

网络出版时间:2025-12-22 15:08:52 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1086.R.20260608.1026.012

Piezo1 激活介导高钙磷诱导的大鼠冠脉平滑肌细胞钙化

蒋柳香^{1,2}, 陈美江^{1,2}, 胡旭相^{2,3}, 杨慧², 饶芳², 邓春玉^{1,2,3}

[1. 南方医科大学药学院, 广东 广州 510515; 2. 南方医科大学附属广东省人民医院(广东省医学科学院)

医学研究部, 临床药理重点实验室, 广东 广州 510080; 3. 华南理工大学医学院, 广东 广州 510006]

doi:10.12360/CPB202510030

文献标志码:A 文章编号:1001-1978(2026)05-0845-08

中图分类号:R-332;R322.12;R322.74;R329.24;R329.25;R348.2

摘要:目的 探究 Piezo1 通道在高钙磷刺激的大鼠冠脉平滑肌细胞(coronary arterial smooth muscle cells, CASCs)钙化中的作用机制。方法 使用 β -甘油磷酸盐和 CaCl_2 干预 CASCs 10 d 以诱导钙化,分为对照组(GM)和钙化组(CM)。期间分别采用 Piezo1 抑制剂 GsMTx4、siRNA-Piezo1 及激动剂 Yoda1 进行干预,用茜素红染色确定细胞钙化程度,Western blot 检测表型转化及线粒体动力学相关蛋白的表达情况。结果 相比 GM 组,CM 组钙化更明显($P<0.01$),Piezo1 及成骨表型相关蛋白 Runx2、BMP2、OPN 表达均呈上调趋势($P<0.01$),而收缩表型相关蛋白 SM22 α 、SM-MHC 表达下降($P<0.01$);给予 GsMTx4 和 siRNA-Piezo1 干预后,钙化相比 DMSO 组明显缓解($P<0.01$),使用 Yoda1 干预后钙化进一步加剧($P<0.01$)。此外,高钙磷刺激下线粒体动力学相关蛋白 DRP1^{Ser616}、FIS1 表达升高($P<0.01$),MFN1、MFN2 表达下降($P<0.01$),使用 Yoda1 处理可加剧线粒体分裂($P<0.01$),且给予线粒体分裂抑制剂 Mdivi-1 干预可改善 CASCs 钙化($P<0.01$)。结论 Piezo1 激活可介导高钙磷刺激的 CASCs 钙化,其机制可能与诱导线粒体动力学失衡相关。

关键词: Piezo1; 钙通道; 线粒体; 冠状动脉平滑肌细胞; 表型转化; 血管钙化

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



血管钙化是钙磷在血管内部发生异常沉积的过程,其主要特征体现为血管僵硬度上升及顺应性降低。其中,血管中膜钙化在慢性肾病(chronic kid-

ney disease, CKD)、糖尿病、衰老及高血压等病症中较为常见。临床研究数据显示,心血管并发症是 CKD 患者首要的死亡原因,其死亡率可高达普通人群的 10~20 倍^[1],而冠脉血管钙化是导致其心血管事件高发的关键^[2]。当存在病理刺激时,血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)可由收缩型转变为成骨样表型,推动中膜钙化的发展进程^[3]。对于 CKD 患者而言,肾功能减退普遍会引发高磷血症和钙磷代谢紊乱,高磷是驱动 VSMCs 向成骨表型转化最核心、最直接的病理刺激^[4],其机制可能与细胞内钙调控异常有关,但其具体机制仍不清楚。

近年来,机械敏感性离子通道 Piezo1 的功能已超越单纯的力学感知范畴,被证实在化学传感和代谢调控中发挥关键作用。最新研究表明,病理性高刚度微环境可有效激活 Piezo1 介导 Ca^{2+} 内流^[5],且在动脉瓣钙化中, Piezo1 表达明显上调,调节 YAP 相关的细胞代谢过程以加速成骨分化,抑制 Piezo1 功能可明显缓解血管病变^[6]。此外,既往研究已发现, Piezo1 的激活与线粒体稳态调控密切相关^[7],而线粒体功能障碍已被公认为血管钙化的核心机制,线粒体分裂过度会破坏其网络结构,导致活性氧大量生成,进而加剧 VSMCs 钙化^[8]。然而, Piezo1 是否能够响应高钙磷这一病理性微环境刺激,进而促进冠脉平滑肌细胞(coronary arterial smooth muscle cells, CASCs)钙化,以及其调控机制是否与诱导线粒体动力学失衡相关,尚不明确。综上,本研究以 CASCs 作为研究对象,通过构建高钙磷诱导的细胞钙化模型,初步探讨 Piezo1、线粒体和 CASCs 之间的联系。

1 材料

1.1 实验动物 SPF 级 δ Wistar 大鼠,体质量 250~300 g,共 35 只,由广州锐格生物科技有限公司提供,实验动物生产许可证号:SCXK(粤)2023-0059。大鼠饲养于广州锐格生物科技有限公司的 SPF 级屏障环境内。本研究涉及的所有动物实验均已得到广东省人民医院(广东省医学科学院)伦理委员会的

收稿日期:2025-11-14,修回日期:2025-12-08

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No 82570474)

作者简介:蒋柳香(2001-),女,硕士生,研究方向:心血管药理学,E-mail:jlx001011@163.com;

