

•文献综述•

[文章编号] 1007-3949(2003)11-04-0376-04

基质金属蛋白酶与血管成形术后再狭窄

梅宇, 王桂照 综述, 黄永麟 审校

(哈尔滨医科大学第一临床医院心内科, 黑龙江省哈尔滨市 150001)

[关键词] 病理学; 基质金属蛋白酶与再狭窄; 综述; 经皮腔内冠状动脉成形术; 平滑肌细胞

[摘要] 血管重构和内膜增厚决定了经皮腔内冠状动脉成形术后再狭窄。基质金属蛋白酶因为促进血管重构和内膜增厚而促进再狭窄的发生。本文介绍了基质金属蛋白酶的生物学特性、在血管壁的表达以及影响其表达的因素、基质金属蛋白酶促进再狭窄发生的机制和降低其表达的措施。

[中图分类号] R36

[文献标识码] A

经皮腔内冠状动脉成形术(percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA)具有迅速改善缺血的效果。然而,术后3~6个月高达30%~55%的再狭窄率严重影响了PTCA的远期疗效。再狭窄是局部血管损伤的一种修复反应,血管损伤后发生的血管重构和内膜增厚决定了再狭窄。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)可以降解细胞外基质,促进平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)迁移和增殖,促进内膜增厚和改变血管重构而促进再狭窄的发生。有研究证实,PTCA术后患者血浆MMP含量增加^[1]。因此,降低MMP的表达成为防治再狭窄的主要目标。

1 基质金属蛋白酶及其组织抑制剂的生物学特性

基质金属蛋白酶(MMP)是一种Zn²⁺依赖性的内肽酶组成的酶家族,目前已发现有16种以上。在正常成年组织中仅低水平表达,但在血管或组织重构过程中其活性明显上调。MMP共同特点:降解细胞外基质;④以蛋白酶原前体的形式从细胞内分泌到细胞外;④分子结构活性中均包括Zn²⁺,同时需要Ca²⁺的参与以维持其稳定性;④需要在中性的pH环境中发挥作用;④其作用能被基质金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TIMP)所阻断。由SMC表达的MMP主要有MMP-1(胶原酶)、MMP-2(明胶酶A)、MMP-3(基质裂解素1)、MMP-9(明胶酶B)及MMP-12(金属弹性蛋白酶)。近年来又发现了一种特殊的MMP—膜型MMP(membrane type matrix metalloproteinase, MT-MMP),其分子结构中包含了一个穿膜位点,能贴附在细胞表面,研究认为其在MMP由酶原向活性形式转化过程中起激活作用^[2]。

基质金属蛋白酶组织抑制剂(TIMP)家族由四个成员组成:TIMP-1、TIMP-2、TIMP-3和TIMP-4,均为含有6个二硫键与2个位点结构的糖基化蛋白,具有一定的同源性。血管SMC

可表达TIMP-1和TIMP-2。TIMP与活化状态的MMP以1:1的比例不可逆结合。TIMP-2对MMP-2的活性特别重要,而TIMP-1主要抑制MMP-1、MMP-2、MMP-3和MMP-9。TIMP还有许多生物学功能,如引起细胞形态变化,刺激各类细胞生长,参与类固醇生成和两性胚胎细胞的发育,TIMP-1和TIMP-3有抗血管生成的作用,TIMP-2还参与MMP-2的激活。

2 基质金属蛋白酶及其组织抑制剂在血管壁的表达

不同种属的动脉SMC可产生各种MMP。人血管SMC可产生MMP-2,细胞因子刺激后可产生MMP-1、MMP-3和MMP-9;兔动脉硬化病灶处的巨噬细胞可分泌MMP-1、MMP-3和MMP-9。

