

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.003188

骨形成蛋白 2 基因多态性与冠脉钙化相关性研究

陆 涛¹,魏泽红²,王熠成¹,袁迪迪¹,程 芳¹,李剑波¹,唐任宽¹

(1. 重庆医科大学法医学系,重庆 400016;2. 重庆市公安局渝北区分局,重庆 400042)

【摘要】目的:研究骨形成蛋白 2(bone morphogenetic protein 2, BMP2)基因多态性在重庆汉族人群中的分布及与冠脉钙化(coronary artery calcification, CAC)的相关性。**方法:**收集 2019 年 3 月至 2019 年 5 月 260 例重庆医科大学附属第一医院心内科重庆汉族冠脉造影患者临床资料及血液样本,通过测序检测患者 BMP2 rs961253、rs235768、rs1049007, OPG rs2073617、rs2073618, S100A12 rs2916191 基因位点序列,应用 ELISA 法检测血清 BMP2、OPG、S100A12 水平。**结果:**CAC 组 167 例,年龄 (67.13 ± 9.64) 岁;对照组 93 例,年龄 (60.46 ± 9.89) 岁。高血压、糖尿病、肥胖患者更容易发生 CAC,CAC 组男性发病率、载脂蛋白 A1、C 反应蛋白、白细胞数以及血清 BMP2、S100A12、OPG 水平明显高于对照组($P < 0.05$)。BMP2 rs961253 基因型频率及等位基因频率分布在 CAC 组和对照组之间有统计学差异($P < 0.05$)。钙化组中, BMP2 TT 基因型血清 BMP2 水平明显高于非 TT 型($P < 0.05$)。通过校正性别、年龄、体质指数、高血压、糖尿病等影响因素后,多因素逐步 logistic 回归分析发现 BMP2 rs961253 TT 基因型人群患 CAC 风险较高。**结论:**血清 BMP2 水平可作为预测 CAC 的指标之一。BMP2 rs961253 基因多态性与 CAC 显著相关,BMP2 rs961253 T 等位基因或 TT 基因型是 CAC 的高危因素。

【关键词】冠脉钙化;骨形成蛋白 2;基因多态性;冠状动脉粥样硬化性心脏病

【中图分类号】R541

【文献标志码】A

【收稿日期】2022-01-17

Correlation between bone morphogenetic protein 2 gene polymorphism and coronary artery calcification

Lu Tao¹, Wei Zehong², Wang Yicheng¹, Yuan Didi¹, Cheng Fang¹, Li Jianbo¹, Tang Renkuan¹

(1. Department of Forensic Medicine, Chongqing Medical University;

2. Yubei Public Security Station Branch of Chongqing Public Security Bureau)

【Abstract】**Objective:** To investigate the distribution of bone metabolic-related gene polymorphism, such as bone morphogenetic protein 2 (BMP2), in the Chongqing Han population and its correlation with coronary artery calcification (CAC). **Methods:** Clinical data and blood samples were collected from patients with coronary angiography in the Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University from March 2019 to May 2019. The detection of BMP2 rs961253, rs235768, rs1049007; OPG rs2073617, rs2073618 and S100A12 rs2916191 gene were taken into direct sequencing. Serum levels of BMP2, OPG and S100A12 were detected by ELISA. **Results:** There were 167 cases in CAC group, with age of (67.13 ± 9.64) years, and 93 cases in control group, with age of (60.46 ± 9.89) years. Patients with hypertension, diabetes and obesity were more likely to develop CAC. The male morbidity, apolipoprotein A1, C-reactive protein, white blood cell count, serum BMP2, S100A12 and OPG levels in CAC group were significantly higher than those in control group ($P < 0.05$). The genotype frequency and allele frequency distribution of BMP2 rs961253 were significantly different between CAC group and control group ($P < 0.05$). In CAC group, the serum BMP2 level of BMP2 TT genotype was significantly higher than that of non TT genotype ($P < 0.05$). After adjusting gender, age, body mass index, hypertension and diabetes, multivariate stepwise logistic regression analysis found that people with BMP2 rs961253 TT genotype had higher risk of CAC. **Conclusion:**

作者介绍:陆 涛,Email:15922673673@163.com,

研究方向:法医学。

通信作者:唐任宽,Email:renktang2013@163.com。

基金项目:重庆市科委基础与前沿研究计划资助项目(编号:

cstc2013jcyjA10007);上海市法医学重点实验室开放课题

资助项目(编号:KF1410)。

优先出版:<https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20230316.1131.002.html>

(2023-03-17)

The serum level of BMP2 can be regarded as one of the prediction indicators for CAC. BMP2 rs961253 gene polymorphism is significantly associated with CAC, and BMP2 rs961253 T allele or TT genotype is a high risk factor for CAC.

