

•实验研究•

[文章编号] 1007-3949(2003)11-02-0126-05

氧化型低密度脂蛋白对人血单核细胞 基质金属蛋白酶表达及活性的影响

王长谦, 汤大鸣, 谢秀兰, 徐依敏, 丁弘毅, 王利民, 王彬尧, 黄定九

(上海第二医科大学附属仁济医院心内科, 上海市 200001)

[关键词] 分子生物学; 单核细胞基质金属蛋白酶的表达; 逆转录聚合酶链反应; 低密度脂蛋白, 氧化修饰; 动脉粥样硬化; 基质金属蛋白酶; 免疫印迹

[摘要] 探讨氧化修饰低密度脂蛋白对人单核细胞源巨噬细胞基质金属蛋白酶的表达及其活性的影响。采用体外培养人单核细胞源巨噬细胞, 分别应用逆转录聚合酶链式反应和蛋白印迹检测基质金属蛋白酶2和基质金属蛋白酶9基因和蛋白表达, 酶谱法检测基质金属蛋白酶活性。结果发现, 不同浓度(10、20、40 mg/L)氧化修饰低密度脂蛋白对人单核细胞源巨噬细胞基质金属蛋白酶2和基质金属蛋白酶9基因表达的影响均明显高于相应浓度低密度脂蛋白组; 基质金属蛋白酶2和基质金属蛋白酶9蛋白表达也明显高于相应浓度低密度脂蛋白组; 基质金属蛋白酶2和基质金属蛋白酶9的活性明显高于相应剂量低密度脂蛋白组, 且随剂量增加而增高。提示氧化修饰低密度脂蛋白可刺激人单核细胞源巨噬细胞基质金属蛋白酶2、基质金属蛋白酶9基因及蛋白的表达, 增强其活性, 因而有可能促进动脉粥样硬化斑块内基质降解, 形成易损斑块, 而易损斑块破裂可引起急性冠状动脉事件。

[中图分类号] Q786

[文献标识码] A

Effect of Oxidized Low Density Lipoprotein on the Expression and Activity of Matrix Metalloproteinases in Human Monocytes

WANG Chang-Qian, TANG Da-Ming, XIE Xi-Lan, XU Yi-Min, DING Hong-Yi, WANG Li-Min, WANG Bin-Yao, and HUANG Ding-Jiu

(Department of Cardiology, Renji Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200001, China)

[KEY WORDS] Low Density Lipoprotein, Oxidized; Atherosclerosis; Matrix Metalloproteinase; Western Blot; Vulnerable Plaque; Human Monocyte derived Macrophages

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effect of oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) on the expression and activity of matrix metalloproteinases (MMPs). **Methods** Human monocyte derived macrophages were cultured in vitro and the gene and protein expressions of MMPs (MMP-2 and MMP-9) were detected by reverse transcription polymerase chain reaction and Western blot respectively. MMPs' activity was detected by Zymography. **Results** The results revealed that 10, 20 and 40 g/L of ox-LDL could stimulate the gene expression of MMP-2 and MMP-9 in comparison with the same concentrations of LDL. The expressions of MMP-2 protein and MMP-9 protein were higher in ox-LDL groups than in LDL groups. The activity of MMP-2 and MMP-9 was also significantly higher in different concentrations of ox-LDL groups than the same concentrations of LDL groups. The activity of MMP-2 and MMP-9 was in a dose dependent manner in ox-LDL group. **Conclusions** The results indicate that ox-LDL can obviously increase the expressions and activities of MMP-2 and MMP-9 in human monocyte derived macrophages. So ox-LDL could enhance the breakdown of matrix in lesions of atherosclerosis which could probably induce vulnerable plaque. Rupture of the vulnerable plaque is the major cause of acute coronary events.

