

骨相关蛋白与糖尿病动脉钙化关系的研究进展

陈 晖(综述), 颜晓东(审校)

基金项目: 广西科学基金项目(编号:桂科回 0832018)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院内分泌代谢科

作者简介: 陈 晖(1967-), 女, 医学硕士, 副主任医师, 研究方向: 糖尿病大血管病变基础与临床。E-mail: chenhuilu67@yahoo.com.cn

通讯作者: 颜晓东(1960-), 男, 医学硕士, 主任医师, 研究方向: 糖尿病、骨质疏松症基础与临床。E-mail: xiaodong930111@yahoo.com.cn

[摘要] 糖尿病心脑血管、外周血管病变是糖尿病患者致死致残的主要原因, 而动脉钙化是糖尿病血管病变的病理生理基础之一。该文就近年来骨相关蛋白与糖尿病动脉钙化关系的有关研究进行综述。

[关键词] 糖尿病; 动脉钙化; 骨相关蛋白

[中图分类号] R 58 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2013)10-1022-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2013.10.35

Research advances in relationship between bone-related protein and artery calcification in diabetes CHEN Hui, YAN Xiao-dong. Department of Endocrinology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] Diabetic cardiovascular and cerebrovascular disease, peripheral vascular disease are the major causes of death and disability in patients with diabetes. Artery calcification is one of the basic pathophysiology of diabetic angiopathy. This review presented recent research advances in relationship between bone-related protein and artery calcification in diabetes.

[Key words] Diabetes; Artery calcification; Bone-related protein

糖尿病是目前全球最常见的非传染性疾病之一。根据国际糖尿病联盟(IDF)统计, 目前全球糖尿病患者已达 2.85 亿, 按目前的增长速度, 估计到 2030 年全球将有近 5 亿人患糖尿病。糖尿病的慢性血管并发症对患者的生命和生活质量威胁极大, 给患者家庭及其个人带来了沉重的经济负担。糖尿病常伴有重要脏器功能和结构的改变, 而心、脑及外周动脉等大血管发生病变是糖尿病患者致残致死的主要原因。流行病学显示, 与非糖尿病患者比较, 糖尿病患者发生心血管疾病风险增加 2~4 倍^[1]。因此, 探讨糖尿病大血管病变的发病机制, 寻找预防和治疗大血管病变对策, 已成为近年来糖尿病研究的重要课题。

1 动脉钙化与糖尿病大血管病变

动脉钙化与心血管疾病有关^[2], 临床研究表明冠状动脉钙化患者心脏事件发生的风险增加 8.7 倍, 死亡或心肌梗死的风险增加了 4.2 倍^[3]。主动脉弓钙化与冠心病增加密切相关^[4]。进一步说, 动脉钙化的程度与动脉粥样硬化及临床事件密切相

关^[5]。临床数据表明, CT 扫描的钙化值和临床事件也有很大的相关性, 其敏感性比传统方法分析其相关性更高^[6]。因此, 动脉钙化被认为是预测心血管疾病及病死率的重要因子^[7]。动脉钙化可分为两种类型, 一种是点状钙化, 这种点状钙化与动脉粥样硬化在同一部位, 并与糖尿病的发生相关; 第二种类型是弥漫性中层钙化, 是糖尿病大血管病变病理生理改变的一部分。糖尿病大血管病变意味着大血管壁结构和功能的改变, 这些改变包括中层基质成份的增加, 如: 糖基化蛋白^[8]、纤维结合蛋白、透明质酸^[9]、IV型胶原、骨保护素(OPG)^[10]及中层钙化^[11]。多项研究表明, 糖尿病患者中层钙化可作为强有力的预测心血管疾病、冠心病病死率的独立因子, 亦可作为预测未来发生冠心病事件及卒中的因子^[12]。糖尿病动脉的变化为粥样硬化提供了肥沃的土壤, 其中, 糖尿病血管钙化的原因复杂, 影响因素众多, 有待进一步研究明确。

