

[文章编号] 1007-3949(2010)18-10-0833-04

• 文献综述 •

血管钙化形成与消退机制的新进展

王中群 综述, 刘乃丰 审校

(东南大学附属中大医院心内科, 江苏省南京市 210009)

[关键词] 钙化; 脂质小泡; 弹性蛋白; 平滑肌细胞; 破骨细胞; 骨-血管轴

[摘要] 血管钙化是由于高钙磷环境以及局部或全身矿化诱导子上调、抑制子下调所导致的骨特异性羟基磷灰石结晶主动沉积在血管壁的病理过程。在这一过程中, 血管壁矿化防御机制被耗竭, 平滑肌细胞等间叶细胞丢失原有表型而获得成骨表型, 释放矿化脂质小泡。脂质小泡(在动脉壁至少存在基质小泡和凋亡小体两种形式)为钙化结晶提供了合适的成核微环境, 而血管壁弹性蛋白则为羟基磷灰石沉积提供了支架结构。因此在钙沉积(成骨细胞样细胞介导)与钙吸收(破骨细胞样细胞介导)之间的平衡被打破后, 血管壁内膜、中膜或主动脉瓣膜就可能形成异位钙化。针对钙化形成的机制及钙化危险因素进行干预和调控, 有可能对血管钙化的逆转和消退带来有益的影响, 尤其是对钙化灶内破骨细胞或破骨细胞样细胞数量与活性的上调可能是一个更有效的治疗策略。但由于骨-血管轴钙化异象的存在, 如何将正位骨形成与异位钙吸收有机的协调在一起尚是今后研究的一个难题。

[中图分类号] R361

[文献标识码] A

Research Progress of Mechanisms on Formation and Regression in Vascular Calcification

WANG Zhong-Qun, and LU Nai-Feng

(Department of Cardiovascular Medicine, Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210009, China)

[KEY WORDS] Calcification; Lipid Vesicle; Elastin; Smooth Muscle Cell; Osteoclast; Bone-Vascular Axis

[ABSTRACT] Vascular calcification is an active, cell-regulated process characterized by the deposition of hydroxyapatite crystal in vascular wall resulted from high-calcium /phosphate - environment up-regulation of mineralization inducers and down-regulation of mineralization inhibitor in local or systemic sites. In this process, the protective system against vascular mineralization is exhausted, and mesenchyma such as vascular smooth muscle cells (VSMC), lose the intrinsic phenotypes but gain the osteogenic phenotypes. Consequently, mineralized cells release some lipid vesicles which have two forms at least in vascular wall such as matrix vesicle and apoptosis body. Lipid vesicles provide appropriate nucleating micro-environments for vascular calcification, and vascular elastin provides the bracket structure for hydroxyapatite deposition. So, under the condition that the balance between calcium deposition (mediated by osteoblast-like cells) and calcium absorption (mediated by osteoclast-like cells) is disrupted, ectopic calcification of vascular intima media or aortic valve may be developed. Intervention on the mechanisms and risk factors of vascular calcification may bring some beneficial effects on the reverse and regression of vascular calcification. In particular, up-regulation on the number and activity of osteoclasts or osteoclast-like cells in calcification lesion may be a more efficient therapeutic strategy. However, it will be a difficult problem in future how to coordinate the relation between normotopic bone formation and ectopic calcification absorption because of calcification paradox in bone-vascular axis.

在富钙海洋中演化而来的真核生物具有阻遏组织内钙沉积物晶核形成与增殖的机制。在软体动物, 黏蛋白控制碳酸钙贝壳的钙沉积。在脊椎动物, 脂质小泡(包括基质小泡、凋亡小体)和调节性蛋白控制骨羟基磷灰石 $[Ca_{10}(OH)_2(PO_4)_6]$ 晶体的形成^[1]。一旦这种调控机制出现问题, 就会导致钙吸收与钙沉积的平衡异常, 在脊椎动物就有可能导

