

microRNA 调节血管钙化的研究进展

裴昱强, 葛海龙, 刘放, 李磊

(首都医科大学附属北京安贞医院老年心内科, 北京市 100029)

[关键词] microRNA; 基质小泡; 破骨细胞; 血管平滑肌细胞; 血管钙化

[摘要] 血管钙化与心血管疾病死亡风险的增加有着密切联系,然而在患有冠状动脉疾病(CAD)的患者中血管钙化却非常普遍。血管钙化的发病机制类似于骨发育和软骨形成的过程。血管平滑肌细胞转分化为成骨样细胞、钙磷调节失衡、破骨细胞活性和矿物质吸收能力的降低,在促进血管钙化过程中有着重要的作用。目前发现微小RNA(microRNA)通过引导血管平滑肌细胞进行复杂遗传基因重编码以及与血管钙化相关的其他细胞功能反应参与血管钙化的过程。文章将详细介绍关于microRNA介导血管钙化的重要调节作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Research progress of the microRNA regulating vascular calcification

PEI Yuqiang, GE Hailong, LIU Fang, LI Lei

(Department of Cardiology, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100029, China)

[KEY WORDS] microRNA; matrix vesicle; osteoclasts; vascular smooth muscle cell; vascular calcification

[ABSTRACT] Vascular calcification is associated with an increased risk of death from cardiovascular disease, however vascular calcification is common in patients with coronary artery disease. The pathogenesis of vascular calcification is similar to the process development of bone and chondrogenesis. Vascular smooth muscle cells transdifferentiate into osteoblast-like cells, the imbalance of calcium and phosphorus adjustment, osteoclast activity and the decrease of mineral absorption capacity play an important role in promoting vascular calcification. It is now found that microRNA are involved in the process of vascular calcification by directing vascular smooth muscle cells for complex genetic reprogramming and other cellular functional responses associated with vascular calcification. This article presents in detail the important regulation that has so far involved microRNA-mediated vascular calcification.

血管钙化常见于高血压、糖尿病、动脉粥样硬化、慢性肾病以及衰老等慢性病或老年病,是磷酸钙结晶以羟磷灰石的形式在心血管组织中的异位沉积,是一种常见临床病理表型^[1]。由于平滑肌细胞等间叶细胞丢失原有表型而获得成骨表型(成骨样细胞),释放钙化基质小泡,减少破骨细胞的活性矿物质的吸收能力。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。

血管钙化是一种多因素介导、主动、可逆的调节过程,涉及多种细胞因子及信号通路,本质是多种血管细胞成分向成骨样细胞表型转化,最终导致

管壁增厚、管腔狭窄和血管硬化重塑。目前研究表明血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)、血管壁内的间充质干细胞都具有向成骨样细胞表型转化的潜能,成骨样细胞的来源及其转化和促进血管钙化机制已成为这一领域的重大研究课题^[1]。

microRNA是长约22 nt的非编码RNA,它通过促进mRNA的降解或抑制其翻译来抑制蛋白质的编码基因。证据表明microRNA几乎参与了人体一切生命活动的调节和所有疾病的发病过程,涉及调控细胞生成、发育、增殖、凋亡、可塑性、表型变化及损伤修复等生理和病理过程。

在最近的研究证明microRNA可以通过调控血

[收稿日期] 2017-12-20

[修回日期] 2018-01-24

[基金项目] 国家自然科学基金资助(81573744)

[作者简介] 裴昱强,硕士,住院医师,研究方向为冠状动脉介入治疗及机制,E-mail为605548841@qq.com。通信作者葛海龙,主任医师,硕士研究生导师,研究方向为冠心病基础研究与诊疗,E-mail为gehailong@126.com。

