

慢性肾脏病 5 期患者血清 BMP-2 及 BMP-7 与颈动脉钙化的相关性研究

王冬梅,王科,方媛,刘静静,江洁龙,任伟

摘要 选取慢性肾脏病 5 期(CKD5 期)住院患者 52 例,予以颈动脉多普勒检查,并记录颈动脉中膜厚度以评估血管钙化情况,同期健康体检人员 40 例为对照组。参加者均检测血清骨形态蛋白 2(BMP-2)、骨形态蛋白 7(BMP-7)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、钙(Ca)、磷(P)、全段 PTH(iPTH) 指标。结果显示病例组血清 BMP-7 低于对照组,BMP-2 高于对照组。病例组中颈动脉钙化发生率高于对照组,与高 BMP-2、低 BMP-7 相关;血清 BMP-2 与 BMP-7 呈负相关性。

关键词 慢性肾脏病;血管钙化;颈动脉中膜厚度;BMP-2;BMP-7

中图分类号 R 692.5;R 543.4

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2016)05-0762-03

血管钙化(vascular calcification, VC)是慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)常见的并发症且其是终末期肾病患者心血管疾病发生的重要病因,CKD5 期患者 VC 患病率高达 80%~99%,较 CKD3 期的 40% 明显上升^[1]。其中血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)向成骨样细胞的表型转化在血管的钙化中起核心作用^[2]。骨形成蛋白(bone morphogenetic proteins, BMPs)广泛表达于动脉粥样硬化损伤的内皮细胞中,参与成骨细胞的生长与分化。血清骨形态蛋白 2(bone morphogenetic protein 2, BMP-2)与骨形态蛋白 7(bone morphogenetic protein 7, BMP-7)均为骨形成蛋白,同属于转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 家族,BMP-2 为高效骨诱导因子,是动脉钙化强有力基本因素,BMP-7 则可通过抑制 VSMC 的增殖,改善 VC。该研究观察 CKD5 期患者血清 BMP-2 及 BMP-7 水平与 VC 的关系,通过两者水平测定来评估 VC 的情况,为早期干预 VC 提供依据。

1 材料与方 法

1.1 病例资料

病例组:收集安徽医科大学附属省

2016-02-22 接收

基金项目:安徽省卫生厅医学科研课题(编号:2010C040)

作者单位:安徽医科大学附属省立医院肾脏内科,合肥 230001

作者简介:王冬梅,女,硕士研究生;

任伟,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-mail:renweishn@163.com

立医院 2014 年 11 月~2015 年 6 月入住肾脏内科治疗患者 52 例,其中男 32 例,女 20 例;年龄 22~83 (50.58 \pm 13.06) 岁,入选标准如下:① 年龄 \geq 18 岁;② 通过计算肾小球滤过率公式,肾小球滤过率 <15 ml/min \cdot 1.73²,且尚未进入透析;③ 非糖尿病患者(通过病史询问,并行糖化血红蛋白、葡萄糖耐量试验、空腹血糖检查及 5 点血糖的监测予以排除);④ 无感染、急性心脑血管、肝脏疾病,否认有恶性肿瘤病史;⑤ 近期末服用钙剂、骨化三醇、磷结合剂、降酯药物等影响钙磷代谢、血脂水平药物。对照组:同期我院健康体检人群 40 例,其中男 26 例,女 14 例,年龄 22~75 (51.85 \pm 12.73) 岁,年龄($t=0.47, P=0.64$)、性别($\chi^2=0.12, P=0.83$)与病例组匹配,无慢性肾脏病,体检肾功能正常,无血尿蛋白尿。所有参与人员对本次研究知情同意并予以签字。

1.2 血清学检测 所有参加者空腹送检静脉血:应用全自动生化分析仪测定血清钙(calcium, Ca)、磷(phosphorus, P)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C),应用电化学发光法测定血清全段甲状旁腺素(intact parathyroid hormone, iPTH)。参照试剂盒(上海源叶生物技术有限公司, E10883/E10864)说明书,应用 ELISA 法测定血清 BMP-2 及 BMP-7 水平。

