

# 血管平滑肌细胞内质网应激与血管钙化的研究进展

曾蓉, 李安琪, 刘江华

(南华大学附属第一医院内分泌与代谢科, 湖南省衡阳市 421000)

[关键词] 血管钙化; 血管平滑肌细胞; 内质网应激; 未折叠蛋白反应; 成骨表型转化

[摘要] 血管钙化是指羟基磷灰石沉积于血管壁, 由多因素参与及调控, 类似于骨、软骨形成的主动生物学过程。内质网应激是机体内适应性调节反应, 适当的内质网应激帮助维持内质网稳态, 但过度的内质网应激会促进血管钙化的发生与发展。本文综述内质网应激尤其是未折叠蛋白反应在血管钙化中的潜在作用和分子机制, 希望为血管钙化的防治提供新的思路。

[中图分类号] R54

[文献标识码] A

## Research progress of endoplasmic reticulum stress in vascular smooth muscle cell and vascular calcification

ZENG Rong, LI Anqi, LIU Jianghua

(Department of Endocrinology and Metabolism, the First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang, Hunan 421000, China)

[KEY WORDS] vascular calcification; vascular smooth muscle cell; endoplasmic reticulum stress; unfolded protein response; osteogenic phenotype transformation

[ABSTRACT] Vascular calcification refers to the deposition of hydroxyapatite in the vascular wall, which is involved and regulated by multiple factors, similar to the active biological process of bone and cartilage formation. Endoplasmic reticulum stress is an adaptive regulatory response in the the organism. Appropriate endoplasmic reticulum stress helps maintain endoplasmic reticulum homeostasis, but excessive endoplasmic reticulum stress will promote the initiation and progression of vascular calcification. This paper reviews the potential role and molecular mechanism of endoplasmic reticulum stress, especially unfolded protein response, in vascular calcification, hoping to provide new ideas for the prevention and treatment of vascular calcification.

血管钙化(vascular calcification, VC)指羟基磷灰石沉积于血管壁的过程,是动脉粥样硬化、衰老、糖尿病、慢性肾病(chronic kidney disease, CKD)的常见病理学改变,可导致各种心血管并发症的发生。目前,VC发生的机制尚未完全阐明,导致临床上VC的治疗策略不足。近年研究发现,内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)可以通过未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)促进血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)成骨表型转化、凋亡、自噬,调控VC的发生与发展。因此,我们综述当前ERS与VC的相关研究,希望为VC发生机制的探索及临床防治提供新的思路。

## 1 内质网应激概述

内质网是蛋白质合成、加工、转运和钙离子储存的主要细胞器。炎症、氧化应激等各种病理生理因素可导致未折叠蛋白或错误折叠蛋白在内质网腔内积聚,使内质网失去正常生理功能,引发细胞一系列适应性调节反应,称为ERS<sup>[1]</sup>。在生理情况下,ERS激活UPR,通过降低蛋白质合成、增强蛋白质的折叠能力、启动内质网相关降解(ER-associated degradation, ERAD)去除异常折叠蛋白,纠正内质网失衡,然而,如果ERS持续过度激活,会导致细胞功能障碍和细胞死亡,促进疾病的发生和发展<sup>[2-3]</sup>。

[收稿日期] 2020-08-12

[修回日期] 2020-10-23

[基金项目] 国家自然科学基金(81873651)

[作者简介] 曾蓉, 硕士研究生, 研究方向为糖尿病血管病变, E-mail 为 2334390702@qq.com。通信作者刘江华, 博士, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为糖尿病血管病变, E-mail 为 jianghua990@126.com。

UPR 主要由蛋白激酶 R 样内质网激酶 (protein kinase RNA-like ER kinase, PERK)、肌醇需求酶 1 (inositol-requiring enzyme 1, IRE1) 以及活化转录因子 6 (activating transcription factor 6, ATF6) 介导, 这三种跨膜蛋白在生理情况下与葡萄糖调节蛋白 78 (也称免疫球蛋白结合蛋白) (glucose-regulated protein 78/binding immunoglobulin protein, GRP78/BiP) 结合, 处于无活性状态。发生 ERS 时, GRP78 与未折叠或错误折叠蛋白结合, 与 PERK、IRE1、ATF6 分离导致三者激活<sup>[3]</sup>。