【Key words】coronary artery calcification; bone morphogenetic protein 2; gene polymorphism; coronary atherosclerotic heart disease

随着生活、卫生水平提高,营养条件改善,人们预期寿命逐渐延长,一些疾病的发病率逐渐降低,但一些慢性疾病如冠状动脉粥样硬化性心脏病 (coronary atherosclerotic heart disease, CHD) 的发病率和死亡率逐年上升^[1-2]。既往认为血管钙化是发生在非骨组织的异位钙化,但目前国内、外学者对 CHD 致病因素、组织病理和分子遗传机制等研究发现钙化是一个类似骨骼发育、主动的、可调控的生物学过程^[3-4]。骨与软骨形成是动脉粥样硬化发展过程中的重要特征,患者大多表现为异位骨化,如尿毒症与糖尿病患者中血管内膜、中膜及心瓣膜加速钙化^[5-7]。

近年来,通过全基因组关联分析研究 (genome-wide association study, GWAS) 发现单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 与冠脉钙化 (coronary artery calcium, CAC) 具有高度相关性^[8-10]。

骨形成蛋白-SMAD 信号通路是研究骨相关疾病和异位骨代谢最广泛的信号通路。骨形成蛋白 2 (bone morphogenetic protein 2, BMP2) 作为诱导骨形成及异位骨化最强的因子之一受到广泛关注。BMP2 属于转化生长因子 β 超家族成员,在骨骼发育和再生修复中起重要作用,能诱导骨和软骨形成^[11]。研究发现 BMP2 不仅诱导骨的形成,而且还影响多种细胞增殖、分化及凋亡,并且在血管钙化过程中发挥重要作用^[12]。

骨保护素 (osteoprotegerin, OPG) 属于肿瘤坏死因子受体超家族成员,是一种抑制破骨细胞形成的分泌蛋白,其基因缺失会导致骨质疏松和血管钙化^[13]。OPG 与核因子- κ B 受体活化因子配体、肿瘤坏死因子凋亡诱导配体一起组成骨形成和血管钙化的调节系统。这些信号分子以独特的方式在血管生理、病理中发挥作用,能促进血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 增生、单核细胞或内皮细胞集聚,血管生成及平滑肌细胞表型转变^[14-15]。

S100 钙结合蛋白 12 (S100 calcium-binding protein 12, S100A12) 通过激活晚期糖基化终产物受体并激活细胞内信号转导通路诱导促进炎症和血管重塑^[16]。S100A12 可以增强破骨细胞的形成和吸收,从而使破骨细胞从 CD14 $^{+}$ 单核细胞中分化出来。研究发现 S100A12 增强与破骨细胞相关的分子表达,促进骨的吸收^[17]。

BMP2、OPG、S100A12 基因与冠状动脉钙化具有相关性,但目前对上述基因多态性与 CAC 的相关性研究相对少见。本文拟探讨成骨相关因子 (BMP2 rs235768、rs961253、rs1049007, OPG rs2073617、rs2073618, S100A12 rs2916191) 基因多态性在重庆地区汉族人群分布与 CAC 的相关性。

1 材料与方法

1.1 资料

采集 2019 年 3 月至 2019 年 5 月重庆医科大学附属第一医院心内科进行冠状动脉造影 (coronary angiography, CAG) 患者资料 260 例。所有资料的采集均获得患者知情同意,并通过重庆医科大学生物医学伦理委员会的审查。

冠脉造影方法及钙化标准:导管经右腕桡动脉或股动脉最强搏动处穿刺送至主动脉根部,在左或右冠状动脉开口注入造影剂,显示冠状动脉病变的位置、程度。根据注射造影剂前、后低密度影情况判断冠脉钙化:观察到低密度阴影,且阴影位于冠脉走形上,该部位即冠脉粥样硬化斑块,如该部位有明显狭窄或闭塞,即诊断为 CAC^[18]。

钙化组:患者存在心悸、胸闷、胸痛、气促等症, CAG 显示 CAC。对照组:患者既往存在心悸、胸闷、胸痛、气促等,但 CAG 显示冠脉无钙化。冠脉钙化亚型分组:根据冠脉钙化部位分左冠状动脉前降支钙化,左冠状动脉旋支钙化,右冠状动脉钙化; I 组:1 支冠脉钙化, II 组:2 支冠脉钙化, III 组:3 支冠脉钙化。

1.2 主要试剂

Blood Genome DNA Extraction Kit (9450)、TaKaRa PCR Amplification Kit (R011) 购于日本 Takara 公司, Human OPG PicoKine ELISA Kit (EK0480)、Human BMP2 PicoKine ELISA Kit (EK0311)、Human S100A12 PicoKine ELISA Kit (EK1169) 购于武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 方法

