

• 综 述 •

骨保护素系统与动脉粥样硬化的研究进展

罗助荣

〔摘要〕 自最初发现骨保护素(osteoprotegerin, OPG)对骨骼新陈代谢有重要的调节功能以来, OPG 在血管性疾病和钙化中发挥的重要作用已经引起了人们广泛关注。研究发现, OPG 与动脉粥样硬化(AS)具有相关性, OPG 不仅能抑制动脉粥样硬化, 而且其血清水平随着血管钙化、冠状动脉疾病、脑卒中和未来的心血管事件进展而升高。虽然这一特点的确切机制和意义尚不明确, 但在临床应用中的价值不可忽视。本文将对近年来 OPG 与 AS 关系的研究进展进行综述。

〔关键词〕 骨保护素; 动脉粥样硬化; 血管钙化; 急性冠脉综合征

中图分类号: R683.41 文献标志码: A 文章编号: 1672-271X(2010)06-0523-03

骨保护素(osteoprotegerin, OPG)作为肿瘤坏死因子(TNF)受体超家族成员, 自从成为调节骨代谢的一个重要因子后, 这一领域的新见解层出不穷。近年来研究发现, OPG 与动脉粥样硬化(AS)密切相关, 可能在冠状动脉粥样硬化性心脏病及外周动脉疾病的发生发展中起重要的调节作用。本文将就 OPG 参与 AS 机制以及在 AS 疾病发生发展过程中的作用, 现综述如下。

1 骨保护素及其配体的结构、功能、作用机制

1.1 OPG 的结构与表达 骨保护素是 1997 年 Simonet 等^[1]发现的一种含 401 个氨基酸残基的无跨膜结构的可溶性糖蛋白, 与肿瘤坏死因子受体(TNFR)超家族成员具有很高的同源性。其结构主要分为 3 个部分: N 端高度保守的半胱氨酸富集区(CRD), C 端的肝磷脂结合位点以及中间的 2 个死亡域同源区。CRD 与 TNFR 家族其他成员具有同源性, 是 OPG 与配体结合的主要作用区域, 之间通过链内及链间二硫键连接在一起, 形成特殊的配体结合域。人体中, OPG 主要在肺、心、肾、骨、骨髓骨髓和血管等组织等处表达水平较高; 在骨组织, OPG 主要由成骨细胞产生; 在血管系统, 主要由内皮细胞及平滑肌细胞产生。

1.2 OPG 配体和受体的结构与功能 核因子 kB 受体活化因子配体(ligand of receptor activator of NF-kB, RANKL)是一种有 317 个氨基酸组成的 II 型跨膜蛋白, 与 TNF 配体家族的其他成员有明显的同

源性, 分为膜结合和可溶性两部分, 可在多种组织表达, 具有诱导破骨细胞分化、发育和发挥的功能。RANKL 基因敲除(RANKL^{-/-})小鼠体内出现广泛的骨硬化, 缺乏成熟的破骨细胞, 给予 RANKL 后症状改善; 应用重组 RANKL 则使动物出现严重的骨质疏松和高钙血症^[2]。

核因子 kB 受体活化因子(receptor activator of NF-kB, RANK)是一个含有 616 个氨基酸组成的 I 型跨膜蛋白, 也是一种膜受体, 属 TNF 受体家族, 是 RANKL 发挥作用的唯一靶受体。人 RANK 基因定位于 18q 22.1, 其编码的蛋白质以 2 种方式存在于体内: 跨膜蛋白型和可溶型, 前者表达于破骨细胞前体细胞、树突状细胞、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、成纤维细胞、单核-巨噬细胞系等; 后者则存在于血液循环中, 可与 RANKL 结合, 但对破骨细胞分化起抑制作用。两者结合后, 启动 RANKL 信号转导, 促进破骨细胞的分化及骨吸收活性。

