

氢氧化镧抑制慢性肾衰高磷血症所致血管钙化的作用机制

李晓佳¹, 王胜男¹, 谷超¹, 孙丽君¹, 赵璐璐¹, 高原¹, 王琪雯¹, 元晓荣¹, 陈乃宏², 李刚¹

(1. 内蒙古医科大学, 内蒙古 呼和浩特 010059; 2. 中国医学科学院药物研究所天然活性物质与功能国家重点实验室)

摘要: **目的:** 研究氢氧化镧对慢性肾衰竭血管钙化的药理学作用, 探究NF- κ B通路对慢性肾衰血管钙化的影响。**方法:** 使用腺嘌呤建立Wistar大鼠慢性肾衰模型, 造模成功后, 将模型鼠随机分为氢氧化镧低、中、高剂量组(LH 0.1, 0.2, 0.4 g/kg)、碳酸镧组(LC 0.3 g/kg)、碳酸钙组(CC 0.42 g/kg)和Model组, 另选15只Wistar大鼠作为Control组。给药8周后进行血清中的磷、钙、肌酐、尿素氮、甲状旁腺素(PTH)和成纤维细胞生长因子23(FGF23)的检测, 胸主动脉的Von-kossa、EVG染色进行组织病理学观察, qRT-PCR和Western Blot检测SM22 α 、Runx2以及NF- κ B通路TRAF6和NF- κ B的基因及蛋白的表达情况。**结果:** (1) 氢氧化镧可显著降低CKD大鼠血清磷、肌酐、尿素氮、PTH、FGF23血清水平。(2) 氢氧化镧各剂量组均可减少胸主动脉钙化沉积, 改善弹性纤维的断裂。(3) 氢氧化镧可剂量依赖性升高SM22 α 的蛋白表达, 降低Runx2、TRAF6和细胞核内NF- κ B的蛋白表达。**结论:** (1) 氢氧化镧可通过调节钙磷代谢, 抑制血管钙化的发生及发展。(2) 氢氧化镧抑制血管钙化的作用机制可能是通过抑制NF- κ B通路的激活实现的。

关键词: 氢氧化镧; 血管钙化; 高磷血症; 慢性肾衰; NF- κ B通路

中图分类号: R 471.3

文献标识码: A

文章编号: 2095-512X(2021)05-0454-07

THE MECHANISM OF LANTHANUM HYDROXIDE IN INHIBITING VASCULAR CALCIFICATION CAUSED BY CHRONIC RENAL FAILURE AND HYPERPHOSPHATEMIA

LI Xiao-jia, WANG Sheng-nan, GU Chao, et al.

(Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010059 China)

Abstract: Objective: To study the pharmacological effects of lanthanum hydroxide on vascular calcification in chronic renal failure, and to explore the effect of NF- κ B pathway on vascular calcification in chronic renal failure. **Methods:** The Wistar rat chronic renal failure model was established using adenine. After the model was successful, the model rats were divided into lanthanum hydroxide low, medium, and high dose groups (LH 0.1, 0.2, 0.4 g/kg), and lanthanum carbonate group (LC 0.3 g/kg), calcium carbonate group (CC 0.42 g/kg) and Model group, 15 Wistar rats were selected as the Control group. After 8 weeks of administration, the serum levels of phosphorus, calcium, creatinine, urea nitrogen, parathyroid hormone (PTH) and fibroblast growth factor 23 (FGF23) were detected, and the thoracic aorta was stained with Von-kossa and EVG. Pathological observation, qRT-PCR and Western Blot to detect SM22 α , Runx2, and NF- κ B pathway TRAF6 and NF- κ B gene and protein expression. **Results:** (1) Lanthanum hydroxide can significantly reduce the serum levels of phosphorus, creatinine, urea nitrogen, PTH, and FGF23 in CKD rats. (2) Each dose group of lanthanum hydroxide can reduce thoracic aortic calcification and improve the breakage of elastic fibers. (3) Lanthanum hydroxide can increase the protein expression of SM22 α in a dose-dependent manner, and decrease the protein expression of Runx2, TRAF6 and NF- κ B in the nucleus. **Conclusion:** (1) Lanthanum hydroxide can inhibit the occurrence and development of vascular calcification by regulating calcium and phosphorus metabolism. (2) The mechanism of lanthanum hydroxide inhibiting vascular calcification may be achieved by inhibiting the activation of the NF- κ B pathway.

