

肾乐和法安明防治大鼠肾小球硬化机制的探讨*

王文新 陈香美 叶一舟 师锁柱

内容提要 目的:观察肾乐和法安明(达肝素钠)对 5/6 肾切除大鼠残肾组织中 IV 型胶原和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)/组织金属蛋白酶抑制物-1(tissue inhibitors of metalloproteinase-1, TIMP-1)基因表达的影响,旨在探讨两种药物对细胞外基质降解酶系 MMP-9/TIMP-1 的影响,从而进一步揭示其减轻肾小球硬化的机制。方法:用 5/6 肾切除的方法诱导大鼠局灶节段性肾小球硬化模型并给予肾乐($4\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)及法安明($1000\text{IU}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)治疗 20 周,观察大鼠血压、蛋白尿、血肌酐、血脂和残余肾组织的病理改变程度,以及残肾组织 IV 型胶原、MMP-9 的沉积和 TIMP-1 基因的表达。结果:肾乐及法安明治疗能显著降低 5/6 肾切除大鼠血压、蛋白尿、血肌酐、血脂和减轻肾组织的病理改变程度,并且显著减少残肾组织中 IV 型胶原、MMP-9 的沉积以及下调 IV 型胶原、MMP-9/TIMP-1 的基因表达;定量分析结果显示,与 5/6 Nx 组比较,肾乐组和法安明组 MMP-9 的表达量分别下调了 30.0%、28.5%,TIMP-1 的表达量分别下调了 59.3%、55.0%。结论:肾乐和法安明可能通过调节 MMP-9/TIMP-1 的基因表达,减轻肾小球重塑过程中细胞外基质的异常代谢和积聚,促进了细胞外基质的降解,这可能是肾乐和法安明防治肾小球硬化的重要作用机制之一。

关键词 肾乐 法安明 肾小球硬化 基质金属蛋白酶-9 组织金属蛋白酶抑制物-1

Study on Mechanism of Shenle and Fragmin in Preventing and Treating Glomerulosclerosis in Rats WANG Wenxin, CHEN Xiangmei, YE Yizhou, et al. *Nephrology Department, General Hospital of PLA, Beijing (100853)*

Objective: To study the effects of Shenle and Fragmin on the degradation of extracellular matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitors of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in the remnant kidneys of 5/6 nephrectomized rats treated with Shenle and Fragmin. **Methods:** The model of focal and segmental glomerulosclerosis was made by 5/6 nephrectomy in Wistar rats. After being treated with Shenle ($4\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) or Fragmin ($1000\text{IU}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) for 20 weeks, the blood pressure, proteinuria, serum creatinine, lipids, renal pathological change of remnant kidney of the model animals were examined, and the mRNA expression of MMP-9, TIMP-1 and type IV collagen in the remnant kidney were also detected. **Results:** Shenle and Fragmin could significantly reduce the blood pressure, proteinuria, serum creatinine and lipids, alleviate the pathologic change of kidney tissue, decrease the type IV collagen, MMP-9 deposition. Shenle and Fragmin down-regulated the mRNA expression of MMP-9 by 30.0% and 28.5% and TIMP-1 expression by 59.3% and 55.0% in the remnant kidney of the 5/6 nephrectomized rats respectively. **Conclusion:** Shenle and Fragmin might ameliorate glomerulosclerosis through modulating MMP-9/TIMP-1 gene expression, alleviate the abnormal metabolism and accumulation, promote extracellular matrix degradation in glomeruli remodeling, it might be the important mechanism of Shenle and Fragmin in treating glomerulosclerosis.

Key words Shenle, Fragmin, glomerulosclerosis, matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-1

* 全军“九五”重点课题资助(No.95Z056),国家自然科学基金重点项目资助(No.39930230)

解放军总医院肾科,解放军肾病中心暨重点实验室(北京 100853)

在肾小球硬化的病理生理过程中,常伴有肾小球内微血栓、纤维蛋白的沉积,提示肾小球局部有凝血酶的活化^{〔1〕}。基质金属蛋白酶类(matrix metalloproteinases, MMPs)/组织金属蛋白酶抑制物(tissue in-

hibitors of metalloproteinases, TIMPs) 是体内关键性的细胞外基质 (ECM) 降解酶体系, 其活性的变化在一定程度上决定着 ECM 的聚积。肾乐的主要有效成分能与凝血酶的活性部位结合而抑制其活性, 临床上用于治疗慢性肾小球疾病及延缓慢性肾衰进展已取得一定疗效, 但其作用机制尚不完全清楚。法安明 (达肝素钠) 是一种低分子肝素, 通过抗凝血酶 III 发挥药理作用, 具有抗凝血因子 Xa 活性和较弱的抑制凝血酶活性的作用, 临床已用于多种肾脏疾病的治疗, 但是, 肾乐和法安明治疗肾脏疾病是否与调节肾脏 MMP-9/TIMP-1 的表达有关, 尚未见报道。本研究以经典的慢性肾衰动物模型 (5/6 肾切除大鼠) 为研究对象, 观察肾乐和法安明对残肾组织 IV 型胶原 (IV-Col)、MMP-9/TIMP-1 表达的影响, 观察其在防治肾小球硬化方面的作用并探讨其可能的机制。

