

活化 T 细胞核因子 c1 在糖尿病血管钙化进展中的作用

孙振¹, 李丽华², 毛翔¹, 张莉莉¹, 李亚兰¹, 侯丽娜¹, 袁伟¹, 邵晨¹, 王中群¹

(江苏大学附属医院 1. 心内科, 2. 病理科, 江苏省镇江市 212001)

[关键词] 糖尿病; 血管钙化; 活化 T 细胞核因子 c1

[摘要] **目的** 探究活化 T 细胞核因子 c1 (NFATc1) 在糖尿病血管钙化中的作用。**方法** 纳入行糖尿病足截肢的患者 15 例, 收集其血清及胫前动脉标本, 根据胫前动脉钙含量分为低钙化组和高钙化组; 检测患者血清和胫前动脉中 NFATc1 水平, 分别将其与胫前动脉钙含量进行相关性分析。借助小鼠主动脉平滑肌细胞 (MASMC) 构建糖尿病血管钙化体外模型, 检测高糖环境下 MASMC 的表型转分化及钙盐沉积情况。进一步利用 siRNA 沉默 NFATc1, 检测 NFATc1 对 MASMC 表型转分化和钙盐沉积的影响。**结果** 高钙化组患者血清和胫前动脉 NFATc1 水平均显著高于低钙化组, 且相关性分析显示血清和胫前动脉中的 NFATc1 都与钙含量呈正相关。在 MASMC 体外模型中, 高糖明显减弱了 MASMC 收缩表型, 促进其成骨表型转分化, 且显著加重 MASMC 的钙盐沉积。高糖的促 MASMC 表型转分化和促钙化作用与高渗无关。在用 siRNA 沉默 NFATc1 后, MASMC 的成骨样分化明显受到抑制, 且钙盐沉积也显著减少。**结论** NFATc1 可促进血管平滑肌细胞向成骨表型转分化, 加速糖尿病血管钙化进展。

[中图分类号] R587

[文献标识码] A

Role of activated T-cell cytoplasmic 1 in the progression of diabetic vascular calcification

SUN Zhen¹, LI Lihua², MAO Xiang¹, ZHANG Lili¹, LI Yalan¹, HOU Lina¹, YUAN Wei¹, SHAO Chen¹, WANG Zhongqun¹

(1. Department of Cardiology, 2. Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212001, China)

[KEY WORDS] diabetes; vascular calcification; activated T-cell cytoplasmic 1

[ABSTRACT] **Aim** To explore the role of activated T-cell cytoplasmic 1 (NFATc1) in diabetic vascular calcification. **Methods** Fifteen patients with diabetic foot amputation were enrolled. Serum and anterior tibial arteries were collected. According to the calcium content of the anterior tibial arteries, patients were divided into low-calcification group and high-calcification group. The NFATc1 levels in serum and anterior tibial arteries were detected, and their correlation with the calcium content of anterior tibial arteries was analyzed respectively. An in vitro model of diabetic vascular calcification was constructed with mouse aortic smooth muscle cell (MASMC) to detect the phenotypic transition and calcium deposition of MASMC under high glucose. Furthermore, siRNA was used to silence NFATc1 to determine the effect of NFATc1 on MASMC phenotypic transition and calcium deposition. **Results** The NFATc1 level of the high-calcification group was significantly higher than that in the low-calcification group both in serum and in anterior tibial arteries. And correlation analysis showed that the serum and anterior tibial artery NFATc1 levels were positively correlated with calcium content. In the in vitro model of MASMC, high glucose significantly weakened the contraction phenotype of MASMC, promoted the osteogenic phenotype transdifferentiation, and significantly increased the calcium deposition. The effect of high glucose in promoting phenotypic transition and promoting calcification was not connected with its

[收稿日期] 2020-10-12

[修回日期] 2020-10-23

[基金项目] 国家自然科学基金(82070455, 81770450); 江苏大学实验动物中心大学生科研创新资助项目; 江苏省研究生科研创新计划(KYCX20_2881); 广西糖尿病系统医学重点实验室开放课题(GKLCDSM-20210101-02)

[作者简介] 孙振, 博士研究生, 主要研究方向为糖尿病血管钙化的基础与临床, E-mail 为 sunfy893@foxmail.com。通信作者王中群, 博士, 副研究员, 博士研究生导师, 主要研究方向为糖尿病大血管并发症(尤其是动脉粥样硬化和血管钙化)的基础与临床, E-mail 为 wangtsmc@126.com。

hypertonicity. After silencing NFATc1 with siRNA, the osteogenic differentiation of MASC was significantly inhibited, and calcium deposition was also significantly reduced. **Conclusion** NFATc1 can promote the transdifferentiation of vascular smooth muscle cell to an osteogenic phenotype and promote the progression of diabetic vascular calcification.

