

本文引用: 杨阳, 姚智超, 霍丽蓉. 程序性细胞死亡相关途径调控血管钙化[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(12): 1098-1104. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.12.013.

· 文献综述 ·

[文章编号] 1007-3949(2023)31-12-1098-07

程序性细胞死亡相关途径调控血管钙化

杨阳, 姚智超, 霍丽蓉

(首都医科大学附属复兴医院中心实验室, 北京市 100038)

[摘要] 血管钙化具有年龄依赖性, 与心血管全因死亡率密切相关。目前越来越多的证据表明新型程序性细胞死亡方式包括铁死亡、焦亡、自噬等在血管钙化发生过程中起重要作用。该综述介绍了细胞程序性死亡的分子机制及其与血管钙化间的相互关系, 阐述了通过调控细胞死亡途径关键分子抗血管钙化的证据。

[关键词] 程序性细胞死亡; 血管钙化; 细胞凋亡; 细胞焦亡; 细胞自噬; 铁死亡

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Programmed cell death related pathways regulate vascular calcification

YANG Yang, YAO Zhichao, HUO Lirong

(Central Laboratory, Fuxing Hospital, Capital Medical University, Beijing 100038, China)

[ABSTRACT] Vascular calcification is age dependent and a risk factor for cardiovascular all-cause mortality. Recently, growing evidences have shown that novel forms of programmed cell death including ferroptosis, pyroptosis, and autophagy play an important role in the development of vascular calcification. This review introduces the molecular mechanism of programmed cell death and its relationship with vascular calcification, elucidates the evidence of anti-vascular calcification by regulating the cell death pathway key molecules.

[KEY WORDS] programmed cell death; vascular calcification; apoptosis; pyroptosis; autophagy; ferroptosis

血管钙化(vascular calcification, VC)可以导致血管僵硬和脆弱, 血流动力学受损^[1]。血管钙化与骨形成过程类似, 最初被认为是被动过程, 最近的研究表明血管钙化是由一系列分子信号通路介导的主动调节过程。血管钙化可能发生在心血管系统的不同部位, 包括瓣膜、内膜、中膜, 最常见的类型是中膜钙化, 多见于慢性肾脏病、糖尿病。中膜钙化是局部炎症和血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)向骨软骨谱系诱导衰老转分化的结果^[2]。血管钙化可以导致不良的临床结果, 包括主动脉瓣硬化、主动脉瓣狭窄、血管闭塞病变以及动脉粥样硬化斑块^[3]。程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)包括了在发育和组织稳态中的经典凋亡, 以及在外源性或内源性微环境中发生的其他形式, 如焦亡、自噬、铁死亡等^[4]。本综述总结了多种PCD途径在血管钙化发生发展中的作

用(图1), 以期在血管钙化的预防和治疗寻找潜在的靶向药物。

1 细胞凋亡与血管钙化

细胞凋亡是目前研究最深入的PCD形式, 生理条件下的细胞死亡主要是通过凋亡进行的。凋亡是一种非炎症性的过程, 表现为一系列的形态学改变^[5]。细胞凋亡的两条途径包括线粒体参与的内在途径, 也称为Bcl-2调控途径, 以及死亡受体启动的外在途径^[6]。Bcl-2家族包括促凋亡BH3-only成员(Bim、Bid、Puma、Noxa、Hrk、Bmf和Bad)、促凋亡效应分子(Bax、Bak)和抗凋亡Bcl-2家族蛋白(Bcl-2、Bcl-xL、Bcl-B)^[7]。细胞凋亡的线粒体途径由各种刺激触发, 如细胞生长因子缺失、内质网应激、细胞缺氧诱导促凋亡成员BH3-only成员的转录和翻译

[收稿日期] 2023-03-09

[修回日期] 2023-04-22

[基金项目] 北京市自然科学基金项目(7182065)

[作者简介] 杨阳, 硕士研究生, 研究方向为神经系统疾病的发病机制及治疗措施, E-mail: yy15310529575@163.com。通信作者霍丽蓉, 博士后, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为神经系统疾病的发病机制及治疗措施, E-mail: huolir@ccmu.edu.com。

