

血管生成素样蛋白 2 促进 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化内膜钙化

杨洪强, 朱 杰, 王中群, 丁英鹏, 张薪茹, 杜荣增

(江苏大学附属医院心内科, 江苏省镇江市 212001)

[关键词] 血管生成素样蛋白 2; ApoE^{-/-} 小鼠; 内膜钙化; 动脉粥样硬化

[摘要] **目的** 探讨血管生成素样蛋白 2(Angptl2)对 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化内膜钙化的影响。**方法** 12 只 6 周龄雄性 ApoE^{-/-} 小鼠随机分为对照组与干预组, 每组 6 只, 对照组小鼠予以高脂饮食, 干预组小鼠在高脂饮食的基础上在第 8 周予以静脉注射人重组 Angptl2 蛋白, 每周一次, 持续 1 个月。两组小鼠高脂饮食喂养至 16 周龄时处死, 测定血清脂质水平, HE 染色观察主动脉组织形态学变化; von Kossa 染色观察主动脉钙化, 测定血管钙含量和碱性磷酸酶活性判断血管钙化程度; 分别用免疫组织化学法、Western Blot、实时定量 PCR(qRT-PCR)检测血管 Runx2(核心结合因子 $\alpha 1$) 蛋白和 mRNA 的表达。**结果** 干预组小鼠血清甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)及低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平显著高于对照组($P < 0.05$); 血管壁 Runx2 表达水平较对照组显著升高($P < 0.05$); 对照组小鼠主动脉可见粥样硬化斑块, von Kossa 染色斑块内未见明显黑色钙盐沉积, 而干预组小鼠主动脉 HE 染色可见内膜较对照组显著增厚, 有典型的动脉粥样硬化斑块形成, 且 von Kossa 染色斑块灶状黑色钙化团块较对照组显著增强; 干预组小鼠主动脉血管壁钙含量和碱性磷酸酶活性均明显高于对照组($P < 0.05$)。**结论** Angptl2 会使高脂饮食 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉血清 TG、TC、LDL-C 水平及 Runx2 的表达水平增高, 同时增加小鼠主动脉中钙含量及血清中碱性磷酸酶活性, 促进小鼠动脉粥样硬化内膜的钙化。Angptl2 可促进动脉粥样硬化内膜的钙化, 控制和降低血浆中 Angptl2 的水平似乎可以抑制动脉粥样硬化的钙化, 从而为临床预防冠心病的发生发展及治疗提供了一种新的靶标。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Angiopoietin-Like 2 Promotes Atherosclerotic Calcification in Aortic Artery ApoE^{-/-} Mice

YANG Hong-Qiang, ZHU Jie, WANG Zhong-Qun, DING Ying-Peng, ZHANG Xin-Ru, and DU Rong-Zeng

(Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212001, China)

[KEY WORDS] Angiopoietin-Like 2; ApoE^{-/-} Mice; Intimal Calcification; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To assess the effects of angiopoietin-like 2 (Angptl2) on atherosclerotic calcification in aortic artery of ApoE^{-/-} mice. **Methods** Twelve 6-week-old male mice were randomly divided into control group ($n = 6$) and interventional group ($n = 6$), the control group were fed with high fat diet and the interventional group were fed with high fat diet and at the eighth week interventional group mice were infused (intravenously) with purified recombinant Angptl2 once a week for one month. All mice were sacrificed when the mice were 16 weeks old, blood was collected and plasma triglyceride (TG), total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDLC) were measured, aortic sections were stained with hematoxylin and eosin (HE) or von kossa and were observed under microscope. Calcium content and alkaline phosphatase activity of aorta were measured to measure the degree of vascular calcification. The expressions of Runx2 protein and mRNA levels in aortic sections of mice were detected by immunohistochemistry, Western Blot and qRT-PCR respectively. **Results** The plasma TG, TC and LDL-C level in interventional group was significantly higher than that in control group and the expression of Runx2 in aortic had the similar results. HE staining demonstrated significant thickening of the intima, with typical

