

阿托伐他汀对 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉粥样硬化和钙化的影响

仲英洁^{1,2}, 张子为², 徐郁², 花晓敏², 胡云^{1,2}

(1. 南京医科大学鼓楼临床医学院内分泌科; 2. 南京大学医学院附属鼓楼医院内分泌科, 江苏省南京 210008)

[关键词] 阿托伐他汀; 动脉粥样硬化; 血管钙化; ApoE^{-/-}小鼠

[摘要] **目的** 探讨阿托伐他汀对 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉粥样硬化及钙化的影响。**方法** 12 只 6 周龄 ApoE^{-/-} 小鼠, 予以高脂饮食喂养 8 周后, 随机分为高脂组 ($n=6$) 和高脂加阿托伐他汀组 ($n=6$), 连续灌胃干预 8 周, 于 22 周龄时处死, 测定血清血脂、IL-6 及 A-SAA 水平; HE 染色观察主动脉粥样硬化及 Von Kossa 染色观察主动脉钙化; 免疫组织化学染色法分析比较两组 VCAM-1、MCP-1、BMP-2 表达; 阿托伐他汀干预人主动脉内皮细胞, 测定细胞内钙含量及 AKP 活力, 并用 Western blot 法测定 BMP-2 蛋白表达水平。**结果** 高脂加阿托伐他汀组 ApoE^{-/-} 小鼠血清 TG、TC 及 LDLC 水平显著低于高脂组 ($P<0.05$); 且血清 IL-6 及 A-SAA 水平较高脂组亦显著降低 ($P<0.05$); 高脂组 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉内膜出现典型粥样硬化斑块, 管腔面积缩小, 高脂加阿托伐他汀组的病变程度较轻; 但高脂加阿托伐他汀组 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉内膜钙盐沉积量显著高于高脂组 ($P<0.05$)。高脂加阿托伐他汀组 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉血管壁 VCAM-1、MCP-1 的表达显著低于高脂组 ($P<0.01$), 而 BMP-2 的表达显著高于高脂组 ($P<0.01$)。阿托伐他汀处理人主动脉内皮细胞后, 高剂量阿托伐他汀可使细胞内 BMP-2 蛋白表达水平显著高于对照组 ($P<0.05$), 并使钙含量及 AKP 活力比低剂量组和对照组显著增加 ($P<0.01, P<0.05$)。**结论** 阿托伐他汀可降低高脂喂养的 ApoE^{-/-} 小鼠血清 TG、TC、LDL-C 及 IL-6、A-SAA 水平, 减少主动脉血管壁 VCAM-1、MCP-1 的表达, 同时减轻主动脉粥样硬化的病变程度; 但增加 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉内膜 BMP-2 表达, 促进钙盐沉积, 增加人主动脉内皮细胞 BMP-2 蛋白表达、钙含量及碱性磷酸酶活力, 加重主动脉内膜的钙化。

[中图分类号] R972 + .6; R543.1 + 2

[文献标识码] A

Modulation of Atherosclerosis and Calcification of ApoE^{-/-} Mice by Atorvastatin

ZHONG Ying-Jie^{1,2}, ZHANG Zi-Wei², XU Yu², HUA Xiao-Min², and HU Yun^{1,2}

(1. Drum Tower Hospital, Nanjing Medical University; 2. Department of Endocrinology, Drum Tower Hospital Affiliated to Nanjing University Medical School, Nanjing, Jiangsu 210008, China)

[KEY WORDS] Atorvastatin; Atherosclerosis; Calcification; ApoE^{-/-} Mice

[ABSTRACT] **Aim** To assess the effect of atorvastatin on ApoE^{-/-} mice atherosclerosis and calcification.

Methods Six week old male ApoE^{-/-} mice were fed with diets containing 45% kcal from fat. The mice received diets ad lib for 8 weeks and had free access to water. Then the mice were randomly divided into two groups: atorvastatin group ($n=6$) or high fat group ($n=6$). After 8 weeks of diet, mice were killed, blood was collected and plasma TG, TC, HDL-C, LDL-C, IL-6 and A-SAA concentrations were measured. Aortic sections were stained with hematoxylin and eosin or von kossa and observed under microscope. Immunohistochemical staining was performed to visualize the expressions of vascular MCP-1, VCAM-1 and BMP-2. Human Aorta Endothelial Cells (HAEC) were treated with different doses of atorvastatin. The level of BMP-2, calcium content and AKP activity were measured. **Results** Serum levels of TG, TC, LDLC, IL-6 and A-SAA in the atorvastatin group significantly decreased compared with those in the high fat group ($P<0.05$). Atherosclerotic plaques were observed in ApoE^{-/-} mice of the high fat group. And the plaque lesions revealed more limited in atorvastatin groups compared with those in the high fat group. However, the calcium mineral deposits on vascular tis-

