

· 基础研究 ·

## GLP-1抑制小鼠主动脉瓣膜钙化的实验研究

胡 帅,周景昕,戴亚伟,唐义虎,赵 萌,李 砾,吴延虎\*

南京医科大学第一附属医院心脏大血管外科,江苏 南京 210029

**[摘要]** 目的:探究胰高血糖素样肽-1 (glucagon like peptide-1, GLP-1)对高脂高胆固醇饮食小鼠主动脉瓣钙化的影响,揭示GLP-1在钙化性主动脉瓣疾病(calcified aortic valve disease, CAVD)发生发展中的保护作用及作用机制。方法:SPF级C57BL/6小鼠36只(8周龄,雌性)随机分成4组( $n=9$ ),正常饮食组和GLP-1对照组给予正常饮食,高脂饮食组和GLP-1干预组给予高脂高胆固醇+维生素D<sub>2</sub>饮食,GLP-1对照组和GLP-1干预组在此基础上给予GLP-1处理。12周后,测量各组小鼠二维超声心动图指标,包括主动脉瓣口面积、左室射血分数、瓣叶厚度、左室收缩末内径、跨瓣流速,测定血清钙浓度, von Kossa染色观察瓣膜组织钙化情况,免疫组化法检测各组主动脉瓣标本中骨桥蛋白以及相关信号通路磷酸化p38蛋白的表达水平。结果:①正常饮食组、GLP-1对照组和GLP-1干预组小鼠瓣叶厚度、跨瓣流速、左室收缩末内径及血清钙离子浓度均低于高脂饮食组,而瓣口面积及左室射血分数均高于高脂饮食组( $P < 0.05$ );②正常饮食组、GLP-1对照组和GLP-1干预组主动脉瓣膜标本中骨桥蛋白以及相关信号通路磷酸化p38蛋白的表达水平明显低于高脂饮食组( $P < 0.05$ )。结论:GLP-1可能通过抑制磷酸化p38蛋白的表达而抑制小鼠主动脉瓣膜的钙化。

**[关键词]** 胰高血糖素样肽-1;主动脉瓣钙化;动物模型;骨桥蛋白;p-p38

**[中图分类号]** R542.5

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2020)07-950-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20200704

### GLP-1 inhibited calcification of the aortic valve in mice

HU Shuai, ZHOU Jingxing, DAI Yawei, TANG Yihu, ZHAO Meng, LI Luo, WU Yanhu\*

Department of Cardiovascular Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of glucagon like peptide-1 (GLP-1) on the calcification of aortic valve in mice fed with high fat and cholesterol diet, and to reveal the protective effect and mechanism of GLP-1 in the occurrence and development of calcified aortic valve disease (CAVD). **Methods:** Thirty six C57BL/6 mice (8 weeks old, female) were randomly divided into four groups ( $n=9$ ). The normal diet group and the GLP-1 control group were given normal diet, and the high fat diet group and the GLP-1 intervention group were fed with high fat and high cholesterol diet + vitamin D<sub>2</sub>. The GLP-1 control group and the GLP-1 intervention group were additionally treated with GLP-1. After 12 weeks, the two-dimensional echocardiographic data of mice in each group were measured, including aortic valve area (AVA), left ventricular ejection fraction (EF), valve leaf thickness (T), left ventricular end systolic diameter (LVDs), transvalvular velocity (TV). Then the serum calcium concentrations were measured, and von Kossa staining was used to observe the calcification of valve tissue, and immunohistochemistry to detect the expression of osteopontin (OPN) and p38 protein in the aortic valve samples. **Results:** ① In the normal diet group, the GLP-1 control group and the GLP-1 intervention group, T, TV, LVDs and serum calcium concentration were lower than those in the high fat diet group, while AVA and left ventricular EF were higher than those in the high fat diet group ( $P < 0.05$ ). ② The expressions of OPN and phosphorylated p38 (p-p38) in the aortic valve samples of the normal diet group, the GLP-1 control group, the GLP-1 intervention group were significantly lower than that of the high fat diet group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** GLP-1 can inhibit the calcification of aortic valve by inhibiting the expression of p-p38 in mice.

