

论著

文章编号:1000-5404(2013)16-1680-05

ACE2 过表达对大鼠心肌梗死后心室重构的影响

吕瑾,刘增长,张全军,范晋奇,苏立,殷跃辉 (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院心血管内科)

[摘要] **目的** 探讨携带 ACE2 基因的重组腺病毒载体(Ad-ACE2)转染对大鼠心肌梗死(MI)后心室重构的影响及其机制。**方法** Sprague-Dawley(SD)大鼠 75 只,8~10 周龄,体质量 200~250 g,结扎左冠状动脉前降支,建立 SD 大鼠 MI 模型,完全随机分为心梗组(MI 组)、生理盐水组(NS 组)、空载体组、Ad-ACE2 组(转染 Ad-ACE2 组),并另设假手术组($n=15$)。NS 组、空载体组、Ad-ACE2 组分别以直接心肌内注射方式沿梗死周边区选取 5 个点注射 NS、Ad-EGFP 及 Ad-ACE2,假手术组及 MI 不予以任何注射。术后 4 周检测并评价相关指标。**结果** ①与假手术组比较,Ad-ACE2 组 ACE2 蛋白表达增加($P<0.05$)。②与 MI 组比较,Ad-ACE2 组肌纤维排列紊乱,肌丝断裂,细胞核固缩、碎裂等现象明显减轻;I、III 型胶原表达均减少。③免疫组化与 ELISA 结果显示:与假手术组比较,MI 组、NS 组、空载体组及 Ad-ACE2 组 Ang II、Ang-(1-7)蛋白表达均增高($P<0.05$);与 MI 组比较,Ad-ACE2 组 Ang II 蛋白表达降低($P<0.05$),Ang-(1-7)蛋白表达增高($P<0.05$)。④免疫印迹结果显示:与 MI 组比较,Ad-ACE2 组 MMP-9 蛋白表达降低($P<0.05$),TIMP-1 蛋白表达水平增加($P<0.05$),且 MMP-9/TIMP-1 的比值降低。⑤与假手术组比较,MI 组、NS 组、空载体组的 TGF- β 和 α -SMA 表达增高($P<0.05$),而 Ad-ACE2 组表达降低($P<0.05$)。**结论** 过表达 ACE2 可改善心肌纤维化,缓解心室重构,其机制可能与其调节肾素-血管紧张素系统,下调 MMP-9、TGF- β 及 α -SMA 的表达,维持 MMP-9/TIMP-1 的比例平衡有关。

[关键词] 心肌梗死;血管紧张素转换酶 2;基质金属蛋白酶 9;心室重构

[中图分类号] R394.2;R364.33;R542.22

[文献标志码] A

Effect of overexpression of angiotensin converting enzyme 2 on ventricular remodeling after myocardial infarction in rats

Lyu Jin, Liu Zengzhang, Zhang Quanjun, Fan Jinqi, Su Li, Yin Yuehui (Department of Cardiology, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[Abstract] **Objective** To determine the effect of adenovirus-angiotensin converting enzyme 2 (Ad-ACE2) on the ventricular remodeling after myocardial infarction (MI) in rats. **Methods** A total of 75 Sprague-Dawley(SD) rats, at an age of 8 to 10 weeks, weighing 200 to 250 g were randomly divided into MI model group ($n=60$) and sham operation group ($n=15$). MI model was induced by the ligation of the anterior descending branch of left coronary artery. Then the MI rats were randomly treated with normal saline, vector, and Ad-ACE2, with 15 rats in each group. The left 15 MI rats served as model control. The rats from above treatment groups were injected intramyocardial directly into normal saline, Ad-EGFP and Ad-ACE2 in 5 different points along the infarct borders respectively. Rats in the model group and sham operation group received no such injection. The relative ventricular remodeling indexes after 4 weeks were evaluated. **Results** Compared with sham operation group, ACE2 protein was highly expressed in Ad-ACE2 group($P<0.05$). The changes of muscle fiber disorder, myofilament fracture, nuclear condensation, and nuclear fragmentation, and the elevated expression levels of type I and III collagens in the model control were improved significantly, and decreased in Ad-ACE2 group. Immunohistochemical staining and ELISA indicated the expression levels of Ang II and Ang-(1-7) were increased in MI, normal saline group, vector and Ad-ACE2 groups than in the sham operation group ($P<0.05$), and that of Ang II was decreased, while that of Ang-(1-7) protein was increased in Ad-ACE2 group than in MI group($P<0.05$). Western blotting showed that Ad-ACE2 injection resulted in an obvious decrease in the MMP-9 expression, a significant increase in the TIMP-1 expression, and a following reduce

