

## 钙敏感受体在动脉粥样硬化中的作用研究进展

商瑀家, 李玉霞, 宋佳新, 李宏霞\*

(哈尔滨医科大学 基础医学院 病理生理学教研室, 黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:**钙敏感受体(CaSR)是G蛋白偶联受体C家族的成员之一,广泛表达于体内不同组织细胞,参与机体多种病理生理过程。CaSR能够通过调控血管内皮细胞损伤、炎症反应、血管平滑肌细胞增殖和迁移及血管钙化过程,参与动脉粥样硬化的发生发展。

**关键词:**钙敏感受体;动脉粥样硬化;血管平滑肌细胞

中图分类号:R543.5 文献标志码:A

## Research progress on the role of calcium sensing receptor in atherosclerosis

SHANG Yu-jia, LI Yu-xia, SONG Jia-xin, LI Hong-xia\*

(Department of Pathophysiology, School of Basic Medicine, Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

**Abstract:** Calcium sensing receptor (CaSR) is a member of the G protein-coupled receptor C family. It is widely expressed in different tissue cells in the body and functions in various pathophysiological processes of the body. CaSR can participate in the development of atherosclerosis by regulating vascular endothelial cell injury, inflammatory response, proliferation and migration of vascular smooth muscle cells and vascular calcification.

**Key words:** calcium sensing receptor; atherosclerosis; vascular smooth muscle cells

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)始于动脉内膜损伤,主要累及大中动脉,是缺血性心脑血管疾病的病理基础。病变动脉内膜脂质沉积,粥样斑块形成,造成管腔狭窄,随后斑块破裂、血栓形成和血管堵塞,导致心肌梗死、卒中等急性心脑血管事件的发生。AS的发生机制复杂,目前尚不完全清楚。现有研究显示,钙敏感受体(calcium sensing receptor, CaSR)可通过影响AS进展过程中的多种环节,如内皮细胞损伤、炎症反应、平滑肌细胞的增殖和迁移及血管钙化过程,参与AS的发生发展。由此,本文就CaSR在AS中的作用作一综述。

### 1 CaSR概述

#### 1.1 CaSR的结构

CaSR属于G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)C家族的成员。人类的CaSR基因位于第3号染色体长臂上,其由1 078个氨基酸残基的多肽链组成,分为氨基端亲水性细胞外结构域、疏水性7螺旋跨膜结构域及胞内羧基端尾部结构域等3部分。细胞外结构域是结合Ca<sup>2+</sup>和其他配体的部位,它含有多个糖基化位点,CaSR的激活和失活突变多发生在该区;细胞内结构域和羧基端尾部有蛋白激酶C和蛋白激酶A的磷酸化位点,可与

收稿日期:2019-04-30 修回日期:2019-09-27

基金项目:国家自然科学基金(81300200)

\*通信作者(corresponding author):lihongxia\_396@163.com

相应的蛋白激酶结合发生磷酸化,通过激活下游的信号通路传递 CaSR 的相关信息<sup>[1]</sup>。

## 1.2 CaSR 的信号通路

CaSR 通过偶联 G 蛋白激活下游信号级联反应。通过 Gq/11 蛋白, CaSR 激活磷脂酶 C (phospholipases C, PLC), 将磷脂酰肌醇二磷酸盐 (phosphatidylinositol bisphosphate, PIP2) 水解为二酰甘油 (diacylglycerol, DAG) 和 1,4,5 三磷酸肌醇 (inositol 1,4,5-triphosphate, IP3), IP3 扩散并与内质网表面的 IP3 特异性受体结合,促使细胞内储存的  $\text{Ca}^{2+}$  释放,并通过质膜上的钙池调控钙离子通道激活  $\text{Ca}^{2+}$  内流<sup>[2]</sup>。第二信使 DAG 激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC), PKC 进而激活 Ras 蛋白触发相关联的丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号传导<sup>[3]</sup>。活化的 CaSR 可激活 MAPK 途径的多种信号蛋白,包括细胞外信号调节激酶 (extracellular signal regulated kinase 1 and 2, ERK1/2)、p38 激酶和 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK)。此外, CaSR 与 Gi/o 蛋白偶联,抑制腺苷酸环化酶 (adenylate cyclase, AC) 激活和 cAMP 产生,且增强 ERK 1/2 的活性。