近年来糖尿病患者数量迅猛增长,糖尿病已成为严重威胁人类健康的全球性疾病^[1]。血管钙化是糖尿病血管并发症的主要特征,也是糖尿病患者发生急性心血管事件的重要推手^[2-3],因此研究糖尿病血管钙化的潜在调节机制,并发掘出有效干预靶标具有重要意义。血管钙化是由多种因素参与的复杂病理过程,在糖尿病体内高糖、高脂等微环境的刺激下,炎症、氧化应激、晚期糖基化终末产物等均可促进钙化的持续进展^[4],其中血管平滑肌细胞由收缩表型向成骨表型转分化被认为是血管钙化形成的共同基础^[5]。活化 T 细胞核因子 c1 (nuclear factor of activated T cell cytoplasmic 1, NFATc1) 是 NFAT 转录因子家族的重要成员之一,其可易位至胞核,并与相应靶基因的启动子结合,进而发挥转录调控作用^[6]。现有研究表明,NFATc1 可能是冠心病风险的重要预测因子^[7],其参与调控肺动脉高压、动脉粥样硬化斑块形成等多种病理过程^[8-9],通过入核后的转录调控方式影响血管平滑肌细胞表型转分化^[10],并能够借助外泌体转运的形式进入血管平滑肌细胞,促进炎症信号介导的血管钙化^[11]。然而,在糖尿病状况下,NFATc1 与血管钙化的具体关系如何,目前的研究尚不能给出明确的答复。因此本研究利用糖尿病足截肢患者临床样本以及原代小鼠主动脉平滑肌细胞 (mouse aortic smooth muscle cell, MASC) 钙化模型,拟探明 NFATc1 在糖尿病血管钙化中的作用,希望为血管钙化防治提供新的思路。

1 资料和方法

1.1 病例选择和分组

纳入 2019 年 8 月—2020 年 3 月在本院因糖尿病足行下肢大截肢术的患者共 15 例,所有纳入患者均签署知情同意书。纳入标准:①患者年龄 40~70 岁;②所有患者均按照 WHO (1999 年) 糖尿病诊断标准,确诊为 2 型糖尿病;③所有患者均伴有糖尿病足,且具有截肢指征。排除以下任一项符合的患者:①胃溃疡、胃切除术;②长期服用激素;③免疫抑制治疗;④严重肝肾功能不全者;⑤严重创伤;⑥恶性肿瘤病史。根据患者下肢胫前动脉钙含量水平,以钙含量中位数 (6.1 mmol/g) 将患者分为低钙

化组 (8 例) 和高钙化组 (7 例)。

1.2 主要试剂和仪器

C57BL/6 小鼠购自江苏大学实验动物中心;DMEM 培养液、胎牛血清从维森特公司订购;钙含量检测试剂盒为南京建成生物工程研究所产品;NFATc1 酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒购于振誉生物科技有限公司;BCA 蛋白定量试剂盒购于诺唯赞公司;von Kossa 钙盐染色试剂盒为索莱宝公司产品;抗 α 平滑肌肌动蛋白 (α smooth muscle actin, α -SMA) 抗体、抗 Runt 相关转录因子 2 (runt related transcription factor 2, RUNX2) 抗体、抗 NFATc1 抗体购于 Abcam 公司;抗 β -actin 抗体从 Proteintech 公司订购;所有二抗均购自 Abways 公司;蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂购自碧云天公司;NFATc1 小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 购于吉玛基因公司。

1.3 血清 NFATc1 检测

收集患者空腹状态下静脉血,室温静置 30 min 后,3 000 r/min 离心 15 min 分离血清。分装后保存于 -80 °C 冰箱,以备后续检测。利用 ELISA 试剂盒检测血清 NFATc1 水平,所有操作步骤均按试剂盒说明书进行。

1.4 细胞培养及血管钙化模型构建

小鼠颈椎脱臼法处死后,分离胸主动脉,剥离外膜,剔除内膜,利用组织贴块法培养 MASC,并用 anti- α -SMA 抗体进行鉴定,培养 3 代后的细胞用于后续实验。将 5.5 mmol/L 葡萄糖培养的细胞设为对照组。用 22 mmol/L 葡萄糖模拟糖尿病高糖 (high glucose, HG) 环境,同时补充成骨诱导液 (osteogenesis media, OM) (2.5 mmol/L β -甘油磷酸酯+50 mg/L 抗坏血酸) 以构建糖尿病血管钙化体外模型。用 24.5 mmol/L 甘露醇模拟高渗 (hypertonicity, HT) 环境。故分为对照组、HG 组、OM 组、HG+OM 组和 HT+OM 组。为明确 NFATc1 对 MASCs 表型转分化及钙化的影响,利用 siControl (siCON) 或者可抑制 NFATc1 表达的 siRNA (siRNA1 和 siRNA2) 转染细胞,继而在此基础上构建血管钙化体外模型,分为 OM+siCON 组、HG+OM+siCON 组、HG+OM+siRNA1 组和 HG+OM+siRNA2 组。所有组细胞均在诱导 7 天后,进行钙化及相关蛋白检测。

