

网络出版时间:2021/12/23 8:55 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20211221.1001.020.html

SHP-2 抑制剂 PHPS1 对动脉粥样硬化斑块作用及其机制的研究

张雪^{1,2}, 马倩², 李新新², 谭鹤², 朱学灿³, 帖彦清²

摘要 目的 探讨蛋白酪氨酸磷酸酶 SHP-2 抑制剂 PHPS1 对 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化斑块易损性的作用及其机理,为研究动脉粥样硬化提供新思路。方法 16 只 8 周龄 ApoE^{-/-}小鼠随机分为对照组和 PHPS1 组,给予西方膳食饲料 16 周,构建易损 AS 模型。取主动脉根部经福尔马林固定后制成切片,行 Movat、天狼星红等染色法评估斑块内胶原、巨噬细胞含量等;降主动脉做 Western blot 检测 ERK 活性及基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 的表达量。结果 PHPS1 组和对照组相比主动脉根部动脉斑块面积大小(0.52 ± 0.05)、(0.31 ± 0.03)、斑块内胶原含量(0.062 ± 0.013)、(0.136 ± 0.022)及巨噬细胞细胞比例(0.799 ± 0.031)、(0.621 ± 0.043)有差异($P < 0.01$),同时斑块内 MMP-9 含量下降;Western blot 结果显示 PHPS1 抑制了斑块内 ERK 活性,降低了 MMP-9 的蛋白表达量($P < 0.01$)。结论 SHP-2 抑制剂 PHPS1 通过抑制 ERK 活性,降低 MMP-9 的表达量,从而减少了纤维帽胶原成分的降解,进而稳定了易损动脉粥样硬化斑块。

关键词 动脉粥样硬化;蛋白酪氨酸磷酸酶;蛋白酪氨酸磷酸酶抑制剂;斑块稳定性;基质金属蛋白酶-9

中图分类号 R 541.4

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)01-0101-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.01.019

易损动脉粥样硬化(atherosclerotic, AS)斑块是导致心肌梗死、卒中等致死、致残性心脑血管疾病的主要病因,又被称为“犯罪斑块”,所以如何稳定易损斑块是重要的研究方向,对减少疾病发生具有重要临床意义。AS 易损斑块的主要病理学特征为大的坏死核心,其上覆盖有薄的、并不连续的纤维帽,胶原成分及斑块内平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMCs)减少,巨噬细胞成分增加^[1-2]。巨噬细胞是参与斑块形成和炎症因子分泌的主要细胞,其可通过分泌多种基质金属蛋白酶(matrix metalloprotein-

ase, MMPs)来降解胶原,促使斑块不稳定性增加,极易破裂受损,其中研究较多,作用较清晰的为 MMP-1、MMP-2、MMP-9 等,所以抑制这些基质金属蛋白酶的分泌可以加强斑块的稳定性,使其不易破裂。巨噬细胞内部有许多信号通路,通过这些信号通路来调节体内各种反应,有些研究^[2-4]中表明:巨噬细胞中的细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)信号通路是调节基质金属蛋白酶(MMP-9)表达的主要调控途径,ERK 通路的激活是决定斑块破裂的重要原因之一。研究^[5]表明蛋白酪氨酸磷酸酶 SHP-2 (scr homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase-2, SHP-2)主要通过调控 ERK 的活性来影响斑块,该研究使用 SHP-2 特异性抑制剂 PHPS1 干预 ApoE^{-/-}小鼠来说明抑制 SHP-2 对 AS 稳定性的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物、试剂及实验仪器 16 只 8 周龄体质量(20 ± 5)g SPF 级 ApoE^{-/-}小鼠购自常州卡文斯实验动物技术有限公司,饲养于河北省人民医院临研中心 SPF 级动物房,每笼 4 ~ 6 只,适应性饲养 1 周后开始实验,本动物实验经过了医学伦理委员会的批准并按实验动物使用的 3R 原则给予人道关怀;抗 CD 68、抗 MMP-9、抗 ERK 及 p-ERK、山羊抗兔 IgG H&L (HRP)、山羊抗鼠 IgG H&L (Alexa Fluor® 488)预吸附二抗购自英国 Abcam 公司;DAB 显色试剂盒购自北京中杉金桥公司;蛋白裂解液、PMSF、蛋白酶磷酸酶抑制剂、BCA 蛋白试剂盒均购自北京索莱宝公司;PHPS1 及天狼星红染液均购自美国 sigma aldrich 公司;西方膳食饲料购自江苏美迪森生物医药有限公司;正置显微镜(德国 Carl zeiss 公司)、石蜡切片机(德国 Leica 公司)。

