

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.31.034

慢性肾小球肾炎患者血清 MMP-9 和 TIMP-1 的浓度及意义

刘向东¹ 艾子敏² 张 燕¹ 马海军¹ 张连云¹

(1 新乡医学院第一附属医院肾病科 河南 卫辉 453100; 2 河南省辉县市第一人民医院 河南 辉县 453100)

摘要 目的:观察慢性肾小球肾炎血清基质金属蛋白酶 9 (matrix metallo proteinase-9, MMP-9)、金属蛋白酶组织抑制剂 1 (tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMP-1) 的浓度与肾组织中 MMP-9、TIMP-1 表达的相关性, 探讨慢性肾小球肾炎血清 MMP-9、TIMP-1 对肾脏纤维化的判断价值。**方法:**通过肾组织活检病理检查, 将入选慢性肾炎的病例分增生组(A 组)15 例, 纤维化组(B 组)15 例, 另选 10 例志愿者作为健康对照组 C 组。应用免疫组化法观察 A、B 两组 MMP-9、TIMP-1 在肾组织中的表达情况, 并且进行半定量分析, 比较它们之间有无差别。应用 ELISA 双抗体夹心法检测 A、B、C 三组 MMP-9、TIMP-1 在血清中的浓度, 比较它们之间有无差别。观察 A、B 两组 MMP-9、TIMP-1 在肾组织中的表达水平与在血清的浓度有无相关性。**结果:**A、B 两组 MMP-9 在肾小球和肾间质少见表达, 主要在肾小管上皮细胞浆中表达增高, 两组之间表达的强度有显著差异性; A 组 TIMP-1 在肾小球中少见表达, 在肾小管上皮细胞增强。B 组 TIMP-1 在肾小球中有少量表达, 在肾小管上皮细胞较 A 组进一步增强, 两组之间表达的强度有显著差异性($P<0.05$)。血清中 MMP-9、TIMP-1 浓度在 A、B 组显著高于 C 组, 血清中 MMP-9 在 A、B 两组之间无显著差异性, 血清中 TIMP-1 在 A、B、C 三组间两两比较有显著差别($P<0.05$)。**结论:**慢性肾炎患者血清中 MMP-9、TIMP-1 浓度与肾脏组织中 MMP-9、TIMP-1 的表达呈正相关。MMP-9、TIMP-1 的相关性分析 P 值小于 0.01。血清 MMP-9、TIMP-1 参与了肾脏纤维化的进展, 慢性肾小球肾炎血清中 MMP-9、TIMP-1 的浓度可在一定程度上反映肾脏纤维化程度。

关键词:慢性肾炎; 基质金属蛋白酶 9; 金属蛋白酶组织抑制因子 1; 细胞外基质

中图分类号:R692 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)31-6129-06

Concentration and Significance of MMP-9 and TIMP-1 in Serum of Patients with Chronic Glomerulonephritis

LIU Xiang-dong¹, AI Zi-min², ZHANG Yan¹, MA Hai-jun¹, ZHANG Lian-yun¹

(1 Department of Nephrology, The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Weihui, Henan, 453100, China;

2 The First People's Hospital of Huixian, Huixian, Henan, 453100, China)

ABSTRACT Objective: To explore the relationship between serum MMP-9 and TIMP-1 in serum and the mechanism of renal fibrosis by means of detecting the concentrations and expressions of MMP-9 and TIMP-1 in serum of patients with chronic glomerulonephritis. **Methods:** 30 patients with chronic glomerulonephritis were divided into the proliferation group (group A, $n=15$) and fibrosis group (group B, $n=15$) according to renal fibrosis degree in the renal pathology. And another 10 healthy people were chosen as the control group (group C, $n=10$). The expressions of MMP-9 and TIMP-1 in the renal tissue were detected by the immunohistochemistry and half quantitative analysis. The expressions of MMP-9 and TIMP-1 in the renal tissue between the two groups were compared. Then the relationship between the concentrations of serum MMP-9 and TIMP-1 and the renal disease was analyzed. **Results:** The expression of MMP-9 was low in the glomerulus and renal interstitial. The expression of MMP-9 was very high in tubular epithelial cells in group A and group B. There was statistically significant differences between two groups ($P<0.05$). The expression of TIMP-1 was lower in the glomerulus and higher in tubular epithelial cells in group A. The expression of TIMP-1 in tubular epithelial cells in group B was higher than that of group A. There was statistically significant difference between the two groups ($P<0.01$). The concentration of serum MMP-9 and TIMP-1 was significantly higher than that in the control group ($P<0.05$; $P<0.01$). There was no statistically significant difference in the concentrations of MMP-9 between group A and group B ($P>0.05$). The expression of TIMP-1 in the renal tissue has a positive correlation with the level of TIMP-1 in serum of patients ($r=0.489$). **Conclusions:** The level of serum MMP9 and TIMP-1 were positively correlated with the expressions in renal tissue. The concentration of MMP-9 and TIMP-1 in serum could reflect the renal fibrosis degree of patients with the chronic glomerulonephritis.

