

• 临床研究 •

[文章编号] 1007-3949(2009)17-03-0220-05

## 急性冠状动脉综合征患者巨噬细胞表达过氧化体增殖物激活型受体 $\gamma$ 及炎症相关因子的变化

罗玉梅<sup>1</sup>, 姜德谦<sup>2</sup>, 万新红<sup>1</sup>, 刘显庆<sup>2</sup>, 郭洪波<sup>1</sup>, 陈朝霞<sup>1</sup>, 王合金<sup>1</sup>, 谢丽华<sup>1</sup>

(1 深圳市龙岗区人民医院心内科, 广东省深圳市 518172 2 中南大学湘雅二医院心内科, 湖南省长沙市 410011)

[关键词] 急性冠状动脉综合征; 单核细胞源性巨噬细胞; 过氧化体增殖物激活型受体  $\gamma$ ; 核因子  $\kappa$ B; 基质金属蛋白酶 9; 组织型基质金属蛋白酶抑制剂 1

[摘要] 目的 探讨急性冠状动脉综合征患者外周血单核细胞源性巨噬细胞表达过氧化体增殖物激活型受体  $\gamma$ 、核因子  $\kappa$ B、基质金属蛋白酶 9 和组织型基质金属蛋白酶抑制剂 1 的变化及其间的关系。方法 选取急性冠状动脉综合征患者 48 例、稳定型心绞痛患者 22 例为研究对象, 抽取外周动脉血 20 mL, 分离单个核细胞, 加巨噬细胞集落刺激因子培养得单核细胞源性巨噬细胞; 用 CD40 配体刺激后, 酶联免疫吸附法测定上清液中基质金属蛋白酶 9 和组织型基质金属蛋白酶抑制剂 1 浓度, 逆转录聚合酶链反应检测过氧化体增殖物激活型受体  $\gamma$ 、基质金属蛋白酶 9 和组织型基质金属蛋白酶抑制剂 1 mRNA 表达, 免疫组织化学法检测核因子  $\kappa$ B 亚单位 P65 表达。结果 急性冠状动脉综合征组过氧化体增殖物激活型受体  $\gamma$  mRNA 表达低于稳定型心绞痛组 ( $0.24 \pm 0.04$  比  $0.39 \pm 0.06$   $P < 0.001$ ), 核因子  $\kappa$ B P65 表达高于稳定型心绞痛组 ( $0.42 \pm 0.06$  比  $0.27 \pm 0.02$   $P < 0.001$ ), 基质金属蛋白酶 9 在上清液中的浓度及其 mRNA 表达明显高于稳定型心绞痛组 ( $231.11 \pm 51.47 \mu\text{g/L}$  比  $126.02 \pm 13.26 \mu\text{g/L}$  和  $0.674 \pm 0.11$  比  $0.24 \pm 0.05$   $P < 0.001$ ), 组织型基质金属蛋白酶抑制剂 1 在上清液中的浓度及其 mRNA 表达强度高于稳定型心绞痛组 ( $139.80 \pm 31.54 \mu\text{g/L}$  比  $112.25 \pm 12.68 \mu\text{g/L}$  和  $0.42 \pm 0.09$  比  $0.33 \pm 0.06$   $P < 0.05$ )。过氧化体增殖物激活型受体  $\gamma$  mRNA 表达与核因子  $\kappa$ B P65 和基质金属蛋白酶 9 的表达强度呈负相关 ( $P < 0.001$ ), 与组织型基质金属蛋白酶抑制剂 1 的表达强度不相关 ( $P > 0.05$ ); 核因子  $\kappa$ B P65 与基质金属蛋白酶 9 和组织型基质金属蛋白酶抑制剂 1 的表达强度呈正相关 ( $P < 0.001$ )。结论 急性冠状动脉综合征患者外周血单核细胞源性巨噬细胞过氧化体增殖物激活型受体  $\gamma$  表达下调, 核因子  $\kappa$ B 活性增强, 基质金属蛋白酶 9 和组织型基质金属蛋白酶抑制剂 1 表达上调; 过氧化体增殖物激活型受体  $\gamma$  可能通过调节核因子  $\kappa$ B 活性而调节基质金属蛋白酶 9 基因转录; 但组织型基质金属蛋白酶抑制剂 1 表达可能不受过氧化体增殖物激活型受体  $\gamma$  调节。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### Changes of Expression Levels of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$ and Inflammatory Correlation Factors by Peripheral Blood Monocyte-Derived Macrophages in Patients with Acute Coronary Syndrome