管钙化的重要环节来参与血管钙化的细胞过程。本文将详述血管钙化的细胞学和分子学机制,及 microRNA 在调节血管钙化过程中的作用。

1 microRNA 调控 VSMC 转分化

VSMC 通过转分化为成骨样细胞形成骨基质促进血管钙化。“钙化平滑肌细胞”类似于成骨细胞并且利用骨形成机制在血管中形成异位钙化。而 microRNA 通过调节 Runx2 (Runx2 是诱导成骨细胞和软骨细胞分化的钙化过程的主要转录因子)和 Osterix (成骨特异性转录因子)的表达与其他相关信号通路协同在平滑肌细胞 (smooth muscle cells, SMC) 转分化过程中起重要作用。如 microRNA-125b, 一项实验表明,成骨培养的实验组细胞与对照组相比 microRNA-125b 显著减少 (-42%)。表达 Osterix 与 Runx2 蛋白的基因被证明为 microRNA-125b 靶基因,通过抑制 microRNA-125b,可以使 Runx2、Osterix 表达增加。在活体实验中,30 周龄的载脂蛋白 E (ApoE) 小鼠的钙化主动脉 SMC 中 microRNA-125b 下调,研究还证明在促钙化条件下的核糖核酸内切酶 Dicer 和 Drosha 也出现了下降。

在另一项试图明确 microRNA 在调节 SMC 转分化作用的实验中,经 β -甘油磷酸处理 (高磷诱导 VSMC 向成骨细胞样细胞转分化) 发现,SMC 中的 microRNA-125b 靶向转录因子 Ets1 调节相关蛋白的表达。它是通过 siRNA 抑制 Ets1 的表达来抑制 SMC 的转分化。因此 β -甘油磷酸处理后的实验组随着 microRNA-125b 的表达下降,骨钙素和骨桥蛋白的表达显著增加,从而促进 VSMC 的转分化和血管钙化。

在人冠状动脉 VSMC 中抑制 microRNA-125b 的表达,由于 microRNA-125b 靶向锌指转录因子 Sp7 (Sp7 作为一个成骨细胞特异性的转录因子,在前成骨细胞向成熟的成骨细胞及骨细胞分化的过程中起到了重要的作用),从而使转录因子 Sp7 表达增加,促进了 SMC 转分化及血管钙化^[2]。

体外培养实验研究发现靶向 Runx2 的 microRNA (microRNA-133 和 microRNA-204) 在鼠主动脉的 SMC 中表达下降,从而导致钙化。在另一项活体实验中,编码在瞬时受体电位阳离子通道亚家族 M 成员 3 基因中的 microRNA-204,也显示出在维生素 D3 处理的血管钙化鼠模型中促进血管钙化,并得到主动脉钙化与 Runx2 表达增加相关的结论。用 agomiR-204 (miR-204 模拟物) (80 mg/kg) 处理以

增加 microRNA-204 表达的小鼠血管钙化显著减少,并表现出主动脉 SMC 中 Runx2 表达增加,从而推断我们可能可以通过操纵 microRNA 表达水平来达到对血管钙化精准治疗的目的^[3]。

骨形态发生蛋白 (BMP) 属于转化生长因子 (TGF)- β 超家族,在胚胎形成期作为有效的调节因子,并调控诸如血管的发育,骨形成和神经元分化等过程^[4] 研究发现,BMP 可以通过 R-Smads (通路限制性 Smad 蛋白) 的非经典信号通路作用直接控制 microRNA 的加工。其中 BMP2 和 BMP4 被认为是钙化的动脉粥样硬化血管中起重要作用的成骨分化因子。microRNA-30b 在钙化的人冠状动脉粥样硬化血管中下调^[5]。通过血管原位杂交技术检测到 BMP2 表达的增加伴随着 microRNA-30b 表达的减少,这再次证明 BMP 通过调节 microRNA 从而促进 VSMC 转分化。微阵列分析表明 BMP2 可以降低 microRNA-30b 和 microRNA-30c 的表达,从而促进 VSMC 钙化^[5]。Runx2 同样也为 microRNA-30b 和 microRNA-30c 的靶标。通过 BMP 通路信号传导的 microRNA-30b/c 的下调足以增加 Runx2 表达,这导致 Runx2 依赖性基因骨桥蛋白和骨钙素的表达增加,细胞内钙沉积增加以及 VSMC 向成骨样细胞转分化引起血管钙化^[5]。

