

细胞,它在宿主的免疫监视功能中与 MΦ 一起有着重要的作用。NK 细胞在抗肿瘤、抗病毒感染方面起重要作用,是细胞免疫的检测指标之一<sup>[7]</sup>。CTL 是特异性细胞免疫应答的主要效应细胞,在机体抗感染、抗肿瘤免疫及移植排斥反应和自身免疫病中发挥重要作用。脾脏中 T 细胞约占核细胞总数的 40%,其中多数为成熟的效应细胞,CTL 为其重要组成成分,对肿瘤细胞具有特异杀伤作用,从而抑制肿瘤生长<sup>[8]</sup>。

本实验结果表明,YCP 能显著抑制 ICR 小鼠 Lewis 移植瘤的生长,但对 Lewis 细胞的体外增殖无直接抑制作用,而且对裸小鼠人肺癌 A-549 移植瘤的肿瘤生长无抑制作用。YCP 显著提高 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠 RES 吞噬功能;明显提高 Lewis 肺癌荷瘤小鼠的 NK 细胞活性,促进 NK 细胞杀伤靶细胞 K562;明显提高 CTL 细胞活性,促进 CTL 细胞杀伤靶细胞 Lewis 肺癌细胞。由此可以推测 YCP 可能通过增强机体的细胞免疫功能,达到抑制肿瘤生长的

作用,YCP 有望成为一种肿瘤综合治疗的新药。

References:

[1] Wang Z L, Dong B W. Study on the application of immune cells in the tumor therapy [J]. *Med Recapit* (医学综述), 2004, 10(12): 705-707.  
 [2] Li J, Zhang C J. Immune regulation and anti-tumor effect of Chinese traditional polysaccharides [J]. *Chin J Tradit Vet Sci* (中国兽医杂志), 2004, 40(11): 31-33.  
 [3] Xu S Y, Bian R L, Chen X. *Methodology in Pharmacological Experiment* (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.  
 [4] Guo B, Zheng P, Li H, et al. Study on the influence factors upon the specificity and sensitivity of CTL killing *in vitro* [J]. *Immunol J* (免疫学杂志), 2004, 20(3): 169-176.  
 [5] He J S, Li R Z. Study on the method of detecting the activities of NK cells by MTT reduction [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 1996, 12: 356-358.  
 [6] Zhao W H, Zhang W G, He A L, et al. Study on the cytotoxic T lymphocytes of mice treated with leukemia vaccine [J]. *J Xi'an Jiaotong Univ; Med Sci* (西安交通大学学报:医学版), 2003, 24(1): 50-53.  
 [7] Shao S J, Liu C Y, Liu Q B, et al. The effects of ABP on mice immunological function [J]. *Cancer Res Prev Treat* (肿瘤防治杂志), 2002, 9(1): 57-58.  
 [8] Sun Z Y, Liu S C, Yang Y, et al. Effect of tumor associated antigen peptide extract from H<sub>22</sub> hepatocarcinoma on immune function and tumor inhibition in mice [J]. *Tumor* (肿瘤), 2004, 24(1): 56-58.

### 三七总苷对尿毒血清诱导的人肾小管上皮细胞外基质分泌及降解的影响

刘海燕,陈孝文,刘华锋,梁东,唐德荣

(广东医学院附属医院肾脏病研究所,广东 湛江 524001)