材料与方法

1 实验动物与分组 雌性 Wistar 大鼠 40 只, 由解放军总医院动物实验中心提供, 8 周龄, 体重 180 ~ 200g, 随机分为 4 组, 每组 10 只: (1) 假手术组: 只做肾包膜剥离, 不做肾脏切除; (2) 5/6 Nx 组: 大鼠 5/6 肾切除术后 1 周始给予生理盐水, 每只 0.1 ml/d, 皮下注射; (3) 肾乐组: 大鼠 5/6 肾切除术后 1 周始给予肾乐 $4\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 配在饮水中喂饲。肾乐胶囊由肾乐课题组提供, 批号 9700624, 9700626, 9700628, 处方组成主要为水蛭、当归、党参等; (4) 法安明组: 大鼠 5/6 肾切除术后 1 周始给予法安明 (法玛西亚普强公司产品, 94414A51) $1000\text{IU} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 皮下注射。

2 观察指标及方法

2.1 24h 尿蛋白总量、血压 分别于治疗 0、4、8、12、16、20 周每组各取 7 只大鼠, 收集 24h 尿液, 考马斯亮蓝法测得尿蛋白浓度; 尾动脉法 (Natu me KN-210 尾动脉测压仪) 测大鼠血压。

2.2 血清尿素氮 (BUN)、肌酐 (Cr)、总蛋白 (TP)、白蛋白 (Alb)、胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG) 于治疗 20 周, 采用 7150 自动生化分析仪测定。

2.3 白陶土部分凝血活酶时间 (APTT) 采用 Sysmex CA6000 全自动凝血仪测定。

2.4 光镜下肾脏病理改变 10% 甲醛固定, $3\mu\text{m}$ 的石蜡切片, PAS 染色, 光镜下观察, 并根据 Raij 法^[2] 对肾小球硬化病变进行半定量分级, 按肾小球硬化面积分为 0 ~ 4 级病变, 0 级: 肾小球无硬化; 1 级: 肾小球硬化面积 $\leq 25\%$; 2 级: $25\% <$ 肾小球硬化面积 $\leq 50\%$; 3 级: $50\% <$ 肾小球硬化面积 $\leq 75\%$; 4 级: 75%

$<$ 肾小球硬化面积 $\leq 100\%$, 再计算肾小球硬化指数 (GI), $GI = [(1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4) / \text{观察肾小球总数}] \times 100$; 对肾小管-间质病变进行半定量分级。

2.5 逆转录-多聚酶链式反应 (RT-PCR) 分析 采用 CsCl_2 超速离心方法从大鼠残肾组织中提取总 RNA, 行逆转录 (RT) 得到反转录产物, 再采用 PERKIN ELMER 2400 PCR 仪行多聚酶链式反应 (PCR), PCR 产物于 1.5% 琼脂糖凝胶电泳后, 用凝胶电泳图像分析系统拍照并进行定量分析。大鼠 MMP-9 (sense 5'-CATGCGGCCGCGCCATGAGTCCCTGGCAG-3'; Antisense 5'-TTGGATCCAGTATGTGATGTTATGATG-3' 目的片段 380bp), 变性 94°C 1 min, 退火 55°C 1 min, 延伸 72°C 1.5 min, 35 个循环。大鼠 TIMP-1 (sense 5'-TTTG-CATCTCTGGCCTCTG-3'; Antisense 5'-AATGACTGTCACTCTCCAG-3' 目的片段 493bp), 变性 94°C 1 min, 退火 54°C 1 min, 延伸 72°C 2 min, 35 个循环。大鼠 IV 型胶原 (sense 5'-GTGCGGTTTGTGAAGCACCG-3', Antisense 5'-GTTCTTCTCATGCACACTT-3' 目的片段 363bp), 变性 94°C 1 min, 退火 54°C 1 min, 延伸 72°C 2 min, 45 个循环。小鼠 β -actin (sense 5'-GTGGCCGCTCTAGGCACCA-3', Antisense 5'-CGGTTGGCCTTAGGGTTCAGGGGGG-3' 目的片段 221bp)。

2.6 免疫组织化学分析 羊抗 MMP-9 抗体 (Santa Cruze 公司产品)、DAB 试剂盒 (北京中山生物技术有限公司)、兔抗鼠 IV 型胶原多克隆抗体 (北京医科大学)。SP 法检测残肾组织石蜡切片、冰冻切片 MMP-9 及 IV-Col 的表达。结果采用 CMIAS 医学图像分析系统进行定量分析。