[收稿日期] 2014-10-30

[修回日期] 2015-01-26

[基金项目] 国家自然科学基金(81370408); 江苏省自然科学基金(BK20131246); 镇江市 2011 年度科技计划项目(SH2011024); 镇江市社会发展项目(SH2013024)

[作者简介] 杨洪强, 硕士研究生, E-mail 为 673837412@163.com。王中群, 博士, 讲师, 硕士研究生导师, 主要从事动脉粥样硬化的基础与临床研究, E-mail 为 wangtsmc@aliyun.com。通讯作者杜荣增, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事冠心病、电生理的基础与临床研究, E-mail 为 adu309@sohu.com。

atherosclerotic plaque formation in interventional group mice, and von Kossa staining showed spotty black clumps of aortic calcification under the fibrous cap plaque, while control group had atherosclerotic plaques without significant calcium deposits formation; The quantitative analysis showed that aortic vascular wall calcium and alkaline phosphatase activity were significantly higher in the intervention group than that of the control group ($P < 0.01$). **Conclusions** Angptl2 could increase ApoE^{-/-} mice plasma lipid level, it also facilitate the expression of Runx2, calcium content and ALP activity in aortic and then accelerate atherosclerotic calcification. Our experiments demonstrated that Angptl2 could accelerate atherosclerotic calcification. It reminded us that by controlling or decreasing the Angt2 level in plasma could help inhibit atherosclerotic calcification and then provides a new target to prevent coronary heart disease.

血管钙化可降低糖尿病、肾病及老年人血管的顺应性并导致患者死亡率增加,有学者认为动脉钙化程度是预测心血管死亡率的最佳指标之一^[1]。目前认为,炎症反应在动脉粥样硬化的进展乃至血管钙化形成过程中起着重要的作用^[2],但血管钙化具体病理生理机制尚未彻底阐明。血管生成素样蛋白 2(angiotensin-like proteins 2, Angt2)是新近发现的血管生成素样蛋白家族中的一员,是一种循环糖蛋白,广泛分布于心血管、肺、肾脏、脂肪组织、骨骼肌等组织器官中^[3]。Nada Fafhat 等^[4]研究表明 Angt2 可诱导白细胞及巨噬细胞向血管壁聚集,促进肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等炎症因子分泌及升高循环血液胆固醇水平从而加速动脉粥样硬化形成过程中粥样斑块的形成。而 Angt2 作为一个强力的促炎因子是否能促进动脉粥样硬化内膜钙化的生成尚未见文献报道,本研究旨在了解 Angt2 对 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉粥样硬化内膜钙化的影响。

1 材料与方法

1.1 主要材料

12 只 6 周龄雄性 ApoE^{-/-} 小鼠,购自北京大学医学部实验动物中心(批号为 SCXK(京) 2011-0012);高脂饲料(15% 脂肪,1.25% 胆固醇,0.5% 胆酸)购自江苏省协同医药生物工程有限公司;重组 Angt2 蛋白购自美国 R&D 公司;Trizol mRNA 提取液购自 Sangon 公司。Runx2(核心结合因子 $\alpha 1$, core-binding factor $\alpha 1$) 抗体购自 Proteintech Group 公司;逆转录试剂盒购自 TaKaRa 公司;PCR 上下游引物由上海捷瑞生物公司合成;羊抗兔 HRP 标记的二抗购自康为试剂公司;von Kossa 染色试剂盒购自上海杰美基因公司;钙离子检测试剂盒,蛋白定量试剂盒和碱性磷酸酶活性检测试剂盒均购自美国博世(BioAssay Systems)生物技术公司。