动脉粥样硬化斑块内单核/巨噬细胞聚集, 合成基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)增多和/或内源性基质金属蛋白酶抑制物减少, 是造成

动脉粥样硬化斑块纤维帽厚度和抗损伤强度降低、粥样斑块稳定性下降的主要机制之一。而氧化修饰低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)在动脉粥样硬化形成和发展过程中起着十分关键的作用, 可以引起单核细胞趋化、巨噬细胞源泡沫细胞形成^[1,2]和细胞毒性产生, 并且 ox-LDL 可以调节粥样斑块内血管内皮细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞等多种细胞和生长因子的合成^[1-4]。但是 ox-LDL 对单核细胞 MMP 表达和活性的影响知之甚少, 因此, 本研究拟观察 ox-LDL 对培养的人血单核细胞 MMP

[收稿日期] 2002-10-15 [修回日期] 2003-03-10

[基金项目] 上海市青年科技启明星计划(98QB14014)资助

[作者简介] 王长谦, 男, 1964 年出生, 山东省汶上县人, 博士, 副教授, 心内科副主任, 硕士研究生导师; 研究方向: 动脉粥样硬化、冠心病基础与临床; 为本文通讯作者, 联系电话: 021-63260930-2109, E-mail: wcqian@hotmail.com。汤大鸣, 男, 1972 年出生, 山东省烟台市人, 博士研究生; 研究方向: 动脉粥样硬化、冠心病基础研究。谢秀兰, 女, 1954 年出生, 上海市人, 学士, 副研究员; 研究方向: 心血管病基础研究。

(MMP-2 和 MMP-9) 表达和活性的影响, 以期探讨 ox-LDL 与动脉粥样硬化斑块稳定性的关系。

1 材料与方法

1.1 人外周血单核细胞的分离与培养

人血为上海市血液中心提供的健康、正常血脂水平志愿者的外周静脉新鲜血, 应用 Ficoll 淋巴细胞分离液和 Percoll 密度梯度分离剂两次离心, 分离提取单核细胞, 将细胞悬浮于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中, 置恒温温箱 37℃ 孵育培养 6 d。单核细胞源巨噬细胞 (human monocyte-derived macrophages, HMDM) 用特异性的荧光素标记的 CD14 细胞表面抗体在激光扫描共聚焦成像系统下验证。培养第 6 天后, 换用含 0.5% 牛血清白蛋白的无血清培养基, 并同时加入不同浓度的低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 和 ox-LDL (均为 10、20、40 mg/L), 培养 24 h, 收集培养细胞上清液和 HMDM。

1.2 细胞培养上清液中总蛋白测定

采用双缩脲比色法测定细胞培养上清液中的微量蛋白含量 (g/L)。试剂盒为 Boehringer Mannheim TP-kit, 仪器为日立 7150、717 自动分析仪。

1.3 氧化修饰低密度脂蛋白的制备和鉴定^[1]

低密度脂蛋白购自北京协和友谊医学生物科技开发公司。氧化前, LDL 需经过 PT-10 过滤柱用无乙二胺四乙酸的 PBS 缓冲液过滤冲洗后, 用 RPMI 1640 培养液稀释使其终浓度为 500 mg/L, 加入纯化的 $\text{CuSO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 结晶体使其终浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$, 置于 37℃ 恒温水浴箱内持续氧化 24 h 后备用。ox-LDL 氧化水平测定用硫巴比妥酸反应物质, 即 ox-LDL 氧化过程中的副产物丙二醛含量来表示。每 100 μL ox-LDL 分别加入 1% 硫巴比妥酸 0.5 mL 和 25% 三氯醋酸 0.5 mL, 将混合物在 95℃ 孵育 45 min 后冷却, 1 000 g 离心 30 min, 用紫外分光光度计在 532 nm 波长处测定其吸光度。根据计算公式: 丙二醛含量 (mmol/L) = (测定管吸光度 - 测定空白管吸光度) / (标准管吸光度 - 标准空白管吸光度) $\times 10 \text{ mmol/L} \times$ 样本测试前稀释倍数, 即每 mL LDL 相当于多少 nmol 丙二醛。

1.4 总 RNA 抽提与逆转录聚合酶链反应

每 10^7 个 HMDM 用 1 mL TRIZOL RNA 抽提液抽提总 RNA。根据文献报道^[5,6], 合成 MMP-2、MMP-9 等寡核苷酸引物, 人 β -激动蛋白做内参照。逆转录聚合酶链反应条件: 94℃ 30 s (变性) \rightarrow 60℃ 1 min (退火) \rightarrow 72℃ 3 min (延伸), 进行 35 个循环。反应完成后用含 5 mg/L 溴化乙啶的 1.5% 琼脂糖凝胶电泳