1.2 动物分组及标本取材 16 只 6 ~ 8 周龄雄性 ApoE^{-/-}小鼠随机分为 2 组,8 只/组。PHPS1 处理组给予腹腔注射 3 mg/(kg · d) PHPS1,对照组给予腹腔注射同等剂量 0.9% NaCl 溶液,同时喂养西方膳食饲料(1.25% 胆固醇、7% 脂肪、其余为基础饲料)16 周,以构建 AS 模型。实验中期每组死亡 1 只

2021-09-01 接收

基金项目:河北省政府资助临床医学优秀人才培养和基础课题研究项目(编号:361003)

作者单位:¹河北北方学院第一临床医学院,张家口 075000

河北省人民医院²检验科、³人事处,石家庄 050051

作者简介:张雪,女,硕士;

帖彦清,女,主任技师,教授,硕士生导师,责任作者, E-mail:tyq1995@126.com

小鼠,实验结束后,取出主动脉根部存于福尔马林中,固定后石蜡包埋,制备连续切片,用于 Movat 染色、天狼星红染色、免疫组化和免疫荧光双染色;整条降主动脉浸入液氮中,研磨提取蛋白后于 -80°C 冰箱保存。

1.3 Movat 及天狼星红染色 每个主动脉根部标本切片 30 张,每间隔 6 张切片选取 1 张分别做 Movat、天狼星红染色。Movat 染色分别经过阿尔新蓝染色细胞外基质,乙醇氨水返蓝,铁苏木素染色动脉弹力板,比布列希猩红染色血管平滑肌,乙醇藏红花染斑块内胶原成分;天狼星红染色特异性评估胶原成分,天狼星红-苦味酸饱和溶液染 30 min,无水乙醇分化脱水,中性树胶封片,显微镜下观察拍照。

1.4 免疫组化染色 将石蜡切片放置于 65°C 恒温箱中烘烤 2 h,依次经过脱蜡、水化后置于 3% 的 H_2O_2 中以消除内源性过氧化物酶的活性,用蒸馏水冲洗 2~3 次,5 min/次,将切片放入盛有 pH 值 6.0 柠檬酸缓冲液的容器中,置于 $90\sim 95^{\circ}\text{C}$ 的微波炉中加热 25~30 min,修复结束后取出容器,冷却至室温,用正常山羊血清室温封闭孵育 30 min 后加入一抗 CD68 (1:100) 孵育 4°C 过夜,第二天 PBS 冲洗 3 次,5 min/次,洗去未结合抗体的后,加入山羊抗兔 IgG H&L (HRP) 的二抗室温孵育 45 min,用 PBS 冲洗 3 次,5 min/次,然后 DAB 显色、苏木精复染细胞核、常规脱水、透明后中性树胶封片,自然晾干后使用 Carl zeiss 显微镜采图后,经使用 Image Pro Plus 6.0 测算斑块面积、分析组化染色光密度值,观察动脉粥样硬化斑块内单核巨噬细胞的阳性面积。

1.5 免疫荧光染色 将切片放于恒温烤箱中烘烤 2 h,依次经梯度乙醇脱蜡后,用免疫组化笔在标本附近画一个圆圈,滴加 3% 的 H_2O_2 ,室温封闭 30 min,取出切片放入 TBS 中冲洗 3 次,5 min/次,甩干切片,滴加 2% BSA 封闭液室温封闭 2 h,加入一抗 CD68 (1:50)、MMP-9 (1:80) 置于湿盒内 4°C 过夜;第二天取出湿盒,平衡至室温,用 TBS 冲洗 3 次,5 min/次,加入山羊抗鼠 IgG H&L (Alexa Fluor® 488) 预吸附二抗,室温避光孵育 45 min 后 TBS 冲洗 3 次,5 min/次,加入 DAPI 封片,盖上盖玻片,避免气泡,全程避光,倒置荧光显微镜下观察,并采集图像。

