

骨保护素系统与动脉粥样硬化的关系

徐高阳¹综述, 罗助荣^{1,2}审校

(1 福建中医药大学研究生部, 福建省福州市 350108; 2 解放军南京军区福州总医院心内科, 福建省福州市 350025)

[关键词] 骨保护素; 动脉粥样硬化; 血管钙化; 急性冠状动脉综合征

[摘要] 自最初发现骨保护素(OPG)对骨骼新陈代谢有重要的调节功能以来, 因其在血管性疾病和钙化中发挥的重要作用已经引起了人们的广泛关注。在动物模型和临床研究中发现, 骨保护素不仅能抑制动脉粥样硬化, 而且其血清水平随着血管硬化、冠状动脉疾病和未来心血管事件的进展而升高。这一特点的确切机制和意义尚不明确。为了解其完整的作用模式, 骨保护素基因多态性、钙化、炎症、凋亡及其配体之间的相互关系应纳入研究, 文章将近年来骨保护素与动脉粥样硬化关系的研究进展作一综述。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Relationship Between Osteoprotegerin System and Atherosclerosis

XU GAO-YANG¹, and LUO Zhu-Rong²

(1 Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350108; 2 Department of Cardiology, PLA Fuzhou General Hospital, Fuzhou, Fujian 350025, China)

[KEY WORDS] Osteoprotegerin; Atherosclerosis; Vascular Calcification; Acute Coronary Syndrome

[ABSTRACT] Since its initial discovery as a key regulator in bone metabolism, osteoprotegerin (OPG) has become the subject of intense interest for its role in vascular disease and calcification. In animal models and clinical studies it is revealed that OPG can inhibit atherosclerosis (As), and its serum level increases in association with vascular calcification, coronary artery disease and future cardiovascular events. This feature of the exact mechanism and significance is not clear. To understand the complete role model, OPG gene polymorphism, calcification, inflammation, apoptosis and the relationship between the ligand should be included in the study, the paper in recent years on related aspects of the relationship between OPG and As reviewed the research progress.

骨保护素(osteoprotegerin, OPG)作为肿瘤坏死因子(TNF)受体超家族成员, 自从成为调节骨代谢的一个重要因子后, 这一领域的新见解层出不穷。近来研究发现, OPG与动脉粥样硬化(As)密切相关, 可能在冠状动脉粥样硬化性心脏病及外周动脉疾病的发生发展中起重要的调节作用。虽然大多数动物实验研究支持OPG在血管系统中起保护作用, 但对人的观测性研究提示血清OPG水平与临床心血管疾病之间显著相关。这引发了OPG能否成为预测As和血管损伤标志物的争论。因其在临床应用中的价值不可忽视, 有必要增加有价值的研究。本文就OPG参与As机制以及在As疾病发生发展过程中的作用作一综述。

1 骨保护素及其配体的结构、功能和作用机制

1.1 骨保护素的结构与表达

骨保护素是1997年Simonet等^[1]发现的一种含401个

氨基酸残基的无跨膜结构的可溶性糖蛋白, 与肿瘤坏死因子受体(tumor necrosis factor receptor, TNFR)超家族成员具有很高的同源性。其结构主要分为3个部分: N端高度保守的半胱氨酸富集区(cysteine rich domain, CRD)、C端的肝磷脂结合位点以及中间的2个死亡域同源区(death domain homologous, DDH)。CRD与TNFR家族其它成员具有同源性, 是OPG与配体结合的主要作用区域, 之间通过链内及链间二硫键连接在一起, 形成特殊的配体结合域; C端的肝磷脂结合位点可使OPG与细胞膜结合; 两个DDH位于细胞外, 功能尚不清楚。最近研究表明^[2], OPG有单体和二聚体两种形式, 相对分子质量分别为60 kDa ($\approx 6.0 \times 10^4$)和120 kDa ($\approx 12.0 \times 10^4$), 在组织中大多以二聚体的形式存在。人体中, OPG主要在肺、心、肾、骨、骨髓、脊髓和血管等组织处表达水平较高; 在骨组织, OPG主要由成骨细胞产生; 在血管系统, 主要由内皮细胞及平滑肌细胞产生。其表达受许多因素调控, 体内的一些激素和细胞因子, 如白细胞介素1 β (IL-1 β)、TNF- β 、转化生长因子 β (TGF- β)及其超家族成员、各种骨形态蛋白、血管活性肠肽和钙离子等可刺激OPG的表达, 而前列腺素E₂(PGE₂)、糖皮质激素、免疫抑制剂、雌激素受体拮抗剂等抑制OPG的表达^[3,4]。

