

DOI: 10.13376/j.cblls/2015177

文章编号: 1004-0374(2015)10-1274-06

MMPs在动脉粥样硬化中的作用及其抑制剂的研究进展

安登坤^{1,2}, 梁浩^{1,2}, 宋淑亮^{1,2}, 吉爱国^{1,2,3*}

(1 山东大学(威海)海洋学院, 威海 264209; 2 山东大学(威海)国际生物技术研发中心, 威海 264209; 3 山东大学药学院, 济南 250012)

摘要: 基质金属蛋白酶 (MMPs) 是一类肽链内切酶, 因其降解细胞外基质 (ECM) 和具有金属依赖性而得名。MMPs 能调节单核细胞、巨噬细胞及血管平滑肌细胞 (VSMCs) 的黏附、迁移、增殖等, 广泛参与动脉粥样硬化 (AS) 发展的各个阶段。正常生理情况下, MMPs 与组织金属蛋白酶抑制物 (TIMPs) 保持平衡; 而在 AS 病理情况下, 因 MMPs/TIMPs 升高而失衡。因此, 通过使用特异性抑制剂来抑制某些 MMPs 可能为治疗 AS 提供新思路。现就 MMPs 在 AS 中的作用及其抑制剂研究做一综述。

关键词: MMPs; 动脉粥样硬化; MMPs 抑制剂

中图分类号: R543.5; R972.6 **文献标志码:** A

Research advances on the role of MMPs and their inhibitors in atherosclerosis

AN Deng-Kun^{1,2}, LIANG Hao^{1,2}, SONG Shu-Liang^{1,2}, JI Ai-Guo^{1,2,3*}

(1 Marine College, Shandong University, Weihai 264209, China;

2 Weihai International Biotechnology Research & Development Centre, Shandong University Weihai 264209, China;

3 School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China)

Abstract: Matrix metalloproteinases (MMPs) are a kind of endopeptidases, named for the metal-dependent characteristics and their ability to degrade the extracellular matrix (ECM). MMPs can adjust adhesion, migration and proliferation capacities of monocytes, macrophages and vascular smooth muscle cells (VSMCs), thus widely participating in the development of atherosclerosis (AS). Under normal physiological conditions, MMPs keep in balance with tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs). However, the ratio of MMPs to TIMPs can increase in the pathological process of AS. Therefore, specific inhibitors of MMPs may help to provide new ideas for the treatment of AS. This review summarizes research advances on the role of MMPs in atherosclerosis and their inhibitors.

Key words: MMPs; atherosclerosis; MMPs inhibitors

动脉粥样硬化 (AS) 是一种慢性炎症疾病, 且与自身免疫相关。它的主要症状是在动脉血管壁上形成含有脂质成分的斑块, 并附着纤维帽结构。斑块一旦破裂将导致心肌梗死、中风、周围性血管病变等。大量研究表明, 血管损伤处的多种基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 水平发生变化, 如 MMP-1、2、3、7、8、9、11、13、14^[1]。因此, 有必要阐明 MMPs 在 AS 形成、发展和斑块破裂的病理过程中的作用方式, 并针对致病性 MMPs 设计出特异性的 MMPs 抑制剂, 从而寻找出

针对 AS 靶细胞或者靶分子的特异性治疗方案。

1 MMPs

MMPs 的催化结构域中含有一个与锌离子结合的序列, 属于锌金属蛋白酶家族。MMPs 参与了形态发生、伤口愈合、组织修复与重塑等诸多生理过程, 并在 AS、神经退行性疾病、自身免疫性疾

收稿日期: 2015-05-19; 修回日期: 2015-06-28

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81371455)

*通信作者: E-mail: jiaiguo@sdu.edu.cn

病以及癌症等多种疾病的病理过程中发挥重要作用^[2]。

目前, 在人体内共发现 24 种 MMPs。MMPs 的表达受炎症细胞因子、生长因子、激素等多重因素的调节, 其家族成员间具有高度的结构同源性, 大多数 MMPs, 包含以下 4 个部分: (1) N 端包含有疏水性信号肽以及高度保守的前导肽, 后者使 MMPs 处于非活化状态; (2) 中间部分为能够结合锌离子的催化结构域, 赋予 MMPs 内切蛋白酶活性; (3) C 端有一个与血液结合素高度相似的结构域; (4) 催化结构域与血液结合素样结构域之间是铰链区, 该区不仅起连接作用, 且对稳定酶活性及底物特异性具有重要作用^[2-3]。