Key words: Chronic Glomerulonephritis; MMP-9; TIMP-1; Extracellular matrix

Chinese Library Classification(CLC): R692 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)31-6129-06

作者简介:刘向东(1968-),女,副主任医师,主要从事慢性肾脏病防治方面的研究

(收稿日期:2014-02-26 接受日期:2014-03-23)

前言

肾脏纤维化是肾小球硬化(Glomerulosclerosis, GS)和肾小管萎缩、间质纤维化(Tubulointerstitial fibrosis, TIF)发展的最终结局。在慢性肾小球肾炎的发展过程中,细胞外基质降解降低,合成增加成为肾脏纤维化的共同途径。基质金属蛋白酶类(Matrix metalloproteinases, MMPs)是调节 ECM 的最重要的酶系^[1-3]。近年来,作为 MMPs 的主要成员金属蛋白酶组织抑制剂 9 为专一降解Ⅳ型胶原的酶,越来越受到关注。相关研究证实,金属蛋白酶组织抑制剂 1 通过抑制细胞外基质的降解过程导致细胞外基质积聚。因此,金属蛋白酶组织抑制剂 1 可能是一种比较重要的通过抑制肾脏细胞外基质降解导致肾小球硬化的酶^[4-6]。

慢性肾炎的临床症状与病理改变一般不一致,因此寻找有效、损伤小并且可反映肾组织纤维化的早期指标,为延缓或阻止肾脏纤维化发生和进展提供新的治疗方法成为肾脏病防治的重点^[7,8]。本文通过观察慢性肾小球肾炎血清中血清基质金属蛋白酶 9、金属蛋白酶组织抑制剂 1 浓度与肾组织中血清基质金属蛋白酶 9、金属蛋白酶组织抑制剂 1 表达的相关性初步探讨慢性肾小球肾炎血清基质金属蛋白酶 9、金属蛋白酶组织抑制剂 1 在肾脏纤维化中的作用。

1 资料和方法

1.1 临床资料

所有病例来自 2006 年 1 月至 2009 年 5 月新乡医学院一附院肾内科住院并接受肾穿刺活检的 30 例慢性肾小球肾炎患者。诊断符合王海燕主编的《肾脏病学》慢性肾小球肾炎的诊断标准^[2]。全部病例患者血肌酐 $<166\mu\text{mol/L}$, 24 h 尿蛋白定量 $\leq 2.0\text{ g}$ 。B 超检查肾脏无明显缩小。为了排除其它可以导致血液中 MMPs 浓度、TIMP-1 浓度变化疾病的影响,本研究只选择慢性肾炎,排除继发性肾小球疾病及有冠心病,心功能不全等并发症者。全部患者依据肾活检病理上纤维化程度进行数字随机分组,随机分为增生组的 A 组和纤维化组的 B 组,每组各 15 例,A 组:其中男性 11 例,女性 4 例,年龄 21~49 岁,平均 (34 ± 9) 岁,病程 1 个月~3 年,其中 IgA 肾病,系膜增生性肾小球肾炎和膜增生性肾小球肾炎分别有 8 例,6 例和 1 例;B 组:其中男性 10 例,女性 5 例,年龄 28~49 岁,平均 (39 ± 6) 岁,病程 3 个

月~5 年,其中 IgA 肾病 6 例,局灶增生性肾小球肾炎 4 例,局灶节段硬化性肾小球肾炎 5 例。另选 10 例健康志愿者作为正常对照组(C 组),男 8 例,女 2 例,年龄 19~40 岁,平均 (26 ± 7) 岁,健康体检者均无各系统病史。各组间年龄、性别无显著差异($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 方法 采用非生物素二步法免疫组化方法测定肾脏组织 TIMP-1、MMP-9。

1.2.2 指标选择 TIMP-1、MMP-9 兔抗人多克隆抗体。

1.2.3 标本处理 常规肾组织 10%多聚甲醛固定,梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,3 μm 切片。APES 处理的载玻片粘片,温控仪电热恒温干燥箱内 58℃ 烤片 1 h。MMP-9 测定时组织无需处理, TIMP-1 组织进行抗原热修复。新鲜配制的 3% H_2O_2 去离子水孵育 10 min 以灭活内源性过氧化物酶,PBS (0.01 mol/L, pH7.25~7.35)冲洗 2 min, 3 次。滴加 MMP-9, 37℃ 孵育 1-2 h, PBS 冲洗, 2 min, 3 次。滴加兔 IgG 抗体-HRP 多聚体, 37℃ 孵育 30 min, PBS 冲洗, 2 min, 3 次。选用 DAB 显色,蒸馏水充分冲洗。用中性树胶封固。空白对照采用 PBS 代替一抗。

1.3 血液中 TIMP-1、MMP-9 的测定

1.3.1 方法 酶联免疫吸附法(ELISA)

1.3.2 指标选择 TIMP-1、MMP-9 试剂盒(均由北京中杉金桥生物技术有限公司提供)。

1.3.3 标本处理 所有研究对象均于清晨空腹肘静脉抽血 4 mL, 于 3000 rpm 离心 5 min 后, 取上清液贴好标签, 置于 -70℃ 冰箱冷冻保存。