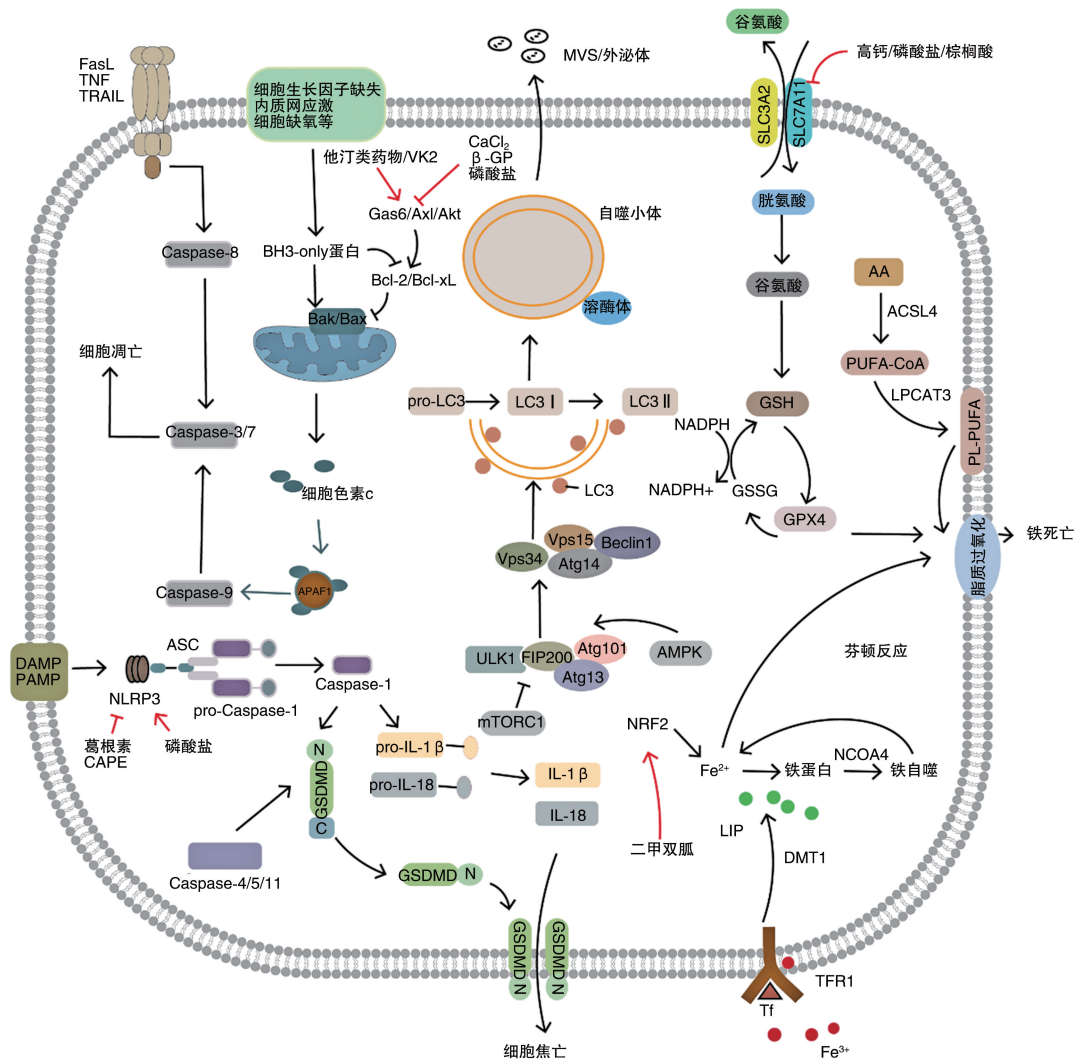


图 1. 多种细胞死亡途径调控血管钙化及潜在治疗靶点

磷酸盐、β-GP、CaCl₂ 通过抑制 Gas6/Axl/Akt 通路使 Bcl-2 失活而导致 VSMC 凋亡, VK2 和他汀类药物通过激活 Gas6/Axl/Akt 通路抑制 VSMC 凋亡而减少钙化。磷酸盐可通过一系列信号途径诱导 NLRP3 炎症小体的激活, 诱导 Caspase-1 的激活并上调 IL-1β 和 IL-18 水平而促进炎症反应, 或切割 GSDMD, 释放 N 端产生膜孔导致 VSMC 裂解而发生焦亡, 促进钙化。葛根素和 CAPE 通过抑制 NLRP3、Caspase-1 和 IL-1β 的表达抑制炎症反应和阻止 VSMC 焦亡。典型的巨自噬过程始于自噬激活剂诱导的起始, 成核、延伸/闭合、融合, 最后降解/再循环。溶酶体功能障碍可以引起细胞内钙和磷酸盐的稳态失调, 成骨细胞中的含钙 MV 分泌增加而加重血管钙化。高钙和磷酸盐、棕榈酸抑制 SLC7A11/GSH/GPX4 轴导致 VSMC 发生铁死亡而促进血管钙化。二甲双胍激活 Nrf2 信号, 调节胞内铁离子代谢增加 VSMC 抗氧化能力而抑制铁死亡的发生。以不同细胞死亡途径中的特定分子为靶点的潜在治疗药物以红色显示。