LUO Yu-Mei<sup>1</sup>, JIANG De-Qian<sup>2</sup>, WAN Xin-Hong<sup>1</sup>, LIU Xian-Qing<sup>2</sup>, GUO Hong-Bo<sup>1</sup>, CHEN Zhao-Xian<sup>1</sup>, WANG He-Jing<sup>1</sup>, and XIE Lihua<sup>1</sup>

(1 Department of Cardiology, People's Hospital of Longgang, Shengzheng 518172, China; 2 Department of Cardiology, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

[KEY WORDS] Acute Coronary Syndrome; Monocytes Derived Macrophage; Peroxisome Proliferator-Activated Receptor; Nuclear Factor- $\kappa$ B; Metalloproteinase-9; Metalloproteinase Inhibitor-1

[ABSTRACT] **Aim** To explore the changes of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ), nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), metalloproteinase-9 (MMP-9) and metalloproteinase inhibitor-1 (TIMP-1) expressed by peripheral blood monocyte-derived macrophages (MDM) in patients with acute coronary syndrome (ACS) and the relations among them. **Methods** 48 patients with ACS and 28 cases with stable angina pectoris (SAP) were admitted. A 20 mL fasting blood sample was obtained using a blood cell-separator tube. Peripheral blood mononuclear cells were isolated and macrophage colony-stimulating factor was added to train them for MDM. After CD40 ligand stimulating, the concentrations of MMP-9 and TIMP-1 in the supernatant of MDM and the expression strength of PPAR- $\gamma$ , MMP-9, TIMP-1 mRNA and NF- $\kappa$ B subunit p65 (NF- $\kappa$ B p65) by MDM were determined. **Results** In ACS group, the expression strength of PPAR- $\gamma$  mRNA was lower than the SAP group ( $0.24 \pm 0.04$  vs  $0.39 \pm 0.06$   $P < 0.001$ ), while the expression strength of

[收稿日期] 2008-09-22

[修回日期] 2009-03-05

[基金项目] 深圳市科技基金资助项目 (JH200507120929A) 和龙岗区科技基金资助项目 (200514)

[作者简介] 罗玉梅, 硕士, 副主任医师, 研究方向为急性冠状动脉综合征, Email为 yumeiluo2000@yahoo.com.cn. 万新红, 博士, 主任医师, 研究方向为高血压心血管重构。姜德谦, 教授, 博士研究生导师, 研究方向为冠心病。

NF- $\kappa$ B P65 was higher than the SAP group ( $0.42 \pm 0.06$  vs  $0.27 \pm 0.02$ ,  $P < 0.001$ ), both the concentration of MMP-9 and TIMP-1 in the supernatant of MDM were significantly higher than the SAP group ( $231.11 \pm 51.47 \mu\text{g/L}$  vs  $126.06 \pm 13.2 \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.001$ ;  $139.80 \pm 31.54 \mu\text{g/L}$  vs  $112.25 \pm 12.68 \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.05$ ), the expression strength of mRNA of MMP-9 and TIMP-1 were higher than the SA group ( $0.67 \pm 0.11$  vs  $0.24 \pm 0.05$ ,  $P < 0.001$ ;  $0.42 \pm 0.09$  vs  $0.33 \pm 0.06$ ,  $P < 0.05$ ). The expression strength of PPAR- $\gamma$  mRNA were negatively correlated to NF- $\kappa$ B P65 and the expression strength of MMP-9 ( $P < 0.001$ ), but not correlated to the expression strength of TIMP-1 ( $P > 0.05$ ); the expression strength of NF- $\kappa$ B P65 were positively correlated to the expression strength of MMP-9 and TIMP-1 ( $P < 0.001$ ). **Conclusion** For MDM of patients with ACS, the expression strength of PPAR- $\gamma$  was down-regulated while the expression strength of NF- $\kappa$ B and MMP-9 was up-regulated. The PPAR- $\gamma$  may regulate MMP-9 expression before transcribed by regulating the activity of NF- $\kappa$ B. TIMP-1 expression may not be regulated by PPAR- $\gamma$ .