**[Key words]** glucagon like peptide-1; aortic valve calcification; animal model; osteopontin; p-p38

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(07):950-955]

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81700340)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: wuyh@soho.com

钙化性主动脉瓣疾病(calcified aortic valve disease, CAVD)是临床上心脏病中常见的一种瓣膜疾病。随着社会的发展和人类寿命的延长,CAVD的患病人数逐年增多<sup>[1]</sup>。既往CAVD被认为是“自然磨损”过程,但近年来越来越多的研究证实内皮损伤、炎症、钙化与骨形成及血管活性肽等多种途径均参与其中,这与动脉粥样硬化的过程相类似<sup>[2]</sup>。瓣膜钙化是CAVD的典型特征,而骨桥蛋白(osteopontin, OPN)、Runx相关转录因子2(RUNX-2)是在所有钙化中几乎都会表达的经典钙化分子<sup>[3]</sup>。新的证据表明,当健康的主动脉瓣间质细胞(aortic interstitial cell, VIC)受到病理性刺激时,其表型可向成骨细胞转化,表达成骨表面标志如OPN、RUNX-2等。胰高血糖素样肽-1(glucagon like peptide-1, GLP-1)是肠道细胞分泌的一种促胰岛素分泌激素,可调节机体内胰岛素与胰高血糖素的水平,维持体内糖代谢的稳定<sup>[4]</sup>。动物实验和临床前研究表明,GLP-1也可作用于心血管系统,改善血管内皮细胞功能和左心功能<sup>[5]</sup>。但GLP-1对于主动脉瓣钙化的作用目前尚不明确,因此,本研究通过高脂高胆固醇+维生素D<sub>2</sub>饮食构建小鼠主动脉瓣钙化的动物模型,采用GLP-1干预12周,检测各组小鼠左心室功能及瓣膜钙化情况,并通过免疫组化检测各组瓣膜标本中OPN以及相关信号通路磷酸化p38(p-p38)蛋白的表达情况,旨在揭示GLP-1对于主动脉瓣钙化的抑制作用,为CAVD的治疗提供新的思路。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

C57BL/6品系SPF级雌性小鼠36只(8周龄,体重18~23 g,由南京医科大学动物实验中心提供),正常基础饲料、高脂高胆固醇饲料(D12109C纯化型饲料:40 kcal%脂肪,1.25%胆固醇,0.5%胆酸,江苏协同公司),GLP-1(天津诺和诺德中国制药有限公司),OPN抗体(货号:ab8448,Abcam公司,美国),p-p38抗体(Thr180位点磷酸化,货号:4511S,CST公司,美国),AlexaFlour488羊抗兔IgG抗体(Abcam公司,美国),AlexaFlour568羊抗鼠IgG抗体(Abcam公司,美国)。本实验符合3R原则,并得到动物伦理委员批准。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 动物分组及处理

将小鼠随机分为4组,每组9只。正常饮食组和GLP-1对照组给予正常饮食,高脂饮食组和GLP-1

干预组给予1.25%高脂高胆固醇饮食+维生素D<sub>2</sub> 10 000 U/(kg·d)。本研究前期实验发现,GLP-1浓度在200 ng/mL时可以显著降低VIC相对钙离子浓度并抑制主动脉瓣的钙化。同时也有研究表明,GLP-1在浓度为200 μg/kg时可以更好地抑制动脉粥样硬化的病变。因此,本实验GLP-1对照组和GLP-1干预组采用每日200 μg/kg GLP-1皮下注射,正常饮食组及高脂饮食组每日以等量生理盐水皮下注射。持续饲养小鼠12周后,用乙醚使其吸入麻醉,测量各组小鼠心脏彩超指标,包括主动脉瓣口面积、瓣叶厚度、跨瓣流速、左室收缩末内径、左室射血分数。