2 动脉钙化形成机制

研究表明动脉钙化涉及动脉壁的内膜和中

膜^[13]。研究证实内膜钙化与动脉粥样硬化有关。在与充满脂质的巨噬细胞相关的斑块中可见内膜钙化,这种钙化占整个动脉粥样硬化斑块的 80%。这种类型的钙化被认为是导致斑块破裂、血管堵塞及临床症状发生的危险因素。相反地,中层钙化发生独立于内膜钙化及动脉粥样硬化,但其形成是沿着弹性薄层沉积或在平滑肌细胞所处的中层形成高密度的钙结晶^[14,15]。中层钙化致血管壁弹性下降,动脉硬化性增加^[16]。动脉钙化与骨组织形成有许多相似之处:(1)血管壁中钙盐沉积以羟磷灰石为主。(2)钙化血管部位可表达一些钙化调节蛋白,参与调节细胞分化及钙盐沉积。(3)动脉钙化局部细胞出现成骨细胞及相关细胞样转化。这显示动脉钙化与骨矿化有相同之处。但两者亦有不同之处,如机体钙含量随年龄增长而减少,而动脉钙化随年龄增长而增加。研究^[17]表明,多种骨相关蛋白在血管壁钙化部位表达异常,显示血管钙化与骨形成有相同的机制,是可控制及可调节的过程。直接证据来源于基因工程致骨相关基因缺失的动物试验,如小鼠试验同时出现骨质疏松症及血管钙化。

3 骨相关蛋白与糖尿病动脉钙化

3.1 骨保护素(osteoprotegerin, OPG) OPG 也称为破骨细胞生成抑制因子(OCIF),是破骨细胞分化和激活的一个关键抑制因子,也是骨吸收的必需因子。OPG 为二聚体糖蛋白,属肿瘤坏死因子(TNF- α)受体基因超家族的一员,分子量为 120 kDa,是核因子受体激活因子(RANK)的一种配体,当与 RANK 结合后,竞争抑制了 RANK 配基(RANKL)与 RANK 的结合,从而抑制破骨细胞的形成。这种作用同时抑制了多种细胞内信号,从而调整了细胞的分化、增殖和激活^[18]。OPG 广泛存在于各种组织细胞,包括破骨细胞、平滑肌细胞等^[19]。最近人类 OPG 基因多态性分析认为 OPG 可能与心血管疾病的易感性有关^[20]。在冠脉疾病研究中,OPG 增高作为独立危险因素与冠脉钙化斑块形成、冠脉疾病严重程度及心血管事件相关^[21]。在 2 型糖尿病的研究中,同样发现 OPG 可作为全因死亡强有力的预测因子,并独立于常见的心血管危险因素、尿微量白蛋白及 N-末端脑钠肽前体(NT-proBNP)水平^[22]。OPG 敲除的小鼠骨质疏松进展,并伴有骨折、主动脉及肾动脉钙化,这种情况同样见于糖尿病模型^[23]。由华法林或维生素 D 诱导的小鼠加入 OPG 后,动脉钙化可被抑制^[24]。体外研究显示^[25],高浓度的胰岛素加速人血管平滑肌细胞的钙化,可能与胰岛素介导的 OPG

下调有关。免疫组化染色与逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)显示 OPG 在正常主动脉高表达,而在进展的钙化组织邻近 OPG 表达下降^[26]。推测 OPG 为动脉钙化的抑制因子在动脉钙化过程中起到调节作用。

3.2 基质 Gla 蛋白(matrix Gla protein, MGP) MGP 是一种维生素 K 依赖蛋白,对羟磷灰石有很高的亲和力和,已被证实与动脉钙化密切相关。MGP 缺失的小鼠患有严重的骨质疏松症,同时伴有广泛主动脉钙化,导致血管破裂及死亡^[27]。用 Northern blotting 方法从主动脉并或不并动脉粥样硬化组织中提取 MGP,结果显示新生及年幼的动物 MGP 高表达,而在动脉粥样硬化损伤部位表达下调,下降的 MGP 与钙化的增加密切相关^[28]。证据表明 MGP 是脉管系统细胞外矿化的重要抑制剂。研究显示^[29],2 型糖尿病合并缺血性心脏病患者 MGP 明显较单纯糖尿病、单纯缺血性心脏病患者及正常人增高,MGP 水平增高提示动脉钙化的发生发展。

3.3 骨桥蛋白(osteopontin, OPN) OPN 为多功能的磷酸糖蛋白,分子量在 45 ~ 70 kD 间,可在多种细胞中表达,如成骨细胞、破骨细胞、淋巴细胞、巨噬细胞及血管平滑肌细胞^[30]。OPN 常存在于营养不良钙化的部位,与羟磷灰石紧密结合,是一种强的羟磷灰石沉积抑制剂。动物试验表明,OPN 缺失的小鼠骨质中的矿物质含量及结晶增加,表明 OPN 是矿化形成及结晶增加的抑制剂^[31]。高糖水平促进人血管平滑肌细胞 OPN 表达^[32],钙化可被 OPN 所抑制^[33]。这些结果表明 OPN 在糖尿病血管病变发展及调节血管钙化过程中起重要作用。