动脉粥样斑块破裂继发血栓形成导致急性冠状动脉综合征 (acute coronary symptom, ACS)<sup>[1,2]</sup>, 基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 在斑块破裂的过程中起了重要作用<sup>[3]</sup>。血液和动脉粥样斑块中的单核/巨噬细胞可分泌多种 MMP, 其中 MMP-9 与冠状动脉斑块稳定性密切相关。核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 可上调 MMP-9 表达, 过氧化体增殖物激活型受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ , PPAR- $\gamma$ ) 下调 MMP-9 表达。研究发现, ACS 患者血清 MMP-9 水平升高<sup>[4,5]</sup>, 血单核/巨噬细胞表达 PPAR- $\gamma$  下调<sup>[6]</sup>。目前对于 ACS 患者外周血单核细胞源性巨噬细胞 (monocyte derived macrophage, MDM) 在体外培养环境下表达 PPAR- $\gamma$ 、NF- $\kappa$ B、MMP 及组织型基质金属蛋白酶抑制剂 (metalloproteinase inhibitor, TIMP) 方面是否与非 ACS 患者的 MDM 存在差异及其产生差异的机制研究尚少。本研究旨在为上述课题提供基础资料。

## 1 对象和方法

### 1.1 研究对象

选取典型 ACS 患者 48 例, 男 33 例, 女 15 例, 年龄  $62.3 \pm 8.6$  岁, 其中不稳定型心绞痛患者 28 例, 急性心肌梗死 20 例; 年龄、性别、吸烟情况、体质指数、血压、血脂和血糖等与上述患者相配的稳定型心绞痛 (stable angina pectoris, SAP) 患者 22 例, 男 13 例, 女 7 例, 年龄  $61.5 \pm 6.7$  岁。不稳定型心绞痛的诊断标准为: 入院前 48 h 有休息时缺血性胸痛发作, 同时伴有 ST 压低和/或 T 波倒置; 急性心肌梗死的诊断标准: 持续典型胸痛 30 min 以上; 典型心电图动态变化和心肌酶 (肌酸激酶、肌酸激酶同工酶、肌钙蛋白) 动态变化。排除以下患者: ①急性感染、创伤或手术 4 周以内的患者; ②合并脑血管意外或外周血管疾病的患者; ③肝肾功能不全、恶性肿瘤、慢性结缔组织疾病或免疫性疾病。

### 1.2 巨噬细胞来源及培养

抽取外周动脉血 20 mL, 抗凝, 用单核细胞分离

液分离外周血单个核细胞, 以 RPMI 1640 缓冲液培养, 收获贴壁细胞, 倒置显微镜下形态学鉴定为单核细胞后, 采用巨噬细胞集落刺激因子 (rhM-CSF)  $0.1 \text{ mg/L}$  培养 24 h 得 MDM。以  $3 \times 10^6$  个细胞/ $\text{cm}^2$  的密度接种在 48 孔细胞培养板中, 加入终浓度为  $0.2 \text{ mg/L}$  重组人 CD40 配体 (rhCD40L),  $37^\circ\text{C}$  孵化 24 h 后, 分别收集上清和 MDM。rhM-CSF 和 rhCD40L 购自美国 Peprotech 公司。