1.4 统计学处理

对全部数据采用 SPSS17.0 进行数据深层次分析, 所有 TIMP-1、MMP-9 数据采用 (Mean $\pm$ SD) 表示, A 组与 B 组和 C 组间 TIMP-1、MMP-9 数据比较采用方差分析、线性相关性分析、非参数相关分析。以 $P<0.05$ 作为显著性差异水准。

2 结果

2.1 各组血液中 TIMP-1、MMP-9 的浓度

血清中 MMP-9、TIMP-1 浓度在 A、B 组显著高于 E 组, A、B 两组之间 MMP-9 无显著差异性, A 组血清中 TIMP-1 浓度显著高于 B 组($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组血清 TIMP-1、MMP-9 浓度比较(ng/ml)(Mean $\pm$ SD)

Table 1 Comparison of concentration levels of TIMP-1 and MMP-9 in serum (ng/ml) (Mean $\pm$ SD)

Group	n	TIMP-1	MMP-9
A 组(增生组) Group A (Hyperplasia group)	15	117.62 $\pm$ 46.32**	179.64 $\pm$ 112.11**
B 组(纤维化组) Group B (Fibrosis group)	15	179.58 $\pm$ 64.55** Δ	176.74 $\pm$ 113.48*
E 组(正常对照组) Group E (Normal control group)	10	51.97 $\pm$ 23.14	90.53 $\pm$ 26.11

Note: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group; $\Delta P<0.01$ vs non-fibrosis group.

2.2 肾组织中 MMP-9 的表达

A、B 两组 MMP-9 在肾小球和肾间质少见表达, 主要在肾

小管上皮细胞浆中表达增高(表 2、图 1、图 2、图 3、图 4、图 5)。两组之间表达的强度有显著差异($P<0.05$), 详见表 2。

表 2 各组肾组织中 MMP-9 和 TIMP-1 的表达比较(Mean± SD)
Table 2 Comparison of the expressions of MMP-9 and TIMP-1 in renal tissues of different groups(Mean ± SD)

Group	n	TIMP-1	MMP-9	TIMP-1/MMP-9
A 组 Group A	15	1792.21± 156.61	2709.19± 207.31	0.71± 0.11
B 组 Group B	15	3726.34± 1240.91*	1560.76± 270.11*	2.31± 0.41*

Note: *P<0. 01 vs non-fibrosis group

2.3 肾组织中 TIMP-1 的表达

A 组 TIMP-1 在肾小球中少见表达,在肾小管上皮细胞增强.B 组 TIMP-1 在肾小球中有少量表达,在肾小管上皮细胞较 A 组进一步增强。(表 2、图 6、图 7、图 8、图 9、图 10)。

2.4 相关性分析

肾小管肾间质 MMP-9 和 TIMP-1 免疫组化染色 IOD 值均与肾小管肾间质病变比率呈正相关,肾小管肾间质 TIMP-1/MMP-9 与肾小管肾间质病变比率呈正相关,见表 3。

表 3 肾小管肾间质病变比率与各比值间的相关系数

Table 3 Correlation coefficient of renal tubular interstitial lesion ratios			
病变比率 Lesion ratio	TIMP-1	MMP-9	TIMP-1/MMP-9
肾小管间质病变比率			
Renal tubular interstitial lesion ratio	0.88	0.76	0.83

Note: r=0.489, P<0. 01; r=0.07, P> 0.05.

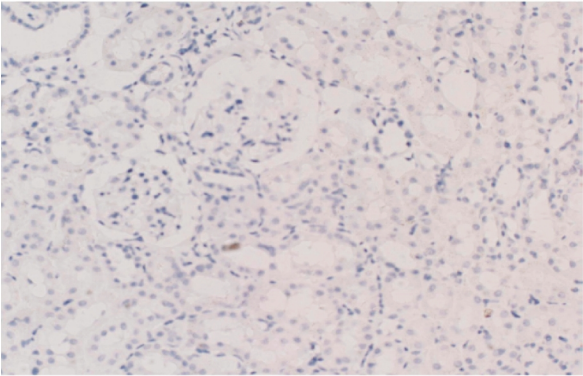


图 1 阴性对照(× 200)

Fig. 1 Negative controls(× 200)

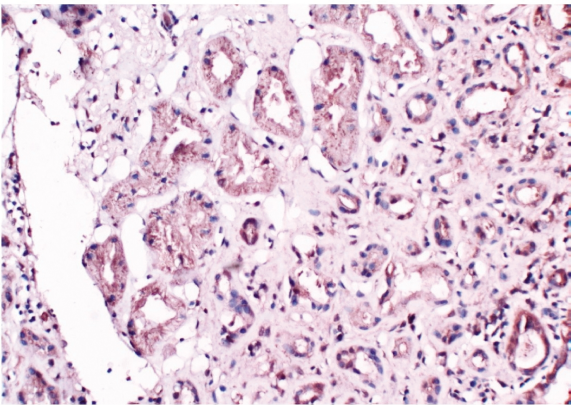


图 2 增生组: MMP-9 在肾小管上皮细胞表达显著(× 200)