(反应样本体积为 20 μL), 应用图像处理系统 (美国产 UVI 紫外凝胶成像系统) 测定平均吸光度。

引物序列:

人 MMP-2 寡核苷酸引物: 扩增产物长度为 385 bp; 有意义序列引物: 5' gagtactgcaagttccctt 3' (644~663 bp), 反意义序列引物: 5' tgttgcccaggaaagtgag 3' (1 009~1 028 bp)。人 MMP-9 寡核苷酸引物: 扩增产物长度为 401 bp; 有意义序列引物: 5' aatctcaccgacaggcagct 3' (131~150 bp), 反意义序列引物: 5' ccaactggatgacgatgc 3' (512~531 bp)。人 β -激动蛋白寡核苷酸引物: 扩增产物长度为 195 bp; 有意义序列引物: 5' atcgtgcgtgacattaagg 3' (632~650 bp), 反意义序列引物: 5' acaggactccatgccagg 3' (808~826 bp)。

1.5 基质金属蛋白酶蛋白表达检测

采用 Western blot 方法。首先用十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺琼脂糖凝胶电泳分离样品蛋白质, 转移缓冲液在 200 mA、100 V 条件下电泳 6 h 后转膜, 记录标准蛋白的位置, 洗膜, 封闭液封闭, 分别加入鼠抗人 MMP-2 或 MMP-9 单抗 (Neo Markers 公司), 4℃ 轻轻振荡约 2 h, 漂洗, 加含二抗的印记缓冲液杂交, 再漂洗, 发光底物缓冲液冲洗, 显色液显色, 暗房中感光, 拍照并行灰度扫描测定。

1.6 基质金属蛋白酶活性测定

采用酶谱法。十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺琼脂糖凝胶电泳, 在配制 12% 分离胶过程中, 加入一定量白明胶使其浓度为 1 g/L。细胞上清液与载样缓冲液以 3:1 比例混合后, 取 20 μL 不经煮沸直接加在 4% 浓缩胶的加样孔内, 4℃、200 V 电压下电泳。电泳后将胶洗涤, 孵育缓冲液内 37℃ 孵育过夜, Coomassie Blue R-250 染色, 脱色液中脱色, 照相, 对降解带密度、面积进行扫描测定, 干胶保留。每次电泳均同时加同一对照细胞上清液标本作为内参照, 以降解条带密度面积的乘积表示 MMPs 活性。

1.7 统计分析处理

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 在计算机上用 SPSS 统计学软件包进行统计分析。P < 0.05 为统计学有显著性差异。

2 结果

2.1 低密度脂蛋白氧化及鉴定

低密度脂蛋白氧化程度用硫巴比妥酸反应物质法测定丙二醛含量。未氧化修饰的 LDL, 其中含丙二醛为 $5.27 \pm 2.17 \text{ nmol/mg LDL}$, 经 CuSO_4 氧化修饰后的 LDL 即 ox-LDL, 其中含丙二醛为 12.33 ± 2.70

nmol/mg LDL ($P < 0.05$)。

2.2 细胞培养上清液中总蛋白的含量测定

采用双缩脲比色法测定细胞培养上清液中(第7天)的微量蛋白含量(g/L)。经统计学方差分析,对照组及各处理组间细胞培养上清液中总蛋白含量没有显著性差异(批内无差异, $P = 0.377$, $P > 0.05$),并且每次实验之间总蛋白含量也无显著性差异(批间无差异, $n = 4$, $P = 0.7871$, $P > 0.05$)。

2.3 氧化修饰低密度脂蛋白对人单核细胞源巨噬细胞基质金属蛋白酶2和基质金属蛋白酶9 mRNA和蛋白表达的影响

与空白对照组比较,不同浓度 LDL(10、20、40 mg/L)组 MMP-2 mRNA 表达无明显差异;不同浓度 ox-LDL(10、20、40 mg/L)组 MMP-2 mRNA 的表达则显著高于空白对照组和相应浓度 LDL 组(表1, Table 1; 图1, Figure 1)。

表1. 氧化修饰低密度脂蛋白对人单核细胞基质金属蛋白酶2 mRNA 表达的影响

Table 1. Effect of ox-LDL on the expression of matrix metalloproteinase-2 mRNA in human monocyte-derived macrophages

