

• 实验研究 •

[文章编号] 1007-3949(2009)17-11-0912-05

## 米诺环素抗兔动脉粥样硬化作用及机制

周军<sup>1</sup>, 周丽<sup>1</sup>, 曾庆仁<sup>2</sup>

(中南大学 1. 湘雅三医院, 2. 湘雅医学院, 湖南省长沙市 410013)

[关键词] 动脉粥样硬化; 米诺环素; 组织病理学; 基质金属蛋白酶; 巨噬细胞

[摘要] **目的** 观察米诺环素对动脉粥样硬化斑块干预治疗后基质金属蛋白酶的分子病理学改变, 评价该药对动脉粥样硬化的治疗效果, 并分析其作用机制。**方法** 40只新西兰兔, 随机取5只设为正常对照组。另35只建立动脉粥样硬化斑块兔模型(经腹主动脉使用兔气囊致动脉去上皮化损伤, 并连续用高脂饲料喂养3个月)后, 除在实验过程死亡或患病5只兔外, 其余随机分4组, 即动脉粥样硬化模型组(8只, 继续高脂喂养1个月)、普食恢复组(7只, 改用常规饲料喂养1个月)、氟伐他汀组[7只, 给予氟伐他汀1 mg/(kg·d)连续干预治疗1个月]和米诺环素组[8只, 连续给予米诺环素3 mg/(kg·d)治疗1个月]。各组动物分别麻醉后处死并切取腹主动脉, 按常规石蜡包埋切片, 以Masson染色法观察动脉粥样硬化斑块病理形态学变化, 免疫组织化学法检测动脉粥样硬化斑块内炎症细胞及基质金属蛋白酶表达水平, 原位杂交Tunel染色法检测细胞凋亡。**结果** 动脉管壁组织经Masson染色观察显示, 正常对照组未见异常病理变化, 模型组和普食恢复组均呈现典型动脉粥样硬化病变特征, 而米诺环素和氟伐他汀两治疗组病变明显减轻, 尤以前者改善突出。各组动脉粥样硬化斑块巨噬细胞含量及基质金属蛋白酶3和9的表达水平与病变程度相一致, 前三者间在各组动物中的表达水平均呈正相关关系( $P < 0.001$ )。斑块内巨噬细胞含量、基质金属蛋白酶3和9的水平在米诺环素组均显著低于模型组和普食恢复组( $P < 0.05$ ), 且在米诺环素组可见平滑肌细胞明显增加。**结论** 米诺环素具有改善动脉粥样硬化病变程度和稳定动脉粥样硬化斑块的作用。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### Resistance Effect and Mechanism of Minocycline Against Atherosclerosis in Rabbit

ZHOU Jun<sup>1</sup>, ZHOU Li<sup>1</sup>, and ZENG Qing-Ren<sup>2</sup>

(1 The Third Xiangya Hospital, 2 Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha 410013, China)

[KEY WORDS] Atherosclerosis; Minocycline; Histopathology; Matrix metalloproteinases; Macrophages

[ABSTRACT] **Aim** To observe the effect of minocycline on atherosclerosis (As) after the treatment of atherosclerosis plaque-intervention with changes in the level of molecular pathology, evaluate drug effects on treatment of As and analyze its mechanism. **Methods** 5 as normal control group were randomly taken from 40 New Zealand rabbits. 35 rabbits were used as atherosclerotic animal model after balloon-induced arterial injury to the epithelium and use of high-fat diet for 3 months. In addition to death or illness of five rabbits during experiment, remaining 30 rabbits were randomly divided into 4 groups: namely, model group (8 rabbits, high fat diet for 1 month), reconverted normal diet group (7 rabbits, conventional feeding for 1 month), fluvastatin treatment group (7 rabbits, given fluvastatin 1 mg/(kg·d) intervention for 1 month); minocycline treatment group (8 rabbits, given minocycline with a dose on 3 mg/(kg·d)). The animals were sacrificed and the abdominal aorta in each group were cut, paraffin-embedded sections, Masson staining were used to observe the morphological changes of As plaque and inflammatory cells, expression levels of matrix metalloproteinases (MMP) were examined with the immunohistochemical staining, using in situ hybridization-Tunel staining detection of apoptotic cells in As plaque of these animal. **Results** Histopathology artery wall by Masson staining showed no pathological changes in normal group, model control group and reconverted normal diet group showed the typical features of As lesions, and two groups with treatment of the minocycline and fluvastatin significantly reduce the pathological change, especially the former. In plaque of As of each group macrophage (RAM-11) and expression levels of matrix metalloproteinase (MMP-3 and MMP-9) had positive correlation ( $P < 0.001$ ). But macrophage content in plaque and MMP expression level in the minocycline treatment and the fluvastatin treatment group were significantly lower compared with the model control group ( $P < 0.05$ ). And smooth muscle cells markedly increased in minocycline group. **Conclusion** Minocycline can relieve severity of As treatment of diseases and improve the stability of atherosclerotic plaque.

