

OPG/RANK/RANKL 通路在骨质疏松与动脉粥样硬化相关性中的作用机制研究进展

赵希云¹, 张晓刚^{1,2}, 宋敏¹, 曹林忠¹, 张宏伟¹, 王志鹏¹, 秦大平¹

(1.甘肃中医药大学, 甘肃省兰州市 730000; 2.甘肃中医药大学附属医院, 甘肃省兰州市 730020)

[关键词] 骨保护素; 核因子 κ B 受体活化因子; 核因子 κ B 受体活化因子配体; 骨质疏松; 动脉粥样硬化

[摘要] 骨质疏松和动脉粥样硬化是伴随老年患者的常见疾病, 发病率高, 并发症多, 是死亡率增加的主要危险因素。随着患者年龄的增加, 二者的临床联系也越来越紧密。OPG/RANK/RANKL 通路是近年来研究的热点, 是骨质疏松研究史上里程碑式的发现。近年来逐渐认识到这种信号传导途径在动脉粥样硬化中同样起着不可估量的作用, 研究者对该通路 with 动脉粥样硬化之间进行了潜在而广泛的研究。本文就 OPG/RANK/RANKL 通路作为它们之间联系的桥梁, 初步探讨共同的发病机制及临床联系, 为临床工作中以这些分子作为靶点设计和药物制备提供进一步的综合理念。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Progress of Research on the Relationship of the Mechanism of Action Between Osteoporosis and Atherosclerosis in OPG/RANK/RANKL Pathway

ZHAO Xi-Yun¹, ZHANG Xiao-Gang^{1,2}, SONG Min¹, CAO Lin-Zhong¹, ZHANG Hong-Wei¹, WANG Zhi-Peng¹, and QIN Da-Ping¹

(1. Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou, Gansu 730000, China; 2. Affiliated Hospital of Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou, Gansu 730020, China)

[KEY WORDS] Osteoprotegerin; Receptor Activator of NF- κ B; Receptor Activator of NF- κ B Ligand; Osteoporosis; Atherosclerosis

[ABSTRACT] Osteoporosis and atherosclerosis are very common diseases associated with elder patients, it has higher incidence rate and more complications, they are the major risk factor for increased mortality. With the increasing of the patient's age, the clinical connections between them have become increasingly closer. In recent years, OPG/RANKL/RANK pathway is the research high lights and it is a milestone in the research history of osteoporosis. The researchers come to realize that this signal pathway also played an invaluable role in atherosclerosis, enabling researchers conduct extensive research potential between the system and atherosclerosis. This article is about OPG/RANKL/RANK pathway as a bridge connection between them, exploring their common pathogenesis and clinical relationships, for providing further integrated concept in clinical work with these molecules as targets for designing and generating new drugs.

经过多年的流行病学观察发现, 骨质疏松 (osteoporosis, OP) 患者常伴有脑卒中、心肌梗死、猝死而使死亡率明显上升; 而动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 患者也常伴有骨密度减低, 骨强度下降, 导致骨质疏松性骨折的发生^[1-2]。随着对它们共同的信号传导途径及分子机制的深入研究发现, OPG/

RANK/RANKL 通路 with 骨质疏松和 As 的发病是相关联的。骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 缺失, 核因子 κ B 受体活化因子 (receptor activator of NF- κ B, RANK)/核因子 κ B 受体活化因子配体 (receptor activator of NF- κ B ligand, RANKL) 活性增强, 骨吸收增加与骨量丢失以及骨质疏松性骨折的发生相关^[3],

[收稿日期] 2016-01-05

[修回日期] 2016-04-04

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (81560780)

[作者简介] 赵希云, 硕士研究生, 研究方向为中医药防治骨代谢性疾病, E-mail 为 1071386436@qq.com。通讯作者张晓刚, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为中医药防治骨代谢性疾病, E-mail 为 zxy0525@163.com。