**摘要:**目的 探讨三七总苷(PNS)对尿毒血清诱导的人肾小管上皮细胞外基质(ECM)分泌及降解的影响,为临床上应用PNS延缓慢性肾衰竭(CRF)的进展提供理论依据。方法 无菌条件下收集40份尿毒症病人血清和20例正常人血清,用相差显微镜、扫描电镜结合细胞角蛋白18(CK-18)免疫组化鉴定人肾小管上皮细胞株HK-2。应用消化法检测HK-2细胞培养上清液中羟脯氨酸水平,ELISA方法检测HK-2细胞培养上清液中纤连蛋白(FN)、金属蛋白酶-1(MMP-1)、金属蛋白酶组织抑制因子-1(TIMP-1)蛋白分泌量,RT-PCR方法检测MMP-1和TIMP-1 mRNA表达。结果 10%尿毒血清组与正常对照组相比,HK-2细胞培养上清液中胶原蛋白和FN分泌量显著增高,MMP-1/TIMP-1基因表达和蛋白分泌的比值降低,而PNS 400、600、800 mg/L可使尿毒血清增加的HK-2培养上清液胶原蛋白分泌量回降;200、400、600、800 mg/L可使FN分泌量回降;100、200、400、600、800 mg/L可使尿毒血清降低的MMP-1/TIMP-1基因表达和蛋白分泌的比值回升。结论 在体外实验中,PNS可降低尿毒血清诱导的人肾小管上皮细胞胶原蛋白及FN的分泌,升高MMP-1/TIMP-1基因表达和蛋白分泌的比值,促进ECM降解,从而有效延缓人肾小管-间质纤维化的进展。

**关键词:**三七总苷;尿毒血清;肾小管上皮细胞;细胞外基质;肾小管-间质纤维化

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2006)02-0245-04

### Effect of Panax notoginsenosides on excretion and degradation of extracellular matrix of human renal tubular epithelial cells induced by uremic serum

LIU Hai-yan, CHEN Xiao-wen, LIU Hua-feng, LIANG Dong, TANG De-shen

(Institute of Nephrology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang 524001, China)

收稿日期:2005-05-27

基金项目:广东省科技计划项目(2003C32702),湛江市科技攻关项目(2003)

作者简介:刘海燕(1971—),女,吉林省蛟河县人,博士,副教授,副主任医师,研究生导师,主要从事肾小管间质纤维化及中西医防治方面的研究,曾发表科研论文30余篇,曾获湛江市科技进步一等奖及广东省科技进步三等奖。

Tel: (0759) 2387164 E-mail: liuhy71@yahoo.com.cn

**Key words:** Panax notoginsenosides (PNS); uremic serum; renal tubular epithelia cells; extracellular matrix (ECM); renal tubulointerstitial fibrosis

目前临床上对慢性肾衰竭 (chronic renal failure, CRF) 的治疗主要集中在控制加剧肾功能恶化的危险因素,如高血压、高血糖等。然而随着对肾纤维化的细胞和生化机制的不断了解,许多学者认为新的治疗措施应针对防止肾纤维化的发生。三七为五加科多年生草本植物,其味甘、微苦,性温,有散瘀止血、消肿止痛、补血活血、滋补强壮等功效。现代医学研究发现,三七可调节细胞免疫功能,对机体非特异性免疫功能和特异性体液免疫功能具有调理作用;另外,三七是活血化瘀的经典药物,可消除系膜增生性肾炎大鼠血液流变学浓、黏、凝、聚的特征,使全血比黏度、聚集指数、红细胞压积等均有不同程度降低。由此可见,三七通过扶正固本、活血化瘀而起到抗肾纤维化的作用,较好地体现了传统中医扶正化瘀法治疗肾纤维化的原则。三七总苷 (Panax notoginsenosides, PNS) 是三七的主要成分,与三七生药相比,药效更为突出。为了进一步明确 PNS 对肾小管-间质纤维化的保护作用,本研究通过体外实验的方法探讨 PNS 对尿毒血清诱导的人肾小管上皮细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 分泌及降解的影响,以期为肾纤维化的防治探索一条新的途径。

## 1 材料与与方法

1.1 血清制备:共收集 40 份尿毒症病人血清[肾小球滤过率 (GFR) < 10 mL/min, 血清肌酐 (SCr) 707~1 685  $\mu\text{mol/L}$ ], 无菌条件下将全部血清混匀、灭活、抽滤分装, -20  $^{\circ}\text{C}$  保存。同期收集 20 例正常人血清, 收集方法同上。

1.2 人肾小管上皮细胞培养与鉴定:人肾小管上皮细胞株 HK-2 是由上海第二医科大学附属瑞金医院陈楠教授惠赠, 细胞培养于含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养液中, 常规培养传代。用相差显微镜、扫描电镜观察细胞形态结合细胞角蛋白 18 (CK-18) 免疫组化鉴定 HK-2 细胞。