不少研究证明, 在动脉粥样硬化 (As) 斑块中, 基质金属蛋白酶 1 (matrix metalloproteinases-1, MMP-

[收稿日期] 2009-07-06

[修回日期] 2009-10-05

[作者简介] 周军, 副教授, 研究方向为老年神经与血管分子病理学, E-mail为 jun@xy3yy.com。曾庆仁, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为病原生物学特性。

1)和 2、3、7、9、12、13 表达远高于正常内膜, MMP 能降解多糖以外的全部细胞外基质 (ECM)成分, 降解纤维帽从而影响斑块稳定, 其中 MMP-2和 MMP-9 可促进中膜平滑肌细胞 (SMC)增殖<sup>[1,2]</sup>。斑块中巨噬细胞来源的泡沫细胞与 SMC 在多种细胞因子的刺激下, 可持续分泌 MMP-1、2、3、9、12 和 13 从而进一步增加斑块的不稳定。米诺环素是四环素类抗菌素的衍生物, 使用后在组织中的含量远高于四环素的分布量, 能抑制细菌蛋白质合成发挥抗炎作用<sup>[3]</sup>。近年来, 有研究发现这类药物具有抑制 MMP 的作用。为了证明米诺环素对 As 的治疗效果, 并阐明其作用机制, 本研究在重点观察米诺环素的作用与改变膳食和他汀类治疗进行比较基础上, 还探索了 MMP 的表达与巨噬细胞浸润及细胞凋亡间的关系, 评估了米诺环素对斑块的抗炎和抗凋亡作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 动物来源、分组及取材

体重为 3.0~4.0 kg 的成年雄性新西兰白兔 (由 Nanula 实验室提供) 40 只, 随机取 5 只作正常对照组 (连续正常饲料喂养 4 个月), 另 35 只用于建立 As 动物模型, 即在腹主动脉使用兔气囊致动脉去上皮化损伤造模, 用 0.5% 胆固醇和 6% 花生油喂养 3 个月。由于在实验过程 As 模型兔中出现 3 只死亡和 2 只患病, 所以剩下 30 只 As 模型兔被随机分为 4 组, 即 As 模型组 (8 只兔, 继续高脂饮食连续喂养 1 个月)、普食恢复组 (7 只兔, 改用正常饲料喂养 1 个月)、氟伐他汀组 [7 只兔, 用氟伐他汀 1 mg/(kg·d) 干预治疗 1 个月] 和米诺环素组 [8 只兔, 用米诺环素 3 mg/(kg·d) 服用 1 个月]。实验结束后, 分别麻醉后处死各实验兔, 切取主动脉 (每只兔 10 小段), 投入新鲜配制含 4% 多聚甲醛固定液中置 4℃ 过夜, 次日置换缓冲液, 各组织均按常规石蜡包埋切片 (5 μm) 作 Masson 染色、免疫组织化学染色及细胞凋亡分析。

