有学者为了模仿CKD患者血管钙化发生的过程,将VSMC置于在高磷环境下培养,其收缩表型蛋白SM22 $\alpha$ 和 $\alpha$ -SMA表达量逐渐下调,而成骨表型标记物Runx2、osteocalcin、osteopontin、ALP等表达增加<sup>[27]</sup>。此外,在体试验也对这一学说提供了明确的证据。在羧基谷氨酸蛋白(Matrix Gla-protein, MGP)基因敲除的小鼠模型中,由于缺乏抑制钙化的MGP,小鼠在早期即出现严重的钙化表现。而且在该研究中相继出现VSMC上Runx2表达增多,血管壁出现明显的钙盐沉积,进一步说明了VSMC向成骨样细胞转分化是血管钙化过程中的重要环节<sup>[28]</sup>。

(3)血管钙化调节因子失衡学说。机体同时存在致血管钙化因子和抗血管钙化因子,两者之间相互抗衡共同维持机体平衡。在病理条件下,促血管钙化因子表达上调和/或抗血管钙化因子表达下调均可导致两者失衡,其产生的羟基磷灰石晶体是诱导血管钙化的重要环节<sup>[29-34]</sup>。

### 3 展 望

血管钙化与患者心血管疾病的发生率和死亡率的升高密切相关。因此,积极有效地防治血管

钙化对于改善心血管并发症和临床预后具有重要意义。目前,对于血管钙化尚无有效的药物及非药物治疗,并且在血管钙化发病机制中尚有众多未解之谜。现阶段的研究表明,血管钙化抑制因子可能成为潜在干预靶点,我们需要进行更多的体内及体外实验,为临床防治心血管钙化提供更可靠的理论和实验依据。

#### 参考文献:

- [1] Wu M, Rementer C, Giachelli CM. Vascular calcification: an update on mechanisms and challenges in treatment[J]. *Calcif Tissue Int*, 2013, 93(4):365-373.
- [2] Vervloet M, Cozzolino M. Vascular calcification in chronic kidney disease: different bricks in the wall[J]. *Kidney Int*, 2016, pii: S0085-2538(16)30553-30561.
- [3] Zhang K, Gao J, Chen J, et al. MICS, an easily ignored contributor to arterial calcification in CKD patients[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2016, 311(4): F663-f670.
- [4] Fadini GP, Rattazzi M, Matsumoto T, et al. Emerging role of circulating calcifying cells in the bone-vascular axis[J]. *Circulation*, 2012, 125(22):2772-2781.
- [5] Puri R, Nicholls SJ, Shao M, et al. Impact of statins on serial coronary calcification during atheroma progression and regression[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 65(13): 1273-1282.