Figure 1. Cell death pathways involved in VC and potential therapeutic targets

后上调。激活的 BH3-only 蛋白使促凋亡蛋白 Bax 转位到外膜, 并和 Bak 集中于亚线粒体点状灶^[8], 使外膜通透化并诱导细胞色素 c、线粒体 Caspase 激活剂和 HTRA 丝氨酸蛋白酶 2 等凋亡因子的释放。胞质凋亡蛋白酶激活因子 1 (apoptotic protease activating factor-1, APAF1) 能感知细胞色素 c 的释放, 与之结合后触发 APAF1 寡聚化形成凋亡体^[9-10], 辅助因子 APAF1 激活 Caspase-9 进而促进下游执行者 Caspase-3 和 Caspase-7 的激活^[11]。外源性凋亡可

在质膜死亡受体信号下游参与, 包括 TNF 与 TNFR1/2 结合、FasL-Fas 相互作用或 TRAIL-TRAIL-R 激活^[12]。膜受体与可溶性受体凋亡的外源性途径是由细胞外配体触发的, 如 FasL 和 TRAIL, 它们以常规方式与跨膜受体的胞外结构域结合, 外源性凋亡需要募集 Fas 相关的死亡结构域, 通过形成 Caspase-8 同源二聚体激活 Caspase-8, Caspase-8 可直接激活 Caspase-3/7, 从而发生细胞凋亡^[13]。经任一途径激活的效应分子均可诱导特征性的凋亡

形态,包括直接或间接激活 ROCK-1 激酶致肌动蛋白收缩引起的膜泡化,以及激活的 DNA 酶衍生的 DNA 裂解和核浓缩。

细胞凋亡是无机磷酸盐摄取的途径之一,其作用主要通过钠依赖的磷酸盐协同转运蛋白而实现^[14],有研究发现在软结缔组织(如钙化性瓣膜狭窄、动脉粥样硬化)中发现了基质囊泡,基质囊泡被认为在形成骨骼和矿化软骨的过程中启动钙化,并可能通过充当成核结节促进钙晶体形成^[15]。磷酸盐是 VSMC 钙化的诱导剂,磷酸盐复合物能够激活促钙化的细胞内信号通路^[16]。在对磷酸盐的反应中,许多上游信号级联反应最终也可导致 VSMC 促凋亡信号通路的激活,在此过程中 Gas6/Axl/Akt 信号通路是 Pi 诱导钙化的关键。Qiu 等^[17]用免疫荧光等检测方法证实 CaCl₂ 和 β -甘油磷酸钠(β -glycerophosphate, β -GP)抑制 Gas6/Axl/Akt 抗凋亡通路,导致钙化。维生素 K2(vitamin K2, VK2)显著抑制 CaCl₂ 和 β -GP 诱导的 VSMC 钙化和凋亡,该作用依赖于 Gas6 的表达,并通过 Axl、p-Akt 和 Bcl-2 激活下游信号,明确了 Gas6 在 VK2 介导的通过阻断细胞凋亡减轻 CaCl₂ 和 β -GP 诱导的 VSMC 钙化的功能中至关重要。Son 等^[18]研究表明 PI3K 诱导 Akt 磷酸化从而激活 Bcl-2,进而导致 Bcl-2 相关死亡启动子 Bad 和 Caspase-3 失活,磷酸盐降低 VSMC 中 Gas6 和 Axl 的表达。他汀类药物通过激活 Gas6/Axl 通路阻止细胞凋亡从而抑制磷酸盐诱导的 HASMC 钙化,并且 Akt 是 Gas6 介导的 VSMC 存活的关键下游信号分子^[19]。由此提示 Gas6/Axl/Akt 抗凋亡通路在抑制血管钙化的发生发展中有关键性作用。