	0	10 mg/L	20 mg/L	40 mg/L
LDL	0.79 ± 0.11	0.79 ± 0.08	0.78 ± 0.10	0.80 ± 0.12
ox-LDL	0.79 ± 0.11	0.87 ± 0.08 ^{ab}	0.87 ± 0.06 ^{ab}	0.90 ± 0.08 ^{ab}

a: $P < 0.05$, $n = 4$, 与空白对照组比较; b: $P < 0.05$, $n = 4$, 与相应浓度 LDL 组比较。LDL: 低密度脂蛋白(low density lipoprotein); ox-LDL: 氧化修饰低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein)。

不同浓度 ox-LDL(10、20、40 mg/L)组 MMP-9 mRNA 的表达也明显高于空白对照组,与相应浓度 LDL(10、20、40 mg/L)组比较也明显增高(表2, Table2; 图2, Figure 2),而 LDL 组与空白对照组比较无差异。

表2. 氧化修饰低密度脂蛋白对人单核细胞基质金属蛋白酶9 mRNA 表达的影响

Table 2. Effect of ox-LDL on the expression of matrix metalloproteinase-9 mRNA in human monocyte-derived macrophages

	0	10 mg/L	20 mg/L	40 mg/L
LDL	0.80 ± 0.07	0.82 ± 0.10	0.80 ± 0.08	0.83 ± 0.08
ox-LDL	0.80 ± 0.07	0.85 ± 0.02 ^{ab}	0.93 ± 0.03 ^{ab}	0.93 ± 0.01 ^{ab}

a: $P < 0.05$, $n = 4$, 与空白对照组比较; b: $P < 0.05$, $n = 4$, 与相应浓度 LDL 组比较。LDL: 低密度脂蛋白(low density lipoprotein); ox-LDL: 氧化修饰低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein)。

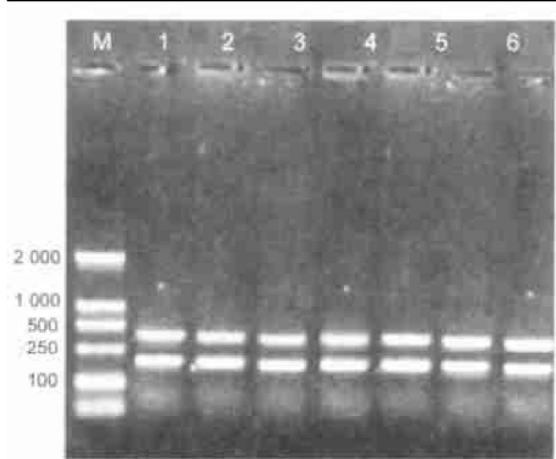


图1. 氧化修饰低密度脂蛋白对人单核细胞基质金属蛋白酶2 mRNA 表达的影响 泳道1为对照组;泳道2~4为LDL(10、20、40 mg/L);泳道5~7为ox-LDL(10、20、40 mg/L) ($n = 4$)。385 bp 为MMP-2, 195 bp 为 β -激动蛋白。

Figure 1. Effect of ox-LDL on the expression of matrix metalloproteinase-2 mRNA in human monocyte-derived macrophages

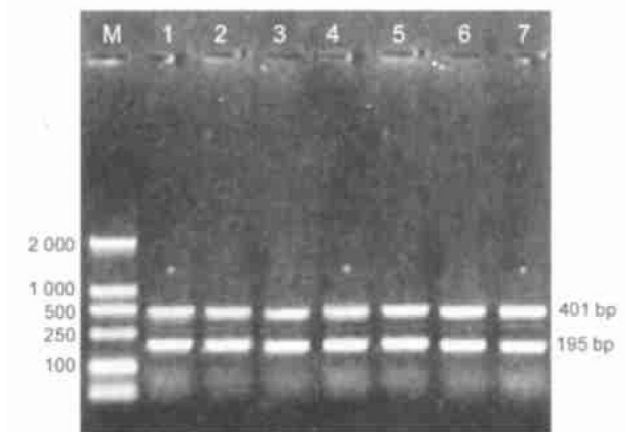


图2. 氧化修饰低密度脂蛋白对人单核细胞基质金属蛋白酶9 mRNA 表达的影响 泳道1为对照组;泳道2~4为LDL(10、20、40 mg/L);泳道5~7为ox-LDL(10、20、40 mg/L) ($n = 4$)。401 bp 为MMP-9, 195 bp 为 β -激动蛋白。