1.3 颈动脉超声检查 采用我院 IU Elite 彩色多普勒超声诊断仪,探头频率为 3~9 MHz,患者取平卧位,充分暴露双侧颈部,在舒张末期测量血管内膜表面经中层到中层外膜移行处距离,则为颈动脉中膜厚度(intima-media thickness, IMT)。IMT 增厚定义为:颈总动脉 >1.0 mm 或颈动脉分叉处 >1.0 mm。突出血管内壁表面的局限性动脉壁增厚,其厚度超过相邻区域至少 50%,回声不均匀或明显增厚(IMT >1.3 mm)定义为粥样硬化斑块形成。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,病例组及对照组均数比较采用两样本比较的 t 检验。多组间比较根据方差齐性检验结果,先采用单因素方差分析,后根据 LSD 方法

进行两两比较方法。血管钙化情况与各血清指标之间的关系采用 Spearman 相关分析。BMP-2 及 BMP-7 与各指标之间的相关性采用 Pearson 相关分析。

2 结果

2.1 病例组与对照组的血清学比较 病例组血清 BMP-7、Ca、HDL-C 低于对照组, BMP-2、P、iPTH、钙磷乘积(Ca × P) 高于对照组 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 病例组与对照组各项指标的比较($\bar{x} \pm s$)

项目	病例组(n=52)	对照组(n=40)	t 值	P 值
年龄(岁)	50.58 ± 13.06	51.85 ± 12.73	-0.47	0.64
iPTH(ng/L)	904.47 ± 234.01	57.35 ± 23.32	22.78	<0.01
Ca(mmol/L)	2.01 ± 0.34	2.15 ± 0.11	-2.45	0.02
P(mmol/L)	2.27 ± 0.53	1.32 ± 0.11	11.21	<0.01
HDL-C(mmol/L)	1.09 ± 0.26	1.35 ± 0.18	-5.25	<0.01
LDL-C(mmol/L)	2.60 ± 0.66	2.57 ± 0.75	0.22	0.83
Ca × P(mg/dl)	54.09 ± 13.58	34.43 ± 3.28	8.95	<0.01
BMP-2(ng/L)	9.68 ± 3.64	3.0 ± 1.08	11.20	<0.01
BMP-7(ng/L)	533.20 ± 233.73	1013.15 ± 245.49	-9.464	<0.01

2.2 颈动脉超声结果 52 例尿毒症患者中无 IMT 增厚的为 28 例, IMT 增厚的为 24 例(其中伴有粥样斑块形成 9 例);对照组无 IMT 增厚 31 例, IMT 增厚的为 9 例(其中伴有粥样斑块形成 2 例)。颈动脉超声结果见图 1。病例组出现 IMT 增厚的阳性率高于对照组($\chi^2 = 5.50, P < 0.05$)。在病例组无 IMT 增厚、存在 IMT 增厚、粥样斑块形成 3 组间比较血清 P、BMP-2、BMP-7、Ca × P 水平差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 相关性分析 病例组利用 Spearman 相关分析提示 VC 程度与血清 BMP-2 呈正相关性($r_s = 0.77$,

$P < 0.05$), 与血清 P、iPTH、Ca × P 及年龄呈正相关性($P < 0.05$), 而与血清 BMP-7 呈负相关性($r_s = -0.48, P < 0.05$)。利用 Pearson 相关分析可见血清 BMP-2 与血 P、Ca × P 呈正相关性, 血清 BMP-2 与 BMP-7 呈负相关性($r_s = -0.47, P < 0.05$)。见表 3。