1.6 Western blot 实验 将主动脉蛋白提取,将主动脉放入研磨皿中研磨,加入蛋白裂解液 500 μl 、5 μl PMSF、蛋白酶磷酸酶抑制剂 5 μl 混合物,在冰上充分研磨 30 min 后 4°C 、12 000 r/min 离心 10 min,取上清液置于 1.5 ml EP 管中,按照 BCA 蛋白试剂盒操作

测定蛋白浓度,按 4:1 的比例加入 $5\times$ 上样缓冲液,煮沸 10 min, -20°C 保存备用。10% 聚丙烯酰胺 SDS-PAGE 电泳 120 V,60 min,PVDF 膜半干式转膜 300 mA,90 min 后,封闭 PVDF 膜过夜,TBST 缓冲液充分震荡洗膜,一抗 (ERK/p-ERK 和 MMP-9 浓度均为 1:1 000), 4°C 过夜孵育后,TBST 震荡洗脱未结合的一抗 2 h,加入二抗 (1:2 000) 室温孵育 2 h,TBST 缓冲液摇床震荡洗膜,ECL 发光液曝光。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 22.0 及 Graph Prism 6.0 软件进行统计分析并绘制相关图片,计量结果数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间均数比较采用单因素方差分析,两组间样本均数比较采用 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠主动脉根部斑块面积大小 与对照组相比,PHPS 1 处理组小鼠主动脉根部斑块面积大小有差异 ($F=3.703, P<0.01$)。见图 1。

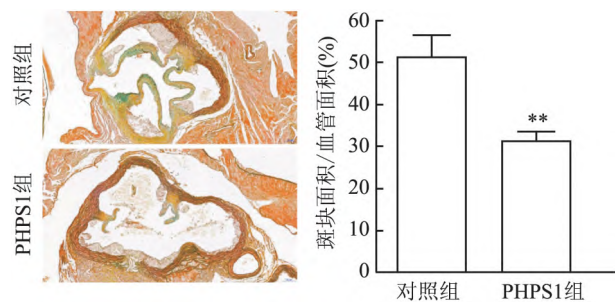


图1 两组小鼠主动脉根部 Movat 染色评估斑块 $\times 40$

与对照组比较: ** $P<0.01$

2.2 斑块内胶原成分 结果显示,与对照组相比,实验组 PHPS1 斑块内胶原成分含量增加 ($F=2.702, P<0.01$)。见图 2。

2.3 斑块内容物评估 对照组和实验组斑块内巨噬细胞成分阳性面积/斑块面积分别为: (0.799 ± 0.031)、(0.621 ± 0.043),实验组小鼠主动脉斑块内巨噬细胞阳性面积减少 ($F=1.911, P<0.01$)。见图 3;免疫荧光双染可见实验组抑制了巨噬细胞 (CD 68) 分泌的 MMP-9 的表达量,MMP-9 荧光强度减弱 ($F=1.117, P<0.01$)。见图 4。

2.4 Western blot 检测降主动脉内蛋白水平 实验结果显示,经过 PHPS1 处理后的小鼠降主动脉内 ERK 活性下降 ($F=1.222, P<0.01$),同时伴随着其调控的下游 MMP-9 蛋白表达量也降低 ($F=37.49, P<0.01$)。见图 5。

