

· 基础研究 ·

有氧运动对载脂蛋白 E 基因缺陷小鼠 颈动脉粥样硬化斑块易损性的影响

张栩 邵世修 李铁山 张勇 毕建忠

【摘要】目的 探讨有氧运动对载脂蛋白 E (ApoE) 基因缺陷小鼠颈动脉粥样硬化斑块易损性及斑块内基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)、基质金属蛋白酶-14 (MMP-14) 水平变化的影响。**方法** 将 80 只雄性载脂蛋白 E 基因缺陷小鼠随机分为有氧运动组 ($n=40$) 及对照组 ($n=40$), 2 组小鼠均通过颈动脉套管术构建颈动脉粥样硬化动物模型。造模成功 4 周后, 有氧运动组开始进行电动跑台有氧运动训练, 每日 1 次, 每次 1 h, 持续训练 8 周, 对照组限制活动 8 周。造模成功 12 周后, 测量 2 组小鼠的血脂水平, 评价颈动脉粥样硬化斑块形态结构, 测量斑块面积和纤维帽厚度, 对颈动脉斑块进行脂质含量、胶原含量检测, 计算斑块易损指数。并通过免疫组织化学方法检测斑块内 MMP-9、MMP-14 水平。逆转录-多聚酶链反应 (RT-PCR) 检测 MMP-9、MMP-14 mRNA 的表达量。免疫印记 Western blot 检测斑块内 MMP-9、MMP-14 蛋白表达。**结果** 经血液学检测, 2 组间血脂水平差异无统计学意义 ($P<0.05$); 经病理学检测 2 组间的斑块面积差异无统计学意义 ($P<0.05$), 而有氧运动组纤维帽厚度、帽/核比值、胶原含量均明显增加, 与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。另, 2 组间的斑块破裂率和斑块易损指数差异亦有统计学意义 ($P<0.05$)。有氧运动组斑块内 MMP-9 和 MMP-14 的表达量均显著低于对照组 ($P<0.05$); 有氧运动组斑块内 MMP-9 mRNA 和 MMP-14 mRNA 的表达量亦显著低于对照组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 有氧运动组颈动脉斑块组织中 MMP-9 蛋白和 MMP-14 蛋白的表达量显著低于对照组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。**结论** 有氧运动降低 ApoE 基因缺陷小鼠颈动脉粥样硬化斑块内 MMP-9、MMP-14 表达, 通过增强斑块稳定性, 减弱易损性, 起到抗动脉粥样硬化作用。

【关键词】 动脉粥样硬化; 有氧运动; 载脂蛋白 E 基因缺陷; MMP-9; MMP-14

The effects of aerobic exercise on atherosclerotic plaques in apolipoprotein E gene deficient mice ZHANG Xu*, SHAO Shi-xiu, LI Tie-shan, ZHANG Yong, BI Jian-zhong. *Department of Neurology, The Second Hospital, Shandong University, Jinan 250033, China

Corresponding author: BI Jian-zhong, Email: bjz@sdu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the influence of aerobic exercise on the vulnerability of atherosclerotic plaques and to observe the concentration of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and matrix metalloproteinase-14 (MMP-14) in carotid atherosclerotic plaques in apolipoprotein E (ApoE) gene deficient mice. **Methods** Eighty male, ApoE gene deficient mice were divided into two equal groups: an aerobic exercise group and a limited action control group. Carotid atherosclerotic lesions were induced by perivascular constrictive collars placed on the right common carotid artery. Blood lipid levels in the exercise group were measured after 8 weeks of treadmill running and also in the control group. The morphological characteristics of carotid atherosclerotic plaques were observed in the two groups. Plaque area and fibrous cap thickness were measured. Lipid and collagen positive areas were quantified and the ratios correlated with the intimal areas were calculated. Plaque rupture rate and vulnerable index were calculated. Immunostaining was used to detect MMP-9 and MMP-14 expression in the atherosclerotic plaques. The mRNA levels of MMP-9 and MMP-14 mRNA in the fresh carotid plaques were quantified using a real-time reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). Western blotting was performed for examining MMP-9 and MMP-14 protein expression in the fresh carotid plaques. **Results** No significant difference in serum lipid profiles or plaque area was found between the exercise and control groups. Compared with the control group, mean fibrous cap thickness, cap/core ratio and collagen content were all significantly higher in the exercise group, and lipid content was significantly lower. Plaque rupture rate and the vulnerable index were both significantly lower in the exercise group. Immunostain-