许多研究发现,球囊损伤动脉后,MMP表达上调。Webb等^[3]发现,在大鼠未损伤动脉,只有无活性MMP-2表达;伤后24h,MMP-2 mRNA水平和活性增加2倍;MMP-9 mRNA水平和活性在伤后6h达高峰,在第7天仍可检测到;MMP-3在伤后第7天增加2倍,活性蛋白和mRNA表达同时存在;抑制剂TIMP-1 mRNA伤后6h可检测到,在24h达高峰,但在第7天检测不到。Feldman等^[4]对兔的髂动脉实施支架植入术和球囊成形术,发现MMP-2在未受损动脉持续表达,而MMP-9在损伤后动脉的表达迅速增加。在所有时间点,支架术后MMP-9活性及mRNA水平比球囊成形术后增加2~3倍。两组MMP-2 mRNA水平增加相似,MMP-2活性的增加在支架组高出2倍。

3 基质金属蛋白酶促进再狭窄的机制

基质金属蛋白酶(MMP)在维持血管完整性中起重要作用,当合成新基质时,MMP可降解细胞外基质。这可避免持续性的机械压力所造成的血管壁薄弱。但在特定环境下,MMP可促进心血管疾病的发生。研究表明,MMP可通过促进内膜增厚和改变血管重构而促进PTCA术后再狭窄的发生^[5-7]。

3.1 基质金属蛋白酶促进内膜增厚

[收稿日期] 2002-11-22 [修回日期] 2003-05-19

[作者简介] 梅宇,女,1973年出生,吉林省榆树县人,博士研究生,研究方向为冠心病分子生物学。E-mail: meiyuhb@263.net。王桂照,男,1941年出生,山东省龙口市人,博士研究生导师,研究方向为冠心病的防治。黄永麟,博士研究生导师,长期从事心血管疾病的临床和基础研究。

3.1.1 促进平滑肌细胞表型改变, 改变细胞-基质结合特性 SMC 有两种表型: 收缩型和合成型。分化成熟的 SMC 以收缩型为主, 具有收缩功能。PTCA 术后, 收缩型 SMC 迅速转变为合成型, 增殖并分泌细胞外基质^[8]。

Fitzgerald 等^[9]发现 MMP 抑制剂 BB94 可阻断 SMC 表型变化。在球囊损伤兔颈动脉后第 3~14 天, MMP 和乙酰肝素酶同时表达。因为乙酰肝素可促进 SMC 表型改变, 推测 MMP 可能通过促进乙酰肝素的活性以促进新生内膜中 SMC 表型改变。

有研究表明, MMP-9 可结合 iv 型胶原, 通过受体 CD44 促进 SMC 与基质结合以促进 SMC 迁移^[10]。这说明 MMP-9 可通过改变细胞-基质结合的特性来促进 SMC 迁移。

3.1.2 降解细胞外基质, 参与平滑肌细胞的增殖与迁移

PTCA 术后 SMC 由收缩型转变为合成型, 增殖并迁移至内膜, 在内膜增殖并合成大量的细胞外基质, 形成新生内膜。由此可见, SMC 迁移是新生内膜形成的基本条件, 而血管 SMC 通常由致密的细胞外基质包围, 因此 SMC 迁移需要降解细胞外基质。MMP 因为可以降解所有基质成分而在新生内膜的形成中发挥重要的促进作用。细胞外基质包括胶原、弹性蛋白、层粘连素和纤维粘连素等。其中胶原是主要成分, 占干重的 20%~50%, 以 iv 型和 α 1(I) 型胶原为主。MMP 可以降解所有基质成分, 但每种 MMP 的作用各不相同, 如 MMP-1 可降解 iv 型和 α 1(I) 型胶原; MMP-3 降解底物较广泛, 包含蛋白多糖、层粘连素和纤维粘连素; MMP-2 和 MMP-9 可降解胶原、胶原降解后形成的明胶和弹性蛋白。

基质金属蛋白酶(MMP)不但促进 SMC 的迁移, 还参与 SMC 的增殖^[11]。Aoyagi 等^[12]在兔颈动脉 PTCA 术后 1 周的新生内膜表层检测到 MMP-1、MMP-2、MMP-3 和 MMP-9 阳性表达, 与增殖的 SMC 定位相似。在第 4 和 6 周, 分布在内膜的 SMC MMP-2 染色阳性, 增殖相关抗原染色阴性。这说明在新生内膜形成早期, 所有 MMP 共同协调参与 SMC 的增殖与迁移; 在晚期阶段, MMP-2 独自发挥作用, 促进 SMC 从中膜迁移至内膜, 但不参与 SMC 增殖。