Key words: lanthanum hydroxide; vascular calcification; hyperphosphatemia; chronic renal failure; NF- κ B pathway

收稿日期: 2021-06-12; 修回日期: 2021-08-29

基金项目: 内蒙古自治区科技重大专项 (zdzx201805)

作者简介: 李晓佳(1996-), 女, 内蒙古医科大学2019级在读硕士研究生。

通讯作者: 李刚, 教授, 硕士研究生导师, 博士, E-mail: cnmligang@hotmail.com 内蒙古医科大学药学院, 010059

慢性肾病(chronic kidney disease, CKD)为肾脏结构或功能异常超过3个月,且对健康产生影响,其诊断标准为肾脏损伤标记物的异常,及肾小球滤过率 $<60\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$,任何一项出现超过3个月即可被诊断为慢性肾病^[1]。根据2017年的流行病学调查显示,2017年全球人群中慢性肾病患病率约为9.1%。而我国CKD患者约有1.323亿,成为全球慢性肾病患病率最高的国家^[2]。慢性肾衰竭(chronic renal failure, CRF)是各种慢性肾脏病发展至后期的共同结果。高磷血症是慢性肾衰患者,尤其是终末期肾脏病患者常见的并发症。高磷会导致甲状旁腺功能继发性亢进、对骨及矿物质代谢异常^[3],同时会造成心脏瓣膜、血管以及软组织等发生转移性钙化。

血管钙化在CKD后期患者中普遍存在,与CKD患者死亡原因密切相关^[4]。血管钙化(vascular calcification, VC)共有四种类型包括:动脉内膜钙化,动脉中膜钙化,主动脉瓣钙化和钙化防御。在终末期肾病患者中,动脉内膜钙化和中层钙化比较容易发生,其中内膜钙化是最常见的类型^[5]。目前,关于高磷诱导血管钙化的机制还不是很清楚。研究表明,血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)在血管钙化过程中起着关键作用,其通过骨/软骨细胞表型转分化的机制促进钙化的形成^[6]。Jakob Voelkl等^[7]的研究表明,锌可通过G蛋白偶联受体39(G protein-coupled receptors 39)依赖的肿瘤坏死因子- α 诱导蛋白3(TNF α -inducible protein 3antibody, TNFAIP3)抑制NF- κ B信号途径的激活,进而抑制磷酸盐诱导的VSMCs的成骨样细胞转分化和减缓血管钙化的发展, Jakob Voelkl等的研究还发现了,糖皮质激素诱导激酶(SGK1)是血管钙化的关键调节因子,SGK1可通过激活NF- κ B通路,而促进血管钙化,抑制SGK1可减轻CKD血管钙化。综上所述,NF- κ B信号通路在CKD患者血管钙化的发生发展中具有重要作用。

目前治疗高磷酸血症的常用药物主要有:碳酸镧、碳酸镧等^[8-11]。本文研究一种新型镧类磷结合剂-氢氧化镧,课题组前期研究表明氢氧化镧可有效降低血清磷水平,保护肾功能,具有很好的开发潜力。因此本文中,我们探讨了氢氧化镧对慢性肾衰并发症血管钙化的影响,并对其作用机制进行了研究,为氢氧化镧成为临床候选药物提供临床前期的药理学研究基础。

1 实验动物及试剂

Wistar大鼠,雄性,6周龄,于北京维通利华实验动物技术有限公司购买(SCXK(京)2016-0006),饲养于内蒙古医科大学动物实验中心屏障区。

氢氧化镧(实验室合成);碳酸镧(CAS: 54451-24-0),碳酸钙(CAS: 471-34-1),腺嘌呤(CAS: 73-24-5)购买于Sigma-aldrich;乌拉坦(DC08BA0021, 生工生物工程(上海)股份有限公司);1.2%高磷饲料(北京科澳协力饲料有限公司);磷测试盒(C006-1-1),钙测定试剂盒(C004-2-1),肌酐测定试剂盒(C011-2-1),尿素氮测定试剂盒(C013-2-1),均购于南京建成生物工程研究所;大鼠成纤维细胞生长因子(FGF23)ELSA试剂盒(F4444-B,),大鼠甲状旁腺(PTH)ELSA试剂盒(F4378-B)购于上海易利生物科技有限公司;核蛋白提取试剂盒(78833, Thermo Scientific NE-PER Nuclear and Cytoplasmic Extraction Reagents); Anti-Mouse IgG(H+L), (1:5000, A23910), Anti-Rabbit IgG(H+L), (1:5000, A23920)购于Abbkine; Transgelin(6G6)抗体(1:600, SC-53932), Runx2抗体(1:600, SC-101145,)购于Santa Cruz Biotechnology; β -Actin抗体(1:2000, K101527P, Solarbio); TRAF6抗体(1:5000, ab40675, Abcam); NF- κ B p65抗体(1:500, #6956, Cell Signaling Technology); Lamin A/C抗体(1:1000, 10298-1-AP, Proteintech); 总RNA提取试剂盒(DP419, 天根生化科技(北京)有限公司); 反转录试剂盒(FSQ-101, ToYoBo Life Science); 荧光定量检测(SYBR Green)试剂盒(QPK-201, ToYoBo Life Science)。

