

辛伐他汀对兔动脉粥样硬化基质金属蛋白酶-9 的影响

Influence of simvastatin on expression of metalloproteinase-9 in atherosclerotic rabbits

吴建中¹, 孙承波²

(1. 总参管理保障部北极寺门诊部, 北京 100083; 2. 第二军医大学长征医院心内科, 上海 200003)

[关键词] 辛伐他汀; 动脉硬化; 基质金属蛋白酶-9

[中图分类号] R 541.4 [文献标识码] B [文章编号] 0258-879X(2007)02-0224-02

基质金属蛋白酶与动脉粥样硬化的发生、发展、血管壁重构、斑块破裂、血栓形成等过程密切相关, 基质金属蛋白酶表达的增高与动脉粥样硬化的严重程度相关^[1]。抑制动脉粥样硬化时基质金属蛋白酶的表达对防治动脉粥样硬化以及稳定斑块有重要作用^[2]。本研究观察辛伐他汀对兔动脉粥样硬化模型主动脉基质金属蛋白酶-9 表达的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 5 个月龄雄性新西兰大白兔(体质量 1.8 kg 左右)40 只(北京实验动物中心), 胆固醇(北京化学试剂公司), 辛伐他汀(北京万生药业有限公司), 基质金属蛋白酶-9 免疫印迹试剂盒、基质金属蛋白酶-9 原位杂交探针及检测试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司, 硝酸纤维素膜(Sigma 公司)。

1.2 动脉粥样硬化模型的建立和标本的检测 40 只新西兰大白兔普通饲料适应性喂养 1 周, 按体质量编号后随机分为 3 组。正常对照组 10 只, 给予普通饲料喂养 4 个月; 动脉粥样硬化组以及辛伐他汀治疗组各 15 只, 给予高脂饲料喂养 2 个月后, 普通饲料继续喂养 2 个月, 但辛伐他汀治疗组每天给辛伐他汀 2.5 mg/(kg·d)灌胃。实验过程中, 正常对照组死亡 3 只, 动脉粥样硬化组以及辛伐他汀治疗组各死亡 4 只。4 个月后处死动物。截取主动脉弓置于 4% 多聚甲醛中固定, 一部分石蜡包埋, H-E 染色后光镜观察, 选择动脉粥样硬化组以及治疗组主动脉弓有动脉粥样硬化斑块部位冰冻切片, 行原位杂交; 余下的主动脉置于液氮中保存, 用于免疫印迹。免疫印迹分析按照试剂盒的说明进行。原位杂交以及杂交后检测按照试剂盒说明书进行, 不加探针组作为阴性对照。显微镜下观察染色在斑块内的分布情况。

1.3 统计学处理 采用 *t* 检验和方差分析进行组间比较。

2 结果

2.1 各组新西兰大白兔血脂水平的比较 动脉粥样硬化组血清胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白(LDL)(单位均为 mmol/L)在 2 个月时与辛伐他汀治疗组相比无差异(23.4±1.3 vs 23.8±1.4, 13.5±2.1 vs 13.7±2.3, 5.7±0.6 vs 5.9±0.7), 但均显著高于正常对照组(1.32±0.13, 1.28±0.18, 0.71±0.31; *P*<0.01)。4 个月时, 正常对照组血脂与 2 个月时相比无明显变化, 动脉粥样硬化组较 2 个月时血脂下降明显(TC: 17.9±0.32, TG: 8.06±0.54, LDL:

3.92±0.81; *P*<0.05), 辛伐他汀治疗组血脂较 2 个月时显著下降(TC: 10.65±0.66, TG: 4.76±0.43, LDL: 2.54±0.36; *P*<0.01); 动脉粥样硬化组、辛伐他汀治疗组的血脂水平显著高于正常对照组(TC: 1.58±0.18, TG: 1.52±0.13, LDL: 0.72±0.27; *P*<0.01), 辛伐他汀治疗组血脂水平低于动脉粥样硬化组(*P*<0.05)。