1.3.1 血液标本采集 采集研究对象入院第 2 日空腹静脉血 5 mL, EDTA 抗凝, 30 min 内 3 000 r/min 离心 10 min, 将上清液转移至 1.5 mL EP 管于 -80°C 冰箱保存, 用于血清骨形成蛋白 2 (bone morphogenetic protein 2, BMP2)、骨保护素 (osteoprotegerin, OPG)、S100 钙结合蛋白 12 (S100 calcium-binding protein 12, S100A12) 蛋白浓度检测; 将下层血细胞转移至 1.5 mL EP 管于 -80°C 冰箱保存, 用于基因型检测。

1.3.2 血清 BMP2、OPG、S100A12 蛋白水平检测 根据 ELISA 试剂盒方法测定血清蛋白水平。实验步骤如下:①实验前预测样本含量,样本浓度过高可对样本进行稀释,使稀释后浓度在试剂盒检测范围内,最终计算时再乘以稀释倍数。②根据样本量确定所需酶标板孔数目,标准品做复孔,并增加

TMB 空白显色孔作对照。③将标准品各 100 μL 加入酶标板中, 再加入 100 μL 已稀释的待测样品, 酶标板加封板膜, 37°C 反应 90 min, 反应后甩去酶标板内液体, 不洗。④酶标板内每孔加入 100 μL 抗体工作液, 空白显色孔不加, 酶标板加封板膜, 37°C 反应 60 min, 1× 洗涤缓冲液洗涤 3 次, 每次浸泡 1 min。⑤酶标板每孔加入 100 μL ABC 工作液, 空白显色孔不加, 酶标板加封板膜, 37°C 反应 30 min, 1× 洗涤缓冲液洗涤 5 次, 每次浸泡 1 min。⑥酶标板每孔加入 90 μL TMB 显色液, 37°C 避光反应 25 min。⑦取出酶标板, 在波长 450 nm 处测定各个孔的光密度(optical density, OD)值并记录。⑧TMB 空白显色孔作为对照组, 所有标准品和样品的 OD 值减去 TMB 空白显色孔的 OD 值为纵坐标, 浓度为横坐标, 坐标纸上画出标准曲线, 然后根据样品 OD 值从标准曲线中查出各样本对应的浓度, 实际浓度再乘以稀释倍数。

1.3.3 基因位点的检测 根据 Blood Genome DNA Extraction Kit 提取 DNA, 然后运用 primer premier5 软件设计引物, 引物序列(表 1)由上海生工生物公司合成, 再根据 TaKaRa PCR Amplification Kit 扩增 DNA, 合成 PCR 产物并测序, 部分

序列图如图 1 所示。

表 1 引物序列

基因	引物	引物序列
BMP2	上游引物	5'-CACCTCAGCAGAGCTTCAGGT-3'
rs235768	下游引物	5'-CCACGAATCCATGGTTGGCG-3'
BMP2	上游引物	5'-CTGACGAGGTCCTGAGCGAG-3'
rs1049007	下游引物	5'-CTTCATGGTGAAGCTGCGC-3'
BMP2	上游引物	5'-TGAGGAATTCACCCATAATGCTGC-3'
rs961253	下游引物	5'-GCCATCAGCCTAATTGTCATTCCA-3'
OPGr	上游引物	5'-CTCCGGCCAAGCTTCCTAA-3'
2073618	下游引物	5'-CGGTTCCCTGCTCCAGCCTA-3'
OPG	上游引物	5'-GGAGACACAAGCACAGCAGC-3'
rs2073617	下游引物	5'-TATAGCGTCCCGAACAGG-3'
S100A12	上游引物	5'-GCCTGCGGTTCCCAAACATTG-3'
rs2916191	下游引物	5'-AGCACACTACGGCCTCAAAC-3'

1.4 统计学处理

采用 IBM SPSS Statistics 21 软件处理实验数据。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 连续变量资料组间比较采用