1.5 钙含量检测

对于组织和细胞样本,用 0.6 mol/L HCl 充分浸泡 24 h,以离子化钙结晶。收集上清,使用钙含量测定试剂盒检测,所有操作步骤均按试剂盒说明书进行。用 BCA 蛋白测定试剂盒检测样品中蛋白含量,并以蛋白含量标准化钙化量。

1.6 von Kossa 钙盐染色

用 4% 多聚甲醛固定样品后,加入 2.5% 硝酸银溶液,并于阳光下直射 2 h,肉眼可见钙结节变为黑色。而后加入 5% 硫代硫酸钠溶液,室温下反应 5 min。充分洗涤后,用 1% 中性红复染 3 min,继而置于显微镜下观察。

1.7 Western blot 检测

按体积分数配置蛋白裂解液(RIPA:蛋白酶抑制剂:磷酸酶抑制剂为 100:1:1),提取组织/细胞蛋白,于沸水中煮 8 min,加入 5×loading buffer 制备上样缓冲液,以备后续检测使用。提取的蛋白样品,通过 SDS-PAGE 分离样品,继而转印至聚偏二氟乙烯膜上。经 10% 脱脂奶粉封闭、孵育一抗及二抗后,用化学发光系统显示图像并分析。

1.8 统计学分析

对于正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较

用 Student *t* 检验;3 组及以上的比较采用单因素方差分析;探索两者间的相关性采用 Pearson 相关性分析。对于非正态分布的数据,以中位数及四分位数间距表示,两组间的比较采用非参数检验。使用 SPSS 22.0 软件进行统计分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 NFATc1 与糖尿病胫前动脉钙化呈正相关

根据胫前动脉钙含量水平,将患者分为低钙化组和高钙化组,高钙化组钙含量是低钙化组的 2.8 倍($P < 0.05$;图 1A)。此外,两组患者血清 NFATc1 水平也存在差异,高钙化组患者血清 NFATc1 水平明显高于低钙化组($P < 0.05$;图 1B)。同时,血清 NFATc1 与钙含量呈正相关($R^2 = 0.60$, $P < 0.05$;图 1C)。

2.2 糖尿病足截肢胫前动脉中 NFATc1 表达升高

检测糖尿病足截肢患者胫前动脉组织中 NFATc1 的表达情况后,发现,高钙化组胫前动脉 NFATc1 表达明显高于低钙化组($P < 0.05$;图 2A 和 B)。相关性分析发现,胫前动脉中 NFATc1 含量与钙含量呈正相关($R^2 = 0.48$, $P < 0.05$;图 2C)。

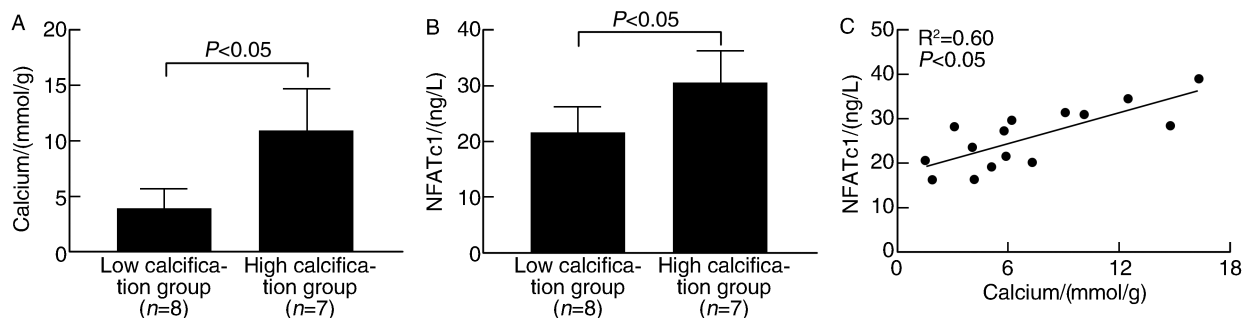


图 1. 糖尿病足截肢患者胫前动脉钙含量、血清 NFATc1 水平及两者相关性

A 为胫前动脉钙含量;B 为血清 NFATc1 水平;C 为

钙含量与血清 NFATc1 相关性分析。

Figure 1. Calcium content of anterior tibial arteries and serum NFATc1 in patients with diabetic foot amputation and their correlation analysis