### 1.1 蛋白激酶 R 样内质网激酶

与 GRP78 解离后, PERK 可促进真核起始因子 2 $\alpha$  (eukaryotic initiation factor 2 $\alpha$ , eIF2 $\alpha$ ) 的磷酸化, 下调细胞内蛋白质的整体翻译, 磷酸化的 eIF2 $\alpha$  也可促进 ATF4 mRNA 的选择性翻译<sup>[4]</sup>。ATF4 直接上调 C/EBP 同源蛋白 (C/EBP-homologous protein, CHOP) 的表达, 随后, ATF4 和 CHOP 协同诱导涉及凋亡、自噬和抗氧化反应等多种基因的表达<sup>[5]</sup>。

### 1.2 肌醇需求酶 1

IRE1 包含 IRE1 $\alpha$  和 IRE1 $\beta$ , 具有蛋白激酶活性和核糖核酸内切酶活性<sup>[6]</sup>, 与 GRP78 解离后, IRE1 发生二聚化及自身磷酸化, 切除 X 盒结合蛋白 1 (X box-binding protein 1, XBP1) mRNA 上的一段含 26 个碱基的内含子, 剪接后的 mRNA 翻译成 XBP1s, 可诱导与蛋白折叠、脂质合成、自噬和 ERAD 相关基因的表达, 帮助维持内质网稳态<sup>[7]</sup>。此外, IRE1 也可通过 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 途径和 Caspase 家族促进凋亡<sup>[1]</sup>。

### 1.3 活化转录因子 6

与 GRP78 解离后, ATF6 从内质网转移到高尔基体, 经历两次剪切去除管腔结构域和跨膜结构域, 游离的 N 端胞质片段 ATF6 (N) 转移到细胞核中, 激活分子伴侣如 GRP78、GRP94、XBP1 以及 CHOP 等 ERS 反应原件, 增加蛋白质的折叠容量<sup>[7]</sup>。

## 2 血管钙化概述

VC 是指羟基磷灰石在血管壁的异常沉积, 血管壁细胞尤其是 VSMC 向成骨表型转化、基质囊泡和凋亡小体的释放是 VC 两个关键环节。在各种病理因素的刺激下, VSMC 释放基质囊泡、凋亡小体及其他细胞外囊泡, 基质囊泡与细胞外基质蛋白相互作用, 导致无定形磷酸钙的富集, 而 VSMC 向成骨成软骨表型的转化使无定形磷酸钙发生重塑形成羟

基磷灰石晶体, 促进矿物盐在血管壁沉积<sup>[8]</sup>。

根据矿物盐沉积的位置, VC 可分为内膜钙化、中膜钙化、瓣膜钙化及钙化防御。内膜钙化好发于动脉粥样硬化, 是炎症细胞浸润、脂质沉积的结果, 早期的微钙化不稳定, 易破裂, 引起血管阻塞, 导致心肌梗死, 随着大钙化的形成, 斑块稳定性增强, 血管顺应性降低; 中膜钙化好发于糖尿病、CKD、衰老等, 可使血管壁僵硬, 引起收缩压升高、心室肥大、心脏舒张功能障碍、心力衰竭等严重后果; 瓣膜钙化是长期的机械应力和促炎因子作用的结果, 好发于主动脉瓣, 可引起瓣膜狭窄; 钙化防御常见于 CKD 患者, 尤其是终末期肾脏病透析治疗或接受肾移植的患者, 以小动脉中膜钙化、阻塞、组织缺血坏死为特征<sup>[9]</sup>。

## 3 内质网应激调节血管钙化的机制

### 3.1 内质网应激诱导血管平滑肌细胞成骨表型转化促进血管钙化

VSMC 成骨表型转化是 VC 中的一个关键过程, 在这个过程中, VSMC 由收缩表型向成骨表型转化, 收缩蛋白如  $\alpha$  平滑肌肌动蛋白、平滑肌 22 $\alpha$  逐渐减少, 成骨表型标志物如 Runt 相关转录因子 2 (Runt-related transcription factor 2, Runx2)、碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)、骨钙素、骨桥蛋白、骨形态发生蛋白 2 (bone morphogenetic protein-2, BMP-2) 增加<sup>[10]</sup>, UPR 三条通路 IRE1-XBP1、PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4、ATF6 在 VC 的过程中均被激活<sup>[11]</sup>, 但在相关文献中提及较多的为前两条通路。

