

辛伐他汀含药血清对 U937 单核巨噬细胞 MMP-9 及 TIMP-1 表达与分泌的影响

刘金来, 朱强锋, 郝宝顺

(中山大学附属第三医院心内科, 广东 广州 510630)

摘要: 【目的】探讨辛伐他汀含药血清对 U937 单核细胞源巨噬细胞基质金属蛋白酶-9(MMP-9)及金属蛋白酶组织抑制因子-1(TIMP-1)表达与分泌的影响。【方法】15 只新西兰大白兔随机分为正常对照组(NL, n=5)、粥样硬化模型组(AS, n=5)和辛伐他汀含药血清组(SIM, n=5)。通过喂养高脂饲料,建立兔动脉粥样硬化模型后,予辛伐他汀药液灌胃,获得含药血清。分别予不同浓度含药血清(5%、10%、20%)培养 U937 单核细胞源巨噬细胞 24 h,应用逆转录聚合酶链反应检测 MMP-9 mRNA 及 TIMP-1 mRNA 的表达,以及应用酶联免疫吸附试验检测 MMP-9 及 TIMP-1 蛋白的分泌。【结果】与相同浓度 AS 组比较,5%、10%、20% SIM 组 U937 单核细胞源巨噬细胞 MMP-9 mRNA 表达均显著性降低(P 值为 0.005、0.041 和 0.013);5%、10%、20% SIM 组 TIMP-1 mRNA 表达无显著性差异(P 值均 >0.05)。而与相同浓度 AS 组比较,不仅 10%、20% SIM 组 MMP-9 分泌显著性减少(P 值分别为 0.009 和 0.001),而且 10%、20% SIM 组 TIMP-1 分泌均显著性增加(P 值分别为 0.017 和 0.001)。【结论】辛伐他汀可抑制单核巨噬细胞 MMP-9 的表达和分泌,以及促进 TIMP-1 的分泌。

关键词: 辛伐他汀; 巨噬细胞; 基质金属蛋白酶-9; 金属蛋白酶组织抑制因子-1

中图分类号: R972; Q786

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2007)05-0501-05

Effects of Simvastatin Drug-serum on Expression and Secretion of MMP-9 and TIMP-1 in U937 Monocyte-derived Macrophages

LIU Jin-lai, ZHU Qiang-feng, HAO Bao-shun

(Department of Cardiology, The Third Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510630, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the effects of simvastatin drug-serum on the expression and secretion of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in U937 monocyte-derived macrophages. 【Methods】Fifteen New Zealand rabbits were randomized to 3 groups, normal control group (NL, n=5), atherosclerotic model group (AS, n=5) and simvastatin drug-serum group (SIM, n=5). The rabbit atherosclerotic model was developed by high cholesterol feeding. Then they were medicated with simvastatin liquor by gavage to prepare simvastatin drug-serum. U937 monocyte-derived macrophages were incubated with different concentrations (5%, 10%, and 20%) of simvastatin drug-serum for 24 hours. The mRNA expression and protein secretion of MMP-9 and TIMP-1 were detected by RT-PCR and ELISA. 【Results】Compared to same concentration AS group, 5%, 10%, and 20% SIM group significantly inhibited the expression of MMP-9 mRNA in U937 monocyte-derived macrophages (P=0.005, 0.041, and 0.013), and the expression difference of TIMP-1 mRNA were not significant (all P >0.05). Compared to same concentration AS group, 10% and 20% SIM group not only significantly inhibited the secretion of MMP-9 in U937 monocyte-derived macrophages (P=0.009 and 0.001), but also significantly increased the secretion of TIMP-1 (P = 0.017 and 0.001). 【Conclusion】Simvastatin inhibits the expression and secretion of MMP-9 and enhances the secretion of TIMP-1.

Key words: simvastatin; macrophage; matrix metalloproteinase-9; tissue inhibitor of metalloproteinase-1

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2007, 28(5):501-505]

收稿日期: 2007-05-08

基金项目: 广东省自然科学基金(07001556)