2.2 各组兔主动脉病理形态的改变 光镜下正常对照组血管壁层次清楚, 管腔内皮光滑, 无明显增生, 平滑肌排列整齐、规则; 动脉粥样硬化组血管壁结构紊乱, 内膜增生, 可见斑块形成, 血管中膜不规则增生, 平滑肌细胞排列紊乱, 可见钙化以及坏死, 斑块中可见大量炎性细胞浸润; 辛伐他汀治疗组兔主动脉内膜增生较正常对照组明显, 但比动脉粥样硬化组轻, 血管结构较清晰, 中膜平滑肌纤维较正常对照组稍显紊乱, 中膜基层钙化以及坏死较动脉粥样硬化组显著减少, 斑块内炎症细胞较动脉粥样硬化组明显减少。

2.3 兔主动脉基质金属蛋白酶表达的比较 动脉粥样硬化组主动脉中基质金属蛋白酶-9 的表达显著升高[(8 819±416) pixel intensity·mm²/μg], 与对照组[(5 960±159) pixel intensity·mm²/μg]比较有统计学差异; 辛伐他汀治疗组基质金属蛋白酶-9 的表达[(5 689±439) pixel intensity·mm²/μg]较动脉粥样硬化组显著下降, 差异有统计学意义(*P*<0.01)。

2.4 基质金属蛋白酶-9 原位杂交检测 正常对照组大白兔主动脉组织细胞仅见少量染色; 动脉粥样硬化组主动脉组织中见到较多的散在的棕色颗粒, 斑块中的棕色颗粒尤为明显, 而且斑块中的棕色颗粒分布以斑块肩部以及纤维帽最为明显; 辛伐他汀治疗组的主动脉组织中亦可见散在分布的棕色颗粒, 但较动脉粥样硬化组少见, 棕色颗粒的分布也是斑块肩部以及纤维帽处为多, 而且辛伐他汀治疗组斑块的纤维帽较动脉粥样硬化组增厚。

3 讨论

基质金属蛋白酶是一组具有类似生物学作用, 可以降解细胞外基质的锌依赖性内源性蛋白酶家族, 对组织重构、细胞外基质的动态平衡起到重要作用^[3]。基质金属蛋白酶-9 的作用底物为血管基底膜的主要成分: 胶原 IV、胶原 V、弹力蛋白、明胶等。在动脉粥样硬化血管中, 基质金属蛋白酶的

[作者简介] 吴建中, 硕士, 主治医师。

表达增加、活性增强,研究发现基质金属蛋白酶在斑块的肩部以及纤维帽处表达增加尤为显著^[4-5]。

本研究发现动脉粥样硬化组的主动脉组织基质金属蛋白酶-9的表达较正常对照组显著升高,而辛伐他汀能够显著抑制这种增高。病理学也发现辛伐他汀明显改善病变部位的平滑肌的排列、减少坏死、减轻内膜增生等,从而抑制动脉粥样硬化的形成。

[参考文献]

- [1] Corti R, Hutter R, Badimon J J, et al. Evolving concepts in the triad of atherosclerosis, inflammation and thrombosis[J]. J Thromb Thrombolysis, 2004, 17: 35-44.
- [2] Stein E A, Davidson M H, Dobs A S, et al. Efficacy and safety of simvastatin 80 mg/day in hypercholesterolemic patients.

The Expanded Dose Simvastatin U. S. Study Group[J]. Am J Cardiol, 1998, 82: 311-316.

- [3] Herron G S, Banda M J, Clark E J, et al. Secretion of metalloproteinases by stimulated capillary endothelial cells. II. Expression of collagenase and stromelysin activities regulated by endogenous inhibitors[J]. J Biol Chem, 1986, 261: 2814-2818.
- [4] Michel J B. Contrasting outcomes of atheroma evolution: intimal accumulation *versus* medial destruction[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21: 1389-1392.
- [5] Bellosta S, Via D, Canavesi M, et al. HMG-CoA reductase inhibitors reduce MMP-9 secretion by macrophages[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1998, 18: 1671-1678.

[收稿日期] 2006-08-10

[修回日期] 2006-12-22

[本文编辑] 孙岩