3 统计学方法 两组均数间差异性比较采用单因素方差分析和 q 检验; 等级资料差异性分析采用非参数法假设 Ridit 法。

结 果

1 各组大鼠血压变化比较 见表 1。治疗 4 ~ 20 周, 5/6 肾切除大鼠血压均显著高于假手术组。术后 4、8、12 周时, 假手术组血压无显著变化, 5/6 Nx 组、肾乐组及法安明组间大鼠血压均有不同程度升高, 但 3 组间血压差异无显著性; 治疗 16 ~ 20 周, 肾乐组及法安明组大鼠血压显著低于 5/6 Nx 组, 两治疗组间大鼠血压在各时间点差异均无显著性。

2 各组大鼠血清 BUN、Cr、TP、Alb、TC、TG 及 APTT 比较 见表 2。治疗 20 周后, 两治疗组大鼠血清 BUN、Cr、TC、TG 水平均显著低于 5/6 Nx 组, TP、Alb 高于 5/6 Nx 组 ($P < 0.05$)。各观察组大鼠血 APTT, 除法

表 1 各组大鼠血压变化比较 (mmHg, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	血压					
		0 周	4 周	8 周	12 周	16 周	20 周
假手术	7	86.1 ± 7.5	86.4 ± 6.2	92.6 ± 6.0	90.7 ± 4.5	88.1 ± 5.9	85.8 ± 6.4
5/6Nx	7	85.9 ± 7.4 [*]	111.5 ± 10.4 [*]	136.6 ± 6.8 [*]	146.3 ± 5.4 [*]	165.4 ± 5.0 [*]	175.7 ± 5.8 [*]
肾乐	7	90.7 ± 4.4 [*]	109.6 ± 7.7 [*]	140.4 ± 6.1 [*]	140.1 ± 6.8 [*]	149.2 ± 5.6 [*] △	160.0 ± 6.5 [*] △
法安明	7	91.7 ± 4.6 [*]	112.6 ± 6.6 [*]	131.4 ± 6.8 [*]	145.1 ± 4.9 [*]	148.4 ± 6.3 [*] △	161.0 ± 6.0 [*] △

注:与假手术组比较,^{*} $P < 0.05$;与 5/6Nx 组比较,△ $P < 0.05$

表 2 各组大鼠血生化指标及 APTT 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BUN (mmol/L)	Cr (μmol/L)	TP (g/L)	Alb (g/L)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	APTT (s)
假手术	7	4.9 ± 1.0	48.6 ± 5.8	80.0 ± 0.7	37.4 ± 2.4	1.8 ± 0.1	0.7 ± 0.1	26.7 ± 4.6
5/6Nx	7	29.2 ± 1.3 [*]	312.6 ± 46.5 [*]	52.4 ± 6.8 [*]	18.4 ± 1.8 [*]	3.4 ± 0.1 [*]	2.8 ± 0.3 [*]	31.5 ± 2.4
肾乐	7	19.8 ± 2.0 [*] △	191.9 ± 14.6 [*] △	65.4 ± 4.4 [*] △	28.3 ± 1.6 [*] △	2.6 ± 0.2 [*] △	1.4 ± 0.2 [*] △	30.9 ± 5.4
法安明	7	19.6 ± 1.4 [*] △	184.5 ± 14.1 [*] △	69.5 ± 3.7 [*] △	29.2 ± 1.3 [*] △	2.9 ± 0.1 [*] △	2.2 ± 0.2 [*] △	38.2 ± 2.8 [*] △△

注:与假手术组比较,^{*} $P < 0.01$;与 5/6Nx 组比较,△ $P < 0.05$;与肾乐组比较,△ $P < 0.05$

表 3 各组大鼠尿蛋白变化比较 (mg/24h, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	尿蛋白定量					
		0 周	4 周	8 周	12 周	16 周	20 周
假手术	7	4.8 ± 0.6	5.6 ± 1.1	5.9 ± 1.4	6.6 ± 0.8	8.1 ± 2.1	6.9 ± 2.0
5/6Nx	7	5.2 ± 0.5	21.2 ± 3.4 [*]	56.5 ± 12.1 [*]	91.1 ± 14.0 [*]	246.0 ± 34.6 [*]	429.0 ± 167.8 [*]
肾乐	7	5.0 ± 0.8	15.3 ± 2.5 [*] △	21.2 ± 4.8 [*] △	32.4 ± 6.8 [*] △	73.9 ± 20.7 [*] △	127.0 ± 40.1 [*] △
法安明	7	5.2 ± 0.4	16.8 ± 3.4 [*] △	28.5 ± 5.7 [*] △	41.1 ± 5.8 [*] △	70.1 ± 11.6 [*] △	145.0 ± 76.8 [*] △

注:与假手术组比较,^{*} $P < 0.01$;与 5/6Nx 组比较,△ $P < 0.05$

安明组略延长外,其余各组差异无显著性。

3 各组大鼠尿蛋白变化比较 见表 3。术后 4、8、12、16、20 周,5/6 肾切除大鼠尿蛋白排泄量均显著高于假手术组,肾乐组及法安明组大鼠尿蛋白排泄量显著低于 5/6Nx 组;20 周时,与 5/6Nx 组比较,肾乐、法安明组尿蛋白排泄量分别降低了 70.4%、66.0%,两治疗组间在各时间点差异均无显著性。

