

内质网应激在成纤维细胞生长因子 21 抑制大鼠血管钙化过程中的作用

靳海斌¹, 刘丽君², 高波¹

(1. 天津医院心血管内科, 天津市 300142; 2. 外交部机关门诊部内科, 北京市 100701)

[关键词] 内质网应激; 成纤维细胞生长因子 21; 血管钙化; 细胞凋亡

[摘要] **目的** 研究内质网应激(ERS)在成纤维细胞生长因子 21(FGF21)抑制大鼠血管钙化过程中的作用。**方法** 成年雄性 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、FGF21 组、FGF21+衣霉素(TM)组,后 3 组采用维生素 D3 联合尼古丁的方式建立血管钙化模型,FGF21 组给予 1 mg/(kg·d)的 FGF21 腹腔注射,FGF21+TM 组给予 1 mg/(kg·d)的 FGF21 腹腔注射及 4.5 mg/(kg·w)的 TM 腹腔注射,连续 28 天。比较各组大鼠胸主动脉茜素红染色、钙含量、碱性磷酸酶(ALP)活性、TUNEL 染色、成骨标志基因及 ERS 基因表达水平的差异。**结果** FGF21 组大鼠胸主动脉的茜素红染色明显减弱,胸主动脉中钙含量、ALP 活性、TUNEL 染色阳性率及 Runt 相关转录因子 2(RUNX2)、骨形态发生蛋白 2(BMP2)、BMP4、骨保护素(OPG)、葡萄糖调节蛋白 78(GRP78)、CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白(CHOP)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 12(Caspase-12)的蛋白表达水平均明显低于模型组($P<0.05$)。FGF21+TM 组大鼠胸主动脉的 TUNEL 染色阳性率及 RUNX2、BMP2、BMP4、OPG、GRP78、CHOP、Caspase-12 的蛋白表达水平均明显高于 FGF21 组($P<0.05$)。**结论** FGF21 对维生素 D3 和尼古丁诱导的血管钙化具有抑制作用,阻断 ERS 所介导的细胞凋亡及成骨分化可能是其抑制血管钙化的分子机制。

[中图分类号] R54;R363

[文献标识码] A

The role of endoplasmic reticulum stress in the inhibition of vascular calcification by fibroblast growth factor 21 in rats

JIN Haibin¹, LIU Lijun², GAO Bo¹

(1. Department of Cardiovascular Medicine, Tianjin Hospital, Tianjin 300142, China; 2. Department of Internal Medicine, Outpatient Department of the Ministry of Foreign Affairs, Beijing 100701, China)

[KEY WORDS] endoplasmic reticulum stress; fibroblast growth factor 21; vascular calcification; cell apoptosis

[ABSTRACT] **Aim** To study the role of endoplasmic reticulum stress (ERS) in the inhibition of vascular calcification by fibroblast growth factor 21 (FGF21) in rats. **Methods** Adult male SD rats were randomly divided into control group, model group, FGF21 group and FGF21+tunicamycin (TM) group. Vitamin D3 combined with nicotine was used to establish vascular calcification model in the latter 3 groups. FGF21 group was intraperitoneally injected with 1 mg/(kg·d) of FGF21, and FGF21+TM group was intraperitoneally injected with 1 mg/(kg·d) of FGF21 and 4.5 mg/(kg·w) of TM, for 28 consecutive days. Alizarin red staining, calcium content, alkaline phosphatase (ALP) activity, TUNEL staining, osteogenesis marker gene and ERS gene expression levels in thoracic aorta of rats were compared among groups. **Results** Alizarin red staining of thoracic aorta in FGF21 group was significantly weakened. Calcium content, ALP activity, positive rate of TUNEL staining and protein expression levels of Runt-related transcription factor 2 (RUNX2), bone morphogenetic protein 2 (BMP2), BMP4, osteoprotegerin (OPG), glucose-regulated protein 78 (GRP78), CCAAT/EBP homologous protein (CHOP) and cysteinyl aspartate specific proteinase-12 (Caspase-12) in the FGF21 group were significantly lower than those in the model group ($P<0.05$). Positive rate of TUNEL staining and protein expression levels of RUNX2, BMP2, BMP4, OPG, GRP78, CHOP and Caspase-12 in the FGF21+TM group were significantly higher than those in the FGF21 group ($P<0.05$). **Conclusion** FGF21 can inhibit vascular calcification

[收稿日期] 2019-02-29

[修回日期] 2019-07-24

[作者简介] 靳海斌, 硕士, 主治医师, 研究方向为冠心病介入, E-mail 为 jhblyc@tom.com。通信作者高波, 硕士, 主任医师, 研究方向为冠心病介入, E-mail 为 lucheng3935@163.com。

induced by vitamin D3 and nicotine, and blocking ERS-mediated cell apoptosis and osteogenic differentiation may be its molecular mechanism of inhibiting vascular calcification.

