

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2012.40.019 [http://www.crter.org/crter-2012-qikanquanwen.html]

李健芝, 庾江东, 梁瑜, 刘玉明, 胡丽, 杨波, 周秀田. 单侧输尿管梗阻肾间质纤维化模型大鼠与川芎嗪的干预[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(40):7508-7513.

单侧输尿管梗阻肾间质纤维化模型大鼠与川芎嗪的干预*★

李健芝¹, 庾江东², 梁瑜³, 刘玉明², 胡丽¹, 杨波⁴, 周秀田³

¹南华大学护理学院, 湖南省衡阳市 421001; ²衡阳市中心医院, 湖南省衡阳市 421008; ³南华大学医学院, 湖南省衡阳市 421001; ⁴南华大学附属第一医院, 湖南省衡阳市 421001

李健芝★, 女, 1972年生, 湖南省衡阳市人, 2004年中南大学毕业, 硕士, 副教授, 从事内科护理教学及科研工作。ljz111@163.com

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:2095-4344
(2012)40-07508-06

收稿日期:2012-03-01
修回日期:2012-03-23
(20120202002/G·C)

¹The Nursery College of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China; ²Hengyang Central Hospital, Hengyang 421008, Hunan Province, China; ³Medical College of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China; ⁴The First Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Li Jian-zhi★, Master, Associate professor, the Nursery College of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Supported by:
General Project of Hunan Provincial Education Department, No.10C1159*

Received: 2012-03-01
Accepted: 2012-03-23

文章亮点: 建立单侧输尿管梗阻肾纤维化模型, 观察川芎嗪治疗后肾间质病理变化及肾组织组织基质金属蛋白酶 2 和金属蛋白酶组织抑制因子 2 的表达变化。结果显示提示川芎嗪通过下调基质金属蛋白酶 2、金属蛋白酶组织抑制因子 2 的表达, 从而改善单侧输尿管梗阻大鼠的肾间质纤维化。

关键词: 川芎嗪; 输尿管梗阻; 基质金属蛋白酶 2; 金属蛋白酶组织抑制因子 2; 肾间质纤维化

缩略语: 基质金属蛋白酶: matrix metalloproteinase, MMP; 金属蛋白酶组织抑制因子: tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TIMP

摘要

背景: 肾间质纤维化与组织基质金属蛋白酶 2 和金属蛋白酶组织抑制因子 2 表达失衡有关。

目的: 建立单侧输尿管梗阻肾纤维化模型, 观察川芎嗪治疗后肾间质病理变化及肾组织组织基质金属蛋白酶 2 和金属蛋白酶组织抑制因子 2 的表达变化。

方法: 24 只雌性 SD 大鼠分为 3 组, 除假手术组外, 模型组及川芎嗪组均在无菌条件下行左侧输尿管结扎建立单侧输尿管梗阻模型, 川芎嗪组于术前 1 d 开始灌胃给药, 40 mg/(kg·d), 1 次/d, 连续 2 周。术后 14 d 处死各组大鼠, 留取梗阻侧肾组织行苏木精-伊红染色和 Masson 染色以观察肾组织病理改变, 免疫组化和反转录-聚合酶链反应方法检测肾组织基质金属蛋白酶 2、金属蛋白酶组织抑制因子 2 的表达水平。

结果与结论: 川芎嗪组可明显减轻肾小管的扩张和萎缩, 减轻肾间质纤维组织增生及炎性细胞浸润。与假手术组相比, 模型组基质金属蛋白酶 2、金属蛋白酶组织抑制因子 2 蛋白和 mRNA 基因表达均明显增加($P < 0.01$); 川芎嗪组上述物质表达较模型组明显减少($P < 0.01$)。提示川芎嗪通过下调基质金属蛋白酶 2、金属蛋白酶组织抑制因子 2 的表达, 从而改善单侧输尿管梗阻大鼠的肾间质纤维化。

Effects of tetramethylpyrazine in rats with unilateral ureteral obstruction renal fibrosis

Li Jian-zhi¹, Yu Jiang-dong², Liang Yu³, Liu Yu-ming², Hu Li¹, Yang Bo⁴, Zhou Xiu-tian³

Abstract

BACKGROUND: Renal interstitial fibrosis is related to the imbalance between matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase-2.

OBJECTIVE: To establish the unilateral ureteral obstruction renal fibrosis model and to observe the pathological changes of renal interstitial and the expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 after treated with tetramethylpyrazine.

