

· 综述 ·

雄激素及其受体在慢性肾脏病相关的血管钙化中的研究进展

庞海燕

天津医科大学第二医院肾脏病血液净化科 300211

通信作者:庞海燕, Email: panghaiyan2014@126.com

【摘要】 血管钙化是慢性肾脏病(CKD)的常见并发症,是 CKD 患者心血管事件增加的危险因素之一。CKD 血管钙化的发病机制目前尚未完全明确,可能涉及多种病理生理过程如炎症反应、细胞凋亡、氧化应激、低氧反应等。CKD 血管钙化中男性发病率显著高于女性,提示雄激素可能在 CKD 血管钙化的发展过程中发挥重要作用。本文对雄激素及雄激素受体与 CKD 血管钙化的相关性研究进行综述。

【关键词】 雄激素;雄激素受体;血管钙化;慢性肾脏病

基金项目:天津市自然科学基金(19JCYBJC24900)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20220225-02064

Research advances of androgen and androgen receptor in vascular calcification of chronic kidney disease Pang Haiyan. Department of Kidney Disease Blood Purification, Tianjin Medical University Second Hospital, Tianjin 300211, China

Corresponding author: Pang Haiyan, Email: panghaiyan2014@126.com

【Abstract】 Vascular calcification is a common complication of chronic kidney disease (CKD), and is one of the risk factors for increased cardiovascular events in CKD. The pathogenesis of CKD vascular calcification is not fully clarified, and various pathophysiological processes such as inflammatory response, apoptosis, oxidative stress and hypoxic response may be the underlying reasons. The incidence of CKD vascular calcification is significantly higher in men than in women, showing that androgen may play an important role in the development of CKD vascular calcification. In this paper, the relevant studies of androgen and its receptor in CKD vascular calcification were reviewed in order to provide new ideas for deeply understanding the regulatory mechanism of CKD vascular calcification and seeking new targets for the treatment of CKD vascular calcification.

【Keywords】 Androgen; Androgen receptor; Vascular calcification; Chronic kidney disease

Fund program: Tianjin Natural Science Fund(19JCYBJC24900)

DOI:10.3760/cma.j.cn121383-20220225-02064

血管钙化(vascular calcification, VC)是慢性肾脏病(CKD)的常见并发症,导致较高的心血管发病率和死亡率^[1],为社会带来沉重的经济负担。随着 CKD 的进展,VC 的发生率逐渐增加,CKD 3 期的患者约 40%合并 VC,到 CKD 5 期的透析患者,VC 合并率为 80%~99%^[2]。虽然近年逐步认识到 CKD 血管钙化危害的严重性,相关的研究逐渐受到广泛的关注,但是目前 CKD 患者血管钙化的发病机制仍不十分清楚,临床上亦缺乏有效的治疗方法,因此,

CKD 血管钙化的发病机制亟待进一步阐明。CKD 血管钙化的危险因素包括高龄、糖尿病、血脂异常、高血压、吸烟等,还包括尿毒症毒素、矿物代谢异常、贫血、营养不良等。另外,男性也是 CKD 血管钙化的危险因素,相关临床研究显示男性的 CKD 血管钙化的患病率显著高于女性,实验研究亦显示雄激素及其受体在 CKD 血管钙化的发展过程中发挥重要作用,性激素及其受体研究的引入有助于全面揭示 CKD 血管钙化的机制,为 CKD 血管钙化的治疗寻

求新靶点。

1 血管钙化及成因

血管钙化是一个与骨发育相似的主动的、可控的复杂生物学过程,可发生于全身各系统的血管,表现为钙磷矿物质(主要是羟基磷灰石)异位沉积,据沉积部位不同分为血管内膜钙化和中膜钙化。血管内膜钙化源于动脉粥样硬化,动脉粥样硬化的血管钙化是在血脂紊乱的条件下,单核细胞迁移至内皮下并分化为巨噬细胞和泡沫细胞而形成粥样斑块核心,钙化的内膜在斑块周围形成纤维帽,纤维帽主要由失去收缩能力并出现成骨化的平滑肌细胞及富含胶原蛋白的基质构成;而中膜钙化主要发生于糖尿病和 CKD,CKD 在高血磷、高血钙、高水平的甲状旁腺素、尿毒症毒素等的条件下^[3-4],血管中膜的平滑肌细胞向成骨细胞转化^[5],使血管的顺应性和弹性降低,而单核细胞在钙磷微晶体的刺激下转化为巨噬细胞,进一步转化为破骨细胞^[6]。因此,CKD 血管钙化的特点是高磷高钙、高尿毒症毒素等诱发的血管中膜的钙化。