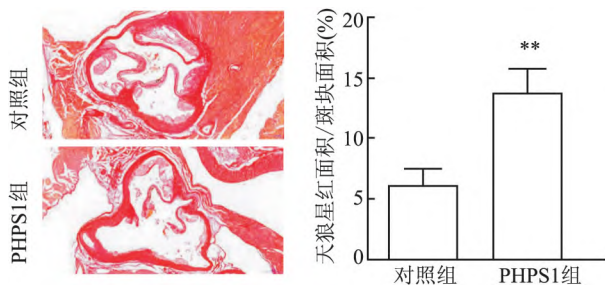


图2 主动脉根部切片天狼星红染色评估胶原成分 $\times 40$
与对照组比较: ** $P < 0.01$

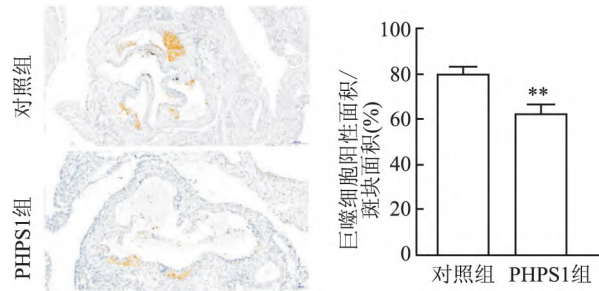


图3 两组小鼠主动脉根部切片巨噬细胞(CD68)免疫组化染色 $\times 40$
与对照组比较: ** $P < 0.01$

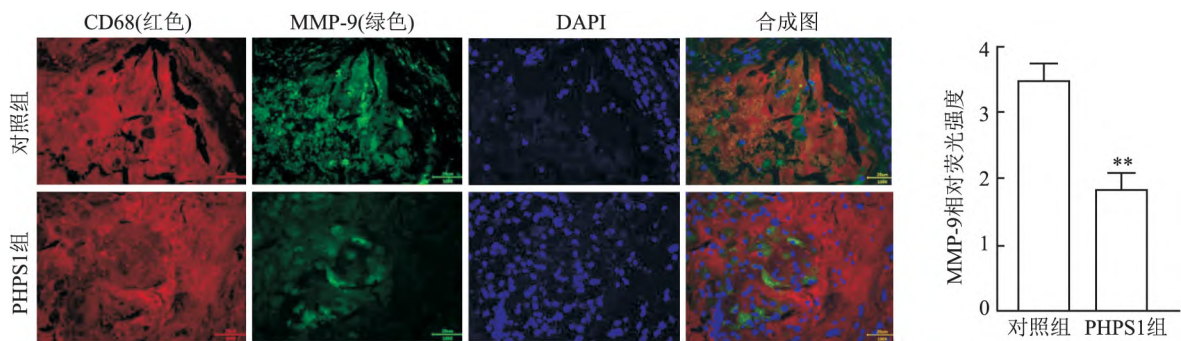


图4 免疫荧光检测小鼠主动脉根部CD68及MMP-9的表达 $\times 100$
与对照组比较: ** $P < 0.01$

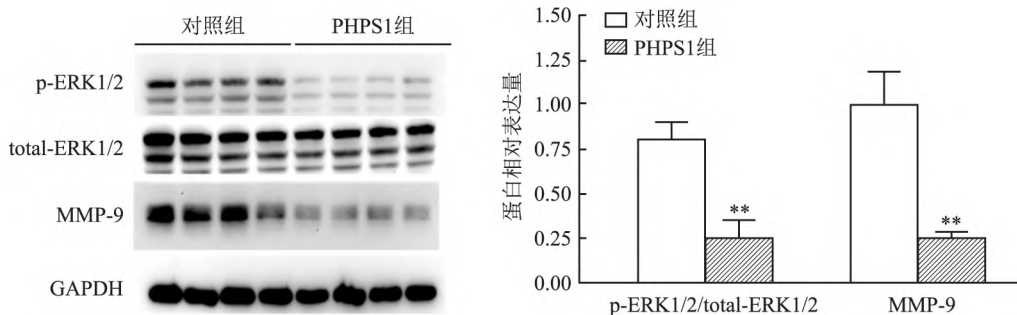


图5 Western blot检测小鼠降主动脉内ERK/p-ERK、MMP-9蛋白表达水平
与对照组比较: ** $P < 0.01$

3 讨论

蛋白酪氨酸磷酸酶 (protein tyrosine phosphatase, PTPase) SHP-2 主要通过调控细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinases, ERK) 包括 ERK1 和 ERK2 (total ERK1/2) 发挥作用, 是参与 AS 进程的关键蛋白之一^[4-6]。动脉粥样硬化的发展程度取决于斑块的大小、稳定性, 稳定性决定了动脉管壁的状态, 斑块不稳定是由于纤维帽的连续性差, 厚度薄, 当血流冲击时, 易引起不稳定的斑块脱落, 导致严重的临床后果^[7-9]。斑块的纤维帽主要是由胶原构成的, 胶原可以抵抗血流对血管壁的冲击, 也可以保护斑块的完整性。在动脉粥样硬化的发展中, 单核细胞迁移到血管内皮, 分化为易损斑块

