

## 镁离子对高磷诱导的大鼠胸主动脉血管环钙化的影响

张慧然, 徐金升, 袁景霞, 白亚玲, 张俊霞, 张胜雷

(河北医科大学第四医院肾内科, 河北省石家庄市 050011)

[关键词] 镁离子; 血管环; 钙化; 表型转化; L型钙通道

[摘要] **目的** 探讨不同浓度镁离子对高磷诱导的大鼠胸主动脉血管环钙化的影响。**方法** 体外分离大鼠胸主动脉血管环, 将其随机分为正常对照组(含 10% 胎牛血清 DMEM 培养基)、高磷组(含 10 mmol/L  $\beta$ -甘油磷酸高磷培养基)和镁干预组(高磷培养基加不同浓度硫酸镁, 使镁离子终浓度分别为 1、2、3 mmol/L, 镁干预组 I ~ III)。给予 14 天干预后, 采用 von Kossa 染色及邻甲酚酞络合酮比色法检测胸主动脉血管环钙化情况; 免疫组织化学方法检测胸主动脉血管环 L 型钙通道  $\alpha_{1c}$  (LTCC  $\alpha_{1c}$ )、LTCC  $\beta_3$  亚基、Runt 相关转录因子 2 (Runx2) 和平滑肌 22 $\alpha$  (SM22 $\alpha$ ) 表达情况。**结果** 与正常对照组比较, 高磷组钙沉积增加, 镁干预组随镁离子浓度增大棕黑色颗粒沉积逐渐减少, 钙含量测定结果与之相一致 ( $P < 0.05$ )。Runx2、LTCC  $\alpha_{1c}$ 、LTCC  $\beta_3$  亚基的表达除镁干预组 III 与正常对照组差异无统计学意义外, 其余各组均高于正常对照组 ( $P < 0.05$ ); 镁干预组随镁离子浓度增大, Runx2、LTCC  $\alpha_{1c}$ 、LTCC  $\beta_3$  亚基的表达水平均逐渐降低, 且均低于高磷组 ( $P < 0.05$ )。SM22 $\alpha$  表达除镁干预组 III 与正常对照组差异无统计学意义外, 其余各组均低于正常对照组 ( $P < 0.05$ )。相关性分析显示, LTCC  $\beta_3$ 、LTCC  $\alpha_{1c}$  亚基均与 Runx2 表达呈正相关 ( $r = 0.692, P < 0.001$ ;  $r = 0.716, P < 0.001$ ), Runx2 与 SM22 $\alpha$  表达呈负相关 ( $r = -0.671, P = 0.001$ )。**结论** 镁离子在一定程度上可以抑制高磷诱导的大鼠胸主动脉血管环钙化, 其可能通过下调 LTCC  $\alpha_{1c}$ 、LTCC  $\beta_3$  亚基表达, 抑制 VSMCs 向成骨/成软骨表型转化, 进而抑制血管环钙化的发生。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

### The effects of magnesium ions on the calcification of aortic rings induced by high phosphorus in rats

ZHANG Hui-Ran, XU Jin-Sheng, YUAN Jing-Xia, BAI Ya-Ling, ZHANG Jun-Xia, ZHANG Sheng-Lei

(Department of Nephrology, the Forth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050011, China)

[KEY WORDS] Magnesium; Aortic rings; Vascular calcification; Osteogenic differentiation; L-type calcium channel

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect and possible mechanisms of the different concentrations of magnesium ions on aortic rings calcification induced by high phosphorus in rats. **Methods** Aortic rings were isolated from rat thoracic aorta and cultured in vitro, and randomly divided into control group, high phosphorus group and magnesium intervention group (final concentrations of magnesium ions were 1, 2 and 3 mmol/L). Aortic rings were cultured with 10% fetal bovine serum in control group. After 14 days of intervention, the expressions of L-type calcium channel (LTCC)  $\alpha_{1c}$   $\beta_3$  subunit, Runt-related transcription factor 2 (Runx2) and smooth muscle 22 $\alpha$  (SM22 $\alpha$ ) were detected by Immunohistochemistry. Calcium concentration of aortic rings was measured by Von Kossa staining and quantification of calcium.