作者简介: 刘金来(1958-), 男, 江西于都人, 硕士, 主任医师, E-mail:lj.lai@medmail.com.cn; 朱强锋, 硕士生

冠状动脉粥样硬化斑块由稳定转为不稳定,继而破裂导致血栓形成是急性冠脉综合征最主要的发病机制^[1, 2]。斑块脂质核心大、纤维帽薄、巨噬细胞多是结构性易损斑块^[3]。斑块内单核巨噬细胞聚集,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)增多,金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMP)减少,导致斑块内胶原降解,纤维帽变薄,是斑块稳定性下降的重要原因^[4, 5]。临床研究显示他汀对急性冠脉综合征治疗有效,可能与改善内皮功能、抗炎及稳定斑块等调脂以外的作用有关^[6],但其具体机制尚未完全明确。本研究拟观察辛伐他汀含药血清对 U937 单核细胞源巨噬细胞 MMP-9 及 TIMP-1 表达与分泌的影响,以探讨辛伐他汀稳定斑块、治疗急性冠脉综合征的机制。

1 材料与方 法

1.1 材料准备

雄性纯种新西兰大白兔,体质量 2.0~2.5 kg,购自中山大学动物实验中心。人单核白血病细胞株 U937 细胞,购自中山大学动物实验中心细胞库。辛伐他汀药片,购自默沙东公司,实验时溶解于蒸馏水灌胃。

RPMI 1640 培养基,购自 Gibco 公司。新生牛血清,购自 PAA 公司。佛波酯(PMA),购自 Sigma 公司。Trizol reagent,购自 Invitrogen 公司。逆转录试剂盒,购自 Fermentas 公司。Taq 酶购自 Takara 公司。PCR 反应引物,由上海生工生物技术有限公司合成。人 MMP-9、TIMP-1 细胞上清 ELISA 试剂盒,购自 RapidBio 公司。

1.2 动脉粥样硬化模型建立及含药血清制备

15 只新西兰大白兔随机分为 3 组:正常对照组(normal, NL)、粥样硬化模型组(atherosclerosis group, AS)和辛伐他汀含药血清组(simvastatin group, SIM),每组 5 只。正常对照组予普通饲料喂养 12 周,其余各组予高脂饲料(1%胆固醇、10%猪油、89%普通饲料)喂养 10 周后,每组随机处死 1 只,证实有大动脉粥样硬化形成后,继续高脂喂养至 12 周,其中 SIM 组于第 11 周起给予辛伐他汀 5 mg/kg,每天 1 次,灌胃 14 d。末次给药前禁食 12 h,给药后 1 h 颈动脉无菌取血,分离血清,同组动物血清混匀,0.22 μm 滤膜过滤灭菌,-80 保

存备用。

1.3 细胞培养及干预

U937 细胞培养于含 10%新生牛血清的 RPMI 1640 培养基中,置于含 5% CO₂ 37 培养箱中,待细胞生长至接近融合时传代,2~3 代后用于实验。调整细胞密度为 5 $\times 10^6$ /mL,接种于 6 孔培养板,加入 PMA 使终浓度为 50 ng/mL,培养 48 h 后见悬浮生长的 U937 细胞分化为巨噬细胞,伸出伪足,贴壁生长。弃去旧培养基,PBS 液洗涤后,予不含血清的 RPMI 1640 培养基继续培养 24 h,弃去培养基。分别加入各含 5%、10%、20%正常兔血清,5%、10%、20%粥样硬化兔血清,以及 5%、10%、20%辛伐他汀含药血清的 RPMI 1640 培养基,每组设 3 个平行组,培养 24 h 用于 RT-PCR 实验。

1.4 总 RNA 提取

吸净培养基,每孔加入 1 mL 的 Trizol 液,吹打裂解细胞,收集于无 RNA 酶离心管中,室温静置 5 min。加入 0.2 mL 氯仿,剧烈颠倒 15 s,室温静置 3 min,4 $\times 12\ 000 \times g$ 离心 10 min。转移上层水相液 500 μL 到新的离心管,加入 500 μL 异丙醇,室温静置 10 min,4 $\times 12\ 000 \times g$ 离心 7 min。弃上清,加入 1 mL 无 RNA 酶水配制的 75%酒精,振荡混匀,4 $\times 7\ 500 \times g$ 离心 5 min。重复酒精洗涤沉淀一遍,弃去酒精,室温干燥 5 min,融解 RNA 于 30 μL 无 RNA 酶水中,琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性,紫外分光光度计测定 RNA 含量,计算出 RT-PCR 所需样品量。