#### 1.2.2 血清钙的测定

将各组小鼠脱颈椎处死后从心尖取血1 mL,在4 ℃ 3 000 r/min离心10 min,吸取血清。按钙离子检测试剂盒说明方法检测各组小鼠血清钙浓度。

#### 1.2.3 von Kossa染色检测瓣膜组织钙化情况

分离小鼠主动脉根部组织,采用10%福尔马林溶液固定48 h,石蜡包埋,每个标本连续切片5张,厚约5 μm。von Kossa染色,观察并比较各组瓣膜钙化情况。

#### 1.2.4 免疫组化检测OPN、p-p38蛋白的表达情况

小鼠主动脉根部组织标本采用OCT包埋后液氮冷冻,制备4 μm组织切片,每组连续切片5张。免疫组化SP法检测各组标本中OPN及p-p38蛋白的表达,每张切片随机取4个视野,采用Image J图像软件分析切片的阳性染色面积和强度,以平均光密度值表示OPN、p-p38蛋白表达量(平均光密度值=积分光密度值/阳性染色面积)。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计学分析,计量资料以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间多组均数比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD-*t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组小鼠心脏彩超检测结果

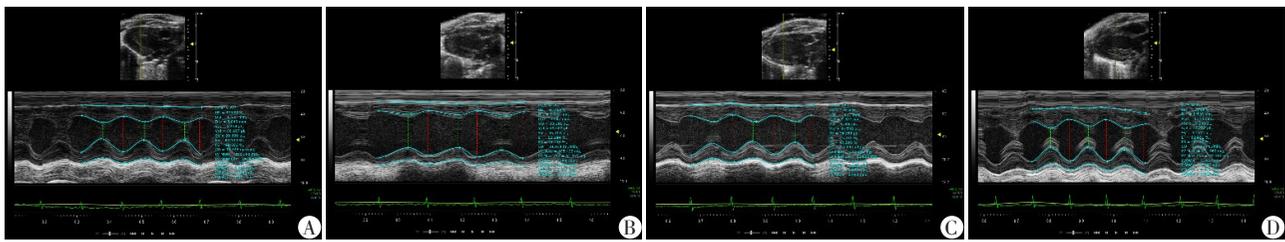
12周后,小鼠心超结果显示:正常饮食组、GLP-1对照组和GLP-1干预组小鼠瓣叶厚度、跨瓣流速及左室收缩末内径均低于高脂饮食组,而瓣口面积及左室射血分数均高于高脂饮食组( $P < 0.05$ ),提示高脂饮食组小鼠主动脉瓣钙化情况明显比其余3组严重;正常饮食组、GLP-1对照组、GLP-1干预组间各心超结果差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,表1,图1)。

表1 各组小鼠二维超声心动图检测结果比较

Table 1 Comparison of two-dimensional echocardiography in each group of mice ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	瓣口面积(mm <sup>2</sup> )	瓣叶厚度(mm)	跨瓣流速(mm/s)	左室收缩末内径(mm)	左室射血分数(%)
正常饮食组	9	1.02 ± 0.11	0.09 ± 0.00	797.52 ± 37.55	2.02 ± 0.18	74.20 ± 2.67
高脂饮食组	9	0.88 ± 0.06 <sup>*#Δ</sup>	0.11 ± 0.01 <sup>*#Δ</sup>	1 084.38 ± 89.56 <sup>*#Δ</sup>	2.40 ± 0.25 <sup>*#Δ</sup>	59.02 ± 3.43 <sup>*#Δ</sup>
GLP-1 对照组	9	1.04 ± 0.05	0.09 ± 0.01	827.09 ± 49.24	1.99 ± 0.28	75.03 ± 4.06
GLP-1 干预组	9	1.03 ± 0.04	0.09 ± 0.01	847.32 ± 121.91	2.06 ± 0.24	71.60 ± 5.31

与正常饮食组相比,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ;与GLP-1对照组相比,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ;与GLP-1干预组相比,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$ 。