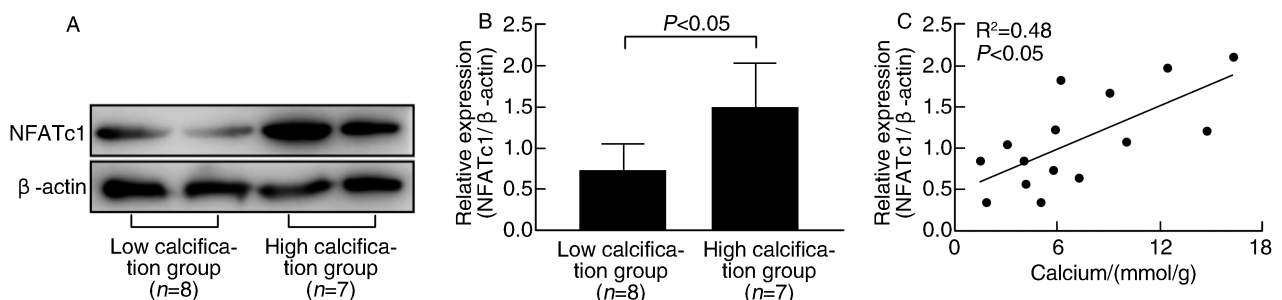


图 2. 糖尿病足截肢胫前动脉中 NFATc1 的表达情况及其与钙含量的相关性

A 为 NFATc1 的 Western blot 条带;B 为 NFATc1 相

对表达量;C 为 NFATc1 相对表达量与钙含量的相关性分析。

Figure 2. The expression of NFATc1 in the anterior tibial artery of diabetic foot amputation and its correlation with calcium content

2.3 高糖促进 OM 诱导的 MASC 成骨样分化并上调 NFATc1 表达

为进一步明确糖尿病血管钙化与 NFATc1 的关系,利用 HG 和 OM 构建了 MASC 模型。Western blot 检测 MASC 的表型变化(图 3A)发现,单纯 HG 刺激下,MASC 收缩表型标记物 α -SMA 和成骨表型标记物 RUNX2 并无明显变化(图 3B 和 C)。而 OM 刺激下, α -SMA 明显下降,RUNX2 明显升高($P<0.05$),提示 MASC 的成骨表型转分化。与 OM 组比较,HG+OM 进一步抑制了 MASC 中 α -

SMA 的表达($P<0.05$),且促进了 RUNX2 的表达($P<0.05$),与此同时,HG+OM 也显著上调了 NFATc1 的表达($P<0.05$;图 3D),这提示 NFATc1 可能参与调控 MASC 的成骨表型转分化。

2.4 高糖促进 OM 诱导的 MASC 钙盐沉积

MASC 的成骨表型转分化是钙化形成的关键过程,通过 von Kossa 钙盐染色和钙含量测定发现,单纯 HG 并不能诱导 MASC 的钙盐沉积,而 HG+OM 可显著加重 MASC 的钙化,是单纯 OM 刺激下的 1.69 倍(图 4)。

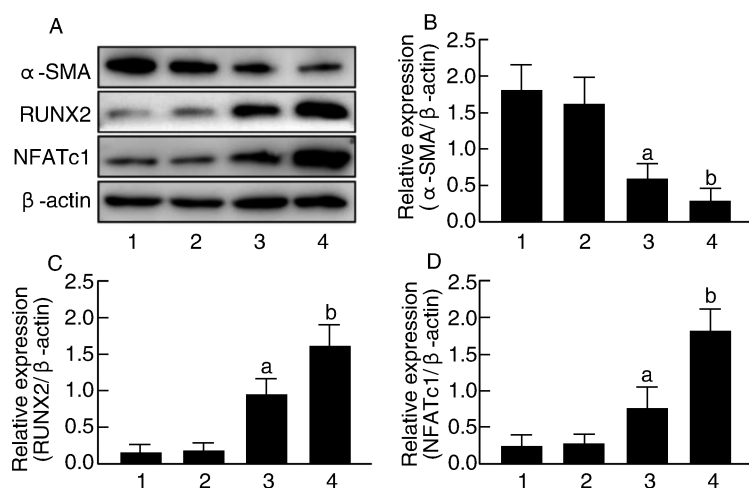


图 3. MASC 的成骨表型转分化及 NFATc1 表达情况 ($n=4$) A 为 Western blot 显示 MASC 中 α -SMA、RUNX2、NFATc1 含量;B、C 和 D 分别为 α -SMA、RUNX2 和 NFATc1 的相对表达量。1 为对照组;2 为 HG 组;3 为 OM 组;4 为 HG+OM 组。a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与 OM 组比较。