2 主要仪器

Molecular Devices 多功能酶标仪(SpectraMax i3x, 美谷分子仪器有限公司); 高速冷冻离心机(3-18K, Sigma); Leica 显微镜(GmbH, Wetzlar, Germany LEICA DM 2000); 荧光定量PCR仪(PiKoreal96, 美国ThermoFisher公司); BIO-RAD 基础电泳仪(1645050, 伯乐生命医学产品(上海)有限公司); Odyssey 红外激光成像系统(Odyssey CLX, 美国LI-COP公司)。

3 实验方法

3.1 实验动物分组及给药

在1~2周模型大鼠每天按照200 mg/kg的剂量进行灌胃,2%腺嘌呤混悬液。3~4周,以相同浓度的腺嘌呤每2天灌一次胃。4周后,大鼠眼眶取血离心后取血清进行检测,检测血清磷、肌酐和尿素氮水平来确定CKD模型是否建造成功。造模成功后随机分为氢氧化镧(LH)组(0.4 g/kg,0.2 g/kg,0.1 g/kg),碳酸镧(LC)组(0.3 g/kg),碳酸钙(CC)组(0.42 g/kg)及Model组,每组15只,连续灌胃给药8周。另选15只毛色、体态相近的Wistar大鼠作为Control组,不给予药物。除对照组外,其他组均给予1.2%高磷饲料,自由饮食,持续12周。在给药8周后,测定血清中的磷,肌酐,尿素氮,PTH,FGF23。在给药结束后处死所有动物,用20%的乌拉坦麻醉大鼠,腹主动脉采血,离心取血清。将每只动物的胸主动脉一部分于-80℃保存用于Western Blot和qRT-PCR分析,另一部分用10%的中性甲醛固定用于组织病理学检查。

3.2 血清生化检测

使用试剂盒测量血清钙、磷、肌酐和尿素水平。使用脲酶法评估血清尿素氮水平。肌氨酸氧化酶法用于测量血清肌酐水平,而MTB方法用于评估血清钙水平。通过大鼠ELISA试剂盒方法测量血清PTH和FGF23水平。

3.3 胸主动脉Von kossa和EVG染色方法

使用4%多聚甲醛将大鼠胸主动脉血管固定好,随后委托塞维尔生物进行Von kossa及EVG染色切片。

3.4 qRT-PCR 使用RNA simple Total RNA Kit总RNA

提取试剂盒进行胸主动脉总RNA的提取,将RNA逆转录为cDNA,使用SYBR Green荧光染料法进行PCR反应,反应结束后,分析qPCR引物的特异性。对目的基因进行分析,GAPDH作为内参。引物序列(见表1)。

表1 引物序列
Tab.1 Sequences of the primers

Name	Primer sequence(5' -3')	Product(bp)
GAPDH	F:AGTGCCAGCCTCGTCTCATA R: AGAGAAGGCAGCCCTGGTAA	92bp
SM22α	F:AACGATGGACACTACCGTGG R:TTTGAAGGCCAATGACGTGC	115bp
RUNX2	F:CACAAGTGC GG TGCAA AACTT R:ATGACTCGGTTGCTCTCGGT	106bp
TRAF6	F:CGCCAAAATGGAAACGCAGA R:TGCTTCCATCTCGGCAACTT	88bp

3.5 Western Blot

提取各组大鼠胸主动脉总蛋白及核蛋白,使用BCA法检测蛋白含量,使用SDS-PAGE进行蛋白分离,转膜,封闭完成后一抗4℃孵育过夜,TBST洗膜后二抗孵育,使用Odyssey红外激光成像系统进行条带成像,实验独立重复4次。

4 统计学处理

实验结果以均数±标准差(mean±SD)表示,使用Graphpad Prism 8.0.1及SPSS 2.0进行数据分析及作图,数据处理运用单因素方差分析(One way-ANOVA),P<0.05表示差异有统计学差异,P<0.01表示差异有显著性差异。

5 结果

5.1 氢氧化镧对CKD大鼠血清生化指标的影响

为了评估氢氧化镧对CKD大鼠血清生化指标的影响,我们在造模4周后和给药8周后分别检测了CKD大鼠的血清磷、钙、肌酐、尿素氮水平。造模结束后,与Control组相比,Model组的血清磷、肌酐、尿素氮均显著升高,说明已成功建立慢性肾衰高磷血症大鼠模型。

如图1所示,给药8周后,与Model组相比,给予LH各剂量组、LC、CC治疗后CKD大鼠血清磷浓度、血清肌酐水平、尿素氮、PTH、FGF-23水平水平均显著降低,且氢氧化镧具有剂量依赖性。药物治疗后血清钙的检测结果显示无统计学差异(见图1)。

6.2 氢氧化镧延缓血管钙化的发生及发展

根据对FGF23的检测,我们发现氢氧化镧能够调节机体FGF23水平,降低血管钙化发生率。为了进一步研究氢氧化镧对慢性肾衰高磷血症所致的血管钙化的影响,我们进行了大鼠胸主动脉的病理检测。

