

基因调控

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000078

抵抗素调节人冠状动脉内皮细胞 MMP-9 表达机制探讨

司菲菲¹, 刘芮汐¹, 宋思捷¹, 易岂建²

(1. 儿童发育疾病研究省部共建教育部重点实验室、儿科学重庆市重点实验室、重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地, 重庆 400014; 2. 重庆医科大学附属儿童医院心脏中心, 重庆 400014)

【摘要】目的:探讨抵抗素调节冠状动脉内皮细胞中基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)-9 的表达及其机制。**方法:**用含 1% 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)的 DMEM/F12 培养基培养人冠状动脉内皮细胞(human coronary artery endothelial cells, HCAECs) 16 h(血清饥饿培养), 之后随机分为 6 组: (1)空白对照(Con)组: 无抵抗素干预; (2)Res20 组: 抵抗素 20 ng/ml 干预; (3)Res40 组: 抵抗素 40 ng/ml 干预; (4)Res100 组: 抵抗素 100 ng/ml 干预; (5)Res40+U0126 组: 细胞中加入细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)抑制剂 U0126(20 mmol/L)预处理 1 h, 再加入抵抗素 40 ng/ml 干预; (6)U0126 组: 细胞中仅加入 ERK 抑制剂 U0126(20 mmol/L), 细胞各组干预 24 h 后, 用 RT-PCR 法检测 MMP-9 和蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)-1 mRNA 表达, ELISA 法检测 MMP-9 和 TIMP-1 蛋白水平, Western blot 检测 HCAECs p-ERK1/2 及 ERK1/2 的蛋白表达。**结果:**3 种浓度抵抗素干预 HCAECs 24 h 后, MMP-9 mRNA 与蛋白水平均较空白组明显升高($P<0.05$); TIMP-1 mRNA 与蛋白水平均较空白组明显降低($P<0.05$)。40 ng/ml 抵抗素干预组加入 ERK 抑制剂 U0126 后, MMP-9 mRNA 与蛋白水平明显下降($P<0.05$), TIMP-1 mRNA 与蛋白无明显变化。与 Con 组、U0126 组及 Res40+U0126 组相比, Res40 组 p-ERK1/2 蛋白表达明显增高($P<0.05$)。**结论:**抵抗素可诱导 HCAECs MMP-9 的生成, 可能通过下调 TIMP-1 的表达及激活 ERK 通路参与这一过程。

【关键词】抵抗素; 基质金属蛋白酶-9; 蛋白酶抑制剂-1; 人冠状动脉内皮细胞**【中图分类号】**R725.4**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-06-02

Effect of resistin on MMP-9 in human coronary artery endothelial cells

Si Feifei¹, Liu Ruixi¹, Song Sijie¹, Yi Qijian²

(1. Key Laboratory of Child Development and Disorder Co-founded by Provincial Government and Ministry of Education, Key Laboratory of Pediatrics in Chongqing, Chongqing International Science and Technology Cooperation Center for Child Development and Disorders; 2. Heart Center, the Children's Hospital, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the expression of matrix metalloproteinases-9(MMP-9) in human coronary artery endothelial cells (HCAECs) and to explore its underlying mechanism. **Methods:** HCAECs were incubated by 1% fetal bovine serum(FBS) in DMEM/F12 culture medium in six different group: (1)blank control (Con)group: without resistin; (2)Res20 group: with 20 ng/ml resistin; (3)Res40 group: with 40 ng/ml resistin; (4)Res100 group: with 100 ng/ml resistin; (5)Res40+U0126 group: incubating HCAECs with ERK inhibitor U0126 (20 mmol/L) pretreatment for 1 h, then adding 40 ng/ml resistin; (6)U0126 group: with ERK inhibitor U0126 (20 mmol/L). After 24 h, MMP-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1(TIMP-1) mRNA and protein levels were measured by RT-PCR and ELISA. HCAECs p-ERK1/2 and ERK1/2 protein levels were measured by Western blot. **Results:** Compared with those in Con group, MMP-9 mRNA and protein levels were increased in Res20, Res40, Res100 groups ($P<0.05$) and TIMP-1 mRNA and protein levels were decreased ($P<0.05$). MMP-9 mRNA and protein levels in Res 40+U0126 group were lower than those in Res40 group ($P<0.05$) while there is no obvious change of TIMP-1 mRNA and protein levels. Compared with those in Con group, U0126 and Res40+U0126 group, p-ERK1/2 protein levels were higher in Res40 group ($P<0.05$). **Conclusions:** Expression of resistin can down-regulate the TIMP-1 and induce MMP-9 synthesis. The ERK1/2 is involved in MMP-9 expression in HCAECs exposed to re-