[收稿日期] 2012-05-25

[基金项目] 南京市卫生局重点项目 (ZKX10016)

[作者简介] 仲英洁, 硕士, 研究方向为糖尿病大血管病变的发病机制, E-mail 为 zydoctor@gmail.com。通讯作者胡云, 主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为炎症因子与胰岛素抵抗和糖尿病大血管病变的发病机制, E-mail 为 huyundr@sina.com。

sue induced by atorvastatin were stronger than the high fat group ($P < 0.05$). The expressions of vascular MCP-1 and VCAM-1 in atorvastatin group significantly decreased compared with those in the high fat group ($P < 0.01$). However, the expression of BMP-2 in atorvastatin group was increased compared with the high fat group ($P < 0.01$). Atorvastatin increased HAECs BMP-2 expression compared with the control group ($P < 0.05$), and further increased the calcium deposition and the activity of AKP significantly compared with the control and low-dose atorvastatin group ($P < 0.01, P < 0.05$).

Conclusion Atorvastatin may reduce the levels of serum TG, TC, LDLC, IL-6 and A-SAA, decrease the expressions of vascular MCP-1, VCAM-1 and inhibit the progression of atherosclerosis lesion in ApoE^{-/-} mice. However, Atorvastatin may increase the expression of BMP-2 and accelerate calcium deposition, stimulate the HAEC calcification and the activity of AKP, thus affect calcification of aortic tunica intima.

既往认为血管钙化是与年龄相关的钙盐被动沉积的过程,是动脉粥样硬化发展到后期的表现,与斑块破裂及心肌梗死风险增加显著相关,老年人多见^[1-2]。但是临床发现许多年轻的2型糖尿病患者和慢性肾功能不全的患者动脉粥样硬化性钙化亦非常多见^[3-5]。

目前,血管钙化的发病机制尚不是很清楚。研究认为血管钙化是类似于骨矿化的一个主动的可调节的过程,与碱性磷酸酶(AKP)及骨形态发生蛋白2(BMP-2)等成骨因子表达增加有关。高血糖、炎症及氧化应激等可刺激血管内皮细胞和/或血管平滑肌细胞表达 AKP 及 BMP-2,进而促进钙盐沉积于血管壁,而引起血管的钙化^[6]。

大量的循证医学研究结果显示他汀类降脂药可以降低血脂、稳定斑块,进而减少心脑血管事件的发生和发展。但他汀类降脂药对血管钙化的作用尚不清楚。有研究发现他汀类降脂药可改善有脂质代谢紊乱患者的血管钙化程度^[7],而有的研究却发现他汀类降脂药可以加重血管钙化^[8]。目前国内关于他汀类降脂药对血管钙化的研究尚不多。本研究拟探讨他汀类降脂药对 ApoE^{-/-}小鼠主动脉粥样硬化及血管钙化的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

ApoE^{-/-}小鼠(购自南京大学模式动物研究所)饲养于无特定病原体(SPF)屏障内,环境温度19~22℃,相对湿度50%~70%。小鼠自由摄食及饮水。12只6周龄 ApoE^{-/-}小鼠适应性喂养1周后给予高脂饲料(脂肪比重21%,供能比42%;胆固醇比重0.15%)连续喂养8周后随机分为两组:高脂加阿托伐他汀组(高+阿组, $n = 6$)和高脂组($n = 6$)。高脂加阿托伐他汀组在喂食高脂饲料基础上给予阿托伐他汀5 mg/(kg·d)溶于0.5% CMC-Na

后灌胃。高脂组除了给予高脂饮食,每天灌服0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液10 mL/(kg·d)。继续喂养8周后,所有 ApoE^{-/-}小鼠禁食12小时,1%戊巴比妥0.5~1.0 mL腹腔麻醉,摘取眼球采血,3 kr/min离心10 min,分离血清。两组小鼠摘取眼球采血处死后,将主动脉根部至主动脉弓血管取出。