Figure 2. Effect of ox-LDL on the expression of matrix metalloproteinase-9 mRNA in human monocyte-derived macrophages

Western blot 蛋白印迹结果也表明,不同浓度 ox-LDL(10、20、40 mg/L)对 HMDM MMP-2、MMP-9 蛋白表达的影响明显高于对照组和相应浓度 LDL(10、20、40 mg/L)组(图3, Figure 3; 图4, Figure 4),LDL 组与空白对照组比较无差异。

2.4 氧化修饰低密度脂蛋白对人单核细胞源巨噬细胞基质金属蛋白酶2和基质金属蛋白酶9活性的影响

不同浓度 LDL(10、20、40 mg/L)和对照组之间 HMDM MMP-2 和 MMP-9 活性均无显著性差异;而不

同浓度 ox-LDL (10、20、40 mg/L) HMDM MMP-2 和 MMP-9 活性均明显高于对照组和相应剂量 LDL 组, 且随剂量增加而增高(表 3, Table 3; 图 5, Figure 5)



图 3. 氧化修饰低密度脂蛋白对人单核细胞基质金属蛋白酶 2 蛋白表达的影响 泳道 1 为对照组; 泳道 2~ 4 为 LDL (10、20、40 mg/L); 泳道 5~ 7 为 ox-LDL (10、20、40 mg/L) ($n = 4$)。72 kDa 为 MMP-2。

Figure 3. Effect of ox-LDL on the production of matrix metalloproteinase-2 protein in human monocyte-derived macrophages

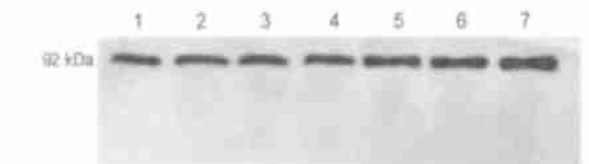


图 4. 氧化修饰低密度脂蛋白对人单核细胞基质金属蛋白酶 9 蛋白表达的影响 泳道 1 为对照组; 泳道 2~ 4 为 LDL (10、20、40 mg/L); 泳道 5~ 7 为 ox-LDL (10、20、40 mg/L) ($n = 4$)。92 kDa 为 MMP-9。

Figure 4. Effect of ox-LDL on the production of matrix metalloproteinase-9 protein in human monocyte-derived macrophages

表 3. 氧化修饰低密度脂蛋白对人单核细胞基质金属蛋白酶 2 和基质金属蛋白酶 9 活性的影响

Table 3. Effects of ox-LDL on the activity of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in human monocyte-derived macrophages

浓度	MMP-2		MMP-9	
	LDL	ox-LDL	LDL	ox-LDL
0	76.96 ± 3.58	76.96 ± 3.58	74.61 ± 9.08	74.61 ± 9.08
10 mg/L	74.57 ± 2.93	81.39 ± 6.05 ^{ab}	73.91 ± 9.73	81.13 ± 9.52 ^{ab}
20 mg/L	77.74 ± 8.14	92.86 ± 6.44 ^{ab}	72.08 ± 8.14	89.34 ± 13.73 ^{ab}
40 mg/L	75.48 ± 3.90	105.58 ± 8.88 ^{ab}	75.13 ± 8.26	101.31 ± 11.12 ^{ab}