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2011.08.001

作者单位: 250033 济南, 山东大学第二医院神经内科 (张栩、毕建忠); 青岛大学医学院附属医院神经内科 (张栩、张勇), 康复医学科 (李铁山), 泌尿外科 (邵世修)

通信作者: 毕建忠, Email: bjz@sdu.edu.cn

ing showed that MMP-9 and MMP-14 expression were lower in the exercise group compared with the control group. The mRNA expression of MMP-9 and MMP-14 was also significantly lower. **Conclusions** Aerobic exercise can decrease the expression of MMP-9 and MMP-14 in carotid atherosclerotic plaques in ApoE gene deficient mice. Aerobic exercise may play a role in forestalling atherosclerosis by increasing the stability of plaque and decreasing plaque vulnerability.

【Key words】 Atherosclerosis; Aerobic exercise; Apolipoprotein E gene; Metalloproteinase-9; Metalloproteinase-14

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是一种多因素疾病,转基因动物载脂蛋白 E (apoprotein E, ApoE) 基因缺陷小鼠是研究 AS 的较好的动物模型。动脉粥样斑块的发生与发展始终存在着基质的重建。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一组具有共同生化特性的可降解细胞外基质的酶,它们参与血管基质的再造和重排,但异常的分泌和激活是粥样斑块不稳定和进展的原因之一^[1]。各种 MMP 均可以调节胶原的代谢,使胶原分解代谢增加,从而使胶原减少,增加动脉粥样硬化斑块的易损性。MMP-9, MMP-14 是 MMP 家族的重要成员,均可促进动脉粥样硬化斑块的破裂,促进动脉粥样硬化疾病的发生、发展^[2]。已有研究证实,有氧运动可通过调节脂代谢,减少斑块面积,提高机体抗氧化能力等机制减轻动脉粥样硬化损伤^[3]。有氧运动对动脉粥样硬化斑块易损性的影响鲜见报道。

本研究以 ApoE 基因缺陷小鼠为动脉粥样硬化模型,观察有氧运动对小鼠颈动脉粥样硬化斑块的作用,及运动对 MMP-9, MMP-14 的影响,探讨 MMPs 在运动抗动脉粥样硬化中的作用。

材料与方法

一、实验动物及分组

10 周龄雄性 ApoE 基因缺陷小鼠 80 只,体重 22.6 ~ 26.3 g (购自北京大学医学部)。按照随机数字表法随机分有氧运动组($n = 40$)和对照组($n = 40$)。所有动物均全程高脂饲料喂养(0.25% 胆固醇 + 15% 脂肪),每只小鼠 10 g/d。

二、颈动脉粥样硬化模型的建立

颈动脉套管术:参照文献[4],0.08% 戊巴比妥钠(40 mg/kg 体重)腹腔注射麻醉小鼠。颈部正中皮肤切开,剥离颈部的腺体和肌肉,暴露右侧颈总动脉,小心分离与之伴行的迷走神经,固定右侧颈总动脉,将长度为 3 mm、内径为 0.3 mm 的硅胶管(小鼠颈动脉血管直径为 0.5 mm)套置于血管的外周,固定套管(图 1)。缝合皮肤切口,将小鼠放回笼中。

三、运动训练

造模成功 4 周后,有氧运动组开始进行电动跑台有氧运动训练,以坡度为 0%,15 m/min 的速度在国产

电动鼠类跑台上进行跑步训练,每天运动 30 min,每周运动 6 d,周日休息,共运动 8 周。对照组采取限制应激刺激,将小鼠放在能够限制其活动的笼子中,每次 1 h,每日 1 次,持续 8 周。



图 1 右颈总动脉套管手术示意图

四、血液学检测

于处死小鼠前,给予麻醉后从腹主动脉采血。部分血液留取血清,部分血液加枸橼酸钠抗凝,留取血浆。测定血清总胆固醇(total cholesterol, TC),高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、甘油三酯(triglyceride TG),低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)水平。