血管钙化是临床上多种心血管疾病的共同发病基础,以血管壁内钙磷异常沉积为特征,多见于动脉粥样硬化、慢性肾脏病患者,被认为是预测心血管事件发生和死亡的独立危险因素^[1-2]。在血管钙化的进程中,血管平滑肌细胞表型向成骨样细胞表型转化、过度凋亡等均是促进血管发生钙化的重要环节,但调控血管平滑肌细胞表型转化及凋亡的具体机制仍未明确,临床上也缺乏相应的预防手段。内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)是近年来发现与血管钙化过程中血管平滑肌细胞表型转化及凋亡相关的生物学环节,过度激活的 ERS 一方面促进细胞的成骨分化,另一方面促进细胞凋亡的发生^[3-4]。成纤维细胞生长因子 21 (fibroblast growth factor 21, FGF21) 是 FGF 家族的新成员,已经被多项动物实验证实具有抗炎、抗氧化、调脂、减轻胰岛素抵抗等生物学作用,是心血管系统的保护因子^[5-8]。为了明确 FGF21 对血管钙化的治疗价值及机制,本研究通过维生素 D3 联合尼古丁给药的方式诱导建立血管钙化模型并具体分析了 FGF21 对血管钙化模型中 ERS 的调节作用及机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物、试剂和仪器

(1) 动物:成年雄性 SD 大鼠, SPF 级,体质量 250~300 g,共 40 只,购自上海杰思捷实验动物公司,动物许可证号:SYXK(津)2018-0001。(2) 试剂:维生素 D3、尼古丁、花生油、FGF21、茜素红、ERS 激动剂衣霉素(tunicamycin, TM)均购自 Sigma 公司;钙含量比色检测试剂盒购自武汉艾美捷科技有限公司;碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)检测试剂盒购自北京索莱宝科技公司;TUNEL 染色试剂盒、BCA 蛋白定量检测试剂盒购自上海碧云天公司。Runt 相关转录因子 2(Runt-related transcription factor 2, RUNX2)、骨形态发生蛋白 2(bone morphogenetic protein 2, BMP2)、骨保护素(osteoprotegerin, OPG)、葡萄糖调节蛋白 78(glucose-regulated protein 78, GRP78)、CCAAT/增强子结合蛋白同源蛋白(CCAAT/EBP homologous protein, CHOP)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 12(cysteinyI aspartate specific proteinase-12, Caspase-12)及 β -actin 的一抗购自 Abcam 公司。(3) 仪器:荧光显微镜为奥林巴斯

公司产品;Western blot 电泳仪、显影仪均为上海天能公司产品;超声粉碎仪购自宁波新芝公司。

1.2 动物分组及给药

SD 大鼠随机分为对照组、模型组、FGF21 组、FGF21+TM 组,每组 10 只。模型组和 FGF21 组采用维生素 D3 联合尼古丁的方式建立血管钙化模型,具体如下:30 万单位/公斤维生素 D3 肌肉注射,25 mg/kg 尼古丁溶于花生油灌胃,9 h 后重复 1 次。FGF21 组从造模当天开始给予 1 mg/(kg·d)的 FGF21 腹腔注射;FGF21+TM 组从造模当天开始给予 1 mg/(kg·d)的 FGF21 腹腔注射及 4.5 mg/(kg·w)的 TM 腹腔注射;对照组和模型组从造模当天开始给予等剂量生理盐水腹腔注射;连续处理 28 天。