### 1.3 酶联免疫吸附法测定基质金属蛋白酶 9 和组织型基质金属蛋白抑制剂 1 浓度

用 ELISA 法测定细胞培养上清液中 MMP-9 和 TIMP-1 浓度, 试剂盒购自博士德生物工程有限公司, 严格按照其说明书操作。

### 1.4 过氧化体增殖物激活型受体 $\gamma$ 、基质金属蛋白酶 9 和组织型基质金属蛋白抑制剂 1 mRNA 表达的检测

提取 MDM 总 RNA, RT-PCR 检测 PPAR- $\gamma$ 、MMP-9 和 TIMP-1 表达水平。MMP-9 上游 5'-GGC ATC CGG CAC CTC TAT GGT CC-3', 下游 5'-GCC TCT TGT CGG CGA TAA GGA AGG-3', 产物 370 bp, 扩增条件:  $94^\circ\text{C}$  预变性 5 min,  $94^\circ\text{C}$  变性 40 s,  $52^\circ\text{C}$  退火 30 s,  $72^\circ\text{C}$  延伸 40 s, 共 30 个循环, 终末  $72^\circ\text{C}$  延伸 10 min; TIMP-1 上游 5'-CTG GCA TCC TCT TGT TGC TA-3', 下游 5'-AGG GAT CTC CAG GTG CAC AA-3', 产物 386 bp, 扩增条件:  $94^\circ\text{C}$  预变性 5 min,  $94^\circ\text{C}$  变性 40 s,  $56^\circ\text{C}$  退火 30 s,  $72^\circ\text{C}$  延伸 40 s, 共 30 个循环, 终末  $72^\circ\text{C}$  延伸 10 min; PPAR- $\gamma$  上游 5'-TCT CTC CGT AAT GGA AGA CC-3', 下游 5'-GCA TTA TGA GAC ATC CCC AC-3', 产物 474 bp, 扩增条件:  $94^\circ\text{C}$  预变性 5 min,  $94^\circ\text{C}$  变性 40 s,  $54^\circ\text{C}$  退火 30 s,  $72^\circ\text{C}$  延伸 40 s, 共 30 个循环, 终末  $72^\circ\text{C}$  延伸 10 min; 内参  $\beta$ -actin 上游 5'-TGA CGG GGT CAC CCA CAC-3', 下游 5'-CTA GAA GCA TTT GCG GTG GA-3', 产物 620 bp, 扩增条件:  $94^\circ\text{C}$  预变性 5 min,  $96^\circ\text{C}$  变性 30 s,  $55^\circ\text{C}$  退火 30 s,  $72^\circ\text{C}$  延伸 60 s, 共 30 个循环。取 5  $\mu\text{L}$  PCR 产物在含溴化乙锭的 1% 琼脂糖凝胶中电泳, 以 BioRad2000 凝胶

成像系统进行图像分析。引物均由 TaKaRa 公司合成, TapDNA 聚合酶购自上海生物工程有限公司, Trizol 试剂和 Superscript<sup>®</sup> II 逆转录试剂盒为美国 Gibco-BRL 公司产品。

### 1.5 免疫组织化学检测核因子 $\kappa$ B 亚单位 P65 的表达

4% 多聚甲醛处理玻片, 将 MDM 涂片, 固定, 透化, 封闭; 加第一抗体 (兔抗人 NF- $\kappa$ B P65 多克隆抗体) 与细胞内 NF- $\kappa$ B P65 蛋白结合, 加第二抗体 (生物素化羊抗兔 IgG) 与第一抗体结合, 滴加试剂 SABC, 滴加 DAB 显色; 苏木素复染, 脱水、透明、封片, 莱卡生物摄影显微镜照相, 北京航空工业大学 CM-2000B 型生物医学图像分析系统对显微镜图像进行全自动分析。兔抗人 NF- $\kappa$ B P65 多克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司, 淋巴细胞分离液、多聚甲醛、多聚赖氨酸、Triton-X 100、P-次苯基二胺二氢氯 (DABCO) 购自上海生物工程公司; FITC 标记的羊抗兔 IgG 购自 Santa Cruz Biotechnology 公司。

### 1.6 统计学方法

采用 SPSS13.0 统计软件包, 计量指标以  $\bar{x} \pm s$  表示, 计数指标用百分数表示。主要指标进行正态性检验, 组间均数比较采用 One-Way ANOVA 检验, 相关性分析用 Spearman 相关分析。本研究程序符合《赫尔辛基宣言》标准, 参与者入选时告知其实验程序及目的, 并取得所有参与者的同意。

