

本文引用: 陈正东, 刘乃丰. 铁稳态在血管钙化发病机制中的作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(7): 553-559.
DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2022.07.001.

[文章编号] 1007-3949(2022)30-07-0553-07

· 专家论坛 ·

铁稳态在血管钙化发病机制中的作用

陈正东, 刘乃丰

(东南大学附属中大医院心内科, 江苏省南京市 210009)

[专家简介] 刘乃丰, 博士, 东南大学附属中大医院主任医师、心血管病研究所所长, 教授, 博士研究生导师。主持国家自然科学基金 8 项, 近 5 年以第一作者或通信作者发表 SCI 论文 20 余篇。学术兼职: 中国微循环学会理事长、中国病理生理学会动脉粥样硬化专业委员会常委、中国医院协会信息专业委员会常委、江苏省医学会心血管病学分会常委、江苏省医师协会心血管医师分会常委。兼任《中国新药与临床杂志》《中国动脉硬化杂志》《中华医院管理杂志》编委。

[关键词] 血管钙化; 铁稳态; 钙化机制

[摘要] 心血管疾病(CVD)在全球范围具有高发病率、高致残率和高致死率的特点, 而血管钙化(VC)是造成 CVD 风险事件终末结局的主要共同病理改变, 表明血管钙化是 CVD 的潜在防治靶点, 但鉴于血管钙化的复杂发病机制, 目前没有应对血管钙化的有效手段。铁是人体必需的微量元素, 研究发现铁含量超载或缺乏导致的铁稳态(IH)异常分别在不同类型的 CVD 和疾病不同阶段参与血管钙化的发生发展。因此, 阐明血管钙化时的铁稳态异常机制, 有助于为血管钙化的基础研究和临床防治指出新方向。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A



The role of iron homeostasis in the pathogenesis of vascular calcification

CHEN Zhengdong, LIU Naifeng

(Department of Cardiology, Zhongda Hospital, School of Medicine, Southeast University, Nanjing, Jiangsu 210009, China)

[KEY WORDS] vascular calcification; iron homeostasis; calcification mechanism

[ABSTRACT] Cardiovascular disease (CVD) has the characteristics of high incidence, high disability and high fatality rate around the world, and vascular calcification (VC) is the main common pathological change which leading to the occurrence of CVD risk events, indicating VC is a potential target for prevention and treatment of CVD, but in view of the complex pathogenesis of VC, there is currently no effective means of treating VC. Iron is an essential trace element for human body, studies have found that iron homeostasis (IH) abnormality caused by iron overload or iron deficiency is involved in the occurrence and development of VC in different types of CVD and different stages of disease. Therefore, clarifying the abnormal mechanism of IH in VC will contribute to pointing out new directions for basic research and clinical therapy of VC.

心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)、糖尿病(diabetes mellitus, DM)和恶性肿瘤是人类健康的三大主要威胁。20 世纪末到 21 世纪初的二十年间, CVD 死亡人数的增幅达 1/3, 而该数字到 2030 年预计占年死亡人数的 1/2^[1], 给患者的生活质量、家庭人力和经济、国家医疗系统带来大量不利影

响^[2]。心、脑和肾是 CVD 风险事件的主要受损靶器官, 血管钙化(vascular calcification, VC)又是上述重要器官的共同病理改变^[3]。血管钙化导致动脉僵硬、顺应性降低和脉搏波速度增加, 容易发生心力衰竭(heart failure, HF)、心肌梗死(myocardial infarction, MI)、脑梗死(cerebral infarction, CI)和外周血

[收稿日期] 2021-11-28

[修回日期] 2022-01-16

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81970381)

[作者简介] 陈正东, 博士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化和血管钙化, E-mail: chenzd@seu.edu.cn。通信作者刘乃丰, 博士, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化和血管钙化, E-mail: liunf@seu.edu.cn。

管疾病(peripheral vascular disease, PVD)等 CVD 风险事件,揭示血管钙化是 CVD 患者预后不良的高风险因素。铁是机体必需的微量元素,铁是一种参与氧气运输、能量代谢和 DNA 修复等生命必需过程的重要调节剂,生理条件下的机体主要通过调节摄取铁的转铁蛋白受体 1(transferrin receptor 1, TFR1)和外排铁的铁转运蛋白(ferroportin, FPN)表达的动态平衡,严格控制铁浓度而维持铁稳态(iron homeostasis, IH)。铁超载时,过量的游离铁(Fe^{2+})通过芬顿反应催化活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生而造成核酸、蛋白质和脂质氧化应激性损伤,氧化应激又是血管钙化的重要发病机制;铁缺乏时,因能结合无机磷酸盐(inorganic phosphate, Pi)的 Fe^{3+} 含量低和具备抗氧化特性的 H-铁蛋白合成减少而可能导致血管钙化;血管钙化往往伴随铁稳态异常^[4-5],因此铁稳态可能是血管钙化的潜在防治靶点。

