

# 虎杖苷对肾纤维化模型大鼠肾组织中MMP-9和TIMP-1蛋白表达的影响

王松\*,赵晓玉,梁艳,张英杰,齐跃东\*(郑州大学第一附属医院药学部,郑州 450052)

中图分类号 R285.6 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)07-0936-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.07.18

**摘要** 目的:考察虎杖苷对肾纤维化模型大鼠肾组织中基质金属蛋白酶9(MMP-9)和基质金属蛋白酶组织抑制物1(TIMP-1)蛋白表达的影响,探讨其延缓大鼠肾纤维化的作用机制。方法:将40只大鼠随机分为假手术组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、虎杖苷组(100 mg/kg)和贝那普利组(阳性对照,5 mg/kg)。除假手术组外,其余各组大鼠均采用单侧输尿管梗阻法制备肾纤维化大鼠模型。术后1 h,各组大鼠灌胃相应药物,每天给药1次。连续给药4周后,检测各组大鼠尿液中 $\beta_2$ 微球蛋白( $\beta_2$ -MG)、N-乙酰- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷酶(NAG)含量和血清中尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)含量;苏木素-伊红染色观察大鼠肾组织病理改变,并进行评分;免疫组织化学法检测大鼠肾组织中MMP-9和TIMP-1蛋白表达。结果:与假手术组比较,模型组大鼠尿液中 $\beta_2$ -MG、NAG含量和血清中BUN、Cr含量均显著升高( $P < 0.05$ ),并且大鼠肾组织的病理评分和组织中MMP-9、TIMP-1蛋白的表达水平也显著升高( $P < 0.01$ )。与模型组比较,虎杖苷组和贝那普利组大鼠肾组织中MMP-9蛋白表达水平持续增高( $P < 0.01$ ),其余各指标水平均显著降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ );且虎杖苷组与贝那普利组比较大鼠各指标水平差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论:虎杖苷延缓大鼠肾纤维化进程的机制可能与上调大鼠肾组织中MMP-9蛋白表达和下调TIMP-1蛋白表达,升高MMP-9/TIMP-1的比值有关。  
**关键词** 虎杖苷;肾纤维化;单侧输尿管梗阻;基质金属蛋白酶9;基质金属蛋白酶组织抑制物1

近年来,多项研究对夜寒苏挥发油进行了成分鉴定及分析<sup>[9-15]</sup>。从报道中可以看出存在两种不同结果:一种李翔等<sup>[13]</sup>将 $\beta$ -石竹烯定为黄姜花根茎的指标成分;另一种是本课题组及其他学者认为夜寒苏挥发油主要成分为芳樟醇、 $\alpha$ -蒎烯、1,8-桉油精、4-松油酸、 $\beta$ -蒎烯、 $\alpha$ -松油醇等。导致这种现象的原因有以下几种:(1)实验室所采集的样品是否是同一种植物及同名异物药材。(2)该药材目前尚无不同季节采收时化学成分存在差异的相关报道。(3)是否在试验中有别的成分引入导致这因素。目前尚无法得出确定的结论。

综上所述,本研究建立了同时测定夜寒苏药材挥发油中 $\alpha$ -蒎烯、 $\beta$ -蒎烯及芳樟醇3种成分含量的气相色谱法。该方法简单、重复性良好,可用于夜寒苏药材质量标准研究。

## 参考文献

- [1] 中国科学院昆明植物研究所.云南植物志[M].北京:教育科学出版社,1997:11.
- [2] 胡秀,刘念.中国姜花属 Hedychium 野生花卉资源特点[J].广东园林,2009,31(4):7-11.
- [3] 张彪,周汉华.黔产姜花属植物的研究进展[J].贵州科学,2017,35(4):21-26.
- [4] 贵州植物志编委会.贵州植物志:第四卷[M].成都:四川民族出版社,1989:686-687.