sistin. These results suggest an active role of resistin in the pathophysiology of resistin-induced cardiovascular disease.

【Key words】resistin; matrix metalloproteinases-9; tissue inhibitor of metalloproteinase; human coronary artery endothelial cells

作者介绍: 司菲菲, Email: sifeifei211@163.com,

研究方向: 小儿心血管疾病。

通信作者: 易岂建, Email: qji2003@yahoo.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81270412)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyxh.000078.html>

抵抗素是一种最新发现的脂肪因子,目前认为抵抗素与内皮功能、冠脉钙化、动脉粥样硬化等血管炎症有密切联系^[1-3]。本课题组前期研究发现,川崎病(Kawasaki disease, KD)伴冠状动脉损伤患儿血清中抵抗素水平较正常儿童明显升高^[4],提示抵抗素可能与冠状动脉损伤有一定关系,其机制目前尚不清楚。有研究表明抵抗素可刺激血管平滑肌细胞表达基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)-9,并且可降低人平滑肌细胞及绒癌细胞中蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)-1的表达^[5-6]。TIMPs 通过抑制 MMPs 活性从而阻断细胞外基质降解及肿瘤的迁移侵犯^[7]。抵抗素是否通过调节 TIMP-1、MMP-9 表达参与冠状动脉损伤尚无报道。本实验旨在探讨抵抗素干预后人冠状动脉内皮细胞(human coronary artery endothelial cells, HCAECs)MMP-9 与 TIMP-1 的 mRNA 与蛋白表达水平及 HCAECs 细胞损伤机制。

1 资料与方法

1.1 实验材料

HCAECs(ATCC 细胞库,编号 6020,美国),人重组抵抗素(SANTA 公司,美国);DMEM/F12 培养基及胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(Gibco,美国);人 MMP-9 及 TIMP-1 ELISA 检测试剂盒(R&D,美国);GAPDH (Biogenesis,英国);RNA 提取试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司,中国);逆转录试剂盒(TakaRa 公司,日本);细胞蛋白提取试剂盒(南京凯基生物有限公司);BCA 法蛋白定量检测试剂盒(南京凯基生物有限公司);ECL 发光试剂盒(南京凯基生物有限公司);ERK1/2 抗体及磷酸化的 ERK1/2 抗体(Epitomics,美国)。

1.2 实验方法

1.2.1 HCAECs 的培养和分组处理 细胞复苏后,用含 10% FBS 的 DMEM/F12 培养基,37℃,5%CO₂ 细胞培养箱中培养。细胞生长至 80%时按 1:2 传代,约每 3 d 传代 1 次。取 3~8 代细胞用于实验。

每次实验前,用含 1%FBS 的 DMEM/F12 培养基培养 16 h (血清饥饿培养)。之后随机分为 6 组:(1)空白对照(Con)组:无抵抗素干预;(2)Res20 组:抵抗素 20 ng/ml 干预;(3)Res40 组:抵抗素 40 ng/ml 干预;(4)Res100 组:抵抗素 100 ng/ml 干预;(5)Res40+U0126 组:细胞中加入细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)抑制剂 U0126(20 mmol/L)预处理 1 h,再加入抵抗素 40 ng/ml 干预;(6)U0126 组:细胞中仅加入 ERK 抑制剂 U0126(20 mmol/L)。细胞各组均干预 24 h。

