

主动脉瓣膜间质细胞成骨分化机制的研究进展

程红章 唐燕华

【摘要】 钙化性主动脉瓣疾病(CAVD)被认为是与衰老相关的退行性变和被动的钙盐沉积。随着研究的深入,发现瓣膜钙化是一种包含瓣膜内皮损伤、脂质浸润、慢性炎症反应、细胞凋亡、细胞分化和新血管形成等的病理过程。主动脉瓣膜间质细胞(AVIC)的成骨分化作用在 CAVD 的发展中具有重要作用,其成骨分化机制涉及脂质氧化、炎症因子、表观遗传调控失调以及基因突变等。该文介绍 AVIC 成骨分化机制的研究进展。

【关键词】 钙化性主动脉瓣疾病;瓣膜间质细胞;成骨分化

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2020.06.007

钙化性主动脉瓣疾病(CAVD)不仅是瓣膜疾病,也是左心室疾病。主动脉瓣狭窄会导致左心室慢性负荷增加,引起左心室代偿性肥大,导致心肌氧供需不匹配,引起心肌细胞凋亡、坏死和心肌纤维化等^[1]。目前,尚无有效预防和缓解 CAVD 的药物,瓣膜置换是唯一选择,提高对该病的认识,找到药物治疗的有效靶点极为重要。

CAVD 的发病机制复杂,涉及多个方面。主动脉瓣膜间质细胞(AVIC)是瓣膜小叶内的主要细胞,在某些基因发生突变或受到多种因素,如脂蛋白 a、氧化低密度脂蛋白、氧化高密度脂蛋白、高钙/高磷、白细胞介素(IL)及肿瘤坏死因子(TNF)等刺激时可发生成骨细胞样转化。AVIC 的成骨分化作用在疾病发展中起关键作用,参与钙结节的形成,是瓣膜钙化的关键细胞^[2]。有效抑制 AVIC 的成骨分化有望成为 CAVD 的治疗靶点,本文介绍 AVIC 成骨分化机制。

1 脂质

1.1 脂蛋白 a

脂蛋白 a 由低密度脂蛋白(LDL)的载脂蛋白 B-100和载脂蛋白 A 通过二硫键共价连接而成,可作为氧化磷脂的载体。脂蛋白 a 是多种心脑血管疾病的独立危险预测因子,其血浆水平与脂蛋白 a 基因多态性有关^[3]。脂蛋白 a 和氧化磷脂能加快主动脉瓣狭窄的进展^[4-5]。Yu 等^[6]证明脂蛋白 a 与主动脉瓣钙化存在因果关系,体外研究提示脂蛋白 a

基因在患病主动脉瓣内表达上调,脂蛋白 a 促进 AVIC 成骨分化与 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)和糖原合成酶激酶-3(GSK-3 β)有关,在无氧化磷脂的情况下,脂蛋白 a 也会导致 AVIC 钙化。而 Torzewski 等^[7]研究发现去除脂蛋白 a 上的氧化磷脂能减弱脂蛋白 a 的促钙化作用。上述研究表明氧化磷脂和脂蛋白 a 在促进瓣膜钙化中具有协同作用。

1.2 氧化高密度脂蛋白

高密度脂蛋白能逆向转运胆固醇,抑制动脉粥样硬化的形成,但是当体内氧化应激增加时,高密度脂蛋白可被氧化成氧化高密度脂蛋白,产生致病性,参与多种心血管疾病的病理过程。Sun 等^[8]研究发现血浆氧化高密度脂蛋白水平与 CAVD 发病率呈正相关,氧化高密度脂蛋白能刺激 AVIC 上调骨形态发生蛋白(BMP-2)、矮小相关转录因子(Runx2)和肌节同源结构域同源框基因 2(Msx2)的表达,促进瓣膜钙化,而未被修饰的高密度脂蛋白能抑制钙化。目前研究只发现氧化高密度脂蛋白能够刺激 AVIC 的成骨分化作用,但具体机制尚不明确,推测可能与氧化低密度脂蛋白刺激成骨分化机制类似,与细胞膜上的 Notch 同源物 1(Notch1)和 toll 样受体(TLR)有关。

2 IL

内皮细胞损伤后大量的炎症细胞进入瓣膜组织,炎症细胞以巨噬细胞为主,释放大量的炎症因子包括 IL、TNF 及细胞趋化因子等,参与瓣膜钙化的形成。体外实验发现 IL-33 可诱导猪 AVIC 向肌成纤维细胞和成骨细胞转化, α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、矮小相关转录因子(Runx2)和骨桥蛋白(OPN)的表达上