致广泛的异位软组织钙化, 例如血管钙化(vascular calcification)^[2]。鉴于血管钙化(内膜钙化、中膜钙化、钙化防御、瓣膜钙化等)在糖尿病、慢性肾病和动脉粥样硬化等多种疾病中的重要临床意义^[3], 在结合本课题组系列工作^[4-5]的基础上本文就血管钙化形成与消退机制的新进展作一综述。

1 钙化的形成

1.1 高钙磷环境

充足的磷酸盐荷载是正位骨骼矿化和异位血管钙化发生的重要条件^[6-7]。增加血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)培养基中磷酸盐水平, 可诱导矿化的发生并下调血管平滑肌细胞分化基因。例如, 高磷环境下钙化血管细胞(calcifying vascular cells, CVC)培养 14天形成明显

[收稿日期] 2010-06-21 [修回日期] 2010-09-22

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30840042)

[作者简介] 王中群, 博士研究生, 讲师, 主要研究方向为动脉硬化的发生机制与防治, Email为 wangzq@ yahoo.com.cn。通讯作者刘乃丰, 博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 主要研究方向为分子细胞心脏病学与心血管影像学, 联系电话为 025-83272001, Email为 lin@ seu.edu.cn。

钙化结节^[8]。阻断或者下调钠依赖磷酸盐共转运子 PII-1 表达会阻断磷酸盐进入细胞,并进而抑制 VSMC 向成骨细胞样表型转化及随后的矿化(经最初的无定形磷酸八钙重组形成骨钙特异性羟基磷灰石结晶);过表达 PII-1 的转基因小鼠 VSMC 则可恢复这一磷酸盐诱导成骨分化的效应^[9]。高钙与高磷酸盐联合的超生理剂量应用可强力诱导 VSMC 基质小泡和凋亡小体的形成,进一步发展可形成钙化。基于已有的流行病学资料和横断面分析,高磷酸盐血症和/或高钙血症引起的钙磷乘积增加是尿毒症患者心血管死亡率增加和钙化进展的一个关键因素。不过,如果仅有高钙磷环境而没有机体矿化防御机制的损伤及血管壁细胞表型的转变血管钙化仍然不能形成。

1.2 网架结构——脂质小泡和弹性蛋白

糖尿病、尿毒症、高脂血症和透析患者血管壁细胞可释放脂质小泡,这些释放的小泡可在局部主动摄取并富集钙和磷酸盐,生成无定形磷酸钙并进一步转化为羟基磷灰石(这一过程需要轻微的碱性环境, pH 为 7.4~7.8)^[10],因此脂质小泡为钙化晶体提供了一个合适的成核微环境^[11,12]。动脉粥样硬化斑块的电镜观察显示微钙化灶、羟基磷灰石纳米颗粒和胆固醇结晶均可出现在脂质小泡上。迄今为止,在动脉壁已发现至少两种脂质小泡可促进钙化成核:①凋亡或濒死细胞例如泡沫细胞释放的凋亡小体(直径为 250 nm 左右);②活 VSMC 和 CVC 产生的矿化基质小泡(直径为 100 nm 左右)。其中凋亡小体可通过上调基质细胞衍生因子 SDF-1 α /CXCL12 的表达而介导 Scavenger 细胞的血管归巢,故此中膜 VSMC 小泡形成有助于募集外膜成骨祖细胞及钙化的发生,增加既有斑块的不稳定性;而矿化基质小泡类似于膜性骨的矿化,具有强力促钙化效能,在主动脉钙化中占据主要地位。但并非所有的基质小泡都具有矿化倾向。例如,人类动脉粥样硬化病变内的 iv 型基质小泡可抵抗钙化的发生,而 ③型基质小泡则可作为钙化的启动位点通过同源性成核现象促进钙化的发生^[13]。形成的羟基磷灰石结晶在 1~2 μ m 直径和 10~50 \AA 孔径时生物学活性最强^[14]。

