

# 加味黄芪赤风汤含药血清对 LPS 诱导的小鼠肾小球系膜细胞 Col IV、MMP-2 及 TIMP-2 表达的影响

刘红霞<sup>1,2</sup> 张 昱<sup>1,2</sup> 李 澎<sup>3</sup> 高艳红<sup>1,4</sup> 李 双<sup>1,4</sup> 于子凯<sup>1,4</sup>

**摘要** **目的** 探讨加味黄芪赤风汤对脂多糖(LPS)诱导的小鼠肾小球系膜细胞(glomerular mesangial cells, GMCs)细胞外基质(extracellular matrix, ECM)IV型胶原蛋白(collagen IV, Col IV)、基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)及基质金属蛋白酶抑制酶2(tissue inhibitor of metalloproteinase-2, TIMP-2)水平的影响。**方法** 采用血清药理学方法制备正常血清及替米沙坦、加味黄芪赤风汤高、中、低剂量含药血清。体外培养 GMCs,以 LPS 作为刺激因子,诱导系膜细胞增殖。将 GMCs 分为正常组、模型组、替米沙坦组及加味黄芪赤风汤高、中、低剂量组(简称中药高、中、低剂量组)。采用 ELISA 法检测各组 GMCs 上清液中 Col IV 含量,Western blot 法检测 GMCs 中 MMP-2 及 TIMP-2 蛋白表达水平。**结果** 与正常组比较,LPS 刺激 72 h 后,模型组 GMCs 上清 Col IV 含量明显增多,系膜细胞 MMP-2 及 TIMP-2 蛋白表达均明显上调,MMP-2/TIMP-2 比例下调(均  $P < 0.01$ );与模型组比较,中药高、中剂量组及替米沙坦组 Col IV 含量明显减少( $P < 0.01$ );中药中、低剂量组 MMP-2 蛋白表达明显下调( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ );替米沙坦组及中药高、中、低剂量组 TIMP-2 蛋白表达均下调( $P < 0.01$ )。中药高剂量组 TIMP-2 蛋白表达水平明显低于中药低剂量组( $P < 0.01$ );替米沙坦组、中药高、中剂量组 MMP-2/TIMP-2 比例明显上调( $P < 0.01$ )。**结论** 加味黄芪赤风汤可调节 LPS 诱导的 GMSc ECM 中 MMP-2/TIMP-2 比例失调,抑制 ECM 中 Col IV 的过度产生,促进 ECM 降解,减少 ECM 积聚,从而延缓肾小球硬化的进程。

**关键词** 加味黄芪赤风汤;肾小球系膜细胞;IV型胶原蛋白;基质金属蛋白酶2;基质金属蛋白酶抑制酶2;肾小球硬化

Effect of Modified Hangqi Chifeng Decoction Containing Serum on the Expression of Col IV, MMP-2, and TIMP-2 in Glomerular Mesangial Cells Induced by LPS LIU Hong-xia<sup>1,2</sup>, ZHANG Yu<sup>1,2</sup>, LI Peng<sup>3</sup>, GAO Yan-hong<sup>1,4</sup>, LI Shuang<sup>1,4</sup>, and YU Zi-kai<sup>1,4</sup> 1 Department of Nephropathy, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100091); 2 Graduate School, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100091); 3 Experimental Research Center, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing (100091); 4 Graduate School, Beijing University of Chinese Medicine (100029)

**ABSTRACT** **Objective** To explore the effect of Modified Hangqi Chifeng Decoction (MHCD) on levels of collagen type IV (ColIV), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) in extracellular matrix (ECM) of glomerular mesangial cells (GMCs) in LPS induced mice. **Methods** Normal serum and telmisartan, high, medium, low dose MHCD containing serums were prepared by using serum pharmacology method. GMCs were cultured *in vitro*. The proliferation of mesangial cells were induced using LPS as stimulating factor. GMCs were divided into six groups, i.e., the normal group, the model group, the telmisartan group, high, medium and low dose MHCD groups. ColIV content in the supernatant of mesangial cells was detected using ELISA. Protein expressions of MMP-2 and TIMP-2 were detected using Western blot. **Results** Compared with the normal group, ColIV content obviously