3.4 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP) ALP 是成骨细胞分化的标记物,也是骨矿化必不可少的物质。血管壁钙化处可见 ALP 高表达^[23]。胰岛素抵抗糖尿病鼠钙化的中层动脉中 ALP 活性明显增高^[34],由此可见 ALP 参与了糖尿病动脉钙化的过程。

3.5 骨唾液蛋白(bone sialoprotein, BSP) BSP 是存在于骨细胞外基质的一种主要的非胶原蛋白,是成骨细胞分化的早期标志物。人钙化的主动脉瓣有很强的 BSP 染色,RT-PCR 人动脉钙化部位 BSP 高表达^[35],原位杂交证实其表达是来源于中膜的血管平滑肌细胞^[15]。体外研究^[25]显示,高浓度的胰岛素使钙化的人血管平滑肌细胞中 BSP-mRNA 表达增加,提示 BSP 与糖尿病动脉钙化相关。

3.6 胎球蛋白-A(fetuin-A) 胎球蛋白-A 是一种血清糖蛋白,浓度在 0.4 ~ 1.0 g/L 间,是在肝中合

成的,在骨基质中含量很高。目前发现胎球蛋白-A具有新的生物学特性,它可与钙、磷酸盐及MGP结合,形成一大分子量的复合物^[36]。临床研究表明低浓度的胎球蛋白-A与高心血管死亡率有关^[37]。糖尿病合并动脉粥样硬化钙化斑块与无动脉粥样硬化钙化斑块的患者比较,血清胎球蛋白-A水平明显降低,胎球蛋白-A与钙化斑块呈负相关^[38]。意味着胎球蛋白-A参与了糖尿病动脉钙化的进程。

3.7 骨钙素(bone Gla-protein, Osteocalcin, BGP)

BGP含有3个Gla残基,是体内最丰富的非胶原类骨基质蛋白。主要由成骨细胞和骨细胞合成及分泌,正常动脉不能表达BGP。体外培养的血管平滑肌细胞钙化时可见其分泌增加,BGP参与了动脉钙化的过程^[39]。Kanazawa等^[40]研究发现,在男性糖尿病患者中,血清BGP水平与动脉硬化参数踝-臂脉搏波传导速度和颈动脉内膜中层厚度呈负相关,并独立于心血管其他危险因素。

3.8 骨连接蛋白(osteonectin, ON) ON又称为SP-ARC(secreted protein, acidic and rich in cysteine),是一种43 kD的细胞外间质钙化蛋白。可与胶原及羟磷灰石结合,调节细胞的增殖及细胞间、间质间的相互作用。体外情况下,ON是最强的羟磷灰石晶体形成抑制剂。免疫组化显示ON可见于动脉粥样硬化进展斑块的钙化物中^[41],提示ON在动脉钙化中起到积极作用。近年研究^[42]显示,2型糖尿病患者血中ON显著增高,ON与糖尿病关系密切,但与糖尿病动脉钙化之间是否存在某种联系,目前未见相关报道。

4 展望

糖尿病患者大血管病变的机制十分复杂,与血管内皮损伤、内皮依赖性舒张功能障碍、内皮下基质产生与构成紊乱、血凝纤溶系统失衡、平滑肌细胞增生、氧化应激增加、动脉钙化等因素相关。在动脉钙化方面,多项研究表明,多种骨相关蛋白参与了糖尿病动脉钙化的过程,但骨相关蛋白在糖尿病动脉钙化形成中的作用机制尚未完全明了,对其进行深入研究,寻找预防及治疗糖尿病合并大血管病变的方法,具有深远的意义。