3.2 基质金属蛋白酶促进血管重构

3.2.1 改变血管重构 血管损伤后发生的血管重构包括 SMC 增殖、迁移、凋亡和细胞外基质的改变, 这些变化部分由 MMP 介导。Mason 等^[13]证实 MMP-9 在体内过度表达促进 SMC 迁移至基质, 并通过增加血管周长、管腔面积和细胞核密度以及减少内膜基质含量来改变血管重构。MMP-9 切开 α 1(I) 型胶原, 胶原片段可以促进中性粒细胞、单核细胞和成纤维细胞的化学趋化作用。并且, MMP-9 与纤维蛋白结合, 通过释放化学多肽诱导损伤后的 SMC 迁移。

3.2.2 促进血管扩张 冠状动脉通过扩张(补偿性血管重构)来弥补较大动脉粥样硬化斑块所造成的管腔面积的损失。有人推测 MMP 可能参与血管扩张作为对增加的血流的反应^[14]。Mason 等^[13]首次发现 MMP-9 促进血管扩张。机制有: 第一, 动脉胶原含量增加可减少动脉扩张, 因此 MMP-9 降解基质可影响血管壁的机械特性; 此外, MMP-9 降解弹性蛋白(负责血管收缩)同样会增加血管扩张。第二, 众所周

知, 内膜通过一氧化氮在调节血管变化及急性中膜和外膜扩张中起主要作用。由 MMP-1 的促血管生成作用推测 MMP-9 可能促进内膜迁移和再生^[15]。第三, MMP-9 降解基质可产生 RGD 片段, 在 RGD 多肽和弹力酶降解的胶原片段的作用下, SMC 中的整合素 $\alpha_v\beta_3$ 介导动脉的血管扩张反应。

4 影响基质金属蛋白酶表达的因素

基质金属蛋白酶(MMP)的表达和活性在多种水平上被严格控制。MMP 以无活性的酶从细胞分泌, 蛋白酶(纤溶酶和 MMP-3)将其转化为有活性的酶。TIMP 干扰 MMP 蛋白的激活和酶的活性。MMP 及其抑制剂表达的改变将调节局部基质的聚集和降解, 该过程参与再狭窄中血管重塑的发生。其它影响因素如下。

4.1 血管损伤

外科手术造成的血管损伤促进 SMC 表型改变和 MMP 活性的变化, 这将有助于基质降解、SMC 迁移和随后的内膜增厚^[16]。人术后的大隐静脉原 MMP-1 表达增加, TIMP-2 显著减少。此外, 激活的 SMC 表达 MT1-MMP 和 MT3-MMP, 血小板源生长因子和球囊损伤可促进大鼠颈动脉 MT-MMP 的表达。

4.2 低血流量

已知低流量和剪切力与内膜增厚的形成部位和发展有关。Bassiouny 等^[17]证明血液动力如低流量能上调损伤诱导的 MMP-2 mRNA 的表达, 而且在调节 MMP-2 活性中可能比单一损伤因素起更重要的作用。这将促进 SMC 的迁移和随后发生的内膜增厚。

4.3 迁移细胞

迁移细胞结构良好的标志是合成型且粘附细胞外基质的能力下降。中膜 SMC 迁移在伤后 2~5 天发生, 大多数细胞随后同时增殖。中膜 SMC 合成血小板源生长因子及其受体、弹力酶、MMP-1 和 MMP-9, 表明迁移细胞具有增殖活性并能合成胶原酶^[16]。

4.4 膜型基质金属蛋白酶

平滑肌细胞(SMC)表达 MT1-MMP 和 MT3-MMP, MT-MMP 是 MMP-2 的细胞表面激活剂^[18]。Wang 等^[19]检测到 MT1-MMP 在正常主动脉壁表达水平较低, 在新生内膜组织表达增加, 术后 3 天达高峰。MT1-MMP 与 MMP-2 的活性表达紧密相关, 证明了 MT1-MMP 在球囊剥脱术后 MMP-2 激活中的重要作用。Shofuda 等^[20]将 MT1- 和 MT3-MMP cDNA 转移至培养的 SMC, 发现过度表达 MT1-MMP 可促进原 MMP-2 转化为活性形式。MMP 抑制剂(BB94 和 TIMP-2)可抑制此效应。