4 肾组织病理变化

4.1 肾小球病变 5/6Nx 组、肾乐组、法安明组大鼠均有不同程度的系膜细胞增生、ECM 增加、球囊粘连、肾小球代偿性肥大、纤维素样渗出、肾小球硬化,各组 GI 见表 4。肾乐组及法安明组 GI 均显著低于 5/6Nx 组($P < 0.01$)。

4.2 肾小管-间质病变 5/6 肾切除组大鼠残肾的肾小管-间质呈慢性病理改变,可见肾小管萎缩、肾间质纤维化及间质炎细胞浸润,5/6Nx 组肾小管-间质病变明显重于肾乐组和法安明组,并可见大量蛋白管型及肾小管上皮细胞空泡变性,见表 4。

表 4 各组大鼠 GI 及肾小管-间质病理改变比较

组别	n	GI ($\bar{x} \pm s$)	间质炎细胞浸润				肾小管萎缩				间质纤维化			
			-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
假手术	7	5.8 ± 2.0	6	1	0	0	7	0	0	0	6	1	0	0
5/6Nx	7	232.5 ± 8.2 [*]	1	2	4	0 [*]	0	6	1	0 [*]	1	4	2	0 [*]
肾乐	7	125.8 ± 5.9 [*] △	2	4	1	0 [*] △	3	3	1	0 [*] △	3	4	0	0 [*] △
法安明	7	120.8 ± 10.4 [*] △	2	4	1	0 [*] △	2	3	2	0 [*] △	2	4	1	0 [*] △