**Results** Compared with control group, calcified nodules in high phosphorus group was increased, and calcified nodules gradually reduced with the increased magnesium ion concentration in the intervention group. The expression of LTCC  $\alpha_{1c}$ 、 $\beta_3$  subunits in high phosphorus group increased ( $P < 0.05$ ). With the increase of magnesium ion concentration, the expression of Runx2、LTCC  $\alpha_{1c}$ 、 $\beta_3$  decreased ( $P < 0.05$ ) and the expression of SM22 $\alpha$  increased ( $P < 0.05$ ) in high magnesium group. There results of Pearson correlation analysis showed that SM22 $\alpha$  was negatively correlated with Runx2 ( $r = -0.671, P = 0.001$ ), and LTCC  $\alpha_{1c}$  subunit was positively correlated with Runx2 ( $r = 0.712, P < 0.001$ ), LTCC  $\beta_3$  subunit was

[收稿日期] 2017-04-17

[修回日期] 2017-08-01

[基金项目] 河北省卫计委计划项目(20150351; 20150310); 河北省科技计划项目(16397733D)

[作者简介] 张慧然, 硕士, 副主任医师, 研究方向为 CKD 患者血管钙化机制, E-mail 为 13833191831@163.com。通讯作者徐金升, 博士, 主任医师, 研究方向为 CKD 患者血管钙化机制, E-mail 为 xjs5766@126.com。

positively correlated with Runx2 ( $r=0.0692$ ,  $P<0.001$ ).  
induced rat aortic rings calcification, and its mechanism is possibly achieved by downregulating LTCC  $\alpha_{1c}$   $\beta_3$  protein expression, and reducing the transformation of VSMCs into osteogenic/osteogenic phenotype.

**Conclusion** Magnesium can promote high phosphorus induced rat aortic rings calcification, and its mechanism is possibly achieved by downregulating LTCC  $\alpha_{1c}$   $\beta_3$  protein expression, and reducing the transformation of VSMCs into osteogenic/osteogenic phenotype.

近期研究表明中国慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 总发病率高达 10.8%, CKD 患者预计近 1.2 亿<sup>[1]</sup>。研究表明, 心血管事件是 CKD 患者的主要死亡原因之一, 且血管钙化的严重程度与心血管事件死亡率独立相关, 随血管钙化程度进展, 心血管事件死亡率逐渐升高。这提示血管钙化在 CKD 患者心血管事件中起着重要作用<sup>[2]</sup>。血管平滑肌细胞是血管中膜最主要的细胞成分, 其中平滑肌细胞向成骨样或成软骨样转化是发生动脉血管钙化的关键环节<sup>[3]</sup>。本课题组前期研究发现, 磷可诱导平滑肌细胞发生表型转化进而导致其钙化, 基质金属蛋白酶 2 表达升高可促进血管钙化发生<sup>[4]</sup>, 干扰素  $\gamma$ <sup>[5]</sup>、维生素 K<sup>[6]</sup> 可抑制高磷诱导的平滑肌细胞发生表型转化而发挥抑制钙化的作用。随着对血管钙化研究的逐渐深入, 近年来镁离子与血管钙化之间的关系备受关注, 有研究表明镁可能抑制血管钙化, 但机制目前尚不清楚<sup>[7]</sup>。本研究探讨了镁离子对高磷诱导的大鼠胸主动脉血管环钙化的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物

清洁级雄性 SD 大鼠 5~8 周龄, 体重 200~250 g, 6 只, 由河北医科大学实验动物中心提供 (合格证编号: 1305090)。

### 1.2 主要仪器和试剂

LH50A 型倒置相差显微镜 (日本 OLYMPUS 公司); 细胞成像多功能检测系统 (CYTATION3 型, 美国 Biotek 公司); 胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS)、DMEM 培养基 (美国 GIBCO 公司);  $\beta$ -甘油磷酸 (美国 Sigma 公司); 鼠抗鼠 Runx 相关转录因子 2 (Runt related transcription factor-2, Runx2) 单克隆抗体、鼠抗兔平滑肌 22 $\alpha$  (smooth muscle 22 $\alpha$ , SM22 $\alpha$ ) 单克隆抗体 (英国 Abcam 公司); 兔抗鼠  $\beta_3$  单克隆抗体 (以色列 Alomone 公司); 硫酸镁注射液 (杭州民生药业有限公司); SP 免疫组化试剂盒 (上海博海生物工程开发有限公司); 二氨基联苯胺 (DAB) 显色试剂盒 (上海博海生物工程); 钙含量测定试剂盒 (中生北控生物科技股份有限公司)。