\* 主管药师,硕士。研究方向:药品调剂、临床药学。电话:0371-66295016。E-mail:470373072@qq.com

# 通信作者:主任药师。研究方向:临床药学、麻醉药品。电话:0371-66862639。E-mail:53212711@qq.com

- [5] 贵州省中医研究所.贵州草药:第二集[M].贵阳:贵州人民出版社,1970:671.
- [6] 杨秀泽,周汉华,童红.夜寒苏(圆瓣姜花)的鉴定及挥发油成分GC-MS分析[J].中国药房,2011,22(7):642-643.
- [7] 周汉华,赵曦,梁晓乐.夜寒苏的鉴定及挥发油成分GC-MS分析[J].中药材,2008,31(7):977-979.
- [8] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:203.
- [9] 高杰杰,郝小江,何红平,等.圆瓣姜花的化学成分研究[J].云南中医学院学报,2013,36(3):28-30.
- [10] 赵超,龚小见,陈华国,等.黔产夜寒苏挥发性化学成分固相微萃取/气相色谱/质谱分析[J].中华中医药杂志,2010,25(7):1090-1092.
- [11] 芦燕玲,高则睿,徐世涛,等. GC-MS法分析姜花属四种植物的挥发性成分[J].化学研究与应用,2013,25(2):210-215.
- [12] 周露,练强,谢文申.黄姜花根茎的挥发性成分研究[J].香料香精化妆品,2017,46(4):11-13.
- [13] 李翔,钟方友,孟凡冰,等.响应面法超声辅助提取黄姜花挥发油及其化学成分分析[J].成都大学学报(自然科学版),2017,36(4):346-350.
- [14] 张彪,周汉华,殷少文,等.气相色谱法测定黔产夜寒苏挥发油及其桉油精含量[J].亚太传统医药,2017,13(9):28-31.
- [15] 周曦曦,王进喜,杨坤,等.苗药夜寒苏根茎化学成分定性研究[J].中国民族医药杂志,2017,23(6):35-36.

(收稿日期:2018-01-03 修回日期:2018-02-25)

(编辑:余庆华)

# Effects of Polydatin on Protein Expression of MMP-9 and TIMP-1 in Renal Tissue of Renal Fibrosis Model Rats

WANG Song, ZHAO Xiaoyu, LIANG Yan, ZHANG Yingjie, QI Yuedong (Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To investigate the effects of polydatin on protein expression of MMP-9 and TIMP-1 in renal tissue of renal fibrosis model rats, and to investigate the mechanism of delaying renal fibrosis in rats. **METHODS:** A total of 40 rats were randomly divided into sham operation group (normal saline), model group (normal saline), polydatin group (100 mg/kg) and benazepril group (positive control, 5 mg/kg). Except for sham operation group, renal fibrosis rat model was induced by unilateral ureteral obstruction in other groups. 1 h after surgery, each group was given relevant medicine intragastrically, once a day. After 4 weeks of consecutive treatment, the contents of  $\beta_2$ -microglobulin ( $\beta_2$ -MG) and *N*-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG) in urine, serum contents of BUN and Cr were detected in each group. HE staining was used to observe and score pathological changes of renal tissue in rats. Protein expressions of MMP-9 and TIMP-1 in renal tissue of rats were determined by immunohistochemistry. **RESULTS:** Compared with sham operation group, the contents of  $\beta_2$ -MG and NAG in urine, serum contents of BUN and Cr were increased significantly in model group ( $P < 0.05$ ), and pathological score and protein expressions of MMP-9 and TIMP-1 were also increased significantly ( $P < 0.01$ ). Compared with model group, protein expression of MMP-9 in renal tissue were increased continuously in polydatin group and benazepril group ( $P < 0.01$ ); other indexes were decreased significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), and there was no statistical significance in each index between polydatin group and benazepril group ( $P > 0.05$ ). **CONCLUSIONS:** Polydatin can delay renal fibrosis, the mechanism of which may be associated with up-regulating protein expression of MMP-9, down-regulating protein expression of TIMP-1 and increasing the ratio of MMP-9/TIMP-1.