a: $P < 0.05$, $n = 4$, 与空白对照组比较; b: $P < 0.05$, $n = 4$, 与相应浓度 LDL 组比较。

3 讨论

易损性冠状动脉粥样硬化斑块的特点为局部巨噬细胞较多而血管平滑肌细胞较少, 脂质核大而软,

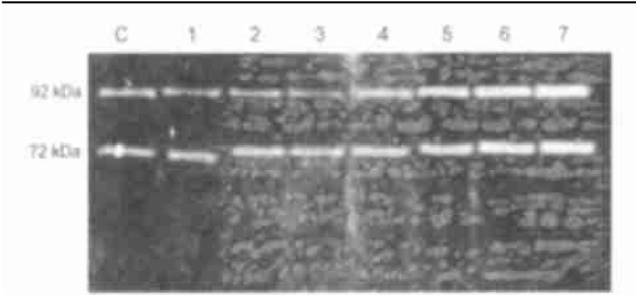


图 5. 氧化修饰低密度脂蛋白对人单核细胞基质金属蛋白酶 2 和基质金属蛋白酶 9 活性的影响 泳道 C 为内参照; 泳道 1 为对照组; 泳道 2~ 4 为 LDL (10、20、40 mg/L); 泳道 5~ 7 为 ox-LDL (10、20、40 mg/L) ($n = 4$)。92 kDa 为 MMP-9; 72 kDa 为 MMP-2。

Figure 5. Effects of ox-LDL on the activity of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in human monocyte-derived macrophages

并且由于斑块内细胞外基质降解增加而合成减少致使纤维帽较薄, 在血压波动等因素触发下, 容易发生粥样硬化斑块破裂, 并发血栓形成, 造成冠状动脉管腔急性严重狭窄, 这是冠心病患者发生急性心肌梗死、不稳定型心绞痛甚至猝死等急性冠状动脉事件的主要原因, 也是冠心病致死、致残的主要原因^[7]。因此如何降低动脉粥样硬化斑块的易损性, 防止动脉粥样硬化斑块破裂引发的急性冠状动脉事件的发生, 是当前动脉粥样硬化和冠心病防治研究的又一个新的方向。

研究表明, 降解细胞外基质成份的酶类主要是基质金属蛋白酶, 这是一类含锌的金属蛋白酶, 包括有许多类型, 主要有胶原酶 (MMP-1, MMP-8)、明胶酶 (gelatinase, MMP-2, MMP-9) 和基质胶原酶 (stromelysins, MMP-3) 等, 它们以酶原形式由多种细胞合成和分泌, 如单核细胞、血管平滑肌细胞、血管内皮细胞、肿瘤细胞、成纤维细胞等, 一旦被激活, 可降解细胞外所有的基质成分^[8,9]。其活性的主要内源性抑制物是组织金属蛋白酶抑制物 (tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMP), 主要有 TIMP-1、TIMP-2 和 TIMP-3 三种形式^[10]。在动脉粥样硬化斑块局部, MMPs 主要来源于激活的巨噬细胞和泡沫细胞。近年来有研究发现, 在动脉粥样硬化斑块容易发生破裂的部位 (尤其是斑块肩部和脂质核处), MMP-1、MMP-2、MMP-9 和 MMP-3 活性均有增高, 而 TIMP-1 和 TIMP-2 等表达减少; 动脉粥样硬化斑块内许多生物活性物质如氧化型低密度脂蛋白及细胞和生长因子如白细胞介素 1、白细胞介素 2、肿瘤坏死因子、碱性成纤维细胞生长因子、血小板源生长因子、表皮生长因子等均可诱导 MMPs 合成及增加其活性, 而抑

制TIMPs的表达,从而使得动脉粥样硬化斑块易损性增加,容易发生破裂^[1,8,11]。

氧化修饰低密度脂蛋白在动脉粥样硬化斑块内有大量聚集,可以引起单核细胞趋化、巨噬细胞源泡沫细胞形成和细胞毒性产生,并且ox-LDL可以调节粥样斑块内血管内皮细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞多种细胞和生长因子的合成,另外,胆固醇负荷的巨噬细胞即巨噬细胞源泡沫细胞可诱发组织因子、单核细胞趋化蛋白1、15-脂氧化酶、MMPs等的基因表达^[12~14]。但目前有关ox-LDL对巨噬细胞MMPs表达的报道还较少。Xu等^[1]研究发现,ox-LDL可增加HMDM MMP-9的蛋白表达并增强其活性。本研究发现ox-LDL可诱导人巨噬细胞MMP-2和MMP-9 mRNA和蛋白表达,并且可明显增强HMDM MMP-2和MMP-9酶降解活性,这与Xu等研究报道及以前研究发现ox-LDL是细胞功能和基因表达的主要调节因子相一致^[15,16]。提示ox-LDL通过增强MMPs活性,促进动脉粥样硬化斑块局部细胞外基质成分的降解,可能增加动脉粥样硬化斑块的易损性,促使发生急性冠状动脉事件,因而针对其增强MMPs活性的机制和意义值得深入研究。