研究发现,多种细胞参与 CKD 血管钙化的发展过程,其中起主导作用的是平滑肌细胞和单核巨噬细胞,内皮细胞、周细胞、循环祖细胞、血管外膜成纤维细胞也发挥不可忽视的作用。在诱发因素作用下,各种细胞发生一系列病理生理变化:平滑肌细胞出现氧化应激、凋亡、自噬等反应促使其向成骨细胞转化,平滑肌细胞标志物之一的平滑肌 22 α (SM22 α)表达显著减少,而骨标记物 Runt 相关转录因子-2(Runt related transcription factor-2, RUNX2)、骨形态发生蛋白 2(bone morphogenetic protein 2, BMP-2)、骨桥蛋白、骨钙素和碱性磷酸酶的表达水平明显增多^[5];单核细胞迁移到内皮下,转化为巨噬细胞同时分泌多种炎症介质,如肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白细胞介素(interleukin, IL)-6、IL-1 β 等诱发炎症反应^[6],另外, TNF- α 和磷酸钙可诱发巨噬细胞转化为破骨细胞^[6]。其他细胞如周细胞、循环祖细胞、血管外膜成纤维细胞等亦被证实可通过多种途径转分化为成骨软骨样细胞参与血管钙化^[7]。血管钙化的过程中,在诱发因素的作用下不但细胞自身发生病理生理改变,而且细胞间相互作用,不同细胞间相互影响形

成复杂信号网络。

2 性别对 CKD 血管钙化的影响

CKD 血管钙化的危险因素包括:尿毒症毒素、钙磷矿物质代谢异常、贫血、营养不良等;高血压、糖尿病、血脂异常、老年不仅是动脉粥样硬化的传统危险因素,也是 CKD 患者血管钙化的传统危险因素,另外,男性亦是两者的传统危险因素之一。最近 Wu 等^[8]对 167 篇 CKD 血管钙化相关的文章进行总结分析,62 项原始调查对 CKD 患者性别与 VC 的患病率及严重程度的相关性进行了校正分析,非透析性 CKD、透析依赖性 CKD 和肾移植接受者三组患者中男性血管钙化风险高于女性的项目数分别为 14 项(82.4%)、25 项(62.5%)、4 项(80%);男性、女性没有差别的分别为 3 项(17.6%)、13 项(32.5%)、1 项(20%),仅透析依赖组有 2 项(5%)女性高于男性,非透析性 CKD 和肾移植组均无女性高于男性的调查项目;以上数据表明男性 VC 患病率明显高于女性,揭示了性别对 CKD 血管钙化影响的显著性,推测雄激素可能在 CKD 血管钙化的发展过程中发挥重要作用。

3 雄激素及其受体在 CKD 血管钙化中介导的细胞信号通路

3.1 雄激素及其受体 雄激素包括睾酮和二氢睾酮(dihydrotestosterone, DHT),雄激素受体(androgen receptor, AR)主要是核受体,睾酮与 AR 结合激活雄激素反应元件(androgen-responsive element, AREs)调节基因表达,睾酮也可以通过细胞色素 P-450 酶、5 α -还原酶转化为 5 α -DHT, DHT 与 AR 具有更高的结合活性。AR 在动脉壁的各层细胞均有表达,包括平滑肌细胞、内皮细胞,而在血管钙化发展过程发挥重要作用的单核巨噬细胞 AR 的表达水平较高^[9],单核巨噬细胞的 AR 在 CKD 血管钙化的过程中发挥重要作用。