1 血管钙化

钙化的病理特征是钙-磷酸复合物等矿物质沉积于软组织中,主要包括三类病变:循环系统中高钙和高磷导致的转移性钙化、损伤组织处代谢异常导致的营养不良性钙化、皮肤和内脏器官等组织由于钙质沉积导致的沉着性钙化^[3,6]。血管壁和心脏瓣膜中积聚大量钙磷无机盐造成的血管钙化,是最常见的软组织钙化类型。血管钙化虽然属于生理衰老的构成环节之一,但在高血压、高血脂、慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)、动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)和 DM 等代谢相关疾病中血管钙化往往作为严重并发症出现^[7]。

另外,血管钙化的病理生理学机制未被足够清晰阐明,根据最新研究进展,包括高钙磷水平、氧化应激、细胞死亡、炎症刺激、能量代谢障碍和自噬障碍等^[8-11],目前仍没有防治血管钙化的有效策略,亟待加深、拓宽血管钙化的机制研究。

血管钙化因病变部位不同,大体上可分为:As 代表动脉内膜钙化、DM 和 CKD 代表动脉中膜钙化、主动脉瓣疾病代表瓣膜钙化^[12]。血管钙化最初被认为是钙磷代谢失调的被动沉积,但越来越多的证据表明糖脂代谢紊乱和微量元素水平异常等导致的血管钙化是主动的、可调节的、类似于骨形成的动态病理过程^[12-13];巨噬细胞、瓣膜间质细胞(valvular interstitial cells, VIC)、血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMC)和内皮细胞

(endothelial cells, EC)等通过转分化为成骨样表型和形成钙化结节^[14],促进血管钙化发生发展,因此,减少成骨样细胞形成是防治血管钙化的重要手段。血管钙化与骨骼矿化有很多相似之处,成骨和破骨细胞表达异常会导致骨骼钙化或骨质疏松症^[13]。破骨细胞能通过吸收骨矿物质基质来防止过度的骨骼矿化。破骨样细胞指存在于骨骼以外,与破骨细胞具有类似的形态学、功能学特征,对抗酒石酸性磷酸盐染色呈阳性的一类多核巨细胞,已被证实存在于血管钙化病变处^[15]。提示破骨样细胞在血管钙化的进展中可能扮演重要角色,诱导破骨样细胞表达则有助于血管钙化消退,一定程度上也解释了目前抗血管钙化方案疗效不佳的原因。

2 铁稳态在心脑血管疾病中的作用

铁稳态包括整体循环系统和局部细胞内铁水平两个层面,但直接参与血管钙化等疾病发生的是胞内铁含量,铁稳态主要在负性调节剂,在肝脏来源的铁调素(hepcidin, HEPc)作用下保持相对稳定^[16-17];而高水平铁激活的骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)信号转导系统是诱导 HEPc 表达的主要途径^[5];BMP 又是成骨样细胞的特征性蛋白之一,HEPc 降低铁含量后,伴随 BMP 信号转导系统失活,能够减轻钙化和成骨样分化;提示铁稳态异常和钙化样病变有紧密联系。另外,细胞膜上的 FPN 是目前发现唯一负责铁外排的功能单位^[18-19];循环铁增加后刺激肝脏分泌的 HEPc 能通过下调肝细胞、巨噬细胞和肠细胞等胞膜上 FPN 的活性和表达量,减少胞内铁释放并抑制膳食铁的肠道吸收,循环铁缺乏则抑制 HEPc 释放^[16-18,20],进而维持全身性铁稳态。当局部细胞缺铁时,铁调节蛋白(iron regulatory protein, IRP)/铁调节元件(iron regulatory element, IRE)也能在翻译层面减少 FPN 和铁蛋白表达,并增加 TFR1 的稳定性^[4],而高浓度铁导致的氧化应激也可能通过激活核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2)诱导 FPN 表达^[17],最终达到控制铁稳态的目标。意味着 HEPc、FPN 和 IRP/IRE 等可能是铁稳态异常的直接调控点。

铁稳态在 CVD 中作用的研究,根据女性绝经前 CVD 发病率显著低于男性、绝经后无性别差异并伴随体内铁含量增加的现象,有研究者提出了铁水平和 CVD 的发病率呈正相关,缺铁则可能有保护作用

的“铁假说”^[21-22]。该假说也得到了血清铁水平在 MI 和 PVD 患者体内升高^[23-24]、铁螯合剂能减轻铁过载导致 ApoE^{-/-}小鼠内膜钙化相关 As 病变^[25]等文献支持。相反,部分报道得出了不同的结论。一项孟德尔随机化研究支持高水平血清铁和铁蛋白能降低冠状动脉相关 CVD 风险事件的假设^[26];2% 羟基铁饲喂组较 0.02% 铁剂组相比,可有效缓解 As^[27]。虽然铁和 CVD 的联系仍存在争议,但 CVD 往往存在铁稳态异常,铁稳态是 CVD 的潜在干预靶点,值得深入探究。