邓春玉(1970-),男,博士,研究员,博士生导师,研究方向:心血管药理学,通信作者,E-mail:sychunyudeng@scut.edu.cn

正式批准(伦理号:KY-Z-2021-581-01)。

1.2 试剂 细胞培养液(货号:C11885500BT)、澳洲胎牛血清(fetal bovine serum, FBS, 货号:12483020)、Opti-MEM培养液(货号:31985-070),均购自Gibco公司;抗GAPDH抗体(货号:60004-1-Ig)、抗Piezo1抗体(货号:15939-1-AP)、抗平滑肌22 α (smooth muscle 22 alpha, SM22 α)抗体(货号:10493-1-AP)、抗平滑肌肌球蛋白重链(smooth muscle myosin heavy chain, SM-MHC)抗体(货号:21404-1-AP),均购自Proteintech公司;抗Runt相关转录因子2(Runt-related transcription factor 2, Runx2)抗体(货号:8486S)、抗动力相关蛋白1(dynamin-related protein 1, DRP1)抗体(货号:8570S)、抗磷酸化动力相关蛋白1-丝氨酸616(phospho-dynamin-related protein 1-serine 616, DRP1^{ser616})抗体(货号:3455S)、抗裂变蛋白1(fission protein 1, FIS1)抗体(货号:32525S)、抗线粒体融合蛋白1(mitofusin 1, MFN1)抗体(货号:14739S)、抗线粒体融合蛋白2(mitofusin 2, MFN2)抗体(货号:11925S),均购自Cell Signaling公司;抗骨形态发生蛋白2(bone morphogenetic protein 2, BMP2)抗体(货号:ab214821),购自Abcam公司;抗骨桥蛋白(osteopontin, OPN)抗体(货号:NBP21-740),购自Bioworld Technology公司;Lipofectamine 3000转染试剂(货号:L3000015),购自Invitrogen公司;Yoda1(货号:HY-18723)、Mdivi-1(货号:HY-15886)、GsMTx4(货号:HY-P1410A),均购自MedChemExpress公司;siRNA-Piezo1(货号:SiR0001),购自广州锐博生物技术有限公司;茜素红染色液(货号:ALIR-10001),购自赛业生物科技有限公司;氯化十六烷基吡啶(货号:C129534),购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;其余试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器 Nikon ECLIPSET2倒置显微镜、Nikon TI-S倒置显微镜(南京尼康江南光学仪器有限公司);XTL250型体视显微镜(上海光密仪器有限公司);蛋白电泳仪、转膜仪、ChemiDoc显影仪(美国Bio-Rad Laboratories公司);MultiskanGO全波长酶标仪(赛默飞世尔科技公司)。

2 方法

2.1 原代大鼠CASMCs的获取及培养 冠脉分离的具体方法参考课题组之前的文献^[9]。大鼠用异氟烷实施麻醉后,通过颈椎脱臼法处死。将大鼠皮肤浸入75%乙醇中去除体表细菌,随后用无菌器械开胸,取心脏,放入无菌PBS溶液。在生物安全柜内,借助体视显微镜,使用无菌显微工具分离大鼠心脏

冠脉,清除血管周边的脂肪与结缔组织。在小皿中加入100 μ L含20% FBS和1%青霉素-链霉素的基础培养基,把分离好的冠脉放入其中剪切,再用无菌巴氏管吸取血管悬液,均匀铺在25 cm^2 培养瓶中。将培养瓶倒置,加入5 mL基础培养基,置于培养箱中静置1.5 h后,将培养瓶正面朝上放置继续培养。后续实验选用P2~P4代细胞。

2.2 细胞模型建立与实验分组给药

2.2.1 构建钙化模型 将P2~P4代CASMCs置于基础培养基(含10% FBS和1%青霉素-链霉素)中培养,培养条件为37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 。钙化造模实验分为对照组(general medium, GM)和钙化组(calcification medium, CM),待细胞在6孔板中融合密度达80%时,开始给药。GM组使用基础培养基,CM组使用补充有10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ β -甘油磷酸盐和3 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2 的成骨培养基。细胞造模使用6孔板,第10天收样,期间每隔3天换1次液。

2.2.2 Piezo1抑制剂和激动剂干预CASMCs钙化 为探究Piezo1在CASMCs钙化中的关键作用,使用Piezo1抑制剂GsMTx4和激动剂Yoda1进行干预。
①GsMTx4干预:在钙磷造模的基础上,分别给予0.1、0.3、0.6 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的GsMTx4干预细胞钙化,分组为:GM组、DMSO组、GsMTx4组;
②Yoda1干预:在钙磷造模的基础上,分别给予1、2.5、5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Yoda1干预细胞钙化,分组为:GM组、DMSO组、Yoda1组。

2.2.3 siRNA转染 细胞在钙磷造模前,使用Lipofectamine 3000和Opti-MEM试剂进行转染,分组为:si-NC+GM组、si-NC+CM组、si-Piezo1+GM组、si-Piezo1+CM组。制备Lipofectamine 3000混合液时,取125 μL Opti-MEM培养液与5 μL Lipofectamine 3000溶液充分混匀;制备siRNA混合液时,将125 μL Opti-MEM培养液与5 μL 浓度为20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的siRNA溶液混合均匀。随后按体积比1:1将上述两种混合液混合,加入细胞中转染48 h。

2.2.4 线粒体分裂抑制剂Mdivi-1干预CASMCs钙化 Mdivi-1是一种有效的线粒体分裂抑制剂,主要靶向抑制DRP1蛋白活性,为探究线粒体分裂在CASMCs钙化中的关键作用,分别给予10、15、20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的Mdivi-1干预细胞钙化,分组为:GM组、DMSO组、Mdivi-1组。

2.3 茜素红染色及定量 诱导完毕后,弃除培养基,用1 $\times$ PBS洗涤2次。每孔中添加1 mL 4%多聚甲醛,在室温下固定15 min。弃去固定液,使用无钙磷的去离子水洗涤2次,确保固定液无任何残留。

接着在孔内加 1 mL 染液,于室温条件下染色 15 min。弃除染色液,用去离子水洗涤 2 次,每孔留存 1 mL 去离子水,借助倒置显微镜查看染色效果。染色后,用去离子水充分清洗细胞,直至洗脱液不再有颜色。将培养板在室温下完全晾干,向孔中加入 800 μ L 10% (W/V) 氯化十六烷基吡啶溶液,把培养板放在摇床上,室温孵育 30 min,确保染料被彻底溶解萃取,将每孔中的萃取液转移至 96 孔板内,使用酶标仪,在 540 nm 处检测各孔的吸光度值。

