2024, 29(1): 90.
[32] GRAY W A, GRANADA J F. Drug-coated balloons for the prevention of vascular restenosis[J]. Circulation, 2010, 121(24): 2672-2680.
[33] MILLS J L, CONTE M S, MURAD M H. Critical review and evidence implications of paclitaxel drug-eluting balloons and stents in peripheral artery disease[J]. J Vasc Surg, 2019, 70(1): 3-7.
[34] WÖHRLE J. Drug-coated balloons for coronary and peripheral interventional procedures[J]. Curr Cardiol Rep, 2012, 14(5): 635-641.
[35] MENEGUZ-MORENO R A, RIBAMAR COSTA J, ABIZAID A. Drug-coated balloons: Hope or hot air: Update on the role of coronary DCB[J]. Curr Cardiol Rep, 2018, 20(10): 100.
[36] SCHELLER B, HEHRLEIN C, BOCKSCH W, et al. Two year follow-up after treatment of coronary in-stent restenosis with a paclitaxel-coated balloon catheter[J]. Clin Res Cardiol, 2008, 97(10): 773-781.
[37] CREMERS B, BIEDERMANN M, MAHNKOPF D, et al. Comparison of two different paclitaxel-coated balloon catheters in the porcine coronary restenosis model[J]. Clin Res Cardiol, 2009, 98(5): 325-330.
[38] PLEVA L, KUKLA P, KUSNIEROVA P, et al. Comparison of the efficacy of paclitaxel-eluting balloon catheters and everolimus-eluting stents in the treatment of coronary in-stent restenosis: the treatment of in-stent restenosis study[J]. Circ Cardiovasc Interv, 2016, 9(4):e003316.
[39] WASEDA K, HASEGAWA T, AKO J, et al. Comparison of vascular response to zotarolimus-eluting stent vs paclitaxel-eluting stent implantation: pooled IVUS results from the ZoMaxx I and II trials[J]. Circ J, 2010, 74(11):2334-2339.

收稿日期：2024-02-28
（本文编辑：陈志翔）

TGF-β家族在血管钙化中的作用研究

陈铭家，周建庆，杨曦

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.06.040
【中图分类号】 R543 【文献标志码】 C 【文章编号】 1671-0800(2024)06-0837-04

血管钙化广泛存在于各种心血管病中，是血管细胞和组织的一种退行性改变，表现为血管壁僵硬度增加，顺应性减低，且易引起组织出血，造成斑块破裂、血栓形成。在血管钙化过程中，血管细胞会发生成骨样表型转化，在此期间细胞局部钙磷沉积增加，基质囊泡出现，细胞内碱性磷酸酶表达增加，骨分化相关蛋白表达增加。TGF-β家族是一种出现在多细胞生物进化早期的生物信号分子。最近研究发现，TGF-β信号通路的激活是血管钙化的重要动因。本文对TGF-β家族在血管钙化中的作用进行综述。

1 血管钙化

血管钙化是由多种细胞与细胞因子调节的位于骨骼外的主动骨化过程，主要表现为成骨化细胞的形成与钙盐沉积[1]。在外界成骨化因素的持续作用下，异常的钙盐沉积可逐渐累及整个血管。根据钙化病灶的面积与密度可将血管钙化分为微钙化（≤0.5 mm）和大钙化（＞0.5 mm）。微钙化主要由血管退行性炎症斑块构成，而大钙化则是一种类似于骨矿化的过程[2]。根据钙化的解剖学分类可将血管钙化分为内膜钙化、中膜钙化、钙化性主动脉瓣疾病及钙化防御[3]。内膜钙化是成骨化与慢性炎症共同作用的结果。在糖尿病环境中，巨噬细胞半乳凝素3上调，促进血管平滑肌细胞来源的细胞外囊泡（EV）向内膜迁移，从而诱导血管内膜发生钙化[4]。中膜钙化的发生与炎症和脂质聚集密不可分。过去人们认为，由于病灶位于血管中膜，中膜钙化不会引起血管狭窄或血栓形成；而最新有研究表明，中膜钙化对血管的影响更多在降低血管弹性，引发心力衰竭、血液停滞，进而导致血栓形成[3]。钙化性主动脉瓣疾病是影响心脏瓣膜的最常见疾病，其特征是主动脉瓣小叶增厚、纤维化和矿化[5]。钙化防御是一种与慢性肾病有关的危重并发症，主要由钙沉积在真皮和脂肪微血管系统中而发生的，该疾病的特征在于皮肤、皮下脂肪组织、骨骼肌和其他器官的缺血性坏死[6-7]。

