

去整合素金属蛋白酶 10 在糖尿病冠状动脉支架内再狭窄中作用的研究

吴丽苹 王燕萍 蔡沁 陈媛媛 杨克 陆林 沈卫峰 曹久妹

【摘要】 目的:探讨去整合素金属蛋白酶 10(ADAM10)在糖尿病冠状动脉(冠脉)支架内再狭窄(ISR)中的作用。 方法:在 17 头糖尿病猪和 10 头正常猪的冠脉内置入雷帕霉素洗脱支架,6 个月后进行冠脉造影,留取发生和未发生 ISR 的冠脉组织,Western blot 检测 ADAM10 表达水平。在人主动脉平滑肌细胞(HASMC)中感染 ADAM10 的过表达和敲减病毒,BrdU 检测细胞增殖,划痕实验检测细胞迁移能力。分别用低糖培养基、高糖培养基、晚期糖基化终末产物-牛血清白蛋白(AGE-BSA)、AGE-BSA + AGE 受体(RAGE)抗体培养 HASMC,实时定量 RT-PCR 和 Western blot 检测 ADAM10 表达水平。 结果:在糖尿病组中,未发生 ISR 和发生 ISR 的冠脉组织中 ADAM10 的表达均高于非糖尿病组(3.36 ± 1.27 对 2.11 ± 2.05 , 10.48 ± 4.72 对 6.72 ± 1.36 , P 均 < 0.01)。在非糖尿病组和糖尿病组,发生 ISR 的冠脉组织中 ADAM10 的表达均高于未发生 ISR 的冠脉组织(P 均 < 0.01)。BrdU 实验显示,在低糖培养基和高糖培养基中,ADAM10 过表达的 HASMC 增殖均明显高于转染空载体的 HASMC(2.25 ± 0.07 对 1.87 ± 0.08 , 2.47 ± 0.10 对 2.07 ± 0.10 , P 均 < 0.05);而 ADAM10 敲减的 HASMC 增殖均明显低于转染空载体的 HASMC(1.34 ± 0.10 对 1.87 ± 0.08 , 1.46 ± 0.09 对 2.07 ± 0.10 , P 均 < 0.05);ADAM10 过表达和 ADAM10 敲减的 HASMC 在高糖培养基中的增殖均明显高于低糖培养基(P 均 < 0.05)。细胞划痕实验显示,在低糖培养基和高糖培养基中,ADAM10 过表达的 HASMC 迁移距离均明显大于转染空载体的 HASMC[(1.02 ± 0.12) mm 对 (0.65 ± 0.04) mm, (1.26 ± 0.06) mm 对 (0.78 ± 0.06) mm, P 均 < 0.05],而 ADAM10 敲减的 HASMC 迁移距离均明显小于转染空载体的 HASMC [(0.26 ± 0.06) mm 对 (0.65 ± 0.04) mm, (0.43 ± 0.14) mm 对 (0.78 ± 0.06) mm, P 均 < 0.05];ADAM10 过表达和 ADAM10 敲减的 HASMC 在高糖培养基中的迁移距离均明显大于低糖培养基(P 均 < 0.05)。与低糖培养基相比,高糖培养基和 AGE-BSA 中 HASMC ADAM10 mRNA 和蛋白的相对表达水平均明显升高(P 均 < 0.05);与 AGE-BSA 相比,AGE-BSA + RAGE 抗体中 HASMC ADAM10 mRNA 和蛋白的相对表达水平均明显降低(P 均 < 0.05)。 结论:ADAM10 在糖尿病发生 ISR 的冠脉中表达显著升高,ADAM10 高表达促进动脉平滑肌细胞增殖和迁移,高糖环境及 AGE 均可促进 ADAM10 的表达,ADAM10 可能参与了糖尿病冠脉 ISR 的发生与发展。

【关键词】 去整合素金属蛋白酶 10;支架内再狭窄;平滑肌细胞;糖尿病

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2017.02.013

基金项目:国家自然科学基金(81570226)

作者单位:200025 上海交通大学医学院附属瑞金医院老年病科(吴丽苹,曹久妹),心内科(王燕萍,蔡沁,陈媛媛,杨克,陆林,沈卫峰)

通信作者:曹久妹,Email:jiumeicao@hotmail.com

Effects of a disintegrin and metalloprotease 10 on coronary artery in-stent restenosis in diabetes WU Liping¹, WANG Yanping², CAI Qin², CHEN Yuanyuan², YANG Ke², LULin², SHEN Weifeng², CAO Jiumei¹. 1. Department of Geratology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine; 2. Department of Cardiology, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