1.2 骨保护素配体的结构和功能

核因子 κ B受体活化因子配体(ligand of receptor activator

[收稿日期] 2010-08-13 [修回日期] 2010-11-08

[基金项目] 军队医学科技创新项目资助(09MA094)

[作者简介] 徐高阳, 硕士研究生, 主要研究方向为骨保护素系统与动脉粥样硬化性疾病, E-mail为 nowok151@qq.com。通讯作者罗助荣, 副主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 主要研究方向急性冠状动脉综合症的机制及诊治, E-mail为 mdlzong@126.com。

ofNF- κ B, RANKL)是一种有 317个氨基酸组成的 I^{II} 型跨膜蛋白,与TNF配体家族的其他成员有明显的同源性,是一类膜受体,分为膜结合和可溶性两部分,可在多种组织表达,以骨骼和淋巴组织最高。成熟RANK蛋白主要由破骨细胞及其前体细胞、树突状细胞、成熟T细胞等产生,具有诱导破骨细胞分化、发育、发挥的功能。RANKL基因敲除(RANKL $^{-/-}$)小鼠体内出现广泛的骨硬化,缺乏成熟的破骨细胞,给予RANKL后症状改善,应用重组RANKL则使动物出现严重的骨质疏松和高钙血症^[5]。

核因子受体活化因子(receptor activator of NF- κ B, RANK)是一个含有616个氨基酸组成的I型跨膜蛋白,也是一种膜受体,属TNF受体家族,是RANKL发挥作用的唯一靶受体。人RANK基因定位于18q22.1,其编码的蛋白质以2种方式存在于体内:跨膜蛋白型和可溶型,前者表达于破骨细胞前体细胞、树突状细胞、T淋巴细胞、B淋巴细胞、成纤维细胞和单核巨噬细胞等;后者则存在于血液循环中,可与RANKL结合,但对破骨细胞分化起抑制作用。两者结合后,启动RANKL信号转导,促进破骨细胞的分化及骨吸收活性。RANK识别成骨细胞前体细胞/基质细胞膜上的RANKL并与其结合,可溶性RANK的过度表达可造成骨硬化,并伴随破骨细胞数目的减少,相反缺乏RANK的小鼠会产生严重的骨质疏松^[6]。

1.3 骨保护素/核因子受体活化因子/核因子受体活化因子配体/TNF相关凋亡诱导配体系统的作用机制

OPG/RANKL/RANK组成了对破骨细胞的三角调节关系,形成了一个调节细胞分化、成熟、功能的轴。RANKL与破骨细胞骨谱系细胞表面的RANK结合会刺激前体破骨细胞生存、分化及活化,形成成熟的破骨细胞。OPG是RANKL的诱饵受体,它可以和RANK竞争与RANKL结合,从而阻断RANK与RANKL的结合,由于缺乏RANKL-RANK产生的转录活化信号,进而发挥抑制破骨细胞分化成熟、诱导破骨细胞凋亡的作用。Abedin等^[7]研究发现,OPG/RANKL浓度比决定细胞分化、成熟及功能,同时也影响As和血管钙化的过程。有研究认为血清中OPG与RANKL水平可能仅仅反映的是As的一种标志而不是调节因子,他们之间的调节很可能由另外的机制所致^[8]。OPG不仅是RANKL的竞争性受体,而且是TNF相关凋亡诱导配体(TNF-related apoptosis inducing ligand, TRAIL)的竞争性受体,可直接结合TRAIL阻止与其受体结合诱导内皮细胞凋亡,从而通过抑制血管内皮细胞的凋亡而对抗As^[9]。