在细胞衰老、氧化应激、线粒体功能障碍、机械应力、尿毒症及细胞凋亡等因素作用下，血管平滑肌

基金项目： 宁波市科技计划项目（2023J217）
作者单位： 315040 宁波，宁波市医疗中心李惠利医院
通信作者： 周建庆，Email：zhoujianqing8878@163.com

细胞（VSMC）内的钙盐、磷酸盐逐渐沉积，Runt相关转录因子2（RUNX2）、骨形态发生蛋白-2（BMP-2）等成骨化细胞因子分泌增加，VSMC逐渐向成骨细胞转化，引起血管钙化[8-10]。研究也表明，血管内皮细胞（EC）也参与血管钙化的形成与调节[11]。内皮间质转化（EndMT）是EC参与血管钙化最主要的过程，在慢性肾脏病环境中，外界因素刺激及VSMC释放的白介素（IL）-6、IL-β等炎症因子和细胞外囊泡诱导EC向间质细胞转化，同时也释放出IL-8、BMP、血管内皮生长因子（VEGF）等细胞因子反作用于VSMC，使更多的VSMC加入到血管钙化的过程中[12]。正因血管中最重要的两种细胞串扰作用，才导致血管钙化从一个微小的病灶逐渐蔓延至整个血管。

2 TGF-β家族

人类的TGF-β家族包含了33种编码同二聚体或者异二聚体分泌细胞因子的基因[13]，包括激活素、骨形态发生蛋白（BMPs）、生长分化因子（GDFs）、苗勒管抑制物质（MIS）及TGF-βs。TGF-β通过由两种不同蛋白质组成的受体复合物发出其生物信号，这两种蛋白质被称为TGF-βII型受体（TGFβRII）及TGF-βI型受体（TGFβRI，也称为激活素受体样激酶5，ALK-5），这两种受体在所有类型的细胞中都有表达[14]。而在内皮细胞中，还有另一种TGF-βI型受体，称为重组人激素活素受体样激酶（ALK-1）[15]。

SMAD蛋白是TGF-β信号通路中一种非常重要的效应分子，也是目前为止少数被发现作为I型受体激酶底物的蛋白。SMAD蛋白可以分为3类。（1）R-SMAD：SMAD1、2、3、5、8；（2）共同介质SMAD：Co-SMAD4；（3）抑制性SMAD：I-SMAD6、7。通过SMAD蛋白传递TGF-β生物信号的通路被称为SMAD通路（图1）。除了激活SMAD通路，TGF-β信号的传递也可以通过多种其他的信号通路，这些通路被称为非SMAD TGF-β信号通路，包括ERK/MAP激酶信号通路、JNK和p38 MAP激酶信号通路、PI3K-AKT通路、TGF-βI型受体胞内结构域信号转导通路等。

3 TGF-β家族对血管钙化的调节作用

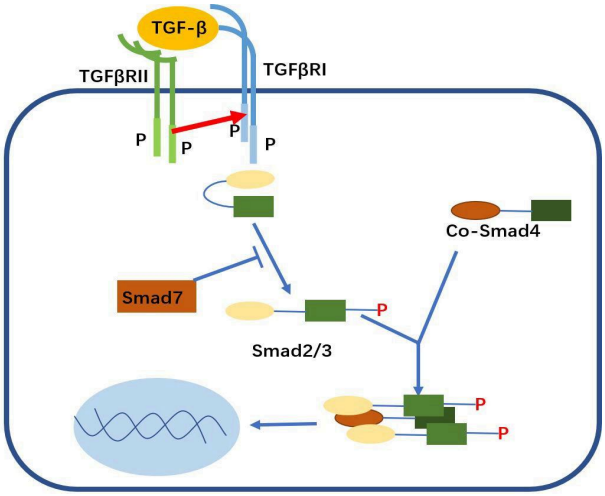
TGF-β家族作为可调控多种细胞分化增殖的一类重要信号因子，在血管钙化中扮演的重要角色。在炎症刺激中，以BMP为首的TGF-β各族成员，尤其是BMP-2、BMP-4、BMP-6，可调节各种炎症因子并与其发生相互反应，诱导细胞成骨化从而促进血管钙化和软骨样骨化[16-17]。EC释放一氧化氮激活VSMC中TGF-β信号通路，而诱导VSMC发生成骨化和钙化[11]。TGF-β信号通路可以在多种不同的细胞中起作用，包括EC、VSMC和各种免疫细胞。