Fig. 2 Hyperplasia group: the expression of MMP-9 was significantly in renal tubular epithelial cells (x200)

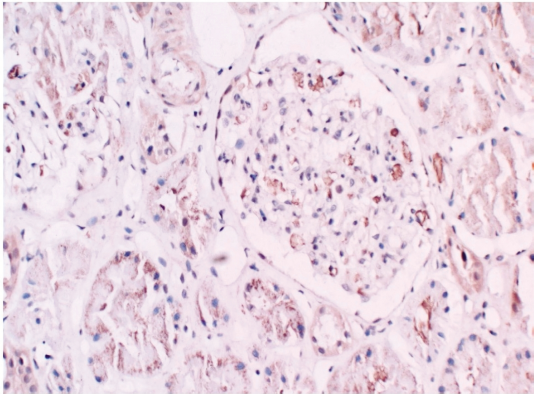


图 3 增生组: MMP-9 在肾小球呈少量表达(× 200)

Fig. 3 Hyperplasia group: less expression of MMP-9 in glomerular(× 200)

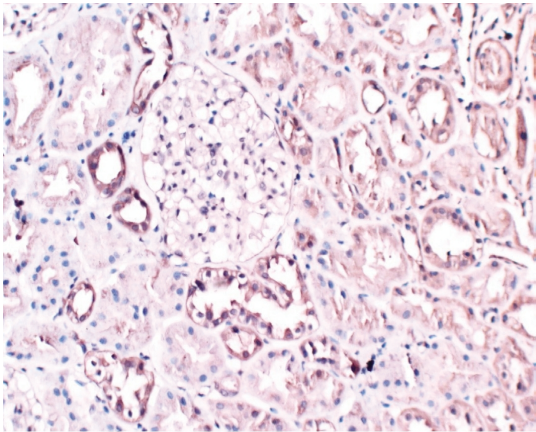


图 4 纤维化组: MMP-9 在肾小管上皮细胞表达显著,但较增生组减弱(× 200)

Fig. 4 Fibrosis group: the expression of MMP-9 was significant in renal tubular epithelial cells, but lower than that of the hyperplasia group(× 200)

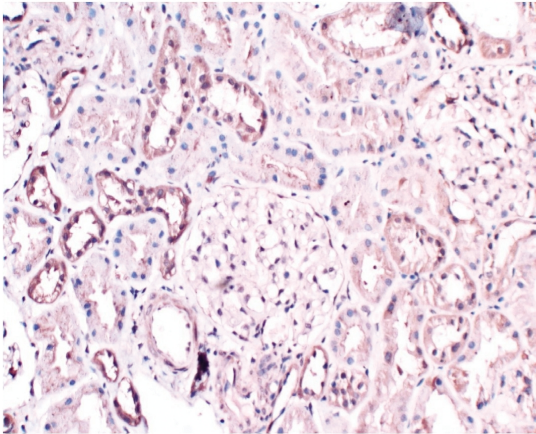


图 5 纤维化组: MMP-9 在肾小球表达较增生组减少(× 200)

Fig. 5 Fibrosis group: the expression of MMP-9 was lower in glomerular than that of the hyperplasia group(× 200)

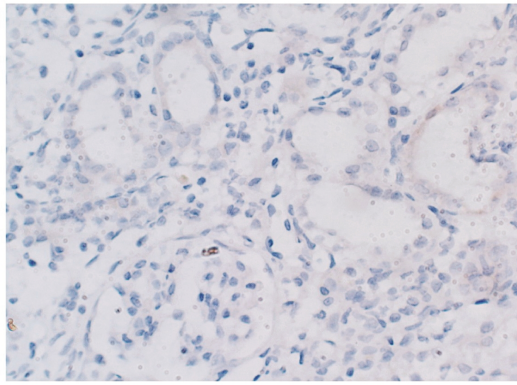


图 6 阴性对照组(× 200)

Fig. 6 Negative control group (× 200)

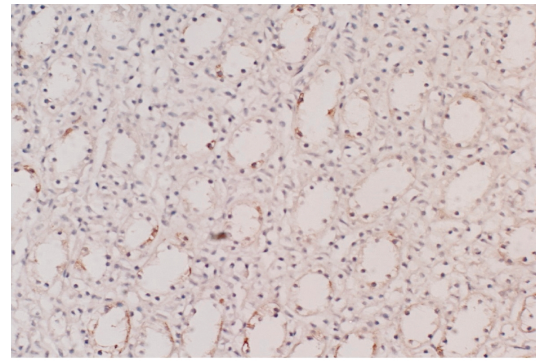


图 7 增生组:TIMP-1 在肾小管上皮细胞表达显著(× 200)

Fig. 7 Hyperplasia group: the expression of TIMP-1 was significantly in renal tubular epithelial cells (× 200)