2 骨保护素与动脉粥样硬化的动物实验研究

为了研究OPG在As中的作用,Bennett等^[10]繁殖了同时缺乏OPG和载脂蛋白E(OPG $^{-/-}$ ApoE $^{-/-}$)的小鼠,与(OPG $^{+/+}$ ApoE $^{-/-}$)相比,OPG灭活的增加在40至60周时导致As病变范围和钙化增加,这表明OPG能保护老年ApoE $^{-/-}$ 小鼠As病变不稳定进展期及钙化。在另一项由Morony和同事进行的研究中^[8],为了测试OPG是否诱导或阻止血管疾病,将高脂饮食喂养后的LDLR $^{-/-}$ 小鼠分为重

组OPG喂养组和对照组,5个月之后,对照组的小鼠As和血清OPG水平显著升高,而重组OPG喂养组显著降低了As病变的大小和矿化标记骨钙蛋白的水平,但不会影响As病变范围以及血管细胞因子或血浆胆固醇的水平。Ovchinnikova等^[11]用重组OPG治疗高胆固醇血症载脂蛋白E $^{-/-}$ 小鼠研究中发现,OPG的治疗并不影响As病变的大小,在As病变内平滑肌细胞和胶原数量显著增加,OPG的治疗积累促进平滑肌、胶原纤维形成和纤维帽的发展,但不影响As病变炎症的特性,它的作用有助于斑块的稳定。我国学者杨丽元等^[12]在大鼠主动脉OPG表达的影响研究中,发现阿伦膦酸钠能增加血管钙化组织中OPG的表达,从而抑制动脉钙化的进一步发展。

骨保护素浓度没有随着As的进展而进一步增加,这表明OPG只是一个开始的标志,而不是As进展的调节物。总之,动物模型的数据一律支持OPG防止动脉粥样硬化性钙化的作用。然而,OPG在As进展中的作用尚不明确。

3 骨保护素与动脉粥样硬化的临床研究

3.1 骨保护素与冠状动脉粥样硬化性心脏病

近年来,大量的临床观测研究表明,血清OPG水平与冠状动脉粥样硬化性疾病的严重程度和进展密切相关。在对行冠状动脉造影术三种代表性研究中^[13-15],上升的血清OPG水平与冠状动脉粥样硬化的存在和程度具有相关性。而且,与心功能衰竭的严重性相关^[16]。Olmori等^[17]研究发现,OPG基因的多态性与冠状动脉疾病亦有联系。“达拉斯心脏研究”从大规模未经选择的人口基数调查得出的数据显示,血清OPG四分位冠状动脉硬化和动脉硬化斑块日增加,经传统风险因素进行调整后,发现上部OPG四分位与冠状动脉硬化和动脉硬化斑块的严重程度具有独立的相关性^[7]。此外,多个实验研究表明,与控制稳定动脉粥样硬化的患者相比,急性心肌梗死、不稳定型心绞痛患者的血清OPG水平较高^[18-20]。Omland等^[21]的研究发现高水平的OPG与高的左室质量、左室壁厚度和低的射血分数有显著的关系。在最近的研究中认为^[22,23],血清OPG水平除了能预测梗死后心功能衰竭患者的生存率,还能有力而独立地预测急性冠状动脉综合征患者的长期死亡率和心功能衰竭的发展。

在作为冠心病重要等危症的糖尿病方面,王慎田等^[24]发现糖尿病大血管并发症(如粥样斑块或血栓形成)的发生与血清OPG水平呈正相关。有研究证实^[25],在As尚未出现临床症状时,血清OPG水平就已经明显升高,较C反应蛋白(CRP)、脑钠肽(BNP)等因子有更好的临床诊断价值。此外,Anand等^[26]比较了血清中OPG、hs-CRP和IL-6水平以及冠状动脉硬化在2型糖尿病患者中与心血管事件的关系,结果只有OPG可预测亚临床疾病和近期的心血管事件,据此可以用它来鉴别高危型糖尿病患者。Asanuma等^[27]发现在以As为特征的长期类风湿性关节炎和慢性炎症性疾病的患者中,上升的OPG血清浓度与粥样硬化严重程度具有独立相关性。有趣的是,升高的血清OPG与炎症标志物和As