3.1 TGF-β家族对血管平滑肌细胞的作用

VSMC是血管钙化的主要参与者。VSMC在受到外界成骨化刺激后分化为成骨样细胞，然后在血管内侧沉积为钙化沉积物，会导致血管僵硬。而在动脉粥样硬化（AS）的过程中，炎症、凋亡、氧化应激等刺激也会诱导VSMC分化为成骨样细胞，这会削弱粥样斑块壁结构，从而更易引发斑块破裂[12,18]。

TGF-β家族可以促进VSMC发生钙化。He等[19]发现未透析患者血清TGF-β1水平远高于透析患者，其通过激活VSMC的Wnt/β-连环蛋白信号通路，诱导了血管钙化。也有研究发现，乳脂球-表皮生长因子8（MFG-E8）可以通过上调基质金属蛋白酶2（MMP2）促进TGF-β1/SMAD信号通路的激活，导致VSMC更易发生钙化。反之，低表达的MFG-E8抑制血管钙化，抵抗外界钙化刺激因素的伤害[20]。在Micro-RNA-155-5p抑制血管钙化的研究中，也观测到TGF-β1/SMAD信号通路的失活[21]。

大量研究表明，BMP-2可促进VSMC分化为成



注：TGF-β与刺激细胞膜上的II型受体首先结合，活化I型受体，激活Smad2/3，Smad7可抑制这一过程，活化的Smad2/3与Co-smad4形成三聚体进入细胞核中调控TGF-β靶基因的表达

图1 SMAD通路

骨细胞[22]。在氧化应激和内质网应激环境下，BMP-2可增强成骨细胞主转录调节因子RUNX 2的表达，从而促进VSMC钙化[23]。而另一种亚型BMP-7则被发现对血管钙化起到抑制效果，这可能与它对骨骼重塑、降低血清磷酸盐浓度的作用有关[24]。

TGF-β家族对VSMC的促钙化作用也似乎并非是绝对的。Li等[25]使用LincRNA-EPS抑制糖尿病小鼠血管钙化的过程中发现，LincRNA-EPS可以通过激活TGF-β起到抑制炎症的效果，从而抑制小鼠的VSMC钙化。但这种特殊结果可能更多与该实验的设计有关，并不真正代表激活TGF-β与VSMC钙化受到抑制这二者存在直接的因果关系。

3.2 TGF-β家族对血管内皮细胞的作用 EC往往通过内皮间质转化过程参与到血管钙化中[26]，它们可以分化为成骨化细胞直接参与钙化，也可以在外界成骨化刺激下产生一系列细胞因子（IL-8、BMP、NO等）影响周围的VSMC，诱导VSMC发生成骨化以间接促进钙化的发生[12]。TGF-β家族对于EC发生EndMT的促进作用已被大众广泛认知，并且逐渐被认为是EndMT过程的重要调节物质[27]。TGF-β家族可以同时通过经典的TGF-β/SMAD信号通路及非SMAD依赖性通路，如MAPK-ERK通路、p38 MAPK通路等，激活EndMT过程。在3种TGF-β的哺乳动物亚型（TGF-β1、2、3）中，TGF-β2对于诱导间充质转录因子（Snail、FoxC2）表达的作用被发现明显强于另外两者[28]。

TGF-β家族中的亚型BMP除了调控VSMC，同样可以促进EC成骨样分化的发生[29]。在炎症中，促炎细胞因子TNF-α和IL-8可以诱导EC发生EndMT，从而增强BMP-9对于其的成骨化诱导。BMP的信号传导与2种I型受体ALK1、ALK2及3种II型受体BMPR2、ACVR2A、ACVR2B相关。Sánchez-Duffhues等[30]发现，在上述成骨化的过程中BMPR2被下调，而另外2种II型受体则不受影响。进一步的研究则证明，BMPR2下调在TNF-α诱导EC发生EndMT过程中是必需的，而BMPR2过表达则可以部分阻止EndMT。