动脉中膜细胞外基质中最丰富的蛋白是弹性蛋白。这是一种纤维状交联蛋白,在受到异常因素作用后其交联程度降低,分子间开放空间增大,因此可作为羟基磷灰石沉积的支架结构或晶核形成的中心位点而促进血管钙化的形成^[15]。用丹宁酸对猪主动脉壁弹力纤维(中心组分为弹性蛋白)进行特异性交联可使弹力纤维稳定性增加 15 倍,钙化水平降低 66%。此外,动脉壁弹性蛋白的含量随着血管向外周变细而减少,中膜钙化也减少。研究证实中膜钙化的危险因素如衰老和糖尿病与动脉弹性蛋白网络的退行性变化相伴随。而且,钙化进程几乎都开始于血管壁弹性蛋白层附近,弹性蛋白降解产物例如微丝可诱导培养的平滑肌细胞和皮肤成纤维细胞发生成骨分化。体外研究中,耗竭主动脉及其瓣膜的基质小泡后,钙化仍可通过弹性蛋白介导成核作用而发生。在体研究中,异常的弹性蛋白矿化与代谢是 Marfan 氏综合征动脉中膜钙化的原因;弹性蛋白代谢的继发性变化损害中膜 VSMC 终末分化,促进弹性蛋白成核化的中膜钙

化。直接的弹性蛋白成核钙化也发生于弹性纤维假黄瘤;电子显微镜证实缺乏基质小泡形成的情况下钙沉积沿着弹性纤维分布。因此,尽管机制有待阐明,但弹性蛋白基质代谢的改变确实增强了主动脉钙沉积和 VSMC 表型漂移。

1.3 调控子

在高糖高脂、凋亡、氧化应激、二价离子代谢紊乱、机械损伤和血管新生等多种诱发因素作用下,钙化诱导子上调而抑制子丢失。一旦诱导与抑制二者间的平衡被打破,矿化防御机制被耗竭,羟基磷灰石晶体增长动力学与局部钙磷酸盐利用度发生改变,心血管系统的异位钙化就可能发生^[16]。本文只对几个关键的内源性调控子进行简单阐述。

1.3.1 骨形成蛋白

骨形成蛋白 (bone morphogenetic proteins BMP) 属于 TGF- β 超家族,在异位钙化的形成与发展中发挥了重要作用^[17]。其中 BMP-2 和 BMP-4 参与了矿化与局部炎症的诱导,而 BMP-7 则阻滞血管钙化。在动脉粥样硬化病灶内内皮细胞、泡沫细胞和平滑肌细胞均可表达 BMP; BMP-2 表达的上调还可使多能间充质祖细胞发生成骨分化和软骨分化。多项研究显示血管成骨信号是由外膜肌成纤维细胞亚群 BMP-2-Msx2 作用启动,经滋养血管或新生血管传递给钙化中膜,在这一过程中 Wnt 信号最终控制中膜 CVC 诱导的同心矿化。用手术剥脱外膜可减少高脂饮食饲喂大鼠的动脉中膜钙化。

1.3.2 碱性磷酸酶与无机焦磷酸盐

碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase ALP) 是成骨细胞的一个功能性表型标记物,其活性亦经常被视为血管钙化的晴雨表^[18]。生理状态下 ALP 和 iv 型胶原仅局限于成骨组织例如骨和牙齿,将 ALP 和 iv 型胶原基因转入肝细胞,可诱导转基因细胞周围出现矿化。研究显示只要组织中细胞外基质富含丝状胶原(例如 iv 型胶原),并一致的表达 ALP(或其他焦磷酸酶)来剪切普遍存在的矿化抑制剂例如焦磷酸盐 (pyrophosphate PPi) 形成足够的磷酸盐 (phosphate Pi) 作为羟基磷灰石形成的底物,钙化就可发生。由此不难看出 ALP 在矿化调节中所发挥的举足轻重的作用。不过正常情况下富含胶原(包括 iv 型胶原)和弹性纤维的动脉中膜并没有发生钙化,原因就在于嵌入在胶原和弹性纤维层间的 VSMC 可通过核苷酸焦磷酸酯酶/磷酸二酯酶 1 (ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 NPP1) 和转运子 ANK 产生大量的焦磷酸盐拮抗钙化,这种情况在主动脉环尤其明显^[19,20]。一旦动脉壁受到机械损伤,或者受到 BMP-2 和氧化 LDL 的刺激,或者其他钙化级联信号(例如 BMP-2-Msx2-Wnt 信号)被启动,动脉壁就可能出现 ALP 及其活性的上调。上调的 ALP 可降解血管钙化的强效抑制子无机焦磷酸盐,使得钙化抑制丢失,钙化诱导增强。