根据 MMPs 结构和底物上的差异, MMPs 可分为 6 大类, 包括胶原酶 (MMP-1、8、13)、明胶酶 (MMP-2、-9)、间质溶素 Stromelysins (MMP-3、10、11)、基质溶素 Matrilysins (MMP-7、26)、膜型 MMPs (MMP-14、15、16、17、24、25) 及其他类 (MMP-12、19、21、28 等)^[2]。

2 MMPs与AS

AS 发病过程复杂, 普遍认为遗传因素与环境因素对该病具有重要影响。其病理进展大体分为以下几个过程: 脂质条纹形成、纤维斑块及粥样斑块形成、斑块破裂等继发病变^[4]。参与上述病理过程的细胞主要涉及单核细胞、内皮细胞、血管平滑肌细胞 (VSMCs) 等^[5-8]。MMPs 能分解细胞外基质 (ECM) 和基底膜, 影响上述细胞的黏附、迁移、增殖等, 广泛参与了 AS 病理过程。因此, 进一步详细了解 MMPs 在 AS 发病过程中的具体作用机制, 对预防和治疗该病具有重要的现实意义。

2.1 MMPs与脂质条纹形成

化学及机械性因素, 如低密度脂蛋白、剪切力、活性氧等可损伤动脉内皮, 导致动脉内皮细胞表达血管细胞黏附分子-1 (VCAM-1) 等黏附因子, 继而招募血液中的单核细胞与淋巴细胞。这些细胞一旦黏附就会在趋化因子的诱导作用下穿过内皮细胞侵入血管内膜。单核细胞侵入内膜分化成巨噬细胞, 后者表达清道夫受体并吸收氧化型脂蛋白, 最终转化成泡沫细胞^[9]。这些荷脂泡沫细胞在动脉内膜上形成的黄色斑点或条纹, 被称为脂质条纹^[10]。脂质条纹可在青少年期, 甚至儿童期出现, 虽然不造成临床症状, 但是可作为 AS 的早期阶段。

单核细胞黏附、侵入血管壁是脂质条纹形成的

前提, 这一过程与 MMPs 降解 ECM 等生理作用密切相关。采用 C166 小鼠内皮细胞及 MMP-8 基因敲除小鼠进行体内外实验, 发现 MMP-8 可能具有将血管紧张素 I 转化为血管紧张素 II 的活性, 并增加损伤处 VCAM-1 的表达, 从而招募炎症细胞在内皮损伤部位进行黏附^[11]。除了上述增加黏附因子以促进单核细胞进行黏附的作用外, MMPs 的主要作用是降解 ECM, 方便单核细胞向内皮侵入。侵入内膜的单核细胞分化成巨噬细胞, 是脂质条纹形成过程中的重要病理变化, 在该过程中 MMPs 表达量也发生变化。有研究采用人单核细胞模拟人体内细胞黏附、炎症刺激、分化 3 个过程, 并测定相关 MMPs 的 mRNA 水平, 发现: (1) MMP-1、7、10 在非黏附细胞中基本不表达, 而细胞黏附后表达显著增高, 例如, MMP-1 激增 6 000 余倍, 这可能帮助单核细胞在黏附后侵入损伤部位; (2) 采用细菌脂多糖处理后细胞 MMP-1、7、9、10、14 表达升高, 而组织金属蛋白酶抑制物 (TIMPs) 中仅 TIMP-1 的表达量升高, 因此, MMPs/TIMPs 比值升高, 这些变化赋予了被招募单核细胞强大的 ECM 分解能力; (3) 单核细胞在分化为巨噬细胞时 MMP-1、10 转录下调, MMP-7、9、12、14 和 TIMP-3 上调^[12]。