并且与老年患者心脑血管疾病的发病率和死亡率有密切联系^[4]。

1 OPG/RANK/RANKL 通路

OPG/RANK/RANKL 通路的三联体构成部分都是肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 受体超家族成员。其中 OPG 是一种缺乏跨膜和细胞质结构域的可溶性分泌蛋白,在成熟的 B 细胞以及巨噬细胞中表达,调节骨形成和骨吸收之间的临界平衡。并且在血管壁上的内皮细胞 (endothelial cells, EC) 和血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMC) 中相应表达^[5],通过结合并中和肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体,抑制凋亡小体^[6],防止血管粥样硬化。RANKL 是肿瘤坏死因子家族的 II 型同源三聚体糖蛋白,表达于 CD4⁺T 细胞和巨噬细胞,其结合裂具有独特的 OPG 触头,OPG 的单体细胞因子结合区域结合 RANKL 比 RANK 高达约 500 倍的亲和力,并且更有效地抑制 RANKL 刺激破骨细胞形成^[7]。而 RANK 是目前已知唯一的 RANKL 受体激活剂,主要表达于巨噬细胞和树突状细胞,它是由 616 个氨基酸组成的单一通道受体的 I 型同源三聚体跨膜蛋白,由 N 末端细胞外区、C 末端细胞质区、一个短的跨膜区和一个信号肽组成,其中跨膜区包含两个 N-糖基化位点和 4 个富含半胱氨酸的重复序列,与 RANKL 的 C 端结合引发细胞内的信号传导级联,对破骨细胞的形成、功能活动以及生存至关重要^[8]。但 RANKL 和 RANK 在正常血管壁并未表达,而在粥样硬化的血管壁中却能检测出 RANKL 和 RANK 的表达^[9]。这表明 OPG/RANK/RANKL 信号调节通路的激活是联系骨质疏松和 As 的关键环节。

2 OPG/RANK/RANKL 通路的调控因素

OPG/RANK/RANKL 通路被认为是与炎症和免疫应答^[10]的调节相关联,并且多种调控因子(激素、细胞因子和生长因子等)与 OPG/RANK/RANKL 途径相互作用。雌激素是参与骨转换和抗 As 的最重要激素之一。通过刺激 OPG mRNA 表达上调并且还下调 RANKL 的表达,进而抑制 As 以及防止骨量流失^[11]。促炎性细胞因子可以直接或间接调控 OPG/RANK/RANKL 通路以促进或抑制骨吸收。白细胞介素 1 (interleukin-1, IL-1) 是一种促进骨吸收的促炎细胞因子,上调 RANKL 和 RANK,并取得了

与 OPG 之间矛盾的结果^[12]。白细胞介素 7 (interleukin-7, IL-7) 和 TNF- α 能上调 RANKL 的表达,因此被认为是一种破骨细胞因子;而白细胞介素 4 (interleukin-4, IL-4)、白细胞介素 13 (interleukin-13, IL-13) 和干扰素 γ 能抑制破骨细胞的形成,被认为是一种反破骨细胞因子^[12]。胰岛素样生长因子 1 是参与骨转换的一个重要的生长因子,能诱导成骨细胞表达 RANKL,与 OPG/RANKL 的比率呈负相关。生长素释放肽通过结合生长激素促分泌素受体降低 RANKL/OPG 比率,促进成骨细胞增殖^[13]。另外,单核苷酸多态性^[14]、甲状旁腺激素、硬化蛋白、C 反应蛋白、维生素 D、血管紧张素 II 等均参与 OPG/RANK/RANKL 通路的调控。

3 OPG/RANK/RANKL 通路与骨质疏松的关系

骨质疏松是一种骨量减少,骨微结构破坏,导致骨脆性和骨折风险增加,严重影响患者生活质量的骨代谢性疾病。在破骨细胞生成调节过程中,RANKL/OPG 是调节骨吸收平衡的一个重要的杠杆^[3]。骨细胞、破骨细胞以及 T 细胞产生关键的促破骨细胞生成蛋白,即 RANKL,与破骨前体细胞膜上的 RANK 结合后,肿瘤坏死因子受体相关因子 6 结合到 RANK 的胞质区,促进 NF- κ B 活化并转运到核内,增加 c-Fos 的表达,使 c-Fos 与活化的 T 细胞核因子结合并相互作用,启动破骨细胞生成基因的转录,最终诱导成熟的破骨细胞分化、融合、活化和存活。为了平衡破骨细胞产生及骨吸收,骨间质细胞和成骨细胞也产生了 OPG 干扰 RANKL 信号传导。OPG 作为可溶性诱饵受体,竞争性地与三聚体 RANKL 结合,使其失去结合 RANK 的活性,负性调节 RANKL-RANK 的相互作用,从而抑制破骨细胞前体分化、存活与融合,诱导破骨细胞凋亡^[15]。