1.3 OPG 系统的作用机制 OPG/RANKL/RANK 组成了对破骨细胞的三角调节关系, 形成了一个调节细胞分化、成熟、功能的轴。RANKL 与破骨细胞骨谱系细胞表面的 RANK 结合会刺激前体破骨细胞生存、分化及活化形成成熟的破骨细胞。OPG 是 RANKL 的诱饵受体, 它可以和 RANK 竞争与 RANKL 结合, 从而阻断 RANK 与 RANKL 的结合, 由于缺乏 RANKL-RANK 产生的转录活化信号, 进而发挥抑制破骨细胞分化成熟、诱导破骨细胞凋亡的作用。OPG 不仅是 RANKL 的竞争性受体, 而且是 TNF 相关凋亡诱导配体(TRAIL)的竞争性受体, 可直接结合 TRAIL 阻止与其受体结合诱导内皮细胞凋亡, 从而通过抑制血管内皮细胞的凋亡而对抗动脉粥样硬化^[3]。

基金项目: 南京军区医学科技创新项目资助(09MA094)

作者简介: 罗助荣(1965-), 男, 安徽安庆人, 副主任医师, 从事急性冠脉综合征机制及防治策略的临床研究

作者单位: 350025 福建福州, 南京军区福州总医院内科

2 骨保护素与动脉粥样硬化的动物实验研究

为了调查护骨素在动脉粥样硬化中的作用, Bennet 等^[4]培育了同时缺乏护骨素和载脂蛋白 E (OPG^{-/-} ApoE^{-/-}) 的小鼠, 与 (OPG^{+/+} ApoE^{-/-}) 相比, OPG 能保护老年 ApoE^{-/-} 小鼠动脉粥样硬化病变不稳定进展期及钙化。最近 Ovchinnikova 等^[5]用重组 OPG 治疗高胆固醇血症-载脂蛋白 E (-/-) 小鼠研究中发现, OPG 的治疗并不影响动脉粥样硬化病变的大小, 但能促进平滑肌胶原纤维形成和纤维帽的发展, 有助于斑块的稳定。

3 骨保护素与动脉粥样硬化的临床研究

3.1 骨保护素与冠状动脉粥样硬化性心脏病 近年来的研究表明血清 OPG 水平与冠状动脉粥样硬化性疾病的严重和进展程度密切相关。上升的血清 OPG 水平不仅与冠状动脉粥样硬化的存在和程度具有相关性^[6], 且与心力衰竭的严重性相关^[7]。Ohmori 等^[8]研究发现, OPG 基因的多态性与冠状动脉疾病亦有联系。进一步的研究还表明与控制稳定动脉粥样硬化的患者相比, 急性心肌梗死、不稳定型心绞痛患者的血清 OPG 水平较高^[9-10]。最近的研究认为, 血清 OPG 水平除了能预测梗死后心力衰竭患者的生存率, 还能有力而独立地预测急性冠状动脉综合征的长期死亡率和心力衰竭的发展^[11]。

3.2 骨保护素与外周动脉粥样硬化 OPG 不仅与冠心病密切相关, 而且与外周动脉硬化有明显关系, 且与其严重程度相关。Stefan 等^[12]对 900 余例动脉粥样硬化进行 10 年的血清 OPG 水平的随访, 研究发现 OPG 水平与颈部动脉粥样硬化的进展程度呈正相关。另一项研究 Golledge 等^[13]对 44 位颈动脉粥样硬化行动脉内膜切除术并行体外试验检测颈内动脉段的 OPG, 发现有一过性缺血发作等临床症状的颈动脉粥样硬化组的 OPG 水平高于无症状组。

随后的研究着重在于 OPG 与动脉粥样硬化内皮功能的关系。Shin 等^[14]对 2 型糖尿病患者进行的代表性调查首次说明了 OPG 血清水平升高和测量血流介导的肱动脉扩张 (FMAD) 减少得出的受损内皮功能之间的关联。Golledge 等^[15]最近报道了在外周动脉硬化患者中类似的发现, 证实了血清 OPG 水平升高与 FMAD 内皮功能减退之间的相关性。