1.3.3 胎球蛋白 A

与骨桥蛋白 (osteopontin OPN)、骨保护素 (osteoprotegerin OPG) 和基质 γ 羧基谷氨酸蛋白 (matrix Gla protein MGP) 在血管壁局部发挥功效不一样,胎球蛋白 A 是循环中的一个钙化抑制子。体外研究中,胎球蛋白 A 可强力抑制羟基磷灰石晶体的从头合成,但一旦晶体形成就不能再发挥抑制效应。动物数据也支持胎球蛋白 A 的重要

作用,胎球蛋白缺陷小鼠在心、肾、舌、皮肤形成广泛的软组织钙化^[21]。无细胞体系研究显示胎球蛋白 A 可与钙和磷酸盐一起形成稳定的胶状球体,称为钙蛋白微粒,在体研究显示这个高分子复合体中胎球蛋白 A 是主要部分(80%),另外还包含钙磷酸盐矿物(18%)和 MGP(2%)。钙蛋白微粒可能负责对小的钙化核进行清除。除此之外,胎球蛋白 A 可被发生成骨分化的 VSMC 摄取,阻遏钙化的发展。

1.4 骨软骨表型细胞的起源

研究显示在钙化血管壁有成骨细胞(合成并分泌包括胶原和糖蛋白的骨基质,其中分泌的胶原 95% 为 iv 型胶原,此外还有少量的 I 型、II 型和 III 型胶原。成骨细胞与破骨细胞参与调控骨吸收与骨沉积平衡)、软骨细胞和破骨细胞表型的存在。Demer 假说认为血管钙化是成骨细胞样细胞在原位发生的一个主动骨形成过程。目前关于该类细胞起源研究最多也最受认可的当属 VSMC 表型的转向分化。一旦骨软骨表型细胞出现,矿化就可在细胞外基质中进行。

基础状态呈收缩表型的 VSMC 在受到损伤或诱导时可转分化为增殖合成表型并具有分泌细胞外基质的功能。在动脉粥样硬化病变进展为纤维钙化斑块时,VSMC 表达某些成骨分化的标记物,例如 BMP2、ALP、iv 型胶原和转录因子 Cbfa1、osterix。成骨细胞表型的获得伴随着平滑肌分化特有标记物 SM 22 α 和 α -actin 的下调及基质小泡的分泌。目前已经确证在血管壁存在 SMC 亚群 CVC。CVC 同时也具有多种间叶细胞(包括成骨细胞)的潜能,该亚群细胞占 VSMC 的 20%~30%^[22]。体外培养 CVC 可自发形成矿盐沉积和多细胞结节。这些钙化结节与骨组织有很多共同特性,与动脉粥样硬化斑块和主动脉瓣膜结节也具有大体及组织学的类似性。同时这些钙化结节形成的点状或直径约 500 μ m 隆起的空间分布受 TGF β 1 和 25 羟基胆固醇的影响,在缺乏 apoJ(聚集素)或者存在 forskolin 情况下结节模式会破坏。

除了向成骨细胞样细胞转分化,VSMC 也能获得软骨细胞样表型。在慢性肾衰竭大鼠钙化主动脉及人主动脉均出现了软骨细胞特异性转录因子 SOX9 和 I 型胶原的表达,显示血管钙化可能部分的类似于软骨内骨形成。遗传性原基分布图有力地证实钙化血管软骨细胞来源于 VSMC,因为 MGP 敲除小鼠动脉表达软骨细胞特异性 I 型胶原的细胞 99% 都起源于平滑肌细胞^[23,24]。

