

结缔组织生长因子与血管钙化

黄娟 综述, 彭依群 审校

(中南大学湘雅二医院代谢内分泌研究所, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 结缔组织生长因子; 血管钙化; 血管平滑肌细胞

[摘要] 结缔组织生长因子是一种近十年来研究较多的新的细胞因子, 其在与血管钙化密切相关的动脉粥样硬化、慢性肾脏疾病和糖尿病肾病等疾病的病变区域中表达增加, 本文对结缔组织生长因子在血管钙化的发生发展中所起的作用作一综述。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Connective Tissue Growth Factor and Vascular Calcification

HUANG Juan, and PENG Yi-Qun

(Institute of Metabolism and Endocrinology, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410011, China)

[KEY WORDS] Connective Tissue Growth Factor; Vascular Calcification; Vascular Smooth Muscle Cell

[ABSTRACT] Connective tissue growth factor is a new factor which has been widely researched in the recent ten years, and it is highly expressed in the diseases closely related to vascular calcification such as atherosclerosis, diabetic nephropathy, chronic kidney diseases and so on. The role of connective tissue growth factor on vascular calcification will be discussed in this review.

血管钙化是血管壁上过量的钙磷酸盐沉积, 主要表现为钙磷产物在动脉壁的细胞间和细胞内聚集, 是动脉粥样硬化、高血压、糖尿病血管病变、血管损伤、慢性肾脏疾病和衰老等普遍存在的病理表现。血管钙化的发生非常普遍, 随着我国老年化趋势的加重和人民物质生活水平的提高血管钙化的发生率也在逐渐增高, 与其相关的许多心血管疾病已严重危害着人类的健康。在动脉粥样硬化、高血压、糖尿病血管病变和慢性肾脏疾病等疾病的病变区域, 结缔组织生长因子(CTGF)呈高表达状态, 本文对 CTGF 在血管钙化中的研究进展作一综述。

1 结缔组织生长因子概况

1.1 结缔组织生长因子的蛋白质结构和家族成员

CTGF 最早是由 Bradham 等^[1]于 1991 年在人类脐静脉内皮细胞条件培养基内发现的一种新的

促细胞分裂剂, 其与血小板源性生长因子有关, 是一种富含氨基酸的分泌蛋白, 由 349 个氨基酸残基组成, 其分子量约为 38 kDa。CTGF 也以其他亚型如 10、12、16、18、19、20 及 24 kDa 等存在, 这些所有的亚型均可在不同的细胞类型、组织、体液中找到^[2]。人 CTGF 基因定位于染色体 6q23.1, 全长序列由 5 个外显子及 4 个内含子组成, CTGF 为肝素结合型, 其 5 个外显子分别编码一个信号肽和 4 个主要的蛋白结构区: ①胰岛素样生长因子(IGF)结合区; ②vWF 因子的 C 型重复区; ③血小板反应蛋白 1(TSP-1)重复区; ④富含半胱氨酸的 C 末端, 这些区域都是由独立的外显子来编码^[3]。CTGF 是一种即刻早期基因 CCN 家族成员之一, CCN 是一个高度保守的家族, 其成员包括 *cyr61*、*ctgf*、*nov*、*wisp-1*、*wisp-2* 和 *wisp-3* 等 6 个成员。CCN 家族是根据 *cyr61*/*CCN1*、*ctgf*/*CCN2* 和 *nov*/*CCN3* 三个成员来命名的, CCN 家族的这些细胞因子的结构相似, 都存在 IGF

[收稿日期] 2011-08-04

[基金项目] 国家自然科学基金(30572078、30600661)资助

[作者简介] 黄娟, 硕士研究生, 研究方向为骨代谢, E-mail 为 Juanhuang1228@gmail.com。通讯作者彭依群, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为骨代谢, E-mail 为 yqpeng@126.com。

结合蛋白、vWF 因子和血小板反应蛋白(TSP)等结构域^[4]。虽然结构相似,但是在功能上各家族成员却不尽相同,CCN 蛋白可刺激多种细胞的有丝分裂、黏附、凋亡、细胞外基质的累积和迁移,也可改变其他生物学分子如转化生长因子 β (TGF- β)、血管内皮生长因子(VEGF)、骨形态蛋白 4 (BMP-4) 和 BMP-7 等的活性^[5]。