2 细胞焦亡与血管钙化

细胞焦亡是一种受调控的细胞死亡的促炎形式^[20]。细胞焦亡信号通路可以通过 Caspase-1 依赖的经典途径或 Caspase-4/5/11 活化的非经典途径进行启动。在依赖 Caspase-1 经典细胞焦亡信号通路中,炎症小体的组装是细胞焦亡经典途径的起始步骤^[21]。细胞识别多种应激原后,如损伤相关分子模式(damage-associated molecular pattern, DAMP)、病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular pattern, PAMP)、尿酸晶体、毒素、磷酸盐等,发生炎症小体的组装。经典炎症小体通路由不同的胞质感应蛋白触发,感应蛋白可以检测一系列微生物刺

激和内生性危险信号,其中 NOD 样受体家族 pyrin 结构域 3(NOD-like receptor family pyrin domain-containing protein 3, NLRP3)通过接头蛋白(apoptosis associated speck-like protein containing a CARD, ASC)招募 pro-Caspase-1 单体发生二聚化而激活 Caspase-1, Caspase-1 有效触发下游组分介导细胞焦亡^[22-23]。细胞焦亡激活的关键步骤是 Gasdermin 裂解。Gasdermin 蛋白被 Caspase-1 切割为 N 端和 C 端片段。Gasdermin 的 N 端部分,通过插入细胞质的脂质双分子层和寡聚化在细胞膜中形成大小约为 10~14 nm 的孔隙来发挥成孔结构域的功能,孔道形成导致渗透失衡,最终导致细胞裂解^[24-25]。另外, Caspase-1 是一种 IL-1 β 转换酶, Caspase-1 被激活后会触发炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 的激活和分泌^[26]。在非经典细胞焦亡信号通路中,细菌脂多糖和胞内细菌导致 Caspase-4/5/11 激活而直接触发细胞焦亡。

细胞焦亡参与的血管钙化过程类似于骨骼发育,中膜钙化的发生与构成动脉壁的主要细胞 VSMC 密切相关。血管钙化是一种慢性炎症事件, Liu 等^[27]研究发现葛根素通过抑制血管炎症中 NLRP3、Caspase-1 和 IL-1 β 的表达显著抑制血管炎症中 NF- κ B 的激活。另有证据表明咖啡酸苯乙酯(caffeic acid phenethyl ester, CAPE)通过抑制 PI3K/Akt/ERK/NF- κ B/NLRP3 信号通路也可阻断主动脉瓣间质细胞的钙化^[28]。高糖可以通过上调 NLRP3 结合蛋白之一的硫氧还蛋白相互作用蛋白的表达来增加 IL-1 β 水平, Chen 等^[29]研究表明高糖介导的血管钙化主要与 Akt/ROS/NLRP3/Caspase-1/IL-1 β 轴的激活有关,该轴可诱导骨相关基质蛋白,如碱性磷酸酶、骨桥蛋白和骨钙素在 VSMC 中的表达。最新的研究表明,在 β -GP 诱导的小鼠 VSMC 钙化过程中,焦亡相关蛋白和细胞焦亡水平表达上调;进一步的研究发现,钙化 VSMC 中的细胞焦亡通路是由过量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生和 NLRP3 炎症小体激活的,并且,鸢尾素在体外和离体小鼠主动脉环中可有效抑制 β -GP 诱导的 VSMC 钙沉积。过表达 NLRP3 减弱鸢尾素对 VSMC 钙化的抑制作用^[30]。这些结果表明,调控 VSMC 焦亡可能是延缓血管钙化进展的一个有前景的途径, NLRP3 炎症小体响应 VSMC 焦亡的激活是血管钙化进展中的关键触发因素。因此,进一步研究 Caspase-1/IL-18/IL-1 β 调控的 VSMC 焦亡有助于阐明 NLRP3 炎症小体在血管钙化中的作用。另外, Gasdermin 家族在血管钙化中的确切作用尚不清楚,

能否通过靶向 Gasdermin 抑制 VSMC 焦亡从而减轻血管钙化还需要更多的研究证实。

3 细胞自噬与血管钙化

细胞自噬的特征是形成自噬体的双膜囊泡^[31]。应激反应中,如饥饿、氧化应激、缺氧、磷酸盐水平升高等,自噬水平可以作为细胞保护机制显著增加^[32]。启动阶段的关键分子是动物雷帕霉素靶蛋白(target of rapamycin, TOR)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)激酶。当 mTOR 复合物 1(mTOR complex 1, mTORC1)被抑制或腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)被激活时,最先发挥作用的是不协调 51 样激酶(uncoordinated-51-like kinase, ULK)复合物,由 200 kDa FAK 家族激酶相互作用蛋白(FAK family kinase-interacting protein of 200 kDa, FIP200)、Atg101、Atg13、ULK1 组成,ULK 复合物调节 Vps34 复合物的招募,该复合物可以产生自噬泡^[33]。在延伸阶段,微管相关蛋白轻链 3(microtubule-associated protein chain 3, LC3)前体经过一系列反应转变为 LC3 II,使自噬体拉长、闭合,形成自噬小体^[34]。最后,自噬体与溶酶体融合,内容物被降解,并释放到胞外。Beclin 1(Atg6)通过与其他自噬相关分子相互作用是对诱导自噬所必需的^[35-36]。