中的巨噬细胞^[10-12], 巨噬细胞分泌基质金属蛋白酶 (MMPs), 可以降解不稳定斑块的纤维帽, MMP-9 是 MMPs 的一种, MMP-9 活性升高, 可加速细胞外基质降解, 降低动脉粥样硬化斑块的稳定性, 加速斑块破裂的速度, 加重 AS 的进展^[13]。

ERK 通路是参与 AS 进程发展的蛋白之一, 也是调控基质金属蛋白酶 (MMP-9) 分泌的关键^[13]。由于 SHP-2 是蛋白酪氨酸磷酸酶家族的一员^[14], 其主要是通过调控 ERK 蛋白活性而达到不同的生物学作用^[3-5]。PHPS1 可以特异性地结合 SHP-2 的生物活性区域, 进而顺利打入细胞内部, 所以是理想的 SHP-2 抑制剂^[15]。该研究以 3 mg/(kg·d) PHPS1 腹腔注射 ApoE^{-/-} 小鼠来观察 SHP-2 在 AS 中的作用, 以斑块大小/动脉总面积代表动脉的堵塞或者狭

窄程度。结果表明 PHPS1 处理后可影响小鼠主动脉根部斑块面积,斑块面积减小。斑块内胶原成分的含量是评估斑块稳定性的重要因素之一,胶原是构成纤维帽的主要成分,经过天狼星红特异性病理染色观察斑块内胶原含量,显示 PHPS1 组小鼠主动脉根部切片斑块内纤维帽连续性较好并且厚度增加,提示 PHPS1 可以稳定斑块。AS 斑块主要由平滑肌和巨噬细胞构成,其中斑块内平滑肌是分泌胶原成分的主要细胞,具有增强斑块稳定性的作用;而巨噬细胞是 AS 斑块内最主要的细胞成分,可以分泌多种炎症因子和 MMPs 降解胶原成分,促进细胞凋亡,是加速斑块进展、导致斑块不稳定的主要的细胞,通过免疫组化染色发现:PHPS1 组小鼠主动脉斑块内巨噬细胞成分阳性面积减少,提示 PHPS1 具有抑制炎症的作用。该实验通过免疫荧光双染进一步发现 CD68 标记的巨噬细胞和其分泌的细胞因子 MMP-9 分布具有一致性,提示 PHPS1 可能是通过抑制 MMP-9 的表达进而抑制了胶原的降解。进一步,该实验通过 Western blot 进行验证,结果表明在经 PHPS1 处理后 MMP-9 蛋白含量减少,并检测降主动脉中 ERK/p-ERK 的活性(磷酸化水平),结果表明 PHPS1 抑制了 ERK/p-ERK 的磷酸化水平,提示其下游的 MMP-9 的表达量降低,可能是由于 ERK 的活性被抑制。

综上所述,该研究表明 PHPS1 可以通过抑制 ERK 通路的蛋白活性,降低基质金属蛋白酶 MMP-9 的表达,来保持斑块纤维帽的完整,加强动脉粥样硬化斑块的稳定性,所以该实验结果提示 SHP-2 的活化能够导致易损斑块不稳定性增强。该研究表明 SHP-2 调控 ERK/P-ERK 通路而影响 MMP-9 的表达及活性,可为 AS 进一步临床研究提供研究方向、思路及相对客观理论依据。