A: 正常饮食组; B: 高脂饮食组; C: GLP-1 对照组; D: GLP-1 干预组。

图1 各组小鼠二维超声心动图

Figure 1 Two dimensional echocardiography of mice in each group

### 2.2 各组小鼠血清钙浓度检测结果

12周后,正常饮食组、GLP-1对照组和GLP-1干预组小鼠血清钙离子浓度均低于高脂饮食组( $P < 0.05$ ),说明主动脉瓣膜的钙化病变不仅仅局限于瓣膜局部,而是与全身性钙代谢的改变有关。正常饮食组、GLP-1对照组和GLP-1干预组间小鼠血清钙离子浓度差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,表2)。

### 2.3 各组小鼠主动脉瓣膜钙化情况

4组小鼠主动脉瓣膜切片 von Kossa 染色结果如图2所示,正常饮食组小鼠主动脉瓣膜无明显钙化;高脂饮食组小鼠主动脉瓣膜组织有大量黑色颗粒沉积,出现明显钙化;GLP-1对照组小鼠主动脉瓣膜无明显钙化,表明GLP-1对正常主动脉瓣膜无明显影响;GLP-1干预组小鼠在GLP-1干预后瓣膜钙化明显减少。

表2 各组小鼠血清钙离子浓度

Table 2 Serun calcium concentration of mice in each group ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	血清钙浓度(mmol/L)
正常饮食组	9	1.03 ± 0.04
高脂饮食组	9	1.18 ± 0.07 <sup>*#Δ</sup>
GLP-1 对照组	9	1.02 ± 0.03
GLP-1 干预组	9	1.06 ± 0.06

与正常饮食组相比,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ;与GLP-1对照组相比,<sup>#</sup> $P < 0.05$ ;与GLP-1干预组相比,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$ 。