1.3 胸主动脉茜素红染色

取胸主动脉,生理盐水清洗后进行石蜡包埋、组织切片,用 0.1% 茜素红(pH 8.3)室温染色 30 min,磷酸盐缓冲液冲洗 2~3 次后拍照记录图像。

1.4 胸主动脉中钙含量及 ALP 活性检测

取胸主动脉,加入磷酸盐缓冲液后超声粉碎,粉碎后的悬液以 3 000 r/min 的速度离心 10 min,收集上清后按照钙含量比色检测试剂盒的说明书进行操作,测定钙含量;按照 ALP 检测试剂盒的说明书进行操作,测定 ALP 活性;按照 BCA 试剂盒的说明书进行操作,测定总蛋白含量。计算每克蛋白中钙含量及 ALP 活性。

1.5 胸主动脉 TUNEL 染色

取石蜡包埋的胸主动脉,制作石蜡切片后加入 TUNEL 试剂盒中的反应液,避光孵育 1 h;加入 DAPI 染色液,避光孵育 5 min,封片后在荧光显微镜下观察,细胞核呈蓝色荧光,凋亡细胞呈绿色荧光,计算绿色荧光细胞数/蓝色荧光细胞数作为凋亡率。

1.6 胸主动脉中基因表达的 Western blot 检测

取胸主动脉,加入蛋白裂解液后超声粉碎,粉碎后的组织悬液以 12 000 r/min 的速度离心 10 min,收集上清,用 BCA 试剂盒进行蛋白定量后用于 Western blot 检测。进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,在每个点样孔内加入 20 μ g 蛋白样本,进行垂直电泳,转膜后得到含有蛋白样本的硝酸纤维素膜(nitrocellulose, NC),用 5% 的脱脂牛奶对 NC 膜进行封闭 2 h。充分漂洗后用 1:1 000 稀释的 RUNX2、BMP2、BMP4、OPG、GRP78、CHOP、Caspase-

12 一抗及 1 : 5 000 稀释的 β -actin 一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜;第 2 天充分漂洗 NC 膜后孵育 1 : 2 000 稀释的二抗,在摇床上振荡漂洗 2 h 后加入显影试剂,在显影仪中曝光得到蛋白条带。用 ImageJ 软件对蛋白条带进行量化分析并计算表达水平。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件录入数据,计量资料经方差齐性检验及正态性检验符合方差齐性及正态性分布后采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,对 4 组间的计量资料进行单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胸主动脉钙化程度

与对照组比较,模型组大鼠胸主动脉的茜素红染色明显加深;与模型组比较,FGF21 组大鼠胸主动脉的茜素红染色明显变浅;与 FGF21 组比较,FGF21+TM 组大鼠胸主动脉的茜素红染色明显加深(图 1)。模型组大鼠胸主动脉中的钙含量、ALP 活性均明显高于对照组,FGF21 组大鼠胸主动脉中的钙含量、ALP 活性均明显低于模型组,FGF21+TM 组大鼠胸主动脉中的钙含量、ALP 活性均明显高于 FGF21 组($P<0.05$;表 1)。

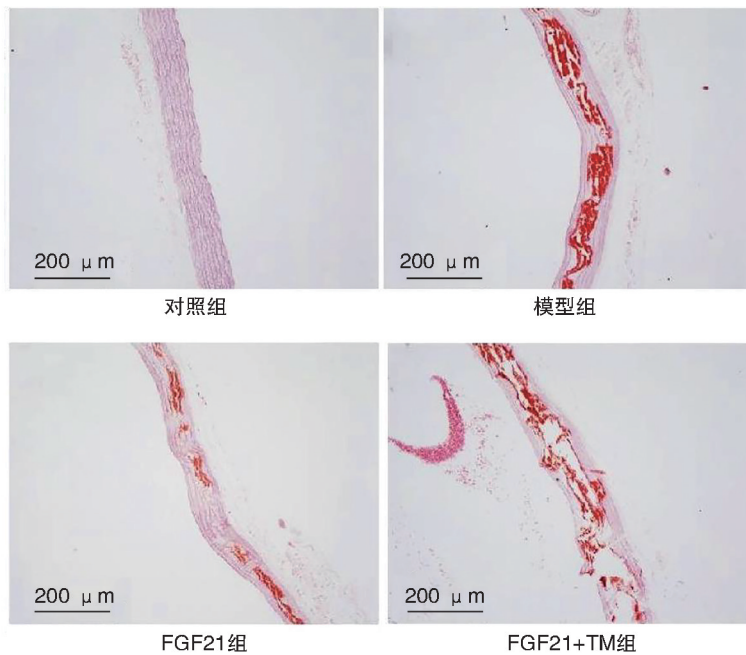


图 1. 各组大鼠胸主动脉的茜素红染色

Figure 1. Alizarin red staining of thoracic aorta in rats of each group

表 1. 各组大鼠胸主动脉钙含量及 ALP 活性的比较

Table 1. Comparison of calcium content and ALP activity in thoracic aorta of rats in each group