### 1.2 组织切片 Masson 染色

石蜡切片经二甲苯及各级酒精脱蜡后, 入饱和苦味酸溶液 56℃ 作用 1 h, 自来水洗涤, 用 Weigert 苏木素溶液染色 10 min, 置 1% 丽春红-酸性品红染色 5 min, 2% 磷钨酸分色, 用 0.5% 安尼林兰水溶液染色 8 min 显示胶原纤维, 1% 醋酸分色, 蒸馏水稍洗, 干后经酒精和二甲苯逐级脱水, 中性树脂封片, 镜下观察, 进行 As 斑块病理学评估。As 斑块病理学特征的组织学评估方法均按美国心脏学会

(AHA) 修订的 As 病理分类标准<sup>[4]</sup>进行。

### 1.3 免疫组织化学法检测动脉粥样硬化斑块内基质金属蛋白酶表达水平及炎症细胞量

取脱蜡切片投入 PBS 缓冲液, 经抗原修复液 (Vector H-3300) 80℃ 水浴箱内存放 20 min, 自然冷却后, 缓冲液清洗 2 次, 再入 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液置室温处理 20 min, 以消除内源性过氧化物酶。然后, 将切片孵育在 2% 小牛血清溶液中 1 h, 以减少非特异性反应。在继后的免疫组织化学中, 设计了 3 方面的检测: ①观察炎症反应的巨噬细胞指标, 采用美国 Dako 公司生产的抗巨噬细胞单克隆抗体 (RAM-11, 产品号 550292, 1: 1000) 检测组织切片中巨噬细胞量; ②观察平滑肌细胞指标, 采用美国 R&D System 公司生产的抗  $\alpha$ -actin 单克隆抗体 (产品号 MAB142Q, 1: 2000) 检测平滑肌组织中  $\alpha$ -actin; ③As 斑块内 4 种基质金属蛋白酶表达水平, 即 MMP-1 (Calbiochem 公司 M35L, 1: 200)、MMP-2 (Calbiochem 公司 M33L, 1: 20)、MMP-3 (Triple Point Biologics 公司 MABMMP3, 1: 1000) 和 MMP-9 (Abcam 公司 ab2463, 1: 20), 实验均用 MMP 单克隆抗体。实验中所用一抗均经 1% 小牛血清与 0.15% Triton X-100 (Sigma) 缓冲液配制。切片孵育在一抗溶液 4℃ 过夜, 次日加相应二抗工作液 (1: 400) 室温孵育 2 h, 缓冲液洗涤 3 次后再加生物素与卵白素 (ABC) 试剂盒配置的混合液中孵育 1 h。底物呈色反应采用 DAB 试剂盒。所有二抗、ABC 和 DAB 试剂盒均购自美国 Vector 公司。最后切片经逐级脱水并用加拿大中性树脂封片。

### 1.4 原位杂交 TUNEL 染色法检测细胞凋亡

取脱蜡切片投入 PBS 缓冲液, 经蛋白酶 K (1 mg/L) 室温下孵育 15 min, 以利探针穿透。切片入预杂交缓冲液 30 min, 然后在每张切片上滴加脱氧核糖核苷酸末端转移酶 (Tase 1: 1000) 和地高辛标记的寡核苷酸探针 [DIG-11-dUTP 1: 500] (美国 Roche 公司, 产品号 Tase 03 333 574 001; DIG-11-dUTP, 11 558 706 910) 杂交混合液, 覆以蜡膜, 在 37℃ 作 DNA 原位杂交 3 h。切片经 2×SSC 溶液逐级洗涤后, 再滴加抗地高辛-抗血清碱性磷酸酶复合物 (1: 1000 Roche 公司, 11093274910) 37℃ 孵育 2 h, 用 TSM 2 缓冲液终止反应, 并采用 NBT/BCIP 溶液显色, 显微镜下观察 As 斑块内出现有紫蓝色的阳性细胞反应时则终止显色, 用水溶性封片剂封片。