### 1.3 鼠离体血管环培养及分组

SD 雄性大鼠 220~250 g, 给予腹腔内注射戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 麻醉。无菌条件下取出胸主动脉, 放入 4 $^{\circ}$ C 预冷 PBS (含 0.01 mol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ / $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、100 kU/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素) 中充分漂洗。小心剥掉外膜, 机械法去内膜后, 将血管切成 2~3 mm 长血管环, 置于含 10% 胎牛血清 DMEM 培养基中, 放入 37 $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  培养箱内。将大鼠离体血管环随机分为正常对照组、高磷组及镁干预组。正常对照组采用含 10% 胎牛血清培养基培养, 高磷组采用高磷培养基 (含 10 mmol/L  $\beta$ -甘油磷酸) 培养, 镁干预组在高磷培养基的基础上分别加入不同浓度硫酸镁, 使镁离子终浓度分别为 1、2、3 mmol/L (分别为镁干预组 I~III), 24 h 换液 1 次。MTT 实验监测血管环活力。刺激 14 天后, 检测各组 L 型钙道  $\alpha_{1c}$  (L type calcium channel  $\alpha_{1c}$ , LTCC $\alpha_{1c}$ )、LTCC $\beta_3$  亚基、Runx2 和 SM22 $\alpha$  的表达情况, 以及血管环钙化情况检测。

### 1.4 大鼠血管环钙含量测定

血管环给予 14 天干预后, 烤干称重, 并置于 0.6 mmol/L 盐酸中 37 $^{\circ}$ C 消化过夜, 取上清液用邻甲酚酞络合酮比色法测定钙含量, 计算出每克血管组织中的钙含量。

### 1.5 大鼠血管环 Von Kossa 染色

将给予 14 天干预后的大鼠血管环标本轻轻漂洗, 放入 10% 中性甲醛中固定 24 h, 乙醇梯度脱水, 石蜡垂直定向包埋, 4  $\mu\text{m}$  厚度连续切片, Von Kossa 染色: 常规脱蜡、脱水后玻片滴加 5% 硝酸银溶液, 紫外灯照射 60 min, 再用 5% 硫代硫酸钠溶液定影, 碱性品红复染, 经脱水、透明、封片, 于光镜下观察血管钙化情况, 钙盐沉积处被染为黑褐色。

### 1.6 免疫组织化学染色分析

免疫组织化学检测血管 LTCC $\alpha_{1c}$ 、LTCC $\beta_3$  亚基、Runx2 和 SM22 $\alpha$  表达。取石蜡切片 (3  $\mu\text{m}$ ) 常规脱蜡至水, 用 EDTA 高压锅煮沸抗原修复 10 min, 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  消除内源性过氧化物酶 20 min, 山羊血清 37 $^{\circ}$ C 封闭 45 min 后, 甩掉封闭液, 滴加一抗: LTCC $\alpha_{1c}$ 、LTCC $\beta_3$  亚基 (1:50)、Runx2 (1:100)、SM22 $\alpha$  (1:100), 放入 4 $^{\circ}$ C 过夜; 滴加第二代生物素标记的二抗工作液, 37 $^{\circ}$ C 温箱内孵育 30 min; 再滴加辣根酶标记链酶卵白素工作液, 37 $^{\circ}$ C 温箱内孵育 30 min, DAB 显

色 45 s,显微镜下观察,蒸馏水终止反应,苏木素复染,明显棕黄色颗粒为阳性,不着色为阴性。随机选取 5 个高倍视野,依据文献[8]评分标准进行评分,染色强度与阳性细胞积分相加得到免疫反应积分(immunoreactive score,IRS),>3 分为阳性。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行分析,符合正态分布的计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间均数比较采用 *t* 检验,多组间均数比较采用单因素方差分析;相关分析中,符合正态分布的双变量采用 Pearson 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度镁离子对高磷诱导的血管环钙化影响