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81170166);重庆市卫生局基金(2009-2-171)

[通信作者] 刘增长,电话:(023)63693079,E-mail:liuzengzhang666@163.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130516.1208.021.html>(2013-05-16)

in the ratio of MMP-9/TIMP-1 when compared with MI control ($P < 0.05$). Compared with sham operation group, the protein levels of TGF- β and α -SMA were consistently increased in MI group, normal saline group and vector group, and decreased in Ad-ACE2 group ($P < 0.05$). **Conclusion** The over-expression of ACE2 ameliorates ventricular fibrosis and attenuates ventricular remodeling after MI, which probably through regulating renin-angiotensin system, down-regulating MMP-9, TGF- β , and α -SMA, and maintaining the balance of MMP-9/TIMP-1.

[**Key words**] myocardial infarction; angiotensin converting enzyme 2; matrix metalloproteinase 9; ventricle remodeling

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China(81170166) and the Project of Chongqing Municipal Health Bureau(2009-2-171). Corresponding author: Liu Zengzhang, Tel:86-23-63693079, E-mail: liuzengzhang666@163.com

心肌梗死(myocardial infarction, MI)是严重危害人类健康的常见心血管疾病之一,MI后的心室重构最终导致充血性心力衰竭(congestive heart failure, CHF)的发生和发展,但目前对其发生、发展的具体机制认识仍不充分。血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)的同系物血管紧张素转换酶2(angiotensin converting enzyme 2, ACE2)已经证实可以水解血管紧张素II(Angiotensin II, Ang II)为血管紧张素-(1-7)[Ang-(1-7)]^[1],而Ang-(1-7)具有舒张血管和抗增殖的作用,有助于抑制血管重构和心肌肥厚^[2],越来越多的证据显示Ang-(1-7)的功能与Ang II是相反的^[3-5]。本研究通过携带ACE2基因的重组腺病毒载体(Ad-ACE2)转染MI后的大鼠,观察心肌的I、III型胶原的改变及基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinases-9, MMP-9)、基质金属蛋白酶组织抑制剂1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)、Ang II、Ang-(1-7)以及相关纤维化指标转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)和 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)的表达,探讨该干预对MI后心室重构的影响。

1 材料与方法

1.1 动物模型建立及分组

清洁级雄性健康Sprague-Dawley(SD)大鼠75只,8~10周龄,体质量200~250g,由重庆医科大学实验动物中心提供[动物使用许可证号:SYXK(渝)2007-0001]。将大鼠完全随机分为5组,每组15只,采用文献[6]所述方法建立心梗模型。生理盐水组(NS组)、空载体组、Ad-ACE2组3组以直接心肌内注射方式在心梗死周围区分别注射生理盐水、Ad-EGFP及Ad-ACE2(病毒载体含量:1 $\times 10^9$ pfu/100 μ L)100 μ L,其中假手术组仅在左冠脉前降支相同部位穿线并不结扎,MI组不注射。术毕连续3d肌肉注射青霉素4 $\times 10^3$ U预防感染。同等条件下喂养4周,4周后每组存活数量为:假手术组:12只;MI组:10只;NS组:11只;空载体组:9只;Ad-ACE2组:9只。