转分化为成骨细胞表型是血管钙化的关键一步,TGF- β 和 BMP 信号通路的激活参与间充质干细胞 (MSC) 分化为成骨表型^[6]。BMP2、4 和 7 通过 Smad 介导激活成骨细胞的必需基因 (如 Runx2) 作为潜在的促分化因子。近来,已经发现多种通过 BMP 信号通路调节的 microRNA,可以正调节或负调节 SMC 转分化^[7]。microRNA 微阵列分析显示,在 BMP2 诱导 C2C12 间充质细胞成骨过程中,microRNA-133 和 microRNA-135 表达下调。通过对 BMP2 处理小鼠的前成骨细胞 MC3T3-E1 细胞中 microRNA 表达的研究发现,microRNA-141 和 microRNA-200a 下调。在 BMP2 处理的 MC3T3-E1 细胞中,microRNA-208 和 microRNA-370 的表达水平也被证明显著降低。通过茜素红染色测定,转染 microRNA-208 或 microRNA-370 的细胞中 ALP 活性和矿化作用被抑制。此外,microRNA-208 或 microRNA-370 在原代鼠成骨细胞的过度表达显著降低 BMP2 诱导的成骨细胞分化^[8-9]。将 microRNA-20 的模拟物或慢病毒 microRNA-20 的表达载体转染到人类间充质干细胞中,证实 microRNA-20a 的表达增加促进了成骨细胞分化。值得注意的是,BMP2、BMP4 和 Runx2 的转录和翻译水平与 mi-

croRNA-20a 的表达成正相关。因此 microRNA-20a 是成骨分化过程中激活 BMP 信号的重要正调节因子。其它成骨细胞分化的正调节因子还包括 microRNA-322^[10], 其促进 BMP2 信号通路, 增加 *Osx* 等成骨基因的表达^[10]。microRNA-210 通过抑制 Smad2/3 信号通路, 从而促进 Smad 1/5/8 介导的成骨细胞分化。

无翼型 MMTV 整合位点家族成员 (Wnt) 在维持成骨细胞功能起重要作用, 并涉及 VSMC 的转分化。在钙化 VSMC 中 Wnt/ β -连环蛋白信号被激活并且参与 microRNA-29 的调节。Wnt 信号传导能够诱导 microRNA-29 表达, microRNA-29 的表达增加能抑制 Wnt 信号传导的抑制因子 (Dickkopf、分泌的卷曲相关蛋白 2、Kremen 和 Osteonectin), 从而促进 SMC 转分化。

microRNA-29a/b 在钙化大鼠 VSMC 中表达下降, 同时在主动脉钙化的小鼠和患有慢性肾脏病 (CKD) 的患者桡动脉中也发现 microRNA-29a/b 表达下降^[11]。microRNA-29 也与细胞外基质重塑有关, 其降低胶原和弹性蛋白的完整性, 促进血管增生和纤维化从而促进钙化。

2 调节钙磷平衡的 microRNA

钙磷酸稳态的破坏也能促进 VSMC 转分化和血管钙化。使用 *Klotho* 基因突变鼠进行研究以确定 microRNA 在调节钙和磷酸盐处理蛋白 (对于血管钙化十分重要) 的作用。这些小鼠随磷酸盐水平升高和 Runx2 表达增加, 形成早期的血管钙化^[12]。使用 microRNA 微阵列评估 3 周龄小鼠主动脉 SMC 中 microRNA 的表达, 与野生型对照相比, 在 *Klotho* 基因突变小鼠中有 17 个 microRNA 表达增加, 3 个 microRNA 表达降低 (microRNA-1、microRNA-93 和 microRNA-302b)。与野生型小鼠相比, *Klotho* 基因突变小鼠的钙化主动脉中 microRNA-135a、microRNA-762、microRNA-714 和 microRNA-712 的水平较高。生物信息学显示这些 microRNA 靶向一系列钙转运蛋白, 它的下调导致细胞内钙浓度增加, 从而导致 VSMC 钙化。而 microRNA-135a、microRNA-762、microRNA-714 和 microRNA-712 中任一种 microRNA 的下调或上调, 对 VSMC 钙化没有影响。但是同时抑制上述 microRNA 则胞内钙含量可降低 30%。从而可以得出, microRNA 特异性参与钙化, 并且可能作为“簇”发挥作用^[13]。