与正常对照组比较,高磷组和镁干预 I、II 组钙含量明显增加(*P*<0.05);与高磷组比较,镁干预组刺激后,钙含量均显著降低,且随着镁离子浓度增大钙含量逐渐降低(*P*<0.05;图 1)。

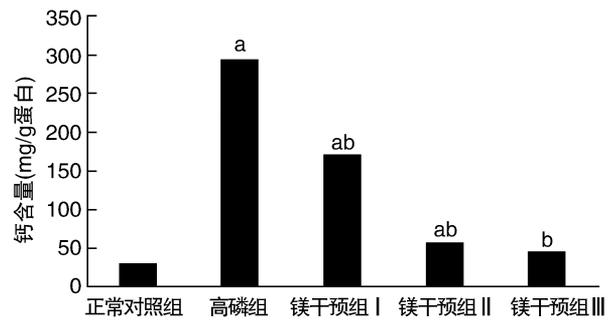


图 1. 5 组大鼠胸主动脉血管环钙含量的比较(mg/g 蛋白, *n*=3) a 为 *P*<0.05,与正常对照组比较; b 为 *P*<0.05,与高磷组比较。

Figure 1. Comparison of calcium content of rat aortic rings among five groups(mg/g protein, *n*=3)

Von Kossa 染色结果显示,与正常对照组比较,高磷组黑褐色钙化结节明显增多;与高磷组比较,镁干预组随着镁离子浓度增大黑褐色钙化结节逐渐减少,并呈一定浓度依赖性,镁干预组 III 未见黑褐色钙化结节(图 2)。

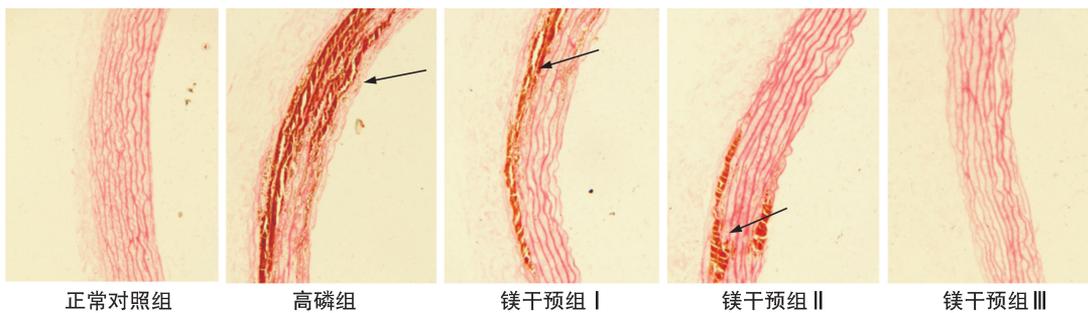


图 2. 各组大鼠血管环 Von Kossa 染色(×100)

Figure 2. Deposition of calcium salts in rat aortic rings under microscope(×100)

2.2 不同浓度镁离子刺激对高磷诱导的血管环 Runx2 和 SM22α 表达的影响

免疫组化结果显示,Runx2 表达除镁干预组 III 与正常对照组差异无统计学意义外,其余组均高于正常对照组(*P*<0.05)。镁干预组随镁离子浓度增大 Runx2 表

达逐渐降低,且均低于高磷组(*P*<0.05;表 1,图 3)。

SM22α 表达除镁干预组 III 与正常对照组差异无统计学意义外,其余组均低于正常对照组(*P*<0.05)。镁干预组随镁离子浓度增大 SM22α 表达逐渐增加,且均高于高磷组(*P*<0.05;表 1,图 3)。

表 1. 各组大鼠血管环目的因子免疫组化积分( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 1. Immunohistochemical staining of the rats aortic rings in each group( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