**KEYWORDS** Polydatin; Renal fibrosis; Unilateral ureteral obstruction; MMP-9; TIMP-1

肾纤维化是指细胞外基质在肾小管间质中的异常沉积,是所有慢性肾病发展到终末期肾功能衰竭的共同途径以及终末期肾病的共同病理特点<sup>[1-2]</sup>。其病变过程非常复杂,多种细胞、细胞因子、血管活性物质和细胞外基质等诸多因素相互作用,使细胞外基质产生增多或降解减少,最终导致代谢失衡<sup>[3]</sup>。虎杖苷是从蓼科植物虎杖的干燥根茎中提取的一种单体化合物,又称白藜芦醇苷,具有抗炎、调节免疫、改善糖脂代谢、保护脏器以及治疗心血管疾病等作用<sup>[4]</sup>。有研究显示,虎杖苷对缺氧复氧肾小管上皮细胞损伤具有保护作用<sup>[5]</sup>,且能够通过抑制氧化应激对糖尿病肾病造成的肾小管损伤产生保护作用<sup>[6]</sup>。这些研究结果提示虎杖苷对肾疾病具有很好的保护作用。笔者前期研究也显示,虎杖苷可延缓肾纤维化模型大鼠肾间质纤维化的发生发展<sup>[7]</sup>。然而,其作用机制不完全清楚。基质金属蛋白酶9(MMP-9)和基质金属蛋白酶组织抑制物1(TIMP-1)是调节细胞外基质代谢的重要酶系<sup>[8]</sup>,二者功能紊乱或调节异常参与了肾间质纤维化的病变过程。本研究拟通过观察虎杖苷对肾纤维化模型大鼠肾组织中MMP-9和TIMP-1蛋白的表达,进一步探讨虎杖苷延缓大鼠肾纤维化的作用。

## 1 材料

### 1.1 仪器

7600型全自动生化分析仪(日本日立公司);168-1000xc型酶标仪(美国Bio-Rad公司);BX50型光学显微镜(日本Olympus株式会社);Lecia型显微照像系统(德国Leica公司)。

### 1.2 药品与试剂

虎杖苷对照品(南京青泽医药科技开发有限公司,批号:20141106,纯度 $\geq 98\%$ );盐酸贝那普利片(北京诺华制药有限公司,批号:X2608,规格:10 mg/片);尿素氮(BUN)和肌酐(Cr)测定试剂盒(罗氏诊断有限公司,批号:29646301、28332601);大鼠 $\beta_2$ 微球蛋白( $\beta_2$ -MG)、*N*-乙酰- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷酶(NAG)酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(武汉华美生物工程有限公司,批号:I21137666、J03137667);所有抗体均购自北京博奥森生物技术有限公司;其余试剂均为分析纯。

### 1.3 动物

健康SD大鼠40只,♂,清洁级,鼠龄6周,体质量(200 $\pm$ 20)g,由河南省实验动物中心提供[动物生产合格证号:SCXK(豫)2011-0001]。

## 2 方法

### 2.1 分组与造模

将40只大鼠随机分为4组,即假手术组、模型组、虎杖苷组和贝那普利组,每组10只。模型组、虎杖苷组和贝那普利组大鼠采用单侧输尿管梗阻(UUO)法<sup>[9]</sup>复制肾纤维化模型,即用10%水合氯醛(4 mL/kg)腹腔注射麻醉后,将大鼠右侧卧位固定于手术台上,常规备皮消毒,然后于左侧中腹切开皮肤,逐层分离皮肤、肌肉及腹壁各层,暴露并游离左侧输尿管,在输尿管上1/3处和中1/3处分别用丝线结扎输尿管,再在两结扎点之间剪断输尿管,最后逐层缝合。假手术组大鼠仅打开腹腔和游离左侧输尿管,不结扎、不切断。

## 2.2 给药

手术完成后1 h开始给药,虎杖苷组大鼠灌胃虎杖苷100 mg/kg(预实验结果显示,100 mg/kg为改善肾纤维模型大鼠肾功能的最佳剂量),贝那普利组大鼠灌胃给予5 mg/kg贝那普利(生理盐水溶解,根据成人临床用量换算而得),模型组和假手术组大鼠灌胃等体积的生理盐水。每天给药1次,连续给药4周。

## 2.3 标本采集及处理

末次灌胃后将大鼠置于洁净代谢笼内,收集24 h尿液。24 h后将所有大鼠麻醉,眼眶后静脉丛取血2 mL,以离心半径15 cm、3 000 r/min离心15 min,取上清液。处死大鼠后取出输尿管结扎侧的肾组织,4%多聚甲醛固定,常规石蜡包埋,4℃冰箱中保存,备用。