1.2 实验动物分组及标本收集

12 只 6 周龄雄性 ApoE^{-/-} 小鼠,饲养于无特定

病原体(SPF)屏障内,环境温度 19~22℃,相对湿度 50%~70%,小鼠自由摄食及饮水。小鼠予普通饲料适应性喂养 1 周后予以高脂饲料,小鼠随机分为两组即对照组($n = 6$)和干预组($n = 6$)。干预组小鼠在喂食高脂饮食的基础上在第 8 周时予以人重组 Angt2 100 μg 静脉注射,对照组予以生理盐水 100 μg 静脉注射,均为每周一次,连续 4 周。于实验第 16 周时,所有小鼠禁食 12 h,1% 戊巴比妥 0.5~1.0 mL 腹腔麻醉,眼眶采血,3 kr/min 离心 10 min,分离血清后行安乐死。将主动脉根部至主动脉弓血管取出,部分主动脉去除外膜脂肪组织后用 10% 中性甲醛固定,石蜡包埋后切片,用于 HE 染色和免疫组织化学分析。部分主动脉置于干净 EP 管中,-70℃ 冰箱冻存备用 Western Blot 和 qRT-PCR。

1.3 ApoE^{-/-} 小鼠血清脂质水平检测

ApoE^{-/-} 小鼠经眼眶采血后,室温静置 1 h,4℃ 下 3 kr/min 离心 10 min,分离血清,用 BECKMAN COULTER Au2700 全自动生物化学仪分析甘油三酯(triglyceride, TG)、血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)和低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)水平。

1.4 主动脉 HE 染色及 Von Kossa 染色

取小鼠主动脉血管,10% 中性甲醛固定,常规石蜡包埋连续切片,常规脱蜡、脱水后行苏木素-伊红染色(HE 染色),于光镜下观察拍照。Von Kossa 染色:取小鼠主动脉石蜡切片,石蜡切片脱蜡脱水后,按试剂盒操作说明置于 2% 硝酸银溶液中,强阳光线下直射 40 min 后用蒸馏水冲洗 3 遍,吸净蒸馏水后用 5% 硫代硫酸钠溶液定影处理 2 min,再次用蒸馏水冲洗 3 min,中性品红复染 3 min,经脱水、透明、封片后,于光镜下观察主动脉钙盐沉积情况。

1.5 小鼠主动脉组织钙含量及碱性磷酸酶活性测定

(1) 钙含量测定:取 -70℃ 贮存的主动脉组织(5

mg 左右),烘干后加入 1 mmol/L 稀盐酸于 37℃ 环境中脱钙 12 h,按试剂盒说明测定钙含量,以 BCA 法测定蛋白含量,最后以蛋白含量标化钙含量。(2)碱性磷酸酶(alkaline phosphatase,ALP)活性测定:取主动脉组织(约 5 mg)制备匀浆,加入磷酸盐缓冲液后 12000 g 离心 10 min,取上清用 BCA 试剂盒进行蛋白定量检测,余下部分按试剂盒操作说明测定 ALP 活性,最后用蛋白含量标化 ALP 活性。

1.6 qRT-PCR 及 Western Blot 检测 Runx2 表达

1.6.1 qRT-PCR 检测 -70℃ 冰冻的颈动脉置于冰上研磨后提取总 RNA,按试剂盒操作说明进行扩增,Runx2 上游引物为 5'-AAG TGT TCT GTG GTC TCT GAG TTGA-3',下游引物为 5'-GCT GTA TGG TGA GGC TGG TAGG-3'; GAPDH 上游引物为 5'-GGT GAA GGT CGG TGT GAA CG-3',下游引物为 5'-CTC GCT CCT GGA AGA TGG TG -3'。反应条件为:95℃ 预变性 30 s,然后 95℃ 5 s,58℃ 30 s,循环 40 次,各组均重复 6 次。结果采用 2^{-ΔΔCt} 分析。