研究表明,RANKL 和 RANK 基因敲除小鼠出现严重的骨质硬化症,类似于转基因小鼠过度表达 OPG (出生后转基因被激活) 的表现。反之,若敲除 OPG 基因,小鼠出生时表现正常,但逐渐出现严重的骨质疏松征象^[16]。而 RANKL 和 OPG 的受体诱导激活剂可维持骨吸收和骨生成之间的动态平衡,防止骨量流失^[17]。Ma 等^[18]通过雌性 SD 大鼠卵巢切除 (ovariectomized, OVX) 建造绝经后骨质疏松的大鼠模型,应用锆果糖-1,6-二磷酸治疗。结果发现治疗剂量锆果糖-1,6-二磷酸降低 RANKL 水平,并以剂量依赖性的方式增加血清中 OPG 水平,显著下

调 RANKL 表达以及上调骨髓 OPG 表达,进而显著性增加 OVX 大鼠的骨密度,改善骨微结构和骨强度,防止绝经后骨质疏松性 OVX 大鼠的骨量损失。另外有学者认为 OPG 可作为绝经后骨质疏松(postmenopausal osteoporosis, PMOP)以及骨折危险性的血清预测因子^[19],以便早期发现,提前进行干预,从而防止骨质疏松的发生。

4 OPG/RANK/RANKL 通路与 As 的关系

As 的发生是一个极其复杂的动态过程,在炎症介质及免疫细胞的介导下,动脉及其分支管壁的内膜及内膜下有脂质沉着,并且伴有中层平滑肌细胞移行至内膜下增殖,使内皮下结缔组织增厚,形成灰黄色或黄色状如粥样物质的斑块^[20]。临床研究表明,OPG/RANK/RANKL 通路与 As、血管钙化、脑卒中和未来心血管事件的关联性增加^[4]。这导致广大学者对 OPG 作为血管疾病生物标志物进行了潜在而广泛的研究。

4.1 OPG/RANK/RANKL 信号在血管中的表达

OPG 在血管的 EC 和 VSMC 中产生,而 RANKL 主要表达于浸润 T 细胞及活化的 EC 中 RANK 表达于破骨细胞前体以及树突状细胞。研究表明,虽然 OPG 在小鼠正常血管中表达,但 RANK 和 RANKL 在正常成年小鼠的血管中并未表达,而在小鼠 As 区域可检测到 RANK 和 RANKL 的表达^[9]。这可能表明,在血管中 OPG 可防止 RANK-RANKL 诱导破骨细胞的形成。在 ApoE^{-/-}小鼠的 As 区域,OPG 染色在相邻泡沫细胞最为明显,而 RANK 和 RANKL 位于活化 T 细胞丰富的区域^[21]。在 As 区域,OPG 主要定位于内膜新生斑块区邻近板层骨状结构的边缘,而 RANKL 只存在于粥样硬化沉积区的周围^[22]。免疫组织化学染色发现,OPG/RANK/RANKL 信号在斑块破裂区域表达增强,RANKL 在不稳定性斑块区域的活化 T 细胞内表达,而 OPG 在斑块破裂区域内明显表达^[21]。这表明 OPG/RANK/RANKL 信号传导通路在不稳定性斑块中起到重要的作用。

4.2 OPG 与动脉粥样硬化钙化

血管钙化分为内膜钙化和中膜钙化,是异位钙化的一种,其中内膜钙化与动脉粥样硬化斑块的负荷密切相关。动脉粥样硬化钙化(atherosclerosis calcification, AC)主要为动脉内膜的钙化,具有骨钙化的特征。研究表明,亚临床的 As 早期就出现了骨相关蛋白的表达,当脂质条纹形成时,组织学上就可检

测到钙化的存在^[4]。这可能表明 OPG 与 As 和血管钙化有密切联系。越来越多的研究表明 OPG/RANK/RANKL 通路在 AC 机制中的潜在作用。而 OPG 对血管壁的影响是多方面的,在粥样硬化斑块区域与它的配体 RANKL 和 TRAIL 相互作用,涉及成骨、炎症和凋亡反应的双向调节。在 EC 中,OPG 充当抗凋亡因子,抑制 EC 凋亡,在体外和体内促进新血管形成^[6]。此外,OPG 通过 TNF- α 的刺激诱导细胞间黏附分子 1、血管细胞黏附分子 1 在微血管中表达,抑制 EC 凋亡^[23]。在粥样硬化区域不同位置,OPG 染色率表达与巨噬细胞集聚^[24]密切联系。而在 VSMC 中,OPG 可在体外和体内诱导纤维化迹象,抑制血管钙化^[25]。