## 2 结果

### 2.1 基础资料比较

因测定指标异常及资料不全 ACS 组剔除研究对象 4 例, SAP 组剔除研究对象 2 例。ACS 组高敏 C 反应蛋白 (high sensitive C-reactive protein, hs-CRP)、肌酸激酶 (creatinase, CK)、肌酸激酶同工酶 (creatinase isoenzyme, CK-MB) 及游离脂肪酸 (free fatty acid, FF) 水平显著高于 SAP 组 ( $P < 0.05$ ), 其它指标组间无显著性差异 (表 1)。

### 2.2 单核细胞源性巨噬细胞形态鉴定

倒置显微镜下可见细胞贴壁, 胞核呈圆形, 多数居中, 胞质透明, 周边有伪足伸出, 符合巨噬细胞特征 (图 1)。

### 2.3 上清液中基质金属蛋白酶 9 和组织型基质金属蛋白抑制剂 1 的浓度

ACS 组上清液中 MMP-9 浓度较 SAP 组明显升高 ( $231.11 \pm 51.47 \mu\text{g/L}$  比  $126.02 \pm 13.26 \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.001$ ), TMP-1 浓度也较 SAP 组明显升高

( $139.80 \pm 31.54 \mu\text{g/L}$  比  $112.25 \pm 12.68 \mu\text{g/L}$ ,  $P < 0.05$ )。

表 1. 基础资料比较

指 标	ACS 组	SAP 组
男/女 (例)	30/14	13/7
年龄 (岁)	$62.3 \pm 8.6$	$61.5 \pm 6.7$
体质指数 ( $\text{kg/m}^2$ )	$23.6 \pm 1.4$	$23.5 \pm 1.4$
吸烟 (例)	24 (54.5%)	11 (55.0%)
收缩压 (mmHg)	$140.3 \pm 15.8$	$138.2 \pm 19.6$
舒张压 (mmHg)	$83.1 \pm 11.1$	$84.4 \pm 12.2$
TC (mmol/L)	$4.0 \pm 0.85$	$4.1 \pm 0.76$
LDLC (mmol/L)	$2.67 \pm 0.64$	$2.48 \pm 0.71$
HDLc (mmol/L)	$1.03 \pm 0.23$	$1.03 \pm 0.16$
TG (mmol/L)	$1.35 \pm 0.63$	$1.69 \pm 0.83$
FF (mmol/L)	$0.61 \pm 0.28^a$	$0.42 \pm 0.24$
hs-CRP (mg/L)	$36.2 \pm 8.61^a$	$4.25 \pm 1.12$
CK (u/L)	$1067.3 \pm 314.7^a$	$66.9 \pm 16.6$
CK-MB (u/L)	$101.1 \pm 22.2^a$	$19.3 \pm 11.4$
空腹血糖 (mmol/L)	$6.81 \pm 1.82$	$5.36 \pm 1.15$

a 为  $P < 0.05$  与 SAP 组比较。

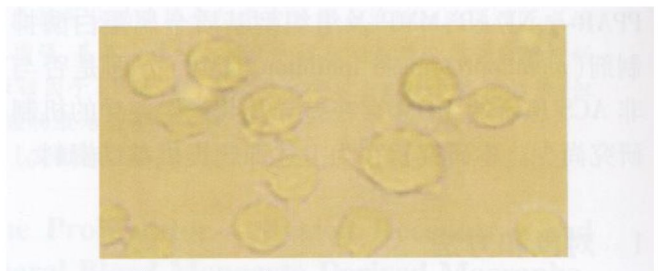


图 1. 显微镜下巨噬细胞 ( $\times 200$ )

### 2.4 过氧化体增殖物激活型受体 $\gamma$ 、基质金属蛋白酶 9 和组织型基质金属蛋白抑制剂 1 mRNA 的表达

ACS 组 MMP-9 和 TMP-1 mRNA 的表达明显高于 SAP 组 ( $P < 0.001$  和  $P < 0.05$ ), PPAR- $\gamma$  mRNA 的表达明显低于 SAP 组 ( $P < 0.05$  图 2)。