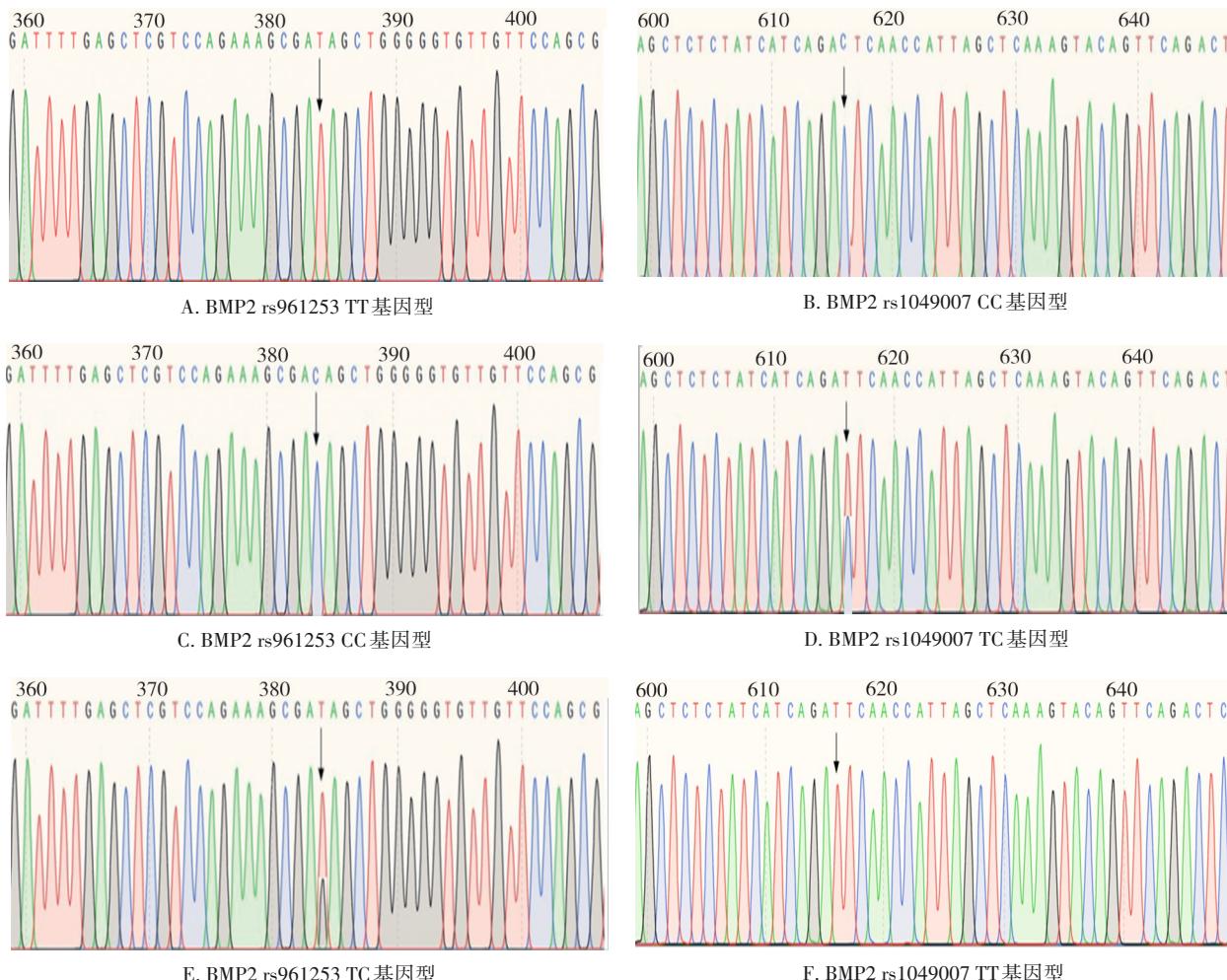


图 1 基因序列图

两独立样本 *t* 检验。计数资料采用例数或百分比表示,组间比较采用卡方检验。用优势比(odds ratio, *OR*)和 95% 置信区间(confidence interval, CI)比较基因多态性与 CAC 易感性的相关性。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 一般情况

CAC 组 167 例,其中男性 107 例(64.07%),女性 60 例(35.93%),年龄(67.13 ± 9.64)岁;对照组 93 例,男性 46 例(49.46%),女性 47 例(50.54%),年龄(60.46 ± 9.89)岁。CAC 组男性发病率明显高于对照组;肥胖、高血压、糖尿病患者更容易发生 CAC($P<0.05$)。CAC 组载脂蛋白 A1、C 反应蛋白、白细胞数明显高于对照组($P<0.05$),详见表 2。

表 2 研究对象一般情况($\bar{x} \pm s$; *n*, %)

指标	CAC 组 (<i>n</i> =167)	对照组 (<i>n</i> =93)	<i>t</i> / χ^2 值	<i>P</i> 值
年龄/岁	67.13 ± 9.64	60.46 ± 11.99	4.751	0.000
男性	107(64.1)	46(48.4)	5.265	0.026
吸烟史	86(51.5)	38(40.0)	2.709	0.120
饮酒史	61(36.5)	25(26.3)	2.510	0.131
体质指数/(kg·m ⁻²)	24.77 ± 3.61	23.05 ± 2.94	3.770	0.000
高血压史	104(62.3)	29(30.5)	23.110	0.000
糖尿病史	56(33.5)	16(16.7)	7.954	0.005
甘油三酯/(mmol·L ⁻¹)	1.82 ± 3.23	1.66 ± 1.93	0.370	0.712
总胆固醇/(mmol·L ⁻¹)	4.05 ± 0.93	4.17 ± 0.91	-0.746	0.456
低密度脂蛋白/(mmol·L ⁻¹)	2.41 ± 0.85	2.47 ± 0.81	-0.298	0.766
高密度脂蛋白/(mmol·L ⁻¹)	1.22 ± 0.88	1.29 ± 0.42	-0.626	0.532
载脂蛋白 A1/(mmol·L ⁻¹)	1.26 ± 0.26	1.37 ± 0.28	-2.975	0.010
血钙/(mmol·L ⁻¹)	2.24 ± 0.17	2.23 ± 0.12	0.527	0.599
超敏 C 反应蛋白/(mmol·L ⁻¹)	5.92 ± 10.03	2.79 ± 4.69	2.435	0.016
白细胞/($\times 10^9$ 个·L ⁻¹)	7.11 ± 2.40	6.48 ± 2.23	2.006	0.046