### 1.5 统计学处理

采用 Ver 3.00 程序软件作图像数字采集及半定量分析, 以着色面积占组织切片总面积的比例为

标志物免疫组织化学阳性数值。每组动物取其图象数字均数用 ANOVA 统计分析炎细胞和 MMP 的组间差异。

## 2 结果

### 2.1 兔动脉管壁病理组织结构特征的差异

Masson 染色发现正常对照组主动脉形态正常, 内皮细胞连接紧密, 表面光滑, 内膜无脂质沉积, 含少量胶原纤维和平滑肌纤维, 弹力纤维分布均匀, 弹力板完整, 未见异常改变。模型组呈典型 As 斑块表现, 内皮细胞广泛损伤脱落, 内皮下间隙明显增宽, 浅层有少量 SMC, 含大量充满脂肪滴的巨嗜细胞及脂质沉积, 形成粥样斑块病灶, 典型病灶可见粥样核心和外周纤维帽。普食恢复组、氟伐他汀组和米诺环素组动脉管壁斑块较小, 纤维帽中基质纤维成分增多, SMC 密度增加, 分布较匀, As 的纤维帽形状变小, 巨噬细胞、泡沫细胞和凋亡细胞数量减少, 但多数内弹力板厚薄不均, 有的分离、断裂, 甚至消失。中膜 SMC 增殖。氟伐他汀组较普食恢复组病变稍轻, 泡沫细胞层数减少, 少见或未见弹力板断裂。米诺环素组病变程度最轻, 约 30% 主动脉壁无病变, 内膜、中膜和外膜均清晰可见, 各层结构正常, 70%

病变主动脉内膜轻微增厚, 内皮细胞下有少量泡沫细胞聚集, 弹力板基本完整(图 1)。

RAM-11 免疫组织化学染色结果表明, 斑块内的巨噬细胞量以模型组为最多, 模型组主动脉壁可观察到大量含脂滴的泡沫细胞(制片已被溶解所致), 在粥样核心浅层和外周纤维帽肩区明显, 30% 的肌层有巨噬细胞浸润; 在普食恢复组巨噬细胞的表达较少, 主动脉肌层几乎很少发现泡沫细胞; 氟伐他汀组和米诺环素组巨噬细胞浸润也明显减少(图 1)。半定量分析表明, As 斑块内 RAM-11 的含量在模型组水平最高, 其次是普食恢复组, 米诺环素组和氟伐他汀组均低于普食恢复组, 但只有米诺环素组与普食恢复组间差异有显著性( $P < 0.05$  表 1)。

$\alpha$ -actin 免疫组织化学染色结果发现, 模型组可见内膜浅层仅有稀疏的 SMC, 细胞排列不整齐, 分布不匀; 普食恢复组和氟伐他汀组 SMC 有增多的趋势, 平滑肌排列也较为整齐; 而在米诺环素组可见 SMC 明显增多(图 1)。

原位杂交 TUNEL 染色结果发现, 模型组凋亡细胞比正常对照组显著增多, 阳性细胞呈弥漫状或不规则分布, 普食恢复组、氟伐他汀组和米诺环素组凋亡细胞呈逐渐递减趋势, 阳性细胞分散存在(图 1)。