## 2.4 尿液中 $\beta_2$ -MG和NAG含量测定

采用双抗夹心ELISA法,按照试剂盒说明书操作测定各组大鼠尿液中 $\beta_2$ -MG和NAG的含量。

## 2.5 血清中BUN和Cr含量检测

采用全自动生化分析仪测定各组大鼠血清中BUN和Cr含量。

## 2.6 肾组织病理评分

将蜡块制成4  $\mu$ m厚的切片,行苏木精-伊红(HE)染色,然后于光学显微镜下观察其病理变化,并按照Banff分级进行评分<sup>[10]</sup>:0分表示肾组织无肾小管扩张、萎缩、坏死等病理变化;1分表示轻度损伤,即肾小管间质病变范围<25%;2分表示中度损伤,即肾小管间质病变范围为26%~50%;3分表示严重损伤,即肾小管间质病变范围>50%。每只大鼠取3张切片,每张切片随机选取5个高倍视野( $\times 400$ )。

## 2.7 肾组织中MMP-9和TIMP-1蛋白表达测定

取石蜡切片,采用生物素蛋白-过氧化物酶(SP)免疫组织化学法进行测定。切片常规脱蜡水化,用磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗3遍,柠檬酸抗原修复10 min,自然冷却,PBS漂洗3遍,用含3%  $H_2O_2$ 的去离子水室温孵育20 min,PBS漂洗3遍,滴加封闭用正常山羊血清工作液,37℃孵育20 min,弃去多余液体;然后滴加MMP-9、TIMP-1一抗(1:150),4℃过夜,PBS漂洗3遍;然后滴加山羊抗兔二抗工作液,37℃孵育30 min,PBS漂洗3遍;滴加辣根酶标记链酶卵白素工作液,37℃孵育30 min,PBS漂洗3遍;3,3'-二氨基联苯胺四盐酸盐(DAB)显色,显微镜下控制显色时间(2~3 min),苏木素复染5 min,盐酸乙醇分化,自来水充分冲洗,脱水、透明、封片、镜检。以胞浆呈棕黄色为阳性表达,用Biosens Digital Imaging System v1.6图像分析软件测定每个高倍视野( $\times 400$ )下阳性染色细胞的平均积分光密度值。

## 2.8 统计学分析

采用SPSS 17.0软件进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表

示,多组间比较采用单因素方差分析,若方差齐时组间两两比较采用LSD-*t*检验;方差不齐时采用Dunnett's *T3*检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 尿液中 $\beta_2$ -MG和NAG含量测定结果

与假手术组比较,模型组大鼠尿液中 $\beta_2$ -MG和NAG含量显著升高( $P < 0.01$ )。与模型组比较,虎杖苷组和贝那普利组大鼠尿液中 $\beta_2$ -MG和NAG含量均显著降低( $P < 0.05$ ),且虎杖苷组与贝那普利组大鼠尿液中 $\beta_2$ -MG和NAG含量差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),结果见表1。

表1 各组大鼠尿液中 $\beta_2$ -MG和NAG含量测定结果( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Tab 1 Content determination of  $\beta_2$ -MG and NAG in urine of rats in each group( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	$\beta_2$ -MG, $\mu$ g/mL	NAG, mU/mL
假手术组	0.179 $\pm$ 0.016	7.02 $\pm$ 1.56
模型组	0.254 $\pm$ 0.028**	30.56 $\pm$ 6.41**
虎杖苷组	0.219 $\pm$ 0.022##	25.52 $\pm$ 4.71#
贝那普利组	0.205 $\pm$ 0.016##	24.09 $\pm$ 3.27##

注:与假手术组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$

Note: vs. sham operation group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$

### 3.2 血清中BUN和Cr含量测定结果

与假手术组比较,模型组大鼠血清中BUN和Cr含量显著升高( $P < 0.01$ );与模型组比较,虎杖苷组和贝那普利组大鼠血清中BUN和Cr含量均显著降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ),且虎杖苷组与贝那普利组大鼠血清中BUN和Cr含量差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),结果见表2。