【Abstract】 Objective: To investigate the effects of a disintegrin and metalloprotease 10 (ADAM10) on coronary artery in-stent restenosis (ISR) in diabetes. **Methods:** Rapamycin-eluting stents were implanted in the coronary arteries of 17 diabetic and 10 normal minipigs, and angiography was repeated after 6 months. The coronary artery tissues of significant ISR and non-ISR segments in both diabetic and normal minipigs were analyzed by western blot analysis to detect the expression of ADAM10. Overexpression and knockdown of ADAM10 were transfected by retrovirus in human aortic smooth muscle cells (HASMC). The proliferation of HASMC was measured by BrdU assay and migration was detected by scratch test. The ADAM10 expressions of HASMC were analyzed by real time RT-PCR and western blot after treatment with low glucose, high glucose, advanced glycation end products-bovine serum albumin (AGE-BSA), and AGE-BSA + receptor for AGE (RAGE) antibody. **Results:** The results showed that the expressions of ADAM10 in both non-ISR tissues (3.36 ± 1.27 vs. 2.11 ± 2.05 , $P < 0.01$) and ISR tissues (10.48 ± 4.72 vs. 6.72 ± 1.36 , $P < 0.01$) were significantly higher in diabetic minipigs than those in normal minipigs. ADAM10 levels were significantly increased in ISR tissues compared with non-ISR tissues in both normal minipigs and diabetic minipigs (both $P < 0.01$). BrdU assay showed that The proliferation of HASMC with overexpression of ADAM10 increased in both low glucose culture (2.25 ± 0.07 vs. 1.87 ± 0.08 , $P < 0.05$) and high glucose culture (2.47 ± 0.10 vs. 2.07 ± 0.10 , $P < 0.05$) compared with that of HASMC transfected by empty vector, while the proliferation of HASMC with knockdown of ADAM10 significantly inhibited in both low glucose culture (1.34 ± 0.10 vs. 1.87 ± 0.08 , $P < 0.05$) and high glucose culture (1.46 ± 0.09 vs. 2.07 ± 0.10 , $P < 0.05$) compared with that of HASMC transfected by empty vector. The cell proliferation in high glucose culture was significantly higher than that in low glucose culture both in HASMC with overexpression and knockdown of ADAM10 (both $P < 0.05$). Cell scratch test showed that the cell migration distances were significantly longer in HASMC with overexpression of ADAM10 compared with HASMC transfected by empty vector both in low glucose culture [(1.02 ± 0.12) mm vs. (0.65 ± 0.04) mm, $P < 0.05$] and high glucose culture [(1.26 ± 0.06) mm vs. (0.78 ± 0.06) mm, $P < 0.05$], while those were shorter in HASMC with knockdown of ADAM10 compared with HASMC transfected by empty vector both in low glucose culture [(0.26 ± 0.06) mm vs. (0.65 ± 0.04) mm, $P < 0.05$] and high glucose culture [(0.43 ± 0.14) mm vs. (0.78 ± 0.06) mm, $P < 0.05$]. The cell migration distance in high glucose culture was significantly longer than that in low glucose culture both in HASMC with overexpression and knockdown of ADAM10 (both $P < 0.05$). The relative expressions of ADAM10 mRNA and protein were significantly higher in high glucose culture and AGE-BSA than those in low glucose culture (all $P < 0.05$), while significantly lower in AGE-BSA + RAGE antibody than those in AGE-BSA (both $P < 0.05$). **Conclusions:** ADAM10 expression is significantly increased in coronary artery ISR segments of diabetes. Increased ADAM10 expression promotes the proliferation and migration of arterial smooth muscle cells. High glucose and AGE can both induce the expression of ADAM10. ADAM10 may be involved in the development and progress of diabetic ISR.

