

# 电针对慢性应激抑郁模型大鼠海马神经血管生成相关蛋白的表达影响

于森 张丹妹 郭继红 图娅 史榕苻 许明敏 郭郁 张旭辉 王瑜  
张春涛 赵冰骢

**【摘要】 目的** 观察电针对慢性应激抑郁模型大鼠海马血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)、血管内皮生长因子 C (vascular endothelial growth factor-C, VEGF-C)、基质金属蛋白酶 8 (matrix metalloproteinase-8, MMP-8)、基质金属蛋白酶 13 (matrix metalloproteinase-13, MMP-13) 表达的影响, 探讨在慢性应激下电针对抑郁模型大鼠海马神经血管的保护效应。**方法** 将 40 只雄性 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、电针组、氟西汀组, 每组 10 只。除空白组外, 其余组均采用慢性应激结合孤养方法造模 28 天, 电针组和氟西汀组分别于造模前 1 小时进行电针干预和药物治疗。运用生物素标记蛋白抗体芯片技术, 筛选出差异常蛋白 VEGF、VEGF-C、MMP-8 和 MMP-13。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠海马 VEGF、VEGF-C、MMP-8、MMP-13 蛋白表达上升 (fold change=1.20, 1.34, 1.25, 1.31)。与模型组比较, 电针组与氟西汀组: VEGF 蛋白表达水平下降 (fold change=0.73, 0.70); VEGF-C 蛋白表达水平下降 (fold change=0.66, 0.59), MMP-8 表达水平下降 (fold change=0.70, 0.58), MMP-13 表达水平下降 (fold change=0.74, 0.63)。**结论** 电针能够减轻慢性应激对大鼠海马的影响, 对神经和血管具有保护作用, 这可能是电针抗抑郁作用的分子机制之一。

**【关键词】** 电针; 抑郁症; 海马; 血管内皮生长因子; 基质金属蛋白酶

**【中图分类号】** R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.04.001

**Influence of electroacupuncture on the expression of related proteins in the hippocampus of rats with chronic stress induced depression** YU Miao, ZHANG Dan-mei, WU Ji-hong, et al. School of Acu-moxibustion and Tuina, Beijing University of Chinese medicine, Beijing 100029, China  
Corresponding author: WU Ji-hong, E-mail: wujihong