1.2 ApoE^{-/-}小鼠血清血脂和炎症因子水平检测

每只小鼠血清分为两管,一管用于检测总胆固醇(Total cholesterol, TC;胆固醇氧化酶法)、甘油三酯(Triglyceride, TG;GPO-PAP法)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC;化学修饰酶法)以及低密度脂蛋白胆固醇(Low density lipoprotein cholesterol, LDLC;选择性可溶化法)。另一管血清用于ELISA法测定血清白介素6(Interleukin-6, IL-6)和急性时相淀粉样蛋白A(Acute serum amyloid A protein, A-SAA)水平。

1.3 苏木素-伊红染色

取 ApoE^{-/-}小鼠主动脉根部至主动脉弓血管,中性甲醛固定,常规石蜡包埋连续切片,Thermo Fisher Gemini自动染色机HE染色,于光镜下观察拍照。

1.4 Von Kossa 染色

取 ApoE^{-/-}小鼠主动脉根部至主动脉弓血管石蜡切片脱蜡脱水后,置于1%硝酸银溶液中,紫外灯下照射45分钟,蒸馏水漂洗,3%硫代硫酸钠溶液定影处理5分钟,碱性品红复染、脱水、透明、封片后,于光镜下观察主动脉钙盐沉积情况。

1.5 免疫组织化学染色检测 VCAM-1、MCP-1 及 BMP-2 的表达量

取上述石蜡切片脱蜡脱水,抗原修复后,滴加正常兔(或小鼠)血清封闭液,室温孵育30 min;滴加兔抗小鼠 VCAM-1 或 MCP-1 多克隆抗体(1:400)和 BMP-2 单克隆抗体(1:300),4℃过夜;滴加二抗,37℃孵育1 h;滴加 DAB 显色液;苏木素复染,1%盐酸酒精分化,稀氨水返蓝,梯度酒精脱水干燥封片,于镜下

观察拍照。VCAM-1 兔抗鼠多克隆抗体 (SANTA CRUZ 公司); MCP-1 兔抗鼠多克隆抗体 (Abcam 公司); BMP-2 小鼠抗人单克隆抗体 (Abcam); 兔超敏二步法免疫组化检测试剂盒 (北京中杉金桥生物有限公司), 辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的山羊抗鼠多克隆抗体 (北京中杉金桥生物有限公司)。Microm HM325 石蜡切片机 (Microm 公司); Thermo Fisher Gemini 自动染色机 (Thermo Fisher 公司); Olympus BX50 全自动显微照相系统 (Olympus 公司)。

1.6 人主动脉内皮细胞培养及分组

用含 10% 热灭活胎牛血清 (FBS) (GIBCO, Canada), 1% 青霉素 (100 U/mL) 和链霉素 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (GIBCO, Canada) 的高糖 (DMEM) (GIBCO, Canada) 培养人主动内皮细胞株。细胞分为对照组, 阿托伐他汀低剂量组 (20 $\mu\text{mol}/\text{L}$), 阿托伐他汀高剂量组 (50 $\mu\text{mol}/\text{L}$)。阿托伐他汀用无水甲醇溶解成 12.5 mmol/L 的储存液, 干预细胞时用 DMEM 至少以 1:200 比例稀释成工作液。未加药物干预的细胞加入与实验组等量的甲醇作为对照组, 各组干预时间均为 72 小时。

1.7 细胞内 BMP-2 蛋白表达水平、钙含量及碱性磷酸酶 (AKP) 活力测定

分别给予低剂量阿托伐他汀 (20 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 及高剂量阿托伐他汀 (50 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 处理细胞人主动脉内皮细胞 72 小时后, 去除上清液, 用 0.6 mmol/L 的盐酸脱钙 24 小时。收集脱钙液, 测定其钙浓度 (邻-甲

酚酞络合酮法)。脱钙后的细胞用 PBS 洗涤两遍, 加入适量裂解液后用细胞刮勺刮出细胞, 提取细胞蛋白, Western Blot 法检测 BMP-2 蛋白表达水平, 同时测定细胞内 AKP 活力 (对硝基苯磷酸二钠, 2-氨基-2-甲基丙醇法)。采用 BCA 蛋白分析试剂盒 (凯基, 中国) 测定细胞蛋白含量, 并用蛋白含量对钙含量及 AKP 活力进行校正。

1.8 图像分析处理

每张切片随机选取 5 个视野, 在光学显微镜放大下拍照。利用 Image Pro Plus 6.0 及 Quality 4.0 软件对图片进行处理分析。

1.9 统计学处理

统计结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组比较采用独立样本 t 检验; 多组比较采用单因素方差分析, 其中两两比较采用 LSD 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。所有统计工作均用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。所用统计图形均利用 GraphPad Prism 软件进行绘制。