在生理和病理条件下, CaSR 通过与其他细胞内信号传导级联相互作用,参与并调节细胞增殖、分化和凋亡等多种细胞过程<sup>[4]</sup>。

## 1.3 CaSR 的功能与分布

1993 年首次从牛甲状旁腺细胞中鉴定并克隆出 CaSR。随着研究的深入发现 CaSR 在体内的多种组织如甲状腺、胃肠道、肾脏和骨骼等均有表达<sup>[5-8]</sup>,发挥多种功能如参与调节全身钙稳态,调控细胞增殖、分化和凋亡等。

## 1.4 CaSR 的调节剂

CaSR 的调节剂可通过影响 CaSR 的活性来发挥调节作用。CaSR 调节剂包括 3 类<sup>[9]</sup>: 1 类为与 CaSR 结合后直接激动从而上调其表达的多价阳离子,如  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  和  $\text{Gd}^{3+}$  等; 2 类为通过变构效应改变受体对  $\text{Ca}^{2+}$  敏感性的生物类大分子,多为带有芳香族侧链的氨基酸以及短脂肪和小极性氨基酸,如多肽、L-氨基酸等; 3 类为合成类化学调节剂,包括 CaSR 激动剂 (如 NPS-R467、NPS-R568 等) 和 CaSR 抑制剂 (如 NPS2143、Calhex-231 等),它们通过与 CaSR 结合改变其敏感性。

## 2 CaSR 在动脉粥样硬化中的作用

腹腔注射维生素 D<sub>3</sub> 联合高脂饮食 6 周建立大鼠动脉粥样硬化模型,检测到心肌 CaSR 表达增加;进一步联合大剂量异丙肾上腺素皮下注射的方法,复制大鼠在体动脉粥样硬化心肌梗死模型,发现大鼠心肌 CaSR 的表达增多并参与了动脉粥样硬化大鼠心肌梗死的发生<sup>[10]</sup>。此外,利用 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠建立 AS 模型证实 CaSR 激动剂  $\text{GdCl}_3$  可降低 AS 小鼠的血压和血脂水平、降低细胞间黏附分子-1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 和 CC 类趋化因子受体 2 (C-C chemokine receptor type 2, CCR2) 的表达,抑制 AS 斑块的形成<sup>[11]</sup>。

随着 CaSR 基因型与冠心病、心肌梗死等心血管疾病全因病死率之间的关系被揭示, CaSR 在 AS 中的作用日益显现:可参与多种细胞的变化而影响 AS 的发生发展。

### 2.1 CaSR 与内皮细胞损伤

血管内皮细胞 (endothelial cells, ECs) 是血管与血液之间的通透性屏障,血管内皮细胞损伤、功能障碍是 AS 发生的始动环节<sup>[12]</sup>。在人的主动脉内皮细胞有 CaSR 表达。使用 CaSR 激动剂  $\text{GdCl}_3$  能够促进外周血内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPCs) 的增殖、迁移和血管形成。CaSR 在动脉粥样硬化大鼠的血管内皮细胞中表达增多,其可能参与了主动脉血管内皮细胞的凋亡,进而启动 AS 的形成<sup>[13]</sup>。