之间的关联性表明 OPG 在粥样硬化与炎症之间可能具有介导联系作用。Anand 等^[28]的预期报告发现,在评估的生化标志范围内,只有 OPG 预测了无症状糖尿病患者 As 程度及随后的心血管事件,在进一步的研究中,他们发现 OPG 是这些患者冠状动脉硬化进展的预测物。

3.2 骨保护素与外周动脉粥样硬化

骨保护素不仅与冠心病密切相关,而且与外周动脉硬化有明显的关系,且与其严重程度相关。Stefan 等^[29]在 Bruneck Study 中对 900 余例 As 患者进行 10 年的血清 OPG 水平的随访,发现 OPG 水平与颈动脉粥样硬化的进展程度呈正相关。另一项研究 Golledge 等^[30]对 44 例颈动脉粥样硬化患者行动脉内膜切除术并行体外试验检测颈内动脉段 OPG 的表达,发现有临床症状(如一过性缺血发作等)的颈动脉粥样硬化患者的 OPG 水平高于无症状者,且血管紧张素 ② 受体拮抗剂可下调这种 OPG 水平,该项研究进一步提示 OPG 与 As 斑块的稳定性相关,同时也为血管紧张素 ② 受体拮抗剂在动脉硬化疾病中的治疗作用作出了新的解释。最近一项大规模调查表明^[7],随着 OPG 浓度的升高,颈动脉钙化和粥样斑块检出率明显增加,单变量分析显示年龄、性别、吸烟、糖尿病、高脂血症、个人或家族冠心病史、颈动脉斑块、钙化积分与高水平 OPG 显著相关,多元回归分析在调整危险因素后 OPG 四分位数与钙化积分、颈动脉斑块独立相关。

为了获得更多 OPG 对 As 发展作用的发现,随后的研究着重在 OPG 与 As 重要的早期生理事件——内皮功能障碍的关系。Shin 等^[31]对 2 型糖尿病患者进行横断面研究,首次说明了血清 OPG 水平升高与测量血流介导的肱动脉扩张(flow mediated dilatation of the brachial artery, FMAD)减少得出的受损内皮功能之间的关联。Golledge 等^[32]最近报道了在外周动脉硬化患者中类似的发现,证实了血清 OPG 水平升高与 FMAD 内皮功能减退之间的相关性。血清 OPG 水平升高被认为是测量减少的 FMAD 临床前期 As 受损和颈动脉内膜厚度增加的预测物^[33]。

4 骨保护素在动脉粥样硬化中的作用机制

4.1 骨保护素抑制骨吸收机制

骨保护素通过抑制骨吸收而抑制血管钙化。早期 Ishimura 等^[34]研究了出生 22 天的大鼠使用中毒剂量的 V ①D (500 000 IU/kg)造成腹主动脉严重钙化,血清骨吸收指标(即 iv 型胶原交联 N 端肽)较对照组增高 160 倍,如用 V ①D 4 天的同时加用 OPG 1 mg/d 可见动脉钙化明显减少,iv 型胶原交联 N 端肽明显下降至对照组水平且动脉血管壁的血钙、磷酸盐水平下降了 90%,证实了 OPG 对骨吸收具有抑制作用,从而防止血管的钙化。血管钙化被认为是一种积极的类似骨生成细胞介导过程,涉及成骨相关蛋白质表达,比如一种至关重要的骨矿化引发剂碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)。在 OPG^(-/-)小鼠中^[35],对重组 OPG 和大动脉 ALP 活性与钙化病变面积相关性研究中发现上升的血清 ALP 恢复正常,表明 OPG 可以通过抑制 ALP 活动来抑制活

