



DOI:10.11714/j.issn.2095-6959.2014.05.033

http://www.lcbl.net/articles/664

骨形态发生蛋白2(BMP-2)诱导血管钙化相关机制的新进展

李岚, 刘江华, 祖旭宇, 伍莹 综述

(南华大学附属第一医院, 湖南衡阳 421001)

[摘要] 研究表明血管钙化是一个类似成骨的主动、可预防和可逆转的高度可调控的生物学过程。骨形态发生蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)家族作为转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)超家族的成员, 因具有诱导骨形成的特点而得名, 到目前为止, 已发现30余种BMP成员, 其中BMP-2是一类唯一能够单独诱导骨组织形成的局部生长因子。目前有关动脉粥样硬化及血管钙化中BMP-2作用机制的研究日益增多。本文就近年BMP-2诱导动脉钙化(arterial calcification, AC)的相关研究进展作一综述。

[关键词] 骨形态发生蛋白(BMP-2); 血管钙化; microRNA; 细胞凋亡; 蛋白C-羧基谷氨酸基质蛋白(MGP)

New progress between bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) and vascular calcification

LI Lan, LIU Jianghua, ZU Xuyu, WU Ying

(First Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang Hunan 421001, China)

Abstract Vascular calcification is an initiative, preventable, reversible and highly regulated processes as same as osteoblasts biological. Bone morphogenetic proteins (bone morphogenetic proteins, BMPs) families are members of transforming growth factor β (TGF- β) super family, because the characteristics of induced bone formation has named. Now, more than 30 species have been found, BMP-2 is a kind of local growth factor which is the only one can induce bone formation alone. Current research about the mechanism of BMP-2 in atherosclerosis and vascular calcification is increasing. In this paper, we will review the research progress about BMP-2-induced arterial calcification in recent years.

Key words Bone morphogenetic protein (BMP-2); vascular calcification; microRNA; apoptosis protein C-carboxyl glutamic acid matrix protein (MGP)

动脉钙化(arterial calcification, AC)是糖尿病、高血压、动脉粥样硬化、终末期肾病等疾病普遍存在的病理改变, 与心血管疾病高发病率和

高死亡率密切相关^[1]。多年来人们一直认为血管钙化是一个被动的磷酸钙沉积过程, 最近人们重新认识到, AC实际上是一个积极的、由细胞介导的

收稿日期 (Date of reception): 2014-05-27

通信作者 (Corresponding author): 刘江华, Email: jianghua990@126.com

类似骨形成的过程。主要涉及的是血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)表型向成骨细胞表型转化过程。BMP-2在人的血管钙化进程中表达, 并且外源BMP-2可以增加体外培养的牛VSMC钙的沉积^[2]。在动脉粥样硬化钙化斑块及其纤维帽中可见BMP-2, BMP-4的表达, 但在未受损伤的正常动脉组织则未见BMP-2的表达^[3]。研究发现在无病变的大动脉和早期的动脉粥样硬化病变中BMP-2, BMP-4, 骨桥蛋白(osteopontin, OPN)和骨连接蛋白的表达是低水平的, 而在动脉粥样硬化斑块中出现显著钙化时上述蛋白的表达则明显上调^[4]。提示BMP-2在AC中可能发挥重要作用。

1 BMP-2 的结构与性质及生理功能

BMP作为种属非特异性多肽, 是一种高度保守的糖蛋白, 富含谷氨酸。天然BMP主要存在于皮质骨、周围及中枢神经系统组织中, 含量极少。BMPs是多效性生长/分化因子, BMP对靶细胞的刺激作用由其特异性膜结合受体介导^[5], 通过受体跨膜区下游有无特征性的SG SG S区(G S盒)将BMP受体分为I型、II型受体, BMP配体与2个I型和2个II型受体形成的异源二聚物结合可以激活依赖Smad的BMP信号传导系统。与I型或II型受体组成的同源二聚体结合时, 激活的则是促细胞分裂原活化蛋白激酶家族(MAPK)通路。BMP-2是转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)超家族的成员之一。BMP-2 mRNA可在骨组织和多种间充质组织中表达, 如肢芽、心脏和颌骨滤泡等。它可以结合BMP-1A型受体, 诱导Smad1和Smad4表达^[6], 它的分泌活动是由细胞外的特异性抗体决定的, 在其蛋白质的羧基末端具有7个保守的半胱氨酸残基的标识结构。研究发现, 人源BMP-2为1 186 bp碱基编码的396个氨基酸组成的蛋白质, 主要以三种形式存在: 110 KD多肽是66 KD多肽的二聚体, 无诱导骨形成的活性; 66 KD多肽为BMP-2 cDNA编码的第24~396位氨基酸片段, 有诱导骨形成的活性; 16 KD多肽为BMP-2 cDNA编码的第283~396位氨基酸片段, 其诱导骨形成的活性最高。BMP-2的多样性效能涉及从骨骼、骨外器官形成到骨的发生和重建^[7]。许多研究证实BMP-2有促进成骨细胞分化和诱导体外骨形成的能力。BMP诱导成骨主要为3个步骤: 首先, 诱导趋化, 其趋化性与BMP浓度及细胞的受体密度有关; 其次, 诱导有丝分裂, 细胞通过有丝分裂得到增生; 再次, 诱导分化。