研究证明 microRNA-223 是促进暴露于高水平

无机磷酸盐中 VSMC 钙化的重要调节因子。在破骨细胞前体中 microRNA-223 表达增加, 可以负调节破骨细胞表型 [microRNA-223 可以限制核因子 κ B 受体活化因子配体 (RANKL) 诱导的破骨细胞分化]。在体外实验中, 促钙化条件下 VSMC 中 microRNA-223 上调, 并且能够促进 VSMC 增殖和迁移, 这在一定程度上是由于其靶基因肌细胞增强因子 2 (MEF2) 和 Ras 同源物基因家族成员 B (RhoB, 对于调节细胞骨架、细胞黏附和运动、细胞表面受体的胞内转运、细胞凋亡以及恶性肿瘤细胞的浸润和转移等方面具有重要作用) 的表达下调所致^[14-16]。在慢性肾脏疾病鼠模型分离出钙化主动脉中 microRNA-223 表达也增加, 这里 microRNA-223 表达上调与在疾病后期阶段转录因子 NFIA 和葡萄糖转运蛋白 GLUT-4 表达下调相关^[15-16]。为了得到更多 VSMC 钙化相关的 microRNA, 使用 microRNA 微阵列分析在促钙化培养基中生长 9 天的鼠主动脉 VSMC, 得到了 100 多个差异表达的 microRNA, 其中几种 microRNA (microRNA-221、-22、24-2、27a 和 31) 表达下调。进一步研究发现 microRNA-221 和 microRNA-222 协同诱导钙化。这些 microRNA 不作用于 Runx2, 而是调节外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶 1 和 Pit1 的表达影响磷酸盐代谢, 进而破坏钙磷平衡促进钙化的发生^[17]。研究还将 microRNA-9 (下调外焦磷酸酶/磷酸二酯酶 1、Pit1 和碱性磷酸酶的表达) 鉴定为磷酸盐代谢的重要调节因子^[18]。

3 促进 SMC 收缩表型转分化的 microRNA

正常成熟的 VSMC 呈收缩型, 处于分化状态, 分化型 VSMC 主要通过表达一系列特异的收缩蛋白和骨架蛋白来维持其收缩及调节血管张力的功能, 平滑肌 α -肌动蛋白 (SM- α -actin)、平滑肌肌球蛋白重链 (SM-MHC)、碱性调宁蛋白 (h1-calponin) 和 SM22 α (平滑肌 22 α) 表达是收缩型 VSMC 表型的重要标志。调节 VSMC 转分化的 microRNA-143/145 簇, 可以使钙化 VSMC 的收缩蛋白表达降低^[19-20], 这种表型转变通过靶向转录因子——心肌素来实现^[21]。在高水平无机磷酸盐环境下诱发人 VSMC 转分化也表现出 microRNA-143 和 145 表达的降低。虽然 microRNA-143/145 表达的降低不直接参与血管钙化的发病机制, 但通过靶向 Krüppel 样因子 4 (介导高磷酸盐诱导的 VSMC 向成骨细胞转化) 间接促进钙化形成^[22]。microRNA-143/145 上调, 将促进 VSMC 收缩蛋白的损失, 这与动脉粥样硬化性