3.2 雄激素及其受体在单核巨噬细胞的信号通路 炎症在 CKD 血管钙化的发展过程中发挥重要作用,慢性炎症被认为是异位钙化的核心因素^[8,10]。CKD 血管钙化过程伴随炎症细胞(包括单核巨噬细胞、淋巴细胞、粒细胞)的浸润,并渗透到大动脉内皮下间隙,通过释放炎症因子和介质、活性氧簇因子、基质囊泡等不同的机制促进血管钙化^[11]。研究发现

CKD 大鼠主动脉中炎性细胞因子 IL-1 β 、IL-6 和 TNF 的 mRNA 表达增加^[12], 炎性因子如 TNF、IL-6、IL-1 β 等可通过上调血管成骨分化相关蛋白及相关信号转导通路, 促进血管平滑肌细胞向成骨样细胞转化^[6]。活化的巨噬细胞产生的炎性因子可诱导内皮细胞和平滑肌细胞表达分泌 IL-6、IL-1 β 、TNF 等细胞因子进一步促进血管钙化的进展^[12]。另外, CKD 血管钙化中炎症和炎性因子使还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADPH) 氧化酶亚基 p22phox 和 p47phox 的表达增加, 但抗氧化酶如超氧化物歧化酶 1 (Superoxide dismutase 1, SOD1)、SOD2、谷胱甘肽过氧化物酶 1 (Glutathione Peroxidase 1, GPX1) 和过氧化物酶 1 (Peroxiredoxin 1, PRDX1) 的表达减少, 从而诱发活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 并激活其下游信号通路 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases MAPK), p42/p44MAPK 和磷酸肌醇-3-激酶/丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (Phosphoinositide-3 Kinase/the serine/threonine kinase, PI3K/Akt) 等^[12]。因此炎性因子还可能激活 ROS 的生成和下游的细胞内信号通路。

单核巨噬细胞在炎症过程中扮演重要角色, 可表达较高水平的 AR, 雄激素与 AR 结合后可通过调控炎性因子表达水平影响炎症过程的进展。笔者的体外研究显示, 沉默 AR 的巨噬细胞的条件培养基可以抑制无机磷酸盐诱导的人主动脉平滑肌细胞 (human aortic smooth muscle cells, HASMCs) 的钙化, 并减轻 HASMCs 成骨化的程度, HASMCs 的成骨细胞标志物 RUNX2 降低, 而平滑肌细胞标记物 SM22 α 的转录因子升高^[9]。RUNX2 是成骨细胞分化和骨发育的关键调节因子, 诱导平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 向成骨细胞分化, 在 VC 中起着重要作用。进一步的研究显示巨噬细胞的 AR 对 HASMCs 钙化的影响可通过炎性因子 IL-6、IL-1 β 介导, 阻断巨噬细胞的 AR 可减少 IL-6 和 IL-1 β 的分泌, AR 通过与 IL-6、IL-1 β 启动子区的 AREs 序列结合调节 IL-6 和 IL-1 β 的基因表达^[9,13]。IL-6 和可溶性 IL-6 受体结合可通过增加 RUNX2 的表达诱导 HASMCs 分化为成骨样细胞^[10]。在含有高磷的成骨细胞诱导培养基培养的

VSMCs 中, IL-6/可溶性 IL-6 受体 (soluble IL-6 receptor, sIL-6R) 通过信号转换和转录激活因子 3/Jumonji 结构域的蛋白 2B (signal transducer and activator of transcription 3/jumonji domain-containing protein 2B, STAT3/JMJD2B) 信号通路进行调节促进 RUNX2 表达并上调成骨细胞分化相关的基因, 如碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP) 和骨桥蛋白 (osteopontin, OPN)^[14]。