调,这依赖于细胞核因子 κ B(NF- κ B)和 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)信号通路的激活^[9]。IL-37 是一种抗炎性细胞因子,能抑制炎症反应。研究发现 IL-37 在患病瓣膜内表达减少,通过抑制 NF- κ B 和细胞外信号调节激酶 1/2(ERK1/2)信号来抑制 AVIC 的成骨分化^[10-11]。因此,IL-37 可能通过抑制 NF- κ B 信号通路来抑制 IL-33 的促成骨分化作用。当瓣膜内促炎和抗炎的平衡被打破后,AVIC 将长期处于慢性炎症状态,并促进瓣膜的钙化。

3 表观遗传学

3.1 微小 RNA(miRNA)

miRNA 为短链非编码 RNA,可在转录后水平抑制靶基因翻译,参与调节多种生理和病理过程。研究表明,多种 miRNA 与 CAVD 的发病机制有关,不同 miRNA 能促进或能抑制 AVIC 的成骨分化。miR-30b 和 miR-141 可分别抑制 Runx2 和 BMP2 的表达^[12-13];miR-138 可靶向抑制 FOXC1 的表达,miR-204 可抑制 Runx2 和成骨细胞特异性转录因子 Osterix(Osx)的表达,从而抑制 AVIC 成骨分化^[14-15]。而 Song 等^[16]研究发现,miR-486 可通过磷酸酶和张力蛋白同源基因(PTEN)-丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(Akt)途径上调 α -SMA 的表达,促进 AVIC 的成骨分化。He 等^[17]研究发现,长链非编码 RNA(lncRNA)肌动蛋白纤维相关蛋白 1-反义 RNA1(AFAP1-AS1)在钙化的主动脉瓣中表达增加,lncRNA AFAP1-AS1 可通过调节 miR-155/母亲 DPP 同源物 5(SMAD5)轴促进人 AVIC 的成骨分化。因此,miRNA 能通过抑制相关基因的转录后翻译促进或抑制 AVIC 的成骨分化作用,但 miRNA 的调控机制尚不完全明确,调控 AVIC 内相关 miRNA 的表达水平可抑制 CAVD 的进展,这为预防和延缓瓣膜钙化提供了新的思路。

3.2 DNA 甲基化失调

DNA 甲基化是一种重要的表观遗传调控方式,是以 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)为甲基供体,经 DNA 甲基转移酶的调节,将供体的甲基转移到基因组 CpG 二核苷酸的胞嘧啶上,使之变为 5-甲基胞嘧啶。DNA 甲基化可在转录前水平调节基因的表达,一般情况下,高表达基因呈低甲基化状态,而低表达基因呈高甲基化状态。Notch1 信号通路在调节瓣膜发育和瓣膜钙化中具有重要作用^[18]。Zhou 等^[19]研究发现 CAVD 瓣膜组织中甲基转移酶表达增加,导致 Notch1 启动子甲基化,AVIC 内 Notch1 表达减少,

Notch 胞内结构域(NICD)释放随之减少,从而促进 Wnt/ β -连环蛋白信号通路激活和成骨分化因子表达,促进 AVIC 成骨分化。Hadiji 等^[20]发现在矿化的主动脉瓣中,lncRNA H19 启动子区存在低甲基化,导致 CAVD 瓣膜组织中 lncRNA H19 增加,阻止 p53 与 Notch1 启动子的结合,抑制了基因的表达,导致 Notch1 下游靶基因 HEY1 的表达下调,HEY1 作为 BMP2 和 Runx2 的抑制物,其表达下调促进了 BMP2 和 Runx2 的表达。DNA 甲基化失调还普遍存在于其他心血管疾病中,与主动脉夹层、二叶主动脉瓣、心房颤动和风湿性心脏病等疾病的发生、发展有关^[21-22]。CAVD 中可能还存在其他未知基因的甲基化修饰,并参与瓣膜的钙化。

3.3 组蛋白乙酰化

组蛋白乙酰化是另外一种表观遗传学调控方式。慢性终末期肾病患者常并发多种心血管疾病,包括冠状动脉粥样硬化性心脏病、动脉硬化以及 CAVD 等,可能与体内钙磷代谢紊乱有关^[23]。Cui 等^[24]发现高钙可以促进 AVIC 成骨分化和释放基质囊泡,加速瓣膜的钙化。目前研究认为钙磷代谢紊乱是导致 AVIC 组蛋白乙酰化的重要因素。Gu 等^[25]发现人类钙化的 AVIC 中存在组蛋白 3 和组蛋白 4 的乙酰化增加,但不确定是否与主动脉瓣钙化有关。体外研究发现,用高钙/高磷酸盐培养基处理猪 AVIC 可诱导钙沉积、细胞凋亡和成骨标记基因的表达;而进一步使用组蛋白乙酰转移酶 p300 抑制剂(C646)处理能提高组蛋白去乙酰化酶的水平,降低由高钙/高磷酸盐处理诱导的组蛋白 3 和组蛋白 4 的乙酰化,抑制成骨分化。相反,使用组蛋白去乙酰化酶抑制剂辛二酰苯胺异羟肟酸(SAHA)能促进 AVIC 钙化。该研究同时发现在腺嘌呤和维生素 D 诱导主动脉瓣钙化的小鼠模型中,钙化的主动脉瓣中乙酰化组蛋白 3 和组蛋白 4 的水平增加,用 C646 处理可降低乙酰化组蛋白 3 和组蛋白 4 的水平,减轻主动脉瓣钙化^[25]。这些研究表明组蛋白 3 和组蛋白 4 乙酰化的增加是钙磷代谢紊乱的主动脉瓣钙化发病机制的一部分,但钙磷代谢紊乱如何增加组蛋白乙酰化的机制尚不明确,有待进一步研究。靶向抑制组蛋白 3 和组蛋白 4 乙酰化可能是治疗慢性肾脏疾病患者主动脉瓣钙化的潜在方法。