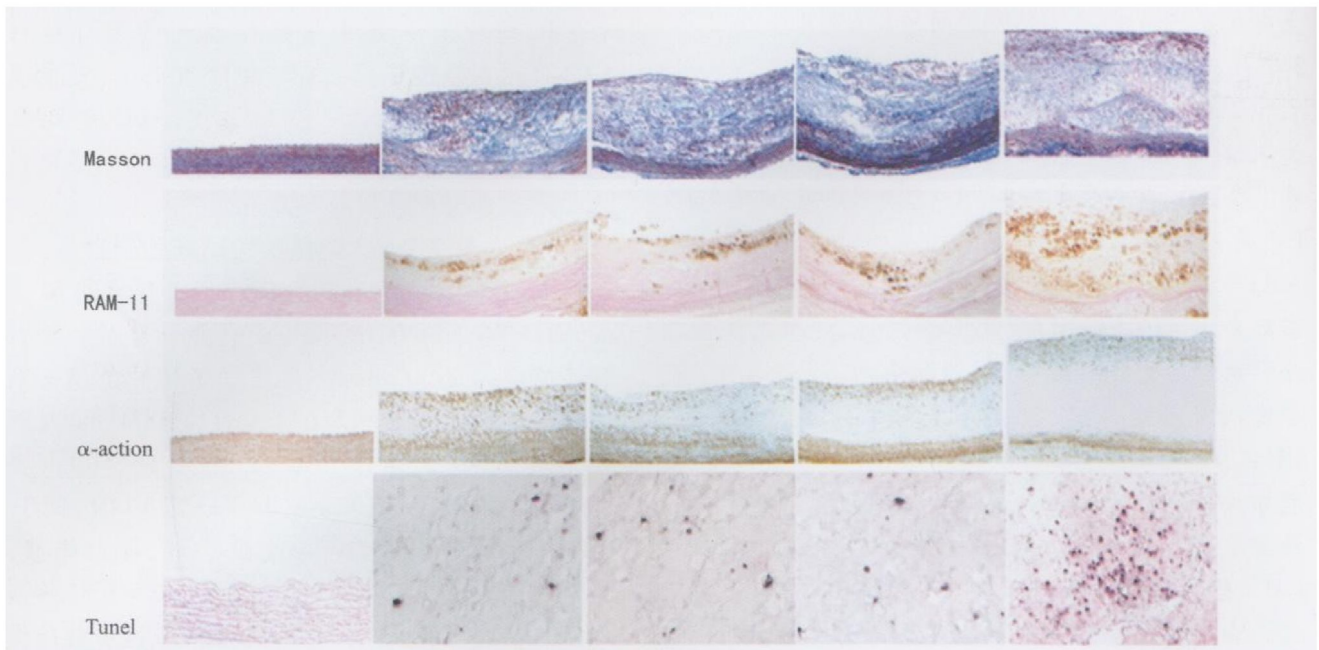


图 1 兔动脉血管壁组织经 4 种方法染色结果 从上到下依次为 Masson 组织学染色 ( $\times 100$ )、RAM-11 和  $\alpha$ -actin 免疫组织化学染色 ( $\times 100$ ) 及原位杂交 TUNEL 染色 ( $\times 400$ ); 从左到右依次为正常对照组、米诺环素组、氟伐他汀组、普食恢复组和模型组。

### 2.2 兔动脉粥样硬化斑块中 4 种基质金属蛋白酶的表达水平

免疫组织化学检测结果(图 2)发现, 除正常对

照组表现为阴性结果外, 其余四组兔的 As 斑块内均可见呈明显阳性反应的棕黄色颗粒, 主要分布在炎性细胞和泡沫细胞内, 广泛分布在 As 斑块的肩区及

一些核心坏死区。4种 MMP 中,尤以 MMP-9 阳性反应颗粒为最强,分布最广。半定量测量分析表明,As 斑块内 MMP-3 和 MMP-9 表达水平均随斑块组织病变程度加大而增加,即模型组水平最高,其次是普