基金项目:中国中医科学院基本科研业务费自主选题资助项目(No. ZZ0708105)

作者单位:1.中国中医科学院西苑医院肾病科(北京 100091); 2.中国中医科学院研究生院(北京 100091); 3.中国中医科学院西苑医院实验研究中心(北京 100091); 4.北京中医药大学研究生院(北京 100029)

通讯作者:张 昱, Tel: 010-62835369, E-mail: zhangyu8225@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.05.0592

increased in the model group after 72-h LPS stimulation; protein expressions of MMP-2 and TIMP-2 were obviously up-regulated, and MMP-2/TIMP-2 ratio was down-regulated in the model group ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, Col IV content obviously decreased in high and medium dose MHCD groups and the telmisartan group ( $P < 0.01$ ); protein expressions of MMP-2 were obviously down-regulated in medium and low dose MHCD groups ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); the protein expression of TIMP-2 was obviously down-regulated in high, medium, low dose MHCD groups and the telmisartan group ( $P < 0.01$ ). The protein expression of TIMP-2 was obviously lower in the high dose MHCD group than in the low dose MHCD group ( $P < 0.01$ ). MMP-2/TIMP-2 ratio was obviously up-regulated in the telmisartan group, high and medium dose MHCD groups ( $P < 0.01$ ). Conclusion MHCD could regulate disordered MMP-2/TIMP-2 ratio in LPS induced ECM, inhibit excessive production of Col IV in ECM, promote the degradation of ECM, reduce the accumulation of ECM, thereby, delaying the process of glomerular sclerosis.

**KEYWORDS** Modified Hangqi Chifeng Decoction; glomerular mesangial cell; collagen type IV; matrix metalloproteinase-2; tissue inhibitor of metalloproteinase-2; glomerular sclerosis

临床上多种肾脏疾病在系膜细胞损害方面的表现均以系膜细胞增殖,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的过量集聚为主要特征。其中 ECM 的过量积聚、ECM 合成与降解失衡,在肾组织损伤中起着至关重要作用<sup>[1]</sup>。因此抑制 ECM 的过度产生,促进其降解,调节 ECM 的合成与降解平衡,对于减轻肾小球损伤,防止肾脏疾病的进展,延缓肾脏纤维化具有重要意义。近年研究表明,调控 ECM 降解系统的平衡,可减轻肾组织炎症反应及病理程度,从而延缓肾脏纤维化的进程<sup>[2]</sup>。

加味黄芪赤风汤是中国中医科学院西苑医院肾病科张昱教授治疗 IgA 肾病蛋白尿的经验方。临床研究证实,该方对降低慢性肾炎患者蛋白尿有较好效果<sup>[3]</sup>。动物实验及体外实验表明,该方能明显减少阿霉素肾病模型大鼠的蛋白尿,通过提高抗自由基能力,减轻肾脏自由基损伤,还可明显降低模型大鼠血清内皮素-1(endothelin-1, ET-1)、一氧化氮(nitric oxide, NO)及转化生长因子  $\beta_1$ (transforming growth factor  $\beta_1$ , TGF- $\beta_1$ )水平,从而发挥保护肾脏及延缓肾脏纤维化的作用<sup>[4,5]</sup>。此外,加味黄芪赤风汤含药血清可抑制 LPS 诱导的小鼠系膜细胞增殖,下调系膜 ECM 中纤维连接蛋白(fibronectin, FN)、层粘连蛋白(laminin, LN)及 IV 型胶原蛋白(Col IV)的表达,同时可通过降低 B 淋巴细胞瘤 2(B-cell lymphoma-2, Bcl-2)表达,上调 Bax 及 Caspase-3 表达,下调 Bcl-2/Bax 比值,促进系膜细胞凋亡<sup>[6,7]</sup>。本实验采用 ELISA 法观察加味黄芪赤风汤对 ECM 中 Col IV 的影响,并应用 Western blot 法观察加味黄芪赤风汤对脂多糖(LPS)诱导的小鼠肾小球系膜细胞(glomerular mesangial cells, GMCs) ECM 基质金属蛋