4.5 平滑肌细胞的去分化表型

Shofuda 等^[20]在内膜去分化的 SMC 中检测到 MT-MMP mRNA 高水平持续表达, 表明 MT1-MMP 和 MT3-MMP 的表达增加与 SMC 的去分化表型密切相关。 α 1(I) 型胶原是中膜 SMC MT1-MMP 表达的负性调节因子, 而血小板源生长因子可在病理条件下上调 MT3-MMP 的表达。MT-MMP 表达增加可以激活 MMP-2。

4.6 整合素

整合素 $\alpha_v\beta_3$ 受体在动脉损伤后 SMC 迁移中起重要作用,其通过上调 MMP 活性来促进 SMC 迁移。Bendeck 等^[21]发现大鼠颈动脉球囊损伤后 SMC 中 β_3 mRNA 的上调与 MMP-1 的表达同时发生,并伴早期 SMC 迁移。应用 β_3 抗体 F11 显著减少动脉损伤 4 天后 SMC 迁移。还发现新生儿 SMC 分泌 MMP-1,但成人 SMC 不分泌。这可能是因为新生儿 SMC 表达 $\alpha_v\beta_3$,而成人不表达。Osteopontin(一种与 $\alpha_v\beta_3$ 结合的基质成分)能刺激新生儿 SMC 中 $\alpha_v\beta_3$ 的合成,促进 MMP-1 分泌。

4.7 其他

有研究表明,氧化型低密度脂蛋白可促进大鼠血管 SMC 中 MMP-2 和 MMP-9 的表达^[22]。动脉硬化患者血浆胆固醇水平与 MMP-2 和 MMP-3 表达呈正相关^[23]。此外,活化淋巴细胞诱导人血管 SMC MMP 的表达^[24]。

5 降低基质金属蛋白酶表达的措施

基质金属蛋白酶(MMP)抑制剂的作用机制^[25]: MMP 抑制剂阻止 SMC 向合成型转变,减少基质合成和 SMC 迁移。
④MMP 抑制剂抑制损伤后细胞因子的释放,抑制细胞因子对 SMC 的作用,进而抑制 SMC 对损伤的反应。
④MMP 抑制剂可以抑制损伤后的炎症反应及新生内膜的形成。

5.1 非特异性抑制剂

动脉重塑一直被认为是再狭窄的主要决定因素。MMP 非特异性抑制剂 Batimastat 可显著减少球囊成形术后管腔面积损失,其机制为抑制收缩性动脉重构,但不抑制新生内膜的形成。de Smet 等^[26]对猪施行球囊扩张后腹膜内注射 Batimastat,术后 42 天管腔减小。Luan 等^[27]发现,辛伐他汀(50 nmol/L)抑制体外培养的人大隐静脉 SMC 中 MMP-1、MMP-3 和 MMP-9 的表达。

5.2 特异抑制剂

许多研究表明 MMP 特异抑制剂可减少病变的形成。对兔髂动脉实施两次拉伤,术后给予 MMP 抑制剂 GM6001,术后第 1 周 GM6001 使损伤后动脉中的胶原成分减少达 33%,并减少损伤后新生内膜的形成^[28]。Zempo 等发现 BB94 抑制大鼠损伤动脉 SMC 迁移和增殖。

5.3 基质蛋白酶组织抑制剂

SMC 迁移是损伤诱导的内膜增厚的主要原因,取决于动脉壁内基质降解所致的蛋白溶解平衡的改变。此效应部分由 MMP 及其抑制剂 TIMP 介导。Dollery 等给大鼠 SMC 转染含有 TIMP-1 cDNA 的腺病毒载体,结果发现 SMC 中 TIMP-1 活性表达增加,SMC 迁移抑制达 27%,新生内膜面积减少 30%。Fuman 等^[29]应用 TIMP 基因抑制大鼠新生内膜的形成。Cheng 等^[30]给大鼠主动脉转染含有人 TIMP-2 的腺病毒载体,造成中膜 TIMP-2 mRNA 和蛋白的高表达,发现 MMP-2 活性受抑制,并抑制化学趋化导致的 SMC 迁移。抑制 SMC 迁移达 36%,减少新生内膜面积达 53%。结果表明,腺病毒介导的 TIMP-2 基因转移,在体外可以抑制 SMC 迁移,在体内可以延缓新生内膜的形成。