1.2 方法

1.2.1 检测EGFP基因的表达 取新鲜心肌组织做成冰冻

切片,在荧光显微镜下观察绿色荧光细胞的数量和密度,检测EGFP在心肌组织中的表达情况。

1.2.2 组织病理学检查 沿梗死区中部垂直于长轴的方向切去厚约5mm的心肌组织存放于10%多聚甲醛缓冲液中固定,常规脱水,透明,石蜡包埋。常规HE染色,在普通显微镜下观察心肌组织结构;天狼猩红-饱和苦味酸染色,在偏振光显微镜下观察心肌胶原表达情况。

1.2.3 蛋白印迹法检测ACE2、MMP-9、TIMP-1及TGF- β 的表达 常规提取心肌梗死周边区心肌组织总蛋白,BCA法定测定各组蛋白浓度,SDS-PAGE凝胶电泳,蛋白电转移至PVDF膜,室温下5%脱脂奶粉封闭1h,一抗[TIMP-1(1:400, Abcam, 英国)、MMP-9(1:100, Abnova, 中国台湾)、ACE2(1:500, Abcam, 英国)、TGF- β (1:100, Santa Cruz, 美国)、Tubulin(1:1000, 碧云天, 中国)]4 $^{\circ}$ C冰箱孵育过夜, TBST洗膜15min,再根据一抗来源选择相应的辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育1h, TBST洗膜15min后ECL显影,凝胶电泳图像分析系统(Quantity One)进行图像分析。

1.2.4 免疫组织化学检测心肌Ang II及 α -SMA蛋白的表达

采用链霉菌蛋白-过氧化物酶法进行免疫组化检测。稀释比例:兔抗大鼠Ang II(1:50)、小鼠抗大鼠 α -SMA(1:50),同时用PBS代替Ang II及 α -SMA I抗作阴性对照。免疫组化染色结果用Image Pro Plus图像分析软件测量蛋白表达的累积光密度值(integrated absorbance, IA),其值越大分别代表蛋白表达量越多、强度越高。

1.2.5 ELISA检测心肌组织Ang-(1-7)表达 准确称梗死周边区心肌组织,制备10%组织匀浆液,按试剂盒说明书操作,450nm波长下测量各孔D(450)值,标准品制备回归曲线,计算各样本Ang-(1-7)含量。

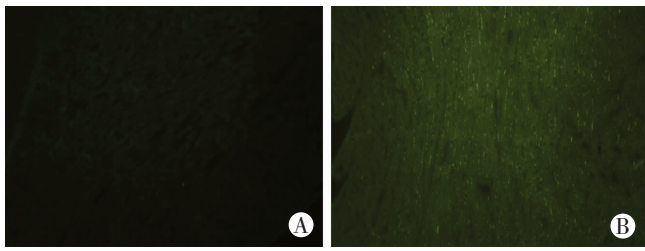
1.3 统计学分析

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用LSD法,统计软件采用SPSS 17.0。

2 结果

2.1 转染有效性的评价

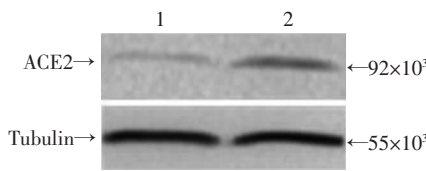
2.1.1 EGFP基因在心肌中的表达 假手术组心肌组织中未见明显绿色荧光细胞,Ad-EGFP转染后可见大量绿色荧光细胞,表明EGFP基因可由腺病毒转染致心肌,并在心肌组织中得到高效表达(图1)。



A:假手术组;B:空载体组

图1 荧光显微镜观察各组大鼠心肌组织 EGFP 基因的表达 (×200)

2.1.2 ACE2 在心肌中的表达 与假手术组比较,Ad-ACE2 组 ACE2 蛋白表达水平明显升高(0.025 ± 0.006 vs 0.083 ± 0.007 , $P < 0.05$),说明重组腺病毒载体 Ad-ACE2 转染成功(图2)。