3 血管钙化和铁稳态的联系

氧化应激是血管钙化等 CVD 的关键致病机制之一^[3],而铁过载导致铁稳态异常的后果之一是氧化应激,血管钙化又总是伴随铁稳态异常,那么阐明铁稳态异常在血管钙化中的作用十分重要^[19]。研究表明,过量游离形式的 Fe²⁺是血管钙化的直接致病因素,而结合 Fe³⁺的铁剂和铁蛋白对血管钙化的影响与之相反。铁稳态的直接表现形式、铁和铁蛋白在血管钙化病变处的作用没有完全统一共识,尤其在不同类型血管钙化中的争议更大。本文将分别按照铁稳态在血管壁钙化和瓣膜钙化中作用的分类方式,讨论铁和铁蛋白在血管钙化中究竟是卫士还是杀手的角色。

3.1 血管壁钙化与铁稳态

血管壁钙化主要分为内膜和中膜两大类,而关于铁稳态异常的研究又集中于中膜钙化。晚期 CKD 患者极易出现中膜钙化和缺铁性贫血^[28],提示缺铁时的铁稳态异常可能加剧了血管壁钙化。在高浓度 Pi 模拟的钙化环境中,柠檬酸铁能通过减少大鼠 VSMC 凋亡、增强自噬和干扰成骨分化而防治中膜钙化^[29];右旋糖酐铁能抑制磷酸盐转运蛋白(phosphate transporter, Pit-1)和 Run 相关转录因子 2(Runt-related transcription factor 2, Runx2)等促钙化调控点表达而减轻尿毒症大鼠中膜钙化^[30];铁基非钙盐磷酸结合剂 PA-21 对慢性肾衰竭大鼠血管壁钙化的抑制效果也强于碳酸钙^[31];证明补充铁剂有助于防治血管壁钙化,可能是由于 Fe³⁺结合了过载的 Pi。另一方面,研究发现血红素加氧酶/铁蛋白系统的 H-铁蛋白、胆绿素能够缓解高 Pi 刺激的人主动脉平滑肌细胞成骨样分化和钙化,而 L-铁蛋白和亚铁氧化酶活性突变缺失的 H-铁蛋白没有该保护效应,H-铁蛋白抗钙化的机制可能是因其具备亚铁氧化酶活性和抗氧化特性,并且铁剂也能增加铁

蛋白合成^[32-33]。上述研究结果均表明铁剂和铁蛋白可能在特定的疾病模型中通过调控铁稳态异常而抑制血管壁钙化。

相反,高水平铁也能通过氧化应激诱导成骨样细胞表达和钙化^[4]。此外,钙化的经典致病机制之一是由细胞死亡诱发^[3,28],铁死亡、凋亡、焦亡、坏死和自噬等细胞死亡方式均可能参与血管壁钙化,而与铁稳态异常直接相关的是铁死亡。铁死亡是 2012 年首次正式报道的一种铁依赖性脂质过氧化作用下的程序性细胞死亡方式,去铁胺等铁螯合剂能阻断铁死亡,而柠檬酸铁等补充性铁剂又会加重铁死亡^[34],因此铁稳态异常可能会增加细胞对铁死亡的易感性。铁稳态处于铁输入、储存和输出的共同调节下,任一环节异常都能导致铁死亡。正如 Brucine 上调 TFR 表达,细胞内铁含量增加后造成神经胶质瘤细胞铁死亡^[35];铁死亡也是一种致死性的过度自噬,核受体共激活子 4 介导铁蛋白自噬后释放的铁也会加强铁死亡^[36];Prominin V2 是一种调节脂质稳态的跨膜蛋白,能促进包含铁蛋白的外泌体形成而增加肿瘤细胞的铁死亡抗性^[37]。因为长期高脂血症是肥胖、DM、CKD 和代谢综合征等血管钙化高发患者的重要危险因素^[10],研究发现二甲双胍能通过抗 VSMC 铁死亡而减弱高脂条件下的中膜钙化,在实验水平佐证了铁死亡参与血管壁钙化的猜想^[9],说明铁稳态异常是血管钙化的多层次干预靶点^[38],即铁过载时的 Fe²⁺通过导致血管壁细胞死亡和成骨样分化而加剧钙化。

值得一提的是,缺氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)是一种 α/β 异源二聚体形式的 DNA 结合复合体,可广泛调节缺氧的转录反应。Han 等^[39]在晚期糖基化终末产物导致内膜钙化相关的 As 斑块中,发现活化的 HIF-1 α 是主要致病靶点;Mokas 等^[40]也观察到高 Pi 介导大鼠中膜钙化的核心机制之一是通过激活 HIF-1 α ,再促进 VSMC 成骨分化和钙化。脯氨酰羟化酶作为 HIF-1 α 的负性调控点,但 Fe²⁺是其活化的重要辅助因子^[41-42],提示 Fe²⁺也可能抗血管壁钙化,需要更多的研究来阐明。