白酶 2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)及基质金属蛋白酶抑制酶 2(tissue inhibitor of metalloproteinase-2, TIMP-2)表达的影响,进一步探讨加味黄芪赤风汤对 ECM 降解的作用机理,为临床应用加味黄芪赤风汤提供更多的实验依据。

## 材料与方法

1 实验动物 55 只 7~8 周龄健康雄性 SD 大鼠,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,动物合格证号:SCXK(京)2012-0001, VAF/SPF 级,体重 200~210 g,饲养于中国中医科学院西苑医院 SPF 级动物房,温度 24~28 °C,湿度 75%左右。

2 细胞来源 小鼠 GMCs(SV40 MES 13)来源于中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库,目录号 GNM 21。

3 药物 加味黄芪赤风汤组成:生黄芪 30 g 赤芍 20 g 防风 10 g 穿山龙 20 g 芡实 10 g 金樱子 10 g 白花蛇舌草 10 g。生药饮片由中国中医科学院西苑医院药剂科提供。药物煎煮前以纯水浸泡 30 min,第一煎 30 min,第二煎 20 min,两次煎煮液混合均匀,分别加热浓缩至 0.23、0.46、0.92 g 生药/mL,玻璃瓶装密封备用,4 °C 保存。替米沙坦片(80 mg/片,生产批号:204538,上海勃林格殷格翰药业有限公司)240 mg 片剂研制成粉末,溶于 358 mL 的蒸馏水中,按 0.34 mg 替米沙坦/mL 配制成混悬液,4 °C 保存。灌胃前取出药液,置于常温后使用。

4 试剂及仪器 AF46-I 超净工作台(苏州净化设备有限公司);MC0175 二氧化碳培养箱(SANYO 公司,日本);TH4-200 倒置相差显微镜(Olympus);多功能酶标仪 Multiskan MK3(Thermo,美

国);电子天平 BSA124S-CW (Sartorius 公司,德国);-80 ℃超低温冰箱(Thermo 公司),-20 ℃冰箱(青岛海尔);去离子水仪(PALL, Purelab Plus, 美国);高速离心机、低温离心机 5418R (Eppendorf, 德国);转移脱色摇床 TS-8 (海门其林贝尔仪器制造公司);电泳仪(北京六一仪器厂);制冰机 AF10 (Scotsman, 美国);PVDF 膜(Millipore, 美国);垂直电泳槽 DYCZ-20C (北京六一仪器厂);医用 X 射线胶片(柯达公司, 美国)。优级胎牛血清、DMEM 培养基干粉、胰酶(Gibco 公司);二甲基亚砜(DMSO)、LPS O55B5 (Sigma 公司进口分装)、兔抗小鼠 Col IV、MMP-2 及 TIMP-2 抗体(Abcam 公司);RIPA 裂解液、PMSF(北京艾德生物科技有限公司)。

## 5 方法

**5.1 含药血清制备** 将 55 只 SD 大鼠分为 5 组,每组 11 只,按照血清药理学方法,正常组大鼠予纯净水灌胃;替米沙坦组按照替米沙坦片 80 mg/次,每日 1 次灌胃(相当于临床等效量);加味黄芪赤风汤高、中、低剂量组分别以每次 18.3、9.17、4.56 g 生药/kg 进行灌胃。分别在每日 9:00、17:00 进行,连续灌胃 3 天。在末次灌胃 2 h 后,取 4% 水合氯醛进行腹腔麻醉,腹主动脉取血,置于 37 ℃静置 2 h,待血液充分凝固后,以 3 000 r/min,离心 10 min,分离血清,经 5 ℃水浴,30 min 灭活,用滤孔直径为 0.22 μm 的一次性无菌过滤器过滤除菌,采用 1.5 mL 的冻存管分装血清,置于 -20 ℃冰箱保存备用。使用时将血清从 -20 ℃冰箱移至 4 ℃冰箱使之融化,然后置于室温下,在融化的过程中轻轻摇晃血清使其均匀。