1.6.2 Western Blot 检测 -70℃ 冰冻的颈动脉置于冰上研磨,超声提取总蛋白,用 Bradford 法进行蛋白定量,取 50 μg 上样后置于 10% 聚丙烯酰胺凝胶中电泳,蛋白转到 PVDF 膜上后用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h。封闭后加入用 TBST 稀释的兔抗鼠多克隆抗体 Runx2(1:1000)和 β-actin(1:2000)抗体,室温震荡 4 h。然后用 TBST 震荡清洗 3 次,每次 15 min,清洗之后加入羊抗兔用 HRP 标记的二抗(1:1000)室温摇床孵育 1 h,用 TBST 清洗,每次 15 min,清洗 3 次。取曝光液 A、B 液按 1:1 混匀后滴于 PVDF 膜上。ECL 显色系统定影显色,观察条带。

1.7 免疫组织化学法检测 Runx2 的表达

石蜡切片常规脱水,抗原修复后滴加 5% BSA 封闭液,室温孵育 30 min;滴加兔抗小鼠 Runx2 单克隆抗体(1:300),4℃ 过夜;HRP 标记二抗,37℃ 孵育 40 min;滴加 DAB 显色液;苏木素复染,1% 盐酸溶液分化,梯度酒精脱水干燥,二甲苯透明后封片,光学显微镜下观察。免疫组织化学结果依据阳性细胞密度及免疫显色强度综合计分判断。每张切片随机选取 5 个高倍镜视野,每视野计数 100 个细胞,计算 Runx2 阳性细胞百分率。阳性细胞少于 5% 记 0 分;5% ~ 25% 记 1 分;26% ~ 49% 记 2 分;50% ~ 75% 记 3 分;大于 75% 记 4 分。显色强度记 0 ~ 3 分:细胞内无着色记 0 分;细胞内淡黄色记 1 分;棕黄色者记 2 分;棕褐色记 3 分;将两项指标评分相加,分 4 级,即阴性(-)为 0 ~ 1 分;弱阳性(+)为 2 ~ 3 分;中等阳性(++)4 ~ 5 分;强阳性(+++)大于 5 分。

1.8 统计学处理方法

计量资料均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,SPSS 16.0 统计软件分析数据,两组比较采用独立样本 *t* 检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。所有统计图形均利用 Graph-Pad Prism 软件进行绘制。

2 结 果

2.1 小鼠血脂水平

用 Angpl2 干预的干预组小鼠血清 TC、TG 及 LDLC 含量较对照组小鼠均显著升高,差异有统计学意义(*P* < 0.05;表 1)。

表 1. 各组 ApoE^{-/-} 小鼠血清脂质水平($\bar{x} \pm s$)
Table 1. Levels of TC, TG, LDLC, HDLC in each group($\bar{x} \pm s$)

分 组	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDLC (mmol/L)	LDLC (mmol/L)
对照组	24.91 ± 2.80	2.50 ± 0.17	5.62 ± 0.29	15.87 ± 1.24
干预组	35.50 ± 1.18 ^a	3.35 ± 0.26 ^a	5.39 ± 0.27	20.16 ± 1.76 ^a

a 为 *P* < 0.05,与对照组比较。

2.2 主动脉 HE 染色及 Von Kossa 染色

对照组 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉 HE 染色发现血管内膜普遍增厚,出现动脉粥样斑块,凸向血管腔,管腔面积缩小(图 1A),而干预组小鼠主动脉管腔内膜增厚更为明显,出现大量动脉粥样硬化斑块,斑块内含大量泡沫细胞,管腔狭窄更为明显(图 1B)。Von Kossa 染色结果显示对照组小鼠血管内膜及斑块内有少许钙化沉积(图 2A),而干预组小鼠血管内膜可见明显的黑色沉积,斑块内钙化的黑色沉积则更为明显(图 2B)。

2.3 血管生成素样蛋白 2 对小鼠主动脉组织钙含量、碱性磷酸酶活性的影响

干预组主动脉组织钙含量较对照组增加 9.22 倍(*P* < 0.05),碱性磷酸酶活性较对照组增加了 8.58 倍(*P* < 0.05;表 2)。

表 2. 小鼠主动脉血管钙含量及碱性磷酸酶活性变化
Table 2. The levels of calcium content, activity of alkaline phosphatase in different groups