1.3 药物:三七总苷 (PNS, 质量分数大于 99%), 云南植物药厂产品。将 PNS 以无血清 RPMI-1640 培养液稀释为 100、200、400、600、800 mg/L, 用于实验。

1.4 实验分组:正常对照组, 10% 正常人血清加 90% RPMI-1640 培养液; 10% 尿毒血清组, 10% 尿毒血清加 90% RPMI-1640 培养液; 100~800

mg/L PNS 组; 10% 尿毒血清加 100~800 mg/L PNS 再加 90% RPMI-1640 培养液, 于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 24 h 后收集细胞。

1.5 消化法检测 HK-2 细胞培养上清液中胶原蛋白水平:严格按试剂盒说明书操作, 用 M550 型酶标仪在 550 nm 处检测 HK-2 细胞培养上清液吸光度 (A) 值, 计算样品中羟脯氨酸及总胶原蛋白水平。

$$\text{羟脯氨酸质量浓度 } (\mu\text{g/mL}) = \frac{A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}}{A_{\text{标准}} - A_{\text{空白}}}$$

总胶原浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ ) = 羟脯氨酸质量浓度  $\times 7.46 \times$  稀释倍数

7.46 是从羟脯氨酸换算为胶原的计算常数

1.6 ELISA 方法检测 HK-2 细胞培养上清液中纤连蛋白 (FN)、金属蛋白酶-1 (MMP-1)、金属蛋白酶组织抑制因子-1 (TIMP-1) 蛋白水平, 严格按试剂盒说明书操作。

1.7 RT-PCR 方法检测 MMP-1、TIMP-1 和  $\beta$ -actin mRNA 的表达: (1) Trizol 试剂一步法抽提细胞总 RNA, 取 4  $\mu\text{L}$  RNA 样品加入 996  $\mu\text{L}$  二乙基焦磷酸胺 (DEPC) 处理的水中, 混匀, 752 型紫外分光光度计测定 260、280 nm 处 A 值,  $A_{260}/A_{280} > 1.8$  可用。 (2) cDNA 第一链的合成: 应用 SuperScript<sup>TM</sup> First-Strand Synthesis System for RT-PCR 试剂盒进行 cDNA 第一链的合成, 严格按说明书方法操作, 反应总体积 20  $\mu\text{L}$ 。 (3) 引物的设计与合成: 引物设计参照有关文献方法<sup>[1,2]</sup> (见表 1), 经基因库核实, 由上海生物工程公司合成。 (4) PCR 扩增反应条件: MMP-1: 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 3 min, 94  $^{\circ}\text{C}$  45 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  45 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  1 min, 扩增 35 个循环, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。 TIMP-1: 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 3 min, 94  $^{\circ}\text{C}$  45 s, 55.7  $^{\circ}\text{C}$  45 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  1 min, 扩增 32 个循环, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。  $\beta$ -actin: 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 3 min, 94  $^{\circ}\text{C}$  45 s, 55.4  $^{\circ}\text{C}$  45 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  1 min, 扩增 27 个循环, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min。 (5) PCR 产物分析: 取目的基因和  $\beta$ -actin 产物各 6  $\mu\text{L}$ , 6 $\times$  上样缓冲液 2.4  $\mu\text{L}$ , 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 稳压电泳 5 V/cm 约 1.5 h, 0.5  $\mu\text{g/mL}$  溴化乙锭 (EB) 染色 20 min。凝胶在 UVP 凝胶成像系统中扫描观察结果、拍照。

1.8 统计学处理: 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 使用 SPSS 10.0 统计软件进行统计描述, 多个样本均数的比较采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 多个样本均数间每两个均数的比较根据方差齐性检验

表 1 低聚核苷酸引物序列

Table 1 Sequences of oligonucleotide primers

目的基因	碱基数	引物序列
MMP-1	185 bp	上游引物: 5'-ATTGGAGCAGCAAGAGGCTGGGA-3' 下游引物: 5'-TTCCAGGTATTCTGGACTAAGT-3'
TIMP-1	228 bp	上游引物: 5'-TTCCACAGTCCCACAAG-3' 下游引物: 5'-GGAGCAATGATCTTGATCTT-3'
β-actin	552 bp	上游引物: 5'-ATCATGTTTGAGACCTTCAACACC-3' 下游引物: 5'-CATGGTGGTGCCGCCAGACAG-3'