3.3 TGF-β家族对免疫细胞的作用 嗜酸性粒细胞作为一种免疫细胞，通常被认为是过敏反应的特征，分布于淋巴、呼吸道、血液循环中，也可迁移至炎症部位。血液中嗜酸性粒细胞的上升可能代表了心血管疾病的发生，如心肌炎、心肌纤维化、系统性血管炎等[31-32]。Meng等[33]分别在小鼠实验与人VSMC细胞实验中发现，嗜酸性粒细胞的BMPR-1A/1B-Smad-1/5/8-Runx 2信号通路激活后，细胞可释放阳离子蛋白（ECP），ECP可与VSMC的BMP受体结合，促进VSMC发生成骨化或钙化，促进血管钙化的发生。许多免疫细胞都与血管钙化有着紧密联系，尤其是淋巴细胞与巨噬细胞[34]。TGF-β家族作为调节免疫细胞的重要细胞因子，在血管钙化过程中与免疫细胞的关系却少见报道，这可能是未来一个新的研究方向。若能找到TGF-β家族调节免疫细胞以促进或预防血管钙化的更多证据，则更有可能找到血管钙化的药物治疗新方向。

4 总结

TGF-β家族是一个与细胞生长、组织纤维化及肿瘤生长密切相关的细胞调控家族。其对于血管钙化的作用也逐渐被人们所明确，可通过炎症、细胞凋亡、氧化应激等途径促进血管钙化的发展。现今人们的研究主要在TGF-β家族对于VSMC钙化的影响，但对其作用的认知存在分歧—TGF-β家族对血管钙化的影响似乎是正向的，但其本身存在的抑炎作用又反过来抑制血管钙化。这两种作用是如何协调并最终影响血管钙化进程的，这一点并未见明确研究。而TGF-β家族对于EC钙化的影响则更多聚焦在EndMT过程上，其是否能进一步诱导EC向成骨化细胞分化的证据也并不充分。因此，TGF-β及其信号通路在血管钙化中起到的具体作用及其重要性仍需进行更深的探索，以明确其能否作为治疗血管钙化的靶点。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

[1] JIANG H, LI L H, ZHANG L L, et al. Role of endothelial cells in vascular calcification[J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 895005.

[2] MONTANARO M, SCIMECA M, ANEMONA L, et al. The paradox effect of calcification in carotid atherosclerosis: Microcalcification is correlated with plaque instability[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(1): 395.

[3] DÜSING P, ZIETZER A, GOODY P R, et al. Vascular pathologies in chronic kidney disease: Pathophysiological mechanisms and