研究显示 XBP1 可以直接调控 Runx2 的表达<sup>[11]</sup>, 人冠状动脉平滑肌细胞用 BMP-2 处理后, GRP78、p-IRE1 $\alpha$  和 XBP1 的表达增加, 染色质免疫沉淀分析表明, XBP1 与 Runx2 启动子结合, 抑制 ERS 可以降低其 Runx2 表达, 减少细胞内钙沉积和矿化。

ATF4 是细胞成骨分化和 ERS 的关键转录因子。在使用氯化钙+ $\beta$ -甘油磷酸诱导的 VSMC 钙化模型中, ERS 增强, ATF4 表达上调, VSMC 由收缩表型向成骨表型转化, 促进 VC, 而敲低 ATF4 可以使成骨标志物表达下降, 抑制 VC<sup>[12]</sup>。ATF4 也促进 VC 相关的其他细胞成骨分化, Furmanik 等<sup>[13]</sup>发现人血管内皮细胞发生 ERS 后, ALP mRNA 表达显著增加, 且具有 ATF4 依赖性, 生物信息学分析预测 ALP 启动子的 ERS 反应区域存在两个 ATF4 结合位点, 质谱分析鉴定了可能与这两个 ALP 结合位点结合的 447 种蛋白质, 然而, 并未检测到 ATF4。目前研

究所发现的 ATF4 对 VSMC 成骨表型转化的调控大多为间接机制,是否存在直接作用仍待进一步研究。

### 3.2 内质网应激诱导血管平滑肌细胞凋亡促进血管钙化

VSMC 凋亡是 VC 启动的关键过程之一,类似于基质囊泡的凋亡小体可导致局部钙磷酸盐的聚集,为羟基磷灰石晶体的成核提供合适的微环境<sup>[14]</sup>。ERS 可通过诱导 VSMC 凋亡促进 VC,ERS 诱导凋亡有 3 个途径:①CHOP 途径:受到 UPR 三条通路的激活,但主要是 PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4 通路,CHOP 可增加促凋亡蛋白,调节 Bcl-2 家族促细胞凋亡相互作用因子(Bcl-2 interacting mediator of cell death, Bim)、死亡受体 5 的表达,下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达促进细胞凋亡<sup>[15]</sup>;②Caspase-12 途径:正常情况下,Caspase-12 定位于内质网膜上,当它被激活裂解时,可以激活 Caspase-9,进而激活 Caspase-3 等凋亡效应酶,从而导致细胞凋亡<sup>[5,14]</sup>;③JNK 途径:由 UPR 的 IRE1-TRAF2-ASK1 分支激活,可磷酸化 Bim 与 Bcl-2 使其分别被激活或抑制,促进细胞凋亡<sup>[15]</sup>。

Duan 等<sup>[14]</sup>发现在 VC 的大鼠模型中,维生素 D3 与尼古丁(vitamin D3 plus nicotine, VND)灌胃组主动脉组织中 Caspase-12 上调近 3 倍,大剂量维生素 D 组主动脉中 CHOP 上调近 10 倍,而两组中 p-JNK 蛋白水平均不变。而 Hao 等<sup>[16]</sup>的研究则显示 VND 大鼠主动脉 Caspase-12 和 CHOP 都明显提高。成纤维细胞生长因子 21 可通过抑制 ERS 诱导的凋亡改善 VC<sup>[17]</sup>,减轻 VND 大鼠主动脉的组织学紊乱,降低其钙含量和 ALP 活性;在这一过程中,CHOP 通路和 Caspase-12 通路均被激活,而 p-JNK/JNK 通路未明显改变。目前的证据表明,在 ERS 诱导 VSMC 凋亡促进 VC 的过程中,CHOP 与 Caspase-12 这两条途径作用更明显,JNK 是否参与了这一过程还有待进一步研究。

### 3.3 内质网应激与自噬的交互作用对血管钙化的影响

血管组织内自噬水平的增加可通过减少细胞外基质囊泡分泌而改善 VC<sup>[18]</sup>。目前研究表明 ERS 主要通过 UPR 信号以及 Ca<sup>2+</sup>释放来介导自噬,自噬可以有效地去除错误折叠的蛋白<sup>[19]</sup>,以负反馈的形式减轻 ERS,从而增加细胞的存活。李艳青等<sup>[18]</sup>近期研究发现在钙化的大鼠主动脉中 ERS 标志物 GRP78 和 CHOP、自噬标志蛋白轻链 3(LC3 II)和 Beclin-1 表达显著升高,使用 3-甲基腺嘌呤抑制自噬后 ERS 程度增加,VSMC 由收缩表型向成骨样表