2 结果

2.1 两组 ApoE^{-/-} 小鼠血脂和炎症因子水平比较

用阿托伐他汀 5 mg/(kg·d) 喂养 ApoE^{-/-} 小鼠后, 发现高脂加阿托伐他汀组 (高 + 阿组) ApoE^{-/-} 小鼠血清血脂 TG、TC、LDLC 水平及炎症因子 IL-6 和 A-SAA 水平较高脂组均显著降低 ($P < 0.05$; 表 1)。

表 1. 两组 ApoE^{-/-} 小鼠血清血脂、IL-6 和 A-SAA 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Levels of TG, TC, HDLC, LDLC and inflammatory factors of IL-6, A-SAA in each group

分 组	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDLC (mmol/L)	LDLC (mmol/L)	IL-6 (ng/L)	A-SAA (mg/L)
高脂组 ($n=6$)	2.45 \pm 0.23	26.67 \pm 4.58	9.87 \pm 2.77	15.17 \pm 2.66	292.70 \pm 86.02	232.62 \pm 70.48
高 + 阿组 ($n=6$)	1.92 \pm 0.12 ^a	13.85 \pm 0.92 ^a	5.03 \pm 0.50	7.78 \pm 0.69 ^a	60.15 \pm 15.62 ^a	36.87 \pm 15.79 ^a

a 为 $P < 0.05$, 与高脂组小鼠相比。

2.2 两组 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉粥样硬化斑块及 MCP-1 和 VCAM-1 表达

高脂组 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉内膜出现凸向管腔的粥样硬化斑块, 管腔面积明显缩小 (图 1A), 而高脂加阿托伐他汀组 ApoE^{-/-} 小鼠, 主动脉病变程度较轻, 但主动脉血管壁厚薄不均, 出现不同程度的破坏 (图 1B)。与高脂组相比, 高脂加阿托伐他汀组 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉 MCP-1、VCAM-1 的阳性表达量 (棕黄色颗粒) 显著降低 (图 1C、D、E、F、G、H)。

2.3 两组 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉 Von Kossa 染色及 BMP-2 表达

高脂组可见血管内膜钙沉积 (黑色颗粒, 图 2A), 而高脂加阿托伐他汀组血管内膜可见明显的黑色沉积物, 尤其见于动脉粥样硬化斑块及血管内膜处 (图 2B)。高脂组中血管壁可见 BMP-2 表达 (棕黄色颗粒, 图 2C), 高脂加阿托伐他汀组血管壁 BMP-2 表达较高脂组明显较多, 且多沿血管内膜分布 (图 2D), 图像分析结果显示高脂加阿托伐他汀组钙盐沉积量及 BMP-2 表达量显著高于高脂组 (图 2 E 和 F)。