1.2 结缔组织生长因子的表达、生物学功能及其受体

虽然最早在人类脐静脉内皮细胞中发现,但是 CTGF 也可在间叶细胞中表达,如软骨组织中、肾小球的发育过程中和肌肉周围的结缔组织中均可表达 CTGF^[6]。CTGF 还可由成纤维细胞、平滑肌细胞、足细胞、顶叶上皮细胞、成骨细胞、某些肿瘤细胞和软骨细胞合成和分泌^[7]。生理情况下,在人的许多组织如心、脑、肺、肝、肾、胎盘中可有基础量的 CTGF 分泌,以肾脏含量最高;在病理状态下,CTGF 的过度表达则与某些纤维化疾病或增殖性疾病的发生密切相关,如肾纤维化、肝纤维化和肺纤维化等。一些动物实验研究表明 CTGF 的过度表达不一定直接导致纤维化的病理变化,但是由于对细胞功能的其他影响可引起更严重的非纤维化的组织损伤,因为过度表达的 CTGF 和一些与发育或纤维化损伤有关的信号通路一起可激发组织纤维化或加速纤维化进程^[8]。CTGF 参与许多的细胞活动,包括细胞外基质的合成、细胞黏附和细胞增殖等,在有些细胞还可以促进细胞凋亡以及更复杂的生物过程如肿瘤形成、血管生成和伤口愈合等。CTGF 也参与许多心血管疾病的病理生理过程,在动脉粥样硬化中 CTGF 的表达增加,血管平滑肌细胞中 CTGF 是血管紧张素 II (Ang II) 诱导的纤维化调节因子。心功能衰竭患者 CTGF 的表达增加,心脏成纤维细胞和心肌细胞中 CTGF 可由 TGF- β 诱导产生,CTGF 的高表达可以促进成纤维细胞增殖^[9]。体外研究表明 CTGF 具有促进细胞转分化的作用,Wang 等^[10] 构建 CTGF 表达质粒转染间充质细胞(MSC)后, MSC 中骨基质蛋白如骨涎蛋白(BSP)、骨钙素(OC)、I 型胶原(Col I)的表达增加,且 CTGF-MSC 内碱性磷酸酶(ALP)的表达水平显著高于正常的 MSC, MSC 内 CTGF 的过度表达可以促进矿化结节的形成,这提示 CTGF 具有促进 MSC 的转分化和矿化作用。近年来对 CCN 受体作了大量研究,CTGF 在不同的区域结合特定的整合素,CTGF 在血小板上有 α II β 3 作为配合基,在单核细胞上存在有 α MP2 整合蛋白,可通过肝素结合区与包括多配体

蛋白聚糖和基底膜蛋白多糖在内的硫肝蛋白聚糖相互作用。CTGF 也可结合到复合受体,包括低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 (LRP-1) 和 LRP-6,也有研究发现,CTGF 可结合到神经生长因子酪氨酸激酶受体(TrkA)上^[11]。

2 血管钙化

虽然血管钙化是许多临床疾病的重要特征,然而其发病机制尚不完全清楚,以往认为血管钙化是机体钙磷代谢失衡所致钙盐在细胞内及细胞外基质的被动沉积,然而血管影像学 and 细胞生物学的发展证实血管钙化是一个与骨发育类似的主动的、可预防的和可调控的生物学过程^[12]。血管钙化属病理性钙化,根据发生的部位不同可分为内膜钙化及中膜钙化,血管内膜钙化发生于动脉粥样硬化性病变;血管中膜钙化主要发生于衰老、糖尿病和肾衰竭终末期(ESRD)等病理状态下的血管。内膜钙化可以独立于中膜钙化存在,反过来中膜钙化也可以独立于内膜钙化而存在,在肾衰中末期的患者,受损的血管可同时存在内膜钙化和中膜钙化^[13]。目前评估血管钙化的“金标准”是电子束 CT (EBCT) 和多层螺旋 CT (MSCT),其可以提供定量的血管钙化评分,但 CT 检测价格昂贵、普及性不够以及高射线剂量较大等,限制了 CT 在血管钙化检测中的广泛使用。其他的检测方法还包括 X 线平片、血管超声和脉搏波传导速度(PWV)等。侧位腹部 X 线片检查腹主动脉钙化和冠状动脉钙化评分有很好的相关性,X 线平片检测动脉钙化的特异度为 100%,灵敏度受检测血管和钙化程度的影响。X 线平片方法可以对血管钙化进行半定量评价且其检测结果可提供一些钙化部位的信息,即内膜的斑片样钙化还是动脉中层的线样或铁轨样钙化,但不宜用于检测早期的血管钙化。血管超声主要用于浅表动脉如颈动脉粥样硬化病变及钙化的检测;PWV 是一种简单、准确、可重复测定动脉僵硬度的方法,但 PWV 仅能间接的评价血管钙化^[14]。