【Key words】 A disintegrin and metalloprotease 10; In-stent restenosis; Smooth muscle cells; Diabetes mellitus

支架内再狭窄(ISR)是冠状动脉(冠脉)粥样硬化性心脏病(冠心病)经皮冠脉介入治疗(PCI)中亟待解决的问题。糖尿病是冠心病的独立危险因素,糖尿病患者高血糖与ISR的发生有直接关系,血糖

升高形成的糖基化终末产物(AGE)可通过同源受体信号促进平滑肌细胞增殖与迁移^[1]。去整合素金属蛋白酶 10(a disintegrin and metalloprotease 10, ADAM10)属于跨膜金属蛋白酶,可水解细胞外基

质Ⅳ型胶原和淀粉样前体蛋白^[2-3],参与维持血管稳态。本研究探讨 ADAM10 在糖尿病冠脉 ISR 形成中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

链脲菌素、G418、嘌呤霉素以及其他化学试剂购自美国 Sigma-Aldrich 公司,胰岛素诺和灵 30R 购自丹麦 Novo Nordisk A/S 公司,5-溴-2'-脱氧尿苷(BrdU)细胞增殖检测试剂盒和晚期糖基化终末产物-牛血清白蛋白(AGE-BSA)购自德国 Calbiochem 公司,晚期糖基化终末产物受体(RAGE)抗体购自美国 Santa Cruz 公司,SYBR Green PCR Master Mix 购自美国 ABI 公司,ADAM10 抗体购自美国 Abcam 公司;T 克隆载体、脂质体-2000 购自美国 Invitrogen 公司,人主动脉平滑肌细胞(human arterial smooth muscle cells, HASMC)购自美国 Cascade Biologics 公司,pLXSN 逆转录病毒载体、PT67 包装细胞和 pSIREN-RetroQ 载体购自美国 Clontech 公司;中国贵州小型猪购自上海交通大学农学院。

1.2 实验动物及分组

小型猪 27 只,雄性,4~6 个月龄,体质量 20~25 kg,分为两组。糖尿病组:17 只小型猪,通过静脉推注链脲菌素(125 mg/kg)诱发糖尿病,给予胰岛素注射治疗以保持空腹血糖水平 < 10 mmol/L;非糖尿病组:10 只小型猪。造模成功 2 周后,行冠脉造影术,分别于左、右冠脉置入长度为 18 mm、直径为 2.5 mm 或 3.0 mm 的雷帕霉素洗脱支架。运用血管内超声成像(IVUS)评估支架内血管内膜增生程度,发现小型猪 ISR 形成至少需 6 个月。6 个月后复查冠脉造影,ISR 定义为复查造影时支架内管腔内径损失 $\geq 50\%$ ^[4]。复查后处死小型猪,分别留取发生 ISR 和未发生 ISR 的冠脉组织。

1.3 逆转录病毒构建

逆转录并扩增 ADAM10 的 cDNA 片段,重组连接入 T 克隆载体。测序验证后,扩增 ADAM10 克隆并导入 pLXSN 逆转录病毒载体,构建过表达质粒 pLXSN-ADAM10。将 ADAM10 的 shRNA 正向和反向序列(Invitrogen 公司合成)连接入 pSIREN-RetroQ 载体,构建敲减质粒 pSIREN-shADAM10。利用脂质体-2000 将病毒载体导入 PT67 包装细胞,培养 24 h 后,收集培养基上清液(含逆转录病毒),立即使用或 -80℃ 保存。

1.4 HASMC 细胞培养和逆转录病毒感染

HASMC 在含 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 庆大霉素、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 两性霉素 B 和 10% 胎牛血清的 M199 培养基(低糖或高糖)中培养。将病毒上清液和转染试剂混合后感染细胞,24 h 后使用 G418 或嘌呤霉素筛选阳性克隆,经过 1 周筛选后形成稳定细胞系。

1.5 BrdU 检测 HASMC 增殖

将细胞接种于 96 孔板, 5×10^3 个细胞/孔,培养 24 h 后,加入 10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 尿苷孵育 4 h。使用 4% 多聚甲醛固定细胞,并加入 BrdU 抗体孵育 1 h,清洗细胞后加入辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗孵育 30 min,清洗细胞后加入 TMB 底物反应 15 min,加入终止液。30 min 内 450~540 nm 波长处测定吸光度值。

1.6 划痕实验检测 HASMC 迁移能力

于 6 孔板中待 HASMC 生长至融合状态,血清剥夺培养过夜,使用无菌移液器于细胞层面上均匀划痕后,换新鲜培养基,于 0 h 和 24 h 拍摄图像,使用 Image-Pro Plus 6.2 软件计算细胞迁移距离。