分 组	钙含量(μmol/g)	ALP 活性(U/g)
对照组	101.12 ± 6.97	152.42 ± 5.37
干预组	932.18 ± 92.57 ^a	1307.60 ± 48.16 ^a

a 为 *P* < 0.05,与对照组比较。

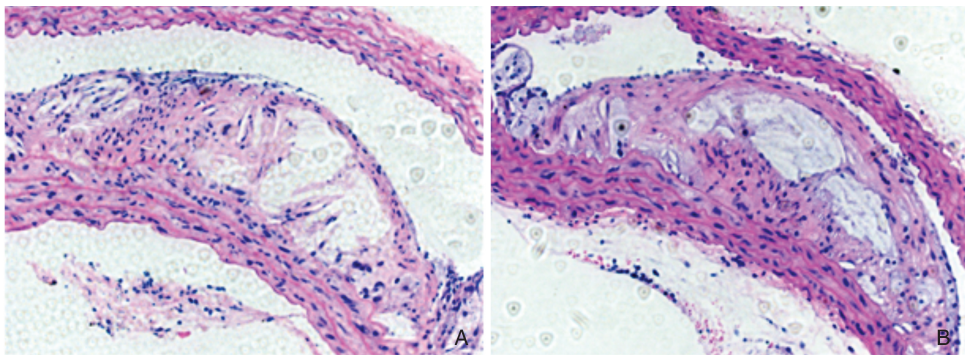


图 1. 小鼠主动脉 HE 染色(×200) A 为对照组,B 为干预组。
Figure 1. Hematoxylin and eosin staining in ApoE^{-/-} mice aorta(×200)

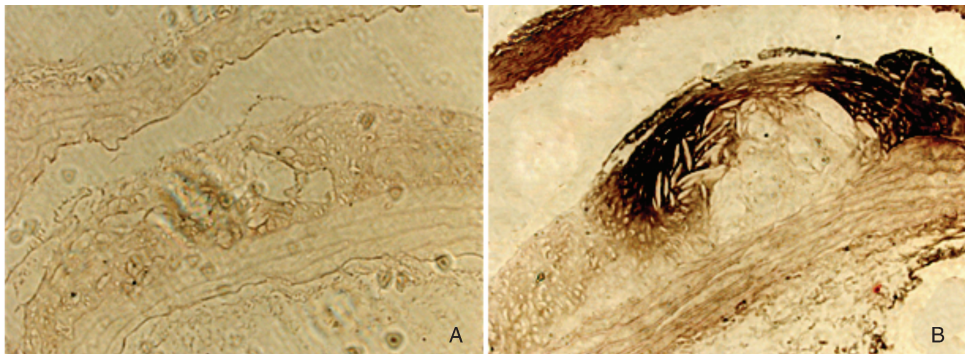


图 2. 小鼠主动脉 Von Kossa 染色(×200) A 为对照组,B 为干预组。
Figure 2. Representative photomicrographs of calcium deposition in mice aorta after Von Kossa staining(black calcium particles)

2.4 小鼠血管斑块中 Runx2 的表达差异

免疫组织化学染色结果显示,对照组小鼠血管壁及斑块有少量 Runx2 表达,而经 Angptl2 干预后的小鼠血管壁 Runx2 的表达量显著增加($P < 0.05$;图 3 和表 3)。

2.5 小鼠血管斑块中 Runx2 mRNA 和蛋白的表达

qRT-PCR 结果显示,静脉注射 Angptl2 干预后小鼠 Runx2 的 mRNA 表达量显著增加($P < 0.05$),Western Blot 结果也显示干预组小鼠主动脉 Runx2

蛋白表达量较对照组显著升高($P < 0.05$;图 4)。

表 3. 主动脉斑块中 Runx2 的免疫组织化学分析($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 3. Immunohistochemical analysis of Runx2 in aortic plaque($\bar{x} \pm s, n = 6$)