五、病理学检查

套管后 12 周末应用过量戊巴比妥钠注射使小鼠安乐死后进行斑块组织病理学检查。PBS 液灌洗血管,继之灌注 4% 的多聚甲醛固定液^[5]。分离右侧颈总动脉,取材后 OCT 包埋,制作 6 μ m 冰冻切片,标本每间隔 50 μ m 即连续切片 20 张,分别做苏木素-伊红(hematoxylineosin staining, HE)染色、苦味酸天狼猩红染色、油红 O 染色。其它相邻切片做免疫组化染色,检测斑块内的平滑肌细胞、巨噬细胞、MMP-9、MMP-14 的分布和含量。

六、组织病理学测量

选择斑块面积最大的切片做形态学分析。使用图像分析软件测量,每个切片均测量 3 次,取其平均值计算,所有测量均在相同的条件下进行。计算参数包括:斑块部位血管面积、斑块面积、纤维帽厚度、脂质核面积、帽/核比值、胶原含量(天狼猩红阳性染

色面积以及阳性染色面积占斑块面积的比例)、脂质含量(油红 O 阳性染色面积以及阳性染色面积占斑块面积的比例)、巨噬细胞含量(免疫组化阳性染色面积以及阳性染色面积占斑块面积的比例)、斑块的破裂率(斑块破裂定义为纤维帽断裂、或斑块破裂伴血栓形成、或斑块内埋藏有纤维帽^[6]);易损指数[易损指数=(巨噬细胞含量+脂质含量)/(胶原含量+平滑肌细胞含量)^[5],各变量分别以阳性染色面积占总斑块面积的百分比表示];MMP-9 和 MMP-14 的含量(MMP-9 和 MMP-14 免疫组化阳性染色面积以及阳性染色面积占斑块面积的比例)。

七、逆转录-多聚酶链反应分析

逆转录-多聚酶链反应(reverse transfer polymerase chain reaction, RT-PCR)分析方法:取小鼠的新鲜颈动脉斑块标本,每 3 个颈动脉标本混合后,按每 50 ~ 100 mg 组织加入 1 ml Trizol 的比例提取总 RNA,紫外分光光度仪测定 RNA 的纯度和含量。依照 TaKaRa RNA PCR 试剂盒说明书进行逆转录反应。引物序列:MMP-9 上游引物:GACAGGCACTTCACCGGCTA,下游引物:CCCGACACACAGTAAGCATTCTG,引物长度 130 bp。MMP-14 上游引物:ACGTGCAGCAGCATTGGA,下游引物:CAACAGGAGCAAGTGTGCCTTC,引物长度 140 bp。以 β -actin 为内参照:上游引物序列:CACTGTGCCCATCTACGA,下游引物序列:GTAGTCTGTCAGTCCCG,引物长度 82 bp。反应条件:变性 95℃, 10 s;按不同退火温度退火 30 s,延伸 72℃, 30 s,扩增 40 ~ 50 个循环。将 10 μ l PCR 产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳后,应用凝胶成像分析系统对电泳条带进行半定量分析。

八、免疫印迹检测

免疫印迹(Western blot)检测:取 3 根右侧颈总动脉的动脉粥样硬化斑块,用纤维手术剪刀将斑块剪成碎片,提取细胞的总蛋白。将含有 50 μ g 微粒蛋白的

每个标本和蛋白 Marker 分别加入不同的泳道。18 V/cm,在 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶上电泳移动,再转染到硝酸纤维素膜上。用 1:500 MMP-9, 1:500 MMP-14, 1:3000 β -actin 抗体在 TBS-T 溶液中 4℃ 孵育过夜。继之,用 HRP 结合的二抗室温孵育 1 h,滴加显色液显色。使用南京大学 JD801 型图像分析软件系统对印迹处的条带密度进行分析。检测动脉粥样硬化斑块中 MMP-9、MMP-14 蛋白的表达。

九、统计学分析

所有统计学资料均采用 SPSS 13.0 软件分析。所有数据均采用($\bar{x} \pm s$)表示,计量资料分析采用 t 检验,计数资料分析采用 χ^2 检验, $n < 40$ 时,采用 Fisher's Exact Test。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、实验动物一般情况

