

## 综述

## 骨硬化蛋白在动脉粥样硬化性心血管疾病中的研究进展

何方综述, 张文斌、傅国胜审校

**摘要** 骨硬化蛋白是 WNT/ $\beta$ -链蛋白信号通路的阻滞剂, 由 SOST 基因编码, 在矿化组织包埋的细胞中特异性表达。最近, 有相关研究陆续提示了循环骨硬化蛋白水平与糖尿病、高血脂、肥胖、高尿酸血症等一系列冠心病危险因素密切相关。此外, 一些研究表明, 骨硬化蛋白存在于动脉粥样硬化斑块, 可能参与了动脉粥样硬化和血管钙化。本文在回顾骨硬化蛋白的结构功能、表达调控的基础上, 对其与冠心病相关危险因素及动脉粥样硬化的关系做一综述。

**关键词** 骨硬化蛋白; 糖尿病; 高脂血症; 动脉粥样硬化; 心血管疾病

骨硬化蛋白 (Sclerostin) 是一种对成骨细胞具有抑制作用的蛋白。成骨细胞“活跃”时富含胶原蛋白分泌小泡, 具有产生细胞间质中纤维和黏多糖蛋白的作用, 并通过钙化形成骨质。骨硬化蛋白由骨细胞特异分泌后转运至骨细胞, 通过影响 WNT 信号通路对成骨作用产生抑制, 从而导致骨量减少、骨密度下降。动脉粥样硬化的钙化, 如同骨骼形成一样, 是一个复杂的、有机的、可调控和主动的过程, 为动脉粥样硬化的主要表现形式之一。最近, 一些研究表明, 骨硬化蛋白存在于动脉粥样硬化斑块, 可能参与了动脉粥样硬化和血管钙化<sup>[1,2]</sup>。此外, 有相关研究陆续提示了循环骨硬化蛋白水平与糖尿病、高血脂、肥胖、高尿酸血症等一系列冠心病危险因素密切相关。本文在介绍骨硬化蛋白结构、功能、表达调控的基础上, 着重探讨骨硬化蛋白与冠心病相关危险因素及动脉粥样硬化的关系, 并展望其临床应用的前景。

## 1 骨硬化蛋白的发现与调控

### 1.1 骨硬化蛋白的结构及其功能

20 世纪 90 年代末, Van Hul 和 Balemans 在对人类骨硬化病 (Sclerosteosis) 和 Van Buchem 病这两种高骨量遗传性疾病的研究中发现了致病基因 SOST (Sclerosteosis, SOST)。其位于人类染色体 17q12-q21, 含有两个外显子和一个内含子, 其中两个外显子共同编码一个包含 213 个氨基酸的蛋白质, 即骨硬化蛋白。骨硬化蛋白属于含“胱氨酸结”的分泌型蛋白 DAN 家族, 在抑制骨形成中具有重要作用。研究发现, SOST<sup>-/-</sup>小鼠的骨形成、骨密度和骨强度均有所增加<sup>[3]</sup>。Li 等<sup>[4]</sup>通过放射性技术检测 9~10 周 SOST<sup>-/-</sup>小鼠和野生型小鼠骨折的愈合程度, 发现 SOST<sup>-/-</sup>小鼠更能促进胫腓体桥的形成, 增强骨和骨组织的愈合。此外, 应用单克隆抗体抑制骨硬化蛋白可增加骨的形成和促进骨折愈合<sup>[5]</sup>, 更进

一步表明骨硬化蛋白在骨折的愈合中起着重要的负性调控作用。骨硬化蛋白抑制骨形成与 WNT/ $\beta$ -链蛋白信号通路的共同受体低密度脂蛋白受体相关蛋白 (Low density lipoprotein receptor related protein5/6, LRP5/6) 有关, 其能通过结合 LRP5/6 继而拮抗调节骨组织细胞分化、增殖、凋亡的经典 WNT 通路, 从而抑制骨形成<sup>[6]</sup>。研究表明 SOST<sup>-/-</sup>小鼠股骨中  $\beta$ -链蛋白核转位增多, WNT/ $\beta$ -链蛋白信号通路活性增强, 伴随着成骨细胞活性增强<sup>[5]</sup>, 更加充分地说明了骨硬化蛋白调控骨形成与 WNT/ $\beta$ -链蛋白信号通路密切相关。