Figure 3. Osteogenic phenotype transdifferentiation and NFATc1 expression of MASC ($n=4$)

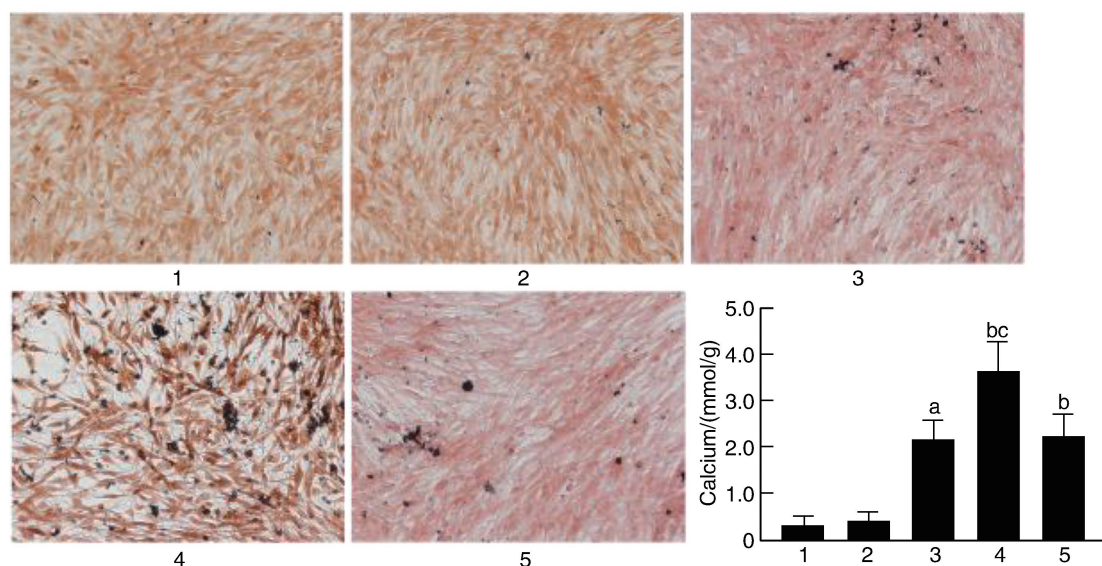


图 4. MASC 的钙化情况分析 ($n=4$) 照片图为 von Kossa 钙盐染色(200 \times),显示 MASC 的钙结节分布及密度;柱状图为 MASC 的钙含量测定。1 为对照组;2 为 HG 组;3 为 OM 组;4 为 HG+OM 组;5 为 HT+OM 组。a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与 OM 组比较;c 为 $P<0.05$,与 HT+OM 组比较。

Figure 4. Analysis of MASC calcification ($n=4$)

2.5 高糖促进 OM 诱导的 MASC 表型转分化及钙化与高渗无关

与 OM 组比较, HG+OM 组不仅葡萄糖浓度升高, 其渗透压也会明显上升, 因此 HG+OM 组的细胞既受到 HG 刺激, 也会受到 HT 的影响。故以 24.5 mmol/L 甘露醇为 HT 条件, 设置 HT+OM 组, 用以探明高渗透压对 MASC 的作用, 进一步明确 HG 促进的 OM 条件下 MASC 表型转分化和钙化到底是

受 HG 还是受 HT 影响。与单纯 OM 刺激相比, HT+OM 并未引起 MASC 中 α -SMA、RUNX2 和 NFATc1 的表达变化(图 5A-D), 且 MASC 钙化也无显著改变(图 4A 和 B)。此外, 与 HT+OM 组相比, HG+OM 组 α -SMA 显著下降, 而 RUNX2 和 NFATc1 的表达及 MASC 钙化均显著升高, 提示高 HG 是 MASC 成骨样分化和钙化形成的关键因素。