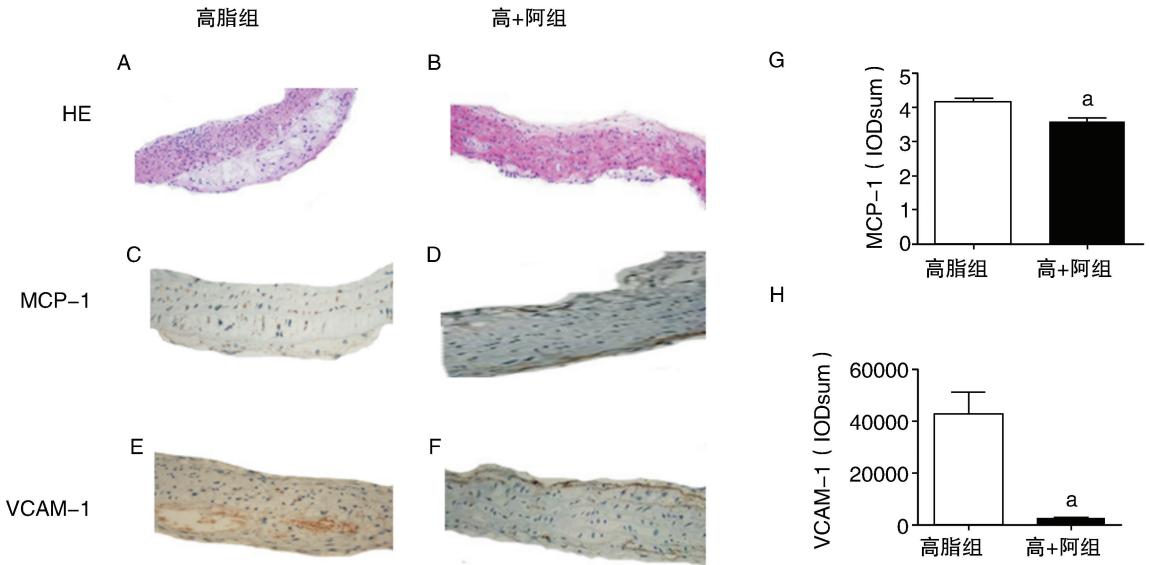


图 1. 两组 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉 HE 染色(图 A 和 B), MCP-1、VCAM-1 免疫组织化学结果(图 C、D、E、F) (×400) 及图像分析结果 a 为 $P < 0.01$, 与高脂组比较。

Figure 1. HE staining and immunohistochemistry showing the distribution of MCP-1 and VCAM-1 proteins (brown staining) in ApoE^{-/-} mice aorta

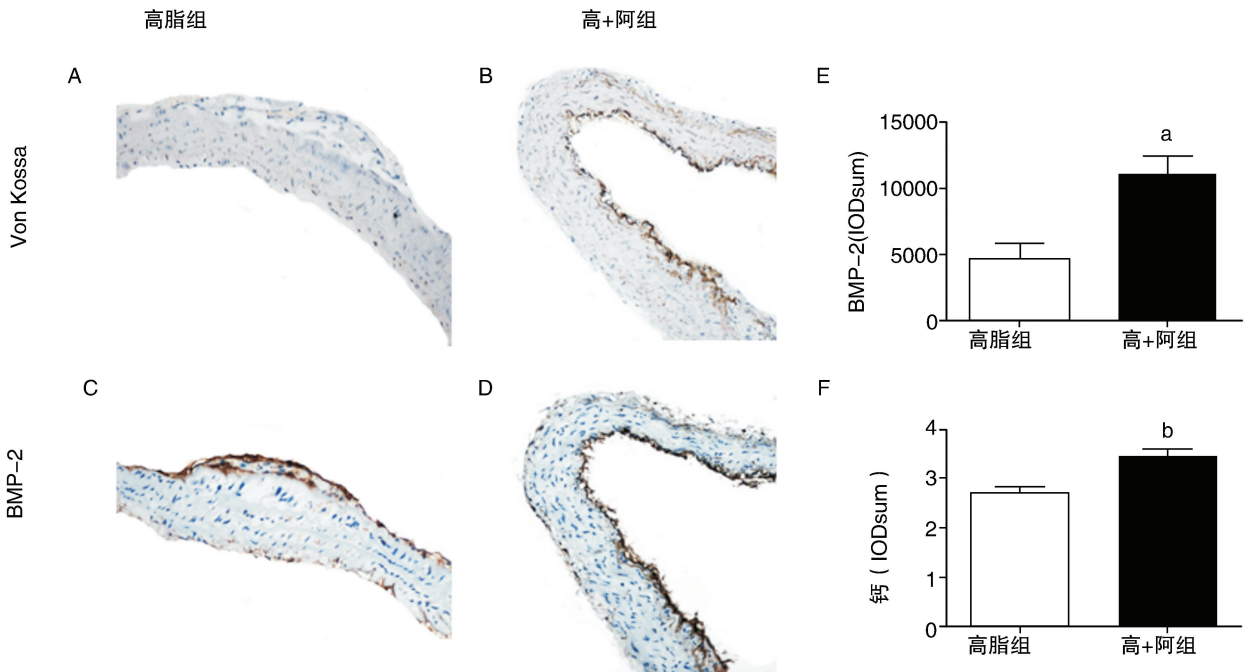


图 2. 两组 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉切片 Von Kossa 染色(图 A 和 B)、BMP-2 免疫组织化学(图 C 和 D) (×200) 及图像分析结果(图 E 和 F) a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与高脂组比较。

Figure 2. Von Kossa staining and immunohistochemistry showing the distribution of calcium and BMP-2 protein (brown staining) in ApoE^{-/-} mice aorta

2.4 阿托伐他汀对人主动脉内皮细胞内 BMP-2 蛋白表达、钙含量和 AKP 活力的影响

用高剂量阿托伐他汀(50 $\mu\text{mol/L}$)和低剂量阿托伐他汀(20 $\mu\text{mol/L}$)处理人主动脉内皮细胞 72 小

时后,结果发现高剂量阿托伐他汀组 BMP-2 蛋白表达水平显著高于对照组(图 3 A 和 B),钙含量及 AKP 活力显著高于低剂量组及对照组(图 3 C 和 D)。