1:假手术组;2:空载体组

图2 各组大鼠心肌组织 ACE2 蛋白的表达

2.2 组织学评价

2.2.1 HE 染色结果 假手术组心肌组织结构完整,纤维排列整齐,细胞核、细胞质清晰可见,细胞间连接存在;MI 组、NS

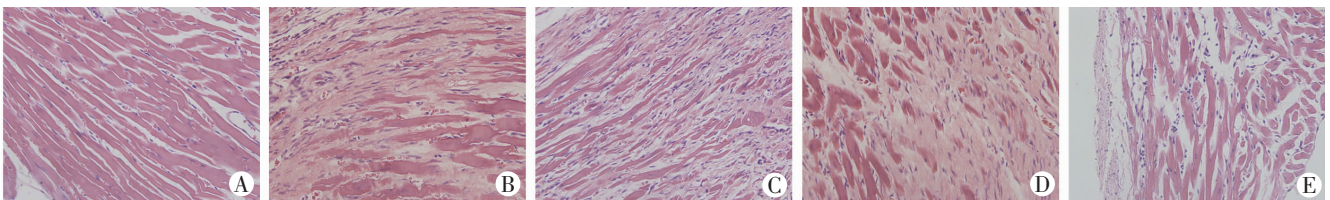
组及空载体组梗死区肌纤维排列稀疏紊乱,肌纤维断裂、溶解及核分裂,间质充血水肿,细胞间连接消失,并可见大量炎性细胞浸润;而 Ad-ACE2 组上述改变均明显减轻(图3)。

2.2.2 天狼猩红-饱和苦味酸染色结果 在偏振光显微镜下可观察到心肌组织 I 型纤维显示很强的双折光性,呈黄色或红色;III 型胶原纤维显示弱的双折光性,呈绿的细纤维。与假手术组比较,MI 组、NS 组及空载体组左心室非梗死区 I 型、III 型胶原均显著增加;与 MI 组比较,Ad-ACE2 组非梗死区 I、III 型胶原均显著减少,但与假手术组比较其表达轻度增加;而 MI 组、NS 组与空载体组 3 组间胶原的表达无明显差异(图4)。

2.3 ACE2 调节 RAS 系统

2.3.1 Ang II 蛋白免疫组化染色结果 Ang II 蛋白阳性染色定位于细胞质,呈棕黄色。与假手术组比较,MI 组、Ad-ACE2 组、空载体组 Ang II 蛋白表达量增加($P < 0.05$);与 MI 组相比,Ad-ACE2 组 Ang II 蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$)(图5、6)。

2.3.2 ELISA 测定心肌组织 Ang-(1-7) 含量 假手术组、MI 组、NS 组、空载体组、Ad-ACE2 组 Ang-(1-7) 的表达量分别为(8.26 ± 3.31)、(25.46 ± 8.60)、(29.48 ± 5.80)、(27.34 ± 7.90)、(58.55 ± 7.35)。与假手术组比较,其余 4 组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$);与 MI 组比较,假手术组及 Ad-ACE2 组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$);MI 组、NS 组、空载体组 3 组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。



A:假手术组;B:MI 组;C:NS 组;D:空载体组;E:Ad-ACE2 组

图3 各组大鼠心肌梗死后组织学改变 (HE ×400)



A:假手术组;B:MI 组;C:NS 组;D:空载体组;E:Ad-ACE2 组

图4 偏振光显微镜下观察各组大鼠 I、III 型胶原的表达 (饱和苦味酸-天狼猩红 ×400)