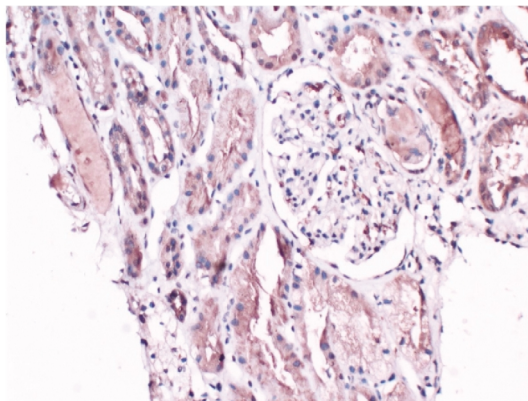


图 8 增生组:TIMP-1 在肾小球中少量表达(× 200)

Fig. 8 Hyperplasia group: the expression of TIMP-1 in glomeruli of small amounts (× 200)

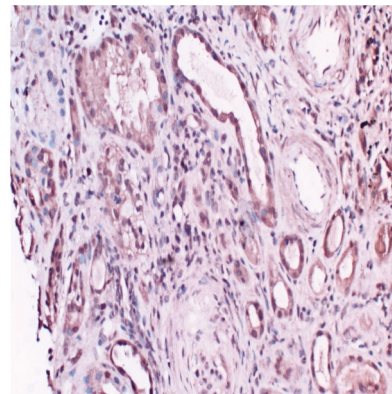


图 9 纤维化组:TIMP-1 在肾小管上皮细胞表达较增生组进一步增强(× 200)

Fig. 9 Fibrosis group: the expression of TIMP-1 was hyperplasia group further enhanced in renal tubular epithelial cells (× 200)

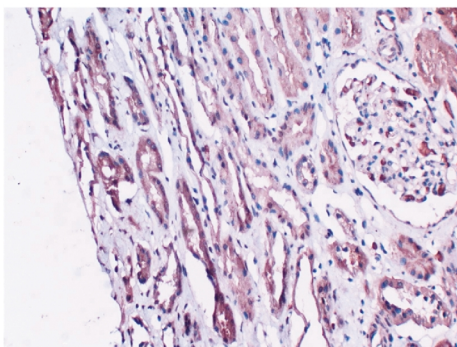


图 10 纤维化组:TIMP-1 在肾小球少量表达(× 200)

Fig.10 TIMP-1 in glomerular fibrosis group expressed (non biotin two step)(× 200)

3 讨论

目前已经发现,ECM 积聚引起的进行性 GS 与 TIF 是各种原发性肾小球疾病发展至终末期肾功能衰竭过程中的共同病理表现。这一过程的确切机制尚不清楚。近年来,发现 ECM 降解酶系统异常在此过程中发挥一定作用^[9-11]。

MMP 系统是参与肾脏 ECM 降解的主要酶系。该系统不仅调控肾脏发育与生理代谢过程,疾病状态下对 ECM 的重塑同样起重要作用。MMP 系统包括①明胶酶(MMP-2、MMP-9);主要降解明胶 I 和 IV、V、VII 型胶原。其中 MMP-9 主要降解明胶 IV、IV、V 型胶原。②间质胶原酶(MMP-1);主要降解 I、II、

III、VIII、X 型胶原。③基质溶解素(MMP-3、MMP-7、MMP-10、MMP-11);主要降解 I、II、IV、V。④弹力蛋白酶(MMP-12);主要降解弹力蛋白。⑤膜性(MMP-14)和分泌型 MMP 等^[12,13]。所有 MMPs 具有以下共同特征:(1) 为内肽酶,至少降解一种 ECM;(2) 以无活性潜酶或酶原形式分泌;(3) pH 中性时酶活性最佳(强);(4)前肽内含一个半胱氨酸开关和两个高度保守区,催化中心的锌离子为酶活性所必需;(5)金属螯合剂可抑制酶活性,而外源性锌离子可逆转这种抑制;(6) 有相应的 TIMP。TIMPs 是 MMP 的特异性内源性抑制因子,可以封闭 MMPs 的锌离子活性中心使 MMPs 失活,致使 ECM 降解受抑制,促进纤维形成^[14,15]。目前,共发现 TIMP1、TIMP2、TIMP3 和 TIMP4 共 4 种 TIMPS。4 种 TIMP 均能在肾脏表达,其中 TIMP-1 主要抑制 MMP-9,在 ECM 代谢中起关键作用,在肾纤维化的形成过程中起重要作用。MMPs 的合成、分泌及激活过程的各个环节都受到严密监控,一些细胞因子、生长因子及激素等能调节 MMPs 合成^[16-18]。

MMP - 9 在生理 pH 值下,在金属锌离子作用下,参与 ECM 的降解与重建,故又称基质因子。正常生理情况下,能够切断任何 ECM 成分,调节组织模型再塑及创伤修复、直接或间接参与胚胎发育等正常生理功能。钙离子可以调节其表达,如 Muk-hopadhyay 等^[9]在研究口腔鳞状细胞癌时发现在正常鳞癌及癌变前鳞癌的角化细胞中钙离子可以对 MMP - 9 产生剂量依赖性诱导,在低分化,高侵袭性鳞癌中却没有此特性。MMP -