novel therapeutic approaches[J]. J Mol Med, 2021, 99(3): 335-348.
[4] SUN Z, LI L H, ZHANG L L, et al. Macrophage galectin-3 enhances intimal translocation of vascular calcification in diabetes mellitus[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2020, 318(5): H1068-H1079.
[5] MONCLA L M, BRIEND M, BOSSE Y, et al. Calcific aortic valve disease: mechanisms, prevention and treatment[J]. Nat Rev Cardiol, 2023, 20(8): 546-559.
[6] GALLO MARIN B, AGHAGOLI G, HUS L, et al.Calciphylaxis and kidney disease: a review[J]. Am J Kidney Dis,2023,81(2): 232-239.
[7] KODUMUDIV, JEHAG M, MYDLO N, et al. Management of cutaneous calciphylaxis[J]. Adv Ther,2020,37(12):4797-4807.
[8] LIU Y Z, LI Z X, ZHANG L L, et al. Phenotypic plasticity of vascular smooth muscle cells in vascular calcification: role of mitochondria[J]. Front Cardiovasc Med, 2022, 9: 972836.
[9] SUTTON N R, MALHOTRA R, ST HILAIREC, et al. Molecular mechanisms of vascular health: insights from vascular aging and calcification[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2023,43(1):15-29.
[10] TANG H Y, CHEN A Q, ZHANG H, et al. Vascular smooth muscle cells phenotypic switching in cardiovascular diseases[J]. Cells, 2022, 11(24): 4060.
[11] MENG F X, ZHAO Y G, WANG B, et al. Endothelial cells promote calcification in aortic smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 49(6): 2371-2381.
[12] ZHANG Y X, TANG R N, WANG L T, et al. Role of crosstalk between endothelial cells and smooth muscle cells in vascular calcification in chronic kidney disease[J]. Cell Prolif, 2021, 54(3): e12980.
[13] DERYNCK R, BUDI E H. Specificity, versatility, and control of TGF-β family signaling[J]. Sci Signal, 2019, 12(570): eaav5183.
[14] HELDIN C H,MOUSTAKAS A. Signaling receptors for TGF-β family members[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2016, 8(8): a022053.
[15] GOUMANS M J, VALDIMARSDOTTIR G, ITOH S, et al. Activin receptor-like kinase (ALK)1 is an antagonistic mediator of lateral TGFbeta/ALK5 signaling[J]. Mol Cell,2003,12(4):817-828.
[16] YANG P R, TRONCONE L, AUGUR Z M, et al. The role of bone morphogenetic protein signaling in vascular calcification[J]. Bone, 2020, 141: 115542.
[17] YUNG L M, SANCHEZ-DUFFHUES G, TEN DIJKE P, et al. Abstract 19603: Bone morphogenetic protein 6 and oxidized low-density lipoprotein synergistically recruit osteogenic differentiation in endothelial cells[J]. Circulation, 2015,108(2):278-287.
[18] 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.
[19] HE F, LI L, LI P P, et al. Cyclooxygenase-2/sclerostin mediates TGF-β1-induced calcification in vascular smooth muscle cells and rats undergoing renal failure[J]. Aging, 2020, 12(21): 21220-21235.
[20] CHIANG H Y, CHU P H, CHEN S C, et al. MFG-E8 promotes osteogenic transdifferentiation of smooth muscle cells and vascular calcification by regulating TGF-β1 signaling[J]. Commun Biol, 2022, 5(1): 364.
[21] ZHAO F L, WU Y, YANG W, et al. Inhibition of vascular calcification by microRNA-155-5p is accompanied by the inactivation of TGF-β1/Smad2/3 signaling pathway[J]. Acta Histochem, 2020, 122(4): 151551.
[22] ZHOU N, LI Q, LIN X, et al. BMP2 induces chondrogenic differentiation, osteogenic differentiation and endochondral ossification in stem cells[J]. Cell Tissue Res, 2016, 366(1): 101-111.
[23] LIBERMAN M, JOHNSON R C, HANDY D E, et al. Bone morphogenetic protein-2 activates NADPH oxidase to increase endoplasmic reticulum stress and human coronary artery smooth muscle cell calcification[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 413(3): 436-441.
[24] HRUSKA K A, MATHEW S, SAAB G. Bone morphogenetic proteins in vascular calcification[J]. Circ Res, 2005, 97(2): 105-114.
[25] LI Y B, XI Z W, YU Z, et al. LincRNA-EPS increases TGF-β expression to inhibit the Wnt/β-catenin pathway, VSMC osteoblastic differentiation and vascular calcification in diabetic mice[J]. Exp Ther Med, 2022, 23(6): 425.
[26] YUAN C, NI L H, ZHANG C J, et al. Vascular calcification: New insights into endothelial cells[J]. Microvasc Res, 2021, 134: 104105.
[27] MA J, SANCHEZ-DUFFHUES G, GOUMANS M J, et al. TGF-β-induced endothelial to mesenchymal transition in disease and tissue engineering[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8: 260.
[28] SABBINENI H, VERMA A, SOMANATH P R. Isoform-specific effects of transforming growth factor β on endothelial-to-mesenchymal transition[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(11): 8418-8428.
[29] CHEN G, DENG C, LI Y P. TGF-β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation[J]. Int J Biol Sci,2012,8(2): 272-288.
[30] SÁNCHEZ-DUFFHUES G, GARCÍA DE VINUESA A, VAN DE POL V, et al. Inflammation induces endothelial-to-mesenchymal transition and promotes vascular calcification through downregulation of BMPR2[J]. J Pathol, 2019, 247(3): 333-346.
[31] AMMIRATI E, MOSLEHI J J. Diagnosis and Treatment of Acute Myocarditis: A Review[J].JAMA,2023,329(13):1098-1113.
[32] SILVEIRA L H. Cardiovascular manifestations of systemic vasculitides[J]. Curr Rheumatol Rep, 2020, 22(10): 72.
[33] MENG Z J, ZHANG S Y, LI W, et al. Cationic proteins from eosinophils bind bone morphogenetic protein receptors promoting vascular calcification and atherogenesis[J]. Eur Heart J, 2023, 44 (29): 2763-2783.
[34] CAO J S, ZU X Y, LIU J H. The roles of immune cells in atherosclerotic calcification[J]. Vascular, 2022, 30(5): 902-913.

收稿日期：2024-02-04
（本文编辑：孙海儿）