### 2.2 CaSR 与炎症反应

炎症反应是动脉粥样硬化性疾病的基本特征,亦是其始动因子,贯穿于 AS 发生、发展的各个阶段。动脉粥样硬化炎症反应学说认为 AS 是一种慢性炎症反应性疾病,其特征为内皮下脂质和免疫细胞的异常积聚。氧化低密度脂蛋白 (oxidized low-density lipoproteins, oxLDL)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF $\alpha$ )、白细胞介素-1 (interleukin-1, IL-1) 等多种促炎因子引起内皮细胞功能障碍、血管局部中性粒细胞和单核细胞浸润,促进脂质沉积,导致 AS 的发生<sup>[14]</sup>。

佛波酯 (phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA) 刺激分化的人急性白血病单核细胞 (human acute monocytic leukemia cell line, THP-1) 有 CaSR 的功能性表达;进一步使用 CaSR 激动剂  $\text{GdCl}_3$  活化 CaSR,

通过 Gq-PLC-IP3 通路促进 IL-1 $\beta$  和 TNF $\alpha$  的分泌。CaSR 可能通过以下 2 个机制参与 AS 炎性反应过程:1) 促炎因子可刺激 CaSR 启动子区域上的 NF- $\kappa$ B 反应元件,通过 NF- $\kappa$ B 途径触发 CaSR 基因转录。伴随细胞表面 CaSR 表达的增加,细胞对 Ca<sup>2+</sup> 的反应增加;2) 在血管损伤和炎性反应部位的细胞外液中,高浓度的 Ca<sup>2+</sup> 激活 CaSR 促进单核/巨噬细胞聚集。使用 Ca<sup>2+</sup> 或拟钙剂 NPS-R467 激活外周血单核细胞的 CaSR,可以剂量依赖性增强单核细胞趋化性、增加其同源受体 CCR2 在细胞表面的表达,二者协同增强单核细胞对趋化因子单核细胞趋化蛋白-1 (macrophage chemoattractant protein 1, MCP-1) 的反应。在小鼠单核-巨噬细胞 J774 和人大外周血单核细胞中均存在 CaSR 表达,细胞外 Ca<sup>2+</sup> 浓度  $\geq 2.8$  mmol/L 或 CaSR 激动剂新霉素可增强单核/巨噬细胞趋化性以及 DNA 的合成。CaSR 的表达降低可抑制动脉粥样硬化炎性反应,进一步减轻血管钙化,延缓 AS 的发展进程<sup>[15]</sup>。

### 2.3 CaSR 与血管平滑肌细胞

2.3.1 CaSR 与血管平滑肌细胞增殖、迁移:在多种致 AS 因素的作用下,血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 由管壁中膜向内膜的迁移并分泌多种血管活性物质、生长因子、细胞外基质及降解酶类,这些物质一方面促进平滑肌细胞增殖,另一方面促进肌细胞从血管中层穿越基底膜迁移至内膜,参与 AS 斑块的形成<sup>[16]</sup>。大鼠主动脉平滑肌细胞有 CaSR mRNA 和蛋白的表达;应用 Ca<sup>2+</sup> 和新霉素活化 CaSR,可进一步活化 MEK1/ERK1/2 信号传导通路,诱导 VSMCs 的 DNA 合成和增殖。缺氧能够增加大鼠肺动脉 VSMCs 的 CaSR 蛋白表达,促进缺氧性肺动脉平滑肌细胞的增殖<sup>[17]</sup>。

基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 通过调节细胞外基质沉积和降解、血管平滑肌细胞增殖和炎性反应等过程影响斑块的稳定性<sup>[18]</sup>。大鼠颈动脉平滑肌细胞存在 CaSR 表达;进一步的应用 CaSR 激动剂 GdCl<sub>3</sub> 可通过增加 MMP-2、9 及 PCNA 表达,促进颈动脉 VSMCs 的增殖和迁

移<sup>[19]</sup>。oxLDL 以时间和剂量依赖性方式促进大鼠主动脉平滑肌细胞 MMP-2 的表达和活性,应用 CaSR 拮抗剂可通过抑制 PI3K/Akt 信号通路减少 oxLDL 诱导的 MMP-2 的产生<sup>[20]</sup>。以上结果提示,CaSR 的活化可促进 VSMCs 增殖和迁移而影响 AS 过程。