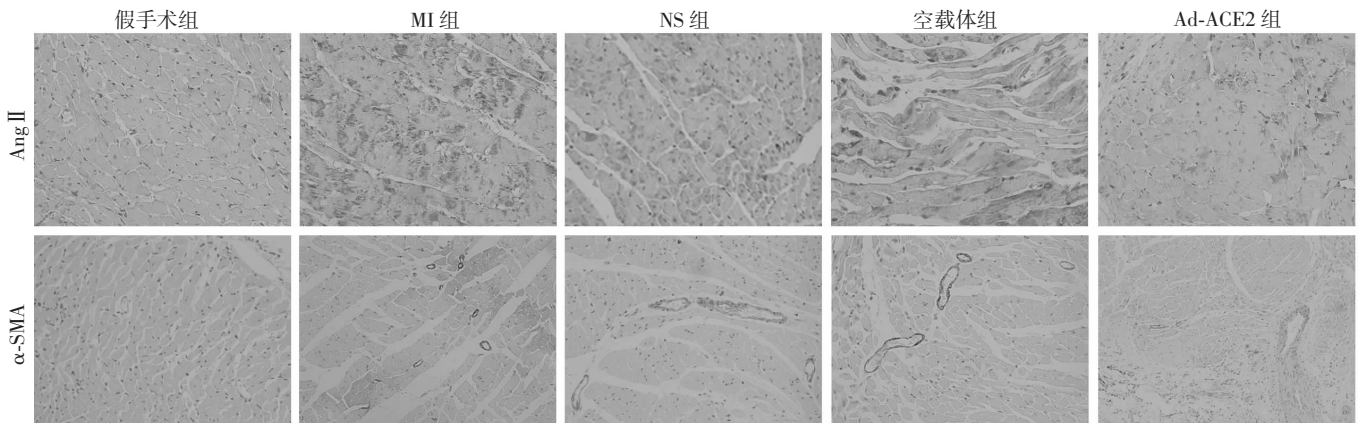
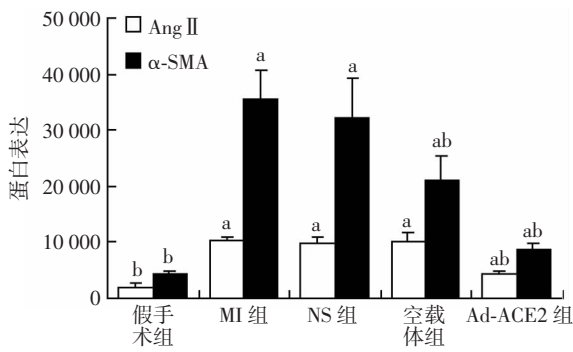


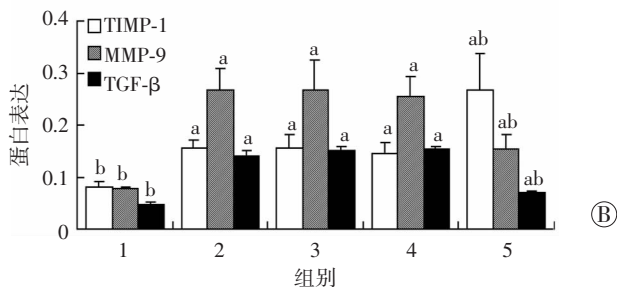
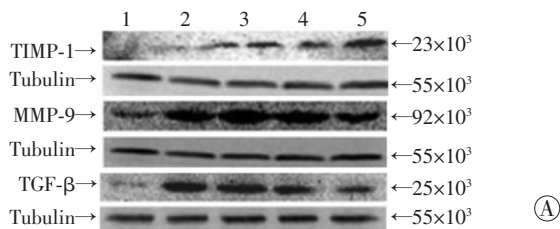
图5 免疫组化染色观察各组大鼠 Ang II 和 α -SMA 表达 (二步法 ×400)



a: $P < 0.05$, 与假手术组比较; b: $P < 0.05$, 与 MI 组比较
图6 各组大鼠心肌组织 Ang II 和 α -SMA 蛋白表达

2.4 MMP-9 和 TIMP-1 在心肌中的表达

与假手术组比较, MI 组、NS 组、空载体组及 Ad-ACE2 组 MMP-9 的蛋白表达水平增加 ($P < 0.05$); 与 MI 组比较, Ad-ACE2 组 MMP-9 的蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$), NS 组和空载体组无明显差异 ($P > 0.05$)。与假手术组比较, MI 组、NS 组、空载体组及 Ad-ACE2 组 TIMP-1 的蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$) (图 7)。假手术组、MI 组、NS 组、空载体组、Ad-ACE2 组 MMP-9/TIMP-1 表达的相对比值为: 0.98、1.7、1.7、1.73、0.6。与假手术组比较, MI 组、NS 组及空载体组 MMP-9/TIMP-1 的比值升高, 而 Ad-ACE2 组 MMP-9/TIMP-1 的比值降低。