6 总结

PTCA 术后 MMP 在受损动脉的局部表达增加。MMP 通过促进内膜增厚和改变血管重构而促进 PTCA 术后再狭窄的发生。应用 MMP 抑制剂可抑制 SMC 的增殖和迁移,延缓新生内膜的形成,对防治再狭窄有重要意义。因此,降低 PTCA 术后受损动脉局部 MMP 的表达将成为防治再狭窄的一个方向。

[参考文献]

- [1] Hojo Y, Ikeda U, Katsuki T, Mizuno O, Fujikawa H, Shimada K. Matrix metalloproteinase expression in the coronary circulation induced by coronary angioplasty. *Atherosclerosis*, 2002, **161** (1): 185-192
- [2] Jenkins GM, Crow MT, Bilato C, Gluzband Y, Ryu WS, Li Z, et al. Increased expression of membrane-type matrix metalloproteinase and preferential localization of matrix metalloproteinase-2 to the neointima of balloon injured rat carotid arteries. *Circulation*, 1998, **97** (1): 82-90
- [3] Webb KE, Henney AM, Anglin S, Humphries SE, McEwan JR. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitor TIMP-1 in the rat carotid artery after balloon injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17** (9): 1 837-844
- [4] Feldman LJ, Mazighi M, Scheuble A, Deux JF, De Benedetti E, Badier-Commander C, et al. Differential expression of matrix metalloproteinases after stent implantation and balloon angioplasty in the hypercholesterolemic rabbit. *Circulation*, 2001, **103** (25): 3 117-122
- [5] Celentano DC, Frishman WH. Matrix metalloproteinases and coronary artery disease: a novel therapeutic target. *J Clin Pharmacol*, 1997, **37** (11): 991-1 000
- [6] Shah P. Inflammation, metalloproteinases, and increased proteolysis: an emerging pathophysiological paradigm in aortic aneurysm. *Circulation*, 1997, **96** (7): 2 115-117
- [7] Schwartz S. Smooth muscle migration in atherosclerosis and restenosis. *J Clin Invest*, 1997, **99** (12): 2 814-817
- [8] Glukhova MA, Kabakov AE, Frid MG, Ornaty OI, Belkin AM, Mukhin DN, et al. Modulation of human aorta smooth muscle cell phenotype: a study of muscle specific variants of vinculin, caldesmon and actin expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **85** (24): 9 542-546
- [9] Fitzgerald M, Hayward IP, Thomas AC, Campbell GR, Campbell JH. Matrix metalloproteinase can facilitate the heparanase-induced promotion of phenotype change in vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis*, 1999, **145** (1): 97-106
- [10] Yu Q, Stamenkovic I. Localization of matrix metalloproteinase 9 to the cell surface provides a mechanism for CD44-mediated tumor invasion. *Genes Dev*, 1999, **13** (1): 35-48
- [11] Cho A, Reidy MA. Matrix metalloproteinase-9 is necessary for the regulation of smooth muscle cell replication and migration after arterial injury. *Circ Res*, 2002, **91** (9): 845-851
- [12] Aoyagi M, Yamamoto M, Azuma H, Nagashima G, Niimi Y, Tamaki M, et al. Immunolocalization of matrix metalloproteinases in rabbit carotid arteries after balloon denudation. *Histochem Cell Biol*, 1998, **109** (2): 97-102
- [13] Mason DP, Kenagy RD, Hasenstab D, Bowerr-Pope DF, Seifert RA, Coats S, et al. Matrix metalloproteinase-9 overexpression enhances vascular smooth muscle cell migration and alters remodeling in the injured rat carotid artery. *Circ Res*, 1999, **85** (12): 1 179-185
- [14] Abbruzzese TA, Guzman RJ, Martin RL, Yee C, Zarins CK, Dalman RL. Matrix metalloproteinase inhibition limits arterial enlargement in a rodent arteriovenous fistula model. *Surgery*, 1998, **124** (2): 328-335
- [15] Sang QX. Complex role of matrix metalloproteinases in angiogenesis. *Cell Res*, 1998, **8** (3): 171-177
- [16] Yoshida Y, Mitsumata M, Ling G, Jiang J, Shu Q. Migration of medial smooth muscle cells to the intima after balloon injury. *Ann N Y Acad Sci*, 1997, **811**: 459-470
- [17] Bassiouny HS, Song RH, Hong XF, Singh A, Kocharyan H, Glasgow S. Flow regulation of 72-kD collagenase (MMP-2) after experimental arterial injury. *Circulation*, 1998, **98** (2): 157-163