食恢复组,米诺环素组和氟伐他汀组均低于普食恢复组,但仅米诺环素组与普食恢复组间差异有显著性 ( $P < 0.05$  表 1)。

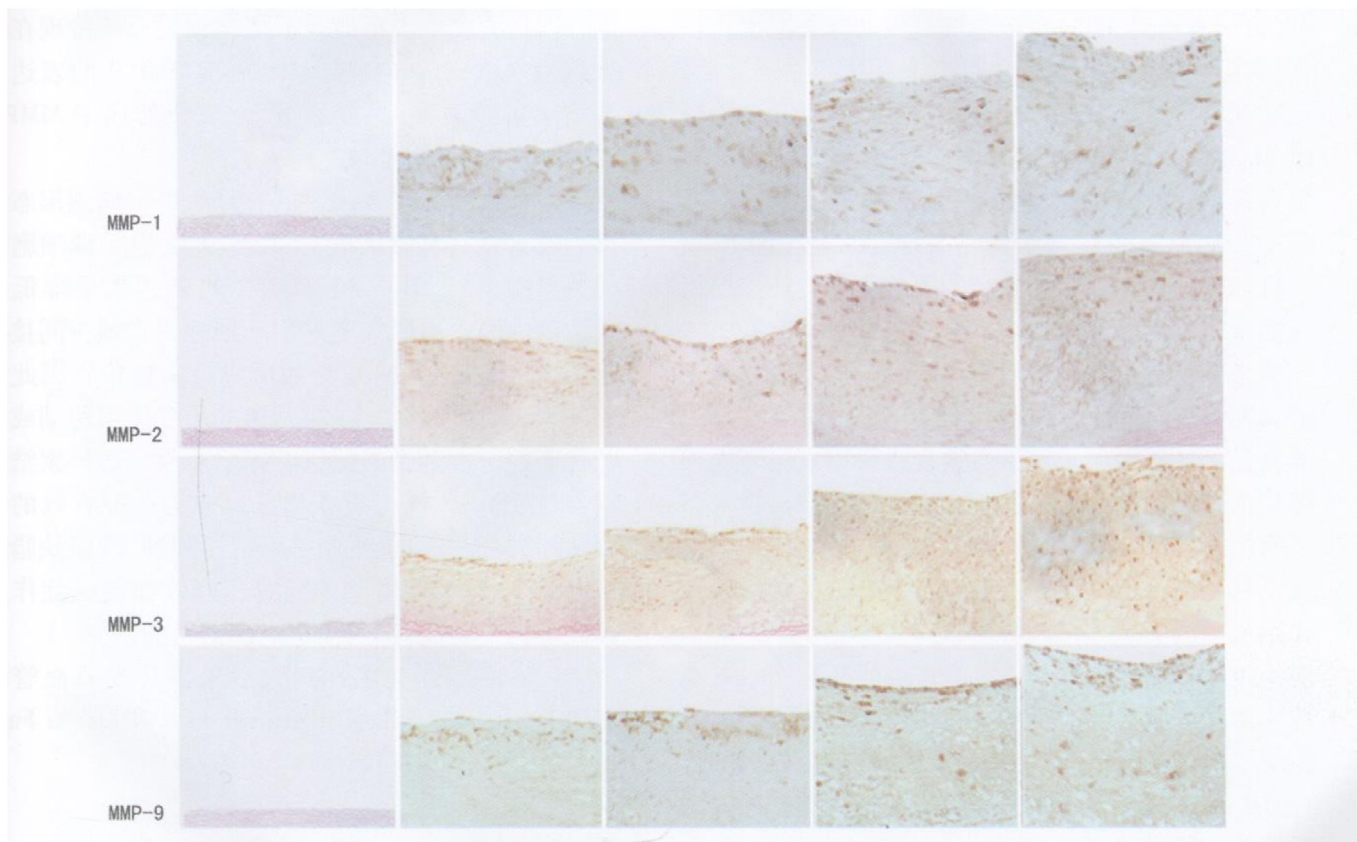


图 2 免疫组织化学法检测兔腹主动脉内膜 4 种基质金属蛋白酶的表达 ( $\times 400$ ) 从左到右依次为正常对照组、米诺环素组、氟伐他汀组、普食恢复组和模型组。

表 1 兔腹主动脉中巨噬细胞含量和基质金属蛋白酶的表达水平

指 标	正常对照组	模型组	普食恢复组	米诺环素组	氟伐他汀组
RAM-11	0	$3.82 \pm 1.43$	$2.50 \pm 0.74^a$	$1.40 \pm 0.97^{ac}$	$2.10 \pm 0.95^a$
MMP-1	0	$0.21 \pm 0.10$	$0.13 \pm 0.05^b$	$0.12 \pm 0.07^b$	$0.12 \pm 0.09^b$
MMP-2	0	$0.48 \pm 0.16$	$0.13 \pm 0.06^a$	$0.13 \pm 0.09^a$	$0.11 \pm 0.07^a$
MMP-3	$0.01 \pm 0.01$	$0.30 \pm 0.14$	$0.23 \pm 0.11^a$	$0.14 \pm 0.04^{ac}$	$0.21 \pm 0.06^a$
MMP-9	0	$0.58 \pm 0.24$	$0.36 \pm 0.11^a$	$0.24 \pm 0.20^{ac}$	$0.28 \pm 0.22^a$

