

氧化应激在血管钙化中的作用

洪墨纳 高平进

【摘要】 血管钙化常见于动脉粥样硬化、慢性肾功能不全、糖尿病、高血压等,是心脑血管病发生的重要危险因素。已知多种因素参与血管钙化的发生和发展,其中氧化应激在其病理生理过程有重要作用。该文介绍了氧化应激在血管钙化中的调节,包括活性氧的参与、与活性氧相关的氧化酶和抗氧化酶的失衡,以及晚期糖基化终产物在氧化应激参与血管钙化中的调控作用。

【关键词】 血管钙化;活性氧;氧化应激;晚期糖基化终产物

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2013.03.007

血管钙化是血管壁上钙盐的过量沉积,在动脉粥样硬化、高血压、糖尿病血管病变、慢性肾病和衰老中普遍存在,表现为管壁僵硬性增加、顺应性降低,引起血栓形成、斑块破裂,最终导致心脑血管疾病发生。随着人口老龄化和代谢功能障碍发病率的增加,血管钙化的发生率也增加^[1]。既往认为血管钙化是死亡或者即将死亡细胞中发生的被动过程,现在研究证明血管钙化是一个类似于生理性矿化的主动代谢过程^[2],可发生于几乎全身的血管床并可同时累及血管的中膜和内膜^[3]。已知多种机制参与血管壁钙盐沉积^[4],而活性氧(ROS)的蓄积——即氧化应激作为血管矿物沉积的重要病理因素之一,受到越来越多的关注^[5]。

1 ROS 的合成、调节和代谢

ROS 能影响血管细胞的生长、迁移、增殖和激活^[6]。生理条件下,多个机制途径参与体内 ROS 的产生,包括还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)氧化酶系统、线粒体呼吸链、黄嘌呤氧化酶以及非偶联内皮一氧化氮合成酶等^[7],而细胞抗氧化机制如过氧化氢酶、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶可清除活性氧,维持细胞内氧化还原的稳定状态。当病理条件或衰老时 ROS 的增加超过细胞的抗氧化防御能力时^[7,8],血管壁内过多的 ROS 通过氧化应激参与血管钙化进程。

2 氧化应激在血管钙化中的作用

氧化应激在动脉粥样硬化的病理发生进程中

起重要作用,包括巨噬细胞内的脂质沉积和炎症的发展^[9]。近年研究也证实氧化应激在激活血管相关成骨基因调控程序中的重要作用^[10,11]。以下是常见几个氧化应激因素通过可能的信号途径参与血管钙化的病理生理过程。

2.1 过氧化氢(H_2O_2)

H_2O_2 作为细胞渗透性的 ROS,参与细胞内信号的调控。 H_2O_2 由血管细胞通过多种酶系统产生,包括血管 NADPH 氧化酶、黄嘌呤氧化酶等,是氧化应激的一个重要因素。Liu 等^[8]通过外源性的 H_2O_2 (0.2~0.5 mmol/L)刺激培养的兔血管平滑肌细胞(VSMC),检测到细胞内 ROS 产生增加,而内源性的 H_2O_2 清道夫谷胱甘肽过氧化物酶 GPx 的活性下降。Byon 等^[10]发现, H_2O_2 在 0.1~0.4 mmol/L 范围内,呈剂量依赖性地促进 VSMC 由收缩型向成骨细胞的表型转换,并且上调调控成骨细胞分化的转录因子 Runx2 的表达。抑制由 H_2O_2 激活的丝氨酸/苏氨酸激酶信号通路可以阻断 Runx2 的表达和血管钙化。这些研究结果提示 H_2O_2 可能通过多种不同的信号通路参与血管钙化。

2.2 NADPH 氧化酶

NADPH 氧化酶是许多非吞噬细胞生成 ROS 的主要酶体^[12],且其诱导产生的 ROS 也可以进一步促进其他来源 ROS 的产生^[13]。NADPH 氧化酶的激活在动脉粥样硬化形成中有重要作用,包括局部调节细胞分化和炎症相关基因的表达,从而参与血管钙化^[14]。

Martin 等^[15]发现,糖尿病小鼠主动脉 NADPH 氧化酶活性明显高于正常对照小鼠,其基质重塑相

关的骨形成发生蛋白-4、骨桥蛋白也相应表达增加,而抗氧化剂 Tempol 可以逆转这一效应。Marcel 等^[16]用胆固醇和维生素 D 喂养兔 12 周,在兔瓣膜钙化集中部位发现,NADPH 氧化酶亚单位 Nox2、p22phox 和蛋白质二硫键异构酶及 Nox4 的 mRNA 表达增加。Muteliefu 等^[17]用硫酸吡啶酚(500 $\mu\text{mol/L}$)诱导人主动脉平滑肌细胞的 ROS 产生过程,发现 NADPH 氧化酶 4 与成骨细胞特异性蛋白碱性磷酸酶(ALP)和骨桥蛋白(OPN)的表达;而用 siRNA 敲除 NADPH 氧化酶 4 后可以抑制其诱导产生 ROS 和 ALP 及 OPN mRNA 的表达,提示 NADPH 氧化酶在血管平滑肌向成骨样细胞分化过程中的调控作用,从而参与血管钙化^[18]。