1.5 RT-PCR

取总 RNA 1.5 μg ,按逆转录试剂盒进行逆转录合成 cDNA。以 β -actin 为内参照,进行半定量逆转录聚合酶链式反应。聚合酶链式反应:95 $^{\circ}\text{C}$ 5 min 预变性,94 $^{\circ}\text{C}$ 45 s 变性,56 $^{\circ}\text{C}$ 30 s 退火,72 $^{\circ}\text{C}$ 45 s 延伸,共 35 个循环,最后一次循环在 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 7 min。RT-PCR 产物用含 1.5%琼脂糖凝胶电泳,Labwork 成像系统采集图像及分析。合成引物序列,MMP-9-上游引物:5'-AGGACGGCAATGCTGAT-3',下游引物:5'-CGCCACGA GGAACAACT-3',扩增产物为 362 bp;TIMP-1-上游引物:5'-TTCCGACCTCGTCATCAG-3',下游引物:5'-GCATTCTCAGCCAAC-3',扩增产物为 340 bp; β -actin-上游引物:5'-ATCGTGCGTGA CATTAAAGG-3',下游引物:5'-ACAGGACTCC ATGCCAGG-3',扩增产物为 195 bp。

1.6 ELISA 测定

收集细胞上清液, 4℃, 3 000 r/min 离心 10 min, 取上清, -80℃ 保存待检。ELISA 采用双抗体夹心法, 按照说明书步骤进行, 测定细胞上清 MMP-9、TIMP-1 浓度。

1.7 统计学处理

所有数据均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 三组间比较用单因素方差分析, 两组间比较用 LSD-t 检验, 应用 SPSS 10.0 统计分析软件进行统计分析, P < 0.05 为差异有显著性。

2 结 果

2.1 辛伐他汀含药血清对 U937 单核源巨噬细胞 MMP-9 mRNA 表达的影响

与相同浓度 NL 组相比, 5%、10%、20%AS 组 MMP-9 mRNA 表达均显著性增高 (P 值均 < 0.05)。与相同浓度 AS 组相比, 5%、10%、20%SIM 组 MMP-9 mRNA 表达均显著性降低 (P 值分别为 0.005、0.041 和 0.013)。与相同浓度 NL 组相比, 5%、10%SIM 组 MMP-9 mRNA 表达均增高 (P 值分别为 0.034 和 0.029, 表 1、图 1)。

不同浓度间 SIM 组 MMP-9 mRNA 表达差别无统计学意义 (F=1.747, P=0.252)。

表 1 不同浓度辛伐他汀含药血清下 U937 单核源巨噬细胞 MMP-9 mRNA 的表达

Table 1 Effects of different concentration drug-serum of simvastatin on the expression of MMP-9 mRNA in U937 monocyte-derived macrophages ($\bar{x} \pm s$)

	Different concentration		
	5%	10%	20%
NL (n=3)	0.55 ± 0.05	0.63 ± 0.01	0.52 ± 0.04
SIM (n=3)	0.74 ± 0.10 ^{1),3)}	0.81 ± 0.11 ^{1),3)}	0.66 ± 0.08 ^{2),3)}
AS (n=3)	1.03 ± 0.09 ¹⁾	0.97 ± 0.08 ¹⁾	0.90 ± 0.11 ¹⁾
F	24.7	14.8	16.2
P	0.001	0.005	0.004

1)P < 0.05; 2)P > 0.05 vs NL group; 3)P < 0.05 vs AS group

2.2 辛伐他汀含药血清对 U937 单核源巨噬细胞 TIMP-1 mRNA 表达的影响

NL 组、AS 组和 SIM 组不同浓度之间 TIMP-1 mRNA 表达无显著差异 (表 2、图 2)。5%、10%和 20%SIM 组之间 TIMP-1 mRNA 的表达有显著性

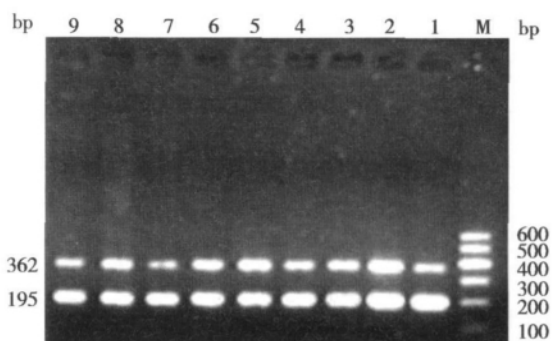


图 1 不同浓度辛伐他汀含药血清对 U937 单核源巨噬细胞 MMP-9 mRNA 表达的影响

Fig.1 Effects of different concentration drug-serum of simvastatin on the expression of MMP-9 mRNA in U937 monocyte-derived macrophages