(homogeneity-of-variance), 当总体方差齐同时选择 Bonferroni 法; 当方差不齐时选择 Tamhane's T2 法。

2 结果

2.1 人肾小管上皮细胞的鉴定: 相差显微镜观察 HK-2 细胞呈多边鹅卵石样, 体积较大, 镜下透明度及折光性强, 细胞紧密衔接, 可见融合成单层。CK-18 免疫组化片可见胞核周围和胞浆内不均匀散在分布, 散度不一棕褐色颗粒状、点状染色。阴性对照胞核紫兰色, 胞浆未着色。扫描电镜可见细胞表面具有较多的微绒毛, 细胞紧密衔接, 呈多极状, 以上证实培养细胞为人肾小管上皮细胞。

2.2 PNS 对尿毒血清作用下的 HK-2 细胞培养上清液中胶原蛋白水平和 FN 分泌量的影响: 10% 尿毒血清组与正常对照组相比, HK-2 细胞培养上清液中胶原蛋白和 FN 分泌量显著增高。PNS 100、200 mg/L 对尿毒血清增加的胶原蛋白分泌量无显著影响, 而 400、600、800 mg/L 可使胶原蛋白分泌量回降; PNS 100 mg/L 对尿毒血清增加的 FN 蛋白分泌量无显著影响, 而 200、400、600、800 mg/L 可使 FN 蛋白分泌量回降, 且随着 PNS 质量浓度的升高而降低, 见表 2。

表 2 PNS 对尿毒血清作用的 HK-2 培养上清液胶原蛋白及 FN 蛋白分泌量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 2 Effect of PNS on collagen protein and FN protein excretion of KH-2 cells treated by uremic serum ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	$\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	胶原蛋白 / ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	FN / ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )
正常对照	-	30.23 ± 1.71	105.60 ± 17.82
10% 尿毒血清	-	39.82 ± 2.93**	216.12 ± 38.40**
100		37.97 ± 3.35	194.25 ± 30.15
200		35.66 ± 2.79	130.93 ± 20.50△△
400		33.35 ± 0.90△△	120.52 ± 26.54△△
600		31.67 ± 0.90△△	109.91 ± 12.93△△
800		30.25 ± 1.29△△	103.30 ± 26.89△△

与正常对照组比较: \*\* $P < 0.01$

与 10% 尿毒血清组比较: △△ $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs normal control group

△△ $P < 0.01$  vs 10% uremic serum group

2.3 PNS 对尿毒血清作用的 HK-2 细胞 MMP-1

及 TIMP-1 蛋白分泌和基因表达的影响: 10% 尿毒血清组与正常对照组相比, MMP-1/TIMP-1 蛋白分泌和基因表达的比值降低, PNS 100、200、400、600、800 mg/L 使尿毒血清降低的 MMP-1/TIMP-1 蛋白和基因表达的比值回升, 结果见表 3 和 4 及图 1。

表 3 PNS 对尿毒血清作用下的 HK-2 细胞 MMP-1 及 TIMP-1 蛋白分泌量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 3 Effect of PNS on MMP-1 and TIMP-1 protein secretion of HK-2 cells treated by uremic serum ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	$\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	MMP-1 / ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	TIMP-1 / ( $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	MMP 与 TIMP (比值)
正常对照	-	20.966 ± 1.910	75.232 ± 9.102	0.278 ± 0.011
10% 尿毒血清	-	16.787 ± 0.749**	98.083 ± 11.531*	0.177 ± 0.010**
100		20.142 ± 1.064△△	98.312 ± 10.668	0.212 ± 0.006△△
200		24.389 ± 1.389△△	99.104 ± 9.871	0.245 ± 0.013△△
400		25.762 ± 1.125△△	98.112 ± 7.554	0.263 ± 0.011△△
600		26.619 ± 0.100△△	103.136 ± 12.593	0.258 ± 0.008△△
800		22.825 ± 1.541△△	106.140 ± 1.416	0.215 ± 0.014△△