分 组	Runx2 阳性细胞率	免疫显色强度	表达强度
对照组	12.5% ± 4.42%	淡黄色	弱阳性
干预组	71.17% ± 10.26% ^a	棕黄色	中等阳性

a 为 $P < 0.05$,与对照组比较。

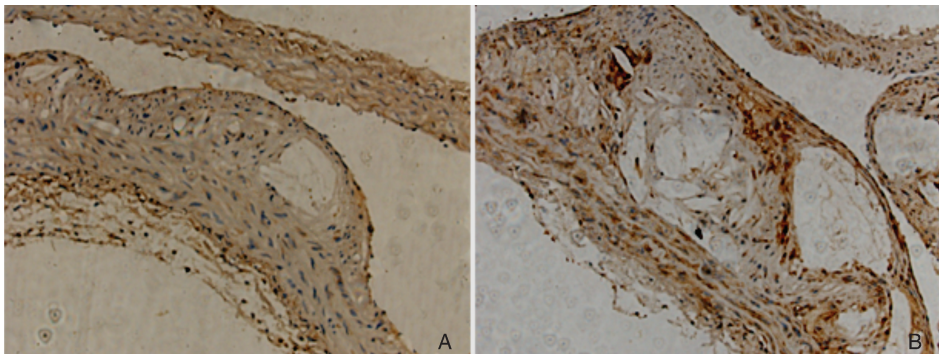


图 3. 免疫组织化学分析主动脉斑块 Runx2 的表达(×200, $n = 6$) A 为对照组,B 为干预组。
Figure 3. The Runx2 expression in aortic plaque by immunohistochemical analysis(×200, $n = 6$)

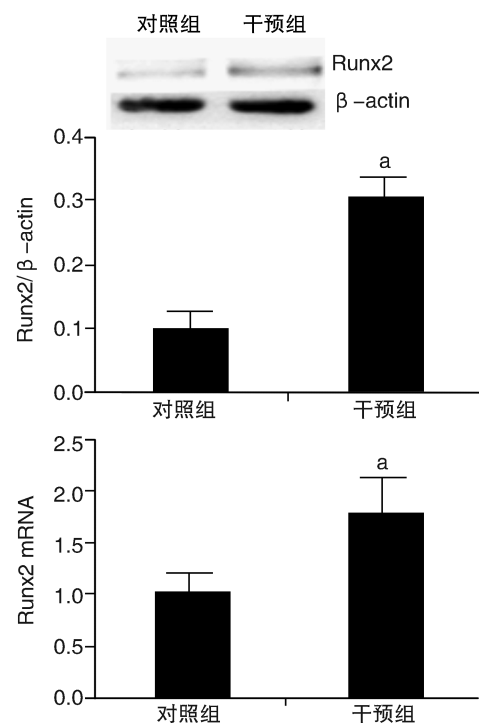


图 4. 血管生成素样蛋白 2 干预后小鼠主动脉血管 Runx2 蛋白和 mRNA 表达差异 ($n=6$) a 为 $P<0.05$, 与对照组相比。
Figure 4. Expression of Runx2 protein and mRNA in aortic artery by intervention of angiopoietin-like 2 ($n=6$)

3 讨论

血管钙化与肾功能衰竭、糖尿病、高龄等高度相关,并大大增加了心血管事件的风险与死亡率,临床上 80% 的血管损伤和 90% 的冠状动脉疾病中均存在血管钙化,血管钙化是心血管事件和脑卒中的预警指标。钙化的纤维斑块稳定性较差,易导致斑块破裂从而使冠心病患者发生急性冠状动脉综合征的概率大大增加,并且钙化的血管也极大增加了临床介入手术的难度^[5]。故研究血管钙化的发生及发展机制,从而为临床预防及治疗心血管疾病提供相应的理论依据显得尤为迫切。