2.2 血清 BMP2、OPG 及 S100A12 蛋白水平

CAC 组血清 BMP2、OPG 及 S100A12 水平明显升高($P<0.05$),见表 3。

表 3 血清 BMP2、OPG 及 S100A12 水平($\bar{x} \pm s$; nmol/L)

指标	CAC 组(<i>n</i> =167)	对照组(<i>n</i> =93)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
BMP2	145.43 ± 12.72	57.52 ± 5.65	2.120	0.014
OPG	223.03 ± 18.59	127.00 ± 7.72	3.680	0.023
S100A12	7996.52 ± 230.78	6912.30 ± 180.47	2.670	0.031

2.3 重庆地区汉族人群 BMP2、OPG 及 S100A12 基因型和等位基因频率分布以及与 CAC 相关性

重庆地区汉族人群 BMP2、S100A12 及 OPG 6 个 SNP 位点中,OPG rs2073617 基因型频率和等位基因频率分布不符合哈迪-温伯格定律,该位点不纳入进一步分析。BMP2 rs235768、rs961253 及 rs1049007 位点以 TT 型纯合子最为多见,TC 杂合子次之,CC 型最少,等位基因以 T 等位基因多见,C 等位基因次之。OPG rs2073618 位点以 AA 型纯合子最为多见,AG 杂合子次之,GG 型纯合子最少,等位基因以 A 等位基因多见,G 等位基因次之。S100A12 rs2916191 位点以 GG 型纯合子最为多见,AG 杂合子次之,AA 型纯合子最少,等位基因以 G 等位基因多见,A 等位基因次之。BMP2 rs235768、rs961253、rs1049007 和 OPG rs2073618、S100A12 rs2916191 基因型频率和等位基因频率分布在男女之间无统计学差异($P>0.05$),见表 4。

CAC 组 BMP2 rs961253 TT、TC、CC 基因型频率分别为 40.7%、34.7%、24.6%,T、C 等位基因频率为 58.1%、41.9%;对照组基因型频率为 54.8%、31.2%、14.0%,T、C 等位基因频率为 70.4%、29.6%。CAC 组与对照组基因型频率与等位基因频率分布有统计学意义($P<0.05$);BMP2 rs235768、BMP2 rs1049007、OPG rs2073618、S100A12 rs2916191 位点在 CAC 组与对照组基因型频率与等位基因频率分布无统计学差异($P>0.05$),详见表 5 和表 6。

表 4 重庆地区汉族人群 BMP2、OPG、S100A12 基因型及等位基因频率分布

基因	性别	例数	基因型频率/%			<i>P</i> 值	等位基因频率/%		<i>P</i> 值
			TT(AA)	TC(AG)	CC(GG)		T (A)	C(G)	
rs235768	男	153	57	30	23	0.293	72.0	28.0	0.082
	女	107	50	32	18		66.0	34.0	
rs961253	男	153	48	34	18	0.291	65.0	35.0	0.728
	女	107	46	34	18		63.0	37.0	
rs1049007	男	153	63	27	10	0.114	77.5	22.5	0.086
	女	107	58	23	19		69.5	30.5	
rs2073617	男	153	48	40	12	0.014	68.0	32.0	0.003
	女	107	66	28	6		80.0	20.0	
rs2073618	男	153	42	39	19	0.618	60.0	40.0	0.883
	女	107	49	35	16		59.5	40.5	
rs2916191	男	153	27	52	74	0.453	16.0	84.0	0.183
	女	107	24	26	57		20.0	80.0	

表 5 CAC 组与对照组 SNP 位点基因型频率分布 (n, %)

位点	基因型	CAC 组	对照组	χ^2 值	P 值
rs235768	TT	97(58.1)	44(47.3)	0.082	0.960
	TC	47(28.1)	33(35.5)		
	CC	23(13.8)	16(17.2)		
rs961253	TT	68(40.7)	51(54.8)	6.042	0.049
	TC	58(34.7)	29(31.2)		
	CC	41(24.6)	13(14.0)		
rs1049007	TT	100(59.9)	58(62.3)	0.022	0.989
	TC	45(26.9)	22(23.7)		
	CC	22(13.2)	13(14.0)		
rs2073618	AA	71(42.5)	35(37.6)	2.264	0.322
	AG	63(37.7)	46(49.5)		
	GG	33(19.8)	12(12.9)		
rs2916191	AA	8(4.8)	6(6.5)	1.789	0.409
	AG	38(22.8)	27(29.0)		
	GG	121(72.4)	60(64.5)		