2.4 Western blot 收样时每孔加 100 μ L 强裂解液,4 $^{\circ}$ C 裂解 30 min 后,收集裂解液,4 $^{\circ}$ C、12 000 $r \cdot min^{-1}$ 离心 10 min,取上清,按 BCA 试剂盒测蛋白浓度。采用 12% 预制胶进行 SDS-PAGE 电泳,80 V 恒压 20 min 后,调至 120 V 恒压 65 min,至染料达胶底。湿法转膜,条件为 200 mA 恒流 120 min(每 2 块胶一组),室温 BSA 封闭 20 min,4 $^{\circ}$ C 一抗孵育过夜,次日室温二抗孵育 1 h,滴加显影液后,用凝胶成像系统捕集信号。以 GAPDH 作为内参,分析条带灰度值,并计算蛋白相对表达量。

2.5 统计学方法 统计学分析通过 GraphPad Prism 8 软件完成。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 方式表示;两组间差异比较采用 t 检验,多组间差异比较使用单因素方差分析(One-way ANOVA)。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 高钙磷刺激诱导 CASCs 钙化,伴 Piezo1 上调和线粒体分裂 课题组前期研究证实,Piezo1 在大鼠 CASCs 中高度表达^[10]。与 GM 组相比,CM 组茜素红染色明显加深,钙结节增多($P<0.01$);关键分子 Piezo1 表达增加,成骨表型相关蛋白 Runx2、BMP2 和 OPN 表达上调,收缩表型相关蛋白 SM22 α 、SM-MHC 表达下降($P<0.01$);线粒体动力学相关蛋白 DRP1^{ser616}、Fis1 表达上调($P<0.01$),MFN1、MFN2 表达下调($P<0.01$),见 Fig 1。

3.2 Piezo1 抑制剂 GsMTx4 可改善钙磷诱导的 CASCs 钙化 Fig 2 结果显示,相比于 DMSO 组,CASCs 钙化程度随抑制剂浓度增加而改善($P<0.01$);且成骨表型相关蛋白 Runx2、BMP2 表达随 GsMTx4 浓度升高而下降($P<0.01$),收缩表型相关蛋白 SM22 α 表达随抑制剂浓度升高而上调($P<0.01$)。

3.3 敲低 Piezo1 可减轻钙磷诱导的 CASCs 钙化 如 Fig 3 所示,相比于 si-NC+GM 组,si-Piezo1+GM 组 Piezo1 蛋白被明显敲低($P<0.01$);相比于 si-NC+CM 组,si-Piezo1+CM 组的钙化程度明显减轻($P<0.01$),成骨表型相关蛋白 Runx2($P<0.01$)、BMP2

($P<0.05$)表达水平下降,收缩表型相关蛋白 SM22 α 表达水平上调($P<0.01$)。

3.4 Piezo1 激动剂 Yoda1 可加剧钙磷诱导的 CASCs 钙化 相比于 DMSO 组,CASCs 钙化程度随 Yoda1 浓度增加而加剧($P<0.01$);且在激动剂干预后,成骨表型相关蛋白 Runx2、BMP2 表达水平随 Yoda1 的浓度升高而升高($P<0.01$),收缩表型相关蛋白 SM22 α 表达水平随激动剂的浓度升高而下降($P<0.01$),见 Fig 4。

3.5 Piezo1 激动剂 Yoda1 可加剧钙磷诱导的线粒体分裂 Fig 5 结果显示,给予 Yoda1 激动后,分裂相关蛋白 DRP1^{ser616}、FIS1 表达相比 DMSO 组进一步上调($P<0.01$),融合相关指标 MFN1、MFN2 下调($P<0.01$)。

3.6 线粒体分裂抑制剂 Mdivi-1 可减轻高钙磷诱导的 CASCs 钙化 如 Fig 6 所示,与 DMSO 组相比,CASCs 钙化程度随 Mdivi-1 浓度增加而改善($P<0.01$),且成骨表型相关蛋白 Runx2、BMP2 表达水平随 Mdivi-1 的浓度升高而下降($P<0.01$),收缩表型相关蛋白 SM22 α 表达水平随 Mdivi-1 的浓度升高而升高($P<0.01$)。

4 讨论

本研究结果显示,长期给予 CASCs 高钙磷刺激可上调 Piezo1 及成骨表型相关蛋白 Runx2、BMP2,并下调收缩表型相关蛋白 SM22 α 、SM-MHC,促进 CASCs 钙化。为进一步探究 Piezo1 与高钙磷刺激下 CASCs 钙化之间的关系,分别给予 Piezo1 抑制剂 GsMTx4 和 siRNA-Piezo1 干预后,成骨表型相关蛋白表达下降,高钙磷所致的 CASCs 钙化有所缓解,且给予 Piezo1 激动剂 Yoda1 干预后,细胞钙化进一步加剧。此外,高钙磷诱导的 CASCs 钙化伴有线粒体分裂增加,Piezo1 激动剂 Yoda1 干预可加剧钙磷诱导的线粒体分裂,且给予线粒体分裂抑制剂 Mdivi-1 可改善钙磷相关的 CASCs 钙化。以上提示,Piezo1 激活可介导高钙磷刺激下的 CASCs 钙化,其机制可能与细胞线粒体动力学失衡有关。

临床冠脉钙化与 CKD 患者发生心肌梗死、心力衰竭的风险呈独立且明显相关,对于冠脉钙化评分较高的 CKD 患者而言,因冠脉疾病导致的全因死亡率会明显增加^[2]。血磷水平升高是诱发血管钙化的主要成因及危险因子,现有研究表明,高磷通过激活 Wnt/ β -catenin 通路,可实现在转录水平上调节 Pit-1,促进主动脉钙化的发生发展^[4],且暴露于高水平钙和磷的大鼠主动脉钙化程度明显高于仅暴露于高水平磷的大鼠^[11]。临床上,当血液透析患者同