近年来越来越多的研究证实血管钙化是一种类似于生理状态下骨形成过程中骨化的过程,其特征是血管细胞发生成骨细胞样表型的转化,中心环节是血管平滑肌细胞(VSMC)向成骨样细胞的转分化,VSMC 转分化后可合成、分泌骨基质蛋白参与钙化,但其相关机制目前尚不是很明确^[15]。在血管壁的钙化区域可以发现很多 VSMC 转化后合成和分泌的标志物,如骨相关蛋白转录因子 Runx2、osterix 和

Msx2, 还有可以促进矿物质沉积过程的 ALP、BSP 和骨钙素等物质, 具有抑制矿物质沉积作用的骨桥蛋白 (OPN)、基质 Gla 蛋白 (MGP) 和骨保护素 (OPG), 这些标志物的出现通常标志着 VSMC 的表型发生了转化^[16]。研究表明在高磷、高钙、衰老、氧化应激和慢性炎症因子如白细胞介素 6 (IL-6) 和 TGF 超家族成员等一些诱导条件下, VSMC 可转分化为成骨样细胞, 并合成和分泌多种骨基质蛋白, 骨基质蛋白在细胞外基质或胞质中形成钙结节, 从而促进钙化的形成。许多选择性信号通路都参与了 VSMC 的表型转化和钙化的过程, 如 TGF- β 信号通路、BMP 信号通路、Wnt 信号通路和 Notch 信号通路。这些信号通路在骨骼生长过程中也起关键作用, 形成一个复杂的多水平调节和反馈的具有交互作用的网络^[17]。

3 结缔组织生长因子与血管钙化

近年来, 研究发现在与血管钙化密切相关的动脉粥样硬化、2 型糖尿病和慢性肾脏疾病等许多疾病的形成和发展中, CTGF 的表达增加并且发挥了重要的作用, 但其作用模式及具体机制尚不完全清楚。

3.1 结缔组织生长因子与动脉粥样硬化

动脉粥样硬化一个非常突出的特征是血管钙化, 并且 VSMC 在血管钙化的过程中发挥了关键的作用。动脉粥样硬化影响血液循环中某些特定但并非所有的血管床, 其分子机制目前尚不是很明确, Oemar 等^[18]在 1997 年第一次发现人 CTGF mRNA 和蛋白质在人类体动脉内表达, CTGF 作为一种新的因子在动脉粥样硬化的损伤区域中高表达并且可能在动脉粥样硬化的进展中起了重要的作用。另有研究发现氧化应激在动脉粥样硬化的发病机制中发挥了重要的作用, 动脉粥样硬化中产生氧化应激的重要原因是不同来源血管细胞中形成了过氧化氢, 而过氧化氢可经 AKT 信号通路促进成骨分化过程中一个重要的转录因子 Runx2 的表达并使其活性增加, 过氧化氢可通过这一作用诱导 VSMC 的表型转化进而促进血管钙化的发展。该研究发现 Runx2 在氧化应激诱导 VSMC 钙化中起了重要作用, Runx2 的缺失可以抑制 VSMC 钙化, 过度表达则可以促进 VSMC 钙化^[19]。血管钙化通常与骨-软骨的形成有关联, 动脉硬化病变常伴有骨基质蛋白的表达, 包括 OPN、骨钙素和 MGP, 同时转录因子如 Runx2、osterix 和 Sox9 的表达也增加。这些损伤的组织也表达骨形成蛋白、OPG 和核因子 κ B (NF- κ B)