注:与假手术组比较,^{*} $P < 0.01$;与 5/6Nx 组比较,△ $P < 0.01$

5 免疫组织化学结果

5.1 MMP-9 假手术组肾组织 MMP-9 仅在肾小球脏层上皮细胞有微弱表达,肾乐组和法安明组 MMP-9 的表达主要在肾小球脏层上皮细胞和内皮细胞,在 5/6Nx 组,除了肾小球脏层上皮细胞外,壁层上皮细胞、内皮细胞、系膜区也有 MMP-9 的阳性着色。用计算机图像分析系统计算 MMP-9 阳性着色面积占该肾小球面积的百分比($n = 7$)分别为:假手术组 3.5%,5/6Nx 组 16.8%,肾乐组 11.4%,法安明组 10.6%。

5.2 IV-Col IV-Col 的表达主要分布在肾小球毛细血管袢和肾小管基底膜及系膜区,用计算机图像分析系统计算 IV-Col 阳性着色面积占该肾小球面积的百分比($n = 7$)分别为:假手术组 8.9%,5/6Nx 组 22.0%,肾乐组 14.5%,法安明组 12.3%。

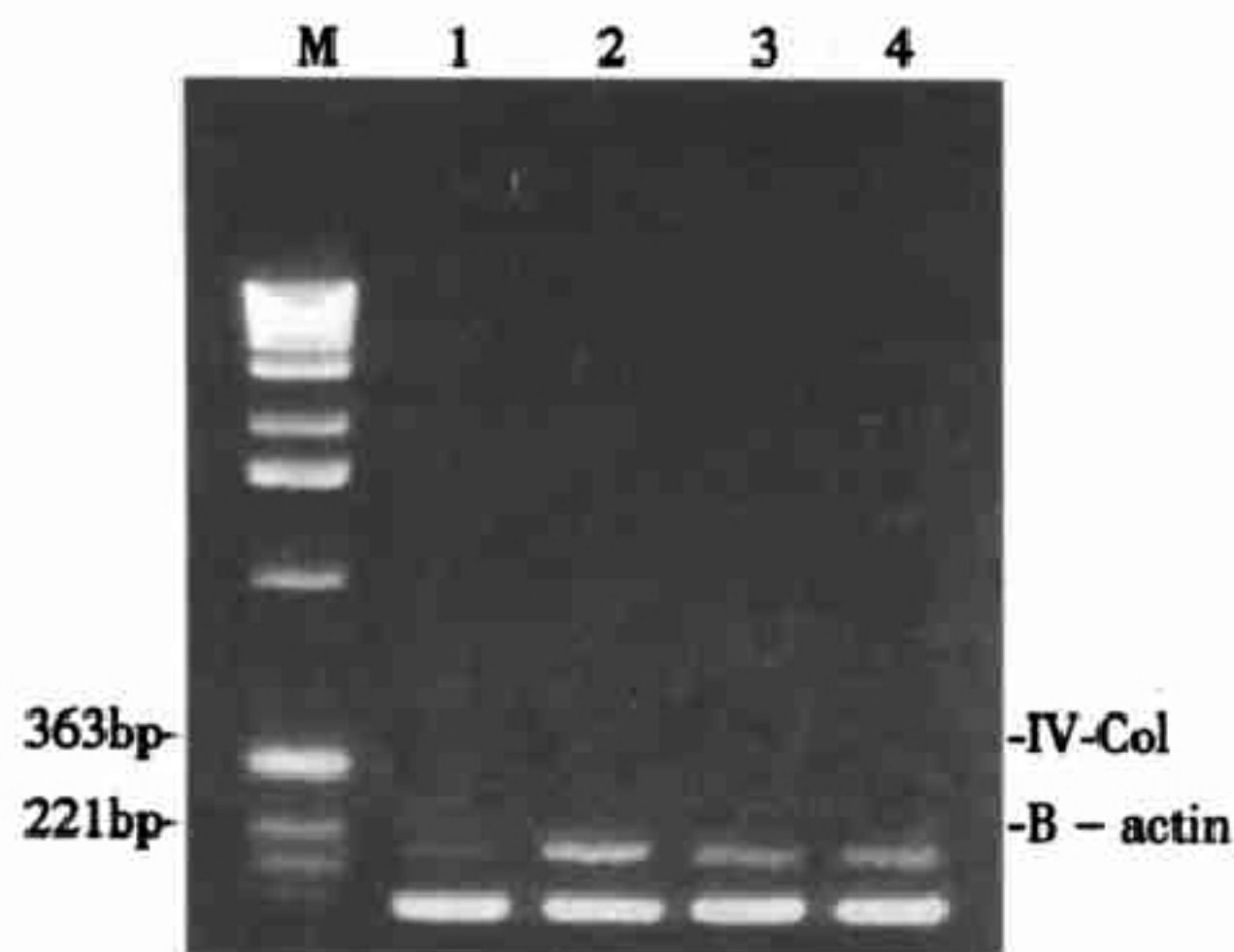
6 RT-PCR 结果 与假手术组大鼠比较,在 5/6 肾切除大鼠残余肾组织中,MMP-9、TIMP-1、IV-Col mRNA 表达均明显增强,经肾乐和法安明治疗后,MMP-9、TIMP-1 及 IV-Col 基因表达均有下调,用凝胶电泳图像分析系统拍照并进行定量分析,结果见图 1~3,见表 5。