2 BMP-2 与 microRNA

研究发现BMP-2可以通过多个microRNA对血管钙化进行调控。在骨髓间充质干细胞向成骨细胞分化过程中, HAS-miR-149*和HAS-miR-654-5P与BMP-2、ALPL的mRNA和蛋白调控密切相关^[8]。高表达的miR-27a显著抑制骨生成并抑制BMP2, BMPR1A以及Smad9的表达^[9]。这项研究中BMP-2诱导成骨细胞分化的C3H10T1/2中ERR γ 和miR433表达下降。此外, miR-433抑制了BMP-2对6 \times OSE-Luc诱导活化的作用。ERR γ 对Runx2的表达和ALP的活化具有抑制作用。而抑制miR-433的表达可以恢复这个抑制作用。这些结果表明, miR-433通过降低Runx2的转录水平抑制了BMP-2诱导的成骨细胞分化^[10]。VSMC向成骨细胞样表型的过渡涉及重要成骨细胞转录因子Runx2的表达。用BMP-2处理人类冠状动脉平滑肌细胞(coronary artery smooth muscle cells, CASCs), 结果显示BMP-2能降低miR-30b和miR-30c的表达, 而miR-30b和miR-30c两个都能与Runx2的mRNA的3'非翻译区结合, 以调节其表达。与没有钙化的冠状动脉相比, 钙化的人类冠状动脉表现出更高水平的BMP-2和更低水平的miR-30b。由此可以推断BMP-2能通过下调miR-30b和miR-30c, 以增加Runx2在CASCs中表达并促进细胞矿化^[11]。而且骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2, BMP-2)可以提高内质网应激, 使RunX2的表达增加从而增加人类CASCs的钙化^[12]。研究者发现BMP-2诱导的小鼠前成骨细胞分化过程中BMP-2和ETS1表达受microRNA-370调控^[13]。microRNA也在心血管疾病形成和发展中发挥了广泛的作用^[14]。miR-141可以作为BMP-2依赖性主动脉瓣膜钙化一种调节剂。靶向治疗的miR-141可以作为一种新的策略来限制钙化主动脉瓣逐步狭窄^[15]。BMP-2和microRNA之间相互作用的具体机制虽然有待进步解决, 但这为我们研究血管钙化的形成提供了新的研究方向。

3 BMP-2 与细胞凋亡

最新的许多研究结果发现BMP-2可以通过诱导凋亡来促进AC。衰老的VSMC更倾向于向成骨细胞转化^[16-17], 体外实验也证实抑制凋亡过程可以减少血管钙化的发生, 而促进凋亡可以增加钙化。来自VSMC的凋亡小体能够为血管钙化提供一个钙晶体形成的核中心^[18], 而BMP-2参与细胞凋亡过程。研究表明BMP-2能上调PTEN的表达, 并诱

导肺动脉平滑肌细胞在缺氧条件下凋亡^[19]。基因芯片分析衰老的VSMC显示BMP-2表达有所升高,说明BMP-2参与了VSMC的衰老。在体外培养的软骨细胞中,IL-1 β 和TNF α 分别使BMP-2的mRNA和蛋白水平增加8倍和15倍。这表明,由衰老的VSMC产生的IL-1 β 可能潜在的刺激BMP-2的表达,这反过来又增强Runx2的表达^[20]。