此外,血管壁残存的周细胞也会促进血管的异位钙化发生。外膜滋养血管的周细胞能通过血管新生迁徙到动脉中膜或内膜。在裸鼠,注入扩散盒的周细胞形成了多种骨骼组织包括骨、软骨、矿化软骨、纤维软骨、非矿化软骨样区域^[25]。因此,在动脉粥样硬化病灶内该类细胞的激活可能是动脉壁骨祖细胞的一个来源。值得注意的是,出现在高血脂血症 apoE^{-/-} 和 LDLR^{-/-} 小鼠的主动脉外膜的富 Scat1⁺ (干细胞抗原)的细胞群也可向矿化成骨细胞分化。不过,相对于 VSMC 的转分化,Scat1⁺ 祖细胞募集对血管成骨细胞分化的作用还有待在糖尿病、慢性肾病和动脉粥样硬化等临床疾病血管钙化中进行深入研究。

综合已有研究进展,可以认为高钙磷及氧化应激等多种

因素启动了血管壁损伤、细胞表型的转化以及脂质小泡的释放。释放的脂质小泡与受损的弹性蛋白可主动摄取、富集钙磷;当钙化防御机制被耗竭时富集的钙磷经无定形磷酸钙最终转变为晶型羟基磷灰石,钙化形成。

2 钙化的消退

血管钙化研究中另一个备受关注的问题是血管钙化是否可逆或者是否能够治疗,换句话说已经形成的血管钙化能否减少或消退?如果可以消退,什么因素可以促进这一消退进程?尽管这些问题大部分尚未解决,但已有的研究认为针对危险因素和调控子的干预以及针对破骨细胞或破骨细胞样细胞的诱导可能在血管钙化重塑与消退过程中发挥了重要作用。当然,在进行新的治疗策略或干预措施前尚需考虑该治疗或干预对骨-血管轴所造成的影响。

2.1 对危险因素和调控子进行干预

由于疾病阶段和病变部位的不同,机械性、炎症性、代谢性、内分泌性和弹性蛋白降解性损伤对主动脉钙化程度的影响都会有所不同。因此在设计临床研究和治疗策略时,一定要考虑促进主动脉钙化的相关特异性机制,对危险因素和调控子进行干预。例如氧化脂质与凋亡小体竞争,使得斑块内形成的凋亡小体不能及时地被巨噬细胞或 VSMC 清除,以致越积越多导致继发性坏死和钙化的发生。因此未来的治疗策略如能增加斑块内高效吞噬细胞的数量与活性有可能达到清除钙沉积的目的^[26]。

无机焦磷酸盐是血管钙化的强效内源性抑制剂,升高焦磷酸盐水平表达可能会是一个比较理想的钙化消退策略。双磷酸盐是非水解性焦磷酸盐的稳定化学类似物,对羟基磷灰石有很高的亲和性。大剂量双磷酸盐通过对磷酸钙结晶形成及聚合的理化干预而阻断无定形磷酸钙向羟基磷灰石转变进而抑制矿化(但这种对矿化的抑制似乎局限于既有钙化)^[27]。在巨噬细胞或破骨细胞样细胞吸收血管钙化物时,双磷酸盐可吸附在动脉壁羟基磷灰石矿物上并随之引发局部细胞效应。不过,长期应用双磷酸盐治疗的患者出现了骨代谢的过度抑制、骨量的下降和微小骨折发生风险的增加。这一副作用限制了双磷酸盐在钙化拮抗治疗中的实际应用。

此外,其他如 Sevelamer 他汀类、内皮素 A 受体拮抗剂、BMP7 以及胎球蛋白 A 等针对调控机制的钙化消退研究也在积极进展中,这些基础与临床研究的出现为钙化血管病变的改善带来了希望。