跃的钙化过程。另外,OPG 可以阻碍在病态和钙化血管中增加的 RANKL 的活动,可以在体外诱发 ALP 活动及血管细胞钙化^[8]。缺乏 OPG 与病态 PTHrP 有关,这是一种通过降低 ALP 来调节钙以抑制血管细胞钙化的激素。因此,由 OPG 抑制 ALP 可以通过阻碍 RANKL 或通过调节钙激素的影响加以调节。RANKL 在炎症激活的内皮细胞、平滑肌细胞和 T 淋巴细胞等产生,RANKL mRNA 和 RANKL 蛋白在内皮细胞表达,并可由炎症因子上调。研究表明^[36],RANKL 有促进动脉硬化作用,RANKL/OPG 比率升高,可刺激血管细胞钙化,刺激细胞增殖、迁移和基质重构;RANKL/OPG 比率降低,通过抑制破骨细胞骨吸收,有利于骨钙化。因此,RANKL/OPG 比率参与动脉硬化和血管钙化的过程,并反映其活动度。

4.2 骨保护素抑制细胞凋亡作用机制

大量实验研究表明^[37,38],在血管系统 OPG 主要由内皮细胞和血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)表达和释放,并且在血管钙化、动脉硬化过程中对内皮和平滑肌细胞发挥复杂的自分泌和旁分泌作用^[39],OPG 能够促进 VSMC 增殖,并可能直接在 As 发病机制方面对血管起保护作用^[40]。而血管内皮细胞和 VSMC 的寿命及抗凋亡能力在血管发生、修复等过程中是至关重要的环节,该环节也可在与细胞外基质相互作用中进行调节。杨伟等^[41]研究发现,OPG 具有促进内皮细胞增殖效应,在抗 As 过程中,可能具有促内皮细胞修复作用,且与浓度梯度有明显的正相关性。Zhang 等^[42]研究发现,碱性成纤维生长因子(bFGF)、血管紧张素 ② (Ang ②)、血小板源生长因子(PDGF)能刺激内皮细胞和 VSMC 产生 OPG,而此三种细胞因子是血管疾病的重要调节因子,如 PDGF 可促进 VSMC 增殖、迁移等而有致 As 作用,因此 OPG 可能通过抑制这些致动脉粥样硬化因子而抑制动脉硬化,对血管起保护作用。Fu 等^[43]研究发现过氧化物酶体增殖物激活型受体 γ (PPAR γ)与 OPG 协同调节血管的钙化机制,许多诱导平滑肌细胞 OPG 表达的信号也刺激 PPAR γ 表达,提供负反馈回路使 PPAR γ 配体抑制 OPG 产生,同时 PPAR γ 配体下调平滑肌的 OPG,抑制平滑肌的生长和血管钙化。体外细胞培养实验表明^[44,45],OPG 位于内皮细胞的韦伯潘力氏小体(Weibel-Palade bodies, WPB)内,许多炎症因子如 IL-6 和 TNF- α 可刺激 WPB 内 OPG 易位至胞膜或进入管腔,而且表现为快速和持久的释放 OPG,说明 As 和血管钙化患者血清 OPG 升高与炎症因子刺激有关。因此,防止血管内皮细胞和 VSMC 凋亡作用间接影响了血清 OPG 的产生。

骨桥蛋白(osteopontin, OPN)作为一种破骨细胞的功能标志物,同时在钙化血管的巨噬细胞、平滑肌细胞高表达,并可被炎症及骨化刺激上调,OPN 作用于内皮细胞表面的整合素 $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ 可触发依赖 NF- κB 的 OPG 产生,OPG 传递整合素/NF- κB 诱导的存活信号,中和平滑肌释放的 TNF 相关凋亡诱导配体(TRA IL),阻止其与内皮细胞 TRA IL 受体结合,从而抑制后者特异性诱导的细胞凋亡作用,以此抵抗动脉钙化。Malyankar 等^[46]通过培养鼠主动脉内皮细胞发现,在

OPN- $\alpha\beta 3$ 存在的情况下, OPG mRNA 及蛋白水平上调且延长细胞存活时间。Pritzker等^[47]进行人微血管内皮细胞培养时也有类似结论, 并发现 OPG 与 TRA IL 结合后在缺乏血清存在的情况下可抑制内皮细胞凋亡, 进而抑制血管粥样硬化的进展。