分 组	n	钙含量($\mu\text{mol/g}$)	ALP 活性(U/g)
对照组	10	20.38 \pm 5.48	34.19 \pm 6.27
模型组	10	214.51 \pm 34.85 ^a	175.25 \pm 23.51 ^a
FGF21 组	10	99.38 \pm 12.75 ^b	79.72 \pm 10.47 ^b
FGF21+TM 组	10	172.62 \pm 27.74 ^c	136.29 \pm 20.19 ^c

a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与模型组比较;c 为 $P<0.05$,与 FGF21 组比较。

2.2 胸主动脉中成骨标志基因表达量

模型组大鼠胸主动脉中 RUNX2、BMP2、BMP4、

OPG 的表达水平均明显高于对照组,FGF21 组大鼠胸主动脉中 RUNX2、BMP2、BMP4、OPG 的表达水平均明显低于模型组,FGF21+TM 组大鼠胸主动脉中 RUNX2、BMP2、BMP4、OPG 的表达水平均明显高于 FGF21 组,组间差异有统计学意义($P<0.05$;图 2)。

2.3 胸主动脉 TUNEL 染色

模型组大鼠胸主动脉的 TUNEL 染色阳性率明显高于对照组,FGF21 组大鼠胸主动脉的 TUNEL 染色阳性率明显低于模型组,FGF21+TM 组大鼠胸主动脉的 TUNEL 染色阳性率明显高于 FGF21 组,组间差异有统计学意义($P<0.05$;图 3)。

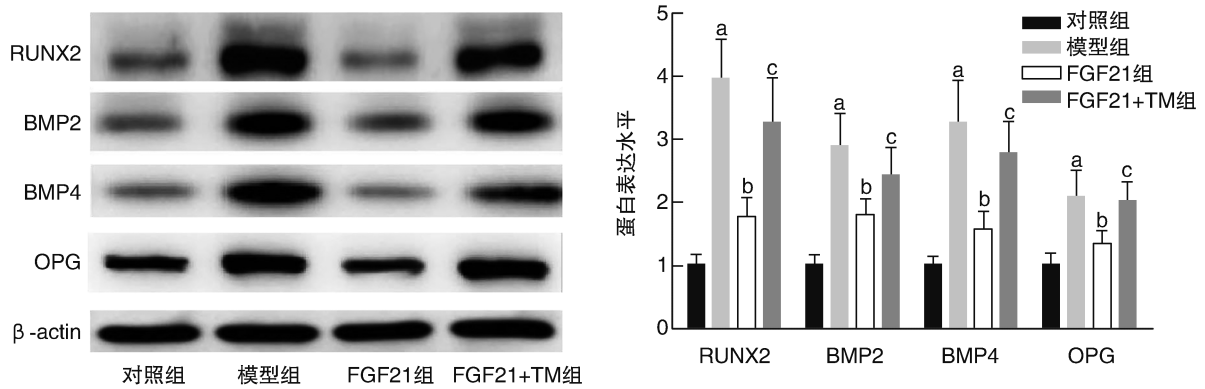


图 2. 各组大鼠胸主动脉中 RUNX2、BMP2、BMP4、OPG 的蛋白表达 (n=10) a 为 P<0.05, 与对照组比较; b 为 P<0.05, 与模型组比较; c 为 P<0.05, 与 FGF21 组比较。

Figure 2. Protein expressions of RUNX2, BMP2, BMP4 and OPG in thoracic aorta of rats in each group (n=10)