2.3.2 CaSR 与血管钙化:血管钙化是 VSMCs 转分化的一个活跃过程,是 AS、糖尿病、慢性肾病等多种疾病的共同病理特征。动脉粥样硬化的钙化主要发生在血管内膜。研究表明,AS 过程中血管钙化出现较早,亚临床的 AS 早期即出现骨相关蛋白的表达,当脂质条纹形成时,组织学上就可以检测到钙化的存在<sup>[21]</sup>。在 AS 的早期阶段,持续的炎性刺激促进成骨活性的微钙化,随着成骨细胞标志物 (如碱性磷酸酶、骨桥蛋白、骨钙素等) 的表达增加,VSMCs 向成骨样细胞表型转化,生成钙化结节<sup>[22]</sup>。在两步次全肾切除法复制大鼠尿毒症心脏间质纤维化和心脏微血管疾病模型基础上,应用 CaSR 激动剂 NPS-R568 可显著延缓 VSMCs 向成骨样细胞表型的转化,表明激活 CaSR 能够抑制该转分化过程。CaSR 激动剂 NPS-R568 活化 VSMCs 的 CaSR 可有效延缓尿毒症 ApoE<sup>-/-</sup> 小鼠的血管钙化过程并抑制 AS 的进展<sup>[23]</sup>。

## 3 总结

随着对 CaSR 研究的深入,针对 CaSR 治疗已成为疾病治疗或预防潜在的靶点。CaSR 激动剂盐酸西那卡塞 (cinacalcet) 现已用于甲状旁腺功能亢进的治疗<sup>[24]</sup>; CaSR 激动剂雷诺酸锶 (strontium ranelate) 使骨磷灰石晶体的量得以保持,现已成为临床治疗骨质疏松的一线药物<sup>[25]</sup>。越来越多的研究表明,CaSR 调节剂有望成为治疗 AS 的潜在治疗药物。