2.2 破骨细胞或破骨细胞样细胞的钙化吸收与消退

针对破骨细胞的调控包括两个主要进程:来自造血前体(单核/巨噬细胞系)的新破骨细胞的募集;成熟破骨细胞的活化与生存^[28]。在 M-CSF 和 RANKL 等刺激因子作用下,前体单核造血干细胞(与巨噬细胞具有共同祖先)融合分化为巨大的多核成熟破骨细胞或破骨细胞样细胞,发挥骨吸收(可在灭活的骨片上形成吸收陷窝)、重塑与异位钙化消退作用^[29,30]。破骨细胞或破骨细胞样细胞通过其胞膜上高度特化的质子泵分泌酸,分解骨或钙化组织中的无机矿物质例如

羟基磷灰石;并同时通过分泌胶原酶和多种溶酶体酶,降解吸收有机骨基质如胶原。

形态学研究证实,在钙化动脉粥样硬化病灶及 OPG 敲除小鼠中膜钙化灶内存在多核破骨细胞样细胞。与破骨细胞分化和活性相关的促进性细胞因子(例如 M-CSF 和 RANKL)以及抑制性细胞因子(例如 OPG、IL-18 和 IL-12)在某些情况下也可出现于动脉壁。例如 RANKL 在正常动脉一般不会表达,但却表达于动脉粥样硬化病灶和动脉中膜钙化灶。这类因子的富集与下调改变了破骨细胞或破骨细胞样细胞的分化与活性,并进而影响了血管钙化的进展或消退。体外研究显示破骨细胞可重吸收与弹性纤维有关的矿物,但并不影响弹性蛋白的完整性;在钙化弹性蛋白附近皮下移植破骨细胞可减少弹性蛋白矿化,这显示钙化中膜破骨细胞样细胞的募集或产生是诱导血管钙化进程消退的一个潜在通路^[31]。

Tintut 的研究似乎显示了在破骨细胞吸收方面骨与钙化血管的不同^[32],矿化血管细胞(即使有成骨细胞表型)抑制破骨细胞的活性,减弱其骨吸收功能;但在骨骼,成骨细胞表型的出现会促进破骨细胞的募集与活化进而启动骨的重塑循环。这可能也是血管钙化区即使有破骨细胞数量增加但钙化依旧进展的原因。因此如何提高异位血管钙化部位破骨细胞的活性也成为钙化消退亟待解决的问题。

2.3 钙化消退策略要考虑骨-血管轴钙化异象的影响

血管壁显著的异位钙化经常伴随着骨矿密度的降低或骨代谢的紊乱(即钙化异象)。在普通人群、慢性肾病患者和骨质疏松症患者以及罕见骨病(例如 Paget's disease)患者均可出现钙化异象^[2]。系列双能 X 线骨密度仪扫描显示骨矿密度每降低一个标准差,心血管死亡风险就增加 30%。

在骨-血管轴钙化异象中 OPG-RANK-RANKL 系统可能发挥了重要作用^[33]。RANKL 通过抑制凋亡而进一步促进成熟破骨细胞的活化与生存。而可溶性 OPG 作为一个诱骗受体阻止 RANKL 与破骨细胞前体上表达的 RANK 结合,阻滞破骨细胞分化。因此 OPG/RANKL 比率是骨量、骨代谢与骨重塑的一个重要决定因素。一旦 OPG/RANKL 间的平衡被打破就可能会出现骨-血管轴的紊乱。例如 OPG 敲除小鼠出现骨质疏松症和血管钙化两种表型,其中 2/3 在主动脉和肾动脉出现了严重的中膜钙化。已有的研究显示, TGF- β 介导 OPG-RANK-RANKL 系统在骨和血管壁发挥反相调节。此外,某些因素例如氧化脂质在动脉内皮下间隙促进血管钙化的发生,而在骨骼组织则抑制骨的形成,这也提示了骨质疏松与血管钙化的某种潜在联系。