4 BMP-2 与 MGP

研究发现BMP-2在血管钙化中的作用可能受一种抑制钙化的蛋白C-羧基谷氨酸基质蛋白(apoptosis protein C-carboxyl glutamic acid matrix protein, MGP)的调节。MGP缺失的小鼠在无动脉粥样硬化的情况下却出现广泛的血管中层钙化,并且该基因缺失小鼠的VSMC经过BMP-2的干预处理后会呈现软骨形成和成骨细胞分化,而无BMP-2干预的对照组则未出现上述现象,Smad6基因缺失小鼠的VSMC经过BMP-2干预也出现了同样的结果^[21]。经过MGP基因改造或敲除MGP的小鼠能够孕育出载脂蛋白E小鼠,由此建造一个动脉粥样硬化模型。MGP过度表达可以减小动脉粥样硬化病变的大小,降低血管BMP-2的表达活性以及内膜和内层钙化及炎症的发生率,同时也减少激活素样蛋白激酶受体(ALK)和血管内皮生长因子(VEGF)的表达。BMP-2激活的信号通路调节血管生成,促进病变的形并增加钙化机率。相反,MGP缺乏则增加BMP活性表达,这也许可以解释为什么MGP缺乏的主动脉球囊损伤后出现血管中膜细胞弥漫性钙化、ALK1和血管内皮生长因子的表达增加。但是,动脉粥样硬化病变在MGP基因敲除小鼠的形成有所下降,这可能是内皮细胞粘附分子的表达减少限制了单核细胞浸润动脉壁。这充分表明,BMP-2信号参与维持正常的血管稳态,是调节血管疾病发生发展一个关键因素^[21]。

5 其他机制

BMP-2诱导血管钙化的形成还与氧化应激,炎症和高血糖相关^[22-23]。血管的管壁细胞尤其是VSMCs在诱导条件(炎症因子、25羟化胆固醇等)下可转变为具有合成和分泌功能的成骨细胞样表型,能合成和分泌多种骨形成蛋白如碱性磷酸酶、BMP、OPN、骨连接素和骨钙蛋白等,在细胞外基质或胞质中形成钙结节^[22-24]。内质网应激所致的细胞凋亡参与了血管钙化。BMP-2可以激

活NADPH氧化酶,以提高氧化应激和内质网应激,使RunX2的表达增加从而增加人类CASCs的钙化^[12]。诱导BMPs诱导成骨的相关转录因子可分为2类:包括正调控因子,如Cbfa-1、Osterix、Dlx5、Hoxc8和Msx2等;负调控因子,如CLZ、Aj18、Tob和c-Ski等。而核心结合因子 α -1(Cbfa-1)的下调参与了早期成骨细胞的表型形成。通过检测BMP-2/cbfa-1表达、碱性磷酸酶(ALP)活性和细胞内钙含量,用重组人Noggin蛋白(BMP-2受体拮抗剂)确定了高血糖水平下,BMP-2/Cbfa-1的信号通路在诱导的平滑肌细胞的钙化过程中可能发挥的作用^[25]。促炎性细胞因子肿瘤坏死因子-A(tumor necrosis factors-A, TNF-A)诱导核转录因子(nuclear factor-kappa B, NF-kB)激活并引起BMP-2 mRNA及BMP-2蛋白表达显著增加,这一作用可以被NF-kB抑制剂—P65基因沉默以及触酶阻断^[26]。BMP的表达与血管内皮细胞的前体衍生的调节器(BMPER)结合对血管平滑肌的成骨样分化也有一定的调节作用,通过RNA干扰技术沉默内源性BMPER的表达可以抑制HCASCs的成骨细胞样分化。BMPER可以拮抗BMP-2对Smad 1/5/8的磷酸化的诱导作用,这表明BMPER的作用是通过拮抗BMP的作用介导的^[27]。

BMP-2具有诱导骨形成的作用,AC的关键环节是VSMC向成骨样细胞的分化,而这一过程就涉及BMP-2表达增加。BMP-2是血管钙化中强有力的因素,它对血管钙化的诱导作用可能与MicroRNA、细胞凋亡、MGP以及氧化应激和高血糖等因素有关,有助于我们研究AC发生的相关机制,为预防和逆转血管钙化疾病找到新的靶点。

参考文献

1. Zhu D, Mackenzie NC, Farquharson C, et al. Mechanisms and clinical consequences of vascular calcification[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2012, 3: 95.
2. Chen NX, Duan D, O'Neill KD, et al. High glucose increases the expression of Cbfa1 and BMP-2 and enhances the calcification of vascular smooth muscle cells[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2006, 21(12): 3435-3442.
3. Demer LL, Watson KE, Boström K. Mechanism of calcification in atherosclerosis[J]. *Trends Cardiovasc Med*, 1994, 4(1): 45-49.
4. 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.

5. Miyazawa K, Shinozaki M, Hara T, et al. Two major Smad pathways in TGF-beta superfamily signalling[J]. *Genes Cells*, 2002, 7(12): 1191-1204.
6. Ten Dijke P, Goumans MJ, Itoh F, et al. Regulation of cell proliferation by Smad proteins[J]. *J Cell Physiol*, 2002, 191(1): 1-16.
7. Valentin-Opran A, Wozney J, Csimma C, et al. Clinical evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2002, (395): 110-120.
8. Wei J, Zhang B, Zheng X, et al. Changes of microRNA and target gene expression levels in osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*, 2012, 26(4): 483-488.
9. Gong Y, Xu F, Zhang L, et al. MicroRNA expression signature for Satb2-induced osteogenic differentiation in bone marrow stromal cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 387(1-2): 227-239.
10. Kim EJ, Kang IH, Lee JW, et al. MiR-433 mediates ERRγ-suppressed osteoblast differentiation via direct targeting to Runx2 mRNA in C3H10T1/2 cells[J]. *Life Sci*, 2013, 92(10): 562-568.
11. Balderman JA, Lee HY, Mahoney CE, et al. Bone morphogenetic protein-2 decreases microRNA-30b and microRNA-30c to promote vascular smooth muscle cell calcification[J]. *J Am Heart Assoc*, 2012, 1(6): e003905.
12. Liberman M, Johnson RC, Handy DE, 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.
13. Itoh T, Ando M, Tsukama Y, et al. Expression of BMP-2 and Ets1 in BMP-2-stimulated mouse pre-osteoblast differentiation is regulated by microRNA-370[J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(12): 1693-1701.
14. Jamaluddin MS, Weakley SM, Zhang L, et al. miRNAs: roles and clinical applications in vascular disease[J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2011, 11(1): 79-89.
15. 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.
16. Nakano-Kurimoto R, Ikeda K, Uraoka M, et al. Replicative senescence of vascular smooth muscle cells enhances the calcification through initiating the osteoblastic transition[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009, 297(5): H1673-1684.
17. Burton DG, Giles PJ, Sheerin AN, et al. Microarray analysis of senescent vascular smooth muscle cells: A link to atherosclerosis and vascular calcification[J]. *Exp Gerontol*, 2009, 44(10): 659-665.
18. Proudfoot D, Skepper JN, Hegyi L, et al. Apoptosis regulates human vascular calcification in vitro: evidence for initiation of vascular calcification by apoptotic bodies[J]. *Circ Res*, 2000, 87(11): 1055-1062.
19. Du Y, Wang Y, Wang L, et al. Cartilage oligomeric matrix protein inhibits vascular smooth muscle calcification by interacting with bone morphogenetic protein-2[J]. *Circ Res*, 2011, 108(8): 917-928.
20. Fukui N, Zhu Y, Maloney WJ, et al. Stimulation of BMP-2 expression by pro-inflammatory cytokines IL-1 and TNF-alpha in normal and osteoarthritic chondrocytes[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2003, 85-A Suppl 3: 59-66.
21. Yao Y, Bennett BJ, Wang X, et al. Inhibition of bone morphogenetic proteins protects against atherosclerosis and vascular calcification[J]. *Circ Res*, 2010, 107(4): 485-494.
22. Parhami F, Boström K, Watson K, et al. Role of molecular regulation in vascular calcification[J]. *J Atheroscler Thromb*, 1996, 3(2): 90-94.
23. Deneke T, Langner K, Grewe PH, et al. Ossification in atherosclerotic carotid arteries[J]. *Z Kardiol*, 2001, 90 Suppl 3: 106-115.
24. Duan XH, Chang JR, Zhang J, et al. Activating transcription factor 4 is involved in endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis contributing to vascular calcification[J]. *Apoptosis*, 2013, 18(9): 1132-1144.
25. Liu F, Zhong H, Liang JY, et al. Effect of high glucose levels on the calcification of vascular smooth muscle cells by inducing osteoblastic differentiation and intracellular calcium deposition via BMP-2/Cbfa-1 pathway[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2010, 11(12): 905-911.
26. Csiszar A, Smith KE, Koller A, et al. Regulation of bone morphogenetic protein-2 expression in endothelial cells: role of nuclear factor-kappaB activation by tumor necrosis factor-alpha, H2O2, and high intravascular pressure[J]. *Circulation*, 2005, 111(18): 2364-2372.
27. Satomi-Kobayashi S, Kinugasa M, Kobayashi R, et al. Osteoblast-like differentiation of cultured human coronary artery smooth muscle cells by bone morphogenetic protein endothelial cell precursor-derived regulator (BMPER)[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(36): 30336-30345.

本文引用: 李岚, 刘江华, 祖旭宇, 伍莹. 骨形态发生蛋白 2(BMP-2) 诱导血管钙化相关机制的新进展 [J]. *临床与病理杂志*, 2014, 34(5): 622-625. DOI:10.11714/j.issn.2095-6959.2014.05.033

Cite this article as: LI Lan, LIU Jianghua, ZU Xuyu, WU Ying. New progress between bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) and vascular calcification[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2014, 34(5): 622-625. DOI:10.11714/j.issn.2095-6959.2014.05.033