总之,上调铁蛋白含量及其稳定性能够直接阻止血管壁钙化,铁剂虽能通过结合 Pi 和诱导铁蛋白表达来抗钙化,但铁剂过载导致的游离铁又能加剧钙化。铁稳态的本质是铁和铁蛋白水平波动,各种病理条件下的铁稳态异常也越来越得到认可,为血管壁钙化等疾病的治疗提供了新的理论基础。

3.2 瓣膜钙化与铁稳态

瓣膜钙化常见于主动脉瓣,主动脉瓣膜钙化疾病伴发狭窄是一个活动性进展过程,病变处的典型特征是无机盐沉积和无菌性炎症,是一类急需解决的临床问题。主动脉瓣是由平滑肌细胞、瓣膜内皮细胞(valvular endothelial cells, VEC)和VIC等构成的薄层组织^[43]。在手术切除患者^[44]和DM小鼠^[45]的主动脉瓣膜中均存在成骨样改变,瓣膜钙化和血管壁钙化的病理生理学机制十分相似,VIC衍生的成骨样细胞和肌成纤维样细胞^[46]是主动脉瓣膜钙化处细胞外基质(extracellular matrix, ECM)重塑的主要参与者。鉴于软骨形成和决定男性性别所需的SRY相关转录因子Sox9是瓣膜发生和成熟过程的重要调控子,Sox9缺失又伴随瓣膜钙盐沉积^[47],Sox9也能阻断Runx2的反式激活和降解Runx2,抑制VIC的成骨样分化^[48-49],即上调Sox9能够抗瓣膜钙化。此外,高剂量柠檬酸铁抑制Sox9表达^[50],过载的游离铁促进Runx2表达^[51],Runx2和Sox9又能相互抑制^[49],即Runx2参与了减弱Sox9表达。铁稳态异常可能通过干扰Sox9而加剧瓣膜钙化。

在人主动脉瓣膜内出血的研究中,游离铁含量和钙化程度呈正相关,硫酸亚铁诱导VIC吸收和以铁蛋白形式储存铁的同时又刺激VIC增殖、减少弹性蛋白产生而加速ECM重塑钙化^[52]。目前认为瓣膜过载的游离铁主要来源于瓣膜内出血和巨噬细胞的血红素代谢,因为瓣膜钙化处常常有新血管生成,炎症又会吸引大量炎症细胞聚集^[53]。另外,诱导VIC钙化表型转换的肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和转化生长因子 β 能在转录和翻译水平上调摄取游离铁的二价金属转运蛋白1表达,下调FPN表达,但对血红素铁等结合铁的转运蛋白没有影响^[52];H-铁蛋白又能减少VIC来源的炎症因子TNF- α 和白细胞介素1 β 的表达,抑制瓣膜钙化^[54];说明铁稳态异常引起瓣膜钙化的直接致病因素也是过载的游离铁。人源VIC在柠檬酸铁铵、1,2-二巯基-3-硫酮(1,2-dithiole-3-thione, D3T)、去铁铁蛋白和H-铁蛋白干预后,Runx2的核移位减少而Sox9增加,Pit-1降低,胞外核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶2(ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 2, ENPP2)和焦磷酸盐(pyrophosphate, PPi)增加,其中柠檬酸铁铵和D3T是H-铁蛋白的诱导剂,PPi是内源性钙化拮抗剂,ENPP2能通过降解ATP生成PPi,较之单纯钙磷培养基模型组,减轻

了钙化和VIC成骨样分化^[54-55];但当沉默H-铁蛋白后,柠檬酸铁铵直接干预VIC,PPi水平显著下降^[54],进一步表明H-铁蛋白是抗瓣膜钙化的直接保护因素。多个研究均证实,铁稳态异常致瓣膜钙化和血管壁钙化的机制基本一致。

4 破骨样细胞与铁稳态的联系

血管钙化处的成骨和破骨样细胞数量失衡^[56]。破骨细胞因其脱矿作用,不仅能阻断钙化进程,还能逆转钙化,血管钙化病变处的破骨样细胞可能具备类似功能^[57]。部分终末期肾病患者接受次全甲状腺切除术后,冠状动脉和颈动脉的钙化评分显著降低^[58],表明逆转血管钙化样病变是可行的。在大鼠实验中,骨髓来源的破骨样细胞在体外能将主动脉的钙含量降低约80%,而将其移植到同种异体内又可将钙化动脉的钙含量降低达50%,并对血管壁弹性蛋白完整性没有影响^[59],提示破骨样细胞在一定条件下能够参与预防和逆转血管钙化^[60]。