分组	Runx2	SM22α	LTCCα <sub>1c</sub>	LTCC β <sub>3</sub>
正常对照组	2.00±0.71	8.10±0.84	1.2±0.83	1.2±0.84
高磷组	6.00±1.00 <sup>a</sup>	1.72±0.35 <sup>a</sup>	5.2±0.84 <sup>a</sup>	4.6±1.14 <sup>a</sup>
镁干预组 I	3.80±0.84 <sup>ab</sup>	3.93±0.63 <sup>ab</sup>	3.8±0.83 <sup>ab</sup>	3.6±1.14 <sup>ab</sup>
镁干预组 II	3.00±0.70 <sup>ab</sup>	4.01±0.75 <sup>ab</sup>	3.2±0.84 <sup>ab</sup>	2.8±0.83 <sup>ab</sup>
镁干预组 III	2.20±0.83 <sup>b</sup>	7.22±0.88 <sup>b</sup>	2.3±0.83 <sup>b</sup>	1.8±0.84 <sup>b</sup>

a 为 *P*<0.05,与正常对照组比较;b 为 *P*<0.05,与高磷组比较。

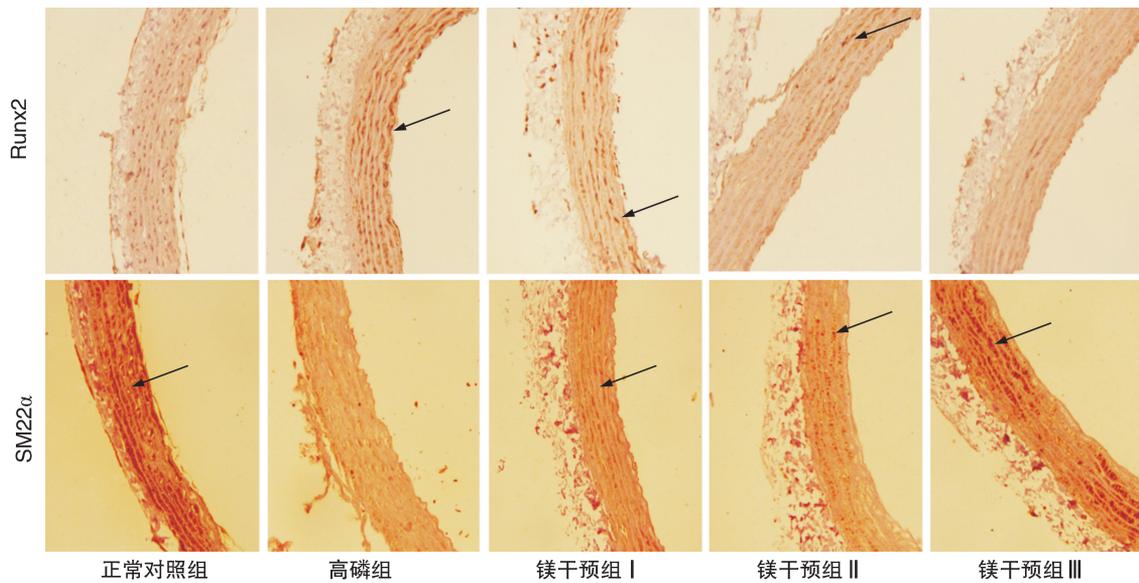


图 3. 各组大鼠血管环 Runx2 及 SM22 $\alpha$  免疫组化结果( $\times 200$ )

Figure 3. Immunohistochemical results of Runx2 and SM22 $\alpha$  in rat aortic rings under microscope( $\times 200$ )

### 2.3 不同浓度镁离子对高磷诱导的血管环 LTCC $\alpha_{1c}$ 、LTCC $\beta_3$ 亚基表达的影响

免疫组化结果显示, LTCC $\alpha_{1c}$ 、LTCC $\beta_3$  亚基表达除镁干预组 III 与正常对照组组差异无统计学意

义外, 其余组均高于正常对照组( $P < 0.05$ )。镁干预组随镁离子浓度增大 LTCC $\alpha_{1c}$ 、LTCC $\beta_3$  亚基表达逐渐降低, 且均低于高磷组( $P < 0.05$ ; 表 1, 图 4)。