型转化从而加剧 VC,表明 VC 过程中 ERS 的激活可增加自噬水平,而自噬以负反馈调节的方式减轻 ERS 和钙化程度。

雷帕霉素靶蛋白复合物 1(mammalian target of rapamycin complex 1, mTORC1)是细胞增殖和自噬等关键过程的重要分子传感器,持续的 mTORC1 激活可通过抑制自噬促进蛋白合成。Panda 等<sup>[20]</sup>的研究发现,在 CKD 小鼠体内晚期糖基化终产物受体激活和高磷血症状态下,mTORC1 被持续过度激活,激活的 mTORC1 引起 ERS 水平增高,通过 CHOP 介导细胞凋亡,破坏钙化的有效抑制剂焦磷酸盐的生成,增强 VSMC 向骨、软骨细胞表型转化,在这一过程中伴有自噬相关蛋白 5 表达下降,自噬水平的降低。用 mTORC1 的抑制剂雷帕霉素治疗 CKD 小鼠,可抑制 mTORC1 的活性,下调 UPR,使主动脉的钙含量恢复正常;在此研究中也同样发现,PERK 可通过上调应激诱导蛋白 Sestrin 1 和 Sestrin 3 蛋白的水平,抑制 mTORC1 的活性。虽然大多数研究表明,ERS 激活的自噬对细胞有保护作用,但也有研究表明,自噬可能会导致细胞凋亡,促进 VC<sup>[21]</sup>。然而目前 ERS 和自噬交互作用在不同因素诱导的 VC 中的作用研究甚少,亟待进一步明确。

## 4 钙化诱导因素通过内质网应激促进血管钙化

### 4.1 脂质

研究表明硬脂酸可通过 PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4 通路上调 ALP 与骨钙素,增加 VSMC 成骨分化和钙化<sup>[22]</sup>。Ren 等<sup>[23]</sup>发现高脂饮食加同型半胱氨酸处理的载脂蛋白 E 基因敲除(apolipoprotein E gene knocked-out, ApoE<sup>-/-</sup>)小鼠主动脉根部钙化结节形成,ERS 被激活,降钙素基因相关肽家族中的 Intermedin-53 可以通过逆转同型半胱氨酸诱导的 ERS 改善动脉钙化。Miyazaki-Anzai 等<sup>[24]</sup>发现在 CKD 患者和 5/6 肾切除的 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠血清中,7-酮胆固醇等氧固醇水平升高,辛伐他汀和依折麦布的联合使用可降低氧固醇和其他脂类,显著降低由 7-酮胆固醇诱导的 ERS,从而改善 CKD 小鼠主动脉钙化。

### 4.2 糖及其代谢产物

糖尿病患者体内持续的高血糖状态以及糖代谢产物如晚期糖基化终产物的积累是促进 VC 的重要因素<sup>[25]</sup>。高糖(25 mmol/L)可通过 ERS 诱导 VSMC 凋亡及表型转化,从而导致 VC<sup>[26]</sup>,而与持续的高糖培养相比,糖浓度在正常糖(5 mmol/L)与高

糖之间反复波动可进一步加重 VSMC 的 ERS 与钙化<sup>[27]</sup>。Navas-Madroñal 等<sup>[28]</sup>发现高糖(22 mmol/L)可与氧化低密度脂蛋白协调促进 VSMC 钙化和 ERS 标志物的表达。此外,晚期糖基化终产物受体拮抗剂可以通过抑制晚期糖基化终产物诱导的 ERS,降低 Caspase-9 的活性,从而抑制血管平滑肌细胞凋亡,改善 VC<sup>[29]</sup>。