A: Western blot 检测 TIMP-1、MMP-9 及 TGF- β 蛋白的表达; B: 定量结果 ($n=5, \bar{x} \pm s$); 1: 假手术组; 2: MI 组; 3: NS 组; 4: 空载体组; 5: Ad-ACE2 组; a: $P < 0.05$, 与假手术组比较; b: $P < 0.05$, 与 MI 组比较

图7 各组大鼠心肌组织 TIMP-1、MMP-9 及 TGF- β 蛋白的表达

2.5 ACE2 下调直接纤维化相关指标

2.5.1 TGF- β 在心肌中的表达 与假手术组比较, MI 组、NS 组及空载体组 TGF- β 的蛋白表达增加 ($P < 0.05$), 与 MI 组比较, Ad-ACE2 组 TGF- β 的蛋白表达降低 ($P < 0.05$) (图 7)。

2.5.2 α -SMA 蛋白免疫组化染色结果 与假手术组比较, MI 组、NS 组及空载体组血管平滑肌阳性染色细胞明显增加 ($P < 0.05$); 与 MI 组比较, Ad-ACE2 组阳性染色细胞显著减少

($P < 0.05$), 假手术组未见明显阳性表达 (图 5、6)。

3 讨论

心室重构是临床上 MI 后发生 CHF 的主要病理基础, 因此预防心室重构是预防心力衰竭不容忽视的一个重要环节。肾素-血管紧张素系统 (rennin angiotensin system, RAS) 的激活在心室重构中扮演了重要角色, 近年来发现 RAS 系统的一个新成员 ACE2, 其生物特性与 ACE 不同, 被认为对心血管系统具有保护作用。因此, 我们采用携带 ACE2 基因的腺病毒载体 Ad-ACE2 转染 MI 大鼠, 研究 ACE2 过表达对 MI 后心室重构的影响, 并探讨其相关的分子机制。

心肌间质 I 型胶原伸展和弹性较小, 僵硬大, 对于保持室壁强度有重要意义, III 型胶原纤维伸展和回弹性较大, 与室壁弹性有关, I/III 型胶原比例可以反映心肌纤维化的程度, 而 MI 后心肌间质胶原的形态、结构、生化均发生异常改变。研究发现 MI 后心肌间质 I 型和 III 型胶原的合成显著增加及 I/III 型胶原比例失调, 使得心肌僵硬增加、心脏顺应性降低及心室腔扩大, 最终导致心脏舒缩功能不全^[7]。本研究发现与 MI 组比较, Ad-ACE2 组梗死区肌纤维排列紊乱, 肌丝断裂, 细胞核固缩、碎裂等现象明显减轻; Ad-ACE2 组非梗死区 I、III 型胶原均显著减少。结果表明 ACE2 过表达有助于 MI 后正常心肌组织结构的维持和胶原重构的改善。