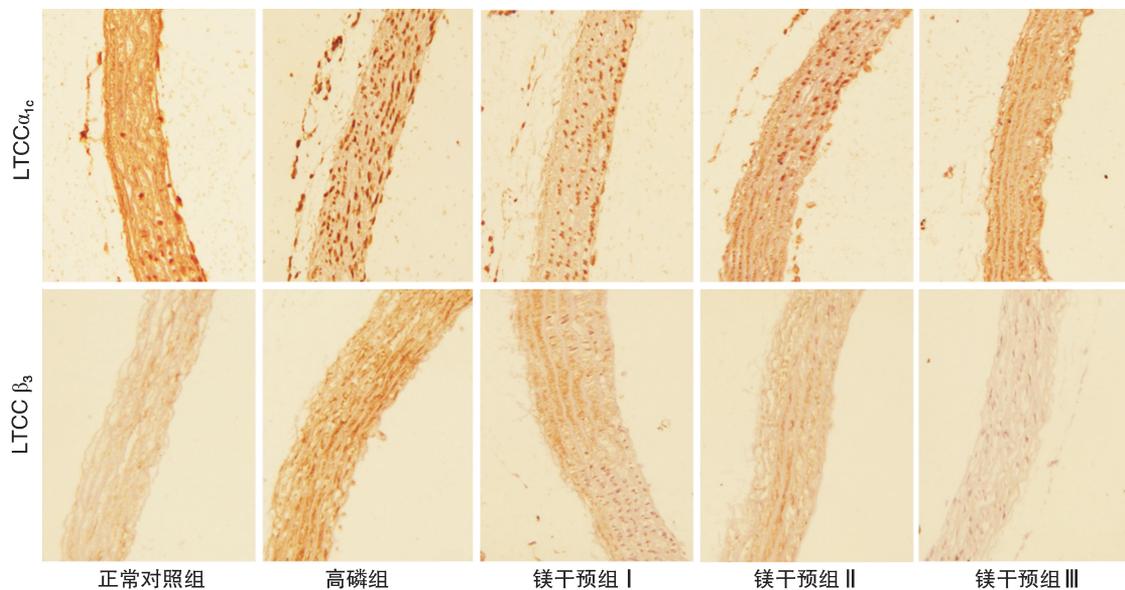


图 4. 各组大鼠血管环 LTCC $\alpha_{1c}$  及 LTCC  $\beta_3$  免疫组化结果( $\times 200$ )

Figure 4. Immunohistochemical results of LTCC $\alpha_{1c}$  and LTCC  $\beta_3$  in rat aortic rings under microscope( $\times 200$ )

### 2.4 LTCC $\alpha_{1c}$ 、LTCC $\beta_3$ 亚基与 Runx2 免疫组化评分之间的相关分析

相关性分析结果显示, LTCC  $\beta_3$  亚基与 Runx2

表达呈正相关( $r = 0.692, P < 0.001$ ), LTCC $\alpha_{1c}$  亚基与 Runx2 表达呈正相关( $r = 0.716, P < 0.001$ ), Runx2 与 SM22 $\alpha$  表达呈负相关( $r = -0.671, P = 0.001$ ; 图 5)。

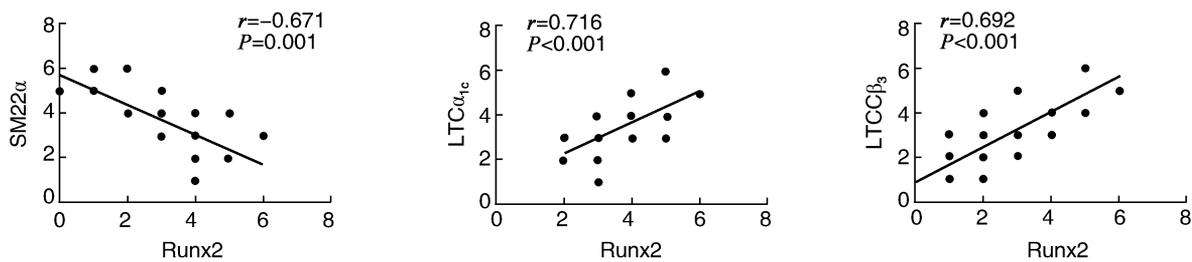


图 5. 各组大鼠胸主动脉血管环  $LTCC\alpha_{1c}$ 、 $LTCC\beta_3$  亚基与 Runx2 免疫组化评分相关分析

Figure 5. Correlation analysis between the immunohistochemical score of  $LTCC\alpha_{1c}$ ,  $LTCC\beta_3$  subunit and Runx2 in rat aortic rings under microscope