受体活化因子配基 (RANK-L), 这些物质在骨形成和骨吸收的调节过程中都起了重要作用, 因此研究认为与骨代谢相关的因子主动参与了血管钙化的过程^[20]。很多研究表明与骨代谢密切相关的 CTGF 在血管钙化区域中表达增加, 其在动脉粥样硬化的发生发展过程中可能发挥以下作用: ①VSMC 的增殖、迁移和细胞外基质的沉积是动脉粥样硬化的主要特征, CTGF 可以促进 VSMC 的增殖和迁移, 同时 CTGF 还能促进细胞外基质蛋白 I 型胶原和纤维连接蛋白的表达, 从而促进动脉粥样硬化的发展^[21]。②CTGF 可能通过诱导凋亡及刺激 VSMC 基质金属蛋白酶 2 (MMP-2) 的表达而促进斑块的不稳定^[22], 研究发现重组人 CTGF (rhCTGF) 可以通过激活 Caspase-3 而诱导大动脉 VSMC 凋亡, 运用抗 CTGF 抗体或 Caspase-3 拮抗剂可以阻断 rhCTGF 对 Caspase-3 的激活^[23]。

3.2 结缔组织生长因子与糖尿病

血管钙化在糖尿病患者中的发生很常见, Cetin 等^[24]发现糖尿病合并心血管钙化的发生率是非糖尿病的 4 倍, 糖尿病患者血管钙化通常表现为动脉粥样硬化斑块中钙化灶和血管中膜钙化同时存在, 糖尿病可以引起视网膜、肾脏、神经等多种器官并发症, 其中糖尿病肾病是糖尿病最为严重的慢性并发症之一, 其发病率逐年上升。糖尿病患者可伴有高糖血症及其糖基化终末产物的增加、炎症、高胰岛素血症、脂质代谢紊乱、细胞凋亡、氧化应激、骨调节蛋白表达异常、血管局部自分泌和旁分泌紊乱等。其中, 高糖血症、氧化应激、高胰岛素血症、脂质代谢紊乱和炎症是诱发糖尿病状态下血管钙化发生的主要因素。此外, 遗传因素以及各因素间相互作用也与血管钙化的发生发展密切相关^[25]。Liu 等^[26]发现高糖可以上调人 VSMC 中 CTGF 的表达, 在高糖环境下的人 VSMC 在培养 6 h 以后 CTGF mRNA 的表达明显增加, 同时出现了细胞外基质 (I 型胶原蛋白和纤维连接蛋白) 的沉积。因此, 在糖尿病血管并发症的发展中, CTGF 可能作为一个重要因素参与人类 VSMC 的病理生理反应, 并且通过 RNA 干扰 CTGF 也许可以阻止糖尿病并发症的发展。早期研究并不认为糖尿病是一个免疫性疾病, 而近年来越来越多的研究证明炎症在 1 型糖尿病和 2 型糖尿病的发病中起了重要作用。炎性细胞、细胞因子和致纤维化的生长因子包括转化生长因子、CTGF 等通过增加血管炎症和间质纤维化参与了糖尿病肾病的发病^[27]。无论是在尚无蛋白尿的初期糖尿病, 还是在出现了肾小球基底膜增厚、肾小球

硬化和肾小管间质纤维化的晚期糖尿病肾病,在肾组织中均检测到过量表达的 CTGF,CTGF 可促进新的细胞外基质合成,也可通过基质金属蛋白酶组织型抑制剂 1 (TIMP-1) 的增加来抑制肾小球系膜细胞外基质的降解^[28]。还有研究表明遗传易感性在糖尿病肾病的发病中发挥了重要的作用,但是相关基因还未被发现。Wang 等^[29]对 8621 名糖尿病患者的 CTGF 基因的单核苷酸多态性位点进行基因组筛选,确定了一种新的单核苷酸多态性,能在启动子区域 -20 位点改变了 C-G,并且得出在 CTGF/CCN2 启动子区域的单核苷酸多态性在这种基因表达中起着非常重要的作用,突变基因编码的 CTGF/CCN2 将会增加糖尿病患者患糖尿病肾病的倾向。