### 2.5 核因子 $\kappa$ B P65 的表达

ACS 组 NF- $\kappa$ B P65 的表达较 SAP 组明显升高 ( $P < 0.05$  图 3)。

### 2.6 相关性分析

MMP-9 和 TMP-1 浓度与相应的 mRNA 表达强度间存在良好的相关性 ( $P < 0.001$ ); MMP-9 浓度与 TMP-1 浓度呈正相关; PPAR- $\gamma$  mRNA 表达强度与 MMP-9 浓度及其 mRNA 表达强度、NF- $\kappa$ B P65 表达呈负相关 ( $P < 0.001$ ), 与 TMP-1 浓度及其 mRNA 表达强度不相关 ( $P > 0.05$ ); NF- $\kappa$ B P65 表达与

MMP-9和 TIMP-1浓度及其 mRNA 表达强度呈正相关 ( $P < 0.001$ ; 表 2)。

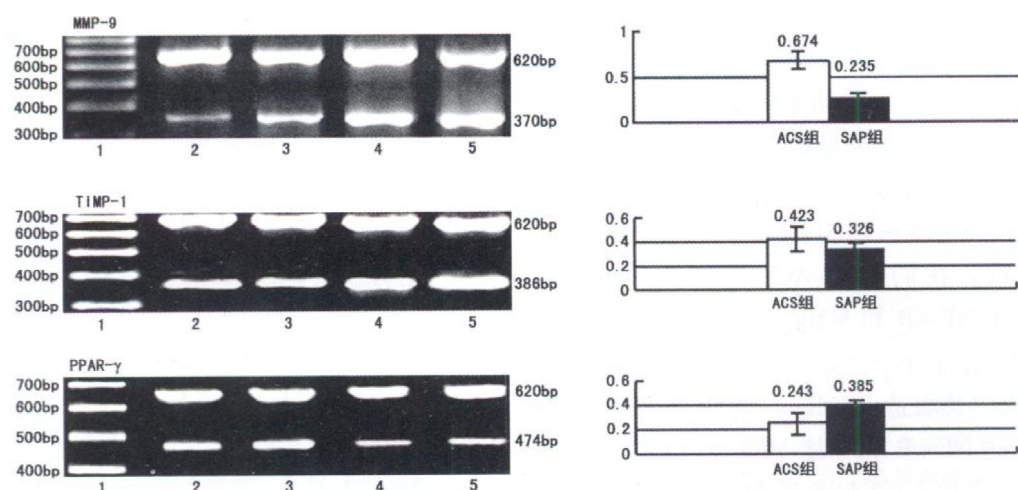


图 2 MMP-9、TIMP-1 和 PPAR-γ mRNA 的表达 1 为 Marker, 2 和 3 为 SAP 组, 4 和 5 为 ACS 组。



图 3 NF-κB P65 免疫组织化学染色 左为 ACS 组, 中为 SAP 组, 右为 NF-κB P65 阳性细胞数比较。\* 为  $P < 0.05$  与 SAP 组比较。

表 2 指标间相关系数

指 标	MMP-9 浓度	MMP-9 mRNA	TIMP-1 浓度	TIMP-1 mRNA	PPAR-γ mRNA	NF-κ B P65
MMP-9 浓度	1	0.932 <sup>b</sup>	0.351 <sup>b</sup>	0.264 <sup>b</sup>	-0.491 <sup>b</sup>	0.945 <sup>b</sup>
MMP-9 mRNA		1	0.323 <sup>b</sup>	0.195 <sup>a</sup>	-0.508 <sup>b</sup>	0.927 <sup>b</sup>
TIMP-1			1	0.765 <sup>b</sup>	-0.052	0.328 <sup>b</sup>
TIMP-1 mRNA				1	0.022	0.225 <sup>b</sup>
PPAR-γ mRNA					1	-0.448 <sup>b</sup>
NF-κ B P65						1

a 为  $P < 0.05$  b 为  $P < 0.001$ 。

### 3 讨论

PPAR-γ 是 PPAR 亚家族的一种配体依赖性转录因子, 主要分布于单核/巨噬细胞和脂肪细胞, 参与多种基因的转录调控, 对炎症因子基因的表达有重大影响。NF-κB 是重要的核转录因子, 参与炎症反应、免疫反应、细胞凋亡及肿瘤发生等多种生物进程。MMP-9 是 MMP 超家族中重要的一员, 能够特异地降解细胞外基质, 削弱纤维帽的结构, 促进斑块破裂。TIMP 是 MMP 的内源性特异性抑制物, TIMP-1 是作用最明显的一种, 其氨基酸功能区的半胱氨酸