### 3 讨论

慢性肾脏病 (CKD) 患者存在心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 高患病率, 血管钙化是导致心血管疾病的主要原因, 其分子机制是多因素的、细胞介导的、动态的, 但仍未完全清楚<sup>[9]</sup>。在有关 CKD 患者血管钙化的研究中发现血管钙化并不是钙、磷被动地在血管中沉积, 而是由平滑肌细胞主动参与的过程, 其中血管平滑肌细胞向成骨或成软骨样细胞表型转化是关键环节<sup>[10]</sup>。Runx2 是成骨样细胞表型转化的特异性因子, 是骨形成过程中的主要调节因子, 其也可在发生钙化的 VSMC 中表达, SM22 $\alpha$  是一种 VSMC 分化标志物, 其表达具有平滑肌组织特异性和细胞表型特异性<sup>[11]</sup>。本研究观察了不同浓度镁离子对高磷诱导的大鼠胸主动脉血管环 Runx2 和 SM22 $\alpha$  蛋白表达的影响, 结果发现, 镁可降低高磷诱导的大鼠胸主动脉血管环 Runx2 蛋白的表达, 增加 SM22 $\alpha$  蛋白的表达, 提示镁离子可以抑制高磷诱导的大鼠胸主动脉血管环钙化, 并呈现一定的浓度依赖性。Von Kossa 染色发现, 高磷组及镁干预组血管环钙化染色较正常对照组加重, 但镁干预组随着镁离子浓度的增加血管环黑褐色沉积逐渐减少, 镁离子浓度 2 mmol/L 开始出现钙化结节缩小, 3 mmol/L 时血管环无钙化。钙含量检测结果与 Von Kossa 染色结果基本一致, 二者均提示镁离子可以抑制高磷诱导的钙化, 并呈现一定浓度依赖性。

电压和时间依赖性 L-型钙通道是血管平滑肌细胞外钙离子经细胞膜进入细胞内的主要途径, 血管平滑肌 L-型钙通道由主要由  $\alpha_{1c}$ 、 $\alpha_2/\delta_1$ 、 $\gamma$  及  $\beta$  亚基组成。 $\alpha_{1c}$  亚单位是 4 个跨膜区构成的成孔亚单位, 钙离子通过此通道进入细胞形成电流。 $\beta$  亚单位位于胞浆内, 现已知有  $\beta_1$ 、 $\beta_2$ 、 $\beta_3$ 、 $\beta_4$  共 4 种亚型,  $\beta_3$  是血管平滑肌细胞上主要的亚型, 通过与  $\alpha_{1c}$

亚单位相互作用调节内向钙电流<sup>[12]</sup>。

镁离子可参与多种酶的调节, 除此之外, 镁在骨骼、矿物质代谢和血管紧张度方面也发挥着重要的作用。临床观察表明, 血清镁水平与血管钙化或动脉粥样硬化呈负相关<sup>[13-14]</sup>。研究表明在体外, 镁可以破坏羟基磷灰石形成<sup>[9]</sup>。然而, 镁离子抑制血管钙化的机制尚不清楚。本课题组在前期有关高磷诱导的平滑肌细胞表型转化发生机制的系列研究基础上, 进一步探讨了高镁对高磷诱导的平滑肌细胞表型转化中作用的可能机制。本课题观察了不同浓度镁离子对高磷诱导的平滑肌细胞  $LTCC\alpha_{1c}$ 、 $LTCC\beta_3$  亚基表达的影响, 结果显示镁离子可抑制  $LTCC\alpha_{1c}$ 、 $LTCC\beta_3$  亚基的表达, 且呈现一定浓度依赖性。相关分析显示 SM22 $\alpha$  表达与 Runx2 表达呈负相关;  $LTCC\alpha_{1c}$  亚基表达与 Runx2 表达呈正相关;  $LTCC\beta_3$  表达与 Runx2 表达呈正相关; 这些结果都提示  $LTCC\alpha_{1c}$ 、 $LTCC\beta_3$  亚基表达增高与 VSMCs 发生表型转化具有相关性。