有氧运动组和对照组在实验开始的体重比较差异无统计学意义($P > 0.05$),实验末期(处死取材前)的体重比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

二、血液学检测

表 1 可见 2 组血脂水平比较:有氧运动组和对照组的血清 TC、LDL-C、HDL-C 和 TG 浓度差异无统计学意义($P > 0.05$)。

三、斑块组织病理学检测

经病理学检测 2 组间的斑块面积差异无统计学意义($P < 0.05$),而有氧运动组纤维帽厚度、帽/核比值、胶原含量均明显增加,与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。另,2 组间的斑块破裂率和斑块易损指数差异亦有统计学意义($P < 0.05$)。详见图 2 和表 2。

四、免疫组化染色

如图 3, 4 所示,有氧运动组斑块内 MMP-9, MMP-14 的表达量低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),具体数据见表 2。

表 1 2 组小鼠的体重、血脂比较($\bar{x} \pm s$)

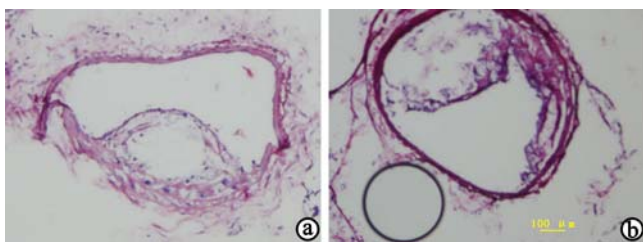
组 别	只数	实验初体重 (g)	实验末体重 (g)	TC (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	TG (mmol/L)
有氧运动组	40	26.71 $\pm$ 1.29	28.43 $\pm$ 1.52	15.13 $\pm$ 2.86	5.01 $\pm$ 1.02	1.42 $\pm$ 0.24	0.39 $\pm$ 0.11
对照组	40	26.34 $\pm$ 1.21 ^a	28.91 $\pm$ 1.71 ^a	16.37 $\pm$ 3.21 ^a	5.13 $\pm$ 1.17 ^a	1.44 $\pm$ 0.26 ^a	0.41 $\pm$ 0.12

注:与有氧运动组比较,^a $P > 0.05$

表 2 2 组小鼠颈动脉粥样硬化斑块形态特征的比较($\bar{x} \pm s$)

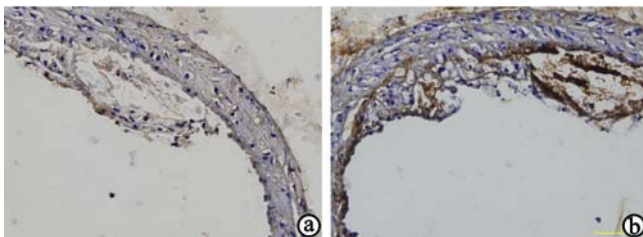
组 别	只数	斑块面积 (μm^2)	纤维帽厚度 (μm)	帽/核比值	胶原含量 (%)	脂质含量 (%)	易损指数 (%)	MMP-9 (%)	MMP-14 (%)
有氧运动组	40	82 000 $\pm$ 11 000	7.25 $\pm$ 1.35	0.09 $\pm$ 0.02	16.34 $\pm$ 4.72	12.25 $\pm$ 2.01	0.81 $\pm$ 0.43	4.29 $\pm$ 0.31	6.89 $\pm$ 0.57
对照组	40	71 000 $\pm$ 8000	6.73 $\pm$ 0.96 ^a	0.06 $\pm$ 0.02 ^a	11.23 $\pm$ 3.57 ^a	21.23 $\pm$ 3.56 ^a	2.83 $\pm$ 1.02 ^a	9.78 $\pm$ 0.98 ^a	12.32 $\pm$ 1.44 ^a