冠状动脉疾病(通常与血管钙化相关)患者循环中 microRNA-145 水平减少是一致的^[14]。microRNA-24 也可以调节 VSMC 收缩型标志基因的表达,研究证明 microRNA-24 为 VSMC 表型的主要调节因子, microRNA-24 的表达增加,作用于血红素加氧酶 1 并降低细胞应激反应,激活细胞凋亡、自噬和收缩型标志基因的表达下调^[23]。

4 基质囊泡与循环 microRNA 的促钙化作用

VSMC 转分化可产生作为钙化成核位点的细胞外基质囊泡,是血管钙化过程的重要组成部分。这些囊泡可因细胞内钙水平升高而从胞内释放。囊泡含有非结晶的钙、磷酸盐及蛋白。钙和磷酸根离子形成 Ca^{2+} -Pi-磷脂酰丝氨酸复合物,作为成核羟基磷灰石的核心^[24]。有研究通过质谱分析得到了至少 79 种包含基质囊泡内的蛋白,这些囊泡蛋白均与血管钙化相关。基质囊泡还含有钙依赖酶、转谷氨酰胺酶 2 交联细胞外基质并激活基质金属蛋白酶 2 以重塑细胞外基质并提供矿物沉积的位点^[25-26]。

人血浆中存在循环 microRNA。全身循环中存在两个 microRNA 群体,一部分循环 microRNA 被细胞释放到膜包裹的囊泡中,传导信号给其他细胞膜受体,或者携带转移蛋白、RNA 和脂质等进入其他细胞,进而参与细胞间的信息交流,免受核糖核酸酶(RNase)的降解。其次,90%循环 microRNA 是以核酸-蛋白复合物形式存在的,具有高度稳定性。研究表明循环 microRNA 具有将一种细胞表型转化为另一种表型的调节功能^[27]。例如受到剪切应力的细胞产生的内皮基质囊泡富含 microRNA-143 和 microRNA-145。与 VSMC 共同培养时,含有 microRNA 的内皮衍生囊泡介导 microRNA-143/145 靶蛋白的表达,从而调节 VSMC 的表型^[28]。

90 例 CKD 3~4 期患者与健康志愿者相比,靶向 Runx2(血管紧张素 1 型受体和心肌素)的循环 microRNA-125b、microRNA-145 和 microRNA-155 水平降低,并与肾小球滤过率的下降一致^[29]。还发现与 20 例健康对照组相比,30 例 CKD 患者的 microRNA-15b (microRNA-15b 作用于磷酸盐的代谢)水平降低。在这项研究中,发现循环 microRNA-15b 与估算肾小球滤过率($r=0.502, P=0.003$)呈正相关,与磷酸盐水平呈负相关($r=-0.516, P=0.004$)^[30]。

一项研究回顾了现有的文献,以明确 CKD、CAD 和糖尿病(血管钙化高发病率的所有疾病)中常见的循环 microRNA,研究发现 7 种 microRNA

(microRNA-21、microRNA-27、microRNA-34a、microRNA-126、microRNA-146a、microRNA-155 和 microRNA-210)是三种疾病中至少两种共有的,其中 microRNA-21 是唯一在所有上述疾病中可见的 microRNA。

5 与破骨细胞的产生有关的 microRNA

破骨细胞是否促进血管钙化仍然存在争议,然而在血管钙化区域中发现破骨细胞样细胞表明其可能与血管钙化过程密切相关。在对 Runx2 敲除小鼠进行研究中发现这些小鼠失去了正常的骨形成,其原因在于无破骨细胞参与,这表明 Runx2 对调节破骨细胞形成有十分重要的作用。使用 Runx2 的腺病毒介导基因转移进行的验证性研究进一步证实了 Runx2 通过诱导 RANKL 和抑制骨保护素促进破骨细胞分化,并证明血管钙化与破骨细胞样细胞存在联系。随后一项使用高脂饮食刺激诱导血管钙化的研究表明,VSMC-Runx2 缺陷小鼠血管钙化较轻,并且伴随着 RANKL 的减少以及较少的巨噬细胞浸润和破骨细胞样细胞的形成。因此血管钙化与破骨细胞样细胞的形成有关,并与骨骼的形成相似^[31]。