4 其他

华法林是一种维生素 K 的抑制剂,可以通过抑

制部分凝血因子的生物合成起到抗凝的作用,同时华法林还可以抑制维生素 K 依赖蛋白基质 Gla 蛋白的合成和功能。蛋白基质 Gla 蛋白是组织钙化重要的抑制因子,蛋白基质 Gla 蛋白可以与羟基磷灰石(HAP)结合减少钙盐的沉积,与糖蛋白 MBP-2 结合抑制成骨分化。研究发现,华法林还能通过促进 p53 平表达增加,诱导 Slug 基因的表达上调,促进 AVIC 表达成骨分化相关基因,加快 CAVD 的进展^[26-27]。

Bogdanova 等^[28]发现单独的机械应力不会影响 AVIC 成骨基因的表达,但能协同炎症反应促进瓣膜钙化。基因突变与瓣膜钙化也有一定联系。Irtyuga 等^[29]研究表明,Notch1 的突变在主动脉瓣钙化的形成和进展中发挥重要作用,推测与骨保护素/NF- κ B 受体活化因子配体/NF- κ B 受体活化因子(OPG/RANKL/RANK)系统的失调有关。另外,人 AVIC 还可在瘦素刺激下依赖 Akt 和 ERK 发生成骨分化^[30-31]。

5 小结

AVIC 的成骨分化作用在 CAVD 中起关键作用。刺激 AVIC 成骨分化的因素涉及到脂质浸润、表观遗传调节失调、慢性炎症反应等。目前尚无可有效预防和减缓 CAVD 的药物。了解主动脉瓣膜钙化的发病机制是药物研发的前提,随着研究的不断深入,相信未来能发现有效的治疗靶点。