表 6 CAC 组与对照组 SNP 位点等位基因频率分布 (n, %)

位点	基因型	CAC 组	对照组	χ^2 值	P 值
rs235768	T	207(69.5)	155(69.8)	0.008	0.930
	C	91(30.5)	67(30.2)		
rs961253	T	194(58.1)	131(70.4)	7.770	0.005
	C	140(41.9)	55(29.6)		
rs1049007	T	243(73.6)	140(73.7)	0.001	0.990
	C	87(26.4)	50(26.3)		
rs2073618	A	197(59.0)	116(62.4)	0.571	0.450
	G	137(41.0)	70(37.6)		
rs2916191	A	54(16.2)	39(20.9)	1.874	0.171
	G	280(83.8)	147(79.1)		

2.4 钙化亚组间基因型与等位基因频率分布

167 例 CAC 中, 前降支钙化 149 例, 右冠状动脉钙化 111 例, 左旋支钙化 82 例; I 组单支冠脉钙化 53 例, II 组 2 支冠脉钙化 51 例, III 组 3 支冠脉钙化 63 例; 分别对 3 个亚组基因型进行比较发现: 各亚组之间基因型频率分布无统计学差异 ($P>0.05$), 详见表 7。

2.5 钙化组中不同基因型血清 BMP2、OPG、S100A12 蛋白水平

钙化组中, BMP 2 TT 基因型血清 BMP2 蛋白水平明显高于非 TT 型基因型组, 组间比较具有统计学差异 ($P<0.05$)。对照组中, TT 基因型血清 BMP2 水平与非 TT 基因型比较无统计学差异 ($P>0.05$), OPG 与 S100A12 基因型分布与蛋白水平组间比较无统计学差异 ($P>0.05$), 详见表 8。

2.6 BMP2 rs961253 TT 基因型与冠脉钙化的相关性

对 CAC 危险因素分析, 当去除性别、年龄、体质指数、高血压、糖尿病等影响因素后, 发现 BMP2 rs961253 TT 基因型人群冠状动脉钙化风险是非 TT 基因型人群的 3.45 倍, 详见表 9。

表 7 钙化亚组间 SNP 位点基因型频率的比较

位点	分组	例数 (n, %)	基因型			χ^2 值	P 值
			TT (AA)	TC (AG)	CC (GG)		
rs235768	I	53(31.7)	32	15	6	8.807	0.066
	II	51(30.5)	25	21	5		
	III	63(37.7)	40	11	12		
rs961253	I	53(31.7)	18	20	15	2.817	0.589
	II	51(30.5)	20	17	14		
	III	63(37.7)	30	21	12		
rs1049007	I	53(31.7)	33	12	8	5.921	0.205
	II	51(30.5)	25	20	6		
	III	63(37.7)	42	13	8		
rs2073618	I	53(31.7)	23	19	11	2.777	0.596
	II	51(30.5)	18	21	12		
	III	63(37.7)	22	31	10		
rs2916191	I	53(31.7)	13	22	18	6.256	0.181
	II	51(30.5)	10	14	27		
	III	63(37.7)	11	17	35		

表 8 不同基因型血清 BMP2、OPG、S100A12 水平比较
($\bar{x} \pm s$; nmol/L)

指标	TT(AA)	TC+CC (AG+GG)		t 值	P 值
		TC	CC		
BMP2	CAC 组	149.58 \pm 9.30	142.72 \pm 12.08	0.330	0.016
	对照组	60.13 \pm 5.75	55.52 \pm 6.05	1.430	0.082
OPG	CAC 组	225.03 \pm 17.98	221.03 \pm 18.32	2.560	0.124
	对照组	130.24 \pm 8.25	126.13 \pm 7.45	3.210	0.236
S100A12	CAC 组	7999.48 \pm 212.38	7991.54 \pm 231.56	4.240	0.112
	对照组	6923.43 \pm 180.96	6908.24 \pm 179.57	4.670	0.532

表 9 多因素 logistic 回归结果比较

基因型	OR	95%CI	P 值
TT	3.45	1.43~5.67	0.040
TC+CC	1		

3 讨 论

脂质沉积、炎症反应是 CAS 的基本病变, 血管硬化及钙化是 CAS 加重期的重要表现, 其病理机制涉及血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 向成骨细胞表型转化, 细胞凋亡, 基质囊泡释放, 钙抑制剂表达、血管生长因子紊乱等引起钙、磷酸盐在血管壁沉积。冠状动脉管壁钙盐沉积致血管硬度及脆性增加, 进而血管收缩、舒张功能退, 心肌供血不足引起严重甚至致命的并发症^[19~21]。