a为  $P < 0.05$ , b为  $P < 0.01$ , 与模型组比较; c为  $P < 0.05$  与普食恢复组比较。

### 2.3 动脉粥样硬化斑块内巨噬细胞含量与基质金属蛋白酶的关系

相关分析表明,在 5 个不同处理组中, RAM-11 与 MMP-3 ( $r = 0.834$ ,  $P < 0.001$ ) 和 MMP-9 ( $r = 0.963$ ,  $P < 0.0001$ ) 表达水平均呈正相关关系。

## 3 讨论

当前用于治疗 As 的药物主要有阿托伐他汀、普罗布考等,其中以他汀类药物最为常用,其效果报道

较多<sup>[5-7]</sup>。米诺环素用于 As 的治疗仅停留在研究阶段,并且研究报道不多<sup>[8]</sup>。为进一步论证米诺环素对 As 的治疗效果,并阐述其作用机制,本研究选择新西兰兔建立 As 模型,根据 As 组织病理学形态和其发生的主要机制,采用病理组织学、免疫组织化学和原位杂交法对兔的动脉管壁进行了形态学、细胞凋亡、炎症细胞量变、平滑肌细胞产生和间接反映斑块纤维化病变程度的 4 种 MMP 表达水平的观察、检测和分析,来评价米诺环素治疗兔 As 的效果,以

期为临床选择该药治疗 As 病患者提供实验依据。

本研究用 Masson 染色观察到高脂喂养 4 个月组和高脂喂养 3 个月转为正常饲料喂养组的兔腹主动脉管壁内有大量斑块形成, 并呈现 As 病理学特征, 证明本研究 35 只兔经兔气囊致动脉去上皮化损伤后在高脂高胆固醇饮食持续 3 个月喂养诱导后, 成功获得了 As 动物模型, 而且还发现两个药物治疗组 As 斑块病变明显减轻, 尤其是在米诺环素组改善更为突出, 并可见平滑肌细胞形成和凋亡细胞减少。进一步用免疫组织化学检测发现, As 斑块内 RAM-11、MMP-3 和 MMP-9 分子的表达水平均随斑块组织病变程度加大而增加, RAM-11、MMP-3 和 MMP-9 三项指标的水平在米诺环素组和氟伐他汀组均低于普食恢复组, 但只有米诺环素组与普食恢复组间差异有显著性。说明采用普通饮食或采用米诺环素或氟伐他汀干预治疗均有助于 As 斑块的改善, 且米诺环素治疗效果优于普通饮食和氟伐他汀的作用。

目前已公认, MMP 是一组具有相同功能区域和作用机制的细胞外基质蛋白水解酶家族, 主要由 As 斑块内单核巨噬细胞产生。当斑块的纤维帽中有高浓度巨噬细胞浸润时, 纤维帽一方面失去了严密的组织结构, 另一方面巨噬细胞分泌的细胞因子如 IL-1、TNF- $\alpha$ 、TNF- $\gamma$  和 MMP 等增多, 纤维帽基质被广泛降解, 斑块趋向不稳定<sup>[1]</sup>。现已发现 20 多种 MMP 分子, 其中 MMP-3 可广泛降解 ECM 成分, 并能将其它类型 MMP 如 MMP-1、MMP-2 和 MMP-9 等由酶原形式转化成活性 MMP。As 斑块破裂常基于纤维帽的削弱过程, 斑块中的巨噬细胞过度分泌 MMP, 而 MMP 能降解除粥样斑块以外的全部 ECM 成分。在不稳定斑块中, 能产生 MMP 的巨噬细胞数量增多, 活性增高而修复作用的平滑肌细胞却因炎症因子的刺激和凋亡等原因减少, 胞外基质的合成与降解不平衡导致基质急剧减少, 结果是纤维帽的基质成分减少, 形状变薄, 从而易于破裂<sup>[9]</sup>。ECM 主要成份由胶原、糖蛋白、蛋白多糖和氨基葡聚糖组成。而 MMP-1(间质胶原酶) 主要是作用于间质胶原, 如 iv、 $\alpha$ 1 和  $\alpha$ 2 型胶原等, MMP-3(间充质溶解素 1) 作用的底物主要是基质中的蛋白多糖和糖蛋白, 而 MMP-9 则主要降解变性胶原和基膜的主要成分  $\alpha$ 2 型胶原。它们通过参与炎症, 影响细胞外基质形态发生和组织重塑等, 使疾病得到发生发展的加速变化过程。