2.2 MMPs与斑块形成

侵入内皮后巨噬细胞可继续分泌趋化因子, 进一步招募血液中的单核细胞、淋巴细胞以及血管中膜内的 VSMCs。VSMCs 在侵入内膜后会由收缩型转变为合成型, 开始分泌以 I 型胶原、II 型胶原、蛋白聚糖为主要成分的 ECM。同时, 内膜本身存在的 VSMCs 及中膜迁移来的 VSMCs 开始增殖^[13]。泡沫细胞、淋巴细胞、平滑肌细胞等在内膜不断富集, 结合胞外基质的改变, 逐渐发展为 AS 斑块。

脂质条纹是否能直接形成纤维斑块一直存在争议, 但普遍认为基底膜和弹性膜的破坏是上述过程所必需的。采用 MMP-12 转基因兔进行实验, 1% 胆固醇饮食 6 周后, 与正常兔相比 MMP-12 转基因兔的动脉内弹性膜降解明显。随后有更多的巨噬细胞和 VSMCs 侵入损伤部位, 提示 MMP-12 可能在 AS 发展过程中起重要作用^[14]。MMP-13 也能促进 VSMCs 的迁移, 其表达很可能受 Akt-ERK 信号通路调控^[15]。

钙黏素可维持细胞间连接, 并调节 β -连环蛋白。 β -连环蛋白是 Wnt 信号通路中的重要信号分子, 可参与细胞的增殖、分化、迁移等。最新研究显示,

MMP-8 能通过激活解聚素与金属蛋白酶 10, 调节后续 N- 钙黏素和 β - 连环蛋白相关信号通路, 促进 VSMCs 的迁移和增殖, 从而促进斑块形成^[16]。体内外实验证实, MMP-8 还能够通过加速斑块处血管的生成, 促进斑块的形成和发展, 从血管生成方面证实了 MMP-8 加快 AS 进程的机制^[17]。

2.3 MMPs与斑块破裂

VSMCs 在血管内膜处产生包含胶原和弹性蛋白的 ECM, 形成覆盖在斑块上的纤维帽。纤维帽下包含着巨噬细胞源性泡沫细胞, 其中一些泡沫细胞凋亡产生细胞碎片并释放脂质, 成为脂质核心。纤维帽一旦破裂, 就会促使组织因子、脂质等促血栓因子释放入血液, 引发凝血反应, 致使血栓形成, 进而导致心肌梗死、中风等。

AS 斑块是否容易破裂主要取决于纤维帽的厚度、脂质核心的大小、炎症细胞的数目等。稳定型斑块具有大量 VSMCs 与胶原物质填充, 脂质及巨噬细胞少, 并且纤维帽较厚。相反, 不稳定的斑块 VSMCs 与胶原物质少, 核心富含脂质, 斑块两翼含有大量的巨噬细胞, 并且纤维帽薄。

值得一提的是, 在 AS 斑块形成期, VSMCs 从中膜到内膜的迁移及其增生能促进斑块发展。相反地, 在 AS 斑块发展晚期, VSMCs 的积累对于斑块稳定性起保护作用。VSMCs 凋亡则可直接破坏斑块稳定, 而 VSMCs 凋亡所导致的胶原合成减少也是导致斑块不稳定的重要因素。MMPs 一方面可分解维持斑块稳定的胶原; 另一方面通过影响 VSMCs 增殖, 间接影响 VSMCs 所产生的胶原含量。在不稳定斑块的易破裂部分, MMP-2、7、11、12、13、14、16 的表达量升高^[18]。它们的生理作用具有多样性, *ApoE*^{-/-} 小鼠经 *MMP-2* 基因敲除后发现斑块减小, 但 VSMCs 数量降低, 这意味着 MMP-2 对斑块稳定性可能同时具有保护性和破坏性。研究较多的 MMP-9 亦是如此, MMP-9 能分解 ECM, 从而破坏斑块稳定性, 也能促进 VSMCs 增殖提高纤维帽厚度, 保持斑块稳定。而 *MMP-7* 基因敲除后 VSMCs 积聚增加, 这可能与 MMP-7 促小鼠 VSMCs 凋亡的作用相关^[19]。可见, MMPs 影响 AS 斑块稳定性的作用是多方面的。