- [18] Polette M, Birembaut P. Membrane-type metalloproteinases in tumour invasion. *Int J Biochem Cell Biol*, 1998, **30** (11): 1 195-202
- [19] Wang H, Keiser JA. Expression of membrane-type matrix metalloproteinase in rabbit neointimal tissue and its correlation with matrix-metalloproteinase-2 activation. *J Vasc Res*, 1998, **35** (1): 45-54
- [20] Shofuda K, Nagashima Y, Kawahara K, Yasumitsu H, Miki K, Miyazaki K. Elevated expression of membrane-type 1 and 3 matrix metalloproteinases in rat vascular smooth muscle cells activated by arterial injury. *Lab Invest*, 1998, **78** (8): 915-923
- [21] Bendeck MP, Irvin C, Reidy M, Smith L, Mulholland D, Horton M, et al. Smooth muscle cell matrix metalloproteinase production is stimulated via alpha(v) beta (3) integrin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, **20** (6): 1 467-472
- [22] 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
- [23] Noji Y, Kajinami K, Kawashiri MA, Todo Y, Horita T, Nohara A, et al. Circulating matrix metalloproteinases and their inhibitors in premature coronary atherosclerosis. *Clin Chem Lab Med*, 2001, **39** (5): 380-384
- [24] 李飞雪, 黄体钢, 周丽娟. 活化淋巴细胞诱导人血管平滑肌细胞基质金属蛋白酶表达. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (4): 300-303
- [25] Strauss BH, Robinson R, Batchelor WB, Chisholm RJ, Ravi G, Natarajan MK, et al. In vivo collagen turnover following experimental balloon angioplasty injury and the role of matrix metalloproteinases. *Circ Res*, 1996, **79** (3): 541-550
- [26] de Smet BJ, de Kleijn D, Hanemaaijer R, Verheijen JH, Robertus L, van Der Helm YJ, et al. Metalloproteinase inhibition reduces constrictive arterial remodeling after balloon angioplasty: a study in the atherosclerotic Yucatan mircropig. *Circulation*, 2000, **101** (25): 2 962-967
- [27] Luan Z, Chase AJ, Newby AC. Statins Inhibit secretion of metalloproteinases-1, -2, -3, and -9 from vascular smooth muscle cells and macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23** (5): 769-775
- [28] Li C, Cantor WJ, Nili N, Robinson R, Fenkell L, Tran YL, et al. Arterial repair after stenting and the effects of GM6001, a matrix metalloproteinase inhibitor. *J Am Coll Cardiol*, 2002, **39** (11): 1 852-858
- [29] Fuman C, Luo Z, Walsh K, Duverger N, Copin C, Fruchart JC, et al. Systemic tissue inhibitor of metalloproteinase-1 gene delivery reduces neointimal hyperplasia in balloon-injured rat carotid artery. *FEBS Lett*, 2002, **531** (2): 122-126
- [30] Cheng L, Mantile G, Pauly R, Nater C, Felici A, Monticone R, et al. Adenovirus-mediated gene transfer of the human tissue inhibitor of metalloproteinase 2 blocks vascular smooth muscle cell invasiveness in vitro and modulates neointimal development in vivo. *Circulation*, 1998, **98** (20): 2 195-201

(此文编辑 文玉珊)