参 考 文 献

- [1] Shen M, Tastet L, Bergler-Klein J, et al. Blood, tissue and imaging biomarkers in calcific aortic valve stenosis[J]. *Curr Opin Cardiol*, 2018, 33(2):125-133.
- [2] Rutkovskiy A, Malashicheva A, Sullivan G, et al. Valve interstitial cells: the key to understanding the pathophysiology of heart valve calcification[J]. *J Am Heart Assoc*, 2017, 6(9):e006339.
- [3] Ozkan U, Ozelik F, Yildiz M, et al. Lipoprotein(a) gene polymorphism increases a risk factor for aortic valve calcification[J]. *J Cardiovasc Dev Dis*, 2019, 6(3):31.
- [4] Capoulade R, Chan KL, Yeang C, et al. Oxidized phospholipids, lipoprotein (a), and progression of calcific aortic valve stenosis[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2015, 66(11):1236-1246.
- [5] Schnitzler JG, Ali L, Groenen AG, et al. Lipoprotein(a) as orchestrator of calcific aortic valve stenosis [J]. *Biomolecules*, 2019, 9(12):760.
- [6] Yu B, Hafiane A, Thanassoulis G, et al. Lipoprotein(a) induces human aortic valve interstitial cell calcification[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2017, 2(4):358-371.
- [7] Torzewski M, Ravandi A, Yeang C, et al. Lipoprotein(a) associated molecules are prominent components in plasma and valve leaflets in calcific aortic valve stenosis[J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2017, 2(3):229-240.
- [8] Sun JT, Chen YY, Mao JY, et al. Oxidized HDL, as a novel biomarker for calcific aortic valve disease, promotes the calcification of aortic valve interstitial cells[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2019, 12(6):560-568.
- [9] He YB, Guo JH, Wang C, et al. IL-33 promotes the progression of nonrheumatic aortic valve stenosis via inducing differential phenotypic transition in valvular interstitial cells[J]. *J Cardiol*, 2020, 75(2):124-133.
- [10] Zeng Q, Song R, Fullerton DA, et al. Interleukin-37 suppresses the osteogenic responses of human aortic valve interstitial cells in vitro and alleviates valve lesions in mice[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(7):1631-1636.
- [11] Zhan Q, Zeng QC, Song R, et al. IL-37 suppresses MyD88-mediated inflammatory responses in human aortic valve interstitial cells[J]. *Mol Med*, 2017, 23:83-91.
- [12] Zhang M, Liu XH, Zhang XW, et al. MicroRNA-30b is a multifunctional regulator of aortic valve interstitial cells[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2014, 147(3):1073-1080.
- [13] Yanagawa B, Lovren F, Pan Y, et al. miRNA-141 is a novel regulator of BMP-2-mediated calcification in aortic stenosis[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2012, 144(1):256-262.
- [14] Lu P, Yin B, Liu LQ. MicroRNA-138 suppresses osteoblastic differentiation of valvular interstitial cells in degenerative calcific aortic valve disease[J]. *Int Heart J*, 2019, 60(1):136-144.
- [15] Song R, Zhai YF, Ao LH, et al. MicroRNA-204 deficiency in human aortic valves elevates valvular osteogenic activity[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 21(1):76.
- [16] Song R, Fullerton DA, Ao LH, et al. Altered MicroRNA expression is responsible for the pro-osteogenic phenotype of interstitial cells in calcified human aortic valves[J]. *J Am Heart Assoc*, 2017, 6(4):e005364.
- [17] He W, Li F, Zhang SB, et al. LncRNA AFAP1-AS1 promotes osteoblast differentiation of human aortic valve interstitial cells through regulating miR-155/SMAD5 axis[J]. *Mol Cell Probes*, 2020, 50:101509.
- [18] Aquila G, Kostina A, Veceli DF, et al. The notch pathway: a novel therapeutic target for cardiovascular diseases? [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2019, 23(8):695-710.
- [19] Zhou Y, Li JM, Zhou K, et al. The methylation of Notch1 promoter mediates the osteogenesis differentiation in human aortic valve interstitial cells through Wnt/ β -catenin signaling[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11):20366-20376.
- [20] Hadji F, Boulanger MC, Guay S, et al. Altered DNA methylation of long noncoding RNA H19 in calcific aortic valve disease promotes mineralization by silencing NOTCH1[J]. *Circulation*, 2016, 134(23):1848-1862.
- [21] Pan S, Lai H, Shen Y, et al. DNA methylome analysis reveals distinct epigenetic patterns of ascending aortic

dissection and bicuspid aortic valve[J]. Cardiovasc Res, 2017, 113(6):692-704.

[22] Shen K, Tu T, Yuan ZS, et al. DNA methylation dysregulations in valvular atrial fibrillation[J]. Clin Cardiol, 2017, 40(9):686-691.

[23] Urega-Torres P, D’marco L, Raggi P, et al. Valvular heart disease and calcification in CKD: more common than appreciated[J]. Nephrol Dial Transplant, 2019, Jul 21. [Epub ahead of print].

[24] Cui L, Rashdan NA, Zhu DX, et al. End stage renal disease-induced hypercalcemia may promote aortic valve calcification via Annexin V enrichment of valve interstitial cell derived-matrix vesicles [J]. J Cell Physiol, 2017, 232 (11): 2985-2995.

[25] Gu J, Lu Y, Deng MQ, et al. Inhibition of acetylation of histones 3 and 4 attenuates aortic valve calcification[J]. Exp Mol Med, 2019, 51(7):79.

[26] Tastet L, Pibarot P, Shen M, et al. Oral anticoagulation therapy and progression of calcific aortic valve stenosis[J]. J Am Coll Cardiol, 2019, 73(14):1869-1871.

[27] Gao L, Ji Y, Lu Y, et al. Low-level overexpression of p53 promotes warfarin-induced calcification of porcine aortic valve interstitial cells by activating Slug gene transcription[J]. J Biol Chem, 2018, 293(10):3780-3792.

[28] Bogdanova M, Kostina A, Zihlavnikova Enayati K, et al. Inflammation and mechanical stress stimulate osteogenic differentiation of human aortic valve interstitial cells[J]. Front Physiol, 2018, 9:1635.

[29] Irtyuga O, Malashicheva A, Zhiduleva E, et al. NOTCH1 mutations in aortic stenosis: association with osteoprotegerin/RANK/RANKL[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017:6917907.

[30] 李明科, 周景昕, 吴延虎. 瘦素对主动脉瓣膜间质细胞表型转化的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2017, 37 (8):976-979.

[31] Rosa M, Paris C, Sottejeau Y, et al. Leptin induces osteoblast differentiation of human valvular interstitial cells via the Akt and ERK pathways[J]. Acta Diabetol, 2017, 54 (6):551-560.

(收稿:2020-04-09 修回:2020-08-26)
(本文编辑:胡晓静)





THE LIFE WILL BE MORE BEAUTIFUL

不吸烟，生活更美好