9 主要作用底物是Ⅳ型胶原。TIMP-1 主要抑制 MMPs 家族中的 MMP-1、MMP-3、MMP-9。通常情况下, TIMPs/MMPs 任何两者间的比例失调都可能介导多种肾小球疾病时 ECM 异常聚积, 导致肾小球结构重塑, 蛋白尿形成。越来越多的证据表明, 多种肾小球疾病均呈现 ECM 合成与降解失衡, 不同类型肾脏疾病中肾脏局部以及血清中 TIMPs/MMPs 可能呈现出不同类型的改变。临床研究表明, TIMPs、MMPs 水平的升高与显著的活动性炎症反应联系密切^[29-32]。

肾间质中 ECM 产生增多和分解减少, 造成 ECM 沉积过多, 引起 RIF。多项证据证实 TIMPs/MMPs 功能紊乱, 尤其是 TIMP-1 的增多, MMP 的活性受限, 可促进肾间质纤维化形成。Anderson 等报道, 人肾小球系膜细胞在含糖基化Ⅳ型胶原的培养基中培养 3~7d 与正常培养基相比, 系膜细胞表达Ⅳ型胶原 $\alpha 1$ 增加 25%~200%, TIMP-1 增加 65%~75%, 将系膜细胞置于含 25 mmol/L 的高糖培养基中培养得到类似结果。证明 TIMPs/MMPs 功能紊乱亦参与糖尿病肾病肾组织纤维化的^[13,14]。MMPs 的高表达同肾小管基底膜的破坏关系密切。Tang 等发现 TIMP 比对照组升高了 5 倍, 表明 TIMP-1 的增多抑制 ECM 成分的降解^[15,16]。本研究对 MMP-9、TIMP-1 的免疫组织化学研究提示, MMP-9 在增生性肾小球肾炎中, MMP-9 大量沉积在肾小管上皮细胞, 尤其在代偿性肥大的肾小管上皮细胞中表达更强, 而在肾小球表达极少。与汤询等实验结果一致。在肾间质少量成纤维细胞可见表达 MMP-9。在增生组的 MMP-9 的表达量明显多于纤维化组, 具有显著性差异。这与卢文等的实验结果相符^[17,18]。

本研究还发现, 随着纤维化程度的加重, MMP-9 的表达减少, 可能与肾小管上皮细胞凋亡加剧, 数量降低, 肾小管上皮细胞坏死、纤维化有关。反过来提示肾脏间质纤维化的发生可能存在 MMP-9 的表达减少。研究表明, 随着肾脏纤维化加重, 一定数量的肾小管上皮细胞向纤维细胞分化。本研究中 MMP-9 在增生肾组织中表达量高于纤维化组, 有显著差异性。这种改变提示在病变早期, 虽有 ECM 产生增多, 但由于 MMPs 活性代偿性增强, ECM 的产生与降解仍保持动态平衡, 不发生纤维化; 随着病情进展, MMPs 活性减弱, ECM 产生多于降解, 造成 ECM 堆集, 组织出现纤维化。肾间质 TIMP-1 的表达随着肾组织纤维化程度的加重逐渐增强, 提示 TIMP-1 高表达引起的 MMPs 活性下降、ECM 降解抑制参与了肾组织纤维化的形成。一般情况下, MMP-9 在肾组织局部发挥作用, 维持 ECM 的合成与降解平衡, 很少释放入血液。但是在各种慢性肾小球疾病中, 许多细胞因子或者炎症介质可能诱导肾小管上皮细胞代偿性合成 MMP-9, 以维持新的基质合成与降解平衡。这种情况下, 血液中 MMP-9 浓度升高, 与病理表达含量大致相符^[20-22]。

本研究显示, 无论是增生组还是纤维化组血清中 MMP-9、TIMP-1 的浓度均高于正常对照组, 并且差异具有显著性。增生组血清中 TIMP-1 的浓度较纤维化组明显减低, 差异具有显著性。肾小管肾间质 MMP-9 和 TIMP-1 免疫组化染色 IOD 值与肾小管肾间质病变比率呈正相关, 肾小管肾间质 TIMP-1/MMP-9 与肾小管肾间质病变比率呈正相关。进一步比较显示随着纤维化程度的加重, 血清中 MMP-9、TIMP-1 的浓度变化与病理组织中 MMP-9、TIMP-1 表达呈正相关。这表明

血液中 MMP-9、TIMP-1 浓度大致上可以代表肾组织中的表达量。并且可在一定程度上反映肾脏纤维化的程度。目前肾穿刺已广泛应用于肾小球疾病的诊断, 但该种检查具有创伤性, 且费用较高, 具有难以随访和难以动态观察的不足, 反复应用不易推广。药物治疗后是否真正能够反映药物对肾脏病理的改善, 改变疾病预后, 迫切需要有效、无损伤的可反映肾组织纤维化的早期指标。目前尚无检测肾脏间质纤维化的血清学指标, 通过本试验观察, 慢性肾炎患者血清中 MMP-9、TIMP-1 的浓度表达与肾组织中 MMP-9、TIMP-1 的浓度表达具有正相关, 联合检测血清 MMP-9、TIMP-1 的浓度可能在一定程度上反映肾组织纤维化, 可作为反映肾组织纤维化的早期指标, 并且对判断肾脏疾病的进展具有重要意义。血清 MMP-9、TIMP-1 的浓度的检测临床应用不受技术条件限制, 且创伤较小, 操作简便、快速, 可推广应用。