目前的大多数观点认为血管钙化是一个主动调节过程,包括血管平滑肌细胞向成骨细胞表型转化及羟磷酸盐结晶沉淀等^[6]。血浆中升高的磷酸盐、糖基化终末产物、骨形成蛋白、炎症因子、凋亡小体及血管平滑肌细胞氧化应激因子均可促进血管平滑肌细胞向成骨细胞的表型转换^[7]。ALP 是成骨细胞的一个功能性表型标记物,是基质小泡的重要组成部分,是钙盐形成过程中重要的酶,生物钙化过程中 ALP 可水解各种磷酸酯键,增加局部羟磷灰石晶体中磷酸盐浓度,为磷酸钙结晶的生成提供原

料,而高磷酸盐本身亦可诱导细胞钙化^[8]。Runx2 是平滑肌细胞向成骨样细胞转化及钙磷酸盐沉积中发挥重要作用的因子,其本身可受到炎症因子的刺激而高表达,骨形态发生蛋白 2 (bone morphogenetic protein 2, BMP2) 可通过诱导间充质干细胞内的转录因子 Runx2 表达上调^[9]。Runx2 不仅调节成骨细胞的分化,还能通过促进骨细胞外基质蛋白的合成,如 I 型胶原、骨桥蛋白 (osteopontin, OPN)、骨涎蛋白 (bone sialoprotein, BSP)、骨钙蛋白 (osteocalcin, OCN)、纤维连接蛋白 (fibronectin) 等来调节成熟的成骨细胞成骨^[10]。Runx2 蛋白同许多蛋白以复合物的形式作用其目标基因的反应元件以完成调节功能,Enomoto 等使用目的基因敲除的技术,发现 Runx2^{-/-} 小鼠成骨细胞不能进行有效地分化,膜内和软骨内骨化成骨均不能发生。Runx2 的缺失阻止了成骨细胞的成熟而表现出完全的骨丢失。国内有研究证明,吡格列酮可通过抑制 Runx2 的表达从而抑制血管平滑肌的钙化^[11],这些都说明 Runx2 是骨形成中不可或缺的因子。多项研究证实血管钙化与骨的形成有很大的相似性,这也间接证明 Runx2 会促进血管钙化。既往的研究往往倾向于用高磷等因素去诱导血管钙化,其本身就受到磷酸盐代谢失衡的影响而对实验研究结果产生一定的影响。动脉粥样硬化患者多易形成血管钙化,而高脂所诱导的炎症因子的表达往往被认为是血管钙化产生的重要原因,本研究利用 ApoE^{-/-} 小鼠加高脂饮食来诱导动脉粥样硬化的形成,通过 Angptl2 这种炎症因子来观察其对动脉粥样硬化斑块钙化的影响,结果表明经高脂饮食后 ApoE^{-/-} 小鼠形成动脉粥样硬化斑块,而用外源性 Angptl2 干预后小鼠动脉粥样硬化程度显著增加,这与 Nada Farhat 等研究结果相一致,同时 Angptl2 干预后小鼠动脉粥样硬化斑块中形成了明显的钙化,血管内钙含量、ALP 活性均显著增加,Runx2 的表达量也显著增加,这证明 Angptl2 可促进动脉粥样硬化斑块内膜钙化的形成。斑块的钙化会导致斑块的不稳定性, Tazume 等^[12] 研究证明血清 Angptl2 高的患者发生心血管意外的风险更大,Angptl2 的促斑块钙化作用可能是导致这种现象的一个重要因素。

本实验说明 Angptl2 在促进血管动脉粥样硬化的同时也促进了动脉粥样硬化血管的钙化,但其具体作用机制尚未完全阐明,这也是我们下一步需要解决的问题。Angptl2 作为一种促炎因子可显著促进小鼠动脉粥样硬化的形成,其主要由血管内皮细