4.3 骨保护素基因的多态性

动脉粥样硬化与 OPG 基因多态性亦有关系。已有研究证实 OPG 基因就是其中的一种抗凋亡基因^[46], 参与许多与细胞存活有关的基因表达调控。人类 OPG 基因位于第 8 对染色体, 是含有 5 个外显子的单拷贝基因。有学者^[48]对 468 例疑诊冠状动脉粥样硬化性心脏病的患者行冠状动脉造影确定其严重程度, 并测定血清 OPG 水平及 OPG 基因多态性, 结果发现冠心病患者 OPG 基因型 950TC/1181GC 和 950CC/1181CC 的频率显著高于非冠心病患者, Logistic 回归分析显示, 950TC/1181GC 和 950CC/1181CC 基因型是冠心病的重要危险因素, 而且发现启动子 950 位 C 等位基因与血清 OPG 水平升高相关, 即存在 C 等位基因的患者有较高的血清 OPG 水平。最近一项日本的研究^[17]亦发现, OPG 950CC 基因型和血清 OPG 水平升高, 与急性冠状动脉综合征明显相关。但是, 同年 Rhee 等^[49]研究表明, OPG 基因启动子区域多态性与主动脉钙化没有明显的相关性。以上研究表明, 大多数学者认为 OPG 基因的多态性直接影响着 As 的发生与进展, 但还需要进一步证实。

5 结语

骨保护素对血管的作用是多方面的, 它取决于其与配体、RANKL 和 TRA IL 的相互作用, 涉及成骨、炎症和凋亡反应的双向调节, 以及自身基因的多态性。动物实验研究通常偏向于 OPG 在血管硬化方面的保护作用, 但尚未在人体试验中复制, 通过重组蛋白机制或基因传递增加血管局部 OPG 浓度是今后研究的趋势。血清 OPG 水平升高能否作为 As 及血管疾病严重程度和死亡率的预测因子, 仍需进一步探讨。随着研究的进展, OPG 系统可能在动脉粥样硬化性疾病的防治中发挥重要作用。

[参考文献]