在检测完全去除 microRNA 生成因子(Dgcr8、Dicer、Ago2)的破骨细胞前体后,可以证明 microRNA 在调节破骨细胞生成中的作用。抑制 microRNA 表达的结果是破骨细胞分化由于破骨细胞转录因子的减少而被抑制。

虽然没有研究直接证明 microRNA 在钙化血管中调节单核巨噬细胞分化为破骨细胞样细胞中的作用,但是可以明确这些 microRNA 在血管钙化过程中可以有效调节破骨细胞的功能。存在多种 microRNA 与破骨细胞产生以及心血管疾病相关,比如:靶向 RANKL 的 microRNA-126 在具有高血管钙化风险的糖尿病患者和冠状动脉疾病的患者中降低^[32-33]。钙化的血管中 microRNA-146a 的表达可以抑制抗酒石酸性磷酸酶阳性细胞的数量,从而抑制破骨细胞发生^[34-35]。

值得注意的是,与靶向 Runx2 的 microRNA-34c 相关的 microRNA-34a 为破骨细胞发生的有效抑制剂。研究证明 microRNA-34a 敲除的小鼠骨吸收增加而骨量减少,而携带 microRNA-34 的小鼠却表现出相反的结果。研究发现 microRNA-34 靶向促破骨细胞因子转化生长因子 β 诱导因子 2(Tgif2),有研究通过证明 microRNA-34 参与骨质疏松症和癌症相

关的骨转移,确定了其重要调控作用^[36]。类似地,在人类破骨细胞形成过程中,在钙化 VSMC 中介导 Wnt 信号通路的 microRNA-29b 表达降低^[37]。值得注意的是,研究表明在破骨细胞形成过程中, microRNA-29b 在骨髓衍生细胞中上调,表明调节破骨细胞的 microRNA 可能在不同细胞类型中具有不同的功能^[38]。

其他 microRNA 也涉及破骨细胞功能的调节。在具有骨质疏松症和破骨细胞活性增加的绝经后妇女中, microRNA-503 在 CD14⁺ 外周血单核细胞中下调^[39]。 microRNA-148a 通过靶向 V-maf 肌肉分离性纤维肉瘤癌基因同源物 B (Mafb), 从而使破骨细胞生成增加。

6 结 语

血管钙化是一种严重的血管终末病理表型,与血管功能障碍密切相关,而且不可逆,并且在糖尿病、慢性肾脏病和衰老中普遍存在。调控血管钙化的机制还不十分明确,但目前包括 VSMC 向成骨细胞样细胞转分化,含磷酸钙的循环基质囊泡释放,及用作钙化的成核位点,以及减少吸收骨基质的破骨细胞样细胞的数量或活性。这些病理生理每一个过程中都涉及由 microRNA 调节的遗传重编程。研究证明 microRNA 表达改变可以介导 VSMC 获得成骨细胞表型或破骨细胞样表型。这些 microRNA 很可能通过独特的 microRNA 时间和细胞特异性标记程序调节表型转换,从而启动 VSMC 钙化。未来的研究如果可以明确这种机制,并确定主要调节钙化过程的 microRNA,将有利于从基因水平上解决血管钙化难题。

[参考文献]

[1] 严泽振,沈玲红,何奔. 血管钙化中成骨样细胞来源及其转化的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25(11): 1169-1173.

[2] Wen P, Cao H, Fang L, et al. miR-125b/Ets1 axis regulates transdifferentiation and calcification of vascular smooth muscle cells in a high-phosphate environment[J]. *Exp Cell Res*, 2014, 322(2): 302.

[3] Cui R R, Li S J, Liu L J, et al. MicroRNA-204 regulates vascular smooth muscle cell calcification in vitro and in vivo [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 96(2): 320-329.