6.1 IV-Col 5/6Nx 组大鼠肾脏 IV-Col mRNA 表达较假手术组高 2.52 倍($P < 0.01$),肾乐组、法安明组与 5/6Nx 组比较,IV-Col mRNA 表达量分别降低了 39.5%、44.4%,差异有显著性($P < 0.01$),见图 1。

6.2 MMP-9 5/6Nx 组大鼠肾脏 MMP-9 mRNA

表达较假手术组高 2.0 倍($P < 0.01$),肾乐组、法安明组与 5/6 Nx 组比较, MMP-9 mRNA 表达量分别降低了 30.0 %、28.5 %,差异有显著性($P < 0.01$),见图 2。

6.3 TIMP-1 5/6 Nx 组大鼠肾脏 TIMP-1 mRNA 表达较假手术组高 2.37 倍($P < 0.01$),肾乐组、法安明组与 5/6 Nx 组比较, TIMP-1 mRNA 的表达量分别降低了 59.3 %、55.0 %,差异有显著性($P < 0.01$),见图 3。



注: M 为 1kb Marker;1 为假手术组;2 为 5/6 Nx 组;3 为肾乐组;4 为法安明组;图 2、3 同

图 1 各组 IV-Coll mRNA 表达比较

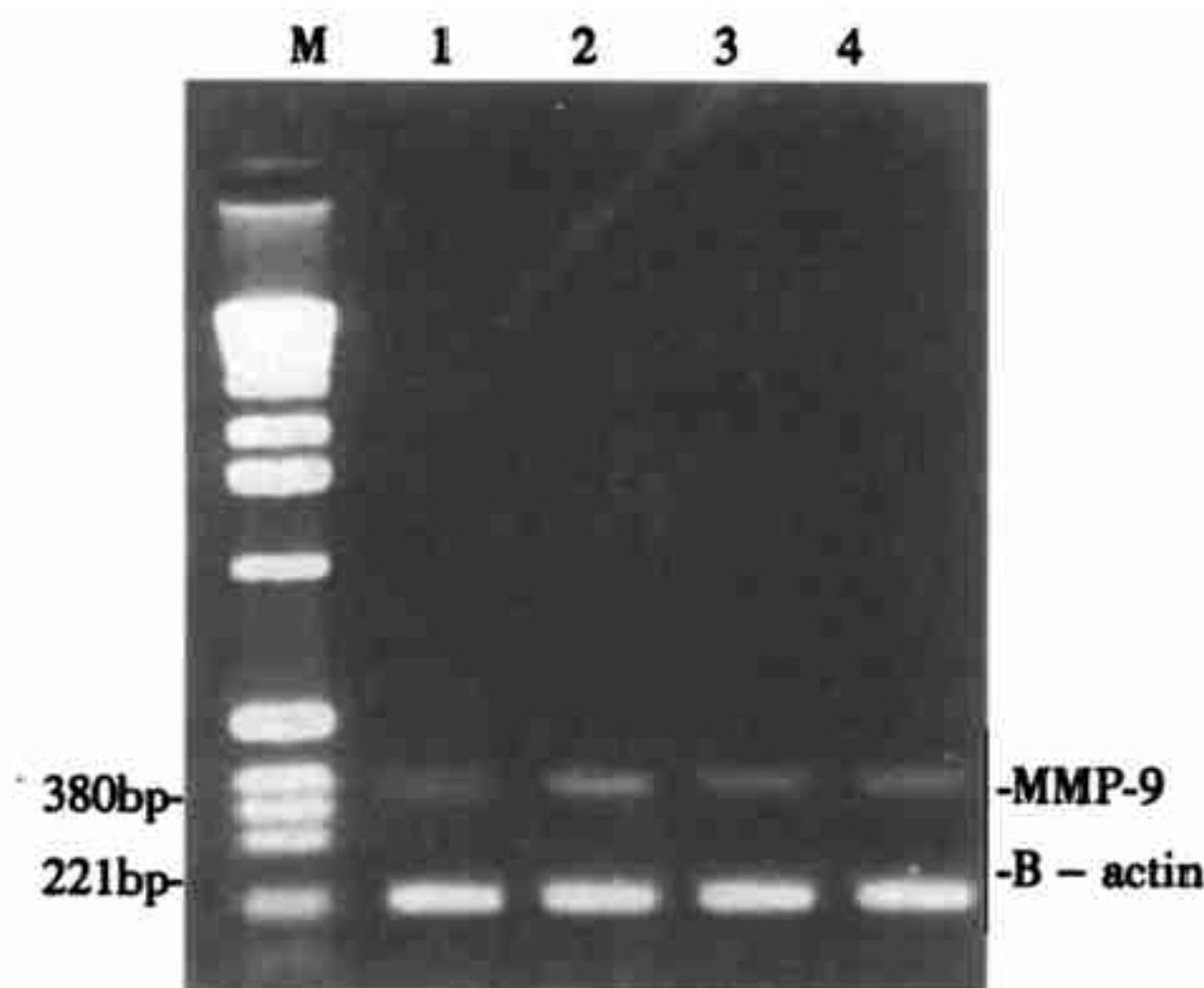


图 2 各组 MMP-9 mRNA 表达比较

表 5 各组大鼠 RT-PCR 凝胶电泳图像定量分析结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	IV-Coll	MMP-9	TIMP-1
假手术	3	0.23 ± 0.04	0.20 ± 0.05	0.35 ± 0.04
5/6 Nx	3	0.81 ± 0.09 [*]	0.40 ± 0.07 [*]	1.18 ± 0.07 [*]
肾乐	3	0.49 ± 0.05 ^A	0.28 ± 0.05 ^A	0.48 ± 0.06 ^A
法安明	3	0.45 ± 0.04 ^A	0.29 ± 0.05 ^A	0.53 ± 0.04 ^A