基质囊泡(matrix vesicle, MV)主要由 VSMC 和巨噬细胞在动脉粥样硬化条件下形成,这些囊泡富含无定形 Ca^{2+} 和 Pi 。自噬泡可以形成基质囊泡并释放到细胞外基质中,参与血管钙化的发生^[37]。Iwayama 等^[38]研究发现成骨细胞中含钙的基质囊泡通过溶酶体运输,并通过胞吐作用分泌。溶酶体功能障碍引起自噬体堆积增加和基质囊泡分泌增加可加重血管钙化。基质囊泡在钙和磷酸盐的调节中具有重要作用^[39]。此外,Chen 等^[40]研究发现磷酸钙沉淀诱导的自噬依赖于内吞作用。磷酸钙诱导的 LC3 阳性自噬体、半乳糖凝集素 3、泛素和 p62 共定位,然后与溶酶体标志物共定位,最终导致自噬循环的完成。Liu 等^[41]研究证实钙化动脉中存在纳米羟基磷灰石(nano-hydroxyapatite, nHAp),并观察到 nHAp 内化到 VSMC 中。nHAp 在体外刺激 VSMC 成骨分化和加速矿化,在体内增强动脉中的钙沉积。nHAp 阻断自噬流导致 VSMC 内自噬小体和自噬溶酶体聚集,转变成更多的含钙外泌体释放到胞外基质中。这些研究提示,靶向自噬-溶酶体途

径可能有助于控制血管钙化的发展。Zhang 等^[42]证明 lncRNA-ANCR 促进 β -GP 诱导的 VSMC 中 LC3 和 Atg5 的表达,可能通过激活自噬抑制 VSMC 成骨分化。另外有研究检测到自噬特异性标志物(LC3 II/LC3 I、Beclin 1)和成骨细胞表型特异性标志物在 β -GP 诱导的 VSMC 中升高,表明 miR-30b 可通过调节 mTOR 信号通路促进自噬,同时抑制血管钙化^[43]。总而言之,这些研究证实了自噬在血管钙化中的保护作用,并强调了自噬-溶酶体途径在调控 VSMC 自噬中的重要性,减少基质囊泡的释放是阻碍血管钙化进展的有效途径,而基质囊泡在血管钙化过程中的具体作用有待于进一步研究。

4 铁死亡与血管钙化

铁死亡是指脂质过氧化量过大引起质膜破裂的铁依赖性 PCD。细胞质膜中多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFA)的磷脂过氧化已被证明是铁死亡最主要的驱动因素^[44-45]。长链脂酰辅酶 A 合成酶 4(long-chain acyl-CoA synthetase 4, ACSL4)和溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶 3(lysophosphatidylcholine acyltransferase 3, LPCAT3)可将 PUFA 磷脂化^[46]。PUFA 被氧化之后生成的过氧化产物,在胞内蓄积最终导致铁死亡。 Fe^{3+} 进入细胞是通过转铁蛋白受体 1(transferrin receptor 1, TfR1)实现的,进入后还原为 Fe^{2+} , Fe^{2+} 在二价金属离子转运体(divalent metal transporter 1, DMT1)的介导下释放到不稳定铁池中。细胞内铁离子超载,经芬顿反应催化生成 ROS 和过氧化脂质,使细胞破坏而死亡^[47-48]。广泛的细胞内抗氧化机制也在调节铁死亡敏感性中发挥重要作用,细胞膜上的系统 Xc-是胱氨酸/谷氨酸逆向转运蛋白,含 2 个亚基(SLC3A2 和 SLC7A11),Xc-系统负责输入胱氨酸作为 GSH 合成的限速底物,以换取胞内谷氨酸。谷胱甘肽过氧化酶 4(glutathione peroxidase 4, GPX4)利用 GSH 作为还原辅因子,将 GSH 转变为 GSSG,从而抑制铁死亡^[49]。