1.7 实时定量 RT-PCR 检测 ADAM10 mRNA 表达水平

分别使用低糖培养基、高糖培养基、AGE-BSA (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 及 AGE-BSA (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) + RAGE 抗体(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 处理 HASMC 24 h 后,TRIzol 提取 HASMC 总 RNA,反转录为 cDNA 后,采用 SYBR Green PCR Master Mix 体系进行实时定量 PCR,以检测 ADAM10 mRNA 的相对表达水平。引物序列如下:ADAM10 正向引物为 5'-ATCTC GAGATGGTGTGCTGAGAGT-3',反向引物为 5'-AAGGATCCTTAGCGTCTCATGTGTCC-3'; β 肌动蛋白正向引物为 5'-CGTTGACATCCGT AAAGACC-3',反向引物为 5'-TAGAGCCACC AATCCACACA -3'。扩增条件:95℃ 预变性 30 s;95℃ 变性 5 s,60℃ 退火 31 s,共 40 个循环。按照 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法进行数据分析, β 肌动蛋白作为内参,每个样本各重复 3 次。

1.8 Western blot 检测 ADAM10 蛋白表达水平

RIPA 裂解液提取不同条件培养后的 HASMC 以及小型猪冠脉组织总蛋白,20 μg 总蛋白经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)电泳分离,并转移至 PVDF 膜,5% 脱脂牛奶封闭后,加入 ADAM10 一抗(1:1 000)、 β 肌动蛋白一抗(1:2 000)4℃ 孵育过夜,加入 HRP 标记二抗室温

孵育 1 h, 化学发光法显色, 使用 GelDoc 系统获取图像并对条带灰度值进行分析, 以 β 肌动蛋白作为内参蛋白, 目的蛋白与内参蛋白的比值为目的蛋白的相对表达量。

1.9 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析, 计量资料采用均数 \pm 标准差表示, 组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 模型猪冠脉组织中 ADAM10 蛋白的表达

本研究共收集发生 ISR 的冠脉组织 10 例, 其中糖尿病组 6 例, 非糖尿病组 4 例; 未发生 ISR 的冠脉组织 17 例, 其中糖尿病组 10 例, 非糖尿病组 7 例。Western blot 结果显示, 未发生 ISR 和发生 ISR 的冠脉组织中, 糖尿病组 ADAM10 的蛋白表达水平明显高于非糖尿病组 (P 均 < 0.01)。在非糖尿病组, 发生 ISR 的冠脉组织 ADAM10 的蛋白表达水平明显高于未发生 ISR 的冠脉组织 ($P < 0.01$); 在糖尿病组, 发生 ISR 的冠脉组织 ADAM10 的蛋白表达水平也显著高于未发生 ISR 的冠脉组织 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 两组小型猪发生和未发生 ISR 的冠脉组织 ADAM10 蛋白相对表达水平

	未发生 ISR 的冠脉组织	发生 ISR 的冠脉组织
非糖尿病组	2.11 \pm 2.05	6.72 \pm 1.36 ⁽¹⁾
糖尿病组	3.36 \pm 1.27 ⁽²⁾	10.48 \pm 4.72 ⁽¹⁾⁽²⁾

注: 与未发生 ISR 的冠脉组织相比, ⁽¹⁾ $P < 0.01$; 与非糖尿病组相比, ⁽²⁾ $P < 0.01$

2.2 ADAM10 对 HASMC 增殖的影响

在低糖培养基和高糖培养基中, ADAM10 过表达的 HASMC 增殖均明显高于转染空载体的 HASMC (P 均 < 0.05); 而 ADAM10 敲减的 HASMC 增殖均明显低于转染空载体的 HASMC (P 均 < 0.05)。ADAM10 过表达和 ADAM10 敲减的 HASMC 在高糖培养基中的增殖均明显高于低糖培养基 (P 均 < 0.05)。见表 2。

表 2 BrdU 检测 ADAM10 对 HASMC 增殖的影响

	低糖培养基	高糖培养基
转染空载体的 HASMC	1.87 \pm 0.08	2.07 \pm 0.10
ADAM10 过表达的 HASMC	2.25 \pm 0.07 ⁽¹⁾	2.47 \pm 0.10 ⁽¹⁾⁽²⁾
ADAM10 敲减的 HASMC	1.34 \pm 0.10 ⁽¹⁾	1.46 \pm 0.09 ⁽¹⁾⁽²⁾