[参考文献]

- [1] Xu XP, Meisel SR, Ong JM, Kaul Si, Cercek B, Rajavashisth TB, et al. Oxidized low density lipoprotein regulates matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor in human monocyte-derived macrophages. *Circulation*, 1999, **99** (8): 993-998
- [2] 刘虹彬,温进坤,韩梅. 氧化型低密度脂蛋白对大鼠血管平滑肌细胞基质金属蛋白酶2和9表达的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (1): 10-13
- [3] Steinberg D. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation*,

- 1997, **95** (4): 1 062-071
- [4] 曹军. 动脉粥样硬化斑块破裂的细胞与分子生物学研究进展. *中国动脉硬化杂志*, 2000, **8** (1): 79-81
- [5] Cuici JA, Mao DL, Bohner DG, Allen BT, Rubin BG, Reilly JM, et al. Preoperative treatment with doxycycline reduces aortic wall expression and activation of matrix metalloproteinases in patients with abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*, 2000, **31** (2): 325-342
- [6] Grant GM, Cobb JK, Castillo B, Klebe RJ. Regulation of matrix metalloproteinases follows cellular transformation. *J Cell Physiol*, 1996, **167** (1): 177-183
- [7] Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation*, 1995, **92** (3): 657-667
- [8] Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increase expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*, 1994, **94** (6): 2 493-503
- [9] Galis ZS, Sukhova GK, Libby P. Microscopic localization of active proteinases by in situ zymography: detection of matrix metalloproteinase activity in vascular tissue. *FASEB J*, 1995, **9** (10): 974-980
- [10] Murphy G, Willenbrock F, Crabbe T, O'Shea M, Ward R, Athinson S, et al. Regulation of matrix metalloproteinase activity. *Ann NY Acad Sci*, 1994, **732** (6): 31-41
- [11] Moreau M, Brocheriou I, Petit L, Ninio E, Chapman MJ, Rouis M. Interleukin 8 mediates downregulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 expression in cholesterol-loaded human macrophages: relevance to stability of atherosclerotic plaque. *Circulation*, 1999, **99** (3): 420-426
- [12] Lesnik P, Rouis M, Skarlatos S, Kruth HS, Chapman JC. Uptake of exogenous free cholesterol induces upregulation of tissue factor expression in human monocyte derived macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89** (21): 10 370-374
- [13] Ylärhrttuala S, Lipton BA, Rosenfeld ME, Sarkioja T, Yoshimura T, Leonard EJ, et al. Expression of monocyte chemoattractant protein 1 in macrophage-rich areas of human and rabbit atherosclerosis lesions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88** (12): 5 252-256
- [14] Ylärhrttuala S, Rosenfeld ME, Parthasarathy, Glass CK, Sigal E, Witztum JL, et al. Colocalization of 15-lipoxygenase mRNA and protein with epitopes of oxidized low density lipoprotein in macrophage-rich areas of atherosclerotic lesions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87** (18): 6 959-963
- [15] Battalico LA, Kendrick NC, Keller A, Li YQ, Tabos I. Cholesteryl ester loading of mouse peritoneal macrophages is associated with changes in the expression of modification of specific cellular protein, including increase in an α -Enolase isoform. *Arterioscler Thromb*, 1993, **13** (2): 264-275
- [16] Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low-density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest*, 1991, **88** (6): 1 785-792

(此文编辑 曾学清)

•资料•

2001年《中国科学技术论文统计源期刊》生物医学类(二)

广东药学院学报	河南医科大学学报	疾病控制杂志
广东医学	湖南医科大学学报	寄生虫与医学昆虫学报
广西医科大学学报	湖南中医学院学报	江苏医药
广州医学院学报	护理学杂志	江西医学院学报
广州中医药大学学报	华西口腔医学杂志	解放军护理杂志
贵阳医学院学报	华西药理学杂志	解放军药理学学报
贵阳中医学院学报	华西医科大学学报	解放军医学杂志
哈尔滨医科大学学报	华西医学	解放军医院管理杂志
航天医学与医学工程	基础医学与临床	解剖学报
河北医科大学学报	激光生物学报	解剖学杂志
河北中医药学报	吉林大学学报医学版	介入放射学杂志