注:与假手术组比较,^{*} $P < 0.01$;与 5/6 Nx 组比较,^A $P < 0.01$

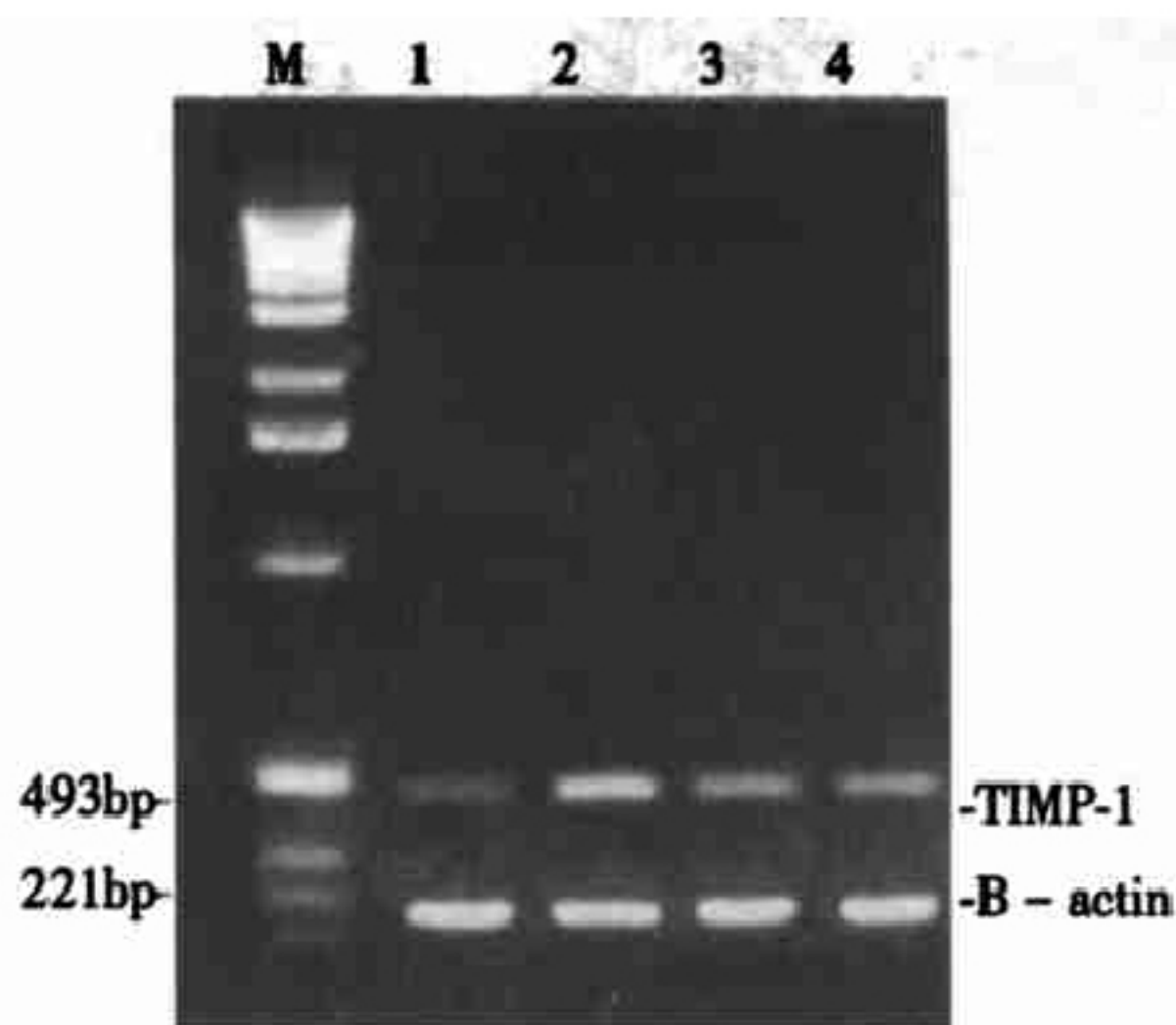


图 3 各组 TIMP-1 mRNA 表达比较

讨 论

肾小球硬化是多种慢性进展性肾小球疾病进展与演变的结果,进而导致慢性肾功能不全、尿毒症。而肾小球内微血栓形成和纤维蛋白的沉积是慢性肾小球疾病常见的病理生理现象⁽¹⁾,它们的存在提示肾小球局部有凝血酶的活化。已往的研究发现,凝血酶一方面通过激活凝血系统,引起纤维蛋白沉积而间接导致肾损伤,另一方面通过活化肾小球系膜细胞表面的凝血酶受体而促进其增殖作用、诱导细胞因子的表达^(3,4),进一步加重肾损伤。中药复方制剂肾乐以水蛭为君药,其主要有效成分水蛭素是迄今发现的最强的天然凝血酶抑制剂,可以与凝血酶的活性部位结合构成复合体,抑制凝血酶的活性⁽⁵⁾,使其失去丝氨酸蛋白酶的活力,阻抑其活化细胞膜上凝血酶受体。法安明具有抗凝血因子 Xa 活性,可防止血管内凝血及肾小球内凝血。其治疗肾小球疾病的机制除了具有抗凝、促纤溶作用外,还具有抗炎活性,同时可抑制系膜细胞增殖和 ECM 合成,从而防止肾小球硬化⁽⁶⁾。本实验中我们用 5/6 肾切除的方法成功地诱导了大鼠肾小球硬化的慢性肾衰模型,并给予肾乐、法安明等药物治疗 20 周,上述治疗不仅能明显减少蛋白尿、降低血压、血肌酐、血脂等指标,而且还可明显减轻肾小球及肾小管间质病变程度。本实验从功能上及病理上再次证实了肾乐及法安明有防治肾小球硬化、延缓慢性肾衰进展的作用。

肾乐和法安明治疗是否对 EMC 降解的主要酶系 MMPs/ TIMPs 有影响,目前尚未见报道。MMP-9 又称明胶酶 B,是 IV-Coll 的主要降解酶系, TIMP-1 是体内 MMP-9 较特异的抑制剂,两者的数量及活性变化,均会影响 IV-Coll 在肾小球内的沉积量。IV-Coll 是肾小球基底