1.2.2 RT-PCR 检测 HCAECs MMP-9、TIMP-1 mRNA 表达 按照 RNA 提取试剂盒说明书提取细胞 RNA,逆转录为 cDNA 作为 RT-PCR 的模板,反应体系为 12.5 μl。引物序列见表 1。

扩增条件:MMP-9 和 TIMP-1:变性 94℃ 30 s,退火 60℃ 30 s,延伸 72℃ 1 min,共 34 个循环,最后 72℃延伸 7 min;GAPDH:变性 94℃ 30 s,退火 56℃ 30 s,延伸 72℃ 1 min,共 34 个循环,最后 72℃延伸 7 min。取 PCR 产物进行 1%琼脂糖凝胶电泳,利用凝胶扫描系统进行阳性条带吸光度积分扫描,以 GAPDH 为内参,计算 MMP-9 和 TIMP-1 的 mRNA 相对表达量。

表 1 PCR 引物序列

Tab.1 Sequences of PCR primers		
基因	引物序列	扩增片段长度(bp)
MMP-9	上游:5' -AATCTCACCGACAGGCAGCT-3'	401
	下游:5' -CCAAACTGGATGACGATGTC-3'	
TIMP-1	上游:5' -ATGAAAGCTCTCTGTCTCCTCCTC-3'	257
	下游:5' -CCTCAGGGCTGCACACGACA-3'	
GAPDH	上游:5' -ACCACAGTCCATGCCATCAC-3'	170
	下游:5' -TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'	

1.2.3 ELISA 检测 HCAECs MMP-9、TIMP-1 蛋白水平 各组细胞干预 24 h 后,收集细胞上清,室温 3 000 r/min,离心 20 min 后提取上清,按照说明书测定 MMP-9 及 TIMP-1 的蛋白表达量。

1.2.4 Western blot 检测 HCAECs p-ERK1/2 及 ERK1/2 的蛋白表达 各组细胞干预 24 h 后,用预冷的 PBS 冲洗 2 遍,将细胞刮落收集,加入细胞裂解液 5 min,12 000 r/min 低温离心 15 min,提取上层清液即为所需蛋白。用 BCA 法检测总蛋白量。用 10%的分离胶进行 SDS-PAGE 电泳,转膜,封闭 1 h,分别用 p-ERK1/2、ERK1/2 及 GAPDH 一抗(1:2 000)4℃过夜孵育,抗兔辣根过氧化物酶标记的特异性二抗(1:1 500)室温下孵育 1 h,用 ECL 试剂盒显影。用凝胶成像软件定量扫描条带灰度,以目的蛋白与 GAPDH 蛋白条带的比值反映蛋白的表达水平。

1.3 统计学处理

所有实验数据经 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析,数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组 HCAECs MMP-9、TIMP-1 mRNA 表达情况

20 ng/ml 抵抗素干预 HCAECs 24 h 后,MMP-9 表达稍增高($P>0.05$)。当抵抗素浓度为 40、100 ng/ml 时,MMP-9 mRNA 均明显高于 Con 组(100%)和 Res20 组($P<0.05$) (图 1A、图 2、表 2)。Res40+U0126 组细胞 MMP-9 mRNA 水平较 Res40 组明显下降($P<0.05$) (图 1A、图 3、表 2)。

HCAECs 经抵抗素干预 24 h 后,与 Con 组相比,Res20、Res40、Res100 组 TIMP-1 mRNA 明显降低(P 值均 <0.05) (图 1B、图 4、表 2)。Res40+U0126 组细胞 TIMP-1 mRNA 较 Res40 组无明显差别(图 1B、图 5、表 2)。