### 2.4 各组小鼠主动脉瓣膜组织中OPN及p-p38蛋白表达情况

免疫组化结果显示,高脂饮食组小鼠主动脉瓣膜组织出现明显的棕色颗粒显色,其阳性染色面积和强度均明显高于其他3组(图3),表明高脂饮食组

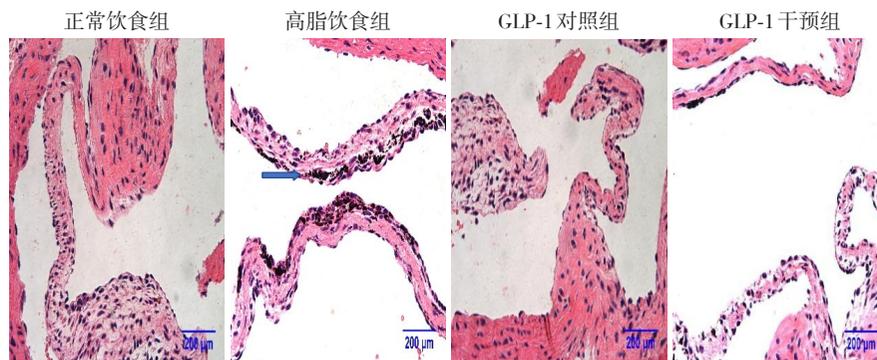
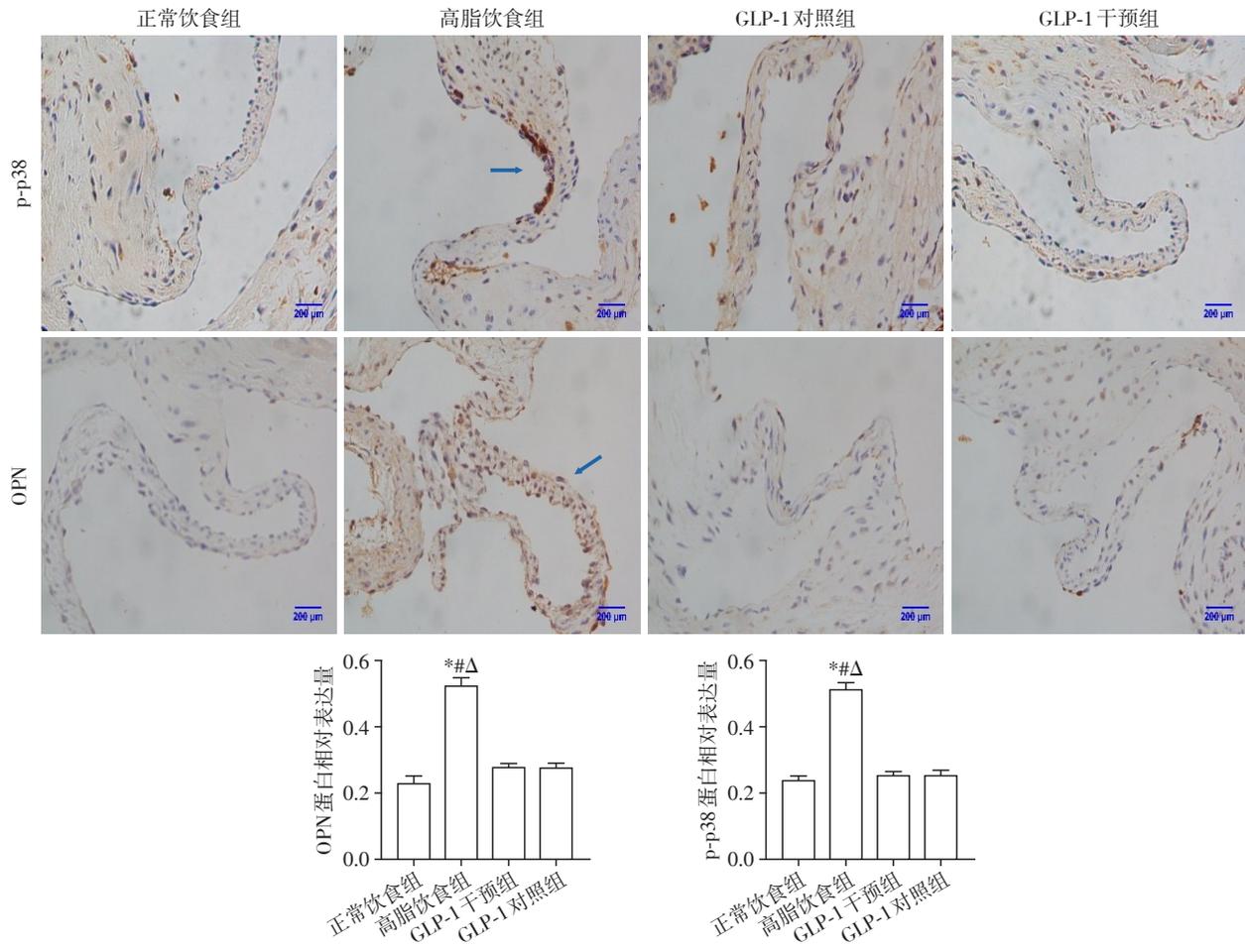


图2 各组小鼠主动脉瓣切片 von Kossa 染色结果(×400)

Figure 2 von Kossa staining results of aortic valve sections of mice in each group(×400)

小鼠主动脉瓣膜标本中 OPN 以及相关信号通路 p-p38 蛋白的表达明显高于正常饮食组、GLP-1 对照组 ( $P < 0.05$ ), 而 GLP-1 干预组小鼠在 GLP-1 干预后瓣

膜钙化相关的蛋白表达明显减少, 正常饮食组、GLP-1 对照组和 GLP-1 干预组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。



与正常饮食组相比,  $P < 0.05$ ; 与 GLP-1 对照组相比,  $P < 0.05$ ; 与 GLP-1 干预组相比,  $P < 0.05$  ( $n=9$ )。

图3 免疫组化检测各组小鼠主动脉瓣 OPN、p-p38 表达水平 ( $\times 400$ )

Figure 3 Expression levels of OPN, p-p38 in aortic valve of mice were detected by immunohistochemistry ( $\times 400$ )