表2 各组大鼠血清中BUN和Cr含量测定结果( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Tab 2 Content determination of BUN and Cr in serum of rats in each group( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	BUN, mmol/L	Cr, $\mu$ mol/L
假手术组	7.17 $\pm$ 2.21	30.98 $\pm$ 4.18
模型组	20.09 $\pm$ 4.07**	47.40 $\pm$ 3.75**
虎杖苷组	16.60 $\pm$ 2.23#	39.67 $\pm$ 4.01##
贝那普利组	14.72 $\pm$ 2.52##	39.81 $\pm$ 2.51##

注:与假手术组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$

Note: vs. sham operation group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$

### 3.3 肾组织病理评分结果

与假手术组比较,模型组大鼠肾组织病理评分显著升高( $P < 0.01$ )。与模型组比较,虎杖苷组和贝那普利组大鼠肾组织病理评分显著降低( $P < 0.01$ ),且虎杖苷组和贝那普利组大鼠肾组织病理评分差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。假手术组、模型组、虎杖苷组和贝那普利组大鼠肾组织病理评分依次为 $0.07 \pm 0.15$ 、 $1.99 \pm 0.44$ 、



1.31 ± 0.41、1.25 ± 0.31 (n = 10)。

### 3.4 肾组织中MMP-9和TIMP-1蛋白表达测定结果

与假手术组比较,模型组大鼠肾组织中MMP-9和TIMP-1蛋白表达水平显著升高(P < 0.01)。与模型组比较,虎杖苷组和贝那普利组大鼠肾组织中MMP-9蛋白表达水平持续升高(P < 0.01),而TIMP-1蛋白表达水平则显著降低(P < 0.05);但虎杖苷组与贝那普利组大鼠肾组织中MMP-9和TIMP-1蛋白表达水平差异无统计学意义(P > 0.05),免疫组化图见图1,测定结果见表3。

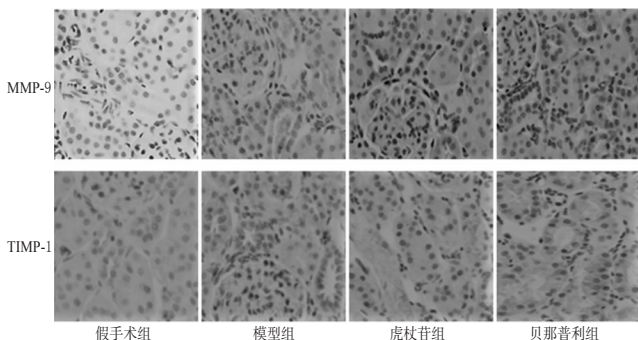


图1 各组大鼠肾组织中MMP-9和TIMP-1蛋白表达的免疫组化图(x400)

Fig 1 Immunohistochemical pictures of MMP-9 and TIMP-1 protein in renal tissues of rats in each group(x400)

表3 各组大鼠肾组织中MMP-9和TIMP-1蛋白表达水平测定结果(x̄ ± s, n = 10)

Tab 3 Protein expressions of MMP-9 and TIMP-1 in renal tissue of rats in each group(x̄ ± s, n = 10)

组别	积分光密度	
	MMP-9	TIMP-1
假手术组	37.49 ± 2.77	39.70 ± 3.29
模型组	64.59 ± 10.60**	53.72 ± 6.13**
虎杖苷组	80.36 ± 13.64##	45.88 ± 6.44#
贝那普利组	81.19 ± 12.70##	45.24 ± 5.65#

注:与假手术组比较,\*\*P < 0.01;与模型组比较,\*P < 0.05,##P < 0.01

Note: vs. sham operation group, \*\*P < 0.01; vs. model group, \*P < 0.05, ##P < 0.01

## 4 讨论

UUO动物模型通过结扎单侧输尿管,阻塞肾脏引流系统,从而引起肾功能急性改变以及肾结构慢性损伤,其结果与梗阻性肾病患者的观察结果相似<sup>[11]</sup>,是一种研究肾纤维化发病机制、肾细胞转分化和评价肾纤维化治疗方法的理想模型。在本研究中,HE染色后可见模型组大鼠肾间质区域有大量胶原纤维沉积,肾间质纤维化明显,肾组织病理评分显著高于正常组,这个结果与大鼠血清中BUN和Cr含量显著升高相对应,提示造模成功。给予虎杖苷后,大鼠肾间质纤维化程度减轻,病理评分和血清中BUN、Cr含量较模型组大鼠均显著降低,