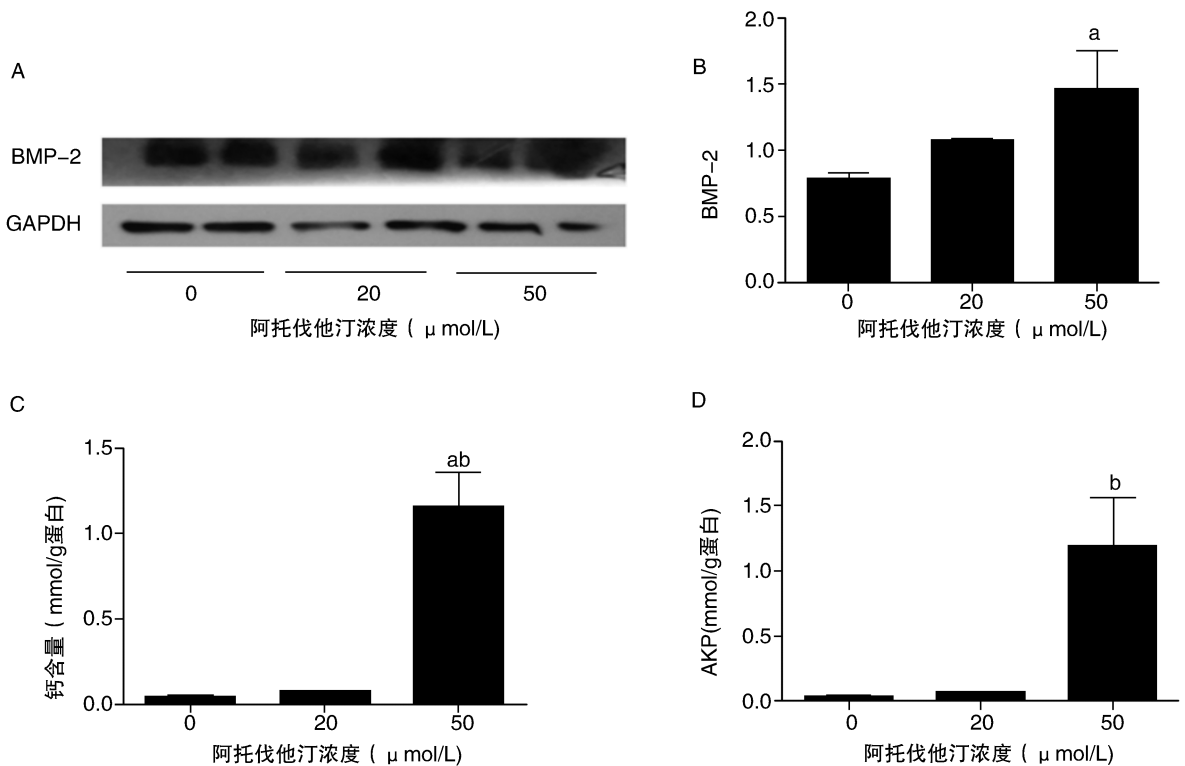


图 3. 不同剂量阿托伐他汀干预对人主动脉内皮细胞 BMP-2 蛋白表达、钙含量及 AKP 活力的影响 (mean ± sem) A、B 为阿托伐他汀对人主动脉内皮细胞内 BMP-2 蛋白表达影响, C 为阿托伐他汀对人主动脉内皮细胞钙含量的影响, D 为阿托伐他汀对人主动脉内皮细胞 AKP 活力的影响。a 为 $P < 0.01$, 与正常对照组和低剂量组相比; b 为 $P < 0.05$, 与正常对照组和低剂量组相比。

Figure 3. Dose-dependent effects of atorvastatin on the BMP-2 expression, calcification and AKP activity of HAECs