大鼠胸主动脉的Von-kossa及EVG染色结果显示,与Control组相比,Model组大鼠的主动脉血管弯曲膨大、弹性较差、血管中膜可见大量黑色钙化沉积(见图2),而且钙化区域的弹性纤维减少,并发生弹性纤维的断裂(见图3),而给药氢氧化镧后,可看到CKD大鼠血管钙化沉积明显减少,并且弹性纤维的断裂也有所改善。氢氧化镧(0.4 g/kg)组改善血管钙化的作用最明显。实验中发现,给药碳酸钙后,对血管钙化的改善程度并不明显。

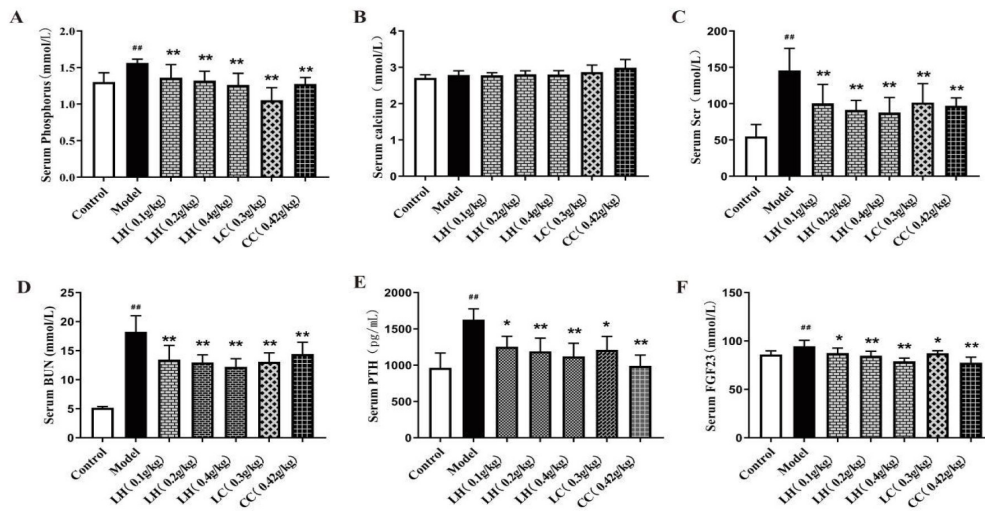


图1 氢氧化镧治疗慢性肾衰高磷血症大鼠8周血清检测结果
Fig.1 Lanthanum Hydroxide Treatment of Chronic Renal Failure Hyperphosphatemia Rats 8 Weeks Serum Test Results. A: serum phosphorus; B: serum calcium; C: serum creatinine; D: serum urea nitrogen; E: serum parathyroid hormone; F: serum fibroblast growth factor 23. Mean ± SD. n = 25. *P < 0.05, **P < 0.01 vs. control groups. *P < 0.05, **P < 0.01 vs. Model groups.

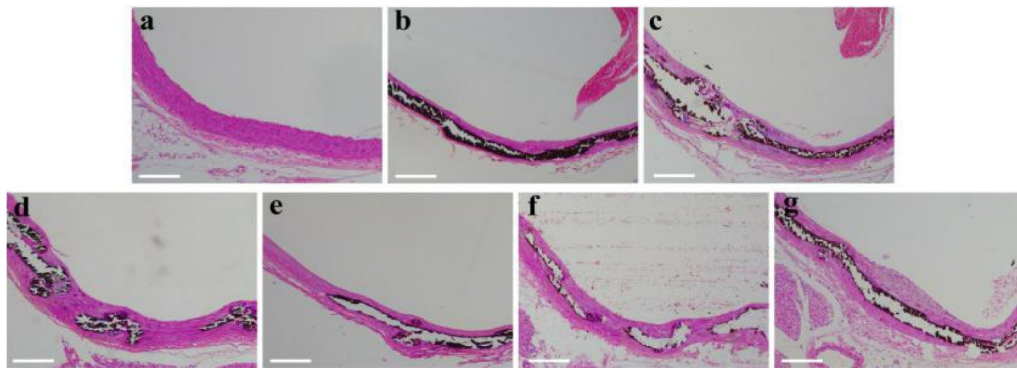


图2 氢氧化镧治疗慢性肾衰高磷血症大鼠8周后胸主动脉Von kossa染色结果
Fig.2 Von kossa staining results of thoracic aorta in rats with chronic renal failure and hyperphosphatemia after 8 weeks of treatment with lanthanum hydroxide. (a)control ; (b)Model; (c)Lanthanum Hydroxide(0.1 g/kg); (d)Lanthanum Hydroxide(0.2 g/kg); (e)Lanthanum Hydroxide(0.4 g/kg); (f)Lanthanum Carbonate (0.3 g/kg); (g)Calcium carbonate (0.42 g/kg).