2.3 抗氧化酶系统功能失调

体内存在有效的抗氧化防御系统,包括酶反应体系和抗氧化剂,这些酶和抗氧化剂在体内不断捕获并及时清除 ROS,使得 ROS 产生和清除保持相对平衡。当抗氧化酶系统功能紊乱或下降时,ROS 相对过多,即诱发氧化应激反应。

Miller 等^[11]检测手术病人切除狭窄的主动脉瓣膜中发现其钙化部位的总超氧化物歧化酶(SOD)水平较正常部位下降(47 ± 12)%,其表达 3 种不同 SOD 异构体(铜锌 SOD、锰 SOD、胞外 SOD)的 mRNA 水平分别下降(75 ± 8)%、(66 ± 13)%和(81 ± 8)%,同时钙化附近部位的过氧化氢酶表达也相应下降,提示 SOD 和过氧化氢酶的水平下降参与血管瓣膜钙化的发生。Branchetti 等^[19]将 39 例伴随血管瓣膜钙化和非钙化手术病人切除的瓣膜尖部和相对应的间质细胞在体外用 H_2O_2 诱导氧化应激造成间质细胞向成骨样细胞表型转化,而用腺病毒转导过氧化物酶可逆转 ROS 诱导的钙化和细胞转化。

因此,血管钙化不仅与体内的 ROS 生成过多相关,也与抗氧化酶系统的功能失调相关,抗氧化酶可能成为治疗血管钙化的一个作用靶点。

3 晚期糖基化终产物受体参与氧化应激在血管钙化中的调控

晚期糖基化终产物受体(RAGE)是免疫球蛋白超家族成员,由 400 多个氨基酸组成,相对分子质量为 35 000,分胞外段、跨膜段和胞内段,在单核巨噬细胞、血管内皮细胞、平滑肌细胞、神经细胞及肾系膜细胞等细胞中普遍表达。RAGE 与其配体晚期糖基化终产物(AGE)在细胞表面结合,激活细胞内

多种信号转导机制,在疾病发生中起重要作用^[20]。可溶性 RAGE(sRAGE)是 RAGE 的细胞外段部分,可特异结合 AGE,但由于不具有胞内段部分,不介导生物效应。

研究发现,RAGE 是 ROS 与炎症调控血管钙化的重要信号途径,它可以通过与相应配体结合后启动若干信号通路,参与炎症。而 S100A12——人 RAGE 配体,可以在小鼠的 VSMC 中通过转基因表达而加剧基质重塑^[21]。RAGE 是 S100/钙粒蛋白家族一个重要细胞反应位点,两者结合和相互作用触发细胞内一系列信号传导,产生促炎因子、趋化因子、黏附分子和氧化应激并导致炎症反应^[22]。

Bowman 等^[23]通过建立 ApoE^{-/-} 基因小鼠模型,用转基因方法将 S100A12 靶向导入小鼠 VSMC 中,发现临近主动脉处血管与无名动脉的钙质沉积分别增加 2~6 倍。S100A12/ApoE^{-/-} 小鼠其主动脉和培养的 VSMC 骨形成蛋白和成骨相关基因的表达增加,直接证明 S100A12/RAGE 轴在血管钙化中的调控作用。RAGE 配体 S100A12 与 NADPH 氧化酶相互作用通过氧化应激信号促进 VSMC 向成骨样细胞分化。而抑制性的“假受体”sRAGE 可以抑制 S100A12 依赖性的 ROS 产生和成骨样矿化。然而由 S100A12 引发的促成骨倾向是需要 ApoE^{-/-} 巨噬细胞条件培养基,这说明肿瘤坏死因子(TNF)等一些由单核/巨噬细胞家族合成的信号因子可以加强成骨效应^[24]。

RAGE 为氧化应激和 NADPH 氧化酶信号在血管钙化中的重要作用提供了强有力、独立而相对保守的证据^[25]。Hofman 等^[21]的实验为平滑肌 S100/钙粒蛋白上调 ROS 的产生——即通过细胞表面直接的 NADPH 活化提供了新的发现,使 RAGE 成为血管钙化病理生理的节点。炎症、氧化应激可能综合在 RAGE 轴上共同调控血管钙化。

4 展望

虽然并非所有血管钙化都伴随着氧化应激,但是近年的研究结果证实氧化应激和骨质形成在血管疾病中的重要作用以及 RAGE 参与了调控机制。这为血管钙化的临床治疗提供了新的靶点,有希望采取相应措施降低血管钙化导致的心血管事件的发生率和死亡率。