3 讨论

动脉粥样硬化是一种多因性疾病,在 As 的形成过程中,高脂、高糖及慢性的炎症损伤血管内皮细胞后,内皮细胞表面黏附分子 (VCAM-1、ICAM-1 等) 表达增加,诱导以单核细胞为主的白细胞向血管内皮趋化、黏附和穿越,单核细胞游移至内皮下摄取经氧化修饰的低密度脂蛋白,变为激活的巨噬细胞后,分泌大量 IL-6、A-SAA、CRP 及 TNF- α 等促炎介质^[9-10],而炎症介质的过度表达可诱导血管内皮细胞表面 MCP-1 及 VCAM-1 表达增加, MCP-1 可募集更多的单核细胞和淋巴细胞迁移至受损的血管壁,加剧局部炎症反应并促进 As 病变的进展^[10-11]。载脂蛋白 E 基因敲除 (Apolipoprotein E knockout, ApoE^{-/-}) 小鼠是可自发形成动脉粥样硬化的动物模型。本研究发现高脂喂养后的 ApoE^{-/-} 小鼠血脂及炎症因子水平明显升高,主动脉出现明显的动脉粥样硬化斑块。

血管钙化是指发生于血管软组织内的不适当的钙化,是动脉粥样硬化发展到后期的病理表现,主要表现为血管壁僵硬性增加,顺应性降低,易引发血栓

形成、斑块破裂,是心脑血管疾病高发病率和死亡率高的重要因素之一。迄今为止,血管钙化的发病机制尚不是很清楚,既往认为血管钙化是伴随年龄发生的矿物质在血管壁的被动沉积过程,临床上多见于老年人,年龄越大,血管钙化发生机率越高。但近来研究发现,2 型糖尿病、慢性肾脏疾病患者亦多发生大血管的钙化^[3-4]。血管钙化并非一个被动的过程,而是一个与骨钙化类似的主动发生的可调节的过程。骨形态发生蛋白-2 (BMP-2) 活性增强在加速动脉粥样硬化形成及血管钙化发生中起了重要的作用^[12-14]。

BMP-2 属于转化生长因子 (TGF)- β 超家族成员,在动物生长发育过程中,在骨骼和血管等内脏及体表器官均有表达。研究发现,在动脉粥样硬化钙化斑块及其纤维帽中均可见 BMP-2 的表达,但在未受损伤的正常动脉组织则未见 BMP-2 的表达^[15]。BMP-2 表达增加促进动脉粥样硬化性钙化发生的机制尚不是很清楚。有研究认为炎症、氧化应激、高血糖等因素可刺激血管内皮细胞和血管平滑肌细胞合成和分泌 BMP-2 增加,而 BMP-2 可进一步上调成骨信号通路中 RUNX2 和 Osterix 的表达,进而上调 Cbfa1,促进血管平滑肌细胞向成骨样细胞转化,诱导矿物质结晶沉淀于胶原纤维

中引起血管钙化^[16-17]。我们对 ApoE^{-/-} 小鼠的研究发现,高脂喂养后的 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉内膜以及粥样斑块内均可见明显钙化,BMP-2 的表达在相应的血管钙化部位也增加。

他汀类降脂药可以降低脂、改善血管内皮功能^[18],稳定动脉血管斑块,减少心脑血管事件的发生风险。有研究发现他汀类降脂药可改善有脂质代谢紊乱患者的冠状动脉钙化及瓣膜钙化程度,延缓钙化进展^[19-20],但 Emmanuele 等^[21]的研究发现,洛伐他汀可增加血管平滑肌细胞中 BMP-2 的表达,促进血管钙化的发生。Astrid Trion 等^[22]用不同剂量的阿托伐他汀处理大鼠血管平滑肌细胞后发现细胞内钙盐沉积量呈剂量依赖性增加。本研究发现给予阿托伐他汀干预 ApoE^{-/-} 小鼠后,可以降低其血清血脂及炎症因子水平,使 ApoE^{-/-} 小鼠主动脉粥样斑块变小,VCAM-1 及 MCP-1 表达减少,但动脉壁钙盐沉积和 BMP-2 的表达显著升高。我们进一步用阿托伐他汀处理人主动脉内皮细胞后,发现胞内 BMP-2 蛋白表达水平、钙含量及 AKP 活力明显升高。因此,阿托伐他汀可发挥降脂、抗炎、增加 AKP 及 BMP-2 表达的作用,减少斑块内脂质堆积及炎症细胞浸润,促进血管内膜钙盐沉积。但是,他汀类药物是否通过上述作用起到降低斑块易损性、稳定斑块,减少急性冠脉综合征的患病风险的作用,还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Detrano RC, Wong ND, Doherty TM, et al. Prognostic significance of coronary calcific deposits in asymptomatic high-risk subjects[J]. *Am J Med*, 1997, 102: 344-349.
- [2] 王玲,宋滇平,杨秋萍. 动脉粥样硬化与骨质疏松——从临床到分子[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19(7): 621-626.
- [3] Goodman WG, Goldin J, Kuizon BD, et al. Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis[J]. *N Engl J Med*, 2000, 342: 1478-483.
- [4] Wagenknecht LE, Bowden DW, Carr JJ, et al. Familial aggregation of coronary artery calcium in families with type 2 diabetes[J]. *Diabetes*, 2001, 50: 861-866.
- [5] 车星星,边云飞,卫娜,等. 吡格列酮对糖尿病大鼠血管钙化的影响及机制[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(5): 440-444.
- [6] Mohler ER III, Gannon F, Reynolds C, et al. Bone formation and inflammation in cardiac valves[J]. *Circulation*, 2001, 103: 1522-528.
- [7] Cowell SJ, NewbyDE, Prescott RJ, et al. A randomized trial of intensive lipid-lowering therapy in calcific aortic stenosis[J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(23): 2389-397.
- [8] Raison J, Rudnichi A, Safar ME. Effects of atorvastatin on aortic