Lane 1, 4 and 7: 5%, 10% and 20% normal rabbit serum; Lane 2, 5 and 8: 5%, 10% and 20% atherosclerotic rabbit serum; Lane 3, 6 and 9: 5%, 10% and 20% drug-serum of simvastatin; lane M: standard mRNA marker

表 2 不同浓度辛伐他汀含药血清下 U937 单核巨噬细胞 TIMP-1 mRNA 的表达

Table 2 Effects of different concentration drug-serum of simvastatin on the expression of TIMP-1 mRNA in U937 monocyte-derived macrophages ($\bar{x} \pm s$)

	Different concentration		
	5%	10%	20%
NL (n=3)	1.49 ± 0.17	1.53 ± 0.21	1.86 ± 0.09
SIM (n=3)	1.29 ± 0.014	1.64 ± 0.23	1.75 ± 0.17
AS (n=3)	1.40 ± 0.26	1.56 ± 0.15	1.70 ± 0.35
F	0.901	0.285	0.355
P	0.455	0.762	0.715

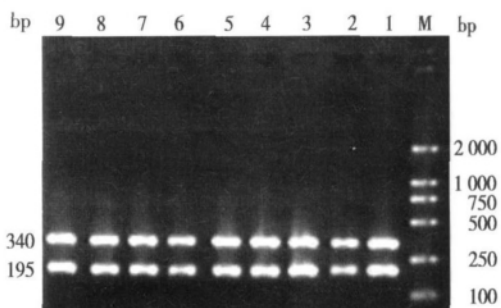


图 2 不同浓度辛伐他汀含药血清对 U937 单核源巨噬细胞 TIMP-1 mRNA 表达的影响

Fig.2 Effects of different concentration drug-serum of simvastatin on the expression of TIMP-1 mRNA in U937 monocyte-derived macrophages

Lane 1, 4 and 7: 5%, 10% and 20% normal rabbit serum; Lane 2, 5 and 8: 5%, 10% and 20% atherosclerotic rabbit serum; Lane 3, 6 and 9: 5%, 10% and 20% drug-serum of simvastatin; lane M: standard mRNA marker

差异 ($F=6.498, P=0.032$)。与 5%SIM 组相比, 10%、20%SIM 组 TIMP-1 mRNA 的表达显著性增加 ($P=0.039, 0.014$), 而 10%与 20%SIM 组之间无显著性差异 ($P=0.446$)。

2.3 辛伐他汀含药血清对 U937 单核源巨噬细胞 MMP-9 蛋白分泌的影响

与同浓度 NL 组比较, 10%、20%AS 组 MMP-9 分泌均显著性增加 ($P=0.007, 0.002$); 5%、10%、20%SIM 组 MMP-9 分泌无显著性差异 ($P=0.824, 0.857, 0.658$)。与同浓度 AS 组比较, 5%SIM 组 MMP-9 分泌无显著性差异 ($P=0.427$), 10%、20%SIM 组 MMP-9 分泌显著性减少 ($P=0.009, 0.001$, 表 3)。

SIM 组不同浓度之间 MMP-9 分泌无显著性差异 ($F=0.985, P=0.427$)。

表 3 不同浓度辛伐他汀含药血清下 U937 单核源巨噬细胞 MMP-9 蛋白的分泌

Table 3 Effects of different concentration drug-serum of simvastatin on the secretion of MMP-9 in U937 monocyte-derived macrophages ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)

	Different concentration		
	5%	10%	20%
NL (n=3)	465 \pm 46	465 \pm 31	452 \pm 40
SIM (n=3)	483 \pm 39 ²⁾	559 \pm 20 ¹⁾	576 \pm 15 ¹⁾
AS (n=3)	459 \pm 7 ^{2), 3)}	470 \pm 34 ^{2), 4)}	440 \pm 26 ^{2), 4)}
F	0.388	9.964	9.964
P	0.694	0.012	0.002

1) $P < 0.05$, 2) $P > 0.05$ vs NL group; 3) $P > 0.05$, 4) $P < 0.05$ vs AS group

表 4 不同浓度辛伐他汀含药血清下 U937 单核巨噬细胞 TIMP-1 蛋白的分泌

Table 4 Effects of different concentration drug-serum of simvastatin on the secretion of TIMP-1 in U937 monocyte-derived macrophages ($\bar{x} \pm s$, ng/mL)