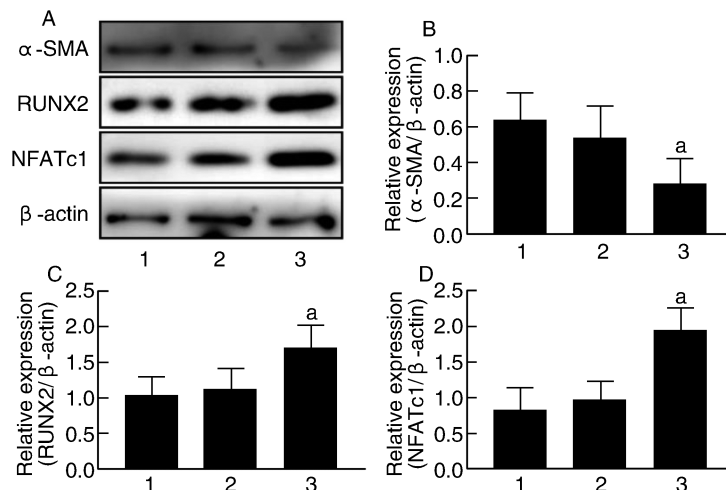


图 5. 高渗对 MASC 成骨表型转分化的影响 ($n=4$) A 为 MASC 中 α -SMA、RUNX2、NFATc1 的 Western blot 条带; B、C 和 D 分别为 α -SMA、RUNX2 和 NFATc1 的相对表达量。1 为 OM 组; 2 为 HT+OM 组; 3 为 HG+OM 组。a 为 $P<0.05$, 与 HT+OM 组比较。

Figure 5. Effects of hypertonicity on the osteogenic phenotype transdifferentiation of MASC ($n=4$)

2.6 沉默 NFATc1 可抑制高糖与 OM 介导的 MASC 成骨样分化

上述已明确 NFATc1 在糖尿病血管钙化过程中显著升高, 故利用 siRNA 沉默 NFATc1 以进一步明确二者关系。siRNA1 和 siRNA2 可显著抑制

MASC 中 NFATc1 的表达(图 6A), 且与 HG+OM+siCON 相比, HG+OM+siRNA1 组和 HG+OM+siRNA2 组中 α -SMA 表达显著上升, 而 RUNX2 的表达明显下降(图 6B、C 和 D), 提示沉默 NFATc1 可延缓高糖诱导的 MASC 成骨表型转分化。

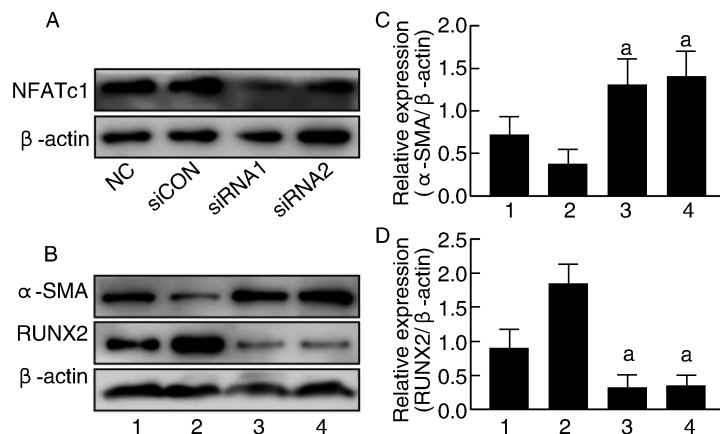


图 6. NFATc1 抑制对 MASC 表型转分化的影响 ($n=4$) A 为 siRNA 转染后 MASC 的 NFATc1 表达情况; B 为 Western blot 检测 MASC 的 α -SMA 和 RUNX2 表达; C 和 D 为 α -SMA 和 RUNX2 的相对表达量。1 为 OM+siCON 组; 2 为 HG+OM+siCON 组; 3 为 HG+OM+siRNA1 组; 4 为 HG+OM+siRNA2 组。a 为 $P<0.05$, 与 HG+OM+siCON 组比较。

Figure 6. Effects of NFATc1 inhibition on the phenotypic transition of MASC ($n=4$)

2.7 沉默 NFATc1 可抑制高糖与 OM 介导的 MASC 钙盐沉积

在用 siRNA 抑制 NFATc1 表达后, von Kossa 染色可见 MASC 钙结节明显减少。在钙含量检测中

也发现, HG+OM+siRNA1 组和 HG+OM+siRNA2 组钙含量均显著低于 HG+OM+siCON 组, 进一步证明了 NFATc1 在调控糖尿病血管钙化中的作用(图 7)。