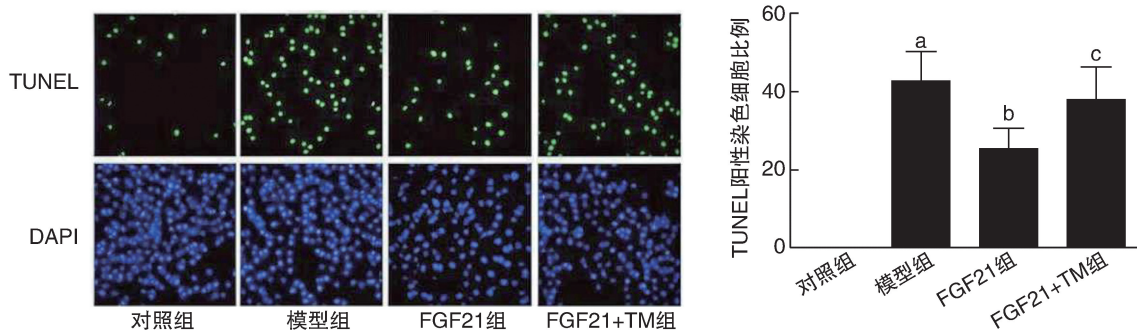


图 3. 各组大鼠胸主动脉 TUNEL 染色的比较 (n=10) a 为 P<0.05, 与对照组比较; b 为 P<0.05, 与模型组比较; c 为 P<0.05, 与 FGF21 组比较。

Figure 3. Comparison of TUNEL staining in thoracic aorta of rats in each group (n=10)

2.4 胸主动脉中 ERS 标志基因表达水平

模型组大鼠胸主动脉中 GRP78、CHOP、Caspase-12 的表达水平均明显高于对照组, FGF21 组大鼠胸主动脉中 GRP78、CHOP、Caspase-12 的表

达水平均明显低于模型组, FGF21+TM 组大鼠胸主动脉中 GRP78、CHOP、Caspase-12 的表达水平均明显高于 FGF21 组, 组间差异有统计学意义 (P<0.05; 图 4)。

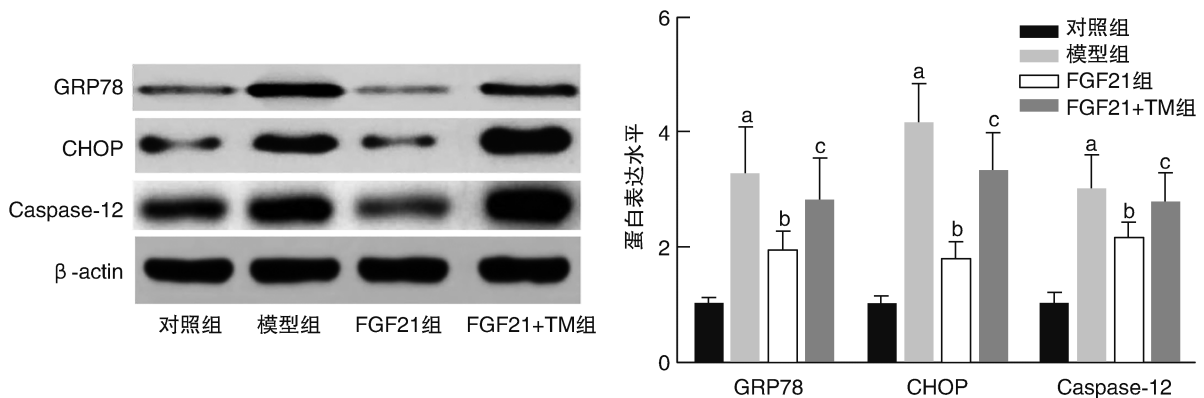


图 4. 各组大鼠胸主动脉中 GRP78、CHOP、Caspase-12 的蛋白表达 (n=10) a 为 P<0.05, 与对照组比较; b 为 P<0.05, 与模型组比较; c 为 P<0.05, 与 FGF21 组比较。

Figure 4. Protein expressions of GRP78, CHOP and Caspase-12 in thoracic aorta of rats in each group (n=10)

3 讨论

血管钙化是动脉粥样硬化、慢性肾脏病、糖尿病等患者常见的血管病变,血管壁内钙异常沉积是血管钙化的特征,在此基础上血管弹性降低并进一步增加心血管事件的发生风险^[9-10]。血管钙化的发生涉及细胞凋亡、氧化应激、ERS、成骨样细胞分化等环节^[11-12],但具体的机制仍未阐明,临床上也缺乏能够有效阻断血管钙化发展的治疗手段。FGF21是FGF家族中具有心血管保护作用的成员,能够发挥抗炎、抗氧化、抗凋亡等作用。Zhu等^[13]的研究报道FGF21的表达在血管钙化组织中受到抑制;由此本研究提出假设:外源性补充FGF21能够在血管钙化的进程中起到治疗作用。为了验证这一假设,本研究首先通过维生素D3联合尼古丁给药的方式诱导建立了血管钙化模型,在模型组大鼠的胸主动脉中钙含量及ALP活性均明显增加且茜素红染色明显加深,提示模型大鼠的胸主动脉发生了明显钙化。在造模基础上给予FGF21腹腔注射干预后观察到:FGF21组大鼠胸主动脉的茜素红染色明显变浅,且钙含量、ALP活性均明显下降,提示FGF21能够抑制血管钙化过程中钙沉积及ALP活化,具有治疗血管钙化的价值。