3 MMPs抑制剂

MMPs 广泛参与 AS 病理进程。某些 MMPs 表达增加会表现出内膜增厚、斑块发展等作用, 这可通过抑制 MMPs 活性来延缓和治疗 AS 成为可能。

因此, 研究 MMPs 的“内源性抑制剂”和开发“外源性抑制剂”就显得尤为重要。

3.1 MMPs内源性抑制剂

MMPs 被激活后可由内源性抑制剂调控, 这些抑制剂包括 TIMPs、 $\alpha 2$ 巨球蛋白和 Kazal 基序逆向诱导半胱氨酸丰富蛋白 (reversion-inducing cysteine-rich protein with kazal motifs, RECK)。 $\alpha 2$ 巨球蛋白可与 MMPs 不可逆结合形成复合物, 然后被清道夫受体介导的内吞作用消除。RECK 是一种位于细胞表面可抑制 MMPs 活性的蛋白。TIMPs 位于组织内, 可与 MMPs 以非共价键 1:1 可逆结合抑制其活性, 在上述 3 种内源性抑制剂中活性最强^[20-21]。

在脊椎动物中发现了 4 种 TIMPs。在正常生理条件下, 生物体的 MMPs 与 TIMPs 保持平衡状态, 这对维持机体内 ECM 稳态是至关重要的, 一旦这一平衡被打破, 将会导致 ECM 成分重构, 引发诸如心血管、癌症、神经系统等方面的疾病。普遍认为 MMPs 升高导致的 ECM 降解和后续相关细胞的迁移、增殖等, 是其促进 AS 等疾病发展的原因。而有研究提出, TIMPs 的 N 端与 MMPs 结合, C 端可以与细胞表面受体结合引起信号转导。当 MMPs 表达过多时, 大量结合 TIMPs 影响了其与细胞表面受体的结合, 妨碍了相关信号转导, 从而影响了疾病进程^[21]。这为进一步了解 MMPs 与 TIMPs 提供了新视角。

3.2 MMPs外源性抑制剂

Zn^{2+} 是维持 MMPs 催化活性所必需的。因此, 其螯合剂能抑制 MMPs 活性, 如羟肟酸衍生物 BB-94 (巴马司他)、BB-1101、BB-2293、BB-2516 (马立马司他) 和 CT1746。令人失望的是, 此类抑制剂未能取得可靠的治疗效果, 反而表现出肌肉骨骼毒性^[22]。这一类抑制剂被称为第一代广谱抑制剂。第二代抑制剂亦可与 Zn^{2+} 螯合产生作用, 螯合作用较弱, 但治疗效果却比第一代抑制剂好。第二代抑制剂包括化学修饰的四环素类 (chemically modified tetracyclines, CMTs), 其发挥 MMPs 抑制作用与其抗菌机制无关, CMTs 包括 6- 去甲基 -6- 脱氧 -4- 去二甲基氨基四环素 (CMT-3、COL-3)、米诺环素和强力霉素等。通过给大鼠口服给药, 发现 CMT-3 可抑制大鼠颈动脉球囊损伤术造成的内膜增生, 这主要是因为 CMT-3 抑制了内膜和中膜处 VSMCs 的增殖及 VSMCs 由中膜向内膜的迁移, 同时, CMT-3 还减少了内膜处弹性蛋白和胶原蛋白的积累^[23]。牙周炎一直被认为与心血管疾病紧密相关, 一项以同

时患有动脉粥样硬化和牙周炎的患者为研究对象的临床试验发现, 非抗菌浓度的强力霉素能提高高密度脂蛋白(HDL)及其主要成分载脂蛋白 A-I (apoA-I)的水平, 这可能因为强力霉素能抑制 MMP-8, 从而降低了其对 apoA-I 的降解^[24]。