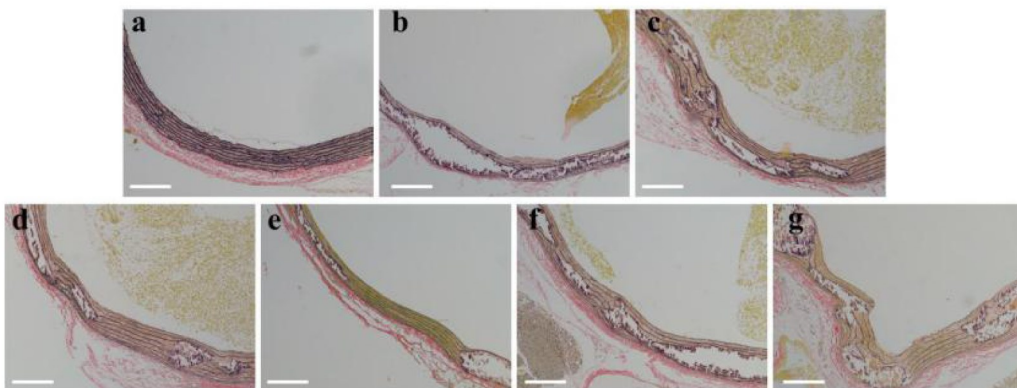


图3 氢氧化镧治疗慢性肾衰高磷血症大鼠8周后胸主动脉EVG染色结果
Fig.3 EVG staining results of thoracic aorta in rats with chronic renal failure and hyperphosphatemia treated with lanthanum hydroxide for 8 weeks. (a)control ; (b)Model; (c)Lanthanum Hydroxide(0.1 g/kg); (d)Lanthanum Hydroxide(0.2 g/kg); (e)Lanthanum Hydroxide(0.4 g/kg); (f)Lanthanum Carbonate (0.3 g/kg); (g)Calcium carbonate (0.42 g/kg).

6.3 氢氧化镧对CKD大鼠模型胸主动脉组织Sm22α、Runx2和Traf6 mRNA表达的影响

为了验证氢氧化镧是否通过抑制NF-κB通路抑制血管钙化的发生及发展。我们对CKD大鼠的主动脉血管进行了qRT-PCR检测。

平滑肌22α(Sm22α)是血管平滑肌细胞骨架相关蛋白,是收缩型VSMCS标记物^[12]。Runx2是成骨细胞表型转化最关键的特异性转录因子,它的异常表达常被作为血管钙化的早期评价指标^[13]。我们运

用qRT-PCR技术检测了主动脉血管的Sm22α、Runx2及NF-κB通路中Traf6的表达。

如图4所示,与Control组相比,Model组的血管平滑肌细胞标记物Sm22α mRNA的表达显著降低($P < 0.01$),而成骨标记物Runx2 mRNA的表达显著升高($P < 0.01$),NF-κB通路中Traf6 mRNA的表达显著升高($P < 0.01$),给予氢氧化镧治疗后,剂量依赖性的逆转了上述基因的表达($P < 0.01$)。

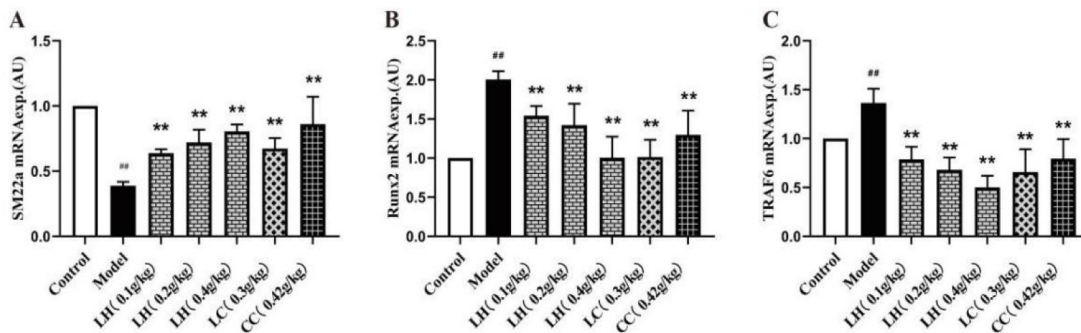


图4 氢氧化镧对CKD模型大鼠胸主动脉组织Sm22α、Runx2、Traf6 mRNA表达的影响

Fig.4 The effect of lanthanum hydroxide on the expression of Sm22α, Runx2, Traf6 mRNA in the thoracic aorta of CKD model rats.

A: The effect of lanthanum hydroxide on Sm22α mRNA; B: The effect of lanthanum hydroxide on Runx2 mRNA; C: The effect of lanthanum hydroxide on Traf6 mRNA. Mean ± SD. n=5. #P < 0.05, **P < 0.01 vs. control groups. *P < 0.05, **P < 0.01 vs. Model groups.