正是基于上述骨-血管间的相互关系,对骨病的治疗可能会对心血管钙化及风险造成潜在影响;反之亦然,抑制或逆转血管钙化的治疗也可能对骨组织造成潜在影响(如破骨细胞活性过度上调,而成骨细胞活性却不能代偿性的变化,使得降解超过形成则有可能引起骨质疏松症的发生)。因此,综合多个研究结果,在制定钙化消退策略时需要慎重考虑骨-血管轴钙化异象的存在。

3 结语

随着医疗界与学术界对血管钙化重视程度的提高以及钙化研究的深入,血管钙化的形成与消退机制渐趋明了。目前的大多数观点倾向于认为血管钙化不是钙与磷酸盐的被动沉积,而是在二价离子代谢紊乱情况下,诱导子不恰当地上调而抑制子不恰当地丢失,致使血管壁某些细胞原有表型丢失而获得成骨细胞表型,释放矿化脂质小泡,在血管壁不同部位出现骨特异性的羟基磷灰石结晶,而且这种结晶体会在矿化防御机制耗竭情况下不断生长与增殖,出现相应的临床症状与体征。针对钙化形成的机制及钙化危险因素所进行的干预和调控,有可能对血管钙化的逆转和消退带来有益的影响,尤其是对钙化灶内破骨细胞或破骨细胞样细胞数量与活性的适度上调可能是一个更有效的治疗策略。但由于骨-血管轴钙化异象的存在,如何将正位骨形成与异位钙吸收有机的协调在一起尚是今后研究的一个难题。

[参考文献]

- [1] Demer LL, Tintut Y. Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease [J]. *Circulation*, 2008 **117** (22): 2938-948
- [2] Persy V, Dhase P. Vascular calcification and bone disease: the calcification paradox [J]. *Trends Mol Med*, 2009 **15** (9): 405-416
- [3] Johnson RC, Leopold JA, Loscalzo J. Vascular calcification: pathobiological mechanisms and clinical implications [J]. *Circ Res*, 2006 **99** (10): 1044-059
- [4] Ren X, Shao H, Sun ZL, et al. Advanced glycation end products enhance calcification in vascular smooth muscle cells [J]. *J Int Med Res*, 2009 **37** (2): 847-854
- [5] 谈君,任晓妹,刘乃丰. 糖尿病大鼠钙化血管中 Msx2 和 Wnt3a 的表达 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010 **18**(3): 173-176
- [6] Prosdocimo DA, Wyler SC, Romani AM, et al. Regulation of vascular smooth muscle cell calcification by extracellular pyrophosphate homeostasis: synergistic modulation by cyclic AMP and hyperphosphatemia [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2010 **298** (3): C702-713
- [7] Mune S, Shibata M, Hatamura I, et al. Mechanism of phosphate-induced calcification in rat aortic tissue culture: possible involvement of Pit-1 and apoptosis [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2009 **13** (6): 571-577
- [8] Miyazaki-Anzai S, Levi M, Kratzer A, et al. Farnesyl X receptor activation prevents the development of vascular calcification in ApoE^{-/-} mice with chronic kidney disease [J]. *Circ Res*, 2010 **106** (12): 1807-817
- [9] Gonzalez M, Martinez R, Amador C, et al. Regulation of the sodium-phosphate cotransporter Pit-1 and its role in vascular calcification [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2009 **7** (4): 506-512
- [10] Higgins CL, Marvel SA, Morrisett JD. Quantification of calcification in atherosclerotic lesions [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005 **25** (8): 1567-576
- [11] Chen NX, O'Neill KD, Chen X, et al. Annexin-mediated matrix vesicle calcification in vascular smooth muscle cells [J]. *J Bone Miner Res*, 2008 **23** (11): 1798-805
- [12] Shroff RC, Shanahan CM. The vascular biology of calcification [J]. *Semin Dial*, 2007 **20** (2): 103-109
- [13] Bobryshev YV, Killingsworth MC, Huynh TG, et al. Are calcifying matrix vesicles in atherosclerotic lesions of cellular origin [J]? *Basic Res Cardiol*, 2007 **102** (2): 133-143
- [14] Nadra I, Boccardo AR, Philipidis P, et al. Effect of particle size on hydroxyapatite crystal-induced tumor necrosis factor alpha secretion by macrophages [J]. *Atherosclerosis*, 2008 **196** (1): 98-105