### 1.2 骨硬化蛋白的表达调控

SOST 信使核糖核酸 (mRNA) 在软骨、骨髓、肾脏、心脏、主动脉、肺、胰腺、骨骼肌、肝脏、皮肤和胎盘等组织中均有表达, 尤其在主动脉和胎儿肾脏中的表达程度较高, 然而成熟的骨硬化蛋白却仅见于几种矿化组织包埋的细胞中, 如骨细胞和牙骨质细胞, 说明骨硬化蛋白在转录翻译的过程中受到了多种因素的调控作用。

研究发现, 雌性激素能降低血液循环中骨硬化蛋白的水平, 绝经后妇女的骨硬化蛋白较绝经前显著增高, 短期雌激素治疗能显著降低男性和女性血液中骨硬化蛋白含量<sup>[7]</sup>。赵薇等<sup>[8]</sup>报道绝经后骨质疏松症妇女血清骨硬化蛋白和 SOST 基因水平与雌二醇呈负相关, 提示雌激素可能通过抑制 SOST 基因表达, 进而减少骨硬化蛋白的合成。甲状旁腺激素 (PTH) 是另一种重要的调节激素, 研究发现, 在人群中间断给予 PTH, SOST/骨硬化蛋白的表达量出现显著下降, 其机制可能与 cAMP/PKA 信号途径及肌细胞促进因子 2 相关<sup>[9]</sup>。

机械应力和低氧对骨硬化蛋白的表达也有一定的抑制作用。Galea 等<sup>[10]</sup>研究发现人类在负载早期即可出现骨硬化蛋白表达水平明显下降, 其机制可能与前列腺素 (PG)

作者单位: 310016 浙江省杭州市, 浙江大学附属邵逸夫医院 心内科

作者简介: 何方 硕士研究生 主要研究方向为冠心病、动脉粥样硬化的临床及基础研究 Email: 51971638@qq.com 通讯作者: 傅国胜 Email: fugszju@gmail.com

中图分类号: R589 文献标识码: A 文章编号: 1000-3614 (2014) 08-0650-03 doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2014.08.023

E2/EP4 通路密切相关。在 Genetos 等<sup>[11]</sup>的报道中,成骨细胞和骨细胞在低氧环境下培养后其 SOST 转录和骨硬化蛋白表达水平都显著下降,并提出其可能通过提高对骨形态发生蛋白的拮抗作用来抑制骨硬化蛋白的表达。

## 2 骨硬化蛋白和冠心病危险因素

早在 20 世纪 60 年代至 70 年代,学者们已确认了糖尿病、血脂紊乱及肥胖等与动脉粥样硬化性心血管病的联系,而这些代谢性疾病的发病机制中均涉及 WNT/ $\beta$ -链蛋白信号通路,近年来已有相关研究陆续探讨了骨硬化蛋白和糖尿病、血脂异常及肥胖等之间的关系。

### 2.1 糖尿病

糖尿病是心血管疾病的主要危险因素,血糖升高显著增加了心血管病的发病率和死亡率。多项研究表明 2 型糖尿病患者的血清骨硬化蛋白水平显著高于非糖尿病患者,并且与糖尿病病程和糖化血红蛋白水平呈正相关<sup>[12, 13]</sup>。高血糖可以直接作用于骨细胞亦可通过糖基化终末产物发挥作用而导致骨硬化蛋白分泌增多<sup>[14]</sup>。合并骨质疏松症的 2 型糖尿病患者其血清骨硬化蛋白水平显著低于无骨质疏松症组,提示 2 型糖尿病患者的 WNT 信号通路调节功能受损<sup>[12]</sup>,其机制可能与 LRP6 常染色体上的显性错义突变有关。Nuche-Berenguer 等<sup>[15]</sup>报道在 2 型糖尿病及胰岛素抵抗大鼠模型中均存在 SOST 基因过表达,进一步说明了在糖尿病的发生发展过程中骨硬化蛋白发挥一定作用。然而,也有部分学者认为,骨硬化蛋白可以阻止 2 型糖尿病血管并发症的进展,其机制可能是减弱血管内皮细胞  $\beta$ -连环蛋白的活性,提示骨硬化蛋白可能在糖尿病的并发症发生中扮演着双重的角色<sup>[16]</sup>。