注: 与转染空载体的 HASMC 相比, ⁽¹⁾ $P < 0.05$; 与低糖培养基相比, ⁽²⁾ $P < 0.05$

2.3 ADAM10 对 HASMC 迁移的影响

在低糖培养基和高糖培养基中, ADAM10 过表达的 HASMC 迁移距离均明显大于转染空载体的 HASMC (P 均 < 0.05), 而 ADAM10 敲减的 HASMC 迁移距离均明显小于转染空载体的 HASMC (P 均 < 0.05)。ADAM10 过表达和 ADAM10 敲减的 HASMC 在高糖培养基中的迁移距离均明显大于低糖培养基 (P 均 < 0.05)。见表 3。

表 3 划痕实验检测 ADAM10 对 HASMC 迁移的影响/mm

	低糖培养基	高糖培养基
转染空载体的 HASMC	0.65 \pm 0.04	0.78 \pm 0.06
ADAM10 过表达的 HASMC	1.02 \pm 0.12 ⁽¹⁾	1.26 \pm 0.06 ⁽¹⁾⁽²⁾
ADAM10 敲减的 HASMC	0.26 \pm 0.06 ⁽¹⁾	0.43 \pm 0.14 ⁽¹⁾⁽²⁾

注: 与转染空载体的 HASMC 相比, ⁽¹⁾ $P < 0.05$; 与低糖培养基相比, ⁽²⁾ $P < 0.05$

2.4 不同培养条件对 HASMC ADAM10 mRNA 及蛋白表达的影响

分别使用低糖培养基、高糖培养基、AGE-BSA 及 AGE-BSA + RAGE 抗体培养 HASMC, 与低糖培养基相比, 高糖培养基和 AGE-BSA 中 HASMC ADAM10 mRNA 的相对表达水平均明显升高 (P 均 < 0.05); 与 AGE-BSA 相比, AGE-BSA + RAGE 抗体中 HASMC ADAM10 mRNA 相对表达水平明显降低 ($P < 0.05$)。见表 4。

Western blot 结果显示, 与低糖培养基相比, 高糖培养基及 AGE-BSA 中 HASMC ADAM10 蛋白相对表达水平均明显升高 (P 均 < 0.05); 与 AGE-BSA 相比, AGE-BSA + RAGE 抗体中 HASMC ADAM10 蛋白相对表达水平明显下降 ($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 不同培养条件对 HASMC ADAM10 mRNA 及蛋白表达水平的影响

培养条件	ADAM10 mRNA	ADAM10 蛋白
低糖培养基	1.01 \pm 0.11	0.48 \pm 0.05
高糖培养基	1.67 \pm 0.11 ⁽¹⁾	0.65 \pm 0.11 ⁽¹⁾
AGE-BSA	2.11 \pm 0.21 ⁽¹⁾	0.98 \pm 0.16 ⁽¹⁾
AGE-BSA + RAGE 抗体	1.54 \pm 0.14 ⁽²⁾	0.51 \pm 0.08 ⁽²⁾

注: 与低糖培养基相比, ⁽¹⁾ $P < 0.05$; 与 AGE-BSA 相比, ⁽²⁾ $P < 0.05$

3 讨论

本研究发现, 无论在糖尿病组或者非糖尿病组, ADAM10 在发生 ISR 冠脉组织中的表达水平均

高于未发生 ISR 的冠脉组织;与非糖尿病组相比,糖尿病组发生 ISR 和未发生 ISR 的冠脉组织中 ADAM10 的表达水平均明显升高。本研究还发现,过表达 ADAM10 可促进 HASMC 增殖和迁移,敲减 ADAM10 后 HASMC 增殖及迁移受到抑制,ADAM10 过表达和 ADAM10 敲减的 HASMC 在高糖培养基中的增殖和迁移均明显高于低糖培养基。提示 ADAM10 可能参与糖尿病冠脉 ISR 的发生和发展。

ADAM10 可介导多种炎症反应中底物的剪切,包括白细胞介素(IL)-1 β 、核因子 κ B(NF- κ B)、IL-8、Notch1 和表皮细胞生长因子等^[5-10],这些底物具有调控平滑肌细胞增殖及迁移的功能。PCI 术后,血管平滑肌细胞增殖及迁移增加,是发生 ISR 的主要原因。