酸残基与活化 MMP 的锌离子活性中心结合组成 MMP-TIMP 复合物, 从而阻断 MMP 与底物结合。研究显示, 在单核/巨噬细胞中, PPAR-γ 活化后可抑制肿瘤坏死因子 α 等促炎因子, MMP-9、MMP-3 等 MMP, 以及 C 反应蛋白等炎症标志物的表达<sup>[7-9]</sup>; 其作用可能是通过抑制具有上调炎症作用的 NF-κB、转录信息转导物和激活物和活化蛋白 1 等的活性而产生的<sup>[10-11]</sup>。

本研究中, ACS 组血清 hs-CRP、CK、CK-MB 水平明显高于 SAP 组, 提示 ACS 组存在更为严重的心肌损伤和炎症反应, 与我们以前的研究一致<sup>[12]</sup>。血清 FF 水平亦较 SAP 组升高, 考虑为 ACS 组存在应激反应, 脂肪组织分解增加所致。ACS 组血清中的这些指标改变可能对 MDM 功能变化有一定的影响, 但目前尚无研究报导对 MMD 表达 PPAR-γ、NF-κB、MMP-9 及 TIMP-1 造成明显的影响。ACS 组 MDM 培养上清液中 MMP-9 和 TIMP-1 浓度及其 mRNA 的表达均高于 SAP 组, NF-κB 亚单位 P65 表达也显著高于 SAP 组, 而 PPAR-γ mRNA 表达则显著低于 SAP 组, 提示来源于 ACS 组的 MDM 表达

PPAR- $\gamma$ 的能力低于 SAP组,而 NF- $\kappa$ B的活性及分泌 MMP-9、TIMP-1能力高于 SAP组。杨丽霞等<sup>[13]</sup>研究发现,ACS组外周血中 PPAR- $\gamma$  mRNA 表达比 SAP组明显降低,MMP-9比 SAP组明显增加,且 PPAR- $\gamma$  mRNA 表达与冠状动脉病变支数、病变类型呈负相关。舒平等<sup>[14]</sup>研究显示,ACS患者外周血单核细胞 NF- $\kappa$ B活性明显高于 SAP患者和正常人,表明 ACS患者外周血单核细胞 NF- $\kappa$ B显著激活;与本研究结果一致。我们推测 ACS患者 MDM 表达 PPAR- $\gamma$  mRNA、NF- $\kappa$ B和 MMP-9、TIMP-1与对照间差异可能原因有:①ACS患者单核细胞在向巨噬细胞分化的过程中其表达 PPAR- $\gamma$  mRNA 的能力低于正常人,而表达 NF- $\kappa$ B和分泌 MMP-9、TIMP-1的功能强于 SAP和正常人;②ACS患者单核巨噬细胞分化过程中处于活化状态的细胞数目较多,而这种激活状态的 MDM 表达 PPAR- $\gamma$  mRNA 下调,表达 NF- $\kappa$ B、MMP-9、TIMP-1上调;MDM 激活源于 ACS患者体内的细胞因子、炎症介质等对单核细胞刺激的后续效应;③由于 ACS患者 MDM 表达 PPAR- $\gamma$  下调,对 NF- $\kappa$ B活性的抑制减弱,使得 ACS患者体内促炎因子及炎症因子表达上调,继发性地促进 MMP-9和 TIMP-1表达。相关分析发现,上清液中 MMP-9和 TIMP-1浓度与相应的 mRNA 表达强度间存在良好的相关性,提示 MMP-9和 TIMP-1的调控可能主要在转录前。NF- $\kappa$ B活性与 MMP-9、TIMP-1表达强度呈正相关,提示 MDM 分泌 MMP-9、TIMP-1受到 NF- $\kappa$ B活性的正性调控,当 NF- $\kappa$ B活性高时,MMP-9、TIMP-1表达也增多。而 PPAR- $\gamma$  mRNA 表达强度与 MMP-9表达强度、NF- $\kappa$ B P65表达间的负相关则进一步证实在 MDM PPAR- $\gamma$ 激活后可通过抑制 NF- $\kappa$ B活性而在转录水平上抑制 MMP-9的表达。TIMP-1 mRNA 表达及上清液中浓度都与 PPAR- $\gamma$  mRNA 表达均不相关,提示 TIMP-1表达可能不受 PPAR- $\gamma$ 调节。