且与贝那普利组大鼠比较差异无统计学意义。贝那普利是经典的血管紧张素转化酶抑制剂,其可延缓人及动物模型的肾小球硬化和小管间质纤维化进展的作用已得到广泛公认<sup>[12]</sup>,故在本研究中以其为阳性对照药。

$\beta_2$ -MG作为一种小分子球蛋白,在正常人体内的生成和释放速度十分恒定,并且能自由通过肾小球滤过膜,原尿中99.9%的 $\beta_2$ -MG被近曲小管重吸收和降解,因此正常人体尿液中 $\beta_2$ -MG含量极低<sup>[13]</sup>。一旦肾小管功能受到轻微损伤,对 $\beta_2$ -MG的重吸收功能下降,便可引起尿液中 $\beta_2$ -MG含量的增高。尿液中 $\beta_2$ -MG已被视为肾小管经典标记蛋白,与肾小管功能紧密相连<sup>[14]</sup>。NAG是位于溶酶体中的一种酸性水解酶,肾组织是合成和储存NAG的主要器官,尤其以肾组织的近曲小管内含量最多,由于血浆中的NAG不能被肾小球滤过,NAG都是从尿中直接排出。正常尿液中NAG的含量保持恒定,但当缺血、缺氧、中毒等多种因素引起近曲小管功能被破坏时,尿液中NAG含量将显著升高,这预示着近曲小管上皮细胞受损,溶酶体破裂释放了NAG。因此,尿液中NAG含量是监测早期肾损伤与病程观察的敏感且特异的指标<sup>[15]</sup>。在本研究中,模型组大鼠尿液中 $\beta_2$ -MG和NAG含量较假手术组均显著升高,而虎杖苷组大鼠尿液中 $\beta_2$ -MG和NAG含量较模型组显著降低,且与贝那普利组大鼠比较差异无统计学意义。

MMPs是一类高度保守的依赖于锌离子和钙离子的内切蛋白水解酶家族,能降解纤维连接蛋白、粘连蛋白和IV型胶原蛋白等构成细胞外基质的多种成分<sup>[16]</sup>。MMP-9又称明胶酶,是调节细胞外基质动态平衡的重要酶类,主要在肾小球、近曲小管、髓祥、集合管表达<sup>[16]</sup>,主要降解明胶、IV和V型胶原及层粘连蛋白等,是细胞外基质蛋白降解酶之一,能够降解完整的基底膜<sup>[17]</sup>。TIMPs是MMPs的特异性抑制剂,在肾间质纤维化过程中,细胞外基质的过度累及与MMPs/TIMPs的比例失衡有关<sup>[18]</sup>。在肾间质纤维化过程中,TIMP-1过度表达,通过抑制MMP-9活性使MMP-9失去降解细胞外基质的能力,造成细胞外基质过度堆积,最终因MMP-9/TIMP-1比例失衡而导致肾纤维化<sup>[18]</sup>。本研究结果显示,模型组大鼠肾组织中MMP-9蛋白表达水平升高;经虎杖苷治疗后大鼠肾组织中MMP-9蛋白表达水平没有出现下降趋势,而是维持在较高水平,但是TIMP-1蛋白的表达水平较模型组显著降低。相关研究认为,MMPs具有双重作用,既可以作为抗纤维化的酶又是前炎症介质,在肾病中具体发挥哪种作用取决于MMPs的净活性和发病的急缓<sup>[19]</sup>。邓顺有等<sup>[20]</sup>认为通过调控MMPs/TIMPs系统,上调MMPs蛋白表达,下调TIMPs蛋白表达,升高MMPs/TIMPs比值,能够促进细胞外基质降解。总之,肾组织中MMP-9蛋白表达水平升高,将有助于清除产

生过多的细胞外基质,是肾纤维化的一种自身抑制反应;而TIMP-1蛋白表达水平升高则可拮抗MMP-9的活性,导致细胞外基质降解减少。

综上所述,虎杖苷可通过上调肾组织中MMP-9蛋白的表达,同时下调肾组织中TIMP-1蛋白的表达,使MMP-9/TIMP-1的失衡状态得以恢复,从而使过度沉积的细胞外基质降解,进而延缓肾纤维化的进程,本研究结果为中药防治肾纤维化提供了新的思路。

### 参考文献

[1] FARRIS AB, CHAN S, CLIMENHAQA J, et al. Banff fibrosis study: multicenter visual assessment and computerized analysis of interstitial fibrosis in kidney biopsies[J]. *Am J Transplant*, 2014, 14(4):897-907.