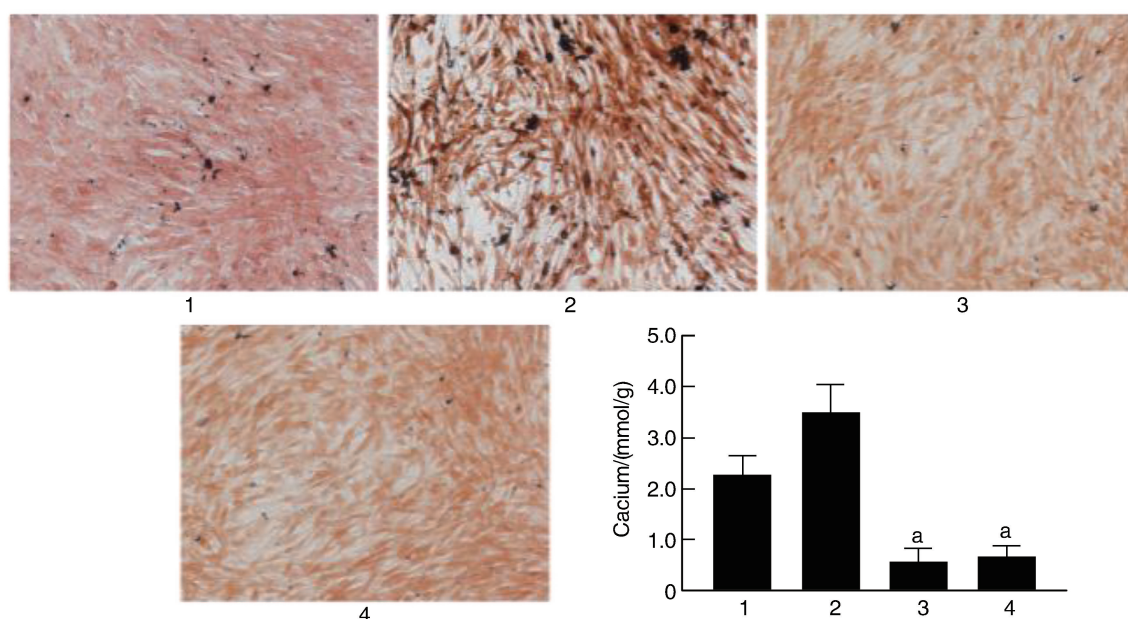


图 7. NFATc1 抑制对 MASC 钙盐沉积的影响($n=4$) 照片图为 von Kossa 染色(200 \times), 黑色为钙结节; 柱状图为 MASC 的钙定量分析。1 为 OM+siCON 组; 2 为 HG+OM+siCON 组; 3 为 HG+OM+siRNA1 组; 4 为 HG+OM+siRNA2 组。a 为 $P<0.05$, 与 HG+OM+siCON 组比较。

Figure 7. Effects of NFATc1 inhibition on the calcification of MASC ($n=4$)

3 讨论

钙化普遍存在于糖尿病患者的血管中, 是糖尿病血管并发症的重要病理特征^[12]。本研究利用糖尿病足截肢患者血清及胫前动脉组织标本, 发现 NFATc1 水平与糖尿病血管钙化程度呈正相关。进而借助 MASC 体外钙化模型, 进一步发现抑制 NFATc1 可显著遏制高糖介导的 MASC 钙化, 证实 NFATc1 可能是糖尿病血管钙化的关键调控因子。

血管钙化是羟基磷灰石等矿化结晶异位沉积于血管壁或血管斑块内的过程, 在这一过程中成骨破骨平衡被打破, 细胞响应于钙化刺激信号, 进行成骨表型转分化。细胞质膜释放出基质囊泡充当矿化晶核, 囊泡经聚集、融合形成初始钙化结节, 并沿着纤维组织有序沉积, 推动钙化持续进展^[13]。同时, 钙化促进因子的逐渐增多, 而抑制因子的逐渐减少, 也为钙化演进提供了有利条件。对于糖尿病血管钙化而言, 由于其存在代谢失衡, 使得钙化的刺激因素更加复杂, 钙化信号传递也可能具有特殊性。课题组既往研究表明糖尿病血管钙化按照其

形态可以分为大钙化和微钙化^[14], 按照其分布可分为中膜钙化和内膜钙化^[15]。虽然同是糖尿病血管钙化, 但其调控机制却存在明显差异, 这直接反映出糖尿病血管钙化的复杂性。国内外大量研究均试图明确糖尿病血管钙化的具体机制, 但仍缺乏有效手段能够遏制糖尿病血管钙化的形成, 因此本研究着眼于探寻能够有效抑制糖尿病血管钙化形成的靶标, 继而利用糖尿病足截肢胫前动脉标本, 发现 NFATc1 与糖尿病血管钙化存在紧密联系, 为进一步的机制探索提供可靠依据。

NFATc1 是多种生理及病理过程的关键调节因子, 有研究发现 NFATc1 在慢性肾衰竭大鼠血管钙化中起促进作用, 其作用机制与血管平滑肌细胞的成骨表型转分化相关^[16]。在本研究也发现了 NFATc1 在调节糖尿病血管钙化方面具有相似的作用, 高糖可介导 MASC 收缩表型向成骨表型分化并促进钙盐沉积。沉默 NFATc1 后, MASC 的成骨表型转分化被明显抑制, 钙化也显著减少, 提示高糖可通过 NFATc1 促进 MASC 的成骨样分化和钙化形成。在课题组前期研究中还发现了其他分子