METHODS: Twenty-four female Sprague Dawley rats were randomly divided into three groups: sham-operation group, model group and tetramethylpyrazine group. The rats in the model group and tetramethylpyrazine group were performed with left ureter ligation to establish the unilateral ureteral obstruction model. Rats in the tetramethylpyrazine group were performed with intragastric administration at 1 day before surgery, 40 mg/(kg·d) once per day and lasted for 2 weeks. All rats were sacrificed at 14 days after surgery. The pathological changes of the obstruction renal tissues were examined by hematoxylin-eosin staining and Masson staining. Immunohistochemistry and reverse transcription-polymerase chain reaction were applied to detect the protein and mRNA expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase-2.

RESULTS AND CONCLUSION: Tetramethylpyrazine could significantly reduce the expansion and contraction of the tubular, the proliferation of renal interstitial fibrous tissue and inflammatory cell infiltration. Compared with sham-operation group, the protein and mRNA expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase-2 was significantly increased in model group ($P < 0.01$). The protein and mRNA expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase-2 in tetramethylpyrazine group was smaller than that in the model group ($P < 0.01$). Tetramethylpyrazine could relieve the renal interstitial fibrosis by decreasing expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase-2.

Li JZ, Yu JD, Liang Y, Liu YM, Hu L, Yang B, Zhou XT. Effects of tetramethylpyrazine in rats with unilateral ureteral obstruction renal fibrosis. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2012;16(40): 7508-7513.

0 引言

胞外基质合成和降解失衡引起的基质积聚是导致肾间质纤维化的基本病理生理过程。基质金属酶系统是基质降解过程中的关键性降解酶系之一^[1], 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)/金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TIMP)比例降低也是导致肾小球和肾间质纤维化的重要原因^[2]。尽管目前采用血管紧张素转换酶抑制剂/血管紧张素受体拮抗剂治疗肾纤维化取得满意结果, 但临床尚无特异性的治疗方法^[3-4]。川芎嗪是从活血祛瘀中药川芎根茎中提取分离的生物碱单体, 化学结构为四甲基吡嗪, 其肾脏保护作用在一系列临床与实验中已得到证实, 大量研究主要集中在其对改善糖脂代谢, 抑制血小板激活与聚集, 抗氧化, 以及改善血液流变性方面^[5-8]。川芎嗪对大鼠慢性移植肾肾病亦有延缓作用^[9], 而抗肾间质纤维化方面研究甚少。本文通过建立单侧输尿管梗阻肾纤维化模型, 观察川芎嗪治疗后肾间质病理变化及肾组织MMP-2、TIMP-2表达变化, 进一步分析川芎嗪对肾间质纤维化的作用及可能机制。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2011-02/12在南华大学动物部、南华大学医学院完成。

材料: 健康清洁级4-6周龄雌性SD大鼠由南华大学试验动物部提供, 许可证号: SCXK(湘)2011-0012, 体重220-250 g, 分笼饲养, 饲以标准饲料, 环境为清洁级, 温度维持在20℃左右。

主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
盐酸川芎嗪注射液(2 mL/支, 批号: H20055479)	郑州卓峰制药有限公司
兔抗鼠 MMP-2 多克隆抗体、兔抗鼠 TIMP-2 多克隆抗体、SABC 免疫组织化学试剂盒及 DAB 显色剂	武汉博士德生物有限公司
Trizol 总 RNA 抽提试剂	上海华舜生物工程有限公司
反转录试剂盒	美国 Fermentas 公司
引物设计与合成	上海生物工程有限公司
RNA 浓度测定仪、聚合酶链反应仪	德国 Eppendorf 公司

方法:

模型建立及取材: 将24只雌性大鼠按随机数字表法分为3组: 假手术组、模型组、川芎嗪组, 每组8只。除假手术组外, 其他2组大鼠均在无菌条件下行左侧输尿管结扎术建立单侧输尿管梗阻模型^[10]。手术方法: 2%戊巴比妥5 mL/kg腹腔注射麻醉大鼠, 取右侧卧位, 背部左肋下备皮, 常规消毒, 选左侧背部肋下0.5 cm为切口, 打开腹腔, 游离左肾及左侧输尿管, 将输尿管用组织钳托起, 取中上段, 两端用丝线结扎后, 剪断左输尿管, 然后逐层缝合; 假手术组打开腹腔后分离左侧输尿管, 并不结扎即关闭腹腔。川芎嗪组于术前1 d开始灌胃给药, 40 mg/(kg·d), 1次/d, 连续2周。假手术组、模型组用相同体积的生理盐水灌胃。各组均于术后14 d处死大鼠, 留取左侧肾标本, 部分用体积分数10%中性甲醛固定行常规病理及免疫组化检查, 部分迅速置-80℃冰箱保存, 备反转录-聚合酶链反应检测用。