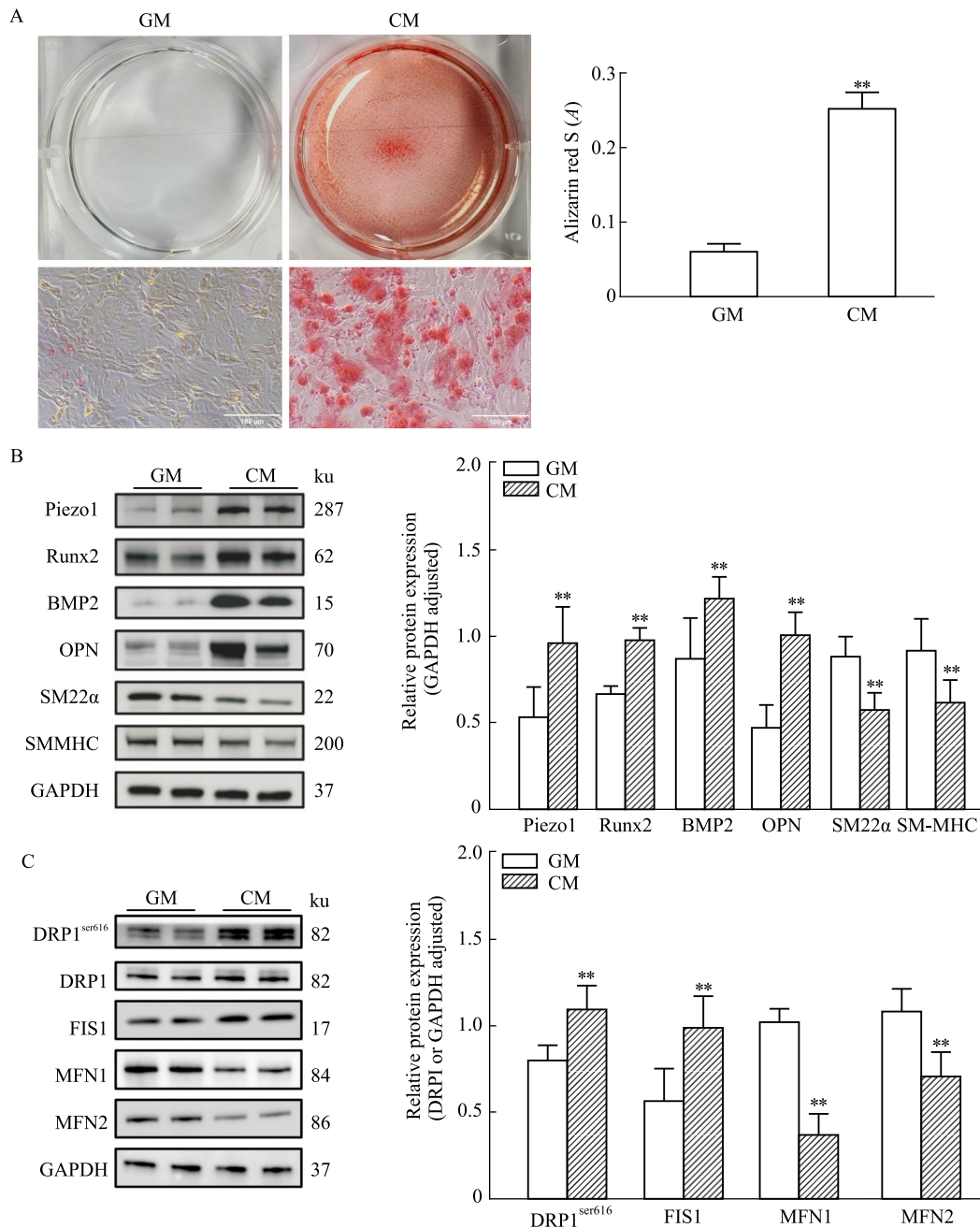


Fig 1 Effect of high calcium-phosphorus stimulation on calcification and mitochondrial dynamics in CASCs ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

A: Representative alizarin red staining and its quantitative graph in CASCs; B: Representative blots and densitometry analysis of Piezo1, Runx2, BMP2, OPN, SM22α and SM-MHC in CASCs; C: Representative blots and densitometry analysis of DRP1^{ser616}, DRP1, FIS1, MFN1 and MFN2 in CASCs. ** $P < 0.01$ vs GM group.

时发生高钙血症和高磷血症时,冠脉钙化的发生也会加速^[12],显示高钙和高磷水平对血管钙化具有协同作用。CASCs位于冠脉血管中层,其功能状态对维持冠脉的舒缩能力与血流稳定性具有重要作用。因此,我们通过给予CASCs长时间的高钙磷刺激以模拟疾病状态下血液中的高钙磷环境。结果显示,成骨表型相关蛋白Runx2等表达升高,而收缩表型相关蛋白SM22α等表达下降,细胞发生明显钙化,这与临床样本所呈现的趋势相一致,但高钙

磷通过何种机制诱导CASCs钙化还有待进一步探究。

作为一种非选择性阳离子通道,Piezo1可通过感知细胞周围的机械力刺激,来维持血管的结构稳定状态与舒缩功能。最新研究表明,高钙磷刺激可增加小鼠主动脉VSMCs中Piezo1和Runx2的表达水平,而抑制Piezo1可阻断钙磷诱导的NLRP3炎性小体激活和细胞焦亡,从而减轻钙化^[13]。肝硬化疾病模型中,Piezo1可被病理性高刚度微环境有效激