### 2.2 血脂异常

脂代谢异常是心血管疾病尤其是冠心病的独立危险因素。既往研究显示 WNT/ $\beta$ -链蛋白信号通路和高脂血症之间有着一定的相关性<sup>[17]</sup>。LRP5<sup>-/-</sup>小鼠表现出高胆固醇血症, $\beta$ -连环蛋白<sup>-/-</sup>小鼠的血液生化指标和野生小鼠相比具有更高的胆固醇及甘油三酯<sup>[18]</sup>。研究发现,绝经后女性的血清骨硬化蛋白水平与低密度脂蛋白胆固醇水平呈正相关,与高密度脂蛋白胆固醇水平呈负相关<sup>[19]</sup>,说明骨硬化蛋白作为 WNT/ $\beta$ -连环蛋白信号传导的抑制剂,在高脂血症的发病机制中占有一定的地位。

### 2.3 肥胖

美国心脏病协会和美国国立卫生研究院已经确认肥胖是导致冠心病的最大可变风险因素,尤其腹型肥胖与冠心病及其进展密切相关。研究发现,在正常健康人群中,循环骨硬化蛋白水平与体重指数正相关<sup>[20]</sup>,日本一个面向 352 名绝经后妇女的横断面研究发现血清骨硬化蛋白水平与腹部脂肪及女性型脂肪有着正相关关系<sup>[19]</sup>。同时,Sheng 等<sup>[21]</sup>也报道绝经后女性的血清骨硬化蛋白水平与体重及脂肪量有着直接关系。这些研究都直接或者间接的说明了肥胖与骨硬化蛋白之间的相关性,但目前没有研究提示骨硬化蛋白与肥胖之间孰因孰果的关系。

### 2.4 其他

尿酸和同型半胱氨酸作为已知的炎症标记物,其与心血管疾病的相关性已经得到一致认可<sup>[22, 23]</sup>。研究发现循环骨硬化蛋白水平和尿酸及同型半胱氨酸水平正相关<sup>[19]</sup>。年

龄作为心血管疾病的独立危险因素,同样与骨硬化蛋白水平联系紧密<sup>[20]</sup>。此外,也有研究报道骨硬化蛋白水平与胱抑素 C 水平正相关<sup>[24]</sup>。越来越多的研究正不断的发现骨硬化蛋白与传统或新型心血管危险因素之间存在着密切的相关性。

## 3 骨硬化蛋白和动脉粥样硬化

动脉脉管系统是人体除骨骼外第二个最广泛的钙化结构,血管钙化是动脉粥样硬化的特征性病变之一,其钙化病变程度直接与粥样硬化疾病的斑块负荷及血管事件发生率相关,被认为是预测冠心病的危险因素之一。美国心脏病协会也将斑块表面结节钙化作为判断易损斑块的次要标准。随着分子生物学和免疫组化等技术的发展,发现粥样硬化动脉的钙化是一个与新骨形成极为相似的受基因调控的主动性代谢过程,在这一过程中骨硬化蛋白参与并发挥重要作用。

既往研究发现,在慢性肾脏病患者中,多因素分析结果显示循环骨硬化蛋白水平较高者,其血管钙化的风险较低<sup>[25]</sup>,证明了循环骨硬化蛋白可能是一种血管钙化的保护因素。此外,Register 等<sup>[26]</sup>检测了 450 例患有 2 型糖尿病的非裔美国人的骨硬化蛋白水平,发现男性患者中骨硬化蛋白水平和颈动脉斑块钙化程度呈现负相关。然而,在 Koos 等<sup>[1]</sup>的研究中对比了 115 例主动脉瓣钙化患者与健康人群的血清骨硬化蛋白水平,结果发现前者骨硬化蛋白的水平明显升高,而主动脉瓣钙化的严重程度与骨硬化蛋白的增高呈现正相关。另外,在糖尿病小鼠模型中也发现骨硬化蛋白基因在主动脉钙化组织中存在过表达,蛋白组学研究同样发现骨硬化蛋白在动脉粥样硬化的主动脉标本中存在,同时非钙化区域无骨硬化蛋白染色。Brandenburg 等<sup>[2]</sup>也观察到主动脉瓣钙化区域骨硬化蛋白的 mRNA 比非钙化区域显著上调。上述这些结果迥异的研究充分说明骨硬化蛋白可能是血管钙化正常调节机理的一个组成部分,可通过各种反馈调节机制来调控血管钙化的进展<sup>[25]</sup>,然而其中具体的机制仍有待进一步研究。