膜的主要成分,对维持肾小球滤过屏障的完整性至关重要。正常肾小球脏层上皮细胞可表达微量的 MMP-9,对维持肾小球基底膜正常的新陈代谢具有重要作用⁽⁶⁾。James⁽⁷⁾等认为在被动性 Heymann 肾炎大鼠,MMP-9 表达量的变化与蛋白尿的消长密切正相关,提示 MMP-9 与肾小球基底膜的通透性有关,并认为发病初期增生的肾小球上皮细胞产生 MMP-9,可能会以自分泌的方式导致肾小球脏层上皮细胞损伤,随后出现上皮细胞增生及修复,进一步诱导 MMP-9 产生,并认为 MMP-9 可使 IV-Coll 释放可溶性羟脯氨酸,产生 1/4 3/4 两个片段,并对完整的基底膜有降解作用^(8,9),破坏 IV-Coll 多肽链结构;同时在结构重塑过程中,发生表型改变的肾小球内皮细胞为修复基底膜,合成和分泌新的 ECM 成分补充到肾小球基底膜(GBM)中,不仅破坏了 GBM 的正常结构,而且导致 ECM 的异常沉积。TIMP-1 与细胞外基质降解减少也密切相关。在糖尿病肾病大鼠模型、环孢菌素 A(CsA)肾病大鼠模型⁽¹⁰⁾中,肾小球内 ECM 降解减少和肾脏局灶间质纤维化与 TIMP-1 的表达增加有关,提示 MMP-9/TIMP-1 的失衡可能介导了多种肾小球疾病时肾脏内细胞外基质异常代谢、沉积,导致肾小球结构重塑,蛋白尿的形成等病理生理改变。与上述结果一致,我们用免疫组织化学及 RT-PCR 方法发现肾乐组及法安明组大鼠残肾组织中 MMP-9、IV-Coll 的 mRNA 表达及蛋白质表达水平较 5/6Nx 组均显著下调,5/6Nx 组 MMP-9 除了在肾小球脏层上皮细胞表达外,在壁层上皮细胞、内皮细胞及系膜区均有表达。我们在基因水平研究发现,5/6Nx 组残肾 MMP-9 较假手术组上调了 100%,而 TIMP-1 上调了 237%,表明在肾小球硬化过程中,TIMP-1 的上调可能起了更重要的作用;两治疗组残肾 TIMP-1 mRNA 的表达较 5/6Nx 组也显著下调,且 TIMP-1 下调的程度显著大于 MMP-9 下,从而保护了肾小球基底膜免遭损害及减轻了肾小球结构重塑过程中 ECM 的异常代谢、沉积。这可能是肾乐和法安明减轻

肾小球硬化的另一重要作用机制。

参 考 文 献

1. Yamabe H, Osawa H, Inuma H, et al. Thrombin stimulates production of TGF- β by cultured human mesangial cells. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12(3): 438—442.
2. Raji I, Azar S, Keane W. Mesangial immune injury, hypertension and progression glomerular damage in Dahl rats. *Kidney Int* 1984;26: 137.
3. Galis ZS, Kranzhofer R, Fenton JW, et al. Thrombin promotes activation of matrix metalloproteinase-2 produced by cultured vascular smooth cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(3): 483—489.
4. 陈香美,傅博,叶一舟,等.凝血酶介导肾小球系膜细胞间粘附分子表达上调及水蛭素的阻断作用. *中华肾脏病杂志* 1998;14(4): 211—214.
5. Maraganore JM, Chao B, Joseph ML, et al. Anticoagulant activity of synthetic hirudin fragment. *J Biol Chem* 1989;264: 8692—8698.
6. Deutsch E, Rao AK, Colman RW. Selective thrombin inhibitors: the next generation of anticoagulants. *J Am Coll Cardiol* 1993;22: 1089—1092.
7. McMillan JJ, Riordan JW, Couser WG, et al. Characterization of a glomerular epithelial cell metalloproteinase as matrix metalloproteinase-9 with enhanced expression in a model of membranous nephropathy. *J Clin Invest* 1996;97: 1094—1101.
8. Noda-Hirai H, Fujii S, Sobel BE. Induction of vascular smooth muscle cell expression of plasminogen activator inhibitor-1 by thrombin. *Circ Res* 1993;72: 36—43.
9. Baricos WH, Shah SV. Proteolytic enzymes as mediators of glomerular injury. *Kidney Int* 1991;40: 161.
10. Del Prete D, Anglani F, Forino M, et al. Down-regulation of glomerular matrix metalloproteinase-2 gene in human NIDDM. *Diabetologia* 1997;40(12): 1449—1454.

(收稿:1999-11-01 修回:2000-05-29)

欢迎订阅《中国中西医结合杂志》

中文版《中国中西医结合杂志》1988~1995 年各年合订本每册 50.00 元;1996 年合订本每册 60.00 元;1997、1998 年合订本每册 70.00 元;1999 年合订本每册 80.00 元。1994~1996 年单行本(无 1995 年第 1、2 期)每本 3.90 元;1997 及 1998 年单行本每本 4.90 元;1999 年每本 5.90 元。各年的基础理论特集:1986 年每本 2.90 元;1988 年特 1 集 3.60 元,特 2 集 4.50 元;1989 年每本 4.90 元;1990 年每本 6.50 元;1991 年每本 15.00 元;1993 年每本 18.00 元;1994 年每本 25.00 元;1995 年每本 36.00 元;1996 年每本 38.00 元;1997 年每本 40.00 元;1998 年每本 40.00 元;1999 及 2000 年每本 20.00 元;以上均另加 10% 邮资。2000 年每本 6.90 元(含邮资)。

英文版《中国中西医结合杂志》1995 年创刊(季刊,每季度末出刊),1995~1999 年每本 25.00 元,另加邮资 10%;2000 年每本 25.00 元,含邮资。

欲购者请直接向本社邮购部汇款订购。本社地址:北京西苑操场 1 号,中国中西医结合杂志社邮购部(邮政编码:100091)。请在汇款附言内注明所要年、期及册数,并写清购刊者姓名、详细地址及邮政编码。