[4] Massagu J. TGF β signalling in context[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(10): 616-630.

[5] Balderman JA, Lee HY, Mahoney CE, et al. Bone morpho-

genetic protein-2 decreases microRNA-30b and microRNA-30c to promote vascular smooth muscle cell calcification [J]. *J Am Heart Assoc*, 2012, 1(6): 1225-1226.

- [6] Lin G L, Hankenson K D. Integration of BMP, Wnt, and notch signaling pathways in osteoblast differentiation[J]. *J Cellular Biochem*, 2011, 112(12): 3491-3501.
- [7] Vimalraj S, Selvamurugan N. MicroRNAs: synthesis, gene regulation and osteoblast differentiation [J]. *Curr Issues Mol Biol*, 2013, 15(1): 7.
- [8] Itoh T, Takeda S, Akao Y. MicroRNA-208 modulates BMP-2-stimulated mouse preosteoblast differentiation by directly targeting V-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog 1[J]. *J Bio Chem*, 2010, 285(36): 27745.
- [9] Itoh T, Ando M, Tsukamasa Y, et al. Expression of BMP-2 and Ets1 in BMP-2-stimulated mouse pre-osteoblast differentiation is regulated by microRNA-370 [J]. *Febs Letters*, 2012, 586(12): 1693.
- [10] Gámez B, Rodríguez-Carballo E, Bartrons R, et al. MicroRNA-322 (miR-322) and its target protein Tob2 modulate Osterix (Osx) mRNA stability [J]. *J Bio Chem*, 2013, 288(20): 14264-14275.
- [11] Du Y, Cheng G, Liu Z, et al. Upregulation of a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs-7 by miR-29 repression mediates vascular smooth muscle calcification[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(11): 2580-2588.
- [12] Lim K, Lu T S, Molostvov G, et al. Vascular Klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23[J]. *Circulation*, 2012, 125(18): 2243-2255.
- [13] Gui T, Zhou G, Sun Y, et al. MicroRNAs that target Ca (2+) transporters are involved in vascular smooth muscle cell calcification [J]. *Lab Invest*, 2012, 92(9): 1250-1259.
- [14] Rangrez A Y, Massy Z A, Metzinger-le M V, et al. miR-143 and miR-145: molecular keys to switch the phenotype of vascular smooth muscle cells [J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2011, 4(2): 197.
- [15] Taibi F, Metzinger-Le Meuth V, Massy Z A, et al. miR-223: an inflammatory oncomiR enters the cardiovascular field [J]. *Biochimica et biophysica acta*, 2014, 1842(7): 1001.
- [16] Taibi F, Metzinger-Le Meuth V, Massy ZA, et al. Possible involvement of microRNAs in vascular damage in experimental chronic kidney disease[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1842(1): 88-98.
- [17] Mackenzie N C W, Staines K A, Zhu D, et al. miRNA-221 and miRNA-222 synergistically function to promote vascular calcification[J]. *Cell Biochem Funct*, 2014, 32