- [1] Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density [J]. *Cell* 1997; **89** (2): 309-319.
- [2] Blair JM, Zheng Y, Dunstan CR. RANK ligand [J]. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; **39** (6): 1 077-081.
- [3] Fan X, Roy E, Zhu L, et al. Nitric oxide regulates receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin expression in bone marrow stromal cells [J]. *Endocrinology* 2004; **145** (2): 751-759.
- [4] Bergh JJ, Yuan Xu, Mary C, et al. Osteoprotegerin expression and secretion is regulated by calcium influx through the L-type voltage sensitive calcium channel [J]. *Endocrinology* 2004; **145** (1): 426-436.
- [5] 廖二元, 谭利华. 代谢性骨病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 209-241.
- [6] Yasuda H, Shin A, Nakagawa N, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95** (7): 3 597-602.
- [7] Abedin M, Om land T, Ueland T, et al. Relation of osteoprotegerin to coronary calcium and aortic plaque (from the Dallas Heart Study) [J]. *Am J Cardiol* 2007; **99** (4): 513-518.
- [8] Morony S, Tintut Y, Zhang Z, et al. Osteoprotegerin inhibits vascular calcification without affecting atherosclerosis in LDLR (-/-) mice [J]. *Circulation* 2008; **117** (3): 411-420.
- [9] Sato K, Niessner A, Kopecky SL, et al. TRA IL-expressing T cells induce apoptosis of vascular smooth muscle cells in the atherosclerotic plaque [J]. *J Exp Med* 2006; **203** (1): 239-250.
- [10] Bennett BJ, Scatena M, Elizabeth A, et al. Osteoprotegerin inactivation accelerates advanced atherosclerotic lesion progression and calcification in older ApoE-/- mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; **26** (9): 2 114-117.
- [11] Ovchinnikova O, Gylfe A, Bailey L, et al. Osteoprotegerin promotes fibrous cap formation in atherosclerotic lesions of ApoE-deficient mice-brief report [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; **29** (10): 1 478-480.
- [12] 杨丽元, 管思明. 阿伦膦酸钠对动脉钙化组织中骨保护素表达的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008; **16** (8): 623-627.
- [13] Jono S, Ikari Y, Shioi A, et al. Serum osteoprotegerin levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease [J]. *Circulation* 2002; **106** (10): 1 192-194.
- [14] Rhee EJ, Lee WY, Kim SY, et al. Relationship of serum osteoprotegerin levels with coronary artery disease severity, left ventricular hypertrophy and C-reactive protein [J]. *Clin Sci (Lond)* 2005; **108** (3): 237-243.
- [15] Schoppet M, Sattler AM, Schaefer JR, et al. Increased osteoprotegerin serum levels in men with coronary artery disease [J]. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88** (3): 1 024-028.
- [16] Hekke S, Kovanen PT, Lindstedt KA, et al. Increased circulating concentrations and augmented myocardial extraction of osteoprotegerin in heart failure due to left ventricular pressure overload [J]. *Eur J Heart Fail* 2007; **9** (4): 357-363.
- [17] Ohmori R, Moriyama Y, Taniguchi H, et al. Association between osteoprotegerin gene polymorphism and coronary artery disease in Japanese men [J]. *Atherosclerosis* 2006; **187** (1): 215-217.
- [18] Crisafulli A, Micari A, Altavilla D, et al. Serum levels of osteoprotegerin and RANKL in patients with ST elevation acute myocardial infarction [J]. *Clin Sci (Lond)* 2005; **109** (4): 389-395.
- [19] Sandberg WJ, Yndestad A, Qie E, et al. Enhanced T-cell expression of RANK ligand in acute coronary syndrome: possible role in plaque destabilization [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; **26** (4): 857-863.
- [20] 罗助荣, 郑卫星, 张克己, 等. 血清骨保护素和脑利钠肽水平与非 ST 段抬高 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010; **18** (8): 655-657.
- [21] Om land T, Drazner MH, Ueland T, et al. Plasma osteoprotegerin levels in the general population: relation to indices of left ventricular structure and function [J]. *Hypertension* 2007; **49** (6): 1 392-398.
- [22] Om land T, Ueland T, Jansson AM, et al. Circulating osteoprotegerin levels and long-term prognosis in patients with acute coronary syndromes [J]. *J Am Coll Cardiol* 2008; **51** (6): 627-633.
- [23] 郭盛锦. 骨保护素与急性心肌梗死近期预后关系的研究 [J]. *中国实用医药*, 2008; **32** (3): 35-37.
- [24] 王慎田, 陈丽. 2 型糖尿病患者血清骨保护素水平与大血管并发症的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2008; **16** (3): 221-223.
- [25] Dhakshinamurthy VA, Avijit L, Eric L, et al. The relationship between plasma osteoprotegerin levels and coronary artery calcification in uncomplicated type 2 diabetic subjects [J]. *JACC* 2006; **47** (9): 1 850-857.
- [26] Anand DV, Lahiri A, Lim E, et al. The relationship between plasma osteoprotegerin levels and coronary artery calcification in uncomplicated type 2 diabetic subjects [J]. *J Am Coll Cardiol* 2006; **47** (9): 1 850-857.
- [27] Asanuma Y, Chung CP, Oeser A, et al. Serum osteoprotegerin is increased and independently associated with coronary-artery atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Atherosclerosis* 2007; **195** (2): e135-e141.
- [28] Anand DV, Lim E, Darko D, et al. Determinants of progression of coronary artery calcification in type 2 diabetes: role of glycemic control and inflammatory/vascular calcification markers [J]. *J Am Coll Cardiol* 2007; **50** (23): 2 218-225.
- [29] Stefan K, George S, George W, et al. Osteoprotegerin is a risk factor for