CTGF 在糖尿病肾病中的作用机制可能有^[30]: ①CTGF 可促进系膜细胞纤维连接蛋白和酶原激活物抑制剂 1 的表达,从而促进系膜细胞外基质的形成和抑制细胞外基质的降解;CTGF 还可上调 $\alpha 5 \beta 1$ 整合素的表达, $\alpha 5 \beta 1$ 整合素是细胞外纤维蛋白连接网形成过程中纤维连接蛋白的一个质膜锚点。②肾小球渗透性的改变主要是由于足细胞的损伤和丢失,而 CTGF 可能与足细胞损伤和数量减少密切相关,用链脲佐菌素诱导的糖尿病小鼠表达过度 CTGF,诱导后小鼠尿蛋白的排泄率比正常小鼠明显增加,而足细胞空泡及数量减少。③CTGF 可能与肾小管基膜增厚的发生相关,因为纤维连接蛋白是增厚的基膜的重要组成部分,而 CTGF 可以透过肾小球基膜且可以促进纤维连接蛋白 mRNA 的表达,但是不能促进胶原 III $\alpha 1$ 和胶原 I $\alpha 2$ 链的表达,但是 rCTGF 和 IGF-1 共同作用可促进胶原 III $\alpha 1$ mRNA 的表达。

3.3 结缔组织生长因子与慢性肾脏疾病

血管钙化在慢性肾脏病 (CKD) 患者中的发生很常见,是目前已知 CKD 患者心血管疾病及全因死亡率最重要的预测标志,CKD 患者血管钙化的发生率随肾功能的进展而逐渐增高,虽然血管钙化在 CKD 患者中很常见,但其机制尚不明确^[31]。血管钙化的发生率与肾功能密切相关,3 期和 4 期 CKD 患者血管钙化率为 40%,5 期 CKD 患者为 60%,需要血液透析的患者则达 80% ~ 85%,同时血管钙化也加重了 CKD 的进展,在 CKD 早期患者,矿物质的异常沉积可能先于血管钙化发生^[32]。目前普遍认为 CKD 患者动脉壁的改变、纤维弹性内膜增厚、弹性瓣膜的钙化、细胞外基质以及胶原的沉积都可以引起动脉重塑。除了受如高龄、高血压、糖尿病、血脂异常等传统危险因素的影响外,一些其他的非传统的危险因素如矿物

质的异位沉积、血清中过度增高的甲状旁腺激素 (PTH) 水平、钙盐的沉积、炎症、营养不良和氧化应激等参与血管钙化的发生。在 CKD 患者中,异常的磷酸盐和钙的代谢、PTH、维生素 D 和成纤维细胞生长因子 (FGF) 等能促进血管钙化,胎球蛋白 A、MGP、OPG、维生素 K、焦磷酸盐则能抑制血管钙化^[33]。慢性进行性肾病是原发性高血压患者靶器官损伤的一个重要表现,也是导致肾功能衰竭的疾病之一。研究发现自发性高血压大鼠早期就有肾小球损害的存在,而且高血压组较正常组肾脏 CTGF 的表达显著增加,且随着高血压的进展 CTGF 在自发性高血压大鼠肾脏肾小球中的表达显著增加,CTGF 的表达与尿 $\beta 2$ 微球蛋白含量有显著的正相关关系,而微量蛋白尿与高血压早期肾损害关系密切,是衡量慢性高血压所致肾脏疾病进展的重要指标之一,因此认为 CTGF 可能是慢性高血压导致肾损害的重要机制之一^[34]。但 O' Seaghdha 等^[35]调查了 100 名 3 期 CKD 患者和 100 名年龄与性别都与病例组相匹配的对照者,发现病例组尿 CTGF 的浓度比对照组尿 CTGF 的浓度低,因此发现原尿中低浓度的 CTGF 可以促进 3 期 CKD 的发展,其具体机制有待进一步研究。