**5.2 细胞培养及传代** 在倒置显微镜下观察 GMCs 贴壁生长,呈长梭形或多角形,未贴壁的细胞呈发亮的球形。根据培养瓶中细胞的生长情况及培养液颜色等,2~3 天换液 1 次。于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。当细胞生长呈 70%~80% 以上融合时,进行传代。

**5.3 细胞分组** 实验分组方法如下:(1) 正常组:10% 对照血清加 DMEM 培养基加 10 μg/mL PBS;(2) 模型组:10% 对照血清加 DMEM 培养基加 10 μg/mL LPS;(3) 替米沙坦组:10% 替米沙坦血清加 DMEM 培养基加 10 μg/mL LPS;(4) 加味黄芪赤风汤低、中高剂量组(简称中药低、中、高剂量组):分别以 10% 低、中、高剂量中药血清加 DMEM 培养基加 10 μg/mL LPS。取前期实验所测 LPS 的最佳刺激浓度 10 μg/mL 用于本次实验<sup>[4]</sup>。

**5.4 GMCs 上清中 Col IV 水平检测** 采用

ELISA 法。取对数生长期 GMCs,以  $5 \times 10^3$ /mL 的密度接种于 48 孔板上,每孔 500 μL。待细胞完全贴壁后,弃去完全培养液,采用温 PBS 冲洗 1 次,换无血清 DMEM 培养液,置于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱孵育 24 h,使细胞同步化。按照实验分组分别配制相应组的血清,逐一弃去培养板上清液,按实验分组,每组设 6 个复孔,每孔加入 500 μL 对应的配制液。将加好液的培养板继续孵育 72 h,取 1.5 mL 的冻存管,标记编号,收集细胞上清液至对应的冻存管内,以 2 000 r/min,离心 15 min。采用 ELISA 法严格按照试剂盒操作步骤检测 Col IV 含量。以空白孔调零,在 450 nm 波长依序测量各孔的吸光度(A)值。

## 5.5 GMCs MMP-2 及 TIMP-2 蛋白表达检测

采用 Western blot 法检测。取对数生长期 GMCs 以  $5 \times 10^3$ /mL 的密度接种于 6 孔板上,每孔 3 000 μL。待细胞完全贴壁后,弃去完全培养液,用温 PBS 冲洗 1 次,换无血清 DMEM 培养液,置于 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱孵育 24 h,使细胞同步化。按照实验分组分别配制相应组的血清,逐一弃去培养板上清液,按实验分组,每组设 6 个复孔,每孔加入 3 000 μL 对应的配制液。LPS 最佳刺激浓度同前。将培养板放入培养箱中继续孵育 72 h 后,终止细胞培养。将 PBS 放入 37 ℃的水浴锅中预热 5 min,弃去培养板中培养液,用温 PBS 冲洗 1 遍,将培养板内残留的 PBS 用滤纸吸干;每孔加入 100 μL RIPA 裂解液,将 6 孔板放置于冰上裂解 40 min,取 1 mL EP 管,将裂解好的细胞吸入到标记好的 EP 管中,再用 50 μL 的裂解液将培养板冲 2 次,加入到相应的 EP 管中。将 EP 管置于 4 ℃离心机中,以 12 000 r/min 离心 5 min,然后取上清分装于新的 EP 管内,置于 -80 ℃冰箱。严格按照 Western blot 操作步骤进行。先用考马斯亮蓝法测定各个细胞样本的蛋白含量,再进行分离、凝固、加样、蛋白电泳转移、一抗及二抗反应、透膜、曝光、洗片。用 Image J 软件分析灰度值。

**6 统计学方法** 采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示;组间比较采用单因素方差分析,两组间两两比较采用 Student-Newman-Keuls 法,方差不齐者采用 Kruskal-Wallis 非参数检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