参考文献

- Preis SR, Hwang SJ, Coady S, et al. Trends in all-cause and cardiovascular disease mortality among women and men with and without diabetes mellitus in the Framingham Heart Study, 1950 to 2005[J]. *Circulation*, 2009, 119(13):1728-1735.
- Reaven PD, Sacks J. Coronary artery and abdominal aortic calcification are associated with cardiovascular disease in type 2 diabetes[J]. *Diabetologia*, 2005, 48(2):379-385.
- O'Malley PG, Taylor AJ, Jackson JL, et al. Prognostic value of coronary electron-beam computed tomography for coronary heart disease event in asymptomatic populations[J]. *Am J Cardiol*, 2000, 85(8):945-948.
- Iribarren C, Sidney S, Sternfeld B, et al. Calcification of the aortic arch: risk factors and association with coronary heart disease, stroke, and peripheral vascular disease[J]. *JAMA*, 2000, 283(21):2810-2815.
- Thompson GR, Partridge J. Coronary calcification score: the coronary-risk impact factor[J]. *Lancet*, 2004, 363(9408):557-559.
- Shaw LJ, Raggi P, Schisterman E, et al. Prognostic value of cardiac risk factor and coronary artery calcium screening for all-cause mortality[J]. *Radiology*, 2003, 228(3):826-833.
- Wilson PW, Kauppila LI, O'donnell CJ, et al. Abdominal aortic calcific deposits are an important predictor of vascular morbidity and mortality[J]. *Circulation*, 2001, 103(11):1529-1534.
- Dybdahl H, Ledet T. Diabetic macroangiopathy. Quantitative histopathological studies of the extramural coronary arteries from type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients[J]. *Diabetologia*, 1987, 30(11):882-886.
- Heickendorff L, Ledet T, Rasmussen LM. Glycosaminoglycans in the human aorta in diabetes mellitus: a study of tunica media from areas with and without atherosclerotic plaque[J]. *Diabetologia*, 1994, 37(3):286-292.
- Olesen P, Ledet T, Rasmussen LM. Arterial osteoprotegerin: increased amounts in diabetes and modifiable synthesis from vascular smooth cells by insulin and TNF-alpha[J]. *Diabetologia*, 2005, 48(3):561-568.
- Neubauer B. A quantitative study of peripheral arterial calcification and glucose tolerance in elderly diabetics and non-diabetics[J]. *Diabetologia*, 1971, 7(6):409-413.
- Niskanen L, Siitonen O, Suhonen M, et al. Medical artery calcification predicts cardiovascular mortality in patients with NIDDM[J]. *Diabetes Care*, 1994, 17(11):1252-1256.
- Proudfoot D, Shanahan CM. Biology of calcification in vascular cell: intima versus media[J]. *Herz*, 2001, 26(4):245-251.
- Janzen J, Vuong PN. Arterial calcifications: morphological aspects and their pathological implications[J]. *Z Kardiol*, 2001, 90:6-11.
- Shanahan CM, Cary NR, Salisbury JR, et al. Medical localization of mineralization-regulating proteins in association with Monckeberg's sclerosis: evidence for smooth muscle cell-mediated vascular calcification[J]. *Circulation*, 1999, 100(21):2168-2176.
- Christensen T, Neubauer B. Arterial wall stiffness in insulin-dependent diabetes mellitus. An in vivo study[J]. *Acta Radiol*, 1987, 28(2):207-208.
- Valdivielso JM. Vascular calcification: types and mechanisms[J]. *Nefrologia*, 2011, 31(2):142-147.
- Sattler AM, Schoppert M, Schaefer JR, et al. Novel aspects on RANK ligand and osteoprotegerin in osteoporosis and vascular dis-