参考文献

- [1] Ozawa K, Muller M A, Varlamov O, et al. Proteolysis of von willebrand factor influences inflammatory endothelial activation and vascular compliance in atherosclerosis[J]. JACC Basic Transl Sci, 2020, 5(10): 1017–28.
- [2] Zhang M, Yang M, Liu L P, et al. BMP-2 overexpression augments vascular smooth muscle cell motility by upregulating myosin via Erk signaling[J]. Oxid Med Cell Longev, 2014, 2014: 294150.
- [3] Shafi O. Switching of vascular cells towards atherogenesis, and other factors contributing to atherosclerosis: a systematic review[J]. Thromb J, 2020, 18:28.
- [4] Yamaguchi R, Sakamoto A, Yamamoto T, et al. Surfactant protein D inhibits interleukin-12p40 production by macrophages through the SIRPalpha/ROCK/ERK signaling pathway[J]. Am J Med Sci, 2017, 353(6): 559–67.
- [5] Niogret C, Miah S M S, Rota G, et al. Shp-2 is critical for ERK and metabolic engagement downstream of IL-15 receptor in NK cells[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1444.
- [6] 谢诗情,程文静,祝 骥,等. 动脉粥样硬化机制的研究进展[J]. 世界复合医学, 2016, 2(3): 85–90.
- [7] 郑鹏飞,唐和蔚,李红艳,等. 巨噬细胞在动脉粥样硬化形成中的作用[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(4): 784–6.
- [8] de Gaetano M, Crean D, Barry M, et al. M1- and M2-Type macrophage responses are predictive of adverse outcomes in human atherosclerosis[J]. Front Immunol, 2016, 7:275.
- [9] Bagaitkar J, Huang J, Zeng M Y, et al. NADPH oxidase activation regulates apoptotic neutrophil clearance by murine macrophages[J]. Blood, 2018, 131(21): 2367–78.
- [10] Doran A C, Ozcan L, Cai B, et al. CAMKIIgamma suppresses an efferocytosis pathway in macrophages and promotes atherosclerotic plaque necrosis[J]. J Clin Invest, 2017, 127(11): 4075–89.
- [11] Amgalan D, Chen Y, Kitsis R N. Death receptor signaling in the heart: cell survival, apoptosis, and necroptosis[J]. Circulation, 2017, 136(8): 743–6.
- [12] Wägsäter D, Zhu C, Björck H M, et al. Effects of PDGF-C and PDGF-D on monocyte migration and MMP-2 and MMP-9 expression[J]. Atherosclerosis, 2009, 202(2): 415–23.
- [13] Patsoukis N, Duke-Cohan J S, Chaudhri A, et al. Interaction of SHP-2 SH2 domains with PD-1 ITSM induces PD-1 dimerization and SHP-2 activation[J]. Commun Biol, 2020, 3(1): 128.
- [14] 张惠伦,肖 鹏,张 雪,等. 基于酪氨酸磷酸酶 SHP2 变构抑制剂的肿瘤靶向治疗[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2019, 26(2): 230–5.
- [15] J Chen, Cao Z, Guan J. SHP2 inhibitor PHPS1 protects against atherosclerosis by inhibiting smooth muscle cell proliferation[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2018, 18(1): 72.

Study on the mechanism of SHP-2 inhibitor PHPS1 on atherosclerotic plaque

Zhang Xue^{1,2}, Ma Qian², Li Xinxin², Tan He², Zhu Xuecan³, Tie Yanqing²

(¹First clinical medical college Hebei North University, Zhangjiakou 075000;

²Dept of Clinical Laboratories, The Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051;

³Dept of Human Resources Office, The Hebei General Hospital, Shijiazhuang 050051)

Abstract Objective To investigate the effect and mechanism of Src homology 2 domain – containing protein tyrosine phosphatase inhibitor PHPS1 on atherosclerotic plaque vulnerability in ApoE knockout mice, and to provide a

网络出版时间:2021/12/22 15:44 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20211221.1001.021.html