参 考 文 献

- [1] Rutsch F, Nitschke Y, Terkeltaub R. Genetics in arterial calcification: pieces of a puzzle and cogs in a wheel[J]. Circ

- Res, 2011,109(5):578-592.
- [2] Demer LL, Tintut Y. Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease [J]. *Circulation*, 2008, 117 (22): 2938-2948.
- [3] Chen NX, Moe SM. Vascular calcification: pathophysiology and risk factors [J]. *Curr Hypertens Rep*, 2012, 14 (3): 228-237.
- [4] Karwowski W, Naumnik B, Szczepanski M, et al. The mechanism of vascular calcification - a systematic review [J]. *Med Sci Monit*, 2012, 18(1): RA1-RA11.
- [5] Towler DA. Oxidation, inflammation, and aortic valve calcification peroxide paves an osteogenic path [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 52(10): 851-854.
- [6] Zhou RH, Vendrov AE, Tchivilev I, et al. Mitochondrial oxidative stress in aortic stiffening with age: the role of smooth muscle cell function [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(3): 745-755.
- [7] Elahi MM, Kong YX, Matata BM. Oxidative stress as a mediator of cardiovascular disease [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2009, 2(5): 259-269.
- [8] Liu H, Lu Q, Huang K. Selenium suppressed hydrogen peroxide-induced vascular smooth muscle cells calcification through inhibiting oxidative stress and ERK activation [J]. *J Cell Biochem*, 2010, 111(6): 1556-1564.
- [9] Hulsmans M, Holvoet P. The vicious circle between oxidative stress and inflammation in atherosclerosis [J]. *J Cell Mol Med*, 2010, 14(1-2): 70-78.
- [10] Byon CH, Javed A, Dai Q, et al. Oxidative stress induces vascular calcification through modulation of the osteogenic transcription factor Runx2 by AKT signaling [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(22): 15319-15327.
- [11] Miller JD, Chu Y, Brooks RM, et al. Dysregulation of antioxidant mechanisms contributes to increased oxidative stress in calcific aortic valvular stenosis in humans [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 52(10): 843-850.
- [12] Montezano AC, Touyz RM. Molecular mechanisms of hypertension--reactive oxygen species and antioxidants: a basic science update for the clinician [J]. *Can J Cardiol*, 2012, 28(3): 288-295.
- [13] McNally JS, Davis ME, Giddens DP, et al. Role of xanthine oxidoreductase and NAD(P)H oxidase in endothelial superoxide production in response to oscillatory shear stress [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 285 (6): H2290-H2297.
- [14] Csiszar A, Lehoux S, Ungvari Z. Hemodynamic forces, vascular oxidative stress, and regulation of BMP-2/4 expression [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11 (7): 1683-1697.
- [15] San Martin A, Du P, Dikalova A, et al. Reactive oxygen species-selective regulation of aortic inflammatory gene expression in Type 2 diabetes [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292(5): H2073-H2082.
- [16] Liberman M, Bassi E, Martinatti MK, et al. Oxidant generation predominates around calcifying foci and enhances progression of aortic valve calcification [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(3): 463-470.
- [17] Muteliefu G, Enomoto A, Jiang P, et al. Indoxyl sulphate induces oxidative stress and the expression of osteoblast-specific proteins in vascular smooth muscle cells [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2009, 24(7): 2051-2058.
- [18] Shao JS, Aly ZA, Lai CF, et al. Vascular Bmp Msx2 Wnt signaling and oxidative stress in arterial calcification [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007, 1117: 40-50.
- [19] Branchetti E, Sainger R, Poggio P, et al. Antioxidant enzymes reduce DNA damage and early activation of valvular interstitial cells in aortic valve sclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(2): e66-e74.
- [20] Yan SF, Ramasamy R, Schmidt AM. The RAGE axis: a fundamental mechanism signaling danger to the vulnerable vasculature [J]. *Circ Res*, 2010, 106(5): 842-853.
- [21] Hofmann Bowman M, Wilk J, Heydemann A, et al. S100A12 mediates aortic wall remodeling and aortic aneurysm [J]. *Circ Res*, 2010, 106(1): 145-154.
- [22] Mosquera JA. Role of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) in inflammation [J]. *Invest Clin*, 2010, 51(2): 257-268.
- [23] Hofmann Bowman MA, Gawdzik J, Bukhari U, et al. S100A12 in vascular smooth muscle accelerates vascular calcification in apolipoprotein E-null mice by activating an osteogenic gene regulatory program [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(2): 337-344.
- [24] Lencel P, Delplace S, Pilet P, et al. Cell-specific effects of TNF-alpha and IL-1beta on alkaline phosphatase: implication for syndesmophyte formation and vascular calcification [J]. *Lab Invest*, 2011, 91(10): 1434-1442.
- [25] Towler DA. Vascular calcification: it's all the RAGE! [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(2): 237-239.

(收稿:2013-01-29 修回:2013-02-18)

(本文编辑:丁媛媛)