6.4 氢氧化镧对CKD大鼠胸主动脉SM22α、RUNX2、TRAF6和NF-κB蛋白表达的影响

为了进一步验证氢氧化镧对NF-κB通路的作用,我们运用Western Blot技术检测了SM22α、RUNX2及NF-κB通路中TRAF6及NF-κB的蛋白表达,细胞质的蛋白以β-actin,为内参,细胞核的蛋白以LaminA为内参。如图5、6所示,与Control组相比,Model组血管平滑肌标志性蛋白SM22α表达显著降低($P < 0.01$),而成骨标志性蛋白RUNX2表达显著升高($P < 0.01$),表明CKD大鼠血管平滑肌细胞已经由收缩表型向成骨表型转分化。在给药8周后,与Model组相比,各给药组SM22α蛋白的表达升高,RUNX2表达显著降低。为了验证氢氧化镧是否通过NF-κB通路抑制血管钙化的发生,检测了NF-κB及其上游TRAF6的表达。与Control相比,Model组的TRAF6的表达显著增加($P < 0.01$),胞质内NF-κB的表达显著降低($P < 0.01, P < 0.05$),而细胞核内NF-κB的表达显著升高($P < 0.01, P < 0.05$)。与Model组相比,给予LH各剂量组、LC、CC治疗的CKD大鼠TRAF6表达显著降低;细胞核内NF-κB的表达显著降低,氢氧化镧剂量依赖性逆转

了上述蛋白的表达。

7 讨论

本文研究了一种新型磷结合剂-氢氧化镧,通过对血清生化指标的检测和胸主动脉组织病理学的研究,证明了氢氧化镧可降低血清磷水平、调节钙磷平衡,延缓CKD血管钙化的发生及发展。并证明了氢氧化镧可通过抑制NF-κB通路抑制血管钙化的发生及发展。

本文中选用腺嘌呤造模,可在短时间内诱发肾衰竭,动物之间的差异很小,在CKD动物模型后期,可观察到骨骼异常和血管钙化,该模型显示了CKD进行性发作和肾功能衰竭的病程^[14-16]。如图1所示,给药8周后,与Model组相比,给予LH各剂量组、LC、CC治疗后CKD大鼠血清磷浓度、血清肌酐水平、尿素氮水平显著降低,且氢氧化镧具有剂量依赖性。由此可知,碳酸镧和氢氧化镧(0.2 g/kg)的治疗效果相当,而氢氧化镧(0.4 g/kg)的治疗效果更好。因此,氢氧化镧相较于碳酸镧具有更高的效价。

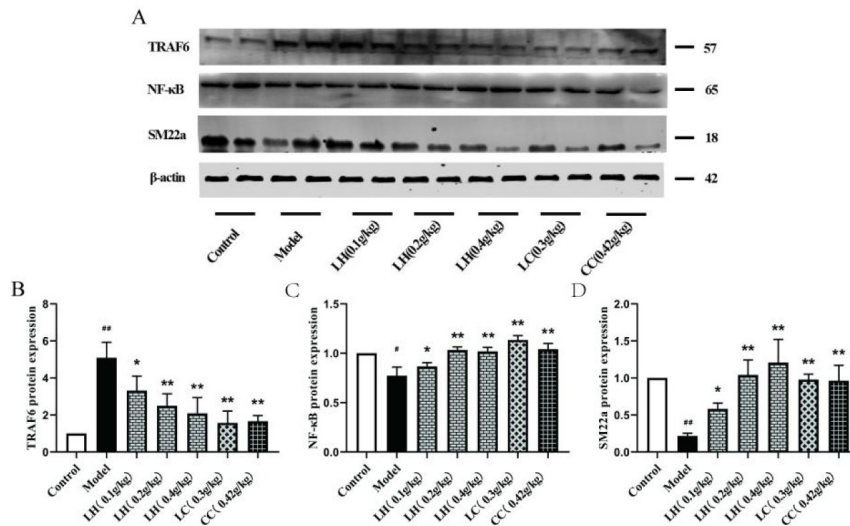


图5 氢氧化镧对CKD模型大鼠胸主动脉组织细胞质中TRAF6、NF-κB、SM22α蛋白表达的影响
Fig.5 The effect of lanthanum hydroxide on the expression of TRAF6, NF-κB and SM22α in the cytoplasm of the thoracic aorta of CKD model rats.

A: Protein expression of TRAF6, NF-κB, SM22α in the cytoplasm; B: Quantitative results of TRAF6 protein expression in the cytoplasm; C: Quantitative results of NF-κB protein expression in the cytoplasm; D: Quantitative results of SM22α protein expression in the cytoplasm. Mean ± SD. n = 4. #P < 0.05, ##P < 0.01 vs. control groups. *P < 0.05, **P < 0.01 vs. Model groups.