肾组织病理学检查: 肾组织经固定、脱水、石蜡包埋、常规切片, 厚度3 μm, 行苏木精-伊红染色和Masson染色。肾小管间质病变的判断: 取Masson染色切片观察各组肾小管间质纤维化程度。按文献[11]描述的方法进行半定量评分, 在400×光镜下, 对每张切片随机选择10个不含肾小球和大血管的肾皮质视野进行分析。肾小管间质病变按以下3个参数决定: 蛋白管型和肾小管的扩张、坏死、萎缩; 炎性细胞浸润; 间质纤维化的程度。每个参数按0-3分评定(0=正常, 1=轻度受损, 2=中度受损, 3=重度受损)。每个视野小管间质的评分为0-9分, 计算其均值作为该标本的肾小管间质损伤指数。

肾组织免疫组织化学方法检测MMP-2、TIMP-2的表达: 采用SABC法, 具体步骤参照SABC试剂盒说明。应用真彩色病理图像分析系统对MMP-2、TIMP-2结果进行分析, 每张肾组织切片在400倍镜下随机选取5个面积相同的视野, 摄取图像, 输入图像分析系统, 对免疫组化阳性信号进行积分吸光度图像自动测量分析。

反转录-聚合酶链反应方法检测梗阻侧肾脏MMP-2、TIMP-2 mRNA表达: 聚合酶链反应引物用Primer Premier引物设计软件设计。肾组织总RNA的提取采用一步提取法, 反转录-聚合酶链反应严格按照产品说明进行。**MMP-2引物:** 正链5'-ATC TGG TGT CTC CCT- TAC GG-3', 反链5'-GTG CAG TGA TGT CCG ACA AC-3', 产物150 bp; 反应参数: 预变性94℃、2 min, 变性

94 °C、30 s, 退火57 °C、30 s, 延伸72 °C、45 s, 循环35轮, 然后72 °C延伸7 min, 4 °C终止。TIMP-2引物: 正链5'-AGG GCC AAA GCA GTG AGC GAG AA-3', 反链5'-CCG CCT TCC CTG CAA TTA GAT ATT C- 3', 产物214 bp; 反应参数: 预变性94 °C、2 min, 变性94 °C、30 s, 退火60 °C、30 s, 延伸72 °C、45 s, 循环35轮, 然后72 °C延伸7 min, 4 °C终止。内参β-肌动蛋白(β-actin)mRNA正链: 5'-TGA CGA GGC CCA GAG CAA GA-3', 反链: 5'-ATG GGC ACA GTG TGG GTG AC-3', 产物长度330 bp。取聚合酶链反应扩增产物5 μL在15 g/L琼脂糖中电泳, 凝胶成像系统成像, 应用计算机图像分析软件(TotallabV 1.01)行灰度扫描分析。以目的基因与β-actin的聚合酶链反应产物条带灰度之比作为反映目的基因mRNA水平的相对指标。

主要观察指标: ①各组大鼠肾脏病理变化。②各组大鼠MMP-2、TIMP-2的表达部位及表达水平。③各组大鼠MMP-2、TIMP-2的mRNA表达水平。

统计学分析: 由第一作者采用SPSS 11.5软件进行数据分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多样本均数比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 实验共纳入24只SD大鼠, 分为3组, 全部进入结果分析, 无脱失。

2.2 苏木精-伊红和Masson染色光镜观察结果 见图1, 2。

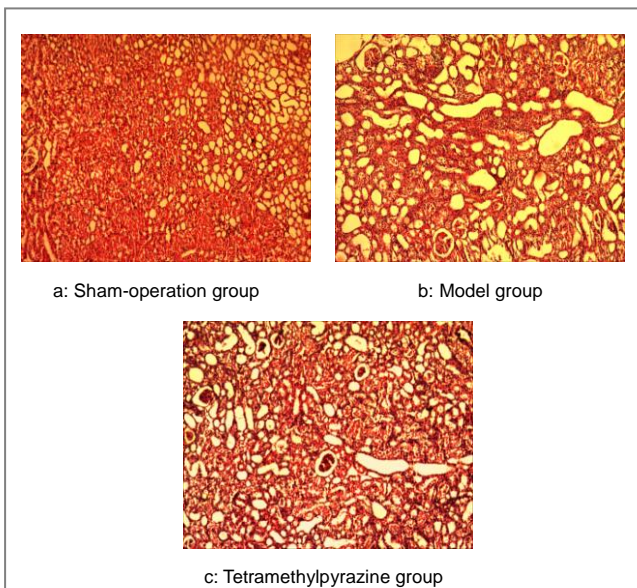


Figure 1 Renal pathological changes indicated by hematoxylin-eosin staining (x100)
图1 各组大鼠肾组织病理苏木精-伊红染色结果(x100)