### 3 讨论

主动脉瓣膜的钙化过程是复杂而严格受控的<sup>[6]</sup>。目前认为,CAVD的初始阶段是内皮损伤<sup>[7]</sup>,随后机体在损伤处逐步诱导形成慢性无菌性炎症反应。最近研究表明<sup>[8]</sup>,在钙化的人主动脉瓣中可见大量白细胞和巨噬细胞浸润,这说明主动脉瓣膜的钙化与炎症反应是相关的。同时越来越多的证据表明,瓣膜钙化是通过成骨细胞依赖的钙化途径进行的<sup>[9]</sup>。在人类和动物模型的钙化瓣膜中可发现多种成骨细胞转录因子的表达。许多直接参与钙化的细胞外基质蛋白(如OPN)也在钙化的瓣膜中表达上调<sup>[10]</sup>。此外,成骨调控信号通路已被证明在CAVD中被激活。有研究表明,当C57BL/6鼠发生类似的高脂血

症时,该品系比FVBN或C3H品系表现出更明显的动脉粥样硬化病变形成<sup>[11-12]</sup>。而动脉粥样硬化与钙化性主动脉瓣疾病的发生发展存在很多相似之处,这就提示高脂高胆固醇饮食可能会导致鼠钙化性主动脉瓣疾病的发生与发展。有研究发现,用含有高脂高胆固醇的饲料喂养低密度脂蛋白受体敲除小鼠一段时间后,小鼠体内发生很严重的高脂血症,并且主动脉瓣瓣膜的厚度、巨噬细胞的积累、过氧化物的生成、成骨细胞以及矿化均显著增加<sup>[13]</sup>。而维生素D<sub>2</sub>可以加快动物体内主动脉瓣处钙盐的沉积,促进主动脉瓣钙化的发生发展<sup>[14]</sup>。Drolet等<sup>[15]</sup>通过高胆固醇+维生素D<sub>2</sub>饮食饲养新西兰白兔,干预12周后,心脏超声检测发现兔主动脉瓣膜回声增强,主动脉瓣瓣口面积明显减小,提示主动脉瓣钙

化明显。因此本研究采用高脂高胆固醇+维生素D<sub>2</sub>饮食构建小鼠主动脉瓣钙化模型,结果发现高脂饮食组小鼠主动脉瓣瓣口面积明显缩小,瓣叶明显增厚。而且高脂饮食组小鼠血清钙浓度也明显高于其他3组,这是因为长期大剂量维生素D饮食可使动物骨钙代谢异常,加速破骨细胞增殖,抑制成骨细胞活性,促进骨钙流失进入血液,使血清钙浓度升高<sup>[16]</sup>。而高脂高胆固醇饮食+维生素D<sub>2</sub>饮食小鼠在GLP-1干预后,血清钙浓度无明显升高,这可能与GLP-1对骨代谢调节的积极作用有关<sup>[17]</sup>。同时瓣膜切片 von Kossa 染色结果也显示只有高脂饮食组小鼠主动脉瓣膜组织有大量黑色钙化颗粒沉积,表明高脂高胆固醇+维生素D<sub>2</sub>饮食诱导了小鼠主动脉瓣出现明显钙化。

GLP-1是目前控制血糖的理想药物,在调节血糖、延缓胰岛β细胞凋亡等方面具有独特的优势。有研究表明糖尿病以及代谢综合征与主动脉瓣钙化的进展密切相关,而CAVD患者血清以及组织中晚期糖基化终末产物(AGE)含量显著上升,AGE在体内与其受体RAGE结合后激活氧化应激,活化多种炎症因子活化。研究表明AGE能够促进VIC向成骨细胞分化,从而促进了CAVD的进展<sup>[18]</sup>。而已经有研究证实GLP-1能通过cAMP途径抑制RAGE引起的细胞炎性损伤,改善内皮细胞功能<sup>[5]</sup>。近年来,越来越多的研究发现GLP-1在心血管系统中也扮演着重要角色。研究表明,GLP-1可以改善缺血心脏冠状动脉血流,提高心肌细胞活力,改善心功能<sup>[19]</sup>。而且GLP-1能够减少单核细胞在血管内皮的黏附,从而降低了动脉粥样硬化的风险。Arakawa等<sup>[20]</sup>采用GLP-1受体激动剂作用于小鼠,结果发现GLP-1受体激动剂能够抑制单核/巨噬细胞在主动脉瓣表面聚集,减轻瓣膜钙化病变。本课题前期采用GLP-1干预主动脉瓣膜间质细胞,结果发现GLP-1能够通过抑制p65的表达进而抑制VIC的钙化及其成骨表型分化<sup>[21]</sup>。所以本研究通过高脂高胆固醇+维生素D<sub>2</sub>饮食建立小鼠主动脉瓣钙化模型,并以适量浓度的GLP-1干预小鼠主动脉瓣膜的钙化,来探究GLP-1在体内对主动脉瓣膜钙化的作用及机制。实验结果表明:GLP-1能够抑制小鼠主动脉瓣膜的钙化,减轻瓣膜钙化病变,改善左心室重构。本研究通过免疫组化检测小鼠瓣膜组织中OPN的表达情况,结果表明,高脂饮食组小鼠主动脉瓣膜组织中OPN的表达较GLP-1干预组、GLP-1对照组、正常饮食组明显增加( $P < 0.05$ )。目前大量研究表明,成骨