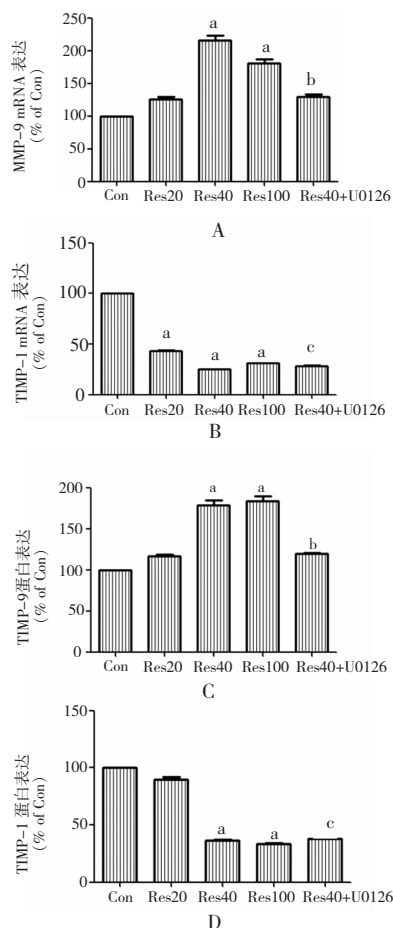
表 2 各组抵抗素刺激的 MMP-9、TIMP-1 水平 ($n=3, \bar{x} \pm s, \%$)Tab.2 MMP-9 and TIMP-1 levels in each group ($n=3, \bar{x} \pm s, \%$)

组别	MMP-9 mRNA	TIMP-1 mRNA	MMP-9 蛋白	TIMP-1 蛋白
Con	100.0	100.0	100.0	100.0
Res20	122.0 $\pm$ 20.4	40.0 $\pm$ 10.4 ^a	112.6 $\pm$ 20.2	79.9 $\pm$ 19.7
Res40	212.7 $\pm$ 21.2 ^a	26.7 $\pm$ 8.0 ^a	173.4 $\pm$ 30.3 ^a	36.6 $\pm$ 9.1 ^a
Res100	207.2 $\pm$ 30.4 ^a	31.1 $\pm$ 10.5 ^a	204.1 $\pm$ 23.7 ^a	33.6 $\pm$ 10.5 ^a
Res40+U0126	118.3 $\pm$ 13.1 ^b	28.9 $\pm$ 10.3 ^a	115.3 $\pm$ 4.6 ^b	38.7 $\pm$ 10.6 ^a
F 值	22.000	37.300	16.000	19.900
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注: a, 与 Con 组相比, $P < 0.05$; b, 与 Res40 组相比, $P < 0.05$

2.2 各组 HCAECs MMP-9、TIMP-1 蛋白表达情况

不同浓度抵抗素干预 HCAECs 24 h 后, 与 Con 组、Res20 组相比, Res40、Res100 组 MMP-9 蛋白表达水平平均明显升高 ($P < 0.05$); Res40+U0126 组细胞 MMP-9 蛋白水平较 Res40 组明显下降 ($P < 0.05$) (图 1C、表 2)。与 Con 组、Res20 组相比, Res40、Res100 组 TIMP-1 蛋白水平平均明显降低 ($P < 0.05$)。Res40 组经 U0126ERK 抑制剂干预后细胞 TIMP-1 蛋白水平较 Res40 组无明显差别 (图 1D、表 2)。

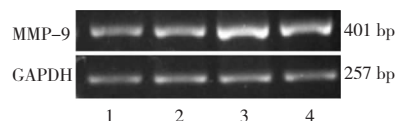


a, 与 Con 组相比, $P < 0.05$; b, 与 Res40 组相比, $P < 0.05$;
c, 与 Res40 组相比, $P > 0.05$

图 1 各组抵抗素刺激的 MMP-9、TIMP-1 水平 ($\%$ of Con, $\bar{x} \pm s$)

Fig.1 MMP-9 and TIMP-1 levels in each group

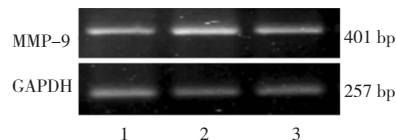
($\%$ of Con, $\bar{x} \pm s$)



1~4 分别代表 Con 组、Res20 组、Res40 组、Res100 组

图 2 不同浓度抵抗素干预 HCAECs MMP-9 mRNA 表达比较

Fig.2 Expression of MMP-9 mRNA of HCAECs in resistin groups with different concentrations