4 研究展望

血管钙化是血管壁上过量的钙磷酸盐沉积,过去一直认为血管钙化是钙盐在 VSMC 外的被动沉积,近年来研究发现血管钙化是一个多因子参与调控的主动过程,而且越来越多的研究认为 VSMC 的转分化是血管钙化的中心环节,VSMC 转分化为成骨细胞在此过程中发挥了重要作用,但其具体机制也尚不明确。血管钙化与外界和细胞内的不同条件有关,不同的因素导致的钙化机制也不同,许多因素都参与促进或抑制钙化过程。在与血管钙化相关的许多疾病中都有 CTGF 的高表达,但其所起的具体作用及其可能的机制尚不明确,因此 CTGF 与血管钙化的关系可以作为钙化机制研究的一个新的领域。研究 CTGF 在血管钙化中的作用及其可能的机制,可以为进一步探讨血管钙化的发生机制提供新的实验依据,并可能为血管钙化的防治提供新的研究方向和策略。

[参考文献]

[1] Bradham DM, Igarashi A, Potter RL, et al. Connective tissue growth factor; a cysteine-rich mitogen secreted by human vascular endothelial cells is related to the SRC-induced immediate early gene product CEF-10[J]. J Cell Biol, 1991, 114 (6): 1 285-294.