- [6] Demer LL, Tintut Y. Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease[J]. *Circulation*, 2008, 117(22):2938-2948.
- [7] Madhavan MV, Tarigopula M, Mintz GS, et al. Coronary artery calcification: pathogenesis and prognostic implications[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 63(17):1703-1714.
- [8] Yoshida H, Yokoyama K. Mechanism, imaging technique and therapy for vascular calcification in patients of chronic kidney disease[J]. *Clin Calcium*, 2007, 17(5):726-733.
- [9] Shroff R, Long DA, Shanahan C. Mechanistic insights into vascular calcification in CKD[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2013, 24(2):179-189.
- [10] Yamada S, Giachelli CM. Vascular calcification in CKD-MBD: Roles for phosphate, FGF23, and Klotho[J]. *Bone*, 2016, pii: S8756-3282(16):30345-3
- [11] Budoff MJ, Achenbach S, Blumenthal RS, et al. Assessment of coronary artery disease by cardiac computed tomography: a scientific statement from the American Heart Association Committee on Cardiovascular Imaging and Intervention, Council on Cardiovascular Radiology and Intervention, and Committee on Cardiac Imaging, Council on Clinical Cardiology[J]. *Circulation*, 2006, 114(16):1761-1791.
- [12] Lanzer P, Boehm M, Sorribas V, et al. Medial vascular calcification revisited: review and perspectives[J]. *Eur Heart J*, 2014, 35(23):1515-1525.
- [13] Towler DA. Molecular and cellular aspects of calcific aortic valve disease[J]. *Circ Res*, 2013, 113(2):198-208.
- [14] Mathur RV, Shortland JR, El-Nahas AM. Calciphylaxis[J]. *Postgrad Med J*, 2001, 77(911):557-561.
- [15] Miyamoto K, Tatsumi S, Segawa H, et al. Regulation of PiT-1, a sodium-dependent phosphate co-transporter in rat parathyroid glands[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 1999, 14 Suppl 1:73-75.
- [16] Son BK, Kozaki K, Iijima K, et al. Statins protect human aortic smooth muscle cells from inorganic phosphate-induced calcification by restoring Gas6-Axl survival pathway[J]. *Circ Res*, 2006, 98(8):1024-1031.
- [17] Son BK, Kozaki K, Iijima K, et al. Gas6/Axl-PI3K/Akt pathway plays a central role in the effect of statins on inorganic phosphate-induced calcification of vascular smooth muscle cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 556(1-3):1-8.
- [18] El-Abbadi MM, Pai AS, Leaf EM, et al. Phosphate feeding induces arterial medial calcification in uremic mice: role of serum phosphorus, fibroblast growth factor-23, and osteopontin[J]. *Kidney Int*, 2009, 75(12):1297-1307.
- [19] Bouvet C, Moreau S, Blanchette J, et al. Sequential activation of matrix metalloproteinase 9 and transforming growth factor beta in arterial elastocalcinosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(5):856-862.
- [20] Pai A, Leaf EM, El-Abbadi M, et al. Elastin degradation and vascular smooth muscle cell phenotype change precede cell loss and arterial medial calcification in a uremic mouse model of chronic kidney disease[J]. *Am J Pathol*, 2011, 178(2):764-773.
- [21] Yang H, Curinga G, Giachelli CM. Elevated extracellular calcium levels induce smooth muscle cell matrix mineralization in vitro[J]. *Kidney International*, 2004, 66(6):2293-2299.
- [22] Kapustin AN, Davies JD, Reynolds JL, et al. Calcium regulates key components of vascular smooth muscle cell-derived matrix vesicles to enhance mineralization[J]. *Circ Res*, 2011, 109(1):e1-12.
- [23] Westendorf JJ, Kahler RA, Schroeder TM. Wnt signaling in osteoblasts and bone diseases[J]. *Gene*, 2004, 341:19-39.
- [24] Bostrom KI, Rajamannan NM, Towler DA. The regulation of valvular and vascular sclerosis by osteogenic morphogens[J]. *Circ Res*, 2011, 109(5):564-577.
- [25] Hill TP, Später D, Taketo MM, et al. Canonical Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling Prevents Osteoblasts from Differentiating into Chondrocytes[J]. *Developmental Cell*, 2005, 8(5):727-738.
- [26] Feng W, Zhang K, Liu Y, et al. Apocynin attenuates angiotensin II-induced vascular smooth muscle cells osteogenic switching via suppressing extracellular signal-regulated kinase 1/2[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(50):83588-83600.
- [27] Steitz SA, Speer MY, Curinga G, et al. Smooth muscle cell phenotypic transition associated with calcification: upregulation of Cbfa1 and downregulation of smooth muscle lineage markers[J]. *Circ Res*, 2001, 89(12):1147-1154.
- [28] Speer MY, Yang HY, Brabb T, et al. Smooth muscle cells give rise to osteochondrogenic precursors and chondrocytes in calcifying arteries[J]. *Circ Res*, 2009, 104(6):733-741.
- [29] Shimizu T, Tanaka T, Iso T, et al. Notch Signaling