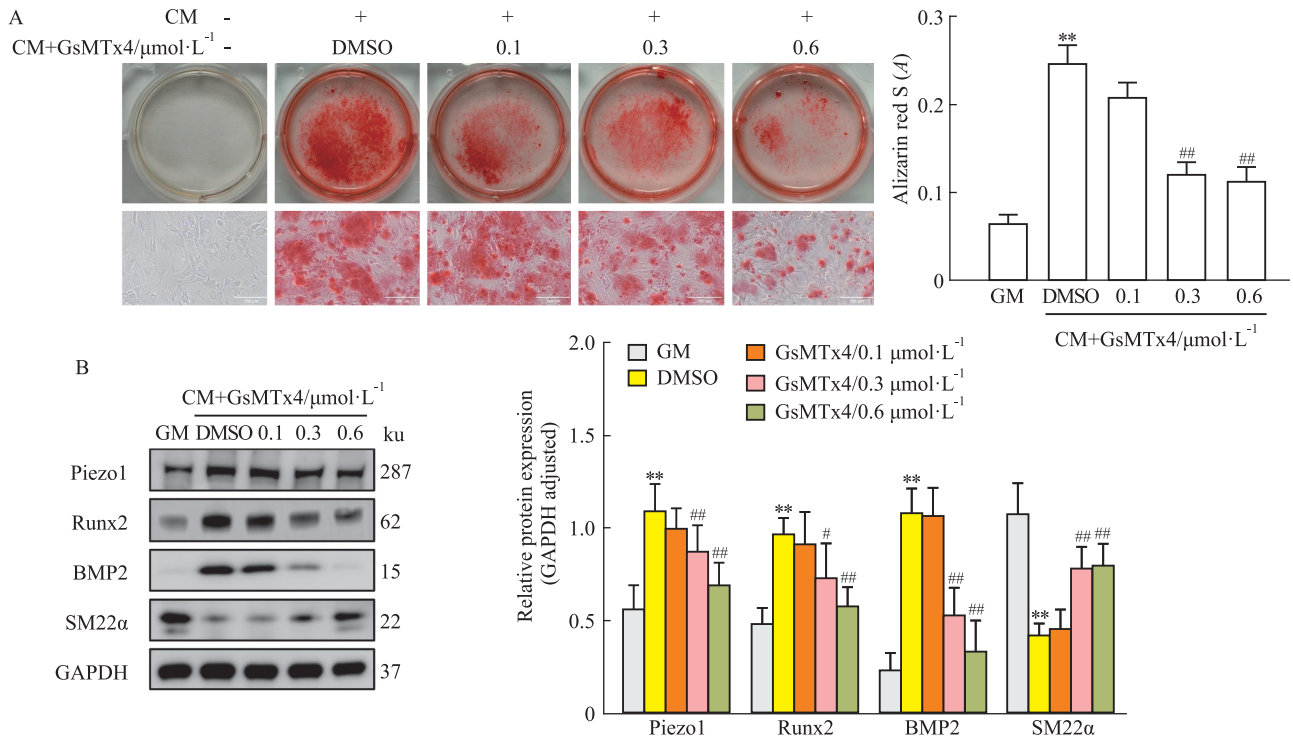


Fig 2 Effects of different concentrations of GsMTx4 on calcification of CASCs under high calcium-phosphorus stimulation ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

A: Representative alizarin red staining and its quantitative graph in CASCs; B: Representative blots and densitometry analysis of Piezo1, Runx2, BMP2 and SM22 α in CASCs. ** $P<0.01$ vs GM group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ vs DMSO group.

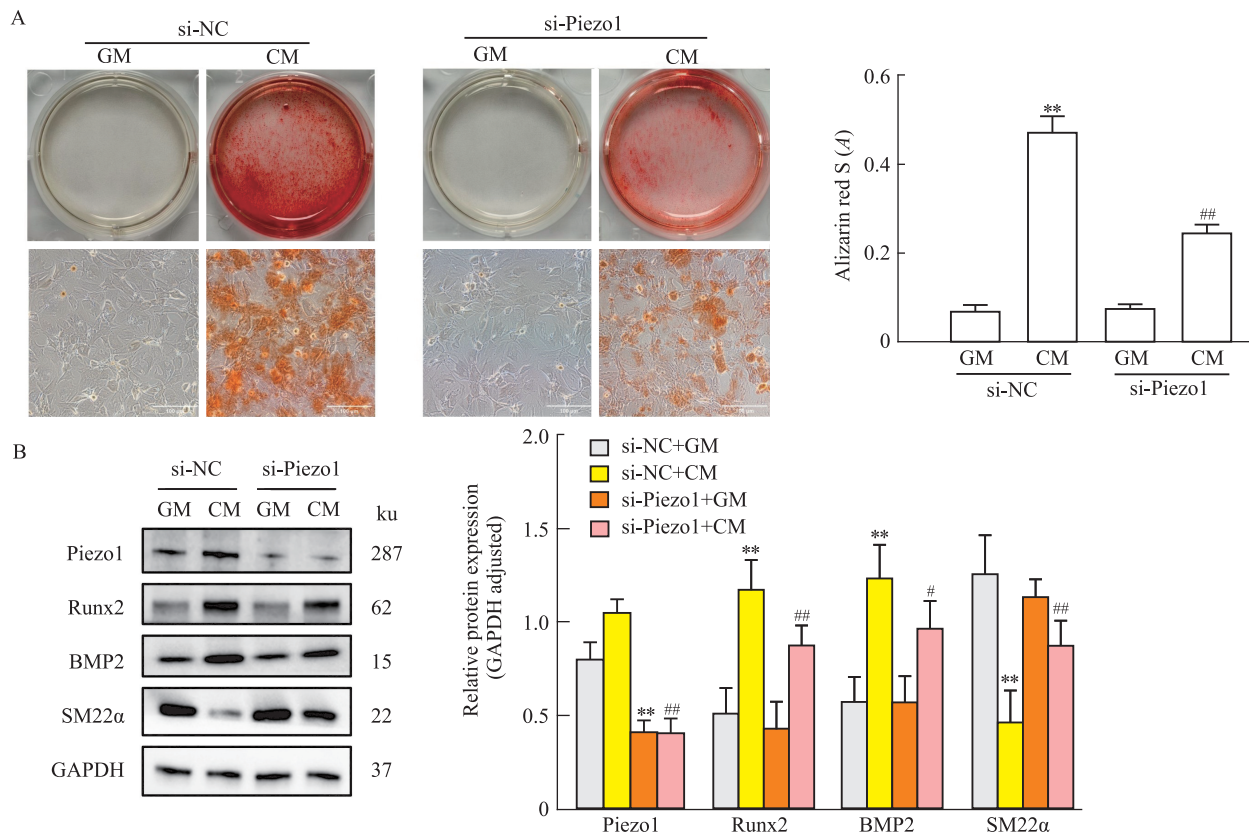


Fig 3 Effect of knockdown Piezo1 on calcification of CASCs under high calcium-phosphorus stimulation ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

A: Representative alizarin red staining and its quantitative graph in CASCs; B: Representative blots and densitometry analysis of Piezo1, Runx2, BMP2 and SM22 α in CASCs. ** $P<0.01$ vs si-NC+GM group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ vs si-NC+CM group.