参考文献(References)

- [1] 汪明星. 大剂量厄贝沙坦治疗慢性肾脏病患者蛋白尿的疗效观察[J]. 国际医药卫生导报, 2013, 19(2): 233-235
Wang Ming-xing. Curative effect of large dose of Irbesartan in treatment for patients with chronic kidney disease [J]. International Medicine&Health Guidance News, 2013, 19(2): 233-235
- [2] 周毅, 屠冠军. 基质金属蛋白酶组织抑制剂 1 基因重组腺病毒载体的构建[J]. 中国医科大学学报, 2012, 41(9): 805-808
Zhou Yi, Tu Guan-jun. Construction of Recombinant Adenovirus Vector Carrying the Human Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 1 cDNA[J]. Journal of China Medical University, 2012, 41(9): 805-808
- [3] 王海燕. 肾脏病学[M]. 第二版, 北京: 人民卫生出版社, 1997: 697-702
Wang Hai-yan. Nephrology[M]. The second edition, Beijing: People's Medical Publishing house, 1997: 697-702
- [4] Suzuki Y, Nagai N, Umemura K. Novel situations of endothelial injury in stroke--mechanisms of stroke and strategy of drug development: intracranial bleeding associated with the treatment of ischemic stroke: thrombolytic treatment of ischemia-affected endothelial cells with tissue-type plasminogen activator [J]. J Pharmacol Sci, 2011, 116(1): 25-29
- [5] Premachandra HK, Whang I, Lee YD, et al. Cystatin B homolog from rock bream *Oplegnathus fasciatus*: genomic characterization, transcriptional profiling and protease-inhibitory activity of recombinant protein [J]. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2012, 163(1): 138-146
- [6] Zhang AL, Wu XY, Li JQ, et al. Molecular characterization, tissue expression and nucleotide variation of the porcine AZ1 gene[J]. Gene, 2012, 10, 501(1): 79-84
- [7] Fine LG, Norman JT. Chronic hypoxia as a mechanism of progression of chronic kidney diseases: from hypothesis to novel therapeutics[J]. Kidney Int, 2008, 74(7): 867-872
- [8] Jung YS, Liu XW, Chirco R, et al. TIMP-1 induces an EMT-like phenotypic conversion in MDCK cells independent of its MMP-inhibitory domain[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e38773
- [9] Mukhopadhyay S, Munshi HG, Kambhampati S, et al. Calcium induced matrix metalloproteinase 9 gene expression is differentially regulated by ERK1/2 and p38 MAPK in oral keratinocytes and oral squamous cell carcinoma[J]. J Biol Chem, 2004, 279(32): 33139-33146
- [10] Leeming DJ, Byrjalsen I, Jimenez W, et al. Protein fingerprinting of the extracellular matrix remodelling in a rat model of liver fibrosis-a serological evaluation[J]. Liver Int, 2013, 33(3): 439-447