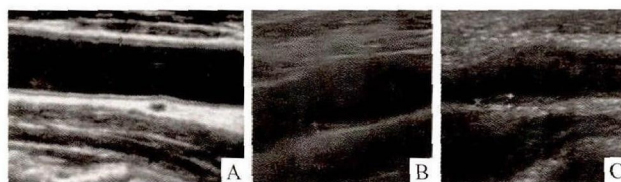


图 1 颈动脉多普勒彩超结果

A: 无颈动脉中膜增厚; B: IMT 增厚; C: IMT 明显增厚伴粥样斑块形成

3 讨论

CKD 5 期患者 VC 的发生率显著增高。人体中存在天然 VC 抑制因子, 如血清基质 Gla 蛋白、胎球蛋白 A、BMP-7 等。BMP-7 广泛表达于肾脏组织中, 在胚胎肾脏的发育及成体肾脏功能维持上密切相关。Davies et al^[3] 用 BMP-7 处理动慢性肾衰竭伴有动脉硬化大鼠, 结果显示其能维持 VSMC 表型, 降低血磷水平, 有效改善 VC 程度。但目前国内外对 BMP-7 抑制 VC 的机制尚不清楚, 研究^[4] 报道, BMP-7 可能通过诱导 p21 蛋白和上调 smad6 和 smad7 基因的表达来阻止 VSMC 表型的分化, 从而抑制细胞钙化的发生。本研究显示 CKD5 期患者 BMP-7 较正常人明显减低, 并与颈动脉钙化程度呈负相关性, 提示 BMP-7 能有效抑制 CKD 患者 VC 的发生发展。

表 2 病例组不同 VC 的血清学指标比较($\bar{x} \pm s$)

项目	无 IMT 增厚(n=28)	IMT 增厚(n=15)	伴有粥样斑块形成(n=9)	F 值	P 值
年龄(岁)	48.11 ± 14.44	50.27 ± 10.40	58.78 ± 9.89*	2.40	0.101
iPTH(ng/L)	867.10 ± 249.24	879.69 ± 197.98	1062.01 ± 192.09*	2.64	0.081
Ca(mmol/L)	2.05 ± 0.34	1.98 ± 0.28	1.94 ± 0.45	0.43	0.65
P(mmol/L)	2.0 ± 0.52	2.43 ± 0.34*	2.87 ± 0.68**	16.12	<0.01
HDL-C(mmol/L)	1.18 ± 0.25	1.05 ± 0.23	0.91 ± 0.23	4.66	0.14
LDL-C(mmol/L)	2.54 ± 0.66	2.78 ± 0.52	2.50 ± 0.85	0.753	0.476
Ca × P(mg/dl)	48.62 ± 11.79	57.51 ± 7.61*	65.40 ± 18.31*	7.32	0.02
BMP-2(ng/L)	7.56 ± 2.30	10.10 ± 1.22*	15.56 ± 3.05**	45.27	<0.01
BMP-7(ng/L)	591.53 ± 236.91	571.08 ± 222.08	288.61 ± 51.57**	7.21	0.02

与无 IMT 增厚组比较: * $P < 0.05$; 与 IMT 增厚组比较: ** $P < 0.05$

表 3 病例组血清 BMP-2、BMP-7 与其他血清学指标的相关性分析(r_s)

项目	年龄	iPTH	Ca	P	HDL-C	LDL-C	Ca × P	BMP-2	BMP-7
VC 积分	0.382*	0.28*	-0.11	0.69*	-0.40	0.04	0.47*	0.77*	-0.48*
BMP-2	0.11	0.29	-0.15	0.61*	-0.25	0.07	0.42*	1.00	-0.47*
BMP-7	0.87	0.06	-0.13	-0.15	0.26	0.35	-0.19	-0.47*	1.00

* $P < 0.05$

VC 过去一直被认为是被动的过程,但研究^[5]显示,VC 类似于骨钙化,有主动性、可逆性、高度可控性的生物学特点。VSMC 介导的主动调节过程是其发生发展的主要机制之一^[6]。进入终末期肾衰竭后,VSMC 受上调的细胞核结合因子(Cbfa-1)/Runx2 的影响转化为软骨或骨样细胞,转分化的 VSMC 能够主动沉积羟基磷灰石,促进 VC 的发生。研究^[7]显示,BMP-2 可通过下调多个 miRNA,从而增加 Cbfa-1/Runx2 在冠状动脉平滑肌细胞表达,导致细胞钙化。BMP-2 亦可活化还原型辅酶 II 氧化酶,提高氧化应激,使得 Runx2 表达增加^[8],促进钙化发生。本研究对 CKD5 期患者颈动脉钙化程度与 BMP-2 水平进行相关性分析,结果显示两者呈正相关性,提示 BMP-2 在终末期肾病患者 VC 过程中起到重要的作用。