### 4.3 炎症

炎症是 VC 的另一重要机制,许多促炎细胞因子如肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素  $1\beta$  (interleukin- $1\beta$ , IL- $1\beta$ )、IL-6 可促进 VC 的发生发展。Masuda 等<sup>[30]</sup>发现在 5/6 肾切除的 ApoE<sup>-/-</sup>小鼠中, TNF- $\alpha$  可通过诱导 ERS 促进 CKD 的 VC,用 TNF- $\alpha$  中和抗体或化学伴侣、ERS 抑制剂牛磺去氧胆酸或 4-苯基丁酸处理小鼠,可抑制 CKD 小鼠 VSMC 中 PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP 信号途径,改善主动脉钙化。硒蛋白 S 是一种定位于内质网膜的硒蛋白,是 ERAD 复合物的组成部分,ERAD 复合物介导未折叠和错误折叠的蛋白质从内质网腔转运到细胞质中降解, Ye 等<sup>[31]</sup>发现硒蛋白 S 可能通过拮抗炎症诱导的 ERS 来改善 VC,硒蛋白 S 的基因敲除可促进 ERS 及脂多糖、TNF- $\alpha$  诱导的 VC。25-羟基胆固醇是胆固醇 25-羟化酶合成的一种羟甾醇, Dong 等<sup>[32]</sup>发现 25-羟基胆固醇刺激炎症因子 TNF- $\alpha$  和 IL- $1\beta$  的表达,导致 ERS 和 ATF4/CHOP 信号的激活,细胞凋亡增加,并诱导 VC, CHOP 的敲除可以阻断 25-羟基胆固醇诱导的 VC。

### 4.4 氧化应激

氧化应激时 NADPH 氧化酶表达增加,超氧化物歧化酶、过氧化氢酶等抗氧化酶减少,通过活性氧的产生及下游信号的激活导致血管重构和钙化的增加<sup>[33]</sup>。在人冠状动脉平滑肌细胞中,氧化应激可通过 ERS 促进 VC, BMP-2 介导的 NADPH 氧化酶激活增加了 ERS,通过 XBP1 促进 Runx2 的表达增加,抑制氧化应激或 ERS,可降低经 BMP-2 处理的人冠状动脉平滑肌细胞的 Runx2 表达、细胞内钙沉积和矿化<sup>[11]</sup>。Liu 等<sup>[34]</sup>发现黄嘌呤氧化酶可诱导 VSMC 氧化应激,激活 ERS,通过细胞成骨表型转化和凋亡,促进 VSMC 钙化,而亚硒酸盐可以通过内质网滞留硒蛋白抑制 ERS,改善氧化应激引起的动脉粥样硬化性 VC。

## 5 治疗潜力

在大多数病理情况下,抑制 ERS 可以改善 VC。

ERS 抑制剂牛磺脱氧胆酸可通过下调 IRE1/XBP1 信号通路减弱 ERS 抑制 VSMC 去分化,减少支架内再狭窄<sup>[35]</sup>。CDK9-Cyclin T1 复合物直接磷酸化并激活 ATF4,通过 CHOP 诱导 VC,相反,CDK9-Cyclin T2/K 复合物的作用则通过抑制 ATF4 的磷酸化而改善 VC<sup>[36]</sup>。在 CKD 大鼠中,促红细胞生成素可能通过促红细胞生成素受体信号通路,抑制 ERS 介导的细胞凋亡,从而抑制 VC<sup>[37]</sup>。在 VND 大鼠模型中,交感神经节阻滞术可以抑制交感神经活动,进而阻止 ERS 的激活,改善主动脉钙化<sup>[16]</sup>。尽管如此,仍有研究发现 CHOP siRNA 处理会导致核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶 1 (合成焦磷酸盐,一种钙化抑制剂)敲除小鼠的 VSMC 钙化增强<sup>[38]</sup>。ERS 作为机体维持稳态的关键机制之一,不恰当的干预整体的 ERS 将可能会对人体有害,且由于以 ERS 为靶点进行的 VC 相关研究结果的矛盾性,及缺乏灵长类动物包括人体实验在内的有效性、安全性评估,故对于通过抑制 ERS 来减轻 VC 仍有待进一步探索。

## 6 总结与展望

VC 是一个复杂的过程,在这个过程中,不同刺激因素通过 ERS 诱导平滑肌细胞成骨表型转化和凋亡,二者相辅相成促进 VC 的发生,而由 ERS 诱导的细胞自噬以负反馈调节方式维持内质网稳态,减轻 ERS 对组织细胞造成的损伤,一定程度减轻 VC (图 1)。