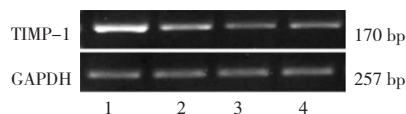
1~3 分别代表 Con 组、Res40 组、Res40+U0126 组

图 3 U0126 对抵抗素 (40 ng/ml) 干预 HCAECs

MMP-9 mRNA 表达影响

Fig.3 Effect of U0126 on the expression of HCAECs

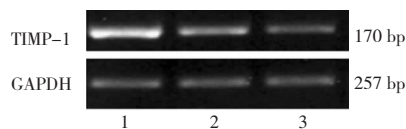
MMP-9 mRNA in resistin group (40 ng/ml)



1~4 分别代表 Con 组、Res20 组、Res40 组、Res100 组

图 4 不同浓度抵抗素干预 HCAECs TIMP-1 mRNA 表达比较

Fig.4 Expression of HCAECs TIMP-1 mRNA in resistin groups with different concentrations



1~3 分别代表 Con 组、Res40 组、Res40+U0126 组

图 5 U0126 对抵抗素 (40 ng/ml) 干预 HCAECs

TIMP-1 mRNA 表达影响

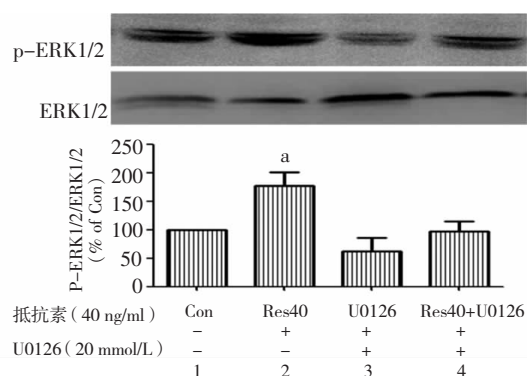
Fig.5 Effect of U0126 on the expression of HCAECs

TIMP-1 mRNA in resistin group (40 ng/ml)

2.3 各组 HCAECs 干预后 p-ERK1/2 与 ERK1/2 蛋白表达

干预 HCAECs 24 h 后, 与 Con 组、U0126 组及 Res40+U0126 组相比, Res40 组 p-ERK1/2 蛋白表达明显增高 ($P < 0.05$);

Res40+U0126 组 p-ERK1/2 蛋白表达与 Con 组、U0126 组无明显差异(图 6、表 3)。



1~4分别为 Con 组、Res40 组、U0126 组、Res40+U0126 组与 Con 组、U0126 组、Res40+U0126 组相比, a, $P < 0.05$

图 6 各组 HCAECs p-ERK1/2 与 ERK1/2 蛋白表达比较

Fig.6 HCAECs p-ERK1/2/ERK1/2 protein level in each group

表 3 各组 HCAECs p-ERK1/2/ERK1/2 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)
Tab.3 p-ERK1/2/ERK1/2 level in each group ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	p-ERK1/2/ERK1/2
Con	100.00
Res40	176.50 ± 41.15 ^a
U0126	61.77 ± 42.06
Res40+U0126	96.57 ± 30.8
F 值	6.368
P 值	0.016

注: a, 与 Con 组, U0126 组, Res40+U0126 组相比, $P < 0.05$

3 讨论

抵抗素因在小鼠体内引起胰岛素抵抗而得名。随着研究的深入,人们发现抵抗素水平在慢性炎症疾病如风湿性关节炎、哮喘中有增高^[8-9]。本课题组前期研究发现, KD 尤其是伴冠状动脉损伤患儿血清中抵抗素明显增高, 达 40 ng/ml, 提示抵抗素可能与冠脉损伤有关。然而抵抗素参与冠脉损伤的具体机制国内外尚未见相关报道。

已有研究表明 MMPs 在细胞外基质及基底膜蛋白降解中起重要的作用^[10]。MMP-9 与冠脉损伤密切相关, 有研究发现当小鼠缺乏 MMP-9 时, 其冠脉炎症可持续发展^[11]。TIMPs 作为金属蛋白酶组织抑制剂, 可抑制 MMPs 的活性。其中 TIMP-1 是 MMP-9 特异性内源性抑制剂^[12]。本实验结果显示, 病理浓度的抵抗素刺激 HCAECs 后, 可使 MMP-9 mRNA 及蛋白水平明显升高, TIMP-1 mRNA 与蛋白水平明