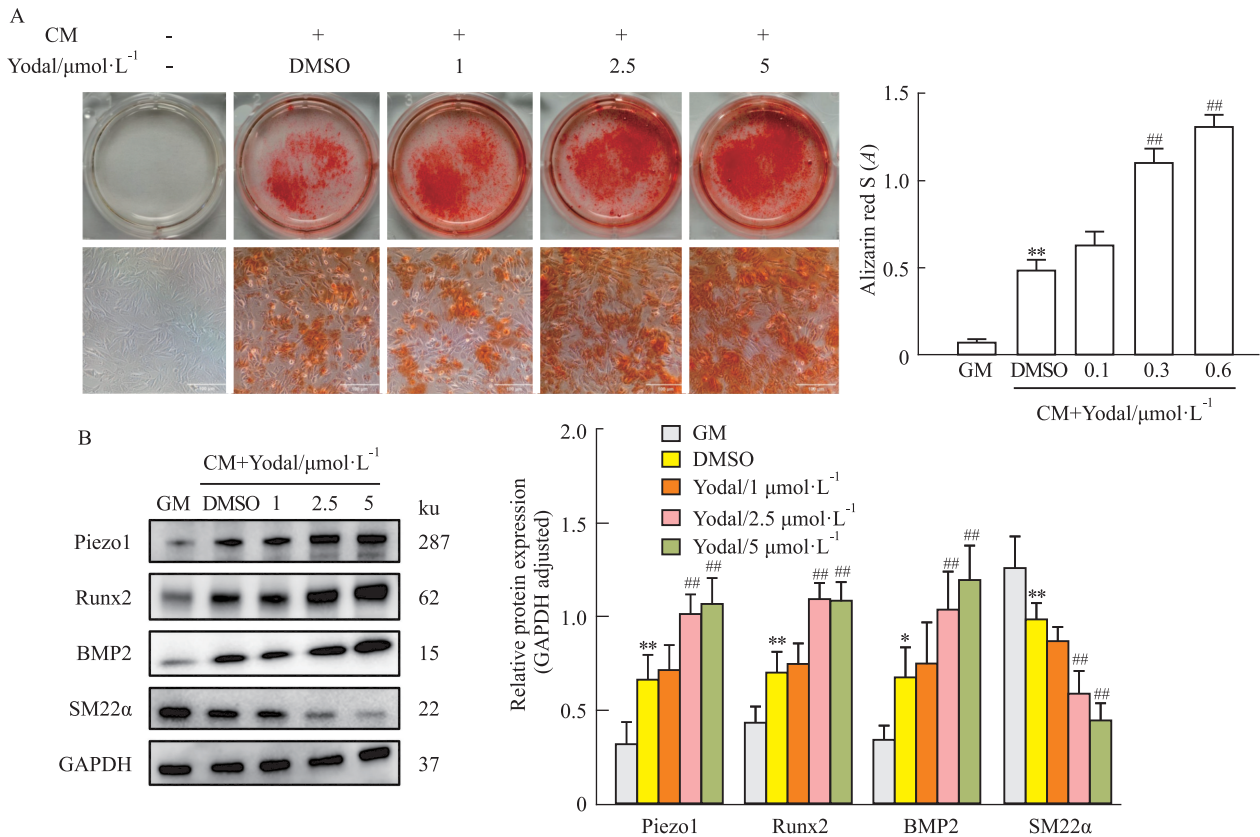


Fig 4 Effects of different concentrations of Yoda1 on calcification of CASCs under high calcium-phosphorus stimulation ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

A: Representative alizarin red staining and its quantitative graph in CASCs; B: Representative blots and densitometry analysis of Piezo1, Runx2, BMP2 and SM22 α in CASCs. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs GM group; ## $P<0.01$ vs DMSO group.

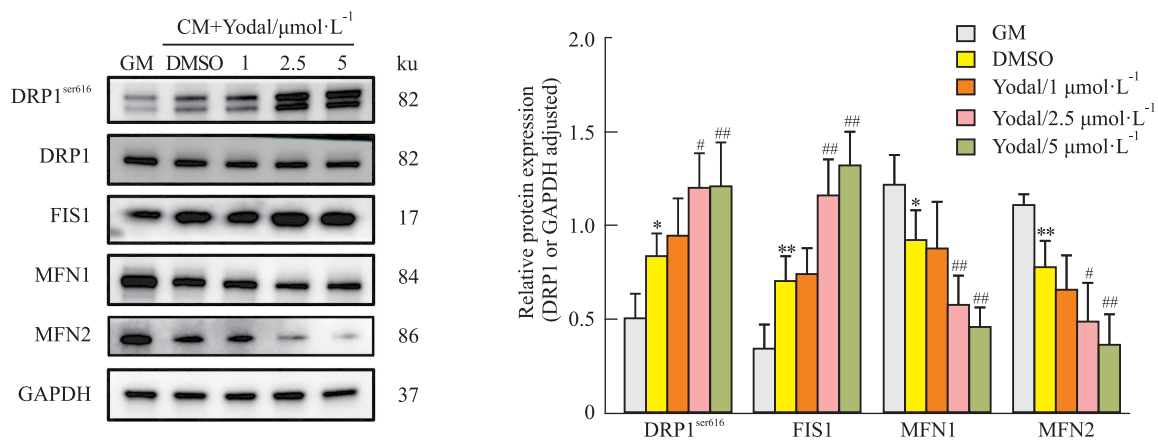


Fig 5 Effects of different concentrations of Yoda1 on expression of mitochondrial dynamics-related proteins in CASCs under high calcium-phosphate conditions ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs GM group; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ vs DMSO group.