慢病毒介导沉默 *NIPBL* 基因对小鼠骨髓间充质干细胞成骨分化能力的影响

姜德坤,张惠荣,潘金勇,马雯晴,刘 辉,董丽丽

摘要 目的 探讨慢病毒介导沉默 *NIPBL* 基因对小鼠骨髓间充质干细胞成骨分化能力的影响。方法 将第三代 c57 小鼠骨髓间充质干细胞分为实验组、阴性对照组、空白对照组。将慢病毒载体转染至小鼠骨髓间充质干细胞,倒置荧光显微镜观察慢病毒转染结果,Real-time PCR 检测 *NIPBL* 基因表达情况。成骨诱导培养,检测碱性磷酸酶活性,应用 Real-time PCR、Western blot 技术分别检测成骨相关基因 *OCN*、*BMP-2*、*RUNX-2* 基因转录及蛋白表达水平。结果 实验组 *NIPBL* mRNA 表达量降低 ($P < 0.05$)。实验组碱性磷酸酶活性比阴性对照组及空白对照组低 ($P < 0.05$)。实验组 *OCN*、*BMP-2*、*RUNX-2* 基因转录及蛋白表达水平均较阴性对照组及空白对照组低 ($P < 0.05$)。茜素红染色结果提示阴性对照组和空白对照组较实验组可见更多的红色钙结节。结论 慢病毒介导沉默 *NIPBL* 基因降低小鼠骨髓间充质干细胞增殖能力,抑制成骨分化相关基因的表达,降低成骨分化能力。

关键词 慢病毒;*NIPBL* 基因;骨髓间充质干细胞;成骨分化;德朗热综合征

中图分类号 R 722.11

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)01-0105-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.01.020

2021-08-30 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81660260)

作者单位:石河子大学医学院第一附属医院儿科,石河子 832000

作者简介:姜德坤,男,硕士;

张惠荣,女,副教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:zhr331619@sina.com

德朗热综合征 (Cornelia de Lange syndrome, CdLS) 是一种以生长发育迟缓、严重认知障碍、特征性面容、肢体发育畸形为特点的遗传性疾病^[1]。*NIPBL* 基因为主要致病基因^[2],其表达水平越低则病情越严重,在 CdLS 诊断中首要检测指标是确定 *NIPBL* 基因是否突变^[3]。研究^[4]表明其肢体发育畸形发生率高达 73.1%。前期研究^[5]表明 *NIPBL* 基因低表达会抑制 *shh*、*Wnt5a* 基因及其蛋白的表达,从而影响 Wnt 信号通路相关分子的表达。推测 *NIPBL* 基因可能通过 Wnt 信号通路调控骨髓间充质干细胞的成骨分化,但其具体机制尚未见报道。该研究用慢病毒转染小鼠骨髓间充质干细胞沉默 *NIPBL* 基因,探究成骨相关基因骨形态发生蛋白 2 (bone morphogenetic protein 2, BMP-2)、骨钙素 (osteocalcin, OCN)、Runt 相关转录因子 2 (runt-related transcription factor 2, RUNX-2) 的表达,以揭示 *NIPBL* 基因对骨髓间充质干细胞成骨分化相关基因表达的影响。

1 材料与方法

1.1 实验对象 原代小鼠骨髓间充质干细胞购于武汉普诺赛生命科技有限公司。

1.2 试剂与仪器 DMEM/F-12 培养基(美国 gibco 公司);胎牛血清(美国 Hyclone 公司);反转录试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒(美国 Thermo 公司);CCK-8 试剂盒(上海东仁化学科技有限公司);碱性

new idea for the study of atherosclerosis. **Methods** Sixteen 8-week-old ApoE^{-/-} mice were randomly divided into control group and PHPS1 group. The aortic root was fixed with formalin and sectioned. The collagen and macrophage contents in the plaque were evaluated by Movat and Sirius red staining. The activity of ERK and the expression of MMP-9 in the descending aorta were detected by Western blot. **Results** The plaque area (0.52 ± 0.05), (0.31 ± 0.03), collagen content (0.062 ± 0.013), (0.136 ± 0.022) and macrophage cell ratio (0.799 ± 0.031), (0.621 ± 0.043) were different between PHPS1 group and control group ($P < 0.01$). The results of western blot showed that PHPS1 inhibited the activity of ERK and decreased the protein expression of MMP-9 ($P < 0.01$). **Conclusion** PHPS 1, an inhibitor of SHP-2, can inhibit ERK activity and decrease the expression of MMP-9, thus reducing the degradation of collagen in fibrous cap and stabilizing vulnerable atherosclerotic plaque.

Key words atherosclerosis; SHP-2; PHPS1; plaque stability; MMP-9