研究表明,RANKL 和 RANK 存在于动脉粥样硬化斑块中,在疾病的不同阶段,它们的相对表达水平不同^[25]。在一项研究中,RANKL 结合 RANK 并通过替代 NF- κ B 信号通路^[26]增加骨形态发生蛋白 4(bone morphogenetic protein-4, BMP-4),直接促进粥样硬化斑块区域 VSMC 软骨样应变。在另一项研究中,RANKL 间接通过 IL-6 和 TNF^[27]的旁分泌释放巨噬细胞,增强促钙活性,促进 VSMC 钙化。这些研究表明,RANK/RANKL 可促进 As 区域钙化的活性,而 OPG 能阻止 AC 的发生。提示 OPG 不仅作为血管风险的潜在价值及预后的生物标志物,而且是血管病变中调节破骨细胞、炎症和凋亡反应的介质。但其在血管壁的具体作用机制目前报道相对较少,有待进一步研究阐明。

5 OPG/RANK/RANKL 通路与骨质疏松和 As 形成的机制关联性

5.1 OPG 基因缺失

骨质疏松和 As 与 OPG 基因多态性亦有联系,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。OPG 是体内唯一能够结合定位于成骨细胞膜上 RANKL 的受体,可由成骨细胞谱系以及包括 EC 和 VSMC 在内的心血管系统产生分泌。OPG^{-/-}小鼠表现为骨中钙磷大量流失,但血清钙磷水平并无明显改变,小鼠杂交则可完全阻止骨质疏松和 AC 的发生,提示产生两种疾病临床症状的关键之处极有可能是 OPG 基因的缺乏^[9]。OPG^{-/-}小鼠不仅可出现主动脉和肾动脉的粥样硬化,还可出现多重性骨质疏松骨折^[16]。Callegari 等^[28]研究发现,在成骨条件下,VSMC 分离的

ApoE^{-/-}OPG^{-/-}小鼠血管粥样硬化增强,RANKL在这种小鼠的信号传导中促进As的发生。并认为OPG通过调节RANKL对VSMC的促粥样硬化作用抑制血管粥样斑块的形成。Min等^[9]研究发现给OPG^{-/-}成年小鼠注入OPG时,骨质疏松得到改善,但As情况并无缓解;而给OPG^{-/-}小鼠转入OPG基因时,骨质疏松及As均得到缓解。综上所述,OPG是联系骨质疏松和As的重要分子。

5.2 OPG/RANK/RANKL通路的激活

OPG/RANK/RANKL通路的激活是联系骨质疏松和As的关键环节。在骨组织中,成骨细胞或基质细胞分泌的OPG竞争性与RANKL结合,阻断RANK与RANKL的相互作用,从而调节破骨细胞的生成。OPG在血管壁表达,且RANK和RANKL也在粥样硬化的血管壁表达。Bakhireva等^[29]研究发现,OPG与其配体RANKL结合是骨质疏松和冠状动脉粥样硬化发病的共同分子基础,在绝经后妇女使用雌激素并调整了年龄和其他风险因子后,血浆OPG水平与RANKL水平有明显的相关性。Kang等^[30]研究表明,长期(≥4周)高浓度葡萄糖和磷酸盐刺激会降低OPG水平,可能会降低OPG与RANKL和TRAIL的结合,而这些变化可能增加骨感应VSMC的分化,尤其是血管矿化期间反射性增加OPG的碱性磷酸酶(alkaline phosphatase,ALP)活性,促进血管粥样病变;并认为OPG可能通过下调ALP活性抑制这种病变。另外,Kelesidis等^[31]研究也认为OPG/RANKL/RANK通路是骨质疏松和As发病的共同机制。这些结果提示OPG/RANK/RANKL通路与骨质疏松和As之间有复杂的关系。