4 骨保护素在动脉粥样硬化中的作用机制

4.1 OPG 抑制骨吸收机制 OPG 通过抑制骨吸收

而抑制血管钙化。血管钙化被认为是一种积极的类似骨生成细胞介导过程, 涉及成骨相关蛋白质表达。在 OPG^(-/-) 小鼠中^[16], 对重组 OPG 和大动脉碱性磷酸酶 (ALP) 活性与钙化病变面积相关性研究中, 发现上升的血清 ALP 恢复正常, 表明 OPG 可以通过抑制 ALP 活动来抑制活跃的钙化过程。另外, OPG 可以阻碍在病态和钙化血管中增加的 RANKL 的活动, 可以在体外诱发 ALP 活动及钙化血管细胞^[17]。RANKL 在炎症激活的内皮细胞、T 淋巴细胞、平滑肌细胞等产生, RANKL mRNA 和 RANKL 蛋白在内皮细胞表达, 并可由炎症因子上调。研究表明^[18], RANKL 有促进动脉硬化作用, RANKL/OPG 比率升高, 可刺激血管细胞骨化或钙化, 刺激细胞增殖、迁移和基质重构。因此, RANKL/OPG 比率参与动脉硬化和血管钙化的过程, 并反映其活动度。

4.2 OPG 抑制细胞凋亡作用机制 大量实验研究表明^[19], 在血管系统 OPG 主要由内皮细胞和血管平滑肌细胞 (VSMC) 表达和释放, 并且在血管钙化、AS 过程中对内皮细胞和平滑肌细胞发挥复杂的自分泌和旁分泌作用, OPG 能够促进 VSMC 增殖, 并可能直接在 AS 发病机制方面对血管起保护作用^[20]。而血管内皮细胞和 VSMC 的寿命及抗凋亡能力在血管发生、修复等过程中是至关重要的环节, 该环节也可在与细胞外基质相互作用中进行调节。Zhang 等^[21]研究发现, 成纤维生长因子 (bFGF)、血管紧张素 II (Ang-II)、血小板源生长因子 (PDGF) 能刺激内皮细胞产生 OPG, 而此三种细胞因子是血管疾病的重要调节因子, 如 PDGF 可促进 VSMC 增殖迁移等而有致 AS 作用^[22-23], 因此 OPG 可能通过抑制这些致 AS 因子而抑制 AS, 对血管起保护作用。

4.3 OPG 基因的多态性 AS 与 OPG 基因多态性亦有关系。已有研究证实 OPG 基因就是其中的一种抗凋亡基因^[24], 参与许多与细胞存活有关的基因表达调控。人类 OPG 基因位于第 8 对染色体, 是含有 5 个外显子的单拷贝基因。有学者^[25]对 468 例疑诊冠状动脉粥样硬化性心脏病行冠状动脉造影确定其严重程度, 并测定血清 OPG 水平及 OPG 基因多态性, 结果发现冠心病患者 OPG 基因型 950TC/1181GC 和 950CC/1181CC 的频率显著高于非冠心病患者, Logistic 回归分析显示, 950TC/1181GC 和 950CC/1181CC 基因型是冠心病的重要危险因素, 而且发现启动子 950 位 C 等位基因与血清 OPG 水平升高相关, 即存在 c 等位基因的患者有较高的血清 OPG 水平。以上研究表明, OPG 基因的多态性直接影响着动脉粥样硬化的发生与进展。

5 结 语

骨保护素不仅是骨代谢的一个重要调节因子,而且还是一种重要的血管调节因子。目前研究表明,骨保护素可能通过调节血管细胞凋亡而参与动脉粥样硬化和动脉钙化性疾病的发生发展过程,随着研究的进展,OPG 系统可能在动脉粥样硬化性疾病的防治中发挥更重要的作用。