	Different concentration		
	5%	10%	20%
NL (n=3)	57.1 \pm 0.8	55.3 \pm 7.9	58.1 \pm 2.7
SIM (n=3)	49.0 \pm 6.4 ^{1), 3)}	58.1 \pm 2.6 ^{2), 4)}	60.9 \pm 2.3 ^{2), 4)}
AS (n=3)	43.1 \pm 0.4 ¹⁾	45.3 \pm 0.8 ¹⁾	48.7 \pm 2.1 ¹⁾
F	10.669	5.936	21.072
P	0.011	0.038	0.002

1) $P < 0.05$, 2) $P > 0.05$ vs NL group; 3) $P > 0.05$, 4) $P < 0.05$ vs AS group

2.4 辛伐他汀含药血清对 U937 单核源巨噬细胞 TIMP-1 蛋白分泌的影响

与同浓度 NL 组比较, AS 组 TIMP-1 分泌均显著性减少 ($P=0.004, 0.044, 0.003$); 与同浓度 NL 组比较, 5%SIM 组 TIMP-1 分泌减少 ($P=0.038$)。与同浓度 AS 组比较, 10%、20%SIM 组 TIMP-1 分泌均显著性增加 ($P=0.017, 0.001$, 表 4)。

SIM 组不同浓度之间 TIMP-1 分泌有显著性差异 ($F=6.555, P=0.031$)。与 5%SIM 组相比, 10%、20%SIM 组 TIMP-1 分泌均显著性增加 ($P=0.038$ 和 0.014)。而 10%和 20%含药血清之间差异无显著性 ($P=0.456$)。

3 讨论

3.1 MMP/TIMP 与动脉粥样斑块稳定性

急性冠状动脉综合征患者是易损病人^[1], 通常指在冠状动脉粥样硬化的基础上, 斑块破裂, 继而血小板粘附聚集和血栓形成, 引起完全或不完全的血管阻塞, 导致不稳定型心绞痛、非 ST 段抬高心肌梗死、ST 段抬高心肌梗死及猝死。有报道^[7-9]冠脉“罪犯”病变处多是软斑块、以正性重构为主, 常伴血栓形成。斑块内细胞外基质过度降解, 导致斑块中胶原含量减少, 纤维帽变薄, 是影响斑块稳定的重要因素。斑块破裂常发生在富含单核巨噬细胞的斑块肩部, 此处巨噬细胞可分泌大量 MMP, 促进纤维帽降解^[10]。MMP-9, 又称明胶酶 B, 是巨噬细胞分泌的主要基质金属蛋白酶。TIMP 是 MMP 的抑制物, 目前已发现有 4 种: TIMP-1~TIMP-4, 它们均可与激活的 MMP 呈 1:1 结合, 从而使 MMP 失活。用免疫组化方法检测动脉粥样硬化斑块显示 TIMP-1、TIMP-2、TIMP-3 显著性增多, 且多存在于斑块肩部的巨噬细胞、纤维帽和脂核内, 与 MMP 分布部位一致, 部分抑制 MMP 的活性^[11]。急性冠脉综合征患者存在着由炎症反应导致的以 MMP-9 升高为主的 MMP-9/TIMP-1 失衡状态^[2]。因此 MMP 与 TIMP 之间的平衡, 对斑块稳定性的调节具有重要意义。研究还表明^[12], MMP-9 在转录水平上受多种细胞因子、生长因子及活性物质的调节, 而 TIMP 的表达很少受细胞因子和生长因子的影响。本实验采用血清药理学方法观察到, 与同浓度 NL 组相比较, 5%、10%和 20%AS 组 U937 单核源巨噬细胞 MMP-9 表达均显著性增高 (P 值

均 < 0.05)。这可能是由于粥样硬化血清中含有较高的低密度脂蛋白胆固醇,以及大量激活的炎症细胞因子、生长因子以及其他活性物质,促进 MMP-9 的表达。与相同浓度 NL 组比较,AS 组 TIMP-1 mRNA 表达无显著性差异,但 TIMP-1 的分泌均显著性减少($P < 0.05$),提示动脉粥样硬化血清不但可使巨噬细胞 MMP-9 增加,同时还可使 TIMP-1 分泌增加(翻译后水平)而表达(mRNA 水平)并未增加,具体机制尚不清楚。