显下降, 提示抵抗素引起冠状动脉内皮损伤可能与上调 MMP-9 及下调 TIMP-1 的表达有关。

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPKs)为调控 MMP-9 酶合成主要途径^[13-14], MAPK 有多个亚族, 其中 ERK 属于较经典的 MAPK, 包括 ERK1 (p44) 和 ERK2 (p42), ERK 的活化需首先经过磷酸化后转变为 p-ERK1/2, 激活后的 ERK 随即转入细胞核内, 在细胞生长、发育、分裂、死亡及恶性转化等过程中发挥主要作用^[15]。有研究发现在乳腺癌细胞中 ERK 的激活可诱导 MMP-9 表达增加^[16]。本实验结果显示病理浓度的抵抗素干预 HCAECs 时可使 MMP-9 基因表达增加, 给予 ERK 抑制剂 U0126 干预后, MMP-9 mRNA 表达显著降低, 病理浓度抵抗素干预 HCAECs p-ERK 蛋白表达明显增高, 提示抵抗素可能通过 p-ERK 通路调节 HCAECs MMP-9 表达。当 HCAECs 被 U0126 预处理后, 抵抗素对细胞 TIMP-1 的表达无明显变化, 提示抵抗素调节 TIMP-1 的表达可能未通过 p-ERK 信号通路。

本实验首次报道了抵抗素对 HCAECs MMP-9、TIMP-1 的作用, 并证实 p-ERK 通路可介导 MMP-9 的合成。同时证实了抵抗素可能通过激活 ERK 通路、下调 TIMP-1 表达致 MMP-9 大量表达, 参与冠脉内皮细胞损伤过程。

参 考 文 献

- [1] Pang SS, Le YY. Role of resistin in inflammation and in inflammation-related diseases[J]. Cellular & Molecular Immunology, 2006, 3(1): 29-34.
- [2] Reilly MP, Lehrke M, Wolfe ML, et al. Resistin is an inflammatory marker of atherosclerosis in humans[J]. Circulation, 2005, 111(7): 932-939.
- [3] Qiao XZ, Yang YM, Xu ZR, et al. Relationship between resistin level in serum and acute coronary syndrome or stable angina pectoris[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2007, 8(12): 875-880.
- [4] Liu R, He B, Gao F, et al. Relationship between adipokines and coronary artery aneurysm in children with Kawasaki disease[J]. Transl Res, 2012, 160(2): 131-136.
- [5] Ding Q, Chai H, Mahmood N, et al. Matrix metalloproteinases modulated by protein kinase C ϵ mediate resistin-induced migration of human coronary artery smooth muscle cells[J]. J Vasc Surg, 2011, 53(4): 1044-1051.
- [6] Di Simone N, Di Nicuolo F, Sanguinetti M, et al. Resistin regulates human choriocarcinoma cell invasive behaviour and endothelial cell angiogenic processes[J]. J Endocrinology, 2006, 189(3): 691-699.

基因调控

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000071

TNF- α 、ICAM-1 在心肌无复流中的表达与调节机制

曾 敏,魏 欣,吴智勇,李 伟,郑 茵,何扬利,王 萍,翟文婷

(海南省人民医院医疗保健中心三病区,海口 570311)