3.3 雄激素及其受体在平滑肌细胞的信号通路

在 CKD 血管钙化中高磷血症诱发的 VSMCs 凋亡在血管钙化中起着至关重要的作用, 是 CKD 血管钙化的一个重要过程。细胞凋亡导致血管平滑肌细胞释放凋亡小体 (该结构类似于基质囊泡, 已知它是骨中钙晶体形成的成核位点), 凋亡小体导致钙和磷酸盐的沉积, 可能通过促进钙晶体形成结节并发展成为钙化的核心^[15]。在血管钙化的致病因素中, 高磷血症是一个重要因素, 磷是 VSMCs 钙化的诱导剂, 而磷对血管平滑肌细胞钙化的诱导作用可能部分是由磷对细胞凋亡的作用及降低 VSMCs 活力所致^[16]。生长停滞特异基因 6 (Growth arrest-specific gene 6, Gas6) 是维生素 K 依赖蛋白家族的成员之一, 高磷可以通过下调 Gas6/磷酸 Akt (pAkt) 信号通路诱发细胞凋亡而促进血管钙化的进展^[17], B 细胞淋巴瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl2) 通过 PI3K/Akt 途径介导 Gas6 的抗凋亡作用, 磷酸化使 Bcl2 失活并激活促凋亡蛋白 Bcl2 相关的死亡启动子, 导致半胱氨酰天冬氨酸特异性蛋白酶-3 (caspase-3) 活化及凋亡^[18]。另外, 研究发现甲状旁腺激素诱导 HASMCs 细胞凋亡呈剂量和时间依赖性, 甲状旁腺激素增加凋亡诱导剂 caspase3 的表达^[19]。

平滑肌细胞成骨化在 CKD 血管钙化的发展过程中发挥关键作用, 平滑肌细胞表达一定水平的 AR 受体, AR 介导的雄激素的信号通路可调控平滑肌细胞成骨化的过程。体外研究显示生理浓度的雄激素具有抑制人主动脉 VSMCs 钙化的作用^[20], 高磷通过下调 Gas6/pAkt 信号通路诱发细胞凋亡促使 VSMCs 钙化。睾酮和 DHT 由 AR 介导结合至 Gas6 近端的两个 AREs 位点反式激活启动子而恢复下调的 Gas6/pAkt 信号通路, 抑制细胞凋亡进而抑制 VSMCs 的钙化^[21]。AR 抑制剂氟他胺可以阻断雄

激素的这些作用,证实雄激素的这种作用是通过 VSMCs 的 AR 介导的^[20-21]。人参皂苷 Rb1 是选择性 AR 调节因子,对 VSMCs 钙化的抑制作用也是通过 AR 介导的 Gas6 反式激活实现的^[22]。而另一体外研究的结果却显示雄激素促进血管钙化,睾酮和 DHT 与 AR 结合增加平滑肌细胞 ALP 的 mRNA 表达,从而促使高磷诱导的小鼠 VSMCs 钙化增强^[23]。这些研究结果之间的差异可能由于 VSMCs 模型的物种、传代状态和培养条件不同所致。