目前在 VSMC 的研究中也发现铁依赖的脂质过氧化和炎症反应,铁的积累在 VSMC 中提供了一个促进泡沫细胞发育和增加斑块易损性的氧化环境,此外,铁刺激 VSMC 通过芬顿反应产生 ROS 应激,增加 IL-24 基因表达水平,从而引起 VSMC 表型转化和钙化^[50]。Ye 等^[51]研究表明钙和磷酸盐的沉

积在体外诱导大鼠 VSMC 中的铁死亡,并且在成骨诱导条件下 ferrostatin-1 可减轻大鼠 VSMC 中的矿物质沉积。基因表达分析显示,ferrostatin-1 抑制了大鼠 VSMC 的成骨转分化,从而抑制血管钙化。由 erastin 诱导的 GSH 耗竭明显促进了 VSMC 钙化,高钙和磷酸盐下调了 GPX4 的表达,RSL3 对 GPX4 的抑制促进了 VSMC 钙化。因此,在 CKD 条件下 SLC7A11/GSH/GPX4 轴的抑制促进血管钙化。Ma 等^[52]研究发现用棕榈酸处理 VSMC 引发铁死亡的同时伴随 VSMC 内钙沉积的增加,而 p53 的激活对于二甲双胍抗铁死亡效应至关重要,并且表明二甲双胍通过激活核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2-related factor 2, NRF2) 信号增强 VSMC 的抗氧化能力,减轻血管钙化。这些研究提示,通过抑制铁死亡脂质过氧化过程干预血管钙化可行,是抗钙化干预的一个新的治疗靶点。

5 结 语

各种细胞死亡方式有着不同的特点(表 1),细胞凋亡、细胞自噬、细胞焦亡、铁死亡参与了血管钙化的发生发展,虽然已有多种抑制剂或相关药物可以阻止这些类型的细胞死亡并减少血管钙化的发生,但这些方法并不适用于临床常规治疗,其可行性有待验证,不同的细胞死亡方式在血管钙化中相互调控的关系需要进一步探索。另外,目前关于铁死亡与血管钙化发病机制的关系的研究较少,其他新型死亡方式如铜死亡、溶酶体细胞死亡也参与血管钙化吗?尽管有足够的实验证据证明各种 PCD 参与血管钙化的发生,但治疗方面的研究较少,因此,不仅需要额外的研究来鉴定 PCD 途径中的新成分,还需要针对相关信号分子开发新的高特异性和低毒性的药物,为临床治疗提供新的契机。

表 1. 不同类型细胞死亡特点

Table 1. Characteristics of different types of cell death

细胞死亡类型	形态学特征	生物化学特征	关键调控通路
细胞凋亡	染色质浓缩,核碎裂,凋亡小体的形成	Caspase 活化级联反应	线粒体通路;死亡受体通路
细胞焦亡	质膜破裂,细胞内容物释放,线粒体完整性不受影响	Caspase-1 和 GSDMD 的激活, GSDMDN 诱导的膜孔形成,IL-1 β 的释放	NLRP3/Caspase-1/GSDMD 通路; Caspase-4/5/11/GSDMD 通路
细胞自噬	双层自噬泡的积累	自噬小体、自噬溶酶体的形成	PI3K/Akt/mTOR 通路; MAPK/ERK1/2/mTOR 通路
铁死亡	线粒体嵴减少或消失,线粒体外膜破裂;细胞核正常	脂质过氧化物大量积累	Nrf2/Keap1 通路

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] DURHAM A L, SPEER M Y, 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.
- [3] 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.
- [4] LIN X Y, OUYANG S Y, ZHI C X, et al. Focus on ferroptosis, pyroptosis, apoptosis and autophagy of vascular endothelial cells to the strategic targets for the treatment of atherosclerosis [J]. Arch Biochem Biophys, 2022, 715: 109098.
- [5] NAGATA S G K. Apoptosis and clearance of apoptotic cells [J]. Annu Rev Immunol, 2018, 36: 489-517.
- [6] RIEDL S J, SALVESEN G S. The apoptosome: signalling platform of cell death [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2007, 8(5): 405-413.
- [7] CZABOTAR P E, LESSENE G, STRASSER A, et al. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(1): 49-63.
- [8] O'NEILL K L, HUANG K, ZHANG J J, et al. Inactivation of pro-survival Bcl-2 proteins activates Bax/Bak through the outer mitochondrial membrane [J]. Genes Dev, 2016, 30(8): 973-988.
- [9] YUAN S J, AKEY C W. Apoptosome structure, assembly, and procaspase activation [J]. Structure, 2013, 21(4): 501-515.
- [10] VRINGER E, TAIT S W G. Mitochondria and cell death-