6 OPG/RANK/RANKL通路与骨质疏松和As的治疗关联性

6.1 狄诺塞麦

狄诺塞麦是人单克隆抗体,以高亲和力和特异性结合RANKL,防止激活其靶向受体^[32],降低RANK/RANKL活性,减少骨吸收。目前已批准在临床实践中对骨质疏松的治疗^[33],为骨质疏松的治疗提供新的选择。如上所述,RANKL对促进血管内膜粥样应变和抗酒石酸酸性磷酸酶(tartrate-resistant acid phosphatase,TRAP)及破骨细胞样细胞形成也有直接的影响^[34]。因此,狄诺塞麦也已成为预防血管粥样硬化的研究方向。在糖皮质激素诱导的As小鼠模型中,狄诺塞麦可减少主动脉区域VSMC的

软骨样改变^[35]。另外,狄诺塞麦治疗伴有高危心血管疾病的PMOP患者,并且与伊班膦酸钠治疗作为对照,经过3年的调查发现,狄诺塞麦治疗组并不伴有As和心血管不良危险性增加事件^[36]。

6.2 OPG制剂

OPG是抑制骨吸收的可溶性分泌蛋白。作为诱饵受体能够结合并抑制RANKL。如地诺单抗,抑制破骨细胞活性,防止骨量减少。OPG可通过增加VSMC上胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor-1,IGF-1)受体上调OPG的表达^[37],抑制血管粥样硬化的发生。Ovchinnikova等^[38]用OPG处理高胆固醇小鼠后,动脉粥样斑块面积未减少,但斑块的稳定性增加。Hofbauer等^[39]对52例绝经后妇女皮下注射OPG溶解蛋白,骨转换指标有显著下降。提示OPG制剂可能对骨质疏松和As同时有效。在动物研究中已经显示,治疗用重组融合蛋白可抑制血管粥样硬化^[40]。目前认为OPG通过阻断炎性细胞因子和成骨分化的正反馈,从而起到抗As的作用。但是,OPG的过高表达似乎反而促进了As的形成。对于OPG的双重作用,有待于进一步研究。虽然OPG制剂对治疗骨质疏松和抗As的效果及药物安全性还有待研究,但OPG制剂治疗不失为一种潜在可行的手段。

总之,OPG/RANK/RANKL通路不仅是研究As和骨质疏松的关键,而且已成为共同治疗骨质疏松和As的靶点,靶点设计和开发新药的关键是寻找、确定与骨质疏松和As致病机制相关的靶向信号传导分子。目前在这方面的研究主要集中在动物模型研究、实验研究以及临床研究,研究表明OPG/RANK/RANKL通路与骨质疏松和As相关性之间存在着复杂的信号传导机制。但是,该通路对As的发病机制仍然不是十分清楚,使靶向信号传导分子治疗As和骨质疏松产生双重作用。若能把OPG/RANK/RANKL通路作为二者共同发病的中心环节及相关检测指标,并围绕这一枢纽潜入更深地研究,必将为骨质疏松和As的早期诊断和治疗开辟新的捷径。

[参考文献]

- [1] Collins TC, Ewing SK, Diem SJ, et al. Peripheral arterial disease is associated with higher rates of hip bone loss and increased fracture risk in older men[J]. Circulation, 2009, 119 (17): 2 305-312.
- [2] Kucharska-Newton AM, Monda KL, Campbell S, et al. Association of the platelet GP II b/III a polymorphism with