破骨样细胞的来源目前聚焦于NF- κ B受体激活蛋白配体(receptor activator of NF- κ B ligand, RANKL)诱导的单核巨噬细胞分化^[15],破骨样细胞形成及其功能受到胱硫醚 γ -裂解酶^[61]和Runx2^[62]的正性调控,成骨转录因子Runx2激活RANKL的机制可能是由于启动了骨稳态自我调节程序;而氧化型低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)^[63]和N-乙酰氨基葡萄糖-1-磷酸转移酶 α 、 β 亚基^[64]是破骨样细胞的主要负性调控因素。常氧和铁饥饿条件下,铁蛋白自噬释放的游离铁会导致破骨样细胞铁死亡^[65];缺氧能够促进破骨细胞分化、增加骨吸收活性^[66],并减少人源原代巨噬细胞铁蛋白的自噬^[67];Ni等^[65]在骨质疏松症的研究中,发现缺氧时活化的HIF-1 α 能抑制RANKL介导的铁蛋白自噬,避免破骨样细胞铁死亡;说明铁稳态异常在特定条件下参与破骨样细胞分化和死亡。铁稳态的关键组分,铁蛋白不仅能通过抑制成骨样细胞分化而阻断血管钙化,更能上调破骨样细胞表达而逆转血管钙化。相反,高水平铁介导激活的Nrf2^[17]也可能间接通过减少ox-LDL产生而促进破骨样细胞表达。铁稳态在血管钙化中扮演的角色愈发重要,因此,追踪明确破骨样细胞的来源和表型分化轨迹,深入了解铁稳态异常的重要性,有利于进一步研究血管钙化机制,为临床治疗提供新的契机(图1)。

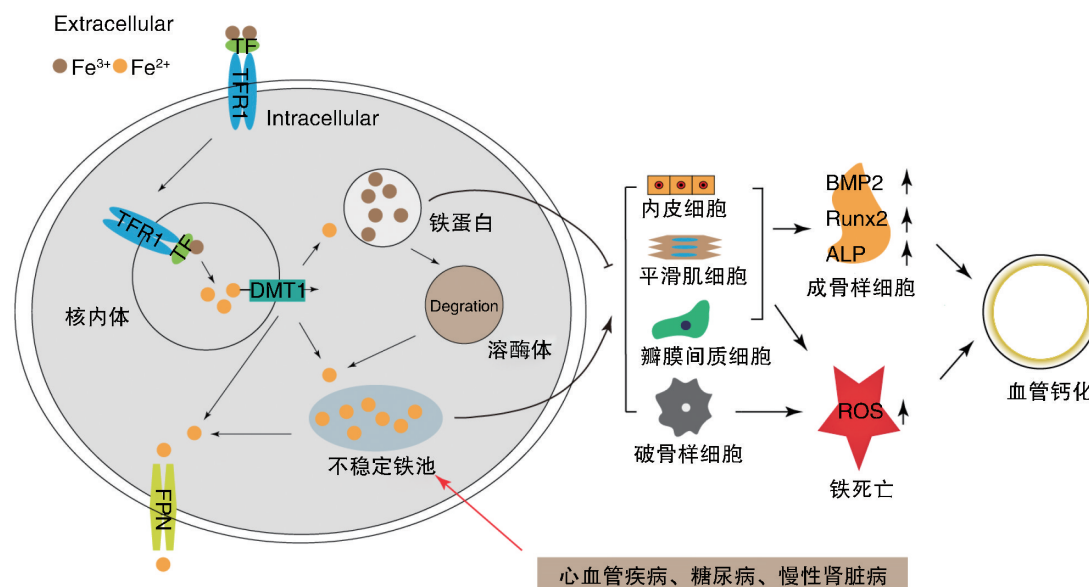


图 1. 铁稳态和血管钙化的联系

细胞外 Fe^{3+} 与转铁蛋白 (transferrin, TF) 的结合体通过 TFR1 被摄取到细胞内, 在核内体中还原为 Fe^{2+} , Fe^{2+} 再被二价金属转运蛋白 1 (divalent metal transporter 1, DMT1) 转运到细胞质而参与生命活动, 并储存于铁蛋白和不稳定铁池, 生理条件下的多余 Fe^{2+} 通过 FPN 排到胞外。心血管疾病、糖尿病和慢性肾脏病等出现铁稳态异常时, 溶酶体降解铁蛋白等来源的过载 Fe^{2+} 则能导致内皮细胞、血管平滑肌细胞、瓣膜间质细胞和破骨样细胞等铁死亡或转变为成骨样细胞; 铁死亡产生大量 ROS, 而成骨样细胞高表达 BMP2、Runx2 和碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 等, 导致血管钙化。