RAS 的激活在心室重构中起了重要作用, Ang II 是 RAS 系统的主要效应分子。研究证实, Ang II 激活胞内丝裂原活化蛋白激酶 (mitogenactivated protein kinases, MAPKs) 启动核内基因表达, 进而引起细胞增殖、蛋白合成、细胞因子分泌 (如 TGF- β) 与细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 表达等一系列改变, 启动核内纤维化、增殖性相关基因的转录与表达, 促进心脏成纤维细胞增殖、胶原蛋白合成增加等效应的重要通路^[8-9]。已有动物模型研究证实 ACE2 过表达可以预防心室重构^[3], 而用 Ang-(1-7) 来处理动物模型可以预防心肌纤维化^[4]。研究发现在 ACE2 基因敲除大鼠的心梗模型中发现梗死相关区域 Ang II 的水平升高, 而 Ang-(1-7) 的水平降低^[10], Yaqhooti 等^[11] 研究显示 Ang II 还可以明显提高 MMP-9 的表达和活性。本研究免疫组化和 ELISA 结果显示 ACE2 过表达可以降低心梗后 Ang II 的表达和上调 Ang-(1-7) 的表达, 使 RAS 系统平衡向保护性方向移动。

MI 后心肌组织和循环中 MMPs 水平的增加和 MMPs/TIMPs 比例的失衡导致心肌 ECM 降解代谢紊乱, 参与 MI 后心室重构的进程^[12-13]。MMPs/TIMPs 平衡失调如 MMPs 的活性增加、TIMPs 的抑制作用减

弱或高 MMPs/TIMPs 比,将促进心室重构,相反 MMPs 的活性降低、TIMPs 的抑制作用增加或低 MMPs/TIMPs 比可改善心室重构^[14]。Roten 等^[15]在敲除了 TIMP-1 基因大鼠 4 个月龄时发现左心室舒张末期容积、舒张末期压力、舒张末期室壁应力和左心室质量均显著增加,同时心肌胶原含量减少,说明可以通过调节 MMPs/TIMPs 的平衡而影响心室重构,并影响心脏功能。有研究显示使用 MMPs 抑制剂,抑制 MMP-2、MMP-9 的表达,可显著改善心室功能和心室重构^[16]。此外,Ducharme 等^[17]在同样的动物模型中发现 MMP-9 活性丧失后梗死后心肌的炎细胞浸润和胶原沉积减少,MI 后左室扩大减轻。Western blot 的结果显示 MI 后 MMP-9 和 TIMP-1 蛋白的表达都增加,与 MI 组比较,Ad-ACE2 组中 MMP-9 蛋白的表达明显降低,而 TIMP-1 蛋白的表达明显增加。与假手术组相比,MI 组、NS 组及空载体组 MMP-9/TIMP-1 的比值升高,而 Ad-ACE2 组 MMP-9/TIMP-1 的比值降低。结果提示 ACE2 过表达可以降低 MI 后 MMP-9 蛋白的表达,提高 TIMP-1 蛋白的表达,维持 MMP-9/TIMP-1 的平衡,从而降低因 MMP-9 升高带来的一系列后续负面影响。

近年来研究发现 TGF- β 可刺激成纤维细胞增殖,诱导成纤维细胞向肌成纤维细胞分化及 ECM 大量合成,而体外实验进一步表明 TGF- β 具有刺激心脏成纤维细胞分化为肌成纤维细胞的能力,促使其标志物 α -SMA 活化及表达,导致大量胶原合成,从而加速心肌纤维化进程^[18]。本研究表明 ACE2 过表达可显著降低 TGF- β 蛋白表达水平,免疫组化结果提示 Ad-ACE2 组 α -SMA 蛋白表达明显减少。这些结果表明 ACE2 过表达能有效降低心梗后胶原的合成并减少促纤维化信号 TGF- β 和 α -SMA 的表达。

总之,本研究表明 ACE2 过表达能够上调心梗后心肌 Ang-(1-7) 的表达,下调 Ang II 的表达,改变 ACE2/Ang-(1-7)/Mas 轴的平衡,改善心肌纤维化,其分子机制可能与下调 MMP-9、TGF- β 及 α -SMA 的表达和维持 MMP-9/TIMP-1 的平衡有关。

参考文献:

[1] Tipnis S R, Hooper N M, Hyde R, et al. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(43): 33238 - 33243.

[2] Zhong J, Jin H, Oudit G, et al. Loss of ACE2 augments angiotensin II-induced myocardial hypertrophy and remodeling with increased Profilin-1 expression [J]. *Heart*, 2011, 97(Suppl 3): A31 - A32.