胞分泌,却主要与血管平滑肌细胞结合^[3], Angptl2 的这种生理特性又为我们带来一个很大的疑惑,它为何与血管平滑肌细胞具有高亲和性,又是通过何种机制对血管平滑肌的生理及病理过程产生影响,这些都是值得进一步探讨研究的问题。与稳定性斑块相比,易损斑块含有更多的新生血管,大量的病理生理学证据显示斑块中出现新生血管与斑块的快速进展和向不稳定性斑块进展有密切关系。有报道称 Angptl2 可通过激活 c-Jun 氨基端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)促进血管新生,这表明通过促进血管新生也是 Angptl2 促使动脉粥样硬化进展及恶化的重要原因。本实验结果同时显示 Angptl2 可使血脂水平升高,而高脂血症与动脉粥样硬化斑块的不稳定性呈高度相关^[13]。综上所述, Angptl2 可通过多种机制促进动脉粥样硬化的发生发展。动脉粥样硬化的形成由多种机制导致,血管钙化作为动脉粥样硬化不稳定的重要因素,阐明两者之间的关系显得尤为重要,这将为我们在冠心病的预防与治疗中起到重要作用,我们的实验第一次证实 Angptl2 可促进动脉粥样硬化内膜钙化,这也从血管钙化的角度论证了 Angptl2 是怎样促进冠心病的发生发展的。同时提示我们可将 Angptl2 作为一种潜在的生物学指标用来评估临床上肾功能衰竭、糖尿病、高龄等患者患冠心病的危险程度,并且可尝试通过控制和降低冠心病患者 Angptl2 水平来控制或阻断 Angptl2 的生物学活性来阻断冠心病的发生与发展,从而为冠心病的防治提供一种新的手段。

[参考文献]

[1] Wayhs R, Zelinger A, Raggi P, et al. High coronary artery calcium scores pose an extremely elevated risk for hard events [J]. J Am Coll Cardiol, 2002, 39(2): 225-230.

[2] Aikawa E, Nahrendorf M, Figueiredo JL, et al. Osteogenesis associates with inflammation in early-stage atherosclerosis evaluated by molecular imaging in vivo [J]. Circulation, 2007, 116(24): 2 841-850.

[3] Tabata M, Kadomatsu T, Fukuhara S, et al. Angiopoietin-like protein 2 promotes chronic adipose tissue inflammation and obesity-related systemic insulin resistance [J]. Cell Metab, 2009, 10(3): 178-188.

[4] Nada Fafhat M, Nathalie T, Maya M, et al. Angiopoietin-like 2 promotes atherogenesis in mice[J]. J Am Heart Assoc, 2013, 2: e000 201.

[5] Hoshino T, Chow LA, Hsu JJ, et al. Mechanical stress analysis of a rigid inclusion in distensible material: a model of atherosclerotic calcification and plaque vulnerability[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2009, 297 (2): H802-810.

[6] 齐永芬. 关注血管钙化和骨质疏松共同发病机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2009, 17(4): 253-255.

[7] 王中群, 刘乃丰. 血管钙化形成与消退机制的新进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18(10): 833-836.

[8] Yamada S, Tokumoto M, Tatsumoto N, et al. Phosphate overload directly induces systemic inflammation and malnutrition as well as vascular calcification in uremia [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2014, 306(12): F1 418-428.

[9] Lian JB, Javed A, Zaidi SK, et al. Regulatory control for osteoblast growth and differentiation: role of Runx/Cbfa/AML Factors [J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2004, 141(2): 1-41.

[10] Komori T. Requisite roles of Runx2 and Cbfb in skeletal development[J]. J Bone Miner Metab, 2003, 21(4): 193-197.

[11] 马琦. 吡格列酮通过内质网应激致凋亡途径对大鼠血管平滑肌细胞钙化的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2014, 22(4): 351-356.

[12] Tazume H, Miyata K, Tian Z, et al. Macrophage-derived angiopoietin-like protein 2 accelerates development of abdominal aortic aneurysm [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32(6): 1 400-409.

[13] 张晶, 关欣. 血脂代谢与颈动脉粥样硬化不稳定性斑块的相关性[J]. 中国动脉硬化杂志, 2012, 20(9): 833-836.

(此文编辑 许雪梅)