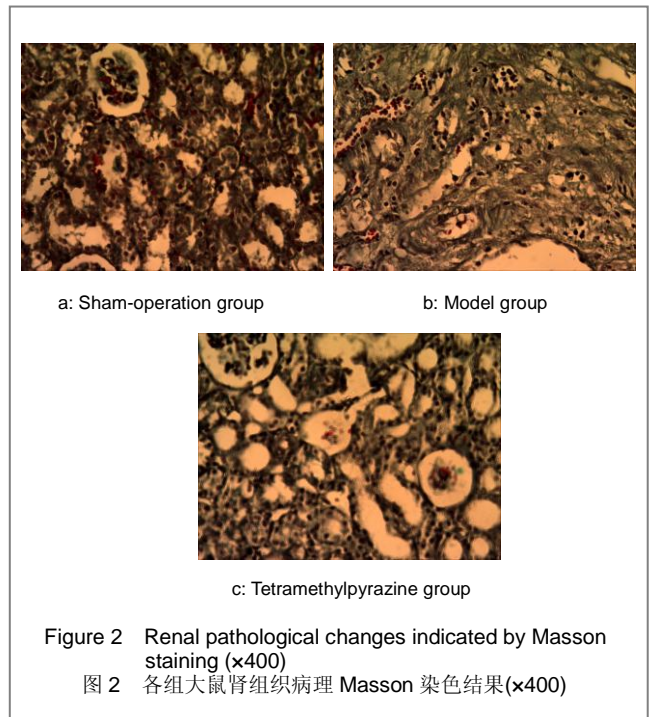


Figure 2 Renal pathological changes indicated by Masson staining (x400)
图2 各组大鼠肾组织病理 Masson 染色结果(x400)

光镜下假手术组肾脏肾小管结构正常, 间质未见增宽, 无炎性细胞浸润, 小管基底膜光滑完整。模型组肾小管上皮细胞弥漫空泡变性, 多数肾小管扩张、萎缩, 多灶状炎性细胞浸润和纤维化。川芎嗪组间质内炎性细胞呈小灶状浸润, 少许上皮细胞肿胀, 少许肾小管轻度扩张, 肾间质未见明显纤维化。Masson染色见假手术组肾脏的胶原染色主要位于肾小球基膜、Bowman囊、系膜区和肾小管毛细血管周围, 而肾小管周围间质部分则比较少; 模型组可见肾间质大量胶原纤维增生, 间质胶原纤维呈蓝色染色, 间质纤维化呈灶状分布, 肾小球病变不明显, 偶见肾小球局灶节段性硬化。川芎嗪组上述病变均有所减轻,

2.3 肾小管间质损伤指数 肾小管间质损伤指数半定量评分模型组明显高于假手术组($P < 0.01$), 川芎嗪组明显低于模型组($P < 0.01$), 见表1。

表1 各组大鼠肾小管间质损伤指数半定量评分比较
Table 1 Semiquantitative results of renal interstitial damage index in all groups ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Group	Damage index
Sham-operation	0.31±0.10
Model	6.78±0.25 ^a
Tetramethylpyrazine	4.36±0.10 ^{ab}

^a $P < 0.01$, vs. sham-operation group; ^b $P < 0.01$, vs. model group

2.4 免疫组织化学检测结果 假手术组大鼠肾小管上皮细胞胞浆有少量MMP-2、TIMP-2表达, 肾小球和肾间质细胞少见MMP-2、TIMP-2表达。模型组MMP-2、

TIMP-2表达较假手术组明显增强且分布面积增加, 主要在皮髓交界的肾小管间质区以及肾小管上皮细胞表达明显。川芎嗪组较模型组表达减弱, 且分布面积减少, 见图3, 4。

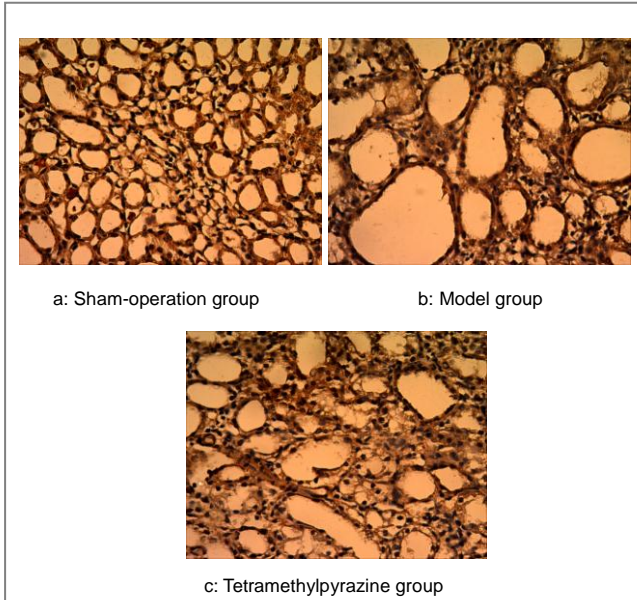


Figure 3 Immunohistostaining of matrix metalloproteinase-2 of the renal tissues in all groups (x400)
图3 各组大鼠肾组织基质金属蛋白酶2免疫组织化学染色结果(x400)