- atherosclerotic plaque morphology. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study[J]. *Atherosclerosis*, 2011, 216 (1): 151-156.
- [3] Weitzmann MN. The role of inflammatory cytokines, the RANKL/OPG axis, and the immunoskeletal interface in physiological bone turnover and osteoporosis[J]. *Scientifica (Cairo)*, 2013, 2013: 125705.
- [4] 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.
- [5] Tousoulis D, Siasos G, Maniatis K, et al. Novel biomarkers assessing the calcium deposition in coronary artery disease[J]. *Curr Med Chem*, 2012, 19 (6): 901-920.
- [6] Pérez de Ciriza C, Lawrie A, Varo N. Osteoprotegerin in cardiometabolic disorders [J]. *Int J Endocrinol*, 2015, 2015: 564934.
- [7] Nelson CA, Warren JT, Wang MWH, et al. RANKL employs distinct binding modes to engage RANK and the OPG decoy receptor[J]. *Structure*, 2012, 20 (11): 1 971-982.
- [8] Das S, Sepahi I, Duthie A, et al. RANK receptor oligomerisation in the regulation of NF- κ B signalling[J]. *J Mol Endocrinol*, 2014, 53 (1): 81-91.
- [9] Min H, Morony S, Sarosi I, et al. Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis[J]. *J Exp Med*, 2000, 192 (4): 463-474.
- [10] Ohigashi I, Nitta T, Lkhagvasuren E, et al. Effects of RANKL on the thymic medulla [J]. *Eur J Immunol*, 2011, 41 (7): 1 822-827.
- [11] Ma B, Liu J, Zhang Q, et al. Metabolomic profiles delineate signature metabolic shifts during estrogen deficiency-induced bone loss in rat by GC-TOF/MS[J]. *PLoS One*, 2013, 8 (2): e54965.
- [12] Zupan J, Jeras M, Marc J. Osteoimmunology and the influence of pro-inflammatory cytokines on osteoclasts[J]. *Biochem Med (Zagreb)*, 2013, 23 (1): 43-63.
- [13] Mrak E, Casati L, Pagani F, et al. Ghrelin increases beta-catenin level through protein kinase A activation and regulates OPG expression in rat primary osteoblasts[J]. *Int J Endocrinol*, 2015, 2015: 547473.
- [14] Wang J, Lu K, Song Y, et al. RANKL and OPG polymorphisms are associated with aromatase inhibitor-related musculoskeletal adverse events in Chinese Han breast cancer patients[J]. *PLoS One*, 2015, 10 (7): e0133964.
- [15] Nahidi L, Leach ST, Lemberg DA, et al. Osteoprotegerin exerts its pro-inflammatory effects through nuclear factor- κ B activation [J]. *Dig Dis Sci*, 2013, 58 (11): 3 144-155.
- [16] Papadopoulou AE, Klonaris CN, Theocharis SE. Role of OPG/RANKL/RANK axis on the vasculature[J]. *Histol Histopathol*, 2008, 23 (4): 497-506.
- [17] Trouvin AP, Goëb V. Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin: maintaining the balance to prevent bone loss[J]. *Clin Interv Aging*, 2010, 5 (19): 345-354.
- [18] Ma B, Zhang Q, Wu D, et al. Strontium fructose 1,6-diphosphate prevents bone loss in a rat model of postmenopausal osteoporosis via the OPG/RANKL/RANK pathway[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33 (4): 479-489.
- [19] Wang XF, Zhang YK, Yu ZS, et al. The role of the serum RANKL/OPG ratio in the healing of intertrochanteric fractures in elderly patients [J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7 (4): 1 169-172.
- [20] Galkina E, Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis [J]. *Annu Rev Immunol*, 2009, 27 (10): 165-197.
- [21] Sandberg WJ, Yndestad A, Oie 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.
- [22] Dhore CR, Cleutjens JP, Lutgens E, et al. Differential expression of bone matrix regulatory proteins in human atherosclerotic plaques [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21 (12): 1 998-2 003.
- [23] McGonigle JS, Giachelli CM, Scatena M. Osteoprotegerin and RANKL differentially regulate angiogenesis and endothelial cell function [J]. *Angiogenesis*, 2009, 12 (1): 35-46.
- [24] Heymann MF, Herisson F, Davaine JM, et al. Role of the OPG/RANK/RANKL triad in calcifications of the atherosclerotic plaques: comparison between carotid and femoral beds[J]. *Cytokine*, 2012, 58 (2): 300-306.
- [25] 徐高阳, 罗助荣. 骨保护素系统与动脉粥样硬化的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010, 12(10): 1 004-008.
- [26] Panizo S, Cardus A, Encinas M, et al. RANKL increases vascular smooth muscle cell calcification through a RANK-BMP4-dependent pathway [J]. *Circ Res*, 2009, 104 (9): 1 041-048.
- [27] Deuell KA, Callegari A, Giachelli CM, et al. RANKL enhances macrophage paracrine pro-calcific activity in high phosphate-treated smooth muscle cells: dependence on IL-6 and TNF- α [J]. *J Vasc Res*, 2012, 49 (6): 510-521.
- [28] Callegari A, Coons ML, Ricks JL, et al. Increased calcification in osteoprotegerin deficient smooth muscle cells: Dependence on receptor activator of NF- κ B ligand and interleukin-6[J]. *J Vas Res*, 2014, 51 (2): 118-131.
- [29] Bakhireva LN, Laughlin GA, Bettencourt R, et al. Does