【摘 要】目的:研究肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、细胞间黏附分子-1(intracellular adhesion molecules-1, ICAM-1)在家兔心肌无复流模型血浆中的表达水平及调节机制。**方法:**30 只新西兰大白兔,随机分为假手术组、心肌缺血再灌注组和四氢吡咯二硫代氨基甲酯(pyrrolidine dithiocarbamate, PDTC)组(缺血前 30 min 经耳缘静脉注射 PDTC 20 mg/kg)。心肌缺血再灌注组和 PDTC 组采用开胸冠状动脉结扎回旋支 90 min 再松解 60 min 的方法建立家兔心肌无复流模型。通过酶联免疫吸附试验测定各组家兔缺血再灌注过程中炎症因子 TNF- α 和 ICAM-1 在血浆的表达水平、测定心肌不同区域心肌髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)活性、光镜及电镜下观察心肌细胞受损情况。**结果:**家兔心肌缺血再灌注组炎症因子 TNF- α 和 ICAM-1 的表达水平在缺血后 150 min 时达高峰,明显高于 PDTC 组($P<0.05$)。心肌缺血再灌注组无复流区及缺血区心肌 MPO 活性较假手术组和 PDTC 组均明显升高($P<0.05$)。PDTC 组无复流区心肌细胞损伤程度轻于缺血再灌注组。**结论:**家兔心肌缺血再灌注诱导炎症因子的表达;抑制核因子- κ B 激活可减少无复流区的中性粒细胞浸润和激活,减少炎症因子的表达,减轻无复流区心肌再灌注损伤程度。

【关键词】促炎因子;缺血再灌注;髓过氧化物酶**【中图分类号】**R541.4**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-06-09Expressions of TNF- α and ICAM-1 during myocardial ischemia/reperfusion and related regulatory mechanism

Zeng Min, Wei Xin, Wu Zhiyong, Li Wei, Zheng Ying, He Yangli, Wang Ping, Zhai Wenting

(Ward 3 Department of Medical Care Center, the People's Hospital of Hainan Province)

【Abstract】Objective: To investigate the release of pro-inflammatory mediators: tumor necrosis factor- α (TNF- α) and intracellular adhesion molecules-1(ICAM-1) during myocardial ischemia/reperfusion and related regulatory mechanism. **Methods:** Totally 30 New

Zealand white rabbits were divided into 3 groups: sham group,

cardiac ischemia/reperfusion group (the left circumflex coronary

arteries of the rabbits were ligated for 90 min then untied for

60 min) and PDTC group (20 mg/kg pyrrolidine dithiocarbamate

was injected intravenously 30 min before cardiac ischemia).

[7] Kruger A, Sanchez-Sweetman OH, Martin DC, et al. Host TIMP-1

overexpression confers resistance to experimental brain metastasis of a

brosarcoma cell line[J]. Oncogene, 1998, 16(18): 2419-2423.

[8] Migita K, Maeda Y, Miyashita T, et al. The serum levels of resistin in

rheumatoid arthritis patients[J]. Clin Exp Rheumatol, 2006, 24(6): 698-

701.

[9] Larochelle J, Freiler J, Dice J, et al. Plasma resistin levels in asth-

matics as a marker of disease state[J]. J Asthma, 2007, 44(7): 509-513.

[10] Stamenkovic I. Extracellular matrix remodeling: the role of matrix

metalloproteinases[J]. J Pathol, 2003, 200(4): 448-464.

[11] Lau AC, Duong TT, Ito S, et al. Matrix metalloproteinase-9 activi-

ty leads to elastin breakdown in an animal model of Kawasaki disease

[J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(3): 854-863.

[12] Raffetto JD, Khalil RA. Matrix metalloproteinases and their in-

hibitors in vascular remodeling and vascular disease[J]. Biochem Phar-

macol, 2008, 75(2): 346-359.

[13] Kojan R, Miettinen P, Mehlem A, et al. EGF-R regulates MMP

function in fibroblasts through MAPK and AP-1 pathways[J]. J Cell Phys-

iol, 2007, 212(2): 489-497.

[14] Cohen M, Meisser A, Haeggeli L, et al. Involvement of MAPK

pathway in TNF- α -induced MMP-9 expression in human tro-

phoblastic cells [J]. Mol Hum Reprod, 2006, 12(4): 225-232.

[15] Fecher LA, Amaravadi RK, Flaherty KT. The MAPK pathway in

melanoma [J]. Curr Opin Oncol, 2008, 20(2): 183-189.

[16] Chung TW, Lee YC, Kim CH. Hepatitis B viral HBx induces ma-

trix metalloproteinase-9 gene expression through activation of ERKs

and PI-3K/AKT pathways; involvement of invasive potential[J]. FASEB

J, 2004, 18(10): 1123-1125.

(责任编辑:关蕴良)