3.2 他汀药与 MMP/TIMP

PROVE IT(TIMI-22)研究^[13]显示强化他汀治疗可使 ACS 患者 30 d 的临床事件减少,在稳定的患者,使临床事件长期降低,但其具体机制尚未完全明确。Luan 等^[14]报道,西立伐他汀呈剂量依赖性抑制兔平滑肌细胞和巨噬细胞 MMP-1、MMP-2、MMP-3 和 MMP-9,但对 TIMP-1 和 TIMP-2 无影响。本研究显示,与相同浓度 AS 组相比,5%、10% 和 20%SIM 组 MMP-9 mRNA 表达均显著性降低(P 值 < 0.05);10%、20%SIM 组 MMP-9 蛋白的分泌显著性减少(P 值均 < 0.01)。与相同浓度 AS 组相比,SIM 组 TIMP-1 mRNA 表达无显著性差异($P > 0.05$);但 10%、20%SIM 组 TIMP-1 分泌均显著性增加(P 值均 < 0.01)。与 Luan 等^[14]的报道有所不同,本研究显示辛伐他汀不但在一定剂量范围内可抑制巨噬细胞 MMP-9 的转录与分泌,而且增加 TIMP-1 的分泌。这可能是辛伐他汀稳定斑块、减少临床事件的机制之一。他汀具有多效作用(Pleiotropic effects)^[15],除了调脂作用外,还有抗炎、改善内皮功能等作用。辛伐他汀可能通过抑制巨噬细胞 MMP-9 的转录与分泌,同时还增加 TIMP-1 的分泌,从而调节 MMP 与 TIMP 之间的平衡,起到稳定斑块的作用。

参考文献:

- [1] FALK E, SHAH P K, FUSTER V. Coronary plaque disruption [J]. *Circulation*, 1995, 92(3): 657- 671.
- [2] 刘金来, 关良劲, 谢旭晶, 等. 急性冠状动脉综合征患者血浆基质金属蛋白酶及其抑制因子的变化 [J]. *中国病理生理杂志*, 2004, 20(10): 1921- 1922.
- [3] NAGHAVI M, LIBBY P, FALK E, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I [J]. *Circulation*, 2003, 108(14): 1664- 1672.
- [4] CRISBY M, NORDIN-FRIDRIKSSON G, SHSH P K, et al. Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques: implications for plaque stabilization [J]. *Circulation*, 2001, 103(7): 926- 933.
- [5] 刘金来, 关良劲, 朱承明, 等. 急性冠状动脉综合征患者颈动脉斑块与血浆基质金属蛋白酶的相关性 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2005, 13(6): 763- 766.
- [6] 林玲, 欧少雯, 吕红, 等. 阿托伐他汀对老年冠心病患者血小板 α 颗粒膜蛋白的 MP-140 的影响 [J]. *热带医学杂志*, 2007, 7(1): 55- 56.
- [7] KOTANI J, MINTZ G S, CASTAGNA M T, et al. Intravascular ultrasound analysis of infarct-related and non-infarct-related arteries in patients who presented with an acute myocardial infarction [J]. *Circulation*, 2003, 23(107): 2889- 2893.
- [8] VARNAVA A M, MILLS P G, DAVIES M J, et al. Relationship between coronary artery remodeling and plaque vulnerability [J]. *Circulation*, 2002, 105(8): 939- 943.
- [9] 王庆, 凌文华. C 反应蛋白与动脉粥样硬化不稳定斑块 [J]. *中山大学学报: 医学科学版*, 2004, 25(3S): 384- 386.
- [10] LENDON C L, DAVIES M, BORN G, et al. Atherosclerotic plaque caps are locally weakened when macrophage density is increased [J]. *Atherosclerosis*, 1991, 87(1): 87- 90.
- [11] FABUNMI R P, SUKHOVA G K, SUGIYAMA S, et al. Expression of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 in human atheroma and regulation in lesion-associated cells: a potential protective mechanism in plaque stability [J]. *Circ Res*, 1998, 83(3): 270- 278.
- [12] VAN DEN STEEN P E, DUBOIS B, NELISSEN I, et al. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) [J]. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2002, 37(6): 375- 536.
- [13] RAY K K, CANNON C P, MCCABE C H, et al, PROVE IT - TIMI 22 Investigators. Early and late benefits of high-dose atorvastatin in patients with acute coronary syndromes: results from the PROVE IT - TIMI 22 trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46(8): 1405- 1410.
- [14] LUAN Z, CHASE A J, NEWBY A C. Statins inhibit secretion of metalloproteinases-1, -2, -3, and -9 from vascular smooth muscle cells and macrophages [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(5): 769 - 775.
- [15] AKDIN F, VAN LEUVEN S I, KASTELEIN J J, et al. Pleiotropic effects of statins: stabilization of the vulnerable atherosclerotic plaque? [J]. *Curr Pharm Des*, 2007, 13(10): 1003- 1012.

(编辑 刘清海)