**1 各组 GMCs 上清液中 Col IV 水平比较(表 1)**  
经 LPS 刺激 72 h 后,与正常组比较,模型组 GMCs 上清液 Col IV 含量明显增多( $P < 0.01$ );与模型组比

较,替米沙坦及中药高、中剂量组 Col IV 含量明显减少 ( $P < 0.01$ )。中药高、中剂量组 Col IV 含量较低剂量组明显减少 ( $P < 0.05$ )。

表 1 各组 GMCs 上清液中 Col IV 水平比较 ( $\mu\text{g/L}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	Col IV
正常	6	50.86 ± 1.88
模型	6	64.43 ± 1.57*
替米沙坦	6	54.80 ± 1.40 <sup>△</sup>
中药高剂量	6	56.69 ± 2.01 <sup>△▲</sup>
中剂量	6	58.25 ± 2.33 <sup>△▲</sup>
低剂量	6	62.73 ± 1.32

注:与正常组比较,\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P < 0.01$ ;与中药低剂量组比较,<sup>▲</sup> $P < 0.05$

2 各组 GMCs 上清 MMP-2 及 TIMP-2 蛋白表达水平比较(表 2,图 1、2) 经 LPS 刺激 72 h,与正常组比较,模型组 GMCs MMP-2 及 TIMP-2 蛋白表达明显上调,MMP-2/TIMP-2 比例下调( $P < 0.01$ );与模型组比较,中药中、低剂量组 MMP-2 表达明显下降 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );替米沙坦组、中药高、中、低剂

量组 TIMP-2 蛋白表达均下调 ( $P < 0.01$ );中药高剂量组 TIMP-2 蛋白表达明显低于中药低剂量组 ( $P < 0.01$ );中药高、中剂量组、替米沙坦组 MMP-2/TIMP-2 比例上调 ( $P < 0.01$ ),且明显高于中药低剂量组 ( $P < 0.01$ )。

### 讨 论

ECM 的过度集聚是公认的造成肾小球硬化、肾脏纤维化的关键原因之一。MMPs/TIMPs 是外基质降解发挥主要作用的降解系统之一<sup>[8]</sup>。体外实验研究证明,作为肾小球固有细胞中主要成员的系膜细胞和上皮细胞,两者均能合成分泌 MMPs 和 TIMPs, MMP-2 主要受 TIMP-2 抑制<sup>[9]</sup>。在生理状态下,MMPs/TIMPs 比例维持在稳定的水平,在 ECM 微环境的动态平衡中起关键作用。在病理状态下,出现 TIMPs 增多,抑制 MMPs,与底物结合的 MMPs 减少,MMPs/TIMPs 的平衡被打破,ECM 中的底物不能与 MMPs 充分接触,导致 ECM 的沉积,这种长时间的不平衡,形成肾小球硬化或肾脏纤维化。TIMP-2 在保持肾脏 ECM 的聚积与降解平衡的过程中起关键作用<sup>[10]</sup>。

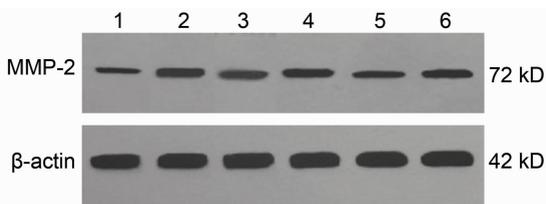
王丽敏等<sup>[11]</sup>应用补肾活血方剂作用于高糖培养的 GMCs,结果发现补肾活血方剂可以上调 MMP-2 表达促进其活性的部分恢复,同时下调 TIMP-2 表达,抑制 GMCs 增殖,促进肾小球 ECM 降解,减少 ECM 积聚,从而延缓肾小球硬化的进展。陈佳兮等<sup>[12]</sup>研究表明,不同程度的系膜增生性肾炎,不同系膜增生程度患者的 MMP-2, MMP-3、TIMP-1, TIMP-2 表达有差异, MMP-2 表达与系膜增生程度呈正相关,表明 MMPs、TIMPs 与肾炎发病机制密切相关。研究证明,在系膜增生性肾小球肾炎中,MMP-2/TIMP-2 比例失调是导致肾小球系膜基质堆积、肾炎进展的重要原因<sup>[2]</sup>。在肾小球硬化过程中,MMP-2 表达降低,TIMP-2 高表达,促使基质合成增加,同样可造成肾小球系膜基质堆积。表明 MMPs/TIMPs 与肾病发生发展密切相关,不应将两者独立分开,MMPs 与 TIMPs 两者密不可分。