4 展望

ASC-J9 是一种姜黄素类似物,通过破坏 AR 与选择性 AR 共调节剂之间的相互作用促进 AR 降解^[24]。ASC-J9 在 CKD 血管钙化炎症中的作用有待进一步研究证实,其有可能成为 CKD 血管钙化治疗的新型药物。雄激素及其受体在 CKD 血管钙化中的作用逐渐受到关注,其相关研究尚处于初步探讨阶段,虽然研究结果不尽一致,但通过初步研究可以明确,雄激素及其受体在 CKD 血管钙化的发生发展过程中发挥的重要作用,其通过调控炎症、凋亡等病理过程影响 CKD 血管钙化的进展;另外,氧化应激和自噬也参与了 CKD 血管钙化^[25-26],而雄激素及其受体与氧化应激或自噬密切相关^[27-28],雄激素及其受体是否参与 CKD 血管钙化的氧化应激或自噬的调节有待于深入研究,因此阐明雄激素及其受体在 CKD 血管钙化中的作用机制还需要大量的研究工作。深入研究性激素及其受体在血管钙化中的作用及机制,有望使性激素及其受体成为 CKD 血管钙化防治的新靶点。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Li W, Feng W, Su X, et al. SIRT6 protects vascular smooth muscle cells from osteogenic transdifferentiation via Runx2 in chronic kidney disease[J]. J Clin Invest, 2022, 132(1): e150051. DOI: 10.1172/JCI150051.
- [2] Liu ZH, China Dialysis Calcification Study (CDCS) Group. Vascular calcification burden of Chinese patients with chronic kidney disease; methodology of a cohort study[J]. BMC Nephrol, 2015, 16: 129. DOI: 10.1186/s12882-015-0132-3.
- [3] Palioan NJ, Giachelli CM. A current understanding of vascular calcification in CKD[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2014, 307(8): F891-900. DOI: 10.1152/ajprenal.00163.2014.
- [4] Hénaut L, Candellier A, Boudot C, et al. New insights into the roles of monocytes/macrophages in cardiovascular calcification associated with Chronic Kidney Disease[J]. Toxins (Basel), 2019, 11(9): 529. DOI: 10.3390/toxins11090529.
- [5] Viegas C, Araújo N, Marreiros C, et al. The interplay between mineral metabolism, vascular calcification and inflammation in Chronic Kidney Disease (CKD): challenging old concepts with new facts[J]. Aging (Albany NY), 2019, 11(12): 4274-4299. DOI: 10.18632/aging.102046.
- [6] Li Y, Sun Z, Zhang L, et al. Role of Macrophages in the Progression and Regression of Vascular Calcification[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 661. DOI: 10.3389/fphar.2020.00661.
- [7] Agharazii M, St-Louis R, Gautier-Bastien A, et al. Inflammatory cytokines and reactive oxygen species as mediators of chronic kidney disease-related vascular calcification[J]. Am J Hypertens, 2015, 28(6): 746-755. DOI: 10.1093/ajh/hpu225.
- [8] Wu PY, Lee SY, Chang KV, et al. Gender-Related Differences in Chronic Kidney Disease-Associated vascular calcification risk and potential risk mediators: a scoping review[J]. healthcare (Basel), 2021, 9(8): 979. DOI: 10.3390/healthcare9080979.
- [9] Pang H, Xiao L, Lu Z, et al. Targeting androgen receptor in macrophages inhibits phosphate-induced vascular smooth muscle cell calcification by decreasing IL-6 expression[J]. Vasc Pharmacol, 2020, 130: 106681. DOI: 10.1016/j.vph.2020.106681.
- [10] Kurozumi A, Nakano K, Yamagata K, et al. IL-6 and sIL-6R induces STAT3-dependent differentiation of human VSMCs into osteoblast-like cells through JMJD2B-mediated histone demethylation of RUNX2[J]. Bone, 2019, 124: 53-61. DOI: 10.1016/j.bone.2019.04.006.
- [11] Jin D, Lin L, Xie Y, et al. NRF2-suppressed vascular calcification by regulating the antioxidant pathway in chronic kidney disease[J]. FASEB J, 2022, 36(1): e22098. DOI: 10.1096/fj.202100625RRR.
- [12] Chang JF, Liu SH, Lu KC. Uremic vascular calcification is correlated with oxidative elastic lamina injury, contractile smooth muscle cell loss, osteogenesis, and apoptosis: the human pathobiological evidence[J]. Front Med, 2020, 7: 78. DOI: 10.3389/fmed.2020.00078.
- [13] 庞海燕, 卢志, 肖飞龙, 等. 巨噬细胞雄激素受体通过调控白细胞介素 1 β 基因表达影响高磷诱发的血管平滑肌细胞钙化[J]. 中华肾脏病杂志, 2022, 38(5): 420-427. DOI: 10.3760/cma.j.cn441217-20210408-00060.
- [14] Huang M, Zheng L, Xu H, et al. Oxidative stress contributes to vascular calcification in patients with chronic kidney disease[J]. J Mol Cell Cardiol, 2020, 138: 256-268. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2019.12.006.
- [15] Liu Y, Guo Y, Bao S, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomal microRNA-381-3p alleviates vascular calcification in chronic kidney disease by targeting NFAT5[J]. Cell Death Dis, 2022, 28; 13(3): 278. DOI: 10.1038/s41419-022-04703-1.
- [16] Abbasian N. Vascular calcification mechanisms: updates and renewed insight into signaling pathways involved in high phosphate-mediated vascular smooth muscle cell calcification. Biomedicine[J]. 2021, 9(7): 804. DOI: 10.3390/biomedicine9070804.

(下转第 400 页)