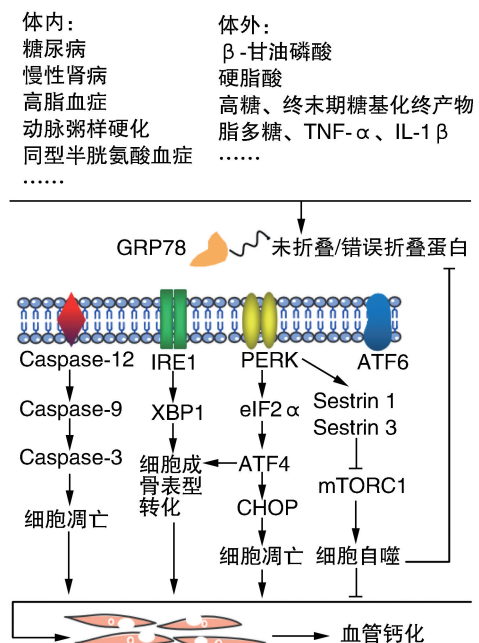


图 1. ERS 对血管钙化的影响

Figure 1. Influence of ERS on vascular calcification

ERS 涉及的因子众多,如何将其控制在合适范围内阻止 VC 的发生发展? 此外,当前关于 ERS 与 VC 的研究仍停留在细胞与动物实验上,距离临床应用仍有较远的距离。因此,全面地阐明 ERS 与 VC 的确切机制,有助于为临床更有效地治疗 VC 提供理论依据和新的方向。