【参考文献】

- [1] Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density [J]. *Cell*, 1997, 89(7): 309-319.
- [2] 廖二元, 谭利华. 代谢性骨病学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 209-241.
- [3] Sato K, Niessner A, Kopecky SL, et al. TRAIL-expressing T cells induce apoptosis of vascular smooth muscle cells in the atherosclerotic plaque[J]. *J Exp Med* 2006, 203(3): 239-250.
- [4] Bennett BJ, Scatena M, Elizabeth A, et al. Osteoprotegerin inactivation accelerates advanced atherosclerotic lesion progression and calcification in older apoE^{-/-} Mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(9): 2114-2117.
- [5] Ovchinnikova O, Gylfe A, Bailey L, et al. Osteoprotegerin promotes fibrous cap formation in atherosclerotic lesions of ApoE-deficient mice-brief report[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(10): 1478-80.
- [6] Jono S, Ikari Y, Shioi A, et al. Serum osteoprotegerin levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease [J]. *Circulation*, 2002, 106(11): 1192-1194.
- [7] Helske S, Kovanen PT, Lindstedt KA, et al. Increased circulating concentrations and augmented myocardial extraction of osteoprotegerin in heart failure due to left ventricular pressure overload[J]. *Eur J Heart Fail*, 2007, 9(5): 357-363.
- [8] Ohmori R, Momiyama Y, Taniguchi H, et al. Association between osteoprotegerin gene polymorphism and coronary artery disease in Japanese men[J]. *Atherosclerosis*, 2006, 187(2): 215-217.
- [9] Crisafulli A, Micari A, Altavilla D, et al. Serum levels of osteoprotegerin and RANKL in patients with ST-elevation acute myocardial infarction[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2005, 109(4): 389-395.
- [10] Omrand T, Drazener MH, Ueland T, et al. Plasma osteoprotegerin levels in the general population: relation to indices of left ventricular structure and function[J]. *Hypertension*, 2007, 49(6): 1392-1398.
- [11] Omrand T, Ueland T, Jansson AM, et al. Circulating osteoprotegerin levels and long-term prognosis in patients with acute coronary syndromes[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51(6): 627-633.
- [12] Stefan K, George S, George W, et al. Osteoprotegerin is a risk factor for progressive atherosclerosis and cardiovascular disease[J]. *Circulation*, 2004, 109(18): 2175-2180.
- [13] Goolledge J, McCann M, Mangan S, et al. Osteoprotegerin and osteopontin are expressed at high concentrations within symptomatic carotid atherosclerosis[J]. *Stroke*, 2004, 35(7): 1636-1643.
- [14] Shin JY, Shin YG, Chung CH. Elevated serum osteoprotegerin levels are associated with vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2006, 29(4): 1664-1666.
- [15] Goolledge J, Leicht AS, Crowther RG, et al. Determinants of Endothelial Function in a Cohort of Patients with Peripheral Artery Disease[J]. *Cardiology*, 2008, 111(1): 51-56.
- [16] Orita Y, Yamamoto H, Kohno N, et al. Role of osteoprotegerin in arterial calcification: development of new animal model[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(17): 2058-2064.
- [17] Morony S, Tintut Y, Zhang Z, et al. Osteoprotegerin inhibits vascular calcification without affecting atherosclerosis in ldlr^{-/-} mice[J]. *Circulation*, 2008, 117(7): 411-420.
- [18] Jian B, Narula N, Li Q, et al. Progression of aortic valve stenosis: TGF-beta 1 is present in calcified aortic valve cusps and promotes aortic valve interstitial cell calcification via apoptosis [J]. *Ann thorac Surg*, 2003, 75(4): 457-465.
- [19] Nybo M, Rasmussen LM. Osteoprotegerin released from the vascular wall by heparin mainly derives from vascular smooth muscle cells[J]. *Atherosclerosis*, 2008, 201(1): 33-35.
- [20] Candido R, Toffoli B, Corallini F, et al. Human full-length osteoprotegerin induces the proliferation of rodent vascular smooth muscle cells both in vitro and in vivo[J]. *J Vasc Res*, 2010, 47(3): 252-261.
- [21] Zhang J, Fu M, Myles D, et al. PDGF induces osteoprotegerin expression in vascular smooth muscle cells by multiple signal pathways[J]. *FEBS Lett*, 2002, 521(2): 180-184.
- [22] Zannettino AC, Holding CA, Diamond P, et al. Osteoprotegerin (OPG) is localized to the Weibel-Palade bodies of human vascular endothelial cells and is physically associated with von Willebrand factor[J]. *J Cell Physiol*, 2005, 204(2): 714-723.
- [23] Pritzker LB, Scatena M, Giachelli CM. The role of osteoprotegerin and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in human microvascular endothelial cell survival[J]. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(6): 2834-2841.
- [24] Malyankar U, Scatena M, Suchland K, et al. Osteoprotegerin is an avb3-induced, NF-kB-dependent survival factor for endothelial cells[J]. *Biol Chem*, 2000, 275(28): 20959-20962.
- [25] 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.

(收稿日期: 2010-09-19)

(本文编辑: 潘雪飞)