与正常对照组比较: \*\* $P < 0.01$

与 10% 尿毒血清组比较: △△ $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs normal control group

△△ $P < 0.01$  vs 10% uremic serum group

表 4 PNS 对尿毒血清作用下的 HK-2 细胞 MMP-1 及 TIMP-1 基因表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 4 Effect of PNS on MMP-1 and TIMP-1 gene expression of HK-2 cells treated by uremic serum ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	$\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	MMP-1 mRNA (比值)	TIMP-1 mRNA (比值)	MMP 与 TIMP (比值)
正常对照	-	1.282 ± 0.123	0.800 ± 0.069	1.603 ± 0.103
10% 尿毒血清	-	0.986 ± 0.095**	1.296 ± 0.095**	0.761 ± 0.087**
100		1.123 ± 0.032△△	1.259 ± 0.069	0.892 ± 0.013△△
200		1.352 ± 0.021△△	1.203 ± 0.074	1.124 ± 0.029△△
400		1.424 ± 0.045△△	1.040 ± 0.080△△	1.369 ± 0.020△△
500		1.544 ± 0.061△△	0.948 ± 0.052△△	1.628 ± 0.049△△
800		1.368 ± 0.074△△	0.896 ± 0.041△△	1.526 ± 0.071△△

与正常对照组比较: \*\* $P < 0.01$

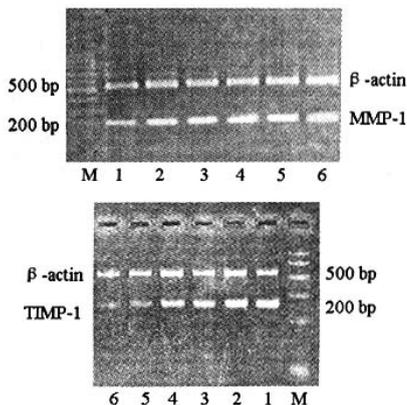
与 10% 尿毒血清组比较: △△ $P < 0.01$

\*\* $P < 0.01$  vs normal control group

△△ $P < 0.01$  vs 10% uremic serum group

3 讨论

针对肾纤维化的病理机制, 临床上应用扶正化瘀方进行抗肾纤维化的治疗取得了较好的疗效。三七补血而不留瘀、化瘀而不伤血的功效较好的体现了传统中医扶正化瘀法治疗肾纤维化的原则。近 20 年来, 国内外学者对三七进行了广泛的研究, 证实了三七具有抗脂质过氧化、改善微循环、抑制肝脏胶原合成和促进胶原降解的作用, 从而延缓或阻止肾纤维化的进程。同时也有报道称 PNS 能够抑制胶原增



M-Marker 1-10% 尿毒血清组 2~6-10% 尿毒血清+PNS (100、200、400、600、800 mg/L) 组

M-Marker 1-10% uremic serum group 2-6-10% uremic serum+PNS (100, 200, 400, 600, and 800 mg/L) groups

图 1 PNS 对尿毒血清作用下的 HK-2 细胞 MMP-1 和 TIMP-1 基因表达的影响

Fig. 1 Effect of PNS on MMP-1 and TIMP-1 gene expression of HK-2 cells treated by uremic serum

生,促进新生胶原降解,明显促进人肾间质成纤维细胞凋亡<sup>[1]</sup>。

ECM 在肾间质内过度沉积是引起肾小管-间质纤维化的主要原因<sup>[2~4]</sup>,而造成 ECM 大量沉积的直接原因则是肾间质中 ECM 产生增多和分解减少。胶原蛋白和 FN 是 ECM 中最丰富的结构成分,羟脯氨酸是胶原蛋白多肽链中特异的氨基酸成分,是影响胶原纤维形成的决定因素之一,因此测定羟脯氨酸的水平能反映胶原代谢的情况<sup>[5]</sup>。本研究结果说明尿毒症毒素促进胶原和 FN 等间质型 ECM 的合成,从而在肾小管-间质纤维化进程中起重要作用,而 PNS 可显著抑制尿毒血清诱导的人肾小管上皮细胞胶原蛋白和 FN 的分泌,从而减少 ECM 在肾间质内过度沉积,延缓肾小管-间质纤维化的进展。