本研究结果发现,以 LPS 炎性刺激系膜细胞,ECM 中 Col IV 增多, MMP-2 蛋白表达增高,同时 TIMP-2 表达更高,致 MMP-2/TIMP-2 比值下降。替米沙坦组与加味黄芪赤风汤含药血清均能调节 LPS 诱导的 MMP-2/TIMP-2 比例失衡,且替米沙坦组、中药高、中剂量组调节 MMP-2/TIMP-2 比例均衡作用均优于中药低剂量组。由此推测加味黄芪赤风汤可能通过调节 MMP-2/TIMP-2 比值平衡,促进 ECM 的合成与降解平衡,从而起到防治肾小球硬化的作用。

表 2 各组 GMCs 上清 MMP-2、TIMP-2 蛋白含量及 MMP-2/TIMP-2 比例比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	MMP-2	TIMP-2	MMP-2/TIMP-2
正常	6	0.642 ± 0.050	0.653 ± 0.059	0.987 ± 0.038
模型	6	0.984 ± 0.047*	1.254 ± 0.063*	0.726 ± 0.039*
替米沙坦	6	1.028 ± 0.045	0.967 ± 0.035 <sup>△△</sup>	1.050 ± 0.034 <sup>△△▲</sup>
中药高剂量	6	0.962 ± 0.032	0.781 ± 0.062 <sup>△△▲</sup>	1.124 ± 0.047 <sup>△△▲</sup>
中剂量	6	0.793 ± 0.040 <sup>△△</sup>	0.842 ± 0.039 <sup>△△</sup>	0.976 ± 0.053 <sup>△△▲</sup>
低剂量	6	0.826 ± 0.032 <sup>△</sup>	0.949 ± 0.017 <sup>△△</sup>	0.814 ± 0.055

注:与正常组比较,\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>△</sup> $P < 0.05$ ,<sup>△△</sup> $P < 0.01$ ;与中药低剂量组比较,<sup>▲</sup> $P < 0.01$



注:1 为正常组;2 为模型组;3 为替米沙坦组;4 为中药高剂量组;5 为中药中剂量组;6 为中药低剂量组;图 2 同

图 1 各组 GMCs 上清 MMP-2 蛋白表达电泳图

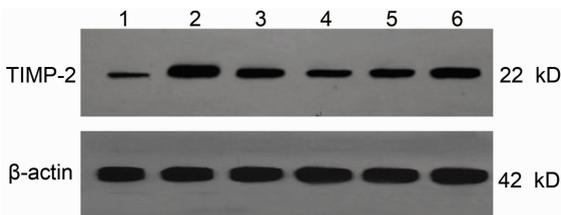


图 2 各组 GMCs 上清 TIMP-2 蛋白表达电泳图

加味黄芪赤风汤结合慢性肾脏病“虚、风、瘀、毒”的特点组方,建立在调和阴阳的基础之上,该方重用生黄芪以健脾益气,芡实健脾补肾涩精,穿山龙、防风剔除肾络风邪;赤芍、地龙活血化瘀,白花蛇舌草清热利湿解毒。诸药配伍,共奏健脾补肾、活血化瘀、祛风解毒之功。本研究结果表明,加味黄芪赤风汤含药血清能明显减少 ECM 中 Col IV 蛋白表达,上调 MMP-2/TIMP-2 比值,调控 MMPs/TIMPs 比例失衡,从而调节 ECM 降解失调,同时 Col IV 蛋白的减少可能与 MMPs/TIMPs 的调节有关。