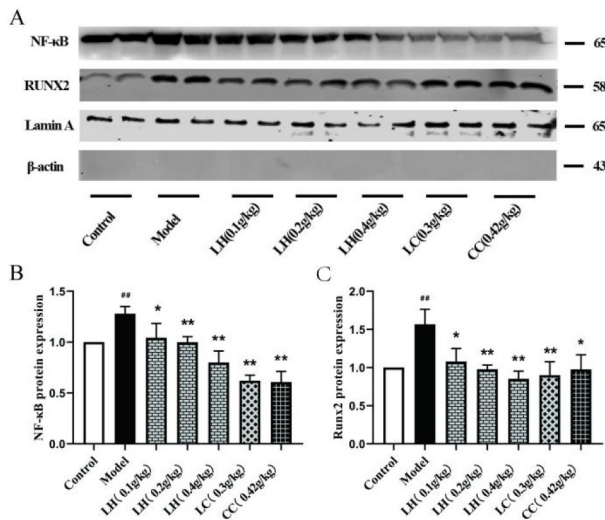


图6 氢氧化镧对CKD模型大鼠胸主动脉组织细胞核中NF-κB、RUNX2蛋白表达的影响

Fig.6 The effect of lanthanum hydroxide on the expression of NF-κB and RUNX2 protein in the nucleus of the thoracic aorta tissue of CKD model rats.

A: Protein expression of NF-κB and RUNX2 in the nucleus; B: Quantitative results of NF-κB protein expression in the nucleus; C: Quantitative results of RUNX2 protein expression in the cytoplasm. Mean ± SD. n = 4. #P < 0.05, ##P < 0.01 vs. control groups. *P < 0.05, **P < 0.01 vs. Model groups.

通过对相关文献的查阅以及胸主动脉血管的mRNA和蛋白表达的检测,结果表明:与Control组相比,Model组SM22α的蛋白表达显著下降,随后我们检测了NF-κB上游的蛋白TRAF6和NF-κB,与Control组相比,Model组的TRAF6的表达显著

升高,细胞核内的NF-κB表达明显增加,氢氧化镧给药8周后,剂量依赖性的逆转了上述蛋白的表达。综上所述,氢氧化镧可通过抑制NF-κB的入核,抑制高磷血症过程中VSMCs中的成骨转分化,进而抑制血管钙化的发生及发展。然而,La³⁺如何进入细胞,激活NF-κB途径,抑制血管平滑肌细胞钙化,将是我们未来研究的方向。

综上所述,新型磷结合剂-氢氧化镧可有效降低血清磷水平,调节体内钙磷平衡,具有延缓慢性肾衰血管钙化发生和发展的作用。同时证明了氢氧化镧是通过阻断NF-κB通路的激活,抑制慢性肾衰血管钙化的发生及发展。

参考文献

- [1]Webster AC, Nagler EV, Morton RL, et al. Chronic Kidney Disease[J]. Lancet, 2017;389(10075):1238-1252
- [2]GBD Chronic Kidney Disease Collaboration, Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet, 2020;395:709-733
- [3]Jhund PS, Solomon SD, Docherty KF, et al. Efficacy of Dapagliflozin on Renal Function and Outcomes in Patients With Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: Results of DAPA-HF[J]. Circulation, 2021;143(4):298-309
- [4]Reiss AB, Miyawaki N, Moon J, et al. CKD, arterial calcification, atherosclerosis and bone health: Inter-relationships and controversies[J]. Atherosclerosis, 2018;278:49-59
- [5]Niu Q, Zhao H, Wu B, Wang M, et al. Study on the Prevalence