- osteoprotegerin or receptor activator of nuclear factor- κ B ligand mediate the association between bone and coronary artery calcification[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93 (4): 2 009-012.
- [30] Kang YH, Jin JS, Son SM. Long term effect of high glucose and phosphate levels on the OPG/RANK/RANKL/TRAIL system in the progression of vascular calcification in rat aortic smooth muscle cells[J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2015, 19 (2): 111-118.
- [31] Kelesidis T, Currier JS, Yang OO, et al. Role of RANKL-RANK/osteoprotegerin pathway in cardiovascular and bone disease associated with HIV infection [J]. *AIDS Rev*, 2014, 16 (3): 123-133.
- [32] López-Pousa A, Broto JM, Garrido T, et al. Giant cell tumour of bone: new treatments in development[J]. *Clin Transl Oncol*, 2015, 17 (6): 419-430.
- [33] Roux S. New treatment targets in osteoporosis[J]. *Joint Bone Spine*, 2010, 77 (4): 222-228.
- [34] Byon CH, Sun Y, Chen J, et al. Runx2-upregulated receptor activator of nuclear factor κ B ligand in calcifying smooth muscle cells promotes migration and osteoclastic differentiation of macrophages [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31 (6): 1 387-396.
- [35] Helas S, Goettsch C, Schoppet M, et al. Inhibition of receptor activator of NF- κ B ligand by denosumab attenuates vascular calcium deposition in mice [J]. *Am J Pathol*, 2009, 175 (2): 473-478.
- [36] Samelson EJ, Miller PD, Christiansen C, et al. RANKL inhibition with denosumab does not influence 3-year progression of aortic calcification or incidence of adverse cardiovascular events in postmenopausal women with osteoporosis and high cardiovascular risk[J]. *J Bone Miner Res*, 2014, 29 (2): 450-457.
- [37] Di Bartolo BA, Schoppet M, Mattar MZ, et al. Calcium and osteoprotegerin regulate IGF1R expression to inhibit vascular calcification[J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 91 (3): 537-545.
- [38] 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.
- [39] Hofbauer LC, Schoppet M. Osteoprotegerin: a link between osteoporosis and arterial calcification[J]. *Lancet*, 2001, 358 (9278): 257-259.
- [40] Candido 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.

(此文编辑 文玉珊)

(上接第 1272 页)

[参考文献]

- [18] 王和峰, 翟纯刚, 庞文会, 等. PI3K/Akt/mTOR 信号通路在巨噬细胞自噬及动脉粥样硬化斑块不稳定中的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2013, 29 (3): 390-397.
- [19] Martinet W, De Loof H, De Meyer GRY. mTOR inhibition: a promising strategy for stabilization of atherosclerotic plaques[J]. *Atherosclerosis*, 2014, 233 (2): 601-607.
- [20] Martinet W, De Meyer I, Verheye S, et al. Drug-induced macrophage autophagy in atherosclerosis: for better or worse[J]. *Basic Res Cardiol*, 2013, 108 (1): 321.
- [21] 李进, 邹祥. 雷帕霉素及其衍生物开发现状、作用机制及生物合成研究进展[J]. *中国抗生素杂志*, 2011, 36 (11): 806-813.
- [22] Guertin DA, Sabatini DM. The pharmacology of mTOR inhibition [J]. *Sci Signal*, 2009, 2 (67): 20-24.
- [23] Zhang YJ, Duan Y, Zheng XF. Targeting the mTOR kinase domain: the second generation of mTOR inhibitors[J]. *Drug Discov Today*, 2011, 16 (7-8): 325-331.
- [24] Schenone S, Brullo C, Musumeci F, et al. ATP-competitive inhibitors of mTOR: an update[J]. *Curr Med Chem*, 2011, 18 (20): 2 995-3 014.
- [25] Babcock JT, Quilliam LA. Rheb/mTOR activation and regulation in cancer: novel treatment strategies beyond rapamycin[J]. *Curr Drug Targets*, 2011, 12 (8): 1 223-231.
- [26] 陈颖, 韩进松, 宋云龙, 等. PI3K-mTOR 双重小分子抑制剂的研究进展[J]. *药学实践杂志*, 2014, 32(5): 332-336.
- [27] 张慧锋, 李妍, 白雪, 等. mTOR 信号通路及其抑制剂的研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2013, 40 (2): 36-41.
- [28] 黄平, 丁惠萍, 任华益. mTOR 抑制剂依维莫司在肿瘤治疗中的临床应用[J]. *肿瘤药学*, 2013, 3 (6): 422-425.

(此文编辑 文玉珊)