血管结构中血管平滑肌细胞的过度凋亡以及表型向成骨样细胞的转化是造成血管钙化的重要环节。本研究对血管钙化模型大鼠胸主动脉中细胞凋亡及成骨标志基因表达的分析显示:模型组大鼠胸主动脉中TUNEL染色阳性率及RUNX2、BMP2、BMP4、OPG的表达水平均明显高于对照组。RUNX2是调控成骨细胞分化的关键转录因子^[14];BMP2和BMP4是BMP家族中分别调节成骨表型和软骨表型分化的成员^[15-16];OPG是由成熟成骨细胞分泌的活性分子,对破骨细胞具有抑制作用^[17]。结合本研究对细胞凋亡及成骨标志基因的分析提示,血管钙化模型大鼠的胸主动脉存在过度凋亡及成骨转化。在使用FGF21对血管钙化模型大鼠进行干预后观察到:FGF21组大鼠胸主动脉中TUNEL染色阳性率及RUNX2、BMP2、BMP4、OPG的表达水平均明显低于模型组,提示FGF21对血管钙化过程中的细胞凋亡及成骨样细胞均具有抑制作用。

ERS是近年来发现与凋亡及成骨转化均有密切关系的生物学过程,GRP78、CHOP、Caspase-12是ERS过程中特异性高表达的基因^[18]。本研究对血

管钙化模型大鼠胸主动脉中上述ERS标志基因的分析显示:模型组大鼠胸主动脉中GRP78、CHOP、Caspase-12的表达水平均明显高于对照组;FGF21干预后,FGF21组大鼠胸主动脉中GRP78、CHOP、Caspase-12的表达水平均明显低于模型组。这一结果表明血管钙化模型的主动脉中存在ERS的过度激活,而FGF21能够显著抑制血管钙化过程中的ERS,进而也提示抑制ERS可能是FGF21在血管钙化过程中发挥细胞凋亡及成骨样细胞分化抑制作用的分子机制。为了进一步验证这一推测,本研究在FGF21干预的同时加用ERS激动剂衣霉素并对细胞凋亡及成骨标志基因表达进行了分析,FGF21+TM组大鼠胸主动脉中TUNEL染色阳性率及RUNX2、BMP2、BMP4、OPG的表达水平均明显高于FGF21组。由此表明FGF21抑制细胞凋亡及成骨样分化的作用能够被ERS激动剂逆转,进而表明FGF21对血管钙化过程中细胞凋亡及成骨样细胞分化的抑制作用部分由ERS的抑制所介导。

综上所述,FGF21对维生素D3和尼古丁诱导的血管钙化、细胞凋亡、成骨标志基因及ERS标志基因表达均具有抑制作用并且FGF21调节凋亡及成骨标志基因的作用能够被ERS激动剂逆转,进而也表明阻断ERS所介导的细胞凋亡及成骨分化可能是FGF21抑制血管钙化的分子机制。

[参考文献]

- [1] Faggiano P, Dasseni N, Gaibazzi N, et al. Cardiac calcification as a marker of subclinical atherosclerosis and predictor of cardiovascular events: A review of the evidence[J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2019, 26(11): 1191-1204.
- [2] Niu Q, Zhao H, Wu B, et al. Study on the prevalence of vascular calcification in different types of arteries and influencing factors in maintenance peritoneal dialysis patients[J]. *Blood Purif*, 2019, 47(Suppl 1): 8-16.
- [3] Furmanik M, Shanahan CM. ER stress regulates alkaline phosphatase gene expression in vascular smooth muscle cells via an ATF4-dependent mechanism [J]. *BMC Res Notes*, 2018, 11(1): 483.
- [4] Shanahan CM, Furmanik M. Endoplasmic reticulum stress in arterial smooth muscle cells: A novel regulator of vascular disease [J]. *Curr Cardiol Rev*, 2017, 13(2): 94-105.
- [5] Wang N, Zhao TT, Li SM, et al. Fibroblast growth factor 21 exerts its anti-inflammatory effects on multiple cell types of adipose tissue in obesity[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2019, 27(3): 399-408.