- [2] Qi W, Chen X, Pet P, et al. Transforming growth factor-beta/connective tissue growth factor axis in the kidney[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40 (1): 9-13.
- [3] Gupta S, Clarkson MR, Duggan J, et al. Connective tissue growth factor: potential role in glomerulosclerosis and tubulointerstitial fibrosis[J]. *Kidney Int*, 2000, 58 (4): 1 389-399.
- [4] Seher A, Nickel J, Mueller TD, et al. Gene expression profiling of connective tissue growth factor (CTGF) stimulated primary human tenon fibroblasts reveals an inflammatory and wound healing response in vitro[J]. *Mol Vis*, 2011, 17: 53-62.
- [5] Wang L, Hu GY, Shen H, et al. Fluorfenidone inhibits TGF-beta1 induced CTGF via MAPK pathways in mouse mesangial cells[J]. *Pharmazie*, 2009, 64 (10): 680-684.
- [6] Shi-Wen X, Leask A, Abraham D, et al. Regulation and function of connective tissue growth factor/CCN2 in tissue repair, scarring and fibrosis[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2008, 19 (2): 133-144.
- [7] Blom IE, Goldschmeding R, Leask A, et al. Gene regulation of connective tissue growth factor: new targets for antifibrotic therapy [J]? *Matrix Biol*, 2002, 21 (6): 473-482.
- [8] Brigstock DR. Connective tissue growth factor (CCN2, CTGF) and organ fibrosis: lessons from transgenic animals[J]. *J Cell Commun Signal*, 2010, 4 (1): 1-4.
- [9] 富建华, 杨海萍, 潘 丽, 等. TGF- β 1 影响肺成纤维细胞结缔组织生长因子基因表达的研究[J]. *中国当代儿科杂志*, 2011, 13 (1): 36-39.
- [10] Wang JJ, Ye F, Cheng LJ, et al. Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells promoted by overexpression of connective tissue growth factor[J]. *Zhejiang Univ Sci B*, 2009, 10 (5): 355-367.
- [11] Luft FC. CCN2, the connective tissue growth factor[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2008, 86 (1): 1-3.
- [12] Ekim M, Fitoz S, Ozcakar ZB, et al. Vascular calcification in an adolescent treated with long-term peritoneal dialysis [J]. *Int J Nephrol*, 2011, 2011(702406): 1-4.
- [13] Giachelli CM. Vascular calcification mechanisms[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15 (12): 2 959-964.
- [14] 甘良英, 王 梅. 慢性肾脏病患者血管钙化的检测方法[J]. *中国血液净化*, 2010, 9 (5): 245-246.
- [15] Wang QQ, Zhao X, Pu XP. Proteome analysis of the left ventricle in the vitamin D and nicotine-induced rat vascular calcification model[J]. *J Proteomics*, 2011, 74 (4): 480-489.
- [16] Liu Y, Shanahan CM. Signalling pathways and vascular calcification[J]. *Front Biosci*, 2011, 16: 1 302-314.
- [17] Iyemere VP, Proudfoot D, Weissberg PL, et al. Vascular smooth muscle cell phenotypic plasticity and the regulation of vascular calcification[J]. *J Intern Med*, 2006, 260 (3): 192-210.
- [18] Oemar BS, Werner A, Garnier JM. et al. Human connective tissue growth factor is expressed in advanced atherosclerotic lesions[J]. *Circulation*, 1997, 95 (4): 831-839.
- [19] Byon CH, Javed A, Dai Q, et al. Oxidative stress induces vascular calcification through modulation of the osteogenic transcription factor Runx2 by AKT signaling[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283 (22): 15 319-327.
- [20] Yamaguchi A, Akashi T. Vascular calcification: mutual interaction between bone and blood vessel [J]. *Clin Calcium*, 2010, 20 (11): 1 669-676.
- [21] Fan WH, Pech M, Karnovsky MJ. Connective tissue growth factor (CTGF) stimulates vascular smooth muscle cell growth and migration in vitro[J]. *Eur J Cell Biol*, 2000, 79 (12): 915-923.
- [22] Game BA, He L, Jarido V, et al. Pioglitazone inhibits connective tissue growth factor expression in advanced atherosclerotic plaques in low-density lipoprotein receptor-deficient mice[J]. *Atherosclerosis*, 2007, 192 (1): 85-91.
- [23] Hishikawa K, Nakaki T, Fujii T. Connective tissue growth factor induces apoptosis via caspase 3 in cultured human aortic smooth muscle cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2000, 392 (1-2): 19-22.
- [24] Cetin M, Cetin R, Tamer N. Prevalence of breast arterial calcification in hypertensive patients[J]. *Clin Radiol*, 2004, 59 (1): 92-95.
- [25] 周业波, 陆峥飞. 糖尿病与血管钙化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009, 17 (3): 241-245.
- [26] Liu X, Luo F, Pan K, et al. High glucose upregulates connective tissue growth factor expression in human vascular smooth muscle cells[J]. *BMC Cell Biol*, 2007, 8: 1.
- [27] Elmarakby AA, Sullivan JC. Relationship between oxidative stress and inflammatory cytokines in diabetic nephropathy[J]. *Cardiovasc Ther*, 2012, 30 (1): 49-59.
- [28] Thomson SE, McLennan SV, Kirwan PD, et al. Renal connective tissue growth factor correlates with glomerular basement membrane thickness and prospective albuminuria in a non-human primate model of diabetes: possible predictive marker for incipient diabetic nephropathy [J]. *J Diabetes Complications*, 2008, 22 (4): 284-294.
- [29] Wang B, Carter RE, Jaffa MA, et al. Genetic variant in the promoter of connective tissue growth factor gene confers susceptibility to nephropathy in type 1 diabetes[J]. *J Med Genet*, 2010, 47 (6): 391-397.
- [30] Mason RM. Connective tissue growth factor(CCN2), a pathogenic factor in diabetic nephropathy. What does it do? How does it do it [J]? *J Cell Commun Signal*, 2009, 3 (2): 95-104.
- [31] Rodriguez M, Martinez-Moreno JM, Rodriguez-Ortiz ME, et al. Vitamin D and vascular calcification in chronic kidney disease[J]. *Kidney Blood Press Res*, 2011, 34 (4): 261-268.
- [32] Bellasi A, Raggi P. Vascular calcification in chronic kidney disease: usefulness of a marker of vascular damage[J]. *J Nephrol*, 2011, 24 (Suppl 18): S11-S15.
- [33] Cozzolino M, Missaglia E, Ortiz A, et al. Vascular calcification in chronic kidney disease[J]. *Recenti Prog Med*, 2010, 101 (11): 442-452.
- [34] 王绍华, 刘昌慧, 刘淑华. 结缔组织生长因子在自发性高血压大鼠肾脏的表达及意义[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, 12 (5): 553-555.
- [35] O'Seaghdha CM, Hwang SJ, Bhavsar NA, et al. Lower urinary connective tissue growth factor levels and incident CKD stage 3 in the general population[J]. *Am J Kidney Dis*, 2011, 57 (6): 841-849.