Figure 1. Linkage between iron homeostasis and vascular calcification

5 总结

CVD 作为糖脂代谢紊乱性疾病最重要的并发症, 而血管钙化又是 CVD 的主要终末病理结局。本文尽可能全面探讨了铁稳态异常在血管钙化发病机制中的作用, 并总结如下: ①细胞内二价游离铁过载导致的氧化应激, 通过刺激成骨样细胞分化和触发铁死亡等细胞死亡程序, 促进血管钙化发生发展。②H-铁蛋白、铁的储存形式则有助于抑制成骨样细胞分化并减少破骨样细胞死亡, 从而阻断甚至逆转血管钙化; 临床上使用的含三价铁制剂虽然可以通过结合 Pi 和诱导铁蛋白合成而抗血管钙化, 但其过载时产生的游离铁又能加剧血管钙化, 如何控制铁剂的安全使用剂量是一个焦点问题, 那么开发 D3T 等不含铁的铁蛋白诱导剂作为辅助药物就十分有必要; 增加铁蛋白稳定性而减少自噬, 也是潜在的抗血管钙化手段。③铁稳态存在铁输入、输出的平衡关系, 人为干预 HEPIC 和 FPN 表达, 调控循环系统和胞内铁稳态也是防治血管钙化的有效途径之一。④铁稳态异常在不同疾病中的表现形式不一样, 细胞内、外铁含量异常可能是各自治疗的侧重点, 分子靶向性铁剂、铁蛋白稳定剂和诱导剂

具有广泛的应用前景。事实上, 铁作为维系生命活动的必需元素, 目前仍没有完全阐明其在生理和病理条件下的角色转变机制, 随着相关研究深入, 相信铁稳态异常在临床上将会给血管钙化患者带来越来越多的福音。

[参考文献]

- [1] MAHMOOD S S, LEVY D, VASAN R S, et al. The Framingham heart study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective[J]. Lancet, 2014, 383(9921): 999-1008.
- [2] 胡盛寿, 高润霖, 刘力生, 等. 《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志, 2019, 34(3): 209-220.
- [3] HU S S, GAO R L, LIU L S, et al. Summary of the 2018 report on cardiovascular diseases in China[J]. Chin Circ J, 2019, 34(3): 209-220.
- [4] LEE S J, LEE I K, JEON J H. Vascular calcification: new insights into its mechanism[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(8): 2685.
- [5] VINCHI F. Non-transferrin-bound iron in the spotlight: novel mechanistic insights into the vasculotoxic and atherosclerotic effect of iron[J]. Antioxid Redox Signal, 2021, 35(6): 387-414.
- [6] WUNDERER F, TRAEGER L, SIGURSLID H H, et al. The role of hepcidin and iron homeostasis in atherosclerosis[J]. Pharmacol Res, 2020, 153: 104664.
- [7] BLACK A S, KANAT I O. A review of soft tissue calcifications[J]. J Foot Surg, 1985, 24(4): 243-250.
- [8] DEMER L L, TINTUT Y. Interactive and multifactorial mechanisms