样细胞表型的转化在主动脉瓣钙化中起着关键作用,而OPN是所有钙化过程中几乎都会表达的经典钙化分子。GLP-1类似物利拉鲁肽能够抑制血管平滑肌细胞向成骨细胞分化,从而抑制血管钙化的形成<sup>[22]</sup>。有研究发现,p38介导的信号通路参与Exendin-4(GLP-1类似物)对于心肌细胞的保护作用<sup>[23]</sup>。He等<sup>[24]</sup>发现,Exendin-4的抗炎作用是通过下调p38MAPK的表达实现的。而GLP-1可以通过下调p38MAPK蛋白的表达来保护由AGE诱导的血管内皮细胞的凋亡<sup>[25]</sup>。因此我们对p38这条经典的炎症信号转导通路进行了研究,发现高脂饮食组小鼠p-p38蛋白表达较其他3组也明显增加( $P < 0.05$ ),表明p38蛋白介导的炎症反应在主动脉瓣钙化过程中起着关键性作用,该结果提示GLP-1能够通过抑制p-p38的表达而抑制主动脉瓣膜的钙化。

综上所述,GLP-1能够通过抑制磷酸化p38蛋白的表达抑制主动脉瓣膜的钙化,减轻瓣膜钙化病变,保护左心功能,为CAVD的药物治理提供了新的思路。但主动脉瓣钙化是一个十分复杂的过程,GLP-1对主动脉瓣钙化抑制的具体机制仍有待进一步探索。

#### [参考文献]

- [1] 师瑞,周晓莉. 钙化性主动脉瓣疾病的研究进展[J]. 心血管病学进展, 2018, 39(5): 60-64
- [2] SATHYAMURTHY I, ALEX S. Calcific aortic valve disease: is it another face of atherosclerosis? [J]. Indian Heart J, 2015, 67(5): 503-506
- [3] YU C, LI L, XIE F, et al. LncRNA TUG1 sponges miR-204-5p to promote osteoblast differentiation through up-regulating Runx2 in aortic valve calcification [J]. Cardiovasc Res, 2018, 114(1): 168-179
- [4] MACDONALD P E, EL-KHOLY W, RIEDEL M J, et al. The multiple actions of GLP-1 on the process of glucose-stimulated insulin secretion [J]. Diabetes, 2002, 51 (Supplement 3): S434-S442
- [5] OESEBURG H, DE BOER R A, BUIKEMA H, et al. Glucagon-like peptide 1 prevents reactive oxygen species-induced endothelial cell senescence through the activation of protein kinase A [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2010, 30(7): 1407-1414
- [6] YUTZEY K E, DEMER L L, BODY S C, et al. Calcific aortic valve disease a consensus summary from the alliance of investigators on calcific aortic valve disease [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34 (11): 2387-2393
- [7] SUCOSKY P, BALACHANDRAN K, ELHAMMALI A, et