- [11] 姚钢炼, 廖婷婷, 周琳, 等. 氧化苦参碱对慢性肾脏病患者血清 MMP-9 和 TIMP-1 的影响 [J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2008, 29(1): 84-86
Yao Gang-lian, Liao Ting-ting, Zhou Lin, et al. Serum MMP-9 and TIMP-1 levels in patients with chronic kidney disease after oxymatrine treatment [J]. Journal of Xi'an Jiaotong University: Medical Sciences, 2008, 29(1): 84-86
- [12] Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs [J]. Cardiovascular Res, 2006, 69: 562-573
- [13] 温继兰, 李荣山, 王学武. 慢性肾衰竭患者血清 MMP-9 和 TIMP-1 表达及意义[J]. 临床肾脏病杂志, 2008, 8(1): 12-14
Wen Ji-lan, Li Rong-shan, Wang Xue-wu. The expression and significance of serum MMP-9 and TIMP-1 in patients with chronic renal failure[J]. Journal Of Clinical Nephrology, 2008, 8(1): 12-14
- [14] Tejima E, Guo S, Murata Y, et al. Neuroprotective effects of overexpressing tissue inhibitor of metalloproteinase TIMP-1 [J]. J Neurotrauma, 2009, 26 (11): 1935-1941
- [15] Zhou J, Li J, Rosenbaum DM, et al. Thrombopoietin protects the brain and improves sensorimotor functions: reduction of stroke-induced MMP-9 upregulation and blood-brain barrier injury [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2011, 31(3): 924-933
- [16] Shu J, Ren N, Du JB, et al. Increased levels of interleukin-6 and matrix metalloproteinase-9 are of cardiac origin in acute coronary syndrome[J]. Scand Cardiovasc J, 2007, 41(3): 149-154
- [17] 赵海霞, 吴玉梅, 孙辉, 等. 老年人慢性缺血性肾病患者血清 MMP-9 及 TIMP-1 的检测及意义[J]. 中国临床新医学, 2010, 3(4): 318-321
Zhao Hai-xia, Wu Yu-mei, Sun Hui, et al. The significance of determination of serum MMP-9 and TIMP-1 levels in elderly patients with chronic ischemic nephropathy [J]. Clinical medicine of China, 2010, 3(4): 318-321
- [18] Chen H, Inocencio R, Alam HB, et al. Differential expression of extracellular matrix remodeling genes in rat model of hemorrhagic shock and resuscitation[J]. Surg Res, 2005, 123: 235-244
- [19] 陈荣权, 陈香美, 崔世维, 等. 基质金属酶/组织金属蛋白酶抑制物表达失衡在衰老大鼠肾小管间质损害中的意义[J]. 中华医学杂志, 2004, 24(2): 129-132
Chen Rong-quan, Chen Xiang-mei, Cui Shi-wei, et al. Significance of imbalance between matrix metalloproteinases and tissue type inhibitor of metalloproteinases in renal tubulointerstitial lesions of aging rats[J]. National Medical Journal of China, 2004, 24(2): 129-132
- [20] 汤珣, 袁发焱. 金属蛋白酶组织抑制因子-1、基质金属蛋白酶-9 的表达与肾脏纤维化的关系[J]. 中国现代医学杂志, 2002, 12(2): 13-15
Tang Xu, Yuan Fa-huan. The expression and its significance of matrix metalloproteinase-9, and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in patients with renal disease [J]. China journal of modern medicine, 2002, 12(2): 13-15
- [21] 陈志强, 王月华, 丁英钧, 等. 肾络通对肾间质纤维化实验大鼠病理及基质金属蛋白酶系统地影响[J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29 (1): 23-26
Chen Zhi-qiang, Wang Yue-hua, Ding Ying-jun, et al. Effect of Shenluotong on pathology and system of MMP-1/TIMP-1 in rats with tubulointerstitial fibrosis [J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2006, 29(1): 23-26
- [22] 李小会, 赵明君, 雷根平, 等. 通络益肾方对高糖培养大鼠肾小球系膜细胞 MMP-9/TIMP-1 和 TGF- β 1 表达的影响 [J]. 中成药, 2013, 35(1): 11-14
Li Xiao-hui, Zhao Ming-jun, Lei Gen-ping, et al. Tongluo Yishen Formula on expression of rat mesangial cell MMP-9/TIMP-1, TGF- β 1 in high glucose culture [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2013, 35(1): 11-14

(上接第 6117 页)

- [3] Foresi.A, Leone.C, Pelucchi.A, et al. Eosinophils, mast cells, and basophils in induced sputum from patients with seasonal allergic rhinitis and perennial asthma: relationship to methacholine responsiveness[J]. Allergy Clin Immunol, 1997, 100(1): 58-64
- [4] Bousquet.J, P.Van Cauwenberge, N.Khaltaev. Allergic rhinitis and its impact on asthma[J]. Allergy Clin Immunol, 2001, 108(5 Suppl): S147-334
- [5] Chawes,B.L. Children with allergic and nonallergic rhinitis have a similar risk of asthma[J]. Allergy Clin Immunol, 2010, 126(3): 567-573.e1-8
- [6] Hellings, P. W, E. P. Prokopakis. Global airway disease beyond allergy [J]. Curr Allergy Asthma Rep, 2010, 10(2): 143-149
- [7] Gibson, P.G., M. Fujimura, A. Niimi. Eosinophilic bronchitis: clinical manifestations and implications for treatment[J]. Thorax, 2002, 57(2): 178-182
- [8] Pawankar.R., Mori.s, Ozu.C, et al. Overview on the pathomechanisms of allergic rhinitis[J]. Asia Pac Allergy, 2011, 1(3): 157-167
- [9] Wang QP, Wu KM, Li ZQ, et al. Association between maternal allergic rhinitis and asthma on the prevalence of atopic disease in offspring[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2012, 157(4): 379-386
- [10] Powe, D.G, N.S. Jones. Local mucosal immunoglobulin E production: does allergy exist in non-allergic rhinitis? [J]. Clin Exp Allergy, 2006, 36(11): 1367-1372
- [11] Powe, D.G, A.J. Bonnin, N.S.Jones. 'Entropy': local allergy paradigm [J]. Clin Exp Allergy, 2010, 40(7): 987-997
- [12] Braunstahl, G.J. United airways concept: what does it teach us about systemic inflammation in airways disease? [J]. Proc Am Thorac Soc, 2009, 6(8): 652-654
- [13] Marcucci.F, Passalacqua.G, Canonica.GW, et al. Lower airway inflammation before and after house dust mite nasal challenge: an age and allergen exposure-related phenomenon[J]. Respir Med, 2007, 101 (7): 1600-1608
- [14] Guerra.S, Sherrill.DL, Martinez.FD, et al. Rhinitis as an independent risk factor for adult-onset asthma[J]. Allergy Clin Immunol, 2002, 109(3): 419-425
- [15] Chawes, B.L. Upper and lower airway pathology in young children with allergic- and non-allergic rhinitis[J]. Dan Med Bull, 2011, 58(5): B4278