糖尿病是以高血糖为特征的代谢性疾病,其 ISR 病变程度更为严重^[11],长期高血糖引起的 AGE 累积是导致 ISR 的原因之一^[12]。AGE 是蛋白质、脂质、核酸等发生非酶促糖基化修饰后形成的一类稳定聚合物,AGE 与细胞膜上的 RAGE 结合,促进平滑肌细胞增殖与迁移,促进糖尿病大血管并发症的发生发展。研究发现 1 型糖尿病患者中 ADAM10 水平升高^[13],高糖条件下还可激活 ADAM 家族的另一成员 ADAM17^[14]。本研究通过低糖培养基、高糖培养基分别培养 HASMC,发现高糖培养基中 ADAM10 表达明显升高;使用 AGE 刺激 HASMC,ADAM10 的表达较在低糖培养基中也明显升高。AGE 通过结合 RAGE 对相关基因的表达进行调控,本研究使用 RAGE 抗体阻断该信号通路后,AGE 引起的 ADAM10 表达升高受到抑制。由此推测糖尿病环境如高血糖及 AGE 可影响 ADAM10 的表达。因 ADAM10 对平滑肌细胞的功能具有调控作用,平滑肌细胞的生理功能变化对动脉粥样硬化,冠脉 ISR 具有重要意义^[15],ADAM10 可能参与了糖尿病冠脉 ISR 的发生发展。

参 考 文 献

[1] Spadaccio C, Patti G, De Marco F, et al. Usefulness of preprocedural levels of advanced glycation end products to predict restenosis in patients with controlled diabetes mellitus undergoing drug-eluting stent implantation for stable angina pectoris (from the Prospective ARMYDA-AGEs Study)[J]. *Am J Cardiol*, 2013, 112(1):21-26.

[2] Millichip MI, Dallas DJ, Wu E, et al. The metallo-disintegrin ADAM10 (MADM) from bovine kidney has type IV collagenase activity in vitro[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 245(2):594-598.

[3] Lammich S, Kojro E, Postina R, et al. Constitutive and regulated alpha-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by a disintegrin metalloprotease[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(7):3922-3927.

[4] Zhang Q, Lu L, Pu L, et al. Neointimal hyperplasia persists at six months after sirolimus-eluting stent implantation in diabetic porcine[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2007, 6:16.

[5] Bozkulak EC, Weinmaster G. Selective use of ADAM10 and ADAM17 in activation of Notch1 signaling[J]. *Mol Cell Biol*, 2009, 29(21):5679-5695.

[6] De Strooper B, Annaert W, Cupers P, et al. A presenilin-1-dependent gamma-secretase-like protease mediates release of Notch intracellular domain[J]. *Nature*, 1999, 398(6727):518-522.

[7] Hundhausen C, Schulte A, Schulz B, et al. Regulated shedding of transmembrane chemokines by the disintegrin and metalloproteinase 10 facilitates detachment of adherent leukocytes[J]. *J Immunol*, 2007, 178(12):8064-8072.

[8] Kohutek ZA, diPierro CG, Redpath GT, et al. ADAM-10-mediated N-cadherin cleavage is protein kinase C-alpha dependent and promotes glioblastoma cell migration[J]. *J Neurosci*, 2009, 29(14):4605-4615.

[9] Duru EA, Fu Y, Davies MG. Protease-mediated human smooth muscle cell proliferation by urokinase requires epidermal growth factor receptor transactivation by triple membrane signaling[J]. *J Surg Res*, 2014, 192(2):254-262.

[10] Drey Mueller D, Pruessmeyer J, Groth E, et al. The role of ADAM-mediated shedding in vascular biology[J]. *Eur J Cell Biol*, 2012, 91(6-7):472-485.

[11] Stettler C, Allemann S, Egger M, et al. Efficacy of drug eluting stents in patients with and without diabetes mellitus: indirect comparison of controlled trials[J]. *Heart*, 2006, 92(5):650-657.

[12] Park HJ, Seo SM, Shin WS, et al. Soluble receptor for advanced glycation end products is associated with in-stent restenosis in patients with type 2 diabetes with drug-eluting coronary stents[J]. *Coron Artery Dis*, 2011, 22(1):12-17.

[13] Lee AC, Lam JK, Shiu SW, et al. Serum level of soluble receptor for advanced glycation end products is associated with a disintegrin and metalloproteinase 10 in type 1 diabetes[J]. *PloS One*, 2015, 10(9):e0137330.

[14] Uttarwar L, Peng F, Wu D, et al. HB-EGF release mediates glucose-induced activation of the epidermal growth factor receptor in mesangial cells[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2011, 300(4):F921-931.

[15] Shi N, Chen SY. Smooth muscle cell differentiation: Model systems, regulatory mechanisms, and vascular diseases[J]. *J Cell Physiol*, 2016, 231(4):777-787.

(收稿:2016-08-15 修回:2017-01-12)

(本文编辑:胡晓静)