- al. Altered shear stress stimulates upregulation of endothelial VCAM-1 and ICAM-1 in a BMP-4-and TGF- $\beta$ 1-dependent pathway [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(2):254-260
- [8] KADEN J J, DEMPFLER C E, GROBHOLZ R, et al. Inflammatory regulation of extracellular matrix remodeling in calcific aortic valve stenosis [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2005, 14(2):80-87
- [9] MATHIEU P, BOULANGER M C. Basic mechanisms of calcific aortic valve disease [J]. *Can J Cardiol*, 2014, 30(9):982-993
- [10] HONDA S, MIYAMOTO T, WATANABE T, et al. A novel mouse model of aortic valve stenosis induced by direct wire injury [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(2):270-278
- [11] DAUGHERTY A, RATERI D L. Development of experimental designs for atherosclerosis studies in mice [J]. *Methods*, 2005, 36(2):129-138
- [12] SHI W, WANG N J, SHIH D M, et al. Determinants of atherosclerosis susceptibility in the C3H and C57BL/6 mouse model: evidence for involvement of endothelial cells but not blood cells or cholesterol metabolism [J]. *Circ Res*, 2000, 86(10):1078-1084
- [13] DROLET M C, ROUSSEL E, DESHAIES Y, et al. A high fat/high carbohydrate diet induces aortic valve disease in C57BL/6J mice [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47(4):850-855
- [14] NGO D T M, STAFFORD I, KELLY D J, et al. Vitamin D2 supplementation induces the development of aortic stenosis in rabbits: Interactions with endothelial function and thioredoxin-interacting protein [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 590(1-3):290-296
- [15] DROLET M C, COUET J, ARSENAULT M. Development of aortic valve sclerosis or stenosis in rabbits: Role of cholesterol and calcium [J]. *J Heart Valve Dis*, 2008, 17(4):381-387
- [16] 李 斌,李 琴. 大剂量维生素 D3对雄性大鼠骨代谢的影响[J]. *中国医药指南*, 2012, 10(31):402-404
- [17] 路 阳,王瑞英,杜雅楠,等. 胰高血糖素样肽-1与骨代谢关系的研究进展[J]. *临床荟萃*, 2019, 34(10):953-957
- [18] LI F, CAI Z, CHEN F, et al. Pioglitazone attenuates progression of aortic valve calcification via down-regulating receptor for advanced glycation end products [J]. *Basic Res Cardiol*, 2012, 107(6):1-14
- [19] BAN K, NOYAN-ASHRAF MH, HOEFER J, et al. Cardioprotective and vasodilatory actions of glucagon-like peptide 1 receptor are mediated through both glucagon-like peptide 1 receptor-dependent and -independent pathways [J]. *Circulation*, 2008, 117(18):2340-2350
- [20] ARAKAWA M, MITA T, AZUMA K, et al. Inhibition of monocyte adhesion to endothelial cells and attenuation of atherosclerotic lesion by a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, exendin-4 [J]. *Diabetes*, 2010, 59(4):1030-1037
- [21] 戴亚伟,周景昕,韩 旭,等. GLP-1抑制主动脉瓣膜间质细胞钙化[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2019, 39(5):41-44
- [22] ZHAN J K, WANG Y J, WANG Y, et al. The protective effect of GLP-1 analogue in arterial calcification through attenuating osteoblastic differentiation of human VSMCs [J]. *Int J Cardiol*, 2015, 189:188-193
- [23] LU K, CHANG G, YE L, et al. Protective effects of exendin-4 on hypoxia/reoxygenation-induced injury in H9c2 cells [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2):3007-3016
- [24] HE L, WONG C K, CHEUNG K K, et al. Anti-inflammatory effects of exendin-4, a glucagon-like peptide-1 analog, on human peripheral lymphocytes in patients with type 2 diabetes [J]. *J Diabetes Investig*, 2013, 4(4):382-392
- [25] 曾海龙,黄志秋,张艺能,等. p38MAPK/eNOS信号通道在胰高血糖素样肽-1抑制 AGEs诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡中的作用[J]. *南方医科大学学报*, 2016, 36(1):116-119

[收稿日期] 2020-02-04