[3] Huentelman M J, Grobe J L, Vazquez J, et al. Protection from angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and fibrosis by systemic lentiviral delivery of ACE2 in rats [J]. *Exp Physiol*, 2005, 90(5): 783 - 790.

[4] Grobe J L, Mecca A P, Lingis M, et al. Prevention of angiotensin II-

induced cardiac remodeling by angiotensin-(1-7) [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292(2): H736 - H742.

[5] Yamamoto K, Ohishi M, Katsuya T, et al. Deletion of angiotensin-converting enzyme 2 accelerates pressure overload-induced cardiac dysfunction by increasing local angiotensin II [J]. *Hypertension*, 2006, 47(4): 718 - 726.

[6] Pfeffer M A, Pfeffer J M, Fishbein M C, et al. Myocardial infarct size and ventricular function in rats [J]. *Circ Res*, 1979, 44(4): 503 - 512.

[7] Phatharajaree W, Phrommintikul A, Chattipakorn N. Matrix metalloproteinases and myocardial infarction [J]. *Can J Cardiol*, 2007, 23(9): 727 - 733.

[8] Castro-Chaves P, Cerqueira R, Pinalhao M, et al. New pathways of the renin-angiotensin system; the role of ACE2 in cardiovascular pathophysiology and therapy [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2010, 14(5): 485 - 496.

[9] Li L, Fan D, Wang C, et al. Angiotensin II increases periostin expression via Ras/p38 MAPK/CREB and ERK1/2/TGF- β 1 pathways in cardiac fibroblasts [J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 91(1): 80 - 89.

[10] Kassiri Z, Zhong J, Guo D, et al. Loss of angiotensin-converting enzyme 2 accelerates maladaptive left ventricular remodeling in response to myocardial infarction [J]. *Circ Heart Fail*, 2009, 2(5): 446 - 455.

[11] Yaghoobi H, Firoozrai M, Fallah S, et al. Angiotensin II induces NF- κ B, JNK and p38 MAPK activation in monocytic cells and increases matrix metalloproteinase-9 expression in a PKC- and Rho kinase-dependent manner [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2011, 44(3): 193 - 199.

[12] Soejima H, Ogawa H, Sakamoto T, et al. Increased serum matrix metalloproteinase-1 concentration predicts advanced left ventricular remodeling in patients with acute myocardial infarction [J]. *Circ J*, 2003, 67(4): 301 - 304.

[13] Tziakas D N, Chalikias G K, Hatzinikolaou E I, et al. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and matrix metalloproteinases in early and late left ventricular remodeling after acute myocardial infarction [J]. *Am J Cardiol*, 2005, 96(1): 31 - 34.

[14] Fedak P W, Altamentova S M, Weisel R D, et al. Matrix remodeling in experimental and human heart failure: a possible regulatory role for TIMP-3 [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 284(2): H626 - H634.

[15] Roten L, Nemoto S, Simsic J, et al. Effects of gene deletion of the tissue inhibitor of the matrix metalloproteinase-type 1 (TIMP-1) on left ventricular geometry and function in mice [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2000, 32(1): 109 - 120.

[16] Chapman R E, Scott A A, Deschamps A M, et al. Matrix metalloproteinase abundance in human myocardial fibroblasts: effects of sustained pharmacologic matrix metalloproteinase inhibition [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2003, 35(5): 539 - 548.

[17] Ducharme A, Frantz S, Aikawa M, et al. Targeted deletion of matrix metalloproteinase-9 attenuates left ventricular enlargement and collagen accumulation after experimental myocardial infarction [J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(1): 55 - 62.

[18] Dobaczewski M, Bujak M, Li N, et al. Smad3 signaling critically regulates fibroblast phenotype and function in healing myocardial infarction [J]. *Circ Res*, 2010, 107(3): 418 - 428.

(收稿:2013-01-12;修回:2013-05-02)

(编辑 栾嘉)