此外,骨硬化蛋白和血管粥样硬化的关系不仅仅体现于血管钙化环节。Hampson 等<sup>[27]</sup>观察到骨硬化蛋白和血管硬度(由主动脉脉搏波速度测定)之间存在正相关关系,Morales-Santana 等<sup>[28]</sup>也报道颈动脉最大内膜中层厚度是骨硬化蛋白的独立相关因素。最近的一项研究显示骨质疏松患者应用唑来膦酸治疗 1 年后,循环骨硬化蛋白水平显著提高,伴随着颈动脉内膜厚度明显下降<sup>[29]</sup>。上述研究提示在血管粥样硬化的发病机制中可能存在和骨代谢异常共同的环节。

## 4 展望

目前的研究已经证明,循环骨硬化蛋白水平与血糖、低密度脂蛋白胆固醇、尿酸、同型半胱氨酸、脂肪含量水平以及年龄、性别等一系列心血管疾病危险因素密切相关,进一步研究将评估骨硬化蛋白水平与动脉粥样硬化性心血管疾病的相关性和因果性。目前已有家公司与课题组以骨硬化蛋白为靶点,研发用于治疗骨质疏松等骨质流失疾病的药物,有些已经进入四期临床。在这些药物中,骨硬化蛋白抗体显然是骨质疏松症和骨健康最有希望的单克隆药物之一。联系既往的研究成果,骨硬化蛋白抗体在

治疗骨骼疾病的同时是否具有改善动脉粥样硬化性疾病的可能? 这些未来的研究可能会发现骨硬化蛋白和 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在心血管疾病发病机制中的直接作用, 并为心血管疾病的预防与治疗提供新思路与新方法。