[2] LI X, ZHUANG S. Recent advances in renal interstitial fibrosis and tubular atrophy after kidney transplantation[J]. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 2014. DOI: 10.1186/1755-1536-7-15.

[3] HEWITSON TD, SMITH ER, Samuel CS. Qualitative and quantitative analysis of fibrosis in the kidney[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2014, 19(11):721-726.

[4] DU QH, PENG C, ZHANG H. Polydatin: a review of pharmacology and pharmacokinetics[J]. *Pharm Biol*, 2013, 51(11):1347-1354.

[5] 胡语航, 王兴勇, 何素蓉, 等. 白藜芦醇苷对缺氧复氧HK2细胞损伤保护作用的研究[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(22):2120-2124.

[6] 周文宾, 姚君, 王建尧, 等. 白藜芦醇苷对糖尿病大鼠肾脏氧化应激水平及Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase活性的影响[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(11):1625-1626.

[7] 王松, 赵晓玉, 陈成群, 等. 虎杖苷对大鼠肾纤维化的改善作用及其机制研究[J]. 中国药房, 2016, 27(19):2635-2637.

[8] NEE L, O'CONNELL S, NOLAN S, et al. Nitric oxide involvement in TNF-alpha and IL-1 beta-mediated changes in human mesangial cell MMP-9 and TIMP-1[J]. *Nephron Exp Nephrol*, 2008, 110(2):e59-e66.

[9] 乔晞, 赵宁, 王利华, 等. 上调肾组织intermedin表达抑制单侧输尿管梗阻大鼠肾间质纤维化[J]. 中华肾病研究电子杂志, 2015, 4(1):29-36.

[10] 蒲金赞. 枸杞黄抗肾间质纤维化的治疗作用及其机制研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2016.

[11] KLAHR S, MORRISSEY J. Obstructive nephropathy and renal fibrosis[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2002, 283(5):F861-F875.

[12] 宋海燕, 张莉, 李雪, 等. 贝那普利联合胰激肽原酶对肾间质纤维化的作用研究[J]. 河北医药, 2011, 33(6):812-815.

[13] LI JUN, GU TONG, FU XU, et al. Effect of salvianolic acid A and C compatibility on inflammatory cytokines in rats with unilateral ureteral obstruction[J]. *J Tradit Chin Med*, 2015, 35(5):564-570.

[14] HEI ZQ, LI XY, SHEN N, et al. Prognostic values of serum cystatin C and beta2 microglobulin, urinary beta2 microglobulin and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase in early acute renal failure after liver transplantation[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2008, 121(14):1251-1256.

[15] MOHAMMADI-KARAKANI A, ASGARZADEH-HAGHIGHI S, GHAZI-KHANSARI M, et al. Determination of urinary enzymes as a markers of early renal damage in diabetic patients[J]. *J Clin Lab Anal*, 2007, 21(6):413-417.

[16] TAN RJ, Liu YH. Matrix metalloproteinases in kidney homeostasis and diseases[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 302(11):F1351-F1361.

[17] 韩园园, 魏仲南. MMP-9/TIMP-1在肾间质纤维化过程中的作用机制及中医药对其干预的研究进展[J]. 中国医药指南, 2013, 11(3):40-41.

[18] LIU Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2004, 15(1):1-12.

[19] MARTI HP. Role of matrix metalloproteinases in the progression of renal lesions[J]. *Press Med*, 2000, 29(14):811-817.

[20] 邓顺有, 范萍, 张征, 等. 滋肾活血法对糖尿病肾病大鼠肾组织IV-C及MMPs/TIMPs系统的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2013, 23(2):36-41.

(收稿日期:2017-09-06 修回日期:2018-01-30)

(编辑:林 静)

《中国药房》杂志——中文核心期刊, 欢迎投稿、订阅