BMP-2 及 BMP-7 同属于 TGF- β 家族,且都参与动脉钙化的发生发展,两者在不同钙化组水平差异有统计意义。本研究对两者血清学水平进行相关性分析,发现两者呈负相关性,但国内外对两者相关性的研究鲜有报道。TGF- β 家族主要通过 smad 蛋白参与信号传导,从而产生一系列的生物学效应^[9]。其中 smad6 为 BMP-7 信号通路的调节因子,属于抑制性 smad^[10],可竞争性与 BMP-I 型受体结合,从而负性调控 BMP-2 的表达。当出现肾功能损害时,BMP-7 分泌减少,其对 BMP-2 负性调控减弱,而 BMP-2 又可竞争抑制影响 BMP-7 的表达,通过一系列复杂的反馈调节最终导致两者血清学不同的变化。

目前,国外已将 BMP-7 用于骨科疾病的治疗,但对于肾病的方面的研究尚处于实验室阶段。文献^[11]报道 BMP-2 的抑制剂对于 VC 有很好的抑制作用。希望通过对 BMP-2 与 BMP-7 的研究,能够找

到对终末期肾病患者 VC 更好的治疗措施。

参考文献

- [1] Liu Z H, 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.
- [2] Niita K, Oguwa T. Aortic arch calcification and clinical outcome in patients with end-stage renal disease [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2011, 223(2):79-84.
- [3] Davies M R, Lund R J, Hruska K A. BMP-7 is an efficacious treatment of vascular calcification in a murine model of atherosclerosis and chronic renal failure[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14(6):1559-67.
- [4] Hruska K A, Mathew S, Saab G. Bone morphogenetic proteins in vascular calcification[J]. *Circ Res*, 2005, 97(2):105-14.
- [5] Hruska K A. The pathogenesis of vascular calcification in the chronic kidney disease mineral bone disorder: the links between bone and vasculature[J]. *Semin Nephrol*, 2009, 29(2):156-65.
- [6] Duer M J, Frisic T, Proudfoot D, et al. Mineral surface in calcified plaque is like that of bone. Further evidence for regulated mineralization[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(11):2030-4.
- [7] Balderman J A, Lee H Y, Mahoney C E, 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.
- [8] Liberman M, Johnson R C, Handy D E, 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):436-41.
- [9] Nishimura R, Hata K, Matsubara T, et al. Regulation of bone and cartilage development by network between BMP signalling and transcription factors [J]. *J Biochem*, 2012, 151(3):247-54.
- [10] Meng X M, Chung A C, Lan H Y. Role of the TGF- β /BMP-7/Smad pathways in renal diseases[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2013, 124(4):243-54.
- [11] Derwall M, Malhotra R, Lai C S, et al. Inhibition of bone morphogenetic protein signaling reduces vascular calcification and atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32(13):613-22.

Correlation between serum concentrations of BMP-2 and BMP-7 and calcification of carotid artery in patients with CKD5

Wang Dongmei, Ren Wei, Wang Ke, et al

(Dept of Nephrology, Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001)

Abstract 52 patients with CKD5 (experimental group) were recruited in nephrology department, while 40 people in good health (control group) were included as control. The color Doppler ultrasonography was conducted in 52 patients with CKD5 stage and the carotid media thickness was recorded to evaluate the carotid artery calcification. The serum concentrations of bone morphogenetic protein 2 (BMP-2), bone morphogenetic protein 7 (BMP-7), HDL-C, LDL-C, Ca, P, and iPTH were all included as items of inspection. The concentration of BMP-7 in experimental group was lower than that in control one. On the contrary, the concentration of BMP-2 was higher in experimental group. The incidence of carotid artery calcification in experimental group was higher than that in control one. This phenomenon was associated with the higher concentration of BMP-2 and the lower of BMP-7. Serum BMP-2 is negatively correlated with BMP-7.

Key words chronic kidney disease; vascular calcification; IMT; BMP-2; BMP-7