(下转第1093页)

- [51] Xiao L, Jiang L, Hu Q, et al. MicroRNA-133b ameliorates allergic inflammation and symptom in murine model of allergic rhinitis by targeting Nlrp3[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(3): 901-912.
- [52] Li J, Wang J, Chen Y, et al. LncRNA MALAT1 exerts oncogenic functions in lung adenocarcinoma by targeting miR-204[J]. *Am J Cancer Res*, 2016, 6(5): 1099-1107.
- [53] Kolling M, Genschel C, Kaucsar T, et al. Hypoxia-induced long non-coding RNA Malat1 is dispensable for renal ischemia/reperfusion-injury[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 3438.
- [54] Yang Z, Zhong L, Zhong S, et al. miR-203 protects microglia mediated brain injury by regulating inflammatory responses via feedback to MyD88 in ischemia[J]. *Mol Immunol*, 2015, 65(2): 293-301.
- [55] Huang S, Zhang L, Song J, et al. Long noncoding RNA MALAT1 mediates cardiac fibrosis in experimental postinfarct myocardium mice model[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(3): 2997-3006.

(此文编辑 朱雯霞)

(上接第 1036 页)

- [6] Yan J, Wang J, Huang H, et al. Fibroblast growth factor 21 delayed endothelial replicative senescence and protected cells from H₂O₂-induced premature senescence through SIRT1[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(10): 4492-4501.
- [7] Jelenik T, Dille M, Müller-Lühlhoff S, et al. FGF21 regulates insulin sensitivity following long-term chronic stress[J]. *Mol Metab*, 2018, 16: 126-138.
- [8] Chen A, Liu J, Zhu J, et al. FGF21 attenuates hypoxia induced dysfunction and apoptosis in HPAECs through alleviating endoplasmic reticulum stress[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(3): 1684-1694.
- [9] Shioi A, Ikari Y. Plaque calcification during atherosclerosis progression and regression[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2018, 25(4): 294-303.
- [10] Durham AL, Speer MY, Scatena M, et al. Role of smooth muscle cells in vascular calcification; implications in atherosclerosis and arterial stiffness[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(4): 590-600.
- [11] Lee GL, Yeh CC, Wu JY, et al. TLR2 promotes vascular smooth muscle cell chondrogenic differentiation and consequent calcification via the concerted actions of osteoprotegerin suppression and IL-6-mediated RANKL induction[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(3): 432-445.
- [12] Grootaert MOJ, Moulis M, Roth L, et al. Vascular smooth muscle cell death, autophagy and senescence in atherosclerosis[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(4): 622-634.
- [13] Zhu Q, Guo R, Liu C, et al. Endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis contributing to high glucose-induced vascular smooth muscle cell calcification [J]. *J Vasc Res*, 2015, 52(5): 291-298.
- [14] Bartoli-Leonard F, Wilkinson FL, Schiro A, et al. Suppression of SIRT1 in diabetic conditions induces osteogenic differentiation of human vascular smooth muscle cells via RUNX2 signalling[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 878.
- [15] Dube PR, Birnbaumer L, Vazquez G. Evidence for constitutive bone morphogenetic protein-2 secretion by M1 macrophages: Constitutive auto/paracrine osteogenic signaling by BMP-2 in M1 macrophages[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 491(1): 154-158.
- [16] Liu X, Cao F, Liu S, et al. BMP2/Smad signaling pathway is involved in the inhibition function of fibroblast growth factor 21 on vascular calcification[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(2): 930-937.
- [17] Oštric M, Kukuljan M, Markic D, et al. Expression of bone-related proteins in vascular calcification and its serum correlations with coronary artery calcification score[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2019, 33(1): 29-38.
- [18] Li KX, Du Q, Wang HP, et al. Death-associated protein kinase 3 deficiency alleviates vascular calcification via AMPK-mediated inhibition of endoplasmic reticulum stress[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 852: 90-98.

(此文编辑 曾学清)