目前研究表明 ECM 不是静止不动的,而是处在不断代谢更新、降解重塑的动态平衡中。而 MMP-1/TIMP-1 系统在 ECM 的合成与降解代谢平衡的调解中起主要作用<sup>[6~9]</sup>。MMPs 表达下调和酶活性过度抑制参与了许多表现为 ECM 堆积的病理过程如动脉粥样硬化、多种结缔组织疾病和重要脏器进行性纤维化。MMP-1 是第一个被定性的主要间质胶原酶类,主要降解 I、II、III、VII、VIII 型胶原及蛋白聚糖(PG)的核心蛋白。金属蛋白酶抑制物(TIMPs)常常由分泌金属蛋白酶的同一细胞所合成,可通过阻止 MMPs 酶原活化,并抑制已活化的

MMPs 的活性,从而抑制 ECM 的降解,其中以 TIMP-1 尤为重要。多种实验模型研究显示,肾小管-间质纤维化病变中,均有 MMPs 活性下降或 MMPs/TIMPs 比例下降,提示 MMPs/TIMPs 参与了肾小管-间质纤维化的形成,TIMPs 高表达,和(或) MMPs 活性下降,即 MMPs/TIMPs 功能紊乱参与了肾小管-间质纤维化的发生机制。本研究结果表明尿毒症毒素可导致 MMPs/TIMPs 系统平衡失调,可能通过降低 MMP-1/TIMP-1 蛋白和基因表达的比值,进一步加速了肾小管-间质纤维化进程,而 PNS 均可显著增加 MMPs/TIMP-1 比值,进一步说明 PNS 可通过抑制尿毒血清诱导的人肾小管上皮细胞 ECM 的分泌,改善 MMP-1/TIMP-1 系统平衡失调状态,从而延缓肾小管-间质纤维化进程,改善肾功能。

PNS 价格低廉,无明显副作用,且有补血活血、滋补强壮之功效,CRF 患者长期应用,还可减少失血、贫血的发生。如果能在临床上普遍应用,对保护残肾功能,延缓肾衰竭的进展,具有较大的现实意义。

References:

- [1] Zhang G Q, Ye R G, Kong Q Y, et al. Panax notoginseng saponins induced apoptosis of human renal interstitial fibroblasts and its mechanisms [J]. *Chin J Nephrol* (中华肾脏病杂志), 1998, 14(2): 93-95.
- [2] Healy E, Brady H R. Role of tubule epithelial cells in pathogenesis of tubulointerstitial fibrosis induced by glomerular disease [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 1998, 7: 2495-2508.
- [3] Weber K T. Fibrosis, a common pathway to organ failure: angiotensin I and tissue repair [J]. *Semin Nephrol*, 1997, 17: 467-491.
- [4] Kaneto H, Morrissey J J, McCracken R, et al. The expression of TGF-β mRNA in the obstructed kidney of rats with unilateral ligation [J]. *Kidney Int*, 1993, 44: 313-321.
- [5] Shimizu T, Fukagawa M, Kuroda T, et al. Pirfenidone prevents collagen accumulation in the remnant kidney in rats with partial nephrectomy [J]. *Kidney Int*, 1997, 63(Suppl): s239-s243.
- [6] Li Y Y, Mc Tiernan C F, Feldman A M. Interplay of matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and their regulators in cardiac matrix remodeling [J]. *Cardiovasc Res*, 2000, 46: 214-224.
- [7] Davies M, Martin J, Thomas G J, et al. Proteinases and glomerular matrix turnover [J]. *Kidney Int*, 1992, 4: 671-678.
- [8] Massova I, Kotra L P, Fridman R, et al. Matrix metalloproteinases: structure, evolution, and diversification [J]. *FASEB J*, 1998, 12: 1075-1095.
- [9] Comez D E, Alonso D F, Yoshiji H, et al. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological function [J]. *Eur J Cell Biol*, 1997, 74: 111-122.