- (2): 209-216.
- [18] Clement T, Salone V, Charpentier B, et al. Identification of new microRNAs targeting genes regulating the Pi/PPi balance in chondrocytes [J]. *Biomed Mater Eng*, 2014, 24(24): 3-16.
- [19] Johnson R C, Leopold J A, Loscalzo J. Vascular calcification: pathobiological mechanisms and clinical implications [J]. *Circ Res*, 2006, 99(10): 1044-1059.
- [20] Davis-Dusenbery B N, Wu C, Hata A. Micromanaging vascular smooth muscle cell differentiation and phenotypic modulation [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(11): 2370.
- [21] Li Z, Hassan M Q, Volinia S, et al. A microRNA signature for a BMP2-induced osteoblast lineage commitment program [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(37): 13906.
- [22] Davisdusenbery B N, Chan M C, Reno K E, et al. Downregulation of Krüppel-like factor-4 (KLF4) by microRNA-143/145 is critical for modulation of vascular smooth muscle cell phenotype by transforming growth factor- β and bone morphogenetic protein 4 [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(32): 28097.
- [23] Fiedler J, Stöhr A, Gupta SK, et al. Functional microRNA library screening identifies the hypoxamir miR-24 as a potent regulator of smooth muscle cell proliferation and vascularization [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 21(8): 1167-1176.
- [24] Kapustin A N, Shanahan C M. Calcium regulation of vascular smooth muscle cell-derived matrix vesicles [J]. *Trends Cardiovas Med*, 2012, 22(5): 133.
- [25] Kapustin A N, Davies J D, Reynolds J L, et al. Calcium regulates key components of vascular smooth muscle cell-derived matrix vesicles to enhance mineralization [J]. *Circ Res*, 2011, 109(1): 1-12.
- [26] Chen N X, O'Neill K, Chen X, et al. Transglutaminase 2 accelerates vascular calcification in chronic kidney disease [J]. *Am J Nephrol*, 2013, 37(3): 191.
- [27] 黄颖, 伍伟锋, 韦永强, 等. 循环 microRNA 在心血管疾病中的研究进展 [J]. *中国分子心脏病学杂志*, 2016, (1): 1613-1616.
- [28] Hergenreider E, Heydt S, Tréguer K, et al. Atheroprotective communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs [J]. *Nature Cell Biol*, 2012, 14(3): 249.
- [29] Chen N X, Kiattisunthorn K, O'Neill K D, et al. Decreased microRNA is involved in the vascular remodeling abnormalities in chronic kidney disease (CKD) [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e64558.
- [30] Wang H, Peng W, Ouyang X, et al. Reduced circulating miR-15b is correlated with phosphate metabolism in patients with end-stage renal disease on maintenance hemodialysis [J]. *Renal Failure*, 2012, 34(6): 685-690.
- [31] Sun Y, Byon C H, Yuan K, et al. Smooth muscle cell-specific runx2 deficiency inhibits vascular calcification [J]. *Circ Res*, 2012, 111(5): 543.
- [32] Sun X, Zhang M, Sanagawa A, et al. Circulating microRNA-126 in patients with coronary artery disease: correlation with LDL cholesterol [J]. *Thromb J*, 2012, 10(1): 16.
- [33] Meng S, Cao J T, Zhang B, et al. Downregulation of microRNA-126 in endothelial progenitor cells from diabetes patients, impairs their functional properties, via target gene Spred-1 [J]. *J Mol Cellular Cardiol*, 2012, 53(1): 64.
- [34] Nakasa T, Shibuya H, Nagata Y, et al. The inhibitory effect of microRNA-146a expression on bone destruction in collagen-induced arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2011, 63(6): 1582-1590.
- [35] Chen T, Li Z, Jing T, et al. MicroRNA-146a regulates the maturation process and pro-inflammatory cytokine secretion by targeting CD40L in oxLDL-stimulated dendritic cells [J]. *Febs Letters*, 2011, 585(3): 567-573.
- [36] Jing Y K, Wei W, Huynh H D, et al. miR-34a blocks osteoporosis and bone metastasis by inhibiting osteoclastogenesis and Tgfr2 [J]. *Nature*, 2014, 512(7515): 431-435.
- [37] Rossi M, Pitari M R, Amodio N, et al. miR-29b negatively regulates human osteoclastic cell differentiation and function: implications for the treatment of multiple myeloma-related bone disease [J]. *J Cell Physiol*, 2013, 228(7): 1506-1515.
- [38] Franceschetti T, Kessler C B, Lee S K, et al. miR-29 promotes murine osteoclastogenesis by regulating osteoclast commitment and migration [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(46): 33347.
- [39] Chen C, Cheng P, Xie H, et al. MiR-503 regulates osteoclastogenesis via targeting RANK [J]. *J Bone Miner Res*, 2014, 29(2): 338-347.

(此文编辑 许雪梅)