- progressive atherosclerosis and cardiovascular disease [J]. *Circulation*, 2004 **109** (18): 2 175-180
- [30] Gollidge J, McCann M, Mangan S, et al. Osteoprotegerin and osteopontin are expressed at high concentrations within symptomatic carotid atherosclerosis [J]. *Stroke*, 2004 **35** (7): 1 636
- [31] Shin JY, Shin YG, Chung CH. Elevated serum osteoprotegerin levels are associated with vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2006 **29** (7): 1 664-666
- [32] Gollidge J, Leicht AS, Crowther RG, et al. Determinants of endothelial function in a cohort of patients with peripheral artery disease [J]. *Cardiology*, 2008 **111** (1): 51-56
- [33] Siepi D, Marchesi S, Vaudo G, et al. Preclinical vascular damage in white postmenopausal women: the relevance of osteoprotegerin [J]. *Metabolism*, 2008 **57** (3): 321-325
- [34] Ishimura E, Shioi A. Mechanism of arterial calcification with regards to atherosclerotic calcification and medial artery calcification [J]. *Clin Calcium*, 2005 **15** (7): 137-142
- [35] Orita Y, Yanamoto H, Kohno N, et al. Role of osteoprotegerin in arterial calcification: development of new animal model [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007 **27** (9): 2 058-064
- [36] Jian B, Nanke N, Li Q, et al. Progression of aortic valve stenosis: TGF-beta1 is present in calcified aortic valve cusps and promotes aortic valve interstitial cell calcification via apoptosis [J]. *Ann thorac Surg*, 2003 **75** (2): 457-465
- [37] Olesen P, Ledet T, Rasmussen IM. Arterial osteoprotegerin: increased amounts in diabetes and modifiable synthesis from vascular smooth muscle cells by insulin and TNF-alpha [J]. *Diabetologia*, 2005 **48** (3): 561-568
- [38] Nybo M, Rasmussen IM. Osteoprotegerin released from the vascular wall by heparin mainly derives from vascular smooth muscle cells [J]. *Atherosclerosis*, 2008 **201** (1): 33-35
- [39] Corallini F, Gonelli A, D'Aurizio F, et al. Mesenchymal stem cells-derived vascular smooth muscle cells release abundant levels of osteoprotegerin [J]. *Eur J Endocrinol*, 2009 **53** (1): 19-24
- [40] Candilo R, Toffoli B, Corallini F, et al. Human full-length osteoprotegerin induces the proliferation of rodent vascular smooth muscle cells both in vitro and in vivo [J]. *J Vasc Res*, 2010 **47** (3): 252-261
- [41] 杨伟, 李裕舒, 段卡丹, 等. 骨保护素对脐静脉内皮细胞生长的影响 [J]. *临床心血管病杂志*, 2010 **26** (4): 307-309
- [42] Zhang J, Fu M, Myles D, et al. PDGF induces osteoprotegerin expression in vascular smooth muscle cells by multiple signal pathways [J]. *FEBS Lett*, 2002 **521** (1-3): 180-184
- [43] Fu M, Zhang J, Lin Y, et al. Early stimulation and late inhibition of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) gene expression by transforming growth factor beta in human aortic smooth muscle cells: role of early growth-response factor-1 (Egr-1), activator protein 1 (AP1) and Smads [J]. *Biochem J*, 2003 **370** (Pt 3): 1 019-025
- [44] Kaden J, Bickelhaupt S, Grobholz R, et al. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulate aortic valve calcification [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2004 **36** (1): 56-57
- [45] Zannettino AC, Holding CA, Diamond P, et al. Osteoprotegerin (OPG) is localized to the Weibel-Palade bodies of human vascular endothelial cells and is physically associated with von Willebrand factor [J]. *J Cell Physiol*, 2005 **204** (2): 714-723
- [46] Malyankar UM, Scatena M, Suchland KL, et al. Osteoprotegerin is an alpha beta3-integrin-induced NF-kappa B-dependent survival factor for endothelial cells [J]. *J Biol Chem*, 2000 **275** (28): 20959
- [47] Pritzker LR, Scatena M, Giachelli CM. The role of osteoprotegerin and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in human microvascular endothelial cell survival [J]. *Mol Biol Cell*, 2004 **15** (6): 2 834-841
- [48] Soufi M, Schoppet M, Sattler AM, et al. Osteoprotegerin gene polymorphisms in men with coronary artery disease [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004 **89** (8): 3 764-768
- [49] Rhee EJ, Oh KW, Jung CH, et al. The relationship between four single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the osteoprotegerin gene and aortic calcification or coronary artery disease in Koreans [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2006 **64** (6): 689-697

(此文编辑 许雪梅)