- of calcific vascular and valvular disease [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2019, 30(9): 646-657.
- [8] MA W Q, SUN X J, ZHU Y, et al. PDK4 promotes vascular calcification by interfering with autophagic activity and metabolic reprogramming[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(11): 991.
- [9] MA W Q, SUN X J, ZHU Y, et al. Metformin attenuates hyperlipidaemia-associated vascular calcification through anti-ferroptotic effects[J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 165: 229-242.
- [10] 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.
SUN X J, LIU N F. Focus on the common pathogenesis and clinical significance of diabetes mellitus and vascular calcification [J]. *Chin J Arterioscler*, 2020, 28(2): 169-174.
- [11] 梁英权, 段亚君, 韩际宏. 血管钙化分子机制研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(11): 921-929.
LIANG Y Q, DUAN Y J, HAN J H. The research progresses on the molecular mechanism for vascular calcification[J]. *Chin J Arterioscler*, 2020, 28(11): 921-929.
- [12] QUAGLINO D, BORALDI F, LOFARO F D. The biology of vascular calcification [J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2020, 354: 261-353.
- [13] CHEN Y, ZHAO X, WU H. Arterial stiffness: a focus on vascular calcification and its link to bone mineralization[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(5): 1078-1093.
- [14] HORTELLS L, SUR S, ST HILAIRE C. Cell phenotype transitions in cardiovascular calcification[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2018, 5: 27.
- [15] JIANG W, ZHANG Z, LI Y, et al. The cell origin and role of osteoclastogenesis and osteoblastogenesis in vascular calcification [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 639740.
- [16] BILLESBØLLE C B, AZUMAYA C M, KRETSCH R C, et al. Structure of hepcidin-bound ferroportin reveals iron homeostatic mechanisms[J]. *Nature*, 2020, 586(7831): 807-811.
- [17] NEMETH E, GANZ T. Hepcidin-ferroportin interaction controls systemic iron homeostasis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(12): 6493.
- [18] ASCHEMEYER S, QIAO B, STEFANOVA D, et al. Structure-function analysis of ferroportin defines the binding site and an alternative mechanism of action of hepcidin [J]. *Blood*, 2018, 131(8): 899-910.
- [19] GALARIS D, BARBOUTI A, PANTOPOULOS K. Iron homeostasis and oxidative stress: an intimate relationship[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019, 1866(12): 118535.
- [20] GANZ T. New regulators of systemic iron homeostasis[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 280.
- [21] SULLIVAN J L. Iron and the sex difference in heart disease risk [J]. *Lancet*, 1981, 1(8233): 1293-1294.
- [22] KANNEL W B, HJORTLAND M C, MCNAMARA P M, et al. Menopause and risk of cardiovascular disease: the Framingham study[J]. *Ann Intern Med*, 1976, 85(4): 447-452.
- [23] SALONEN J T, NYSSÖNEN K, KORPELA H, et al. High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in eastern Finnish men[J]. *Circulation*, 1992, 86(3): 803-811.
- [24] MENKE A, FERNÁNDEZ-REAL J M, MUNTNER P, et al. The association of biomarkers of iron status with peripheral arterial disease in US adults[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2009, 9: 34.
- [25] ZHANG W J, WEI H, FREI B. The iron chelator, desferrioxamine, reduces inflammation and atherosclerotic lesion development in experimental mice [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2010, 235(5): 633-641.
- [26] GILL D, DEL GRECO M F, WALKER A P, et al. The effect of iron status on risk of coronary artery disease: a mendelian randomization study-brief report [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(9): 1788-1792.
- [27] KIRK E A, HEINECKE J W, LEBOEUF R C. Iron overload diminishes atherosclerosis in apoE-deficient mice[J]. *J Clin Invest*, 2001, 107(12): 1545-1553.
- [28] NEVEN E, DE SCHUTTER T M, GJ B, et al. Iron and vascular calcification. Is there a link[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2011, 26(4): 1137-1145.
- [29] CICERI P, ELLI F, BRAIDOTTI P, et al. Iron citrate reduces high phosphate-induced vascular calcification by inhibiting apoptosis[J]. *Atherosclerosis*, 2016, 254: 93-101.
- [30] SETO T, HAMADA C, TOMINO Y. Suppressive effects of iron overloading on vascular calcification in uremic rats[J]. *J Nephrol*, 2014, 27(2): 135-142.
- [31] PHAN O, MAILLARD M, PEREGAUX C, et al. PA21, a new iron-based noncalcium phosphate binder, prevents vascular calcification in chronic renal failure rats [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2013, 346(2): 281-289.
- [32] ZARJOU A, JENEY V, AROSIO P, et al. Ferritin prevents calcification and osteoblastic differentiation of vascular smooth muscle cells[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(6): 1254-1263.
- [33] BECS G, ZARJOU A, AGARWAL A, et al. Pharmacological induction of ferritin prevents osteoblastic transformation of smooth muscle cells[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(2): 217-230.
- [34] YAN H F, ZOU T, TUO Q Z, et al. Ferroptosis: mechanisms and links with diseases [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 49.
- [35] LU S, WANG X Z, HE C, et al. ATF3 contributes to brucine-triggered glioma cell ferroptosis via promotion of hydrogen peroxide and iron[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, 42(10): 1690-1702.
- [36] ZHOU B, LIU J, KANG R, et al. Ferroptosis is a type of autophagy-dependent cell death [J]. *Semin Cancer Biol*, 2020, 66: 89-100.
- [37] BROWN C W, CHHOY P, MUKHOPADHYAY D, et al. Targeting prominin 2 transcription to overcome ferroptosis resistance in cancer [J]. *EMBO Mol Med*, 2021, 13(8): e13792.
- [38] DUAN J Y, LIN X, XU F, et al. Ferroptosis and its potential role in metabolic diseases: a curse or revitalization[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 701788.
- [39] HAN X, MA W, ZHU Y, et al. Advanced glycation end products enhance macrophage polarization to the M1 phenotype via the HIF-1 α /PDK4 pathway[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2020, 514: 110878.
- [40] MOKAS S, LARIVIERE R, LAMALICE L, et al. Hypoxia-inducible factor-1 plays a role in phosphate-induced vascular smooth mus-