注:与有氧运动组比较,^a $P < 0.05$



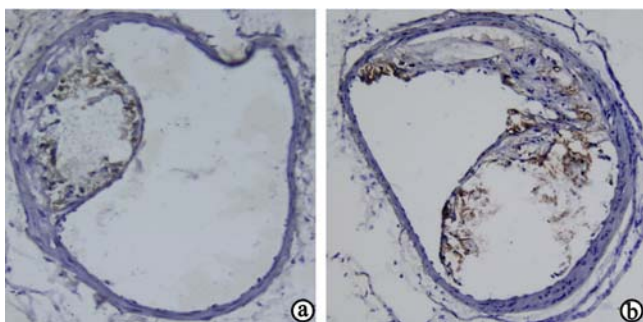
注:a 为有氧运动组颈动脉,纤维帽厚,帽/核比值大,b 为对照组颈动脉,纤维帽薄,帽/核比值小

图 2 ApoE 基因缺陷小鼠的颈动脉血管(HE 染色, ×100)



注:a 为有氧运动组颈动脉,斑块染色的比例低,b 为对照组颈动脉,斑块染色的比例高

图 3 ApoE 基因缺陷小鼠的颈动脉斑块内 MMP-9 测定(免疫组化染色, ×200)

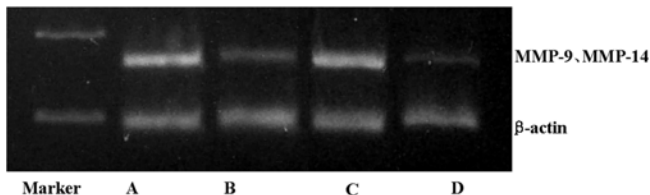


注:a 为有氧运动组颈动脉,斑块染色的比例低,b 为对照组颈动脉,斑块染色的比例高

图 4 ApoE 基因缺陷小鼠的颈动脉斑块内 MMP-14 测定(免疫组化染色, ×100)

五、RT-PCR 检测

有氧运动组颈动脉斑块组织中 MMP-9 mRNA 和 MMP-14 mRNA 的表达量较对照组降低更为显著,2 组间差异有统计学意义($P < 0.05$),详见图 5。



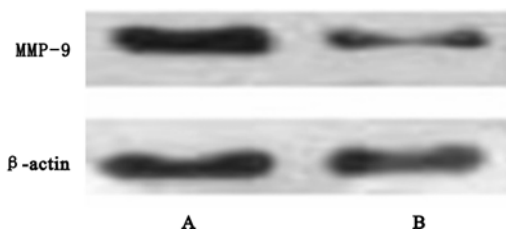
注:A 为对照组 MMP-9 表达,B 为有氧运动组 MMP-9 表达,C 为对照组 MMP-14 表达,D 为有氧运动组 MMP-14 表达

图 5 2 组小鼠 MMP-9 mRNA 和 MMP-14 mRNA 的表达

六、免疫印迹检测

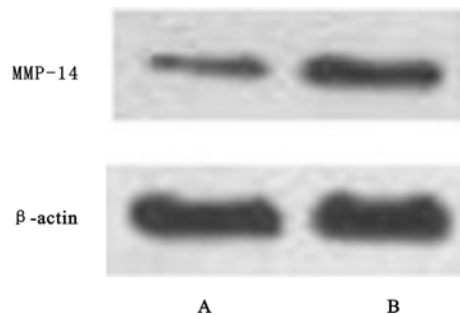
有氧运动组颈动脉斑块组织中 MMP-9 蛋白和 MMP-14 蛋白的表达量较对照组降低更为显著,2 组间