- ease[J]. *Calcif Tissue Int*, 2004, 74(1):103-106.
- 19 Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system[J]. *Endocrinology*, 2001, 142(12):5050-5055.
- 20 Soufi M, Schoppet M, Sattler AM, et al. Osteoprotegerin gene polymorphisms in men with coronary artery disease[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(8):3764-3768.
- 21 Reinhard H, Nybo M, Hansen PR, et al. Osteoprotegerin and coronary artery disease in type 2 diabetic patients with microalbuminuria[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2011, 10:70.
- 22 Reinhard H, Lajer M, Gall MA, et al. Osteoprotegerin and mortality in type 2 diabetic patients[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(12):2561-2566.
- 23 Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification[J]. *Genes Dev*, 1998, 12(9):1260-1268.
- 24 Price PA, June HH, Buckley JR, et al. Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21(10):1610-1616.
- 25 Olesen P, Nguyen K, Wogensen L, et al. Calcification of human vascular smooth muscle cells: associations with osteoprotegerin expression and acceleration by high-dose insulin[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292(2):1058-1064.
- 26 Tyson KL, Reynolds JL, McNair R, et al. Osteo/chondrocytic transcription factors and their target genes exhibit distinct patterns of expression in human arterial calcification[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(3):489-494.
- 27 Luo C, Ducy P, McKee MD, et al. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein[J]. *Nature*, 1997, 386(6620):78-81.
- 28 Hao H, Hirota S, Ishibashi-Ueda H, et al. Expression of matrix Gla protein and osteonectin mRNA by human aortic smooth muscle cells[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2004, 13(4):195-202.
- 29 Thomsen SB, Rathcke CN, Zerahn B, et al. Increased levels of the calcification marker matrix Gla Protein and the inflammatory markers YKL-40 and CRP in patients with type 2 diabetes and ischemic heart disease[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2010, 9:86.
- 30 O'Brine ER, Garvin MR, Stewart DK, et al. Osteopontin is synthesized by macrophage, smooth muscle, and endothelial cell in primary and restenotic human coronary atherosclerotic plaques[J]. *Arterioscler Thromb*, 1994, 14(10):1648-1656.
- 31 Boskey AL, Spevak L, Paschalis E, et al. Osteopontin deficiency increases mineral content and mineral crystallinity in mouse bone[J]. *Calcif Tissue Int*, 2002, 71(2):145-154.
- 32 Takemoto M, Yokote K, Yamazaki M, et al. Enhanced expression of osteopontin by high glucose in cultured rat aortic smooth muscle cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 258(3):722-726.
- 33 Wada T, McKee MD, Steitz S, et al. Calcification of vascular smooth muscle cell cultures: inhibition by osteopontin[J]. *Circ Res*, 1999, 84(2):166-178.
- 34 Zhou YB, Zhang J, Cai Y, et al. Insulin resistance induces medial artery calcification in fructose-fed rats[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2012, 237(1):50-57.
- 35 Shanahan CM, Proudfoot D, Tyson KL, et al. Expression of mineralisation-regulating proteins in association with human vascular calcification[J]. *Z Kardiol*, 2000, 89(Suppl 2):63-68.
- 36 Price PA, Williamson MK, Nguyen TM, et al. Serum levels of the fetuin-mineral complex correlate with artery calcification in the rat[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(3):1594-1600.
- 37 Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, et al. Association of low fetuin-A (AHSC) concentration in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study[J]. *Lancet*, 2003, 361(9360):827-833.
- 38 Emoto M, Mori K, Lee E, et al. Fetuin-A and atherosclerotic calcified plaque in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Metabolism*, 2010, 59(6):873-878.
- 39 Giachelli CM. The emerging role of phosphate in vascular calcification[J]. *Kidney Int*, 2009, 75(9):890-897.
- 40 Kanazawa I, Yamaguchi T, Yamamoto M, et al. Serum osteocalcin level is associated with glucose metabolism and atherosclerosis parameters in type 2 diabetes mellitus[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009, 94(1):45-49.
- 41 Dhore CR, Cleutjens JP, Lutgens E, et al. Differential expression of bone matrix regulatory proteins in human atherosclerotic plaques[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21(12):1998-2003.
- 42 Wu D, Li L, Yang M, et al. Elevated plasma levels of SPARC in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus[J]. *Eur J Endocrinol*, 2011, 165(4):597-601.

[收稿日期 2013-04-16][本文编辑 谭毅 潘洪平]

作者书写统计学符号须知

本刊执行国家标准 GB3358-82《统计学名词及符号》的有关规定,请作者书写统计学符号时注意以下规格:1. 样本的算术平均数用英文小写 $\bar{x}$ 表示,不用大写 $\bar{X}$ 表示,也不用 *Mean* 或 *M* (中位数仍用 *M*);2. 标准差用英文小写 *s*,不用 *SD*;3. 标准误差用英文小写 $s_{\bar{x}}$,不用 *SE*,也不用 *SEM*;4. *t* 检验用英文小写 *t*;5. *F* 检验用英文大写 *F*;6. 卡方检验用希腊文小写 χ^2 ;7. 相关系数用英文小写 *r*;8. 自由度用希腊文小写 ν (钮);9. 样本数用英文小写 *n*;10. 概率用英文大写 *P*;11. 以上符号 $\bar{x}$ 、 $s_{\bar{x}}$ 、 $s_{\bar{x}}$ 、*t*、*F*、 χ^2 、*r*、 ν 、*n*、*P* 均用斜体。望作者注意。

· 本刊编辑部 ·