#### [参考文献]

- [1] Uddin MS, Tewari D, Sharma G, et al. Molecular mechanisms of ER stress and UPR in the pathogenesis of Alzheimer's disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2020, 57(7): 2902-2919.
- [2] 吉登仁, 齐永芬. 内质网应激与心血管疾病关系的研究进展[J]. *生理学报*, 2020, 72(2): 190-204.
- [3] da Silva DC, Valentão P, Andrade PB, et al. Endoplasmic reticulum stress signaling in cancer and neurodegenerative disorders: Tools and strategies to understand its complexity [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 155: 104702.
- [4] B'chir W, Maurin AC, Carraro V, et al. The eIF2 $\alpha$ /ATF4 pathway is essential for stress-induced autophagy gene expression [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(16): 7683-7699.
- [5] 丰梅, 付凌玲, 张伟华, 等. 内质网应激调控细胞自噬和凋亡[J]. *中国细胞生物学学报*, 2018, 40(3): 455-462.
- [6] Feldman HC, Vidadala VN, Potter ZE, et al. Development of a chemical toolset for studying the paralog-specific function of IRE1 [J]. *ACS Chem Biol*, 2019, 14(12): 2595-2605.
- [7] Walter P, Ron D. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation [J]. *Science*, 2011, 334(6059): 1081-1086.
- [8] 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.
- [9] Lee SJ, Lee IK, Jeon JH. Vascular calcification-new insights into its mechanism [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(8): 2685.
- [10] Hortells L, Sur S, St Hilaire C. Cell phenotype transitions in cardiovascular calcification [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2018, 5: 27.
- [11] Liberman M, Johnson RC, Handy DE, et al. Bone morphogenetic protein-2 activates NADPH oxidase to increase endoplasmic reticulum stress and human coronary artery smooth muscle cell calcification [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 413(3): 436-441.
- [12] Duan XH, Chang JR, Zhang J, et al. Activating transcription factor 4 is involved in endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis contributing to vascular calcification [J]. *Apoptosis*, 2013, 18(9): 1132-1144.
- [13] 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.
- [14] Duan X, Zhou Y, Teng X, et al. Endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis is activated in vascular calcification [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 387(4): 694-699.
- [15] Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, et al. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis [J]. *EMBO Rep*, 2006, 7(9): 880-885.
- [16] Hao W, Yang R, Yang Y, et al. Stellate ganglion block ameliorates vascular calcification by inhibiting endoplasmic reticulum stress [J]. *Life Sci*, 2018, 193: 1-8.
- [17] Shi Y, Wang S, Peng H, et al. Fibroblast growth factor 21 attenuates vascular calcification by alleviating endoplasmic reticulum stress mediated apoptosis in rats [J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(1): 138-147.
- [18] 李艳青, 付佳, 李彤, 等. 内质网应激与自噬的交互作用对血管钙化的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(11): 1099-1105.
- [19] Senft D, Ronai ZA. UPR, autophagy, and mitochondria crosstalk underlies the ER stress response [J]. *Trends Biochem Sci*, 2015, 40(3): 141-148.
- [20] Panda DK, Bai X, Sabbagh Y, et al. Defective interplay between mTORC1 activity and endoplasmic reticulum stress-unfolded protein response in uremic vascular calcification [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2018, 314(6): F1046-F1061.
- [21] Shanahan CM. Autophagy and matrix vesicles: new partners in vascular calcification [J]. *Kidney Int*, 2013, 83(6): 984-986.
- [22] Masuda M, Miyazaki-Anzai S, Keenan AL, et al. Saturated phosphatidic acids mediate saturated fatty acid-induced vascular calcification and lipotoxicity [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(12): 4544-4558.
- [23] Ren JL, Hou YL, Ni XQ, et al. Intermedin1-53 ameliorates homocysteine-promoted atherosclerotic calcification by inhibiting endoplasmic reticulum stress [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2020, 25(3): 251-264.
- [24] Miyazaki-Anzai S, Masuda M, Demos-Davies KM, et al. Endoplasmic reticulum stress effector CCAAT/enhancer-binding protein homologous protein (CHOP) regulates chronic kidney disease-induced vascular calcification [J]. *J Am Heart Assoc*, 2014, 3(3): e000949.
- [25] Kay AM, Simpson CL, Stewart JA Jr. The role of AGE/RAGE signaling in diabetes-mediated vascular calcification [J]. *J Diabetes Res*, 2016, 2016: 6809703.
- [26] 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.
- [27] Zhang L, Sun H, Liu S, et al. Glycemic variability is associated with vascular calcification by the markers of endoplasmic reticulum stress-related apoptosis, Wnt1, galectin-3 and BMP-2[J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2019, 11: 67.
- [28] Navas-Madroñal M, Castelblanco E, Camacho M, et al. Role of the scavenger receptor CD36 in accelerated diabetic atherosclerosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19): E7360.
- [29] Maltais JS, Simard E, Froehlich U, et al. iRAGE as a novel carboxymethylated peptide that prevents advanced glycation end product-induced apoptosis and endoplasmic reticulum stress in vascular smooth muscle cells [J]. *Pharmacol Res*, 2016, 104: 176-185.
- [30] Masuda M, Miyazaki-Anzai S, Levi M, et al. PERK-eIF2 $\alpha$ -ATF4-CHOP signaling contributes to TNF $\alpha$ -induced vascular calcification [J]. *J Am Heart Assoc*, 2013, 2(5): e000238.
- [31] Ye Y, Bian W, Fu F, et al. Selenoprotein S inhibits inflammation-induced vascular smooth muscle cell calcification [J]. *J Biol Inorg Chem*, 2018, 23(5): 739-751.
- [32] Dong Q, Chen Y, Liu W, et al. 25-Hydroxycholesterol promotes vascular calcification via activation of endoplasmic reticulum stress[J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 880: 173165.
- [33] Agharazii M, St-Louis R, Gautier-Bastien A, et al. Inflammatory cytokines and reactive oxygen species as mediators of chronic kidney disease-related vascular calcification [J]. *Am J Hypertens*, 2015, 28(6): 746-755.
- [34] Liu H, Li X, Qin F, et al. Selenium suppresses oxidative-stress-enhanced vascular smooth muscle cell calcification by inhibiting the activation of the PI3K/Akt and ERK signaling pathways and endoplasmic reticulum stress [J]. *J Biol Inorg Chem*, 2014, 19(3): 375-388.
- [35] Luo H, Zhou C, Chi J, et al. The role of tauroursodeoxycholic acid on dedifferentiation of vascular smooth muscle cells by modulation of endoplasmic reticulum stress and as an oral drug inhibiting in-stent restenosis [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2019, 33(1): 25-33.
- [36] Shiozaki Y, Okamura K, Kohno S, et al. The CDK9-cyclin T1 complex mediates saturated fatty acid-induced vascular calcification by inducing expression of the transcription factor CHOP [J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(44): 17008-17020.
- [37] Chang JR, Sun N, Liu Y, et al. Erythropoietin attenuates vascular calcification by inhibiting endoplasmic reticulum stress in rats with chronic kidney disease [J]. *Peptides*, 2020, 123: 170181.
- [38] Serrano RL, Yu W, Terkeltaub R. Mono-allelic and bi-allelic ENPP1 deficiency promote post-injury neointimal hyperplasia associated with increased C/EBP homologous protein expression [J]. *Atherosclerosis*, 2014, 233(2): 493-502.
- (此文编辑 曾学清)