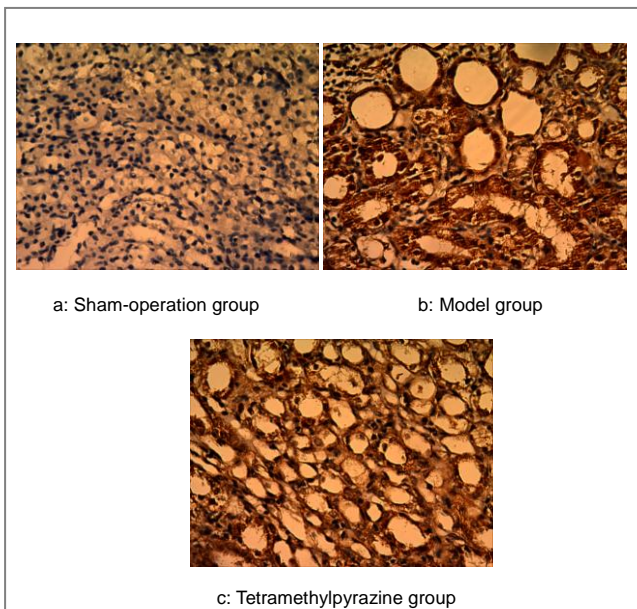


Figure 4 Immunohistostaining of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 of the renal tissues in all groups (x400)
图4 各组大鼠肾组织金属蛋白酶组织抑制因子2免疫组织化学染色结果(x400)

免疫组化半定量结果分析, 与假手术组比较, 模型组、川芎嗪组肾脏MMP-2、TIMP-2蛋白表达均显著增多($P < 0.01$), 川芎嗪组显著少于模型组($P < 0.01$), 见

表2。

表2 各组大鼠肾脏基质金属蛋白酶2、金属蛋白酶组织抑制因子2的积分吸光度值比较
Table 2 Integral absorbance value of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 in all groups ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Group	MMP-2	TIMP-2
Sham-operation	0.22±0.06 ^b	0.27±0.09 ^b
Model	0.46±0.10 ^a	0.51±0.10 ^a
Tetramethylpyrazine	0.36±0.07 ^{ab}	0.38±0.08 ^{ab}

^a $P < 0.01$, vs. sham operation group; ^b $P < 0.01$, vs. model group

2.5 反转录-聚合酶链反应检测结果 假手术组MMP-2、TIMP-2 mRNA均呈弱表达, 与假手术组相比, 模型组表达均显著增强($P < 0.01$); 川芎嗪组表达较模型组明显降低($P < 0.01$), 但仍强于假手术组, 见图5, 6及表3。

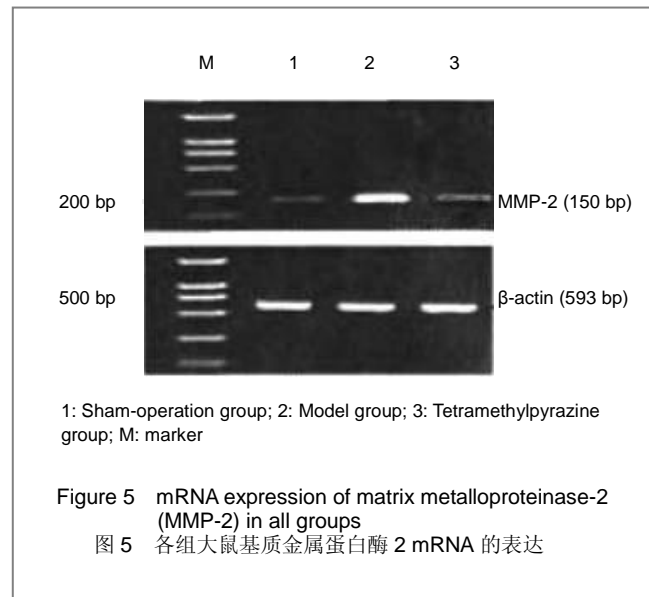


Figure 5 mRNA expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in all groups
图5 各组大鼠基质金属蛋白酶2 mRNA 的表达