ACS患者外周血 MDM 表达 PPAR- $\gamma$ 下调,NF-

$\kappa$ B表达增强,表达 MMP-9上调;PPAR- $\gamma$ 可能通过调节 NF- $\kappa$ B活性而调节 MMP-9表达,但 TIMP-1表达可能不受 PPAR- $\gamma$ 调节。

#### [参考文献]

- [1] Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease [J]. *N Engl J Med*. 2005; **352** (16): 1685-695.
- [2] Mehra VC, Ramgolam VS, Bender JR. Cytokines and cardiovascular disease [J]. *J Leukoc Biol*. 2005; **78** (4): 805-818.
- [3] Deguchi JO, Akawa M, Tung CH, et al. Inflammation in atherosclerosis: visualizing matrix metalloproteinase action in macrophages in vivo [J]. *Circulation*. 2006; **114** (1): 55-62.
- [4] Derosa G, D'Angelo A, Scalise F, et al. Comparison between metalloproteinases-2 and -9 in healthy subjects, diabetics, and subjects with acute coronary syndrome [J]. *Heart Vessels*. 2007; **22** (6): 361-70.
- [5] 杨智勇,于海杰,李晓东. 急性冠状动脉综合征患者血清基质金属蛋白酶-9、C反应蛋白、白介素-6的变化及临床意义 [J]. *中国老年学杂志*, 2007; **27** (2): 259-260.
- [6] 赵水平,李毅夫,彭道泉,等. 急性冠状动脉综合征单核细胞过氧化物酶体增殖激活型受体  $\gamma$  基因表达及其细胞黏附分子相关性研究 [J]. *中华心血管病学杂志*, 2001; **29** (10): 580-583.
- [7] Tyagi N, Moshal KS, Sen U, et al. Ciglitazone ameliorates homocysteine-mediated mitochondrial translocation and matrix metalloproteinase-9 activation in endothelial cells by inducing peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  activity [J]. *Cell Mol Biol*. 2006; **52** (5): 21-27.
- [8] Odegaard JI, Ricardo-Gonzalez RR, Goforth MH, et al. Macrophage-specific PPAR $\gamma$  as a selective activation and improves insulin resistance [J]. *Nature*. 2007; **447** (6): 1116-1120.
- [9] Eposito K, Ciotala M, Carleo D, et al. Effect of rosiglitazone on endothelial function and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome [J]. *Diabetes Care*. 2006; **29** (5): 1071-076.
- [10] Pascual G, Fong AI, Ogawa S, et al. A SUMOylation-dependent pathway mediates transrepression of inflammatory response genes by PPAR- $\gamma$  [J]. *Nature*. 2005; **437** (9): 759-763.
- [11] Bouhlel MA, Derudas B, Riccardi C, et al. PPAR $\gamma$  activation primes human monocytes into alternative M2 macrophages with anti-inflammatory properties [J]. *Cell Metab*. 2007; **6** (2): 137-143.
- [12] Luo YM, Jiang DQ, Wen D, et al. Changes in serum interleukin-6 and high-sensitivity C-reactive protein levels in patients with acute coronary syndrome and their responses to simvastatin [J]. *Heart and Vessels*. 2004; **19** (6): 257-262.
- [13] 杨丽霞,杨霞,齐峰,等. 冠心病患者外周血核转录因子 PPAR $\gamma$ 和 MMP-9表达的临床研究 [J]. *中国医师杂志*, 2007; **9** (4): 441-443.
- [14] 舒平,刘迪,周惠云. 急性冠状动脉综合征患者外周血单核细胞核因子  $\kappa$ B活性的变化及其意义 [J]. *中国急救医学*, 2005; **25** (8): 556-558.

(此文编辑 文玉珊)