- associated inflammation[J]. *Cell Death Differ*, 2023, 30(2): 304-312.
- [11] MESSMER M N, SNYDER A G, OBERST A. Comparing the effects of different cell death programs in tumor progression and immunotherapy [J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(1): 115-129.
- [12] D'ARCY M S. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy [J]. *Cell Biol Int*, 2019, 43(6): 582-592.
- [13] DICKENS L S, POWLEY I R, HUGHES M A, et al. The 'complexities' of life and death: death receptor signalling platforms[J]. *Exp Cell Res*, 2012, 318(11): 1269-1277.
- [14] CHAVKIN N W, CHIA J J, CROUTHAMEL M H, et al. Phosphate uptake-independent signaling functions of the type III sodium-dependent phosphate transporter, PiT-1, in vascular smooth muscle cells[J]. *Exp Cell Res*, 2015, 333(1): 39-48.
- [15] PROUDFOOT D, SKEPPER J N, HEGYI L, et al. Apoptosis regulates human vascular calcification *in vitro*: evidence for initiation of vascular calcification by apoptotic bodies[J]. *Circ Res*, 2000, 87(11): 1055-1062.
- [16] DAUTOVA Y, KAPUSTIN A N, PAPPERT K, et al. Calcium phosphate particles stimulate interleukin-1 β release from human vascular smooth muscle cells; a role for spleen tyrosine kinase and exosome release[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 115: 82-93.
- [17] QIU C T, ZHENG H J, TAO H R, et al. Vitamin K2 inhibits rat vascular smooth muscle cell calcification by restoring the Gas6/Axl/Akt anti-apoptotic pathway[J]. *Mol Cell Biochem*, 2017, 433(1): 149-159.
- [18] SON B K, KOZAKI K, IJIMA K, et al. Gas6/Axl-PI3K/Akt pathway plays a central role in the effect of statins on inorganic phosphate-induced calcification of vascular smooth muscle cells[J]. *Eur J Pharmacol*, 2007, 556(1/3): 1-8.
- [19] SON B K, KOZAKI K, IJIMA K, et al. Statins protect human aortic smooth muscle cells from inorganic phosphate-induced calcification by restoring Gas6-Axl survival pathway[J]. *Circ Res*, 2006, 98(8): 1024-1031.
- [20] SHI A A, GAO W Q, SHAO F. Pyroptosis: gasdermin-mediated programmed necrotic cell death[J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(4): 245-254.
- [21] STANCU I C, CREMERS N, VANRUSSELT H, et al. Aggregated Tau activates NLRP3-ASC inflammasome exacerbating exogenously seeded and non-exogenously seeded Tau pathology *in vivo* [J]. *Acta Neuropathol*, 2019, 137(4): 599-617.
- [22] ROSS C, CHAN A H, VON PEIN J B, et al. Inflammatory caspases: toward a unified model for caspase activation by inflammasomes[J]. *Annu Rev Immunol*, 2022, 40: 249-269.
- [23] LEU S Y, TSANG Y L, HO L C, et al. NLRP3 inflammasome activation, metabolic danger signals, and protein binding partners[J]. *J Endocrinol*, 2023, 257(2): e220184.
- [24] SHAO S, CHEN C J, SHI G N, et al. Therapeutic potential of the target on NLRP3 inflammasome in multiple sclerosis[J]. *Pharmacol Ther*, 2021, 227: 107880.
- [25] WU J N, RAMAN A, COFFEY N J, et al. The key role of NLRP3 and Sting in APOL1-associated podocytopathy [J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(20): e136329.
- [26] GAO W Q, LI Y Y, LIU X H, et al. TRIM21 regulates pyroptotic cell death by promoting gasdermin D oligomerization[J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(2): 439-450.
- [27] LIU H L, ZHANG X L, ZHONG X L, et al. Puerarin inhibits vascular calcification of uremic rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 855: 235-243.
- [28] LIU M, LI F, HUANG Y M, et al. Caffeic acid phenethyl ester ameliorates calcification by inhibiting activation of the AKT/NF- κ B/NLRP3 inflammasome pathway in human aortic valve interstitial cells[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 826.
- [29] CHEN T C, YEN C K, LU Y C, et al. The antagonism of 6-shogaol in high-glucose-activated NLRP3 inflammasome and consequent calcification of human artery smooth muscle cells[J]. *Cell Biosci*, 2020, 10: 5.
- [30] PANG Q, WANG P W, PAN Y J, et al. Irisin protects against vascular calcification by activating autophagy and inhibiting NLRP3-mediated vascular smooth muscle cell pyroptosis in chronic kidney disease[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(3): 283.
- [31] YANG Z F, KLIONSKY D J. Mammalian autophagy: core molecular machinery and signaling regulation [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22(2): 124-131.
- [32] BOYA P, REGGIORI F, CODOGNO P. Emerging regulation and functions of autophagy [J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(7): 713-720.
- [33] GALLUZZI L, GREEN D R. Autophagy-independent functions of the autophagy machinery [J]. *Cell*, 2019, 177(7): 1682-1699.
- [34] ROMANOV J, WALCZAK M, IBIRICU I, et al. Mechanism and functions of membrane binding by the Atg5-Atg12/Atg16 complex during autophagosome formation[J]. *EMBO J*, 2012, 31(22): 4304-4317.
- [35] TAKAHASHI Y, COPPOLA D, MATSUSHITA N, et al. Bif-1 interacts with Beclin 1 through UVRAG and regulates autophagy and tumorigenesis[J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(10): 1142-1151.
- [36] TAKAHASHI Y, MEYERKORD C L, WANG H G. Bif-1/endophilin B1: a candidate for crescent driving force in