- of Vascular Calcification in Different Types of Arteries and Influencing Factors in Maintenance Peritoneal Dialysis Patients [J]. *Blood Purif.*, 2019; **47**(Suppl 1):8-16
- [6]Kurabayashi M. Vascular calcification-pathological mechanism and clinical application-role of vascular smooth muscle cells in vascular calcification. *Clin Calcium*, 2015; **25**(5): 661-669
- [7]Voelkl J, Tuffaha R, Luong TTD, et al. Zinc Inhibits Phosphate-Induced Vascular Calcification through TNFAIP3-Mediated Suppression of NF- κ B[J]. *Am Soc Nephrol.*, 2018; **29** (6): 1636-1648
- [8]Shigematsu T, Ohya M, Negi S, et al. Safety and efficacy evaluation of lanthanum carbonate for hyperphosphatemia in end-stage renal disease patients[J]. *Contrib Nephrol*, 2015; **185**:42-55
- [9]Negri AL, Ureña Torres PA. Iron-based phosphate binders: do they offer advantages over currently available phosphate binders?[J]. *Clin Kidney*, 2015; **8**(2):161-167
- [10]Meng L, Fu B. Practical use of sevelamer in chronic kidney disease patients on dialysis in People's Republic of China[J]. *Ther Clin Risk Manag*, 2015; **11**:705-712
- [11]Akizawa T, Origasa H, Kameoka C, et al. Dose-finding study of bixalomer in patients with chronic kidney disease on hemo-
- dialysis with hyperphosphatemia: a double-blind, randomized, placebo-controlled and sevelamer hydrochloride-controlled open-label, parallel group study[J]. *Ther Apher Dial*, 2014; **18** (Suppl 2):24-32
- [12]Zhang J, Zheng B, Zhou PP, et al. Vascular calcification is coupled with phenotypic conversion of vascular smooth muscle cells through Klf5-mediated transactivation of the Runx2 promoter [J]. *Biosci Rep*, 2014; **34**(6):e00148
- [13]Bruderer M, Richards RG, Alini M, et al. Role and regulation of RUNX2 in osteogenesis[J]. *Eur Cell Mater*, 2014; **28**:269-286
- [14]Matsui I, Hamano T, Mikami S, et al. Fully phosphorylated fetuin-A forms a mineral complex in the serum of rats with adenine-induced renal failure[J]. *Kidney Int*, 2009; **75** (9): 915-928
- [15]Westenfeld R, Schafer C, Kruger T, et al. Fetuin-A protects against atherosclerotic calcification in CKD[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009; **20**(6):1264-1274
- [16]Reynolds JL, Skepper JN, McNair R, et al. Multifunctional roles for serum protein fetuin-a in inhibition of human vascular smooth muscle cell calcification[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2005; **16** (10):2920-2930

(上接第 453 页)

参考文献

- [1]Hartono SB, Hadisoewignyo L, Yang Y, et al. Amine functionalized cubic mesoporous silica nanoparticles as an oral delivery system for curcumin bioavailability enhancement[J]. *Nanotechnology*, 2016; **27**(50):505605
- [2]李利萍, 赵海龙, 董玉. 姜黄中 3 种主要成分的药代动力学研究进展[J]. *疾病监测与控制*, 2020; **14**(1):58-63
- [3] Siddiqui F, Prakasam G, Chattopadhyay S, et al. Curcumin decreases warburg effect in cancer cells by down-regulating pyruvate kinase M2 via mTOR-HIF1 α inhibition[J]. *Scientific Reports*, 2018; **8**(1):8323-8332
- [4]王彬辉, 章文红, 李范珠, 等. 姜黄素聚乙二醇-聚己内酯纳米粒的药学及其体外抗肿瘤作用[J]. *中国临床药学杂志*, 2020; **29**(1):1-6
- [5]何黎黎, 袁志翔, 郑云, 等. 姜黄素-介孔二氧化硅纳米粒固体分散体的制备与表征[J]. *中草药*, 2016; **47**(13):2283-2287
- [6]张英, 李冬梅, 邢颖, 等. 姜黄素的药理作用与载体研究进展[J]. *中国药房*, 2015; **26**(13):1850-1853
- [7]Fu C, Liu T, Li L, et al. The absorption, distribution, excretion and toxicity of mesoporous silica nanoparticles in mice following different exposure routes[J]. *Biomaterials*, 2013; **34**(10): 2565-2575
- [8]Ding C, He J, Xu M, et al. Fabrication of β -cyclodextrin modified mesostructured silica coated multi-walled carbon nanotubes composites and application for paraben removal[J]. *Water science and technology*, 2018; **75**(8):1001-1009
- [9]Yang LJ, Chang Q, Zhou SY, et al. Host-guest interaction between brazillin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin: Preparation, inclusion mode, molecular modelling and characterization [J]. *Dyes Pigments*, 2018; **150**:193-201
- [10]李笛. 共载阿霉素与姜黄素介孔硅核脂质复合纳米粒的制备、表面修饰与性能研究[D]. 深圳: 深圳大学, 2020
- [11]何黎黎, 顾健. 载姜黄素介孔二氧化硅纳米粒的制备及体外抗肿瘤活性研究[J]. *中国中药杂志*, 2015; **40**(21): 4189-4193
- [12]Wei QH, Keck CM, Muller RH. Preparation and tableting of long-term stable amorphous rutin using porous silica[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2017; **113**:97-107
- [13]Dening TJ, Zemlyanov D, Taylor LS. Application of an adsorption isotherm to explain incomplete drug release from ordered mesoporous silica materials under supersaturating conditions [J]. *J Controlled Release*, 2019; **307**:186-199
- [14]Naghavi F, Morsali A, Bozorgmehr MR. Molecular mechanism study of surface functionalization of silica nanoparticle as an anticancer drug nanocarrier in aqueous solution[J]. *J Mol Liq*, 2019; **282**:392-400
- [15]Angiolini L, Valetti S, Cohen B, et al. Fluorescence imaging of antibiotic clofazimine encapsulated within mesoporous silica particle carriers: relevance to drug delivery and the effect on its release kinetics[J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2018; **20**(17): 11899-11911