pulse wave velocity in patients with hypertension and hypercholesterolaemia: a preliminary study[J]. *J Hum Hypertens* 2002, 16: 705-710.

- [9] Luigi Giusto Spagnoli, Elena Bonanno, Giuseppe Sangiorgi, et al. Role of Inflammation in Atherosclerosis[J]. *J Nucl Med*, 2007, 48: 1800-815.
- [10] Joseph Shalhoub, Mika A Falck-Hansen, Alun H Davies, et al. Innate immunity and monocyte-macrophage activation in atherosclerosis[J]. *Journal of Inflammation*, 2011, 8(9): 1-17.
- [11] 渠胜英,施晓红. 免疫炎症反应与 2 型糖尿病大血管病变的相关性分析[J]. *中国医师杂志*, 2012, 14(1): 20-22,26.
- [12] Chang K, Weiss D, Suo J, Vega JD, Giddens D, Taylor WR, Jo H. Bone morphogenic protein antagonists are coexpressed with bone morphogenic protein 4 in endothelial cells exposed to unstable flow in vitro in mouse aortas and in human coronary arteries: role of bone morphogenic protein antagonists in inflammation and atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2007, 116: 1258-266.
- [13] Yao Y, Bennett BJ, Wang X, et al. Inhibition of bone morphogenetic proteins protects against atherosclerosis and vascular calcification[J]. *Circ Res*, 2010, 107: 485-494.
- [14] Hruska KA, Mathew S, Saab G. Bone morphogenetic proteins in vascular calcification[J]. *Circ Res*, 2005, 97: 105-114.
- [15] Cherida R, Dhore, Jack PM, et al. Differential Expression of Bone Matrix Regulatory Proteins in Human Atherosclerotic Plaque[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Bio*, 2001, 21: 1998-2003.
- [16] Bennet BJ, Scatena M, Giachelli CM, et al. Osteoprotegerin inactivation accelerates advanced atherosclerotic lesion progression and calcification in older ApoE^{-/-} mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26: 2117-124.
- [17] Lee MH, Kim YJ, Kim HJ, et al. BMP-2-induced Runx2 expression is mediated by Dlx5 and TGF-β1 opposes the BMP-2-induced osteoblast differentiation by suppression of Dlx5 expression[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 34387-394.
- [18] 宋海彬,张羽,关坤萍,等. 瑞舒伐他汀对人单核-巨噬细胞组织因子表达的影响[J]. *中国医师杂志*, 2012, 14(2): 173-176.
- [19] Achenbach S, Ropers D, Pohle K, et al. Influence of lipid-lowering therapy on the progression of coronary artery calcification: a prospective evaluation[J]. *Circulation*, 2002, 106: 1077-082.
- [20] Shavelle DM, Takasu J, Budoff MJ, et al. HMG CoA reductase inhibitor (statin) and aortic valve calcium[J]. *Lancet*, 2002, 359: 1125-126.
- [21] Emmanuele L, Ortmann J, Doerflinger T, et al. Lovastatin stimulates human vascular smooth muscle cell expression of bone morphogenetic protein-2, a potent inhibitor of low-density lipoprotein-stimulated cell growth[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 302(1): 67-72.
- [22] Astrid Trion, Cindy Schutte-Bart, Wilhelmina H, et al. Modulation of calcification of vascular smooth muscle cells in culture by calcium antagonists, statins, and their combination[J]. *Mol Cell Biochem*, 2008, 308: 25-33.

(此文编辑 李小玲)