- autophagy[J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16(7): 947-955.
- [37] GOLUB E E. Biom mineralization and matrix vesicles in biology and pathology[J]. *Semin Immunopathol*, 2011, 33(5): 409-417.
- [38] IWAYAMA T, OKADA T, UEDA T, et al. Osteoblastic lysosome plays a central role in mineralization [J]. *Sci Adv*, 2019, 5(7): eaax0672.
- [39] PHADWAL K, FENG D, ZHU D X, et al. Autophagy as a novel therapeutic target in vascular calcification [J]. *Pharmacol Ther*, 2020, 206: 107430.
- [40] CHEN X, KHAMBU B, ZHANG H, et al. Autophagy induced by calcium phosphate precipitates targets damaged endosomes[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(16): 11162-11174.
- [41] LIU Q, LUO Y, ZHAO Y, et al. Nano-hydroxyapatite accelerates vascular calcification via lysosome impairment and autophagy dysfunction in smooth muscle cells [J]. *Bioact Mater*, 2022, 8: 478-493.
- [42] ZHANG X, CHEN J, MENG Q, et al. The protective effects of long non-coding RNA-ANCR on arterial calcification[J]. *J Bone Miner Metab*, 2020, 38(4): 421-431.
- [43] XU T H, QIU X B, SHENG Z T, et al. Restoration of microRNA-30b expression alleviates vascular calcification through the mTOR signaling pathway and autophagy[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 14306-14318.
- [44] FRIEDMANN A J P, XAVIER DA SILVA T N, SCHILLING B. CD8⁺T cells PUF(A) in the flames of cancer ferroptotic cell death[J]. *Cancer Cell*, 2022, 40(4): 346-348.
- [45] SUN Y T, CHEN P, ZHAI B T, et al. The emerging role of ferroptosis in inflammation[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 127: 110108.
- [46] LIANG D G, MINIKES A M, JIANG X J. Ferroptosis at the intersection of lipid metabolism and cellular signaling [J]. *Mol Cell*, 2022, 82(12): 2215-2227.
- [47] SAITO Y. Lipid peroxidation products as a mediator of toxicity and adaptive response: the regulatory role of selenoprotein and vitamin E[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2021, 703: 108840.
- [48] FANG X X, ARDEHALI H, MIN J X, et al. The molecular and metabolic landscape of iron and ferroptosis in cardiovascular disease[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2023, 20(1): 7-23.
- [49] QIU Y M, CAO Y, CAO W J, et al. The application of ferroptosis in diseases [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 159: 104919.
- [50] 廖韦, 夏梦蝶, 向琼, 等. 铁死亡在心力衰竭中的研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2022, 30(9): 821-828.
- LIAO W, XIA M D, XIANG Q, et al. Research progress of ferroptosis in heart failure [J]. *Chin J Arterioscler*, 2022, 30(9): 821-828.
- [51] YE Y Z, CHEN A, LI L, et al. Repression of the antiporter SLC7A11/glutathione/glutathione peroxidase 4 axis drives ferroptosis of vascular smooth muscle cells to facilitate vascular calcification [J]. *Kidney Int*, 2022, 102(6): 1259-1275.
- [52] 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.

(此文编辑 文玉珊)