钙盐沉积反映了动脉粥样硬化病变程度,特别是不稳定型钙盐沉积,极易引发急性心肌梗死^[22-23]。本文显示冠状动脉最容易发生钙化的是左冠状动脉前降支,其次是右冠状动脉、左旋支,多支冠状动脉钙化也较常见。

CAC类似于骨形成过程,这一过程主要由VSMCs向成骨细胞表型转变而完成。研究表明在钙化血管中检测到Msx2、Sox9、Runx2和Ostereoix等与成骨有关的转录因子表达上调,以及内生性矿物质抑制剂缺失^[24]。VSMCs分泌基质囊泡和外分泌体启动钙化过程并在血管壁形成骨基质,管壁失衡是触发CAC的重要条件^[25]。本研究显示CAC组和对照组血压、白细胞计数、C反应蛋白、载脂蛋白A1等存在显著差异。同时本文发现性别、体质指数、糖尿病等危险因素影响CAC,干预或控制这些危险因素可能有助于延缓CAS发生发展。

慢性疾病的发生发展多由遗传和环境因素共同作用所致,但不同疾病两大因素所占比例不尽相同。就遗传因素而言,不同人群对某种疾病的易感性明显不同,近期GWAS发现大量与CAD有关的炎性标记物SNP,如白介素-6 rs1800795,CRP rs3091244、rs3093058,TNF- α rs3091256等^[26-27]。结合基因风险评分,这些SNP位点可以预测各类人群患心血管疾病风险。因此,本文研究骨形成蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)相关基因多态性与CAC相关性。

BMPs在胎儿骨发育、出生后骨发育及骨折修复过程中具有重要作用。BMP2基因不仅参与骨骼系统和组织构建的早期发育,还参与成骨样细胞分化为骨细胞以及增强骨基质生成^[28]。研究发现BMP2基因敲除小鼠的骨结构破坏,骨折愈合时间明显延迟,Runx2和骨钙蛋白表达明显下降^[29]。血管内皮细胞、平滑肌细胞和内膜下巨噬细胞中BMP信号通路的激活从而BMP表达增强导致内皮细胞和间充质细胞向成骨细胞表型转化,随后诱导血管壁骨化^[30]。本研究发现CAC患者血清BMP2、OPG、S100A12水平明显高于对照组,进一步分析发现,BMP2 rs961253基因多态性对BMP2蛋白表达有显著影响:BMP2 rs961253 TT基因型血清BMP2含量明显高于非TT基因型血清BMP2含量,提示重庆地

区汉族人群BMP2 rs961253 TT基因型人群患CAC的风险较高。BMP2促进CAC的机制可能是:CAC血管中高浓度BMP2结合并激活靶细胞膜上骨形成蛋白受体,促进转化生长因子- β 信号通路磷酸化进而促进核内调节靶基因的转录,导致成骨细胞分化与成熟。

有研究发现OPG209基因型与血清OPG蛋白水平有关,且OPG209AA基因型患者血清中OPG水平明显更高,提示OPG209基因多态性致腹主动脉钙化易感性增加^[31]。CAC组血清OPG和S100A12蛋白含量明显高于对照组,不稳定冠状动脉粥样硬化破裂斑块中巨噬细胞S100A12表达增强^[32]。但本研究未发现OPG rs2073617、rs2073618与S100A12 rs2916191基因型与等位基因频率分布与CAC存在相关性。本文研究结果与既往研究结果存在差异,可能与检测位点不同有关。因此,未来进一步研究中需加大样本量、增加检测位点,并充分考虑多因素对实验结果的影响。

参 考 文 献

- [1] Sanchis-Gomar F, Perez-Quilis C, Leischik R, et al. Epidemiology of coronary heart disease and acute coronary syndrome[J]. Ann Transl Med, 2016, 4(13):256.
- [2] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告2018》概要[J].中国循环杂志,2019,34(3):209-220.
- [3] Hu SS, Gao RL, Liu LS, et al. Summary of the 2018 report on cardiovascular diseases in China[J]. Chin Circ J, 2019, 34(3):209-220.
- [4] Herrmann J, Babic M, Tölle M, et al. Research models for studying vascular calcification[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(6):E2204.
- [5] Boström KI. Where do we stand on vascular calcification? [J]. Vascul Pharmacol, 2016, 84:8-14.
- [6] Schlieper G, Schurgers L, Brandenburg V, et al. Vascular calcification in chronic kidney disease: an update[J]. Nephrol Dial Transplant, 2016, 31(1):31-39.
- [7] Pugliese G, Iacobini C, Blasetti Fantauzzi C, et al. The dark and bright side of atherosclerotic calcification[J]. Atherosclerosis, 2015, 238 (2):220-230.
- [8] Pietrzyk B, Smertka M, Chudek J. Sclerostin: intracellular mechanisms of action and its role in the pathogenesis of skeletal and vascular disorders[J]. Adv Clin Exp Med, 2017, 26(8):1283-1291.
- [9] Bielak LF, Peyser PA. Genetics of subclinical coronary atherosclerosis[J]. Curr Genet Med Rep, 2018, 6(3):116-123.
- [10] Khera AV, Kathiresan S. Genetics of coronary artery disease: dis-