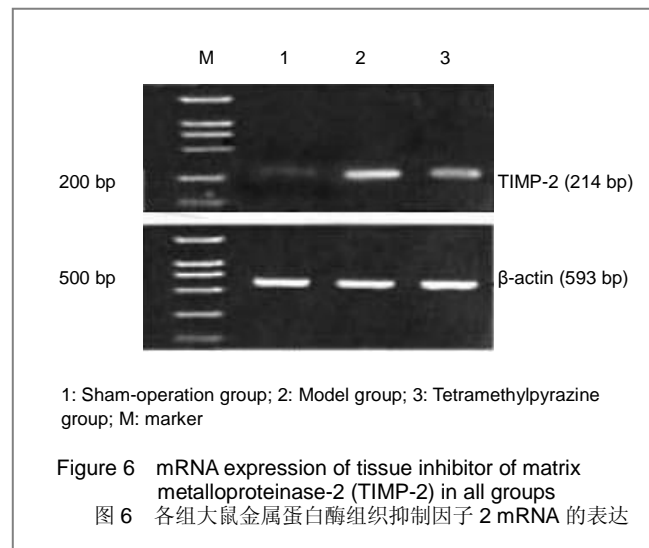


Figure 6 mRNA expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 (TIMP-2) in all groups
图6 各组大鼠金属蛋白酶组织抑制因子2 mRNA 的表达

表3 各组大鼠基质金属蛋白酶2、金属蛋白酶组织抑制因子2 mRNA 的表达水平比较
 Table 3 mRNA expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 (TIMP-2) in all groups ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Group	MMP-2 mRNA	TIMP-2 mRNA
Sham-operation	0.45±0.05 ^b	0.55±0.05 ^b
Model	1.12±0.04 ^a	1.05±0.04 ^a
Tetramethylpyrazine	0.68±0.05 ^{ab}	0.85±0.03 ^{ab}

^a*P* < 0.01, vs. sham-operation group; ^b*P* < 0.01, vs. model group

3 讨论

肾间质纤维化、肾小管萎缩是慢性肾脏疾病进展至终末期肾功能衰竭的共同病理特征^[12]。肾脏纤维化以细胞外基质积聚和系膜细胞增殖为病理特征，细胞外基质积聚是导致肾脏纤维化的重要因素。目前认为，细胞外基质的降解系统主要有基质金属蛋白酶及其抑制系统、纤溶酶原激活物及其抑制物系统等。

近来研究指出，MMP-2和MMP-9破坏肾小管基底膜，促进肾小管上皮细胞转分化，导致肾间质纤维化。MMPs以无活性的潜酶或酶原形式分泌^[13]，在中性pH值下，有内在Zn²⁺和外在Ca²⁺存在时方可发挥酶的活性，其酶活性可被螯合剂所抑制，也可被TIMPs抑制。目前已克隆出TIMPs的4个成员，分别命名为TIMP-1，TIMP-2，TIMP-3，TIMP-4，均存在于肾脏中。每种TIMP都能在一定程度上结合和抑制MMPs，其中TIMP-1和TIMP-2在细胞外基质积聚和降解的生理平衡中起关键作用。尽管每种TIMP都能抑制MMP-2，但目前的研究证据表明，TIMP-2对MMP-2的活性尤为重要^[14-15]。陆海英等^[16]研究发现，在大鼠单侧输尿管梗阻肾纤维化形成过程中，MMP-2的蛋白表达在肾损伤早期即明显增加，并随纤维化程度加重而逐步升高，从而促进肾纤维化的发生。而TIMP-2的高表达可能是加重肾间质损害的因素之一。

川芎嗪是中药川芎的有效成分之一，属酰胺类生物碱类，其化学结构为四甲基吡嗪，有扩张血管，抑制血小板聚集，改善微循环和减轻组织缺氧性损害，抗细胞凋亡以及抗组织纤维化的作用。川芎嗪在肾纤维化方面的研究刚刚起步，如陆敏等^[17]研究显示，川芎嗪具有显著抗肾间质纤维化的作用，其机制与降低肾组织中促纤维化细胞因子转化生长因子β1含量，同时恢复Smad逆向调控因子Smad7和SnoN蛋白表达水平有关。作者前期研究发现川芎嗪通过下调MMP-9、TIMP-1的表达，