总之, 本文通过体外研究发现, 镁离子可抑制高磷诱导的大鼠胸主动脉血管环钙化, 其作用可能是通过降低  $LTCC\alpha_{1c}$ 、 $LTCC\beta_3$  亚基的表达, 进而下调 Runx2 表达、上调 SM22 $\alpha$  表达, 抑制血管平滑肌细胞向成骨样表型转化来实现的。但镁离子引起的这种改变有待在动物模型上进一步证实, 且这种改变在蛋白水平及其具体的信号通路还需进一步深入探讨, 从而为慢性肾脏病患者血管钙化的防治提供理论基础。

#### [参考文献]

- [1] Zhang L, Wang F, Wang L, et al. Prevalence of chronic kidney disease in China: a cross-sectional survey[J]. The Lancet, 2012, 37(9818):9: 815-822.
- [2] Komatsu M, Okazaki M, Tsuchiya K, et al. Aortic arch calcification predicts cardiovascular and all-cause mortality

- in maintenance hemodialysis patients [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2014, 39(6): 658-667.
- [3] Schurgers LJ, Uitto J, Reutelingsperger CP, et al. Vitamin K-dependent carboxylation of matrix Gla-protein: a crucial switch to control ectopic mineralization [J]. *Trends Mol Med*, 2013, 19(4): 217-226.
- [4] 张俊霞, 徐金升, 朱荣芳, 等. 慢性肾衰竭大鼠主动脉弹性功能与血管基质金属蛋白酶 2 表达及钙化间的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(2): 115-120.
- [5] 白亚玲, 徐金升, 钱玥彤, 等. 干扰素对高磷诱导大鼠血管平滑肌细胞钙化的影响研究 [J]. *中国心血管杂志*, 2015, 20(1): 62-66.
- [6] 白亚玲, 徐金升, 张睦清, 等. 细胞凋亡在维生素 K<sub>2</sub> 抑制高磷诱导的大鼠血管平滑肌细胞钙化中的作用 [J]. *中国全科医学杂志*, 2015, 18(3): 278-282.
- [7] 白亚玲, 徐金升, 靳晶晶, 等. 高镁对高磷诱导血管钙化的影响及其机制 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2015, 31(1): 37-42.
- [8] Zhang L, Boehm M, Sorribas V, et al. Propranolol inhibits angiogenesis via down-regulating the expression of vascular endothelial growth factor in hemangioma derived stem cell [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(1): 48-55.
- [9] Manal MZ, Manal AS, Ragaa AS, et al. Serum magnesium level and vascular stiffness in children with chronic kidney disease on regular hemodialysis [J]. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 2016, 27(2): 233-240.
- [10] Cseprekal O, Kis E, Degi AA, et al. Bone metabolism and arterial stiffness after renal transplantation [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2014, 39(6): 507-515.
- [11] Sun Y, Byon CH, Yuan K, et al. Smooth muscle cell-specific runx2 deficiency inhibits vascular calcification [J]. *Circ Res*, 2012, 111(5): 543-552.
- [12] Cain SM, Snutch TP, et al. Voltage-gated calcium channels and disease [J]. *Biofactors*, 2011, 37(3): 197-205.
- [13] Massy ZA, Drueke TB, et al. Magnesium and outcomes in patients with chronic kidney disease: focus on vascular calcification, atherosclerosis and survival [J]. *Clin Kidney J*, 2012, 5(suppl 1): i52-i61.
- [14] Lshimura E, Okuno S, Kitatani K, et al. Significant association between the presence of peripheral vascular calcification and lower serum magnesium in hemodialysis patients [J]. *Clinical Nephrology*, 2007, 68(4): 222-227.

(此文编辑 朱雯霞)