差异均有统计学意义,详见图 6,7。



注:A 为对照组,B 为有氧运动组

图 6 2 组小鼠颈动脉斑块组织中 MMP-9 蛋白的表达



注:A 为有氧运动组,B 为对照组

图 7 2 组小鼠颈动脉斑块组织中 MMP-14 蛋白的表达

讨 论

动脉粥样硬化斑块由纤维帽和脂质核心组成,其稳定性主要由纤维帽的厚度决定,易损斑块(vulnerable plaque)是引起血栓并发症的高危斑块,其特征为:纤维帽薄,具有大的脂核,伴有胶原含量减少,平滑肌细胞密度降低^[7]。脑梗死患者,约 80% 颈动脉发现粥样硬化斑块,其中易损斑块破裂脱落发生的动脉至动脉的栓塞和易损斑块基础上发生的原位血栓形成,是该部分脑梗死最重要的病理机制。易损斑块很难通过影像学判断,即使血管影像看到动脉管腔某些部分完全正常,但也会存在隐性动脉粥样硬化。这种隐藏着的斑块,不但血管影像无法发现,且在触发血栓形成之前无症状,不造成缺血^[8]。MMPs 是降解细胞外基质,导致纤维帽不稳定或破裂的重要酶系^[9]。MMP-9 是由中性粒细胞、巨噬细胞和平滑肌细胞分泌,在粥样斑块易损区过度表达的一种 MMP,对血管壁的基底膜和细胞外成分具有清除作用,使纤维帽崩溃影响斑块的稳定性^[10]。Loftus 等^[11]分析了斑块内 MMP-9 表达水平对临床和不稳定斑块的作用,发现斑块内 MMP-9 含量水平与微栓子阳性率有显著性正相关。MMP-9 是粥样硬化斑块不稳定的主要因素。MMP-14 是 MMPs 家族中的一种特殊蛋白酶,参与多种细胞外及细胞膜相关的物质的蛋白水解作用,与血管疾病的病理生理过程密切相关^[12]。近年来的研究表明,多种致动脉粥样硬化因子可以促进 MMP-14 的表达,而 MMP-14 缺乏小鼠斑块内的胶原

含量明显高于野生型对照^[13]。这些研究表明,MMP-9、MMP-14 是影响斑块稳定性的重要因素,MMP-9、MMP-14 的异常表达是斑块易损性的重要标志。

本实验应用的 ApoE 基因缺陷小鼠是在 AS 研究领域中应用最多的基因工程动物,给予与人类相似的高脂饮食喂养,可在短时间内形成广泛的动脉粥样硬化病变^[14]。硅胶套管制作的小鼠颈动脉粥样硬化斑块模型,具有动脉狭窄区域较为固定且需时间较短,能较好重现人的颈动脉狭窄的病理过程,而且不间断动脉血管内皮细胞层^[4]。我们研究发现,本实验对照组 AS 斑块病变显著,动脉内膜脂质沉积广泛,斑块着色深染,聚集成大的红色团块状。血管内膜损伤严重,失去原有的波浪状,纤维板分裂成多层状、出现间隙,断裂严重。有氧运动组动脉内斑块着色浅染,脂质分布表浅散在,血管内膜损伤较轻,弹力纤维排列致密,偶有断层。提示有氧运动明显抑制了 ApoE 基因缺陷小鼠的 AS 斑块进展。进行有氧运动的 ApoE 基因缺陷小鼠,纤维帽厚度明显增加($P < 0.05$),帽核比增加($P < 0.05$),动脉粥样硬化斑块内胶原含量增加($P < 0.05$),脂质含量降低($P < 0.05$),斑块易损指数显著降低($P < 0.05$)。进一步提示,有氧运动可降低动脉粥样斑块的易损性,增加斑块的稳定性。我们的实验未得出有氧运动组与对照组动脉粥样硬化斑块面积的差异有统计学意义,可能与小鼠的有氧运动强度及运动时间不同有关,8 周的有氧运动可能不足以造成动脉粥样硬化斑块面积的差别。有氧运动组与对照组小鼠体重及血脂水平比较差异不明显($P > 0.05$),提示有氧运动可能通过独立于血脂调节作用以外的其他抗动脉粥样硬化机制,起到抗动脉粥样硬化,延缓 AS 斑块的发展。

应用免疫组织化学方法测定斑块内 MMP-9、MMP-14 的表达,有氧运动组低于对照组。实时荧光定量 RT-PCR 检测,有氧运动组颈动脉斑块组织中 MMP-9、MMP-14 mRNA 的表达量降低。Western blot 检测,有氧运动组颈动脉斑块组织中 MMP-9、MMP-14 蛋白的表达量降低。由于 MMP-9、MMP-14 在动脉粥样硬化斑块破裂及易损方面起重要作用,因此有氧运动下调 MMP-9、MMP-14 表达,能有效增强动脉粥样硬化稳定性,降低斑块易损性,最终阻止并改善动脉粥样硬化的进一步发展,减少因斑块不稳定所诱发的急性血栓形成或栓塞事件的发生。推测有氧运动降低 ApoE 基因缺陷小鼠颈动脉粥样硬化斑块内 MMP-9、MMP-14 表达可能是有氧运动抗动脉粥样硬化的重要机制之一。