### 参 考 文 献

- [1] Merkle M, Ribeiro A, Koppel S, et al. TNF- $\alpha$  enhances TLR3-dependent effects on MMP-9 expression in human mesangial cells [J]. Cell Biol Int, 2012, 36(12): 1155 - 1160.
- [2] 胡营杰,任现志. 系膜增生性肾小球肾炎与 MMP-2、TIMP-2 的关系及中医药研究进展 [J]. 浙江中医药大学学报, 2014, 38(11): 1342 - 1345.
- [3] 张昱. 加味黄芪赤风汤治疗慢性肾炎蛋白尿 50 例临床观察 [J]. 中国医药导报, 2007, 4(36): 137 - 138.
- [4] 王允亮,张昱,王洪霞,等. 加味黄芪赤风汤对阿霉素肾病大鼠蛋白尿及血清 NO、ET-1 和 TGF- $\beta$ 1 的影响 [J]. 世界中西医结合杂志, 2010, 5(10): 852 - 854.
- [5] 王允亮,张昱,王洪霞,等. 加味黄芪赤风汤对阿霉素肾病大鼠蛋白尿及肾脏皮质 SOD 和 MDA 的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2011, 17(5): 505 - 506, 524.
- [6] 焦志娜. 加味黄芪赤风汤治疗 IgA 肾病蛋白尿及抗肾脏纤维化的临床与实验研究 [D]. 北京:中国中医科学院, 2013.
- [7] 王阅军. 加味黄芪赤风汤对炎症增生中的小鼠系膜细胞凋亡的影响 [D]. 北京:中国中医科学院, 2014.
- [8] 梁文娜,郑京. 细胞外基质微环境变化及其与肾纤维化关系的研究现状 [J]. 实用医药杂志, 2005, 22(12): 1138 - 1139.
- [9] Hoashi T, Kadono T, Kikuchi K, et al. Differential growth regulation in human melanoma cell lines by TIMP-1 and TIMP-2 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 288(2): 371.
- [10] 刘志敏,周总光. 基质金属蛋白酶的结构、功能及调节 [J]. 生物医学工程杂志, 2002, 19(4): 680 - 683.
- [11] 王丽敏,张勉之,张艳秋. 补肾活血法对肾小球系膜细胞 MMP-2 及 TIMP-2 表达的影响 [J]. 广东医学, 2010, 31(9): 1092 - 1094.
- [12] 陈佳兮,周君富,沈又超. 慢性肾小球肾炎疾病患者肾组织基质金属蛋白酶 2、3 及其抑制 1、2 的表达 [J]. 中华内科杂志, 2003, 42(10): 729 - 730.

(收稿: 2015 - 08 - 15 修回: 2015 - 12 - 22)

## 全国中西医结合妇产科研究进展学术研讨会征文通知

第八届全国中西医结合妇产科学第五次学术会议(中西医结合妇产科研究进展学术研讨会暨中西医结合妇产科研究进展学习班)将于 2016 年 9 月 22—25 日在上海市举行。现将征文事项通知如下。

**征文主题** 中西医结合妇产科领域研究进展等。

**征文要求** 未公开发表的论文,以论文摘要形式投稿,摘要应包括题目、作者、单位及地址、邮编、目的、方法、结果及结论,字数 800 ~ 1 200,不含图标。会议采用网上投稿,投稿邮箱: xqiu10@fudan.edu.cn,请注明会议投稿。大会收到投稿后,将回复邮件确认。所有投稿请自留副本,投稿无论是否采用,一律恕不退稿。

**截稿日期** 2016 年 7 月 31 日。会议录用的稿件将由中国中西医结合学会妇产科专业委员会寄送正式通知。为方便反馈信息,请在稿件最后写明联系地址、电子信箱和联系电话。

**联系人** 王凌, Tel: 18221815182, E-mail: Dr.wangling@vip.163.com; 邱学敏, Tel: 15021198902, E-mail: xqiu10@fudan.edu.cn。