## 参考文献

- [1] Koos R, Brandenburg V, Mahnen AH, et al. Sclerostin as a potential novel biomarker for aortic valve calcification: an in-vivo and ex-vivo study. *J Heart Valve Dis*, 2013, 22: 317-325.
- [2] Brandenburg VM, Kramann R, Koos R, et al. Relationship between sclerostin and cardiovascular calcification in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *BMC Nephrol*, 2013, 14: 219.
- [3] Li X, Ominsky MS, Niu QT, et al. Targeted deletion of the sclerostin gene in mice results in increased bone formation and bone strength. *J Bone Miner Res*, 2008, 23: 860-869.
- [4] Li C, Ominsky MS, Tan HL, et al. Increased callus mass and enhanced strength during fracture healing in mice lacking the sclerostin gene. *Bone*, 2011, 49: 1178-1185.
- [5] Li X, Ominsky MS, Warmington KS, et al. Sclerostin antibody treatment increases bone formation, bone mass, and bone strength in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res*, 2009, 24: 578-588.
- [6] Semenov M, Tamai K, He X, et al. SOST is a ligand for LRP5/LRP6 and a Wnt signaling inhibitor. *J Biol Chem*, 2005, 280: 26770-26775.
- [7] Modder UI, Clowes JA, Hoey K, et al. Regulation of circulating sclerostin levels by sex steroids in women and in men. *J Bone Miner Res*, 2011, 26: 27-34.
- [8] 赵薇, 王志军, 丁娟, 等. 绝经后骨质疏松妇女血清骨硬化蛋白与雌二醇的相关性分析. *现代生物医学进展*, 2010, 10: 4488-4490.
- [9] Drake MT, Srinivasan B, Modder UI, et al. Effects of parathyroid hormone treatment on circulating sclerostin levels in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95: 5056-5062.
- [10] Galea GL, Sunter A, Meakin LB, et al. Sost down-regulation by mechanical strain in human osteoblastic cells involves PGE2 signaling via EP4. *FEBS Lett*, 2011, 585: 2450-2454.
- [11] Genetos DC, Toupadakis CA, Raheja LF, et al. Hypoxia decreases sclerostin expression and increases Wnt signaling in osteoblasts. *J Cell Biochem*, 2010, 110: 457-467.
- [12] Garcia-Martin A, Rozas-Moreno P, Reyes-Garcia R, et al. Circulating levels of sclerostin are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97: 234-241.
- [13] Gaudio A, Privitera F, Battaglia K, et al. Sclerostin levels associated with inhibition of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and reduced bone turnover in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97: 3744-3750.
- [14] Blakely R, Spraul M, Jude EB, et al. Review: The diabetic bone: a cellular and molecular perspective. *Int J Low Extrem Wounds*, 2011, 10: 16-32.
- [15] Nuche-Berenguer B, Moreno P, Portal-Nunez S, et al. Exendin-4 exerts osteogenic actions in insulin-resistant and type 2 diabetic states. *Regul Pept*, 2010, 159: 61-66.
- [16] Gaudio A, Privitera F, Battaglia K, et al. Sclerostin levels associated with inhibition of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and reduced bone turnover in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97: 3744-3750.
- [17] MacDonald BT, Tamai K, He X, et al. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell*, 2009, 17: 9-26.
- [18] Behari J, Yeh TH, Krauland L, et al. Liver-specific  $\beta$ -catenin knockout mice exhibit defective bile acid and cholesterol homeostasis and increased susceptibility to diet-induced steatohepatitis. *Am J Pathol*, 2010, 176: 744-753.
- [19] Urano T, Shiraki M, Ouchi Y, et al. Association of circulating sclerostin levels with fat mass and metabolic disease-related markers in Japanese postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97: E1473-1477.
- [20] Amrein K, Amrein S, Drexler C, et al. Sclerostin and its association with physical activity, age, gender, body composition, and bone mineral content in healthy adults. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97: 148-154.
- [21] Sheng Z, Tong D, Ou Y, et al. Serum sclerostin levels were positively correlated with fat mass and bone mineral density in central south Chinese postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2012, 76: 797-801.
- [22] 李杨, 秦勤, 赵福梅, 等. 同型半胱氨酸硫内酯复合物与冠心病的关系. *中国循环杂志*, 2006, 21: 206-208.
- [23] 马士新, 魏盟, 张响响, 等. 尿酸与冠心病关系的探讨. *中国循环杂志*, 2004, 19(增刊): 37.
- [24] Bhattoa HP, Wamwaki J, Kalina E, et al. Serum sclerostin levels in healthy men over 50 years of age. *J Bone Miner Metab*, 2013, 31: 579-584.
- [25] Claes KJ, Viaene L, Heye S, et al. Sclerostin: Another vascular calcification inhibitor. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98: 3221-3228.
- [26] Register TC, Hruska KA, Divers J, et al. Sclerostin is positively associated with bone mineral density in men and women and negatively associated with carotid calcified atherosclerotic plaque in men from the african american-diabetes heart study. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99: 315-321.
- [27] Hampson G, Edwards S, Conroy S, et al. The relationship between inhibitors of the Wnt signalling pathway (Dickkopf-1(DKK1) and sclerostin), bone mineral density, vascular calcification and arterial stiffness in post-menopausal women. *Bone*, 2013, 56: 42-47.
- [28] Morales-Santana S, Garcia-Fontana B, Garcia-Martin A, et al. Atherosclerotic disease in type 2 diabetes is associated with an increase in sclerostin levels. *Diabetes Care*, 2013, 36: 1667-1674.
- [29] Gonnelli S, Caffarelli C, Tanzilli L, et al. Effects of intravenous zoledronate and ibandronate on carotid intima-media thickness, lipids and FGF-23 in postmenopausal osteoporotic women. *Bone*, 2014, 61:27-32.

(收稿日期:2014-02-14)

(编辑: 漆利萍)