减少细胞外基质中胶原蛋白的合成，增加其降解，从而减轻或抑制肾小管间质的纤维化^[18]。

本实验选用川芎嗪干预单侧输尿管梗阻大鼠，观察川芎嗪是否对大鼠肾脏有保护作用，是否与抑制MMP-2和TIMP-2有关。单侧输尿管梗阻是目前公认的导致肾间质纤维化病理学改变的经典模型，通过该模型可以有效地评价药物对肾间质纤维化的疗效^[19]。本实验中模型组大鼠肾实质萎缩，肾脏质地变硬，肾盂扩张，呈囊状。肾小管上皮细胞萎缩，大部分肾小管管腔扩张，间质纤维组织增生，大量炎性细胞浸润，说明模型建立成功。川芎嗪治疗组明显减轻肾小管的扩张和萎缩，减轻间质纤维组织增生，炎性细胞浸润。

本实验结果显示，单侧输尿管梗阻模型大鼠MMP-2蛋白和基因表达均高于同期假手术组(*P* < 0.01)，川芎嗪治疗组能抑制其肾组织的表达(*P* < 0.01)。单侧输尿管梗阻模型大鼠TIMP-2蛋白和基因表达均高于同期假手术组(*P* < 0.01)，川芎嗪治疗组能抑制其肾组织的表达(*P* < 0.01)。由此推测，川芎嗪可能是通过抑制肾组织MMP-2、TIMP-2的表达，增加细胞外基质成分的降解，从而阻止或延缓肾间质纤维化，对肾间质纤维化大鼠的肾脏有较好的保护治疗作用。

MMP-2与TIMP-2在对细胞外基质的降解上作用相反，但作者在实验中观察到二者的表达是协同作用，呈正相关，与国内文献报道一致^[16, 20-21]。但国外文献报道，MMP-2在梗阻早期升高，第3天达高峰，随后下降，TIMP-2在梗阻整个过程中均升高^[22]。肾纤维化中，不同实验方法可有不同的结果，但有一共同趋势，即TIMPs高表达，和(或)MMPs活性下降^[23]，有关MMP-2的活性尚有待进一步研究。因此，如何维持MMP-2/TIMP-2的平衡是延缓肾间质纤维化的研究热点。

综上所述，MMP-2、TIMP-2表达与肾间质纤维化密不可分，川芎嗪通过下调MMP-2、TIMP-2表达延缓肾间质纤维化发生、发展，为临床防治肾间质纤维化提供了新的途径。

致谢：感谢南华大学医学院组织与胚胎学教研室龙治峰老师给予的指导和帮助。

4 参考文献

- [1] Zhu JL, Jia RH, Wang XY, et al. Jichu Yixue yu Linchuang. 2002;22(6):554-558.
朱吉莉,贾汝汉,王学玉,等.厄贝沙坦对肾硬化大鼠肾间质中MMP-9/TIMP-1 表达的影响[J].基础医学与临床,2002,22(6):554-558.