(下转第 840 页)

(上接第 836 页)

- [15] Aikawa E, Aikawa M, Libby P, et al. Arterial and aortic valve calcification abolished by elastolytic cathepsin S deficiency in chronic renal disease [J]. *Circulation*, 2009 **119** (13): 1785-794
- [16] Giachelli CM. Inducers and inhibitors of bioneralization: lessons from pathological calcification [J]. *Orthod Craniofac Res* 2005 **8** (4): 229-231.
- [17] Shao JS, Aly ZA, Lai CF, et al. Vascular BmpMx2Wnt signaling and oxidative stress in arterial calcification [J]. *Ann NY Acad Sci* 2007 **1117** 40-50
- [18] Orimo H. The mechanism of mineralization and the role of alkaline phosphatase in health and disease [J]. *Nippon Med Sch*, 2010 **77** (1): 4-12
- [19] Polewski MD, Johnson KA, Foster M, et al. Inorganic pyrophosphate induces type I collagen in osteoblasts [J]. *Bone* 2010 **46** (1): 81-90
- [20] Huang MS, Sage AP, Lu J, et al. Phosphate and pyrophosphate mediate PKA-induced vascular cell calcification [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008 **374** (3): 553-558
- [21] Ketteler M. Fetuin-A and extraosseous calcification in uremia [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005 **14** 337-342
- [22] Reynolds JL, Joannides AJ, Skepper JN, et al. Human vascular smooth muscle cells undergo vesicle-mediated calcification in response to changes in extracellular calcium and phosphate concentrations: a potential mechanism for accelerated vascular calcification in ESRD [J]. *J Am Soc Nephrol* 2004 **15** 2857-867.
- [23] Neven E, Dauwe S, De Broe ME, et al. Endochondral bone formation is involved in media calcification in rats and in men [J]. *Kidney Int* 2007 **72** 574-581
- [24] 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** 733-741.
- [25] Farrington-Rock C, Crofts NJ, Doherty MJ, et al. Chondrogenic and adipogenic potential of microvascular pericytes [J]. *Circulation*, 2004 **110** 2226 - 232
- [26] Clarke M, Bennett M. The emerging role of vascular smooth muscle cell apoptosis in atherosclerosis and plaque stability [J]. *Am J Nephrol* 2006 **26** (6): 531-535
- [27] Neven EG, De Broe ME, Dhase PC. Prevention of vascular calcification with bisphosphonates without affecting bone mineralization: a new challenge [J]? *Kidney Int* 2009 **75** (6): 580-582
- [28] Massy ZA, Mentaverri R, Mozar A, et al. The pathophysiology of vascular calcification: are osteoclast-like cells the missing link [J]? *Diabetes Metab* 2008 **34** (Suppl 1): S16-20
- [29] Chambers TJ. The birth of the osteoclast [J]. *Ann NY Acad Sci* 2010 **1192** (1): 19-26
- [30] Gordeladze JO, Reseland JE, Duroux-Richard I, et al. From stem cells to bone phenotype acquisition, stabilization, and tissue engineering in animal models [J]. *ILAR J*, 2009 **51** (1): 42-61
- [31] Simpson CL, Lindley S, Eisenberg C, et al. Toward cell therapy for vascular calcification: osteoclast-mediated demineralization of calcified elastin. *Cardiovasc Pathol* 2007, **16** 29-37.
- [32] Tintut Y, Abedin M, Cho J, et al. Regulation of RANKL-induced osteoclastic differentiation by vascular cells [J]. *J Mol Cell Cardiol* 2005 **39** (2): 389-393
- [33] Boyce BF, Xing L. The RANKL/RANK/OPG pathway [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2007 **5** (3): 98-104

(此文编辑 李小玲)