上述抑制剂以 MMPs 催化基团的 Zn^{2+} 为作用靶点, 属于广谱抑制剂, 可以与多种 MMPs 及含 Zn^{2+} 的非 MMPs 蛋白酶作用。MMPs 在 AS 发病过程中发挥多重作用, 不同 MMPs 之间有时作用相反, 因此, 此类抑制剂未能取得足够有益的临床效果。而且, “非 MMPs 蛋白酶”抑制作用可能正是其产生肌肉骨骼毒性等副作用的原因^[25]。

基于上述广谱抑制剂的不良表现, 高度选择性的 MMPs 抑制剂成为目前研究的热点, 称为第三代 MMPs 抑制剂。噻吩 [2,3-d] 嘧啶 -2- 甲酰胺是一种高效高选择性的口服 MMP-13 抑制剂, 该化合物根据 MMP-13 结构进行设计, 使其能与 MMP-13 特异性结合^[26]。除化学合成药外, 蛋白质类药物也可以设计成特异性抑制剂, 例如 APP-IP-TIMP-2, 即 TIMP-2 的 N 端连接 β - 淀粉样前体蛋白衍生物 MMP-2 特异性抑制多肽 (APP-IP)。APP-IP 部分与 MMP-2 的活性位点结合, TIMP-2 部分与 MMP-2 的血液结合素样结构域结合。这样, TIMP-2 的广谱 MMPs 抑制活性可被 APP-IP 封闭, 从而表现出对 MMP-2 的高度选择性。实验数据表明, 重组 APP-IP-TIMP-2 对 MMP-2 表现出强烈抑制活性, 而其对 MMP-1、3、7、8、9 和 MT1-MMP 的抑制活性则降低了 6 个数量级^[27]。

一些天然药物也表现出 MMPs 抑制活性, 如芒果甙能通过 PI3K/Akt 和 MAPK 信号通路抑制 NF- κ B、AP-1 与 MMP-9 启动子的结合, 从而选择性抑制 MMP-9 的基因表达^[28]。能抑制 MMPs 的天然药物, 还包括青蒿素、白藜芦醇、小檗碱、槲皮素、类胡萝卜素等, 这些天然药物具有副作用少、毒性低等优点, 为开发 MMPs 抑制剂提供了新思路^[29-32]。

较为有趣的是, 主要用于调血脂的他汀类药物也表现出 MMPs 抑制活性。随着研究的深入, 该类药物表现出降脂作用以外的多重药理活性, 包括抗炎、抗氧化、抗凝血等。MMPs 抑制作用可能为其治疗心血管系统疾病提供新的药理基础。研究显示, 辛伐他汀和阿托伐他汀能降低人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVEC) MMP-9 活性, 阿托伐他汀和普伐他汀能降低 HUVEC 中 MMP-2 的活性^[33]。

4 结论与展望

AS 主要由遗传因素与环境因素诱发, 病因复杂, 发病率高。在人类疾病谱中, 动脉粥样硬化性疾病是导致死亡的首要原因^[10]。近年来, 大量研究发现, MMPs 与 AS 的发病进程密切相关。在细胞及动物实验层面通过 MMPs 或 TIMPs 基因沉默、基因敲除、特异性抑制剂等方法, 已经逐渐揭开其参与 AS 病理过程的神秘面纱。但是, 由于动物模型与人体相比存在很多差异, 例如: (1) 人类动脉内膜本身包含 VSMCs, 而用于 AS 研究的动物内膜不含 VSMCs^[9]; (2) 鼠类与人类巨噬细胞所表达的 MMPs 种类和数量存在巨大差异, 在研究斑块破裂方面并不能成为一种合适的动物模型^[19], 这使得很多以鼠类为对象进行研究的成果在应用时颇受局限。因此, 从实验研究过渡到临床应用仍有诸多问题需要解决。