靶标也参与调控糖尿病血管钙化的进程,如 Sortilin^[17]、Ghrelin^[18]等,这些调控因子间是否有一定内在联系和互作关系,还有待进一步的研究。

NFATc1 除了参与调控矿化成骨过程外,其在破骨细胞分化及骨吸收方面也具有重要作用。有研究表明,核因子 κ B 受体激活剂配体可通过激活 NFATc1,进而促进其下游靶标抗酒石酸酸性磷酸酶、组织蛋白酶 K、基质金属蛋白酶 9 等的表达,这些都是破骨细胞形成和发挥功能所必需的^[19]。因此 NFATc1 可能是成骨/破骨调控的分子开关,在维持成骨破骨平衡中发挥至关重要的作用。但是 NFATc1 如何串联成骨与破骨,以及如何实现成骨破骨间的转换,还需要进一步的研究加以探索。

综上所述,本研究明确了 NFATc1 与糖尿病血管钙化之间存在紧密联系,糖尿病高糖环境可通过 NFATc1 促进血管钙化进展,其机制可能与血管平滑肌细胞的成骨表型转分化相关。此次研究为糖尿病血管钙化防治提供了实验支撑和理论依据。

[参考文献]

- [1] Schalkwijk CG, Stehouwer CDA. Methylglyoxal, a highly reactive dicarbonyl compound, in diabetes, its vascular complications, and other age-related diseases[J]. *Physiol Rev*, 2020, 100(1): 407-461.
- [2] 耿跃, 杜睿, 赵江波, 等. 糖尿病患者血清 N ϵ -羧甲基赖氨酸水平与颈动脉钙化关系的临床研究[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(4): 316-321.
- [3] 孙学娇, 刘乃丰. 关注糖尿病与血管钙化的共同发病机制和临床意义[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(2): 169-174.
- [4] 王中群, 孙振. 防治血管钙化, 依然任重道远[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(12): 1189-1193.
- [5] 王中群, 李丽华. 关注血管钙化的起源、演进与转归研究[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(11): 1086-1090.
- [6] Gu W, Wang Z, Sun Z, et al. Role of NFATc1 in the bone-vascular axis calcification paradox[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2020, 75(3): 200-207.
- [7] 徐良洁, 王中群, 梁仪, 等. 活化 T 细胞核因子 c1 检测联合血管内超声在冠心病风险评价中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2016, 24(11): 1115-1118.
- [8] 李红梅, 刘培晶, 陈蕊, 等. 二十二碳六烯酸对肺动脉高压大鼠活化 T 细胞核因子 c1 表达的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2015, 23(9): 865-869.
- [9] 严洋, 张嘉文, 翁嘉懿, 等. OX40-OX40L 相互作用对 NFATc1 表达及斑块形成的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2016, 24(12): 1189-1194.
- [10] Zhong W, Li B, Yang P, et al. CD137-CD137L interaction modulates neointima formation and the phenotype transformation of vascular smooth muscle cells via NFATc1 signaling[J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, 439(1-2): 65-74.
- [11] 王宁, 崔星钢, 杨萍, 等. CD137 信号通过外泌体传递活化 T 细胞核因子 c1 介导小鼠血管平滑肌细胞钙化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(12): 1194-1200.
- [12] 朱利杰, 高传玉, 王宪沛, 等. 糖尿病与非糖尿病患者冠状动脉斑块分布及负荷比较[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2014, 22(4): 395-398.
- [13] Jing L, Li L, Sun Z, et al. Role of matrix vesicles in bone-vascular cross-Talk[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2019, 74(5): 372-378.
- [14] Sun Z, Wang Z, Li L, et al. RAGE/galectin-3 yields intraplaque calcification transformation via sortilin[J]. *Acta Diabetol*, 2019, 56(4): 457-472.
- [15] Sun Z, Li L, Zhang L, et al. Macrophage galectin-3 enhances intimal translocation of vascular calcification in diabetes mellitus[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2020, 318(5): H1068-H1079.
- [16] 张俊霞, 徐金升, 韩迎迎, 等. 活化 T 细胞核因子 c1 在慢性肾衰竭大鼠血管钙化中的作用[J]. *中华医学杂志*, 2017, 97(6): 451-456.
- [17] 孙振, 李丽华, 包正阳, 等. Sortilin 在糖尿病血管钙化演进中的作用机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(8): 792-797.
- [18] 徐绥宁, 李丽华, 杜睿, 等. Ghrelin 在糖尿病血管钙化中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2016, 24(9): 929-933.
- [19] Chen K, Yuan Y, Wang Z, et al. Helvolic acid attenuates osteoclast formation and function via suppressing RANKL-induced NFATc1 activation[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 6477-6488.

(此文编辑 朱雯霞)