- [2] Liu Y, Rajur K, Tolbert E, et al. Endogenous hepatocyte growth factor ameliorates chronic renal injury by activating matrix degradation pathways. *Kidney Int.* 2000;58(5): 2028-2043.
- [3] Wu WP, Chang CH, Chiu YT, et al. A reduction of unilateral ureteral obstruction-induced renal fibrosis by a therapy combining valsartan with aliskiren. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010;299(5):F929-941.
- [4] Kellner D, Chen J, Richardson I, et al. Angiotensin receptor blockade decreases fibrosis and fibroblast expression in a rat model of unilateral ureteral obstruction. *J Urol.* 2006;176(2): 806-812.
- [5] Yang QH, Liang Y, Xu Q, et al. Protective effect of tetramethylpyrazine isolated from *Ligusticum chuanxiong* on nephropathy in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Phytomedicine.* 2011; 18(13):1148-1152.
- [6] Ali BH, Al-Moundhri M, Eldin MT, et al. Amelioration of cisplatin-induced nephrotoxicity in rats by tetramethylpyrazine, a major constituent of the Chinese herb *Ligusticum wallichii*. *Exp Biol Med (Maywood).* 2008;233(7):891-896.
- [7] Juan SH, Chen CH, Hsu YH, et al. Tetramethylpyrazine protects rat renal tubular cell apoptosis induced by gentamicin. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;22(3):732-739.
- [8] Feng L, Ke N, Cheng F, et al. The protective mechanism of ligustrazine against renal ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res.* 2011;166(2):298-305.
- [9] Chen G, Wu XH, Tang YX, et al. *Chongqing Yike Daxue Xuebao.* 2009;34(9):1184-1186.
陈刚, 吴小候, 唐亚雄, 等. 川芎嗪延缓大鼠慢性移植肾肾病作用及机制的研究[J]. *重庆医科大学学报*, 2009, 34(9): 1184-1186.
- [10] Kaneto H, Morrissey J, Klahr S. Increased expression of TGF-beta 1 mRNA in the obstructed kidney of rats with unilateral ureteral ligation. *Kidney Int.* 1993;44(2):313-321.
- [11] Taal MW, Zandi-Nejad K, Weening B, et al. Proinflammatory gene expression and macrophage recruitment in the remnant kidney. *Kidney Int.* 2000;58(4):1664-1667.
- [12] Harris RC, Neilson EG. Toward a unified theory of renal progression. *Annu Rev Med.* 2006;57:365-380.
- [13] Cheng S, Lovett DH. Gelatinase A. (MMP-2) is necessary and sufficient for renal tubular cell epithelial-mesenchymal transformation. *Am J Pathol.* 2003;162(6):1937-1949.
- [14] Nishida M, Okumura Y, Ozawa S, et al. MMP-2 inhibition reduces renal macrophage infiltration with increased fibrosis in UUO. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;354(1): 133-139.
- [15] Cheng S, Pollock AS, Mahimkar R, et al. Matrix metalloproteinase 2 and basement membrane integrity: a unifying mechanism for progressive renal injury. *FASEB J.* 2006;20(11):1898-1900.
- [16] Lu HY, Zhang Y, Zhou J, et al. *Xiandai Yufang Yixue.* 2009; 36(12):2328-2331.
陆海英, 张悦, 周娟, 等. MMP-2和TIMP-2在肾间质纤维化大鼠模型中的表达和意义[J]. *现代预防医学*, 2009, 36(12): 2328-2331.
- [17] Lu M, Zhou J, Wang F, et al. *Zhongguo Zhongyao Zazhi.* 2009;34(1):84-87.
陆敏, 周娟, 王飞, 等. 川芎嗪对肾间质纤维化模型大鼠Smad7和SnO蛋白表达的影响[J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(1): 84-87.
- [18] Li JZ, Yu JD, Liu YM, et al. *Yixue Lilun yu Shijian.* 2012;25(3): 249-251.
李健芝, 庾江东, 刘玉明, 等. 川芎嗪对肾间质纤维化大鼠中MMP-9、TIMP-1表达的影响[J]. *医学理论与实践*, 2012, 25(3): 249-251.
- [19] Chevalier RL, Forbes MS, Thornhill BA. Ureteral obstruction as a model of renal interstitial fibrosis and obstructive nephropathy. *Kidney Int.* 2009;75(11):1145-1152.
- [20] Lu HY, Zhang Y, Liu YM, et al. *Shanghai Zhongyiyao Daxue Xuebao.* 2009;23(2):55-58.
陆海英, 张悦, 刘煜敏, 等. 丹参酚酸B对肾纤维化大鼠肾组织MMP-2表达的影响[J]. *上海中医药大学学报*, 2009, 23(2): 55-58.
- [21] Chen RQ, Chen XM, Cui SW, et al. Significance of imbalance between matrix metalloproteinases and tissue type inhibitor of metalloproteinases in renal tubulointerstitial lesions of aging rats. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2004;84(11): 937-942.
- [22] Iimura O, Takahashi H, Yashiro T, et al. Effect of ureteral obstruction on matrix metalloproteinase-2 in rat renal cortex. *Clin Exp Nephrol.* 2004;8(3):223-229.
- [23] Li XH, Zhao ZJ. *Zhongguo Zhongxiyi Jihe Shenbing Zazhi.* 2007;8(3): 179-181.
李相辉, 赵宗江. 基质金属蛋白酶-9及组织抑制剂-1与肾间质纤维化[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2007, 8(3): 179-181.

来自本文课题的更多信息—

基金声明: 湖南省教育厅基金资助一般项目(10C1159), 课题名称: 基质金属蛋白酶及其组织金属蛋白酶抑制物在大鼠肾间质纤维化中的作用及川芎嗪的干预研究。

作者贡献: 第一作者负责实验设计, 所有作者参与实验实施, 第一作者负责实验评估及成文。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 实验过程中对动物的处置应符合 2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

文章概要:

文章要点: 肾间质纤维化与 MMP-2 和 TIMP-2 表达失衡有关。

关键信息: MMP-2、TIMP-2 表达与肾间质纤维化密不可分, 川芎嗪通过下调 MMP-2、TIMP-2 表达延缓肾间质纤维化发生、发展, 为临床防治肾间质纤维化提供了新的途径。

研究的创新之处与不足: MMP-2 与 TIMP-2 在对细胞外基质的降解上作用相反, 但作者在实验中观察到二者的表达是协同作用, 呈正相关, 与国内文献报道一致。如何维持 MMP-2/TIMP-2 的平衡是延缓肾间质纤维化的研究热点。

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。