尽管如此, MMPs 在人类 AS 方面的研究仍表明, 两者之间存在密切联系。比如: (1) 部分 MMPs 在人类 AS 发病过程中的水平发生显著变化^[1]; (2) 血液及尿液中的某些 MMPs 的水平可反映 AS 相关疾病, 并有望成为标志物用于疾病诊断^[34-35]; (3) MMPs 基因多态性研究发现, 某些 MMPs 基因型的改变可能使某类人群更易罹患该类疾病^[36-38]。因此, 随着表达调控、作用机制、特异性抑制剂开发等方面研究的继续深入, MMPs 有望成为 AS 及相关疾病的新靶标, 为该类疾病的治疗、诊断提供新思路。

[参 考 文 献]

- [1] Bäck M, Ketelhuth DF, Agewall S. Matrix metalloproteinases in atherothrombosis. *Prog Cardiovasc Dis*, 2010, 52(5): 410-28
- [2] Sbardella D, Fasciglione GF, Gioia M, et al. Human matrix metalloproteinases: an ubiquitous class of enzymes involved in several pathological processes. *Mol Aspects Med*, 2012, 33(2): 119-208
- [3] Mannello F, Medda V. Nuclear localization of matrix metalloproteinases. *Prog Histochem Cytochem*, 2012, 47(1): 27-58
- [4] Insull W Jr. The pathology of atherosclerosis: plaque development and plaque responses to medical treatment. *Am J Med*, 2009, 122(1 Suppl): S3-14
- [5] Ghattas A, Griffiths HR, Devitt A, et al. Monocytes in Coronary Artery Disease and Atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62(17): 1541-51
- [6] Merrill JT. Endothelial cell damage and atherosclerosis [M]// Tsokos G, Buyon JP, Koike T, et al. Systemic lupus erythematosus. 4th ed. Amsterdam: Academic Press, 2011:

- 967-83
- [7] Lacolley P, Regnault V, Nicoletti A, et al. The vascular smooth muscle cell in arterial pathology: a cell that can take on multiple roles. *Cardiovasc Res*, 2012, 95(2): 194-204
- [8] Koga J, Aikawa M. Crosstalk between macrophages and smooth muscle cells in atherosclerotic vascular diseases. *Vascul Pharmacol*, 2012, 57(1): 24-8
- [9] Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature*, 2011, 473(7347): 317-25
- [10] 杨永宗. 动脉粥样硬化性心血管病基础与临床[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 2009: 4-28
- [11] Laxton RC, Hu Y, Duchene J, et al. A role of matrix metalloproteinase-8 in atherosclerosis. *Circ Res*, 2009, 105(9): 921-9
- [12] Reel B, Sala-Newby GB, Huang WC, et al. Diverse patterns of cyclooxygenase-independent metalloproteinase gene regulation in human monocytes. *Br J Pharmacol*, 2011, 163(8): 1679-90
- [13] Doran AC, Meller N, McNamara CA. Role of smooth muscle cells in the initiation and early progression of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, 28(5): 812-9
- [14] Yamada S, Wang KY, Tanimoto A, et al. Matrix metalloproteinase 12 accelerates the initiation of atherosclerosis and stimulates the progression of fatty streaks to fibrous plaques in transgenic rabbits. *Am J Pathol*, 2008, 172(5): 1419-29
- [15] Yang SW, Lim L, Ju S. Effects of matrix metalloproteinase 13 on vascular smooth muscle cells migration via Akt-ERK dependent pathway. *Tissue Cell*, 2015, 47(1): 115-21
- [16] Xiao Q, Zhang F, Grassia G, et al. Matrix metalloproteinase-8 promotes vascular smooth muscle cell proliferation and neointima formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(1): 90-8
- [17] Fang C, Wen G, Zhang L, et al. An important role of matrix metalloproteinase-8 in angiogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Cardiovasc Res*, 2013, 99(1): 146-55
- [18] Johnson JL. Matrix metalloproteinases: influence on smooth muscle cells and atherosclerotic plaque stability. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2007, 5(2): 265-82
- [19] Newby AC. Metalloproteinases promote plaque rupture and myocardial infarction: a persuasive concept waiting for clinical translation. *Matrix Biol*, 2015 44-46: 157-66
- [20] Moore L, Fan D, Basu R, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMPs) in heart failure. *Heart Fail Rev*, 2012, 17(4-5): 693-706
- [21] Moore CS, Crocker SJ. An alternate perspective on the roles of TIMPs and MMPs in pathology. *Am J Pathol*, 2012, 180(1): 12-6
- [22] Raffetto JD, Khalil RA. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease. *Biochem Pharmacol*, 2008, 75(2): 346-59
- [23] Islam MM, Franco CD, Courtman DW, et al. A nonantibiotic chemically modified tetracycline (CMT-3) inhibits intimal thickening. *Am J Pathol*, 2003, 163(1): 1557-66
- [24] Gu Y, Lee HM, Sorsa T, et al. Non-antibacterial tetracyclines modulate mediators of periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: a mechanistic link between local and systemic inflammation. *Pharmacol Res*, 2011, 64(6): 573-9
- [25] Peterson JT. The importance of estimating the therapeutic index in the development of matrix metalloproteinase inhibitors. *Cardiovasc Res*, 2006, 69(3): 677-87
- [26] Nara H, Sato K, Naito T, et al. Thieno[2,3-d]pyrimidine-2-carboxamides bearing a carboxybenzene group at 5-position: highly potent, selective, and orally available MMP-13 inhibitors interacting with the S1" binding site. *Bioorg Med Chem*, 2014, 22(19): 5487-505
- [27] Higashi S, Hirose T, Takeuchi T, et al. Molecular design of a highly selective and strong protein inhibitor against matrix metalloproteinase-2 (MMP-2). *J Biol Chem*, 2013, 288(13): 9066-76
- [28] Jung JS, Jung K, Kim DH, et al. Selective inhibition of MMP-9 gene expression by mangiferin in PMA-stimulated human astrogloma cells: involvement of PI3K/Akt and MAPK signaling pathways. *Pharmacol Res*, 2012, 66(1): 95-103
- [29] Magenta D, Sangiovanni E, Basilico N, et al. Inhibition of metalloproteinase-9 secretion and gene expression by artemisinin derivatives. *Acta Trop*, 2014, 140: 77-83
- [30] Huang Z, Wang C, Wei L, et al. Resveratrol inhibits EMMPRIN expression via P38 and ERK1/2 pathways in PMA-induced THP-1 cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 374(3): 517-21
- [31] Huang Z, Wang L, Meng S, et al. Berberine reduces both MMP-9 and EMMPRIN expression through prevention of p38 pathway activation in PMA-induced macrophages. *Int J Cardiol*, 2011, 146(2): 153-8
- [32] Gupta A, Kaur CD, Jangdey M, et al. Matrix metalloproteinase enzymes and their naturally derived inhibitors: novel targets in photocarcinoma therapy. *Ageing Res Rev*, 2014, 13: 65-74
- [33] Izidoro-Toledo TC, Guimaraes DA, Belo VA, et al. Effects of statins on matrix metalloproteinases and their endogenous inhibitors in human endothelial cells. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2011, 383(6): 547-54
- [34] Cavusoglu E, Marmur JD, Hegde S, et al. Relation of baseline plasma MMP-1 levels to long-term all-cause mortality in patients with known or suspected coronary artery disease referred for coronary angiography. *Atherosclerosis*, 2015, 239(1): 268-75
- [35] Zucker S, Doshi K, Cao J. Measurement of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of

- metalloproteinases (TIMP) in blood and urine: potential clinical applications. *Adv Clin Chem*, 2004, 38: 37-85
- [36] Seifi M, Fallah S, Firoozrai M. Influence of genetic polymorphism in matrix metalloproteinase-3 on extent of coronary atherosclerosis and risk of coronary artery stenosis. *Arch Med Res*, 2009, 40(7): 600-4
- [37] Djurić T, Stanković A, Končar I, et al. Association of MMP-8 promoter gene polymorphisms with carotid atherosclerosis: preliminary study. *Atherosclerosis*, 2011, 219(2): 673-8
- [38] Djurić T, Zivković M, Radak D, et al. Association of MMP-3 5A/6A gene polymorphism with susceptibility to carotid atherosclerosis. *Clin Biochem*, 2008, 41(16-17): 1326-9