- cle cell calcification[J]. *Kidney Int*, 2016, 90(3): 598-609.
- [41] SCHOFIELD C J, RATCLIFFE P J. Oxygen sensing by HIF hydroxylases[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5(5): 343-354.
- [42] KAEHLIN W G J R, RATCLIFFE P J. Oxygen sensing by metazoans; the central role of the HIF hydroxylase pathway[J]. *Mol Cell*, 2008, 30(4): 393-402.
- [43] LINDMAN B R, CLAVAL M A, MATHIEU P, et al. Calcific aortic stenosis[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16007.
- [44] STEINER I, KASPAROVA P, KOHOUT A, et al. Bone formation in cardiac valves: a histopathological study of 128 cases[J]. *Virchows Archiv*, 2007, 450(6): 653-657.
- [45] TUCUREANU M M, FILIPPI A, ALEXANDRU N, et al. Diabetes-induced early molecular and functional changes in aortic heart valves in a murine model of atherosclerosis[J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2019, 16(6): 562-576.
- [46] YUTZEY K E, DEMER L L, BODY S C, et al. Calcific aortic valve disease: a consensus summary from the Alliance of Investigators on Calcific Aortic Valve Disease[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(11): 2387-2393.
- [47] GARSIDE V C, CULLUM R, ALDER O, et al. SOX9 modulates the expression of key transcription factors required for heart valve development[J]. *Development*, 2015, 142(24): 4340-4350.
- [48] HUK D J, AUSTIN B F, HORNE T E, et al. Valve endothelial cell-derived TGF β 1 signaling promotes nuclear localization of Sox9 in interstitial cells associated with attenuated calcification[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(2): 328-338.
- [49] CHENG A, GENEVER P G. SOX9 determines RUNX2 transactivity by directing intracellular degradation[J]. *J Bone Miner Res*, 2010, 25(12): 2680-2689.
- [50] SIMÃO M, GAVAIA P J, CAMACHO A, et al. Intracellular iron uptake is favored in HFE-KO mouse primary chondrocytes mimicking an osteoarthritis-related phenotype[J]. *Biofactors*, 2019, 45(4): 583-597.
- [51] WANG P, GUO C, PAN H, et al. Iron sucrose: a double-edged sword in high phosphate media-induced vascular calcification[J]. *Calcif Tissue Int*, 2021, 108(6): 798-807.
- [52] LAGUNA-FERNANDEZ A, CARRACEDO M, JEANSON G, et al. Iron alters valvular interstitial cell function and is associated with calcification in aortic stenosis[J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(47): 3532-3535.
- [53] MORVAN M, ARANGALAGE D, FRANCK G, et al. Relationship of iron deposition to calcium deposition in human aortic valve leaflets[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2019, 73(9): 1043-1054.
- [54] SIKURA K É, POTOR L, SZERAFIN T, et al. Potential role of H-ferritin in mitigating valvular mineralization[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(3): 413-431.
- [55] BALOGH E, CHOWDHURY A, ABABNEH H, et al. Heme-mediated activation of the Nr2f2/HO-1 axis attenuates calcification of valve interstitial cells[J]. *Biomedicines*, 2021, 9(4): 427.
- [56] GE Q, RUAN C C, MA Y, et al. Osteopontin regulates macrophage activation and osteoclast formation in hypertensive patients with vascular calcification[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40253.
- [57] QIAO J H, MISHRA V, FISHBEIN M C, et al. Multinucleated giant cells in atherosclerotic plaques of human carotid arteries: identification of osteoclast-like cells and their specific proteins in artery wall[J]. *Exp Mol Pathol*, 2015, 99(3): 654-662.
- [58] BLEYER A J, BURKART J, PIAZZA M, et al. Changes in cardiovascular calcification after parathyroidectomy in patients with ESRD[J]. *Am J Kidney Dis*, 2005, 46(3): 464-469.
- [59] SIMPSON C L, LINDLEY S, EISENBERG C, et al. Toward cell therapy for vascular calcification: osteoclast-mediated demineralization of calcified elastin[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2007, 16(1): 29-37.
- [60] SIMPSON C L, MOSIER J A, VYAVAHARE N R. Osteoclast-mediated cell therapy as an attempt to treat elastin specific vascular calcification[J]. *Molecules*, 2021, 26(12): 3643.
- [61] ITOU T, MALDONADO N, YAMADA I, et al. Cystathionine γ -lyase accelerates osteoclast differentiation: identification of a novel regulator of osteoclastogenesis by proteomic analysis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(3): 626-634.
- [62] BYON C H, SUN Y, CHEN J, et al. Runx2-upregulated receptor activator of nuclear factor κ B ligand in calcifying smooth muscle cells promotes migration and osteoclastic differentiation of macrophages[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(6): 1387-1396.
- [63] DAWODU D, PATECKI M, HEGERMANN J, et al. oxLDL inhibits differentiation and functional activity of osteoclasts via scavenger receptor: a mediated autophagy and cathepsin K secretion[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 11604.
- [64] LEI Y, IWASHITA M, CHOI J, et al. N-acetylglucosamine-1-phosphate transferase suppresses lysosomal hydrolases in dysfunctional osteoclasts: a potential mechanism for vascular calcification[J]. *J Cardiovasc Dev Dis*, 2015, 2(2): 31-47.
- [65] NI S, YUAN Y, QIAN Z, et al. Hypoxia inhibits RANKL-induced ferritinophagy and protects osteoclasts from ferroptosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 169: 271-282.
- [66] MENG X, WIELOCKX B, RAUNER M, et al. Hypoxia-inducible factors regulate osteoclasts in health and disease[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 658893.
- [67] FUHRMANN D C, MONDORF A, BEIFUß J, et al. Hypoxia inhibits ferritinophagy, increases mitochondrial ferritin, and protects from ferroptosis[J]. *Redox Biol*, 2020, 36: 101670.

(此文编辑 文玉珊)