活^[5],并改变YAP相关的谷氨酰胺代谢以调节主动脉瓣间质细胞的成骨分化^[6]。本研究中,钙磷诱导的CASCs钙化过程中伴有Piezo1表达上调,提示Piezo1在血管钙化的发生发展过程中具有重要作用。为进一步证实Piezo1与钙磷诱导的CASCs钙化的相关性,我们分别采用Piezo1抑制剂GsMTx4和siRNA-Piezo1进行干预,结果发现,钙磷诱导的CASCs钙化在抑制或敲低Piezo1后有所缓解,成

骨表型相关蛋白表达减少。已有研究表明,Yoda1特异性激活Piezo1可促进主动脉瓣间质细胞的成骨样分化^[6],且这种促进作用可在结合一定机械刺激后增强^[14]。本研究在钙磷刺激的基础上给予Piezo1激动剂Yoda1干预,结果显示钙化进一步加剧,成骨表型相关蛋白表达升高。以上提示高钙磷刺激可通过激活Piezo1通道,进而促进CASCs钙化。

Piezo1介导的 Ca^{2+} 内流可激活细胞内由 Ca^{2+} 介

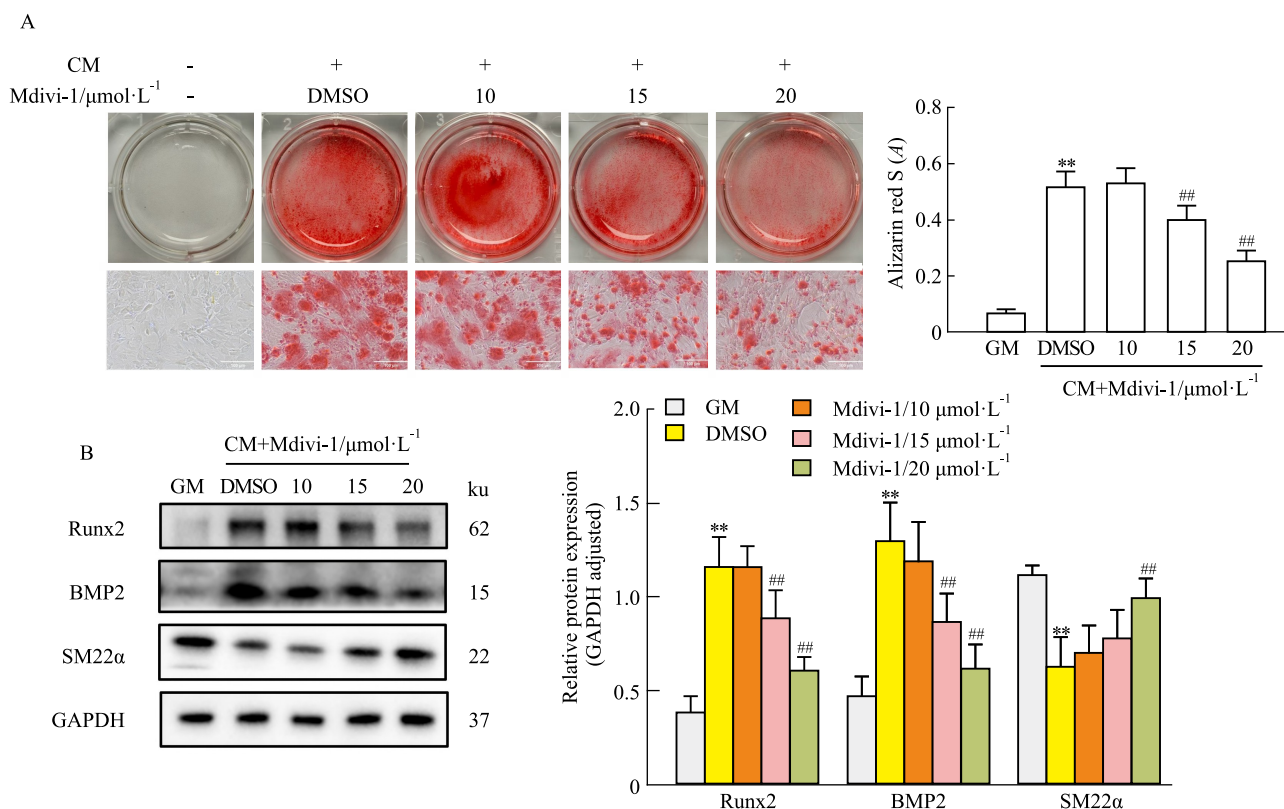


Fig 6 Effects of different concentrations of Mdivi-1 on calcification of CASCs under high calcium-phosphorus stimulation ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

A: Representative alizarin red staining and its quantitative graph in CASCs; B: Representative blots and densitometry analysis of Runx2, BMP2 and SM22 α in CASCs. ** $P<0.01$ vs GM group; ## $P<0.01$ vs DMSO group.

导的信号通路,对细胞的代谢过程与功能产生影响,且 Ca^{2+} 已被确定为激活多种线粒体酶的标志性刺激信号,由坚硬基质激活的Piezo1相关 Ca^{2+} 内流可加速线粒体裂变与细胞凋亡^[15]。此外,线粒体功能障碍在过往研究中也公认是血管钙沉积的主要原因,线粒体结构和呼吸功能受损最终会加速VSMCs的成骨细胞表型转变和钙沉积^[8]。本研究也发现,钙磷刺激下的CASCs钙化伴有DRP1^{Ser616}等线粒体分裂相关蛋白表达增加,这种现象在给予Piezo1激动剂Yoda1干预后进一步加剧,提示Piezo1对CASCs钙化的促进作用可能与线粒体动力学失衡有关。此外,借助线粒体分裂抑制剂Mdivi-1靶向抑制DRP1相关的线粒体分裂,结果显示钙磷诱导的细胞钙化明显减轻,成骨表型相关蛋白表达下降,这表明维持线粒体稳态的疗法可能对改善CKD模型中的血管钙化具有积极作用。

综上,本研究初步证实了Piezo1激活可介导高钙磷刺激下的CASCs钙化,其机制可能与线粒体动力学失衡有关,但仍存在不足。一方面,研究缺乏在组织和动物水平上的进一步验证,单一的细胞模型具有一定局限性;另一方面,本研究未深入监测钙磷诱导下Piezo1激活相关的细胞内游离 Ca^{2+} 浓

度变化,Piezo1与线粒体动力学之间的具体调控机制尚不明。后续将继续在动物和组织水平上验证Piezo1可能调控的信号通路,并探究Piezo1激活的下游靶点,为防治CKD相关的心血管疾病提供新的理论依据。

参考文献:

- [1] Marx-Schütt K, Cherney D Z I, Jankowski J, et al. Cardiovascular disease in chronic kidney disease[J]. *Eur Heart J*, 2025, **46** (23):2148-60.
- [2] Kim J S, Hwang H S. Vascular calcification in chronic kidney disease: distinct features of pathogenesis and clinical implication [J]. *Korean Circ J*, 2021, **51**(12):961-82.
- [3] Durham A L, Speer M Y, Scatena M, et al. Role of smooth muscle cells in vascular calcification: implications in atherosclerosis and arterial stiffness[J]. *Cardiovasc Res*, 2018, **114**(4): 590-600.
- [4] Yao L, Sun Y T, Sun W, et al. High phosphorus level leads to aortic calcification via β -catenin in chronic kidney disease [J]. *Am J Nephrol*, 2015, **41**(1):28-36.
- [5] Wang Y, Wang J, Zhang J, et al. Stiffness sensing via Piezo1 enhances macrophage efferocytosis and promotes the resolution of liver fibrosis[J]. *Sci Adv*, 2024, **10**(23):eadj3289.
- [6] Zhong G, Su S, Li J, et al. Activation of Piezo1 promotes osteogenic differentiation of aortic valve interstitial cell through YAP-

- dependent glutaminolysis[J]. *Sci Adv*, 2023, **9**(22):eadg0478.
- [7] Jiang M, Zhang Y X, Bu W J, et al. Piezo1 channel activation stimulates ATP production through enhancing mitochondrial respiration and glycolysis in vascular endothelial cells [J]. *Br J Pharmacol*, 2023, **180**(14):1862-77.
- [8] Zhu Y, Han X Q, Sun X J, et al. Lactate accelerates vascular calcification through NR4A1-regulated mitochondrial fission and BNIP3-related mitophagy[J]. *Apoptosis*, 2020, **25**(5-6):321-40.
- [9] 李穗敏, 秦晓玥, 曾 鹏, 等. 机械敏感性离子通道Piezo1介导高静水压诱导大鼠冠脉平滑肌细胞表型改变[J]. 中国药理学通报, 2022, **38**(8):1202-8.
- [9] Li S M, Qin X Y, Zeng P, et al. Role of mechanosensitive ion channel Piezo1 in mediating phenotypic changes of rat coronary arterial smooth muscle cells induced by high hydrostatic pressure [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2022, **38**(8):1202-8.
- [10] 蔡泳江, 郑燕湘, 王梓帆, 等. Piezo1通道激活促进大鼠冠脉平滑肌细胞内钙浓度升高的机制研究[J]. 中国病理生理杂志, 2024, **40**(1):9-17.
- [10] Cai Y J, Zheng Y X, Wang Z F, et al. Mechanism of Piezo1 channel activation promoting increase in intracellular calcium concentration of rat coronary smooth muscle cells [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2024, **40**(1):9-17.
- [11] Masumoto A, Sonou T, Ohya M, et al. Calcium overload accelerates phosphate-induced vascular calcification via pit-1, but not the calcium-sensing receptor[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2017, **24**(7):716-24.
- [12] Chertow G M, Burke S K, Raggi P, et al. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients[J]. *Kidney Int*, 2002, **62**(1):245-52.
- [13] Tao J, You D, Feng Z, et al. Mechanosensor Piezo1-mediated smooth muscular cell pyroptosis contributes to vascular calcification[J]. *Int J Mol Med*, 2025, **56**(5):196.
- [14] Lacroix J J, Botello-Smith W M, Luo Y. Probing the gating mechanism of the mechanosensitive channel Piezo1 with the small molecule Yoda1[J]. *Nat Commun*, 2018, **9**(1):2029.
- [15] Ke W, Wang B, Liao Z, et al. Matrix stiffness induces Drp1-mediated mitochondrial fission through Piezo1 mechanotransduction in human intervertebral disc degeneration [J]. *J Transl Med*, 2023, **21**(1):711.

Activation of Piezo1 mediates high calcium-phosphorus-induced calcification of rat coronary artery smooth muscle cells

JIANG Liu-xiang^{1,2}, CHEN Mei-jiang^{1,2}, HU Xu-xiang^{2,3}, YANG Hui², RAO Fang², DENG Chun-yu^{1,2,3}

[1. School of Pharmacy, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Key Laboratory of Clinical Pharmacology, Research Center of Medical Science, Guangdong Provincial People's Hospital

(Guangdong Provincial Academy of Medical Sciences), Southern Medical University, Guangzhou 510080, China;

3. School of Medicine, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China]

Abstract: Aim To investigate the mechanism of Piezo1 activation participating in rat coronary artery smooth muscle cells (CASMCs) calcification under high calcium-phosphate stimulation. **Methods** CASMCs were treated with β -glycerophosphate and CaCl_2 for 10 days to induce calcification, and cells were divided into the general group (GM) and the calcification group (CM). Then, CASMCs were intervened with inhibitor GsMTx4, siRNA-Piezo1 and agonist Yoda1, respectively. The calcification of CASMCs was examined via alizarin red staining, and the expression of proteins associated with phenotype transition and mitochondrial dynamics was examined via Western blot. **Results** Compared with the GM, the CM had more obvious calcification ($P < 0.01$). The expression of Piezo1, Runx2, BMP2 and OPN increased ($P < 0.01$), and the expression of SM22 α and SM-MHC decreased ($P < 0.01$) in the CM. After inter-

vention with GsMTx4 and siRNA-Piezo1, calcification was significantly alleviated ($P < 0.01$), while intervention with Yoda1 enhanced calcification ($P < 0.01$). In addition, when stimulated with high calcium-phosphorus, there was an increase in the expression of DRP1^{Ser616} and FIS1 ($P < 0.01$), and a decrease in the expression of MFN1 and MFN2 ($P < 0.01$). Intervention with Yoda1 could aggravate mitochondrial fission ($P < 0.01$), and intervention with Mdivi-1 could alleviate CASMCs calcification ($P < 0.01$). **Conclusions** Piezo1 activation can mediate the calcification of CASMCs under high calcium and phosphorus stimulation, and its mechanism may be related to the induction of mitochondrial dynamics imbalance.

Key words: Piezo1; calcium channels; mitochondria; coronary artery smooth muscle cells; phenotypic transformation; vascular calcification