为了深入揭示心血管系统 CaSR 的生理功能及其在 AS 相关心血管疾病中的作用,需采用转基因、基因沉默以及 microRNA 等技术,进一步深入开展相关研究。

## 参考文献:

[1] Vezzoli G, Macrina L, Magni G, *et al.* Calcium-sensing

receptor: evidence and hypothesis for its role in nephroli-

- thiasis[J]. *Urolithiasis*, 2019, 47: 23-33.
- [2] Zhang H, Chang Z, Mehmood K, *et al.* Calcium-sensing receptor arbitrates hypoxia-induced proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells via the G protein-PLC-IP3 pathway[J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2019, 29: 69-76.
- [3] Gutiérrez A, Contreras C, Sánchez A, *et al.* Role of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), mitogen-activated protein kinase (MAPK) and protein kinase C (PKC) in calcium signaling pathways linked to the  $\alpha 1$ -adrenoceptor in resistance arteries[J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 55. doi:10.3389/fphys.2019.00055.
- [4] Schreckenber R, Schlueter KD. Calcium sensing receptor expression and signalling in cardiovascular physiology and disease[J]. *Vascul Pharmacol*, 2018, 107: 35-42.
- [5] Zhang X, Hong S, Qi S, *et al.* NLRP3 inflammasome is involved in calcium-sensing receptor-induced aortic remodeling in SHR[s]. *Mediators Inflamm*, 2019, 2019: 1-13.
- [6] 祝家兴, 邹晓峰, 刘全亮, 等. 钙敏感受体与含钙肾结石形成的相关性[J]. *广东医学*, 2018, 39: 92-96.
- [7] Terzioğlu-Usak S, Elilob B, Dalli T, *et al.* Effect of restraint stress on plasma PTH concentration and its molecular targets expressions in wistar rats[J]. *Int J Endocrinol Metab*, 2018, 16: e66979. doi:10.5812/ijem.66979.
- [8] Lee JJ, Liu X, O'Neill D, *et al.* Activation of the calcium-sensing receptor attenuates TRPV6-dependent intestinal calcium absorption[J]. *JCI Insight*, 2019, 4: e128013. doi: 10.1172/jci.insight.128013.
- [9] Hannan FM, Babinsky VN, Thakker RV. Disorders of the calcium-sensing receptor and partner proteins: insights into the molecular basis of calcium homeostasis[J]. *J Mol Endocrinol*, 2016, 57: R127-142.
- [10] 郭津, 顾镜月, 王鲁川, 等. 动脉粥样硬化大鼠心肌梗死时钙敏感受体表达的变化及其作用机制[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16: 4631-4635.
- [11] 王毅, 李莹, 李晨光, 等. 钙敏感受体(CaR)调节动脉粥样硬化斑块形成的机制研究[J]. *现代预防医学*, 2014, 41: 3979-3982.
- [12] Kuret T, Sodin-Šemrl S, Mrak-Poljšak K, *et al.* Interleukin-1 $\beta$  induces intracellular serum amyloid A1 expression in human coronary artery endothelial cells and promotes its intercellular exchange[J]. *Inflammation*, 2019, 23. doi: 10.1007/s10753-019-01003-3.
- [13] 裴天仙, 王晶晶, 郭景玥, 等. 钙敏感受体在动脉粥样硬化大鼠血管内皮细胞中的表达[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2011, 19: 176-180.
- [14] 王建旗, 史旭波, 马长生, 等. 炎症预测和预防动脉粥样硬化性心血管事件的研究进展[J]. *心血管病学进展*, 2018, 39: 5-8.
- [15] Molostvov G, Bland R, Zehnder D. Expression and role of the calcium-sensing receptor in the blood vessel wall[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2009, 10: 282-288.
- [16] Yuan HQ, Hao YM, Ren Z, *et al.* Tissue factor pathway inhibitor in atherosclerosis[J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 491: 97-102.
- [17] 魏璨, 彭雪, 李光伟, 等. 钙敏感受体和多胺代谢紊乱在缺氧性肺动脉高压中的作用及其相关机制[J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32: 1524-1524.
- [18] 杨瑞芳, 阴彦龙, 杨敏清, 等. 基质金属蛋白酶与动脉粥样硬化及斑块破裂的关系[J]. *分子影像学杂志*, 2017, 40: 482-485.
- [19] 李辛, 贺成业, 罗俊生, 等. 钙敏感受体在颈动脉平滑肌细胞增殖和迁移中的作用[J]. *解放军医学院学报*, 2013, 34: 883-885.
- [20] Li HX, Kong FJ, Bai SZ, *et al.* Involvement of calcium-sensing receptor in oxLDL-induced MMP-2 production in vascular smooth muscle cells via PI3K/Akt pathway[J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 362: 115-122.
- [21] Faggiano P, Dasseni N, Gaibazzi N, *et al.* Cardiac calcification as a marker of subclinical atherosclerosis and predictor of cardiovascular events: A review of the evidence[J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2019, 26: 1191-1204.
- [22] Bardeesi ASA, Gao J, Zhang K, *et al.* A novel role of cellular interactions in vascular calcification[J]. *J Transl Med*, 2017, 15: 95-95.
- [23] Ivanovski O, Nikolov IG, Joki N, *et al.* The calcimimetic R-568 retards uremia-enhanced vascular calcification and atherosclerosis in apolipoprotein E deficient (apoE<sup>-/-</sup>) mice[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 205: 55-62.
- [24] 尹婷婷. 西那卡塞治疗血液透析患者继发性甲状旁腺功能亢进的疗效与安全性分析[J]. *中国实用医药*, 2019, 8: 111-112.
- [25] 刘念, 尹锐锋, 李志安, 等. 雷奈酸锶结合钙剂对颈髓损伤合并骨质疏松症影响的临床研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23: 90-93.