以往的研究表明有氧运动通过增强机体抗氧化能力,提高生物活性形式的一氧化氮浓度及超氧化物歧化酶活性,改善血管内皮功能,延缓动脉粥样硬化斑块的发生发展^[15]。动脉粥样硬化是一个多因素的病理

进程,我们的研究从增强斑块稳定性,降低易损性的角度,进一步证实了有氧运动抗动脉粥样硬化作用。有氧运动不仅能预防动脉粥样硬化的发生,更重要的是可治疗已发生的动脉粥样硬化。这对临床工作者预防及治疗心脑血管动脉硬化性血管病提出了新的思路,具有重要的临床前景。

参 考 文 献

- [1] 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. *Circulation*, 2003, 108: 1664-1672.
- [2] Gostiljac D, Dorđević PB, Djurić DM, et al. The importance of defining serum MMP-9 concentration in diabetics as an early marker of the rupture of atheromatous plaque in acute coronary syndrome. *Acta Physiol Hung*, 2011, 98: 91-97.
- [3] 袁凌燕, 陆爱云. 运动对动脉粥样硬化小鼠细胞间黏附分子-1 和血管细胞黏附分子-1 表达的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2010, 32: 81-85.
- [4] von der Thüsen JH, van Berkel TJ, Biessen EA. Induction of rapid atherogenesis by perivascular carotid collar placement in apolipoprotein E-deficient and low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Circulation*, 2001, 103: 1164-1170.
- [5] Shiomi M, Ito T, Hirouchi Y, et al. Fibromuscular cap composition is important for the stability of established atherosclerotic plaques in mature WHHL rabbits treated with statins. *Atherosclerosis*, 2001, 157: 75-84.
- [6] Johnson J, Carson K, Williams H, et al. Plaque rupture after short periods of fat feeding in the apolipoprotein E-knockout mouse: model characterization and effects of pravastatin treatment. *Circulation*, 2005, 111: 1422-1430.
- [7] Shah PK. Mechanisms of plaque vulnerability and rupture. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 41: 15S-22S.
- [8] Clementi F, Di Luozzo M, Mango R, et al. Regression and shift in composition of coronary atherosclerotic plaques by pioglitazone: insight from an intravascular ultrasound analysis. *J Cardiovasc Med*, 2009, 10: 231-237.
- [9] Alvarado J, del Castillo JR, Thomas LE. Modulation of membrane type 1 matrix metalloproteinase by LPS and gamma interferon bound to extracellular matrix in intestinal crypt cells. *Cytokine*, 2008, 41: 155-161.
- [10] Rodríguez JA, Orbe J, Páramo JA. Metalloproteinases, vascular remodeling and atherothrombotic syndromes. *Rev Esp Cardiol*, 2007, 60: 959-967.
- [11] Loftus IM, Naylor AR, Goodall S, et al. Increased matrix metalloproteinase-9 activity in unstable carotid plaques. A potential role in acute plaque disruption. *Stroke*, 2000, 31: 40-47.
- [12] Ray BK, Shakya A, Turk JR, et al. Induction of the MMP-14 gene in macrophages of the atherosclerotic plaque: role of SAF-1 in the induction process. *Circ Res*, 2004, 95: 1082-1090.
- [13] Schneider F, Sukhova GK, Aikawa M, et al. Matrix-metalloproteinase-14 deficiency in bone-marrow-derived cells promotes collagen accumulation in mouse atherosclerotic plaques. *Circulation*, 2008, 117: 931-939.
- [14] Plump AS, Smith JD, Hayek T, et al. Severe hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells. *Cell*, 1992, 71: 343-353.
- [15] Shimada K, Kishimoto C, Okabe TA, et al. Exercise training reduces severity of atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice via nitric oxid. *Circ J*, 2007, 71: 1147-1151.

(修回日期: 2011-06-24)

(本文编辑: 阮仕衡)