本研究发现, 在 As 模型组兔血管壁可见到大量巨噬细胞, TUNEL 反应阳性细胞和稀疏的平滑肌细

胞以及 4 种 MMP 高水平表达在内膜; 氟伐他汀组斑块内 4 种 MMP 和 TUNEL 反应阳性细胞减少, 平滑肌细胞含量有所增加; 米诺环素组可见浸润的巨噬细胞以及凋亡细胞均显著减少, 平滑肌细胞密度增加, MMP 的表达水平显著下降。相关分析发现在各处理组中 RAM-11 与 MMP-3 和 MMP-9 的表达水平均呈正相关关系, 提示在 As 斑块形成中 MMP-3 和 MMP-9 的表达量与炎症有关。

作为判断治疗 As 效果的指标, 组织病理形态学得到改善是其直接依据, 不稳定斑块中巨噬细胞浸润数量减少、MMP-3 和 MMP-9 的表达水平降低以及血管内膜平滑肌细胞发生和细胞凋亡减少间接揭示了炎症改善、组织修复和斑块趋向稳定。因此我们认为, 米诺环素对 As 模型兔的治疗作用达到或可能优于他汀类药物的效果。提示使用米诺环素结合饮食改变治疗 As 可能在临床上成为一种有效的干预治疗方法, 其可能机制是降低胆固醇, 使斑块脂质核心减少、纤维帽增厚的同时还有效抑制炎症作用和改善内皮功能, 达到稳定斑块的目的。

(致谢: 感谢美国加州大学尔湾分校心血管研究室 Dr Jagat Narula、Dr Artiom Petrov 和 Dr Ai Fujimoto 提供的大力支持)。

#### [参考文献]

- [1] Newby Dual Andrew? C. Role of matrix metalloproteinases (Matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture [J]. *Physiol Rev*, 2005 **85**: 1-31.
- [2] Mc Geehan GM, Becherer JD, Bast RC Jr et al. Regulation of tumor necrosis factor processing by a metalloproteinase inhibitor [J]. *Nature*, 1994 **370**: 558-561.
- [3] Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis: a report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995 **15**: 1512-1531.
- [4] Weissberg P. Mechanisms modifying atherosclerotic disease—from lipids to vascular biology [J]. *Atherosclerosis*, 1999 **147** (suppl 1): S3-S10.
- [5] 衣桂燕, 杨庭树, 李云芝, 等. 普罗布考和阿托伐他汀联合用药对高脂饮食自发性高血压大鼠肝脏的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2009 **17** (2): 117-121.
- [6] Maria N kodenova, Watters JJ, Jackson SJ et al. Minocycline down-regulates MHC II expression in microglia and macrophages through inhibition of IRF-1 and protein kinase C (PKC)  $\alpha/\beta$  II [J]. *Biol Chem*, 2007 **282** (20): 15208-216.
- [7] Fujimoto Shinichiro, Hartung Dagnar, Ohshima Satou, et al. Molecular imaging of matrix metalloproteinase in atherosclerotic lesions: resolution with dietary modification and statin therapy [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2008 **52** (23): 1847-857.
- [8] Peter Lipp. Inflammation in atherosclerosis [J]. *Nature*, 2002 **420** (19/26): 868-874.
- [9] Lofus M, Thompson MM. The role of matrix metalloproteinases in vascular disease [J]. *Vascular Med*, 2002 **7**: 117-133.

(此文编辑 许雪梅)