- covery, biology and clinical translation[J]. *Nat Rev Genet*, 2017, 18(6): 331–344.
- [10] Larsson SC, Burgess S, Michaëlsson K. Association of genetic variants related to serum calcium levels with coronary artery disease and myocardial infarction[J]. *JAMA*, 2017, 318(4):371–380.
- [11] Alborzinia H, Shaikhkarami M, Hortschansky P, et al. BMP2 transfer to neighboring cells and activation of signaling[J]. *Traffic*, 2016, 17(9):1042–1053.
- [12] 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.
- [13] Tsukasaki M, Asano T, Muro R, et al. OPG production matters where it happened[J]. *Cell Rep*, 2020, 32(10):108124.
- [14] Deligiorgi MV, Panayiotidis MI, Griniatsos J, et al. Harnessing the versatile role of OPG in bone oncology: counterbalancing RANKL and TRAIL signaling and beyond[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2020, 37(1): 13–30.
- [15] Harper E, Forde H, Davenport C, et al. Vascular calcification in type-2 diabetes and cardiovascular disease: Integrative roles for OPG, RANKL and TRAIL[J]. *Vascul Pharmacol*, 2016, 82:30–40.
- [16] Xiao X, Yang C, Qu SL, et al. S100 proteins in atherosclerosis[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 502:293–304.
- [17] Nazari A, Khorramdelazad H, Hassanshahi G, et al. S100A12 in renal and cardiovascular diseases[J]. *Life Sci*, 2017, 191:253–258.
- [18] 唐玉龙,岳乐,李迪,等.冠状动脉内旋磨术治疗前降支球囊无法通过的慢性重度钙化病变[J].航空军医,2015,59(12):415–416.
- Tang YL, Yue L, Li D, et al. Clinical outcomes of rotational atherectomy for treating chronic heavily calcified LAD lesions[J]. *Flight Surg*, 2015, 59(12):415–416.
- [19] Lee SJ, Lee IK, Jeon JH. Vascular calcification—new insights into its mechanism[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(8):E2685.
- [20] Grootaert MOJ, Moulis M, Roth L, et al. Vascular smooth muscle cell death, autophagy and senescence in atherosclerosis[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(4):622–634.
- [21] Clemente A, Traghella I, Mazzone A, et al. Vascular and valvular calcification biomarkers[J]. *Adv Clin Chem*, 2020, 95:73–103.
- [22] García-Gómez MC, Vilahur G. Osteoporosis and vascular calcification: a shared scenario[J]. *Clin Investig Arterioscler*, 2020, 32(1): 33–42.
- [23] Shemesh J, Tenenbaum A, Fisman EZ, et al. Coronary calcium in patients with and without diabetes: first manifestation of acute or chronic coronary events is characterized by different calcification patterns[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2013, 12:161.
- [24] Leopold JA. Vascular calcification: mechanisms of vascular smooth muscle cell calcification[J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2015, 25 (4):267–274.
- [25] Durham AL, Speer MY, 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.
- [26] Claassen L, Henneman L, van der Weijden T, et al. Being at risk for cardiovascular disease: perceptions and preventive behavior in people with and without a known genetic predisposition[J]. *Psychol Health Med*, 2012, 17(5):511–521.
- [27] Jones PD, Webb TR. From GWAS to new biology and treatments in CAD[J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(6):1611–1612.
- [28] Kim YH, Jang WG, Oh SH, et al. Fenofibrate induces PPAR α and BMP2 expression to stimulate osteoblast differentiation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 520(2):459–465.
- [29] Raje MM, Ashma R. Epigenetic regulation of *BMP2* gene in osteoporosis: a DNA methylation study[J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(2):1667–1674.
- [30] Ngai D, Lino M, Bendeck MP. Cell–matrix interactions and matricrine signaling in the pathogenesis of vascular calcification[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2018, 5:174.
- [31] Pereira RMR, Figueiredo CP, Cha CC, et al. Associations between OPG and RANKL polymorphisms, vertebral fractures, and abdominal aortic calcification in community-dwelling older subjects: the São Paulo Ageing & Health Study (SPAHS)[J]. *Osteoporos Int*, 2016, 27 (11):3319–3329.
- [32] Chellan B, Sutton NR, Hofmann Bowman MA. S100/RAGE-mediated inflammation and modified cholesterol lipoproteins as mediators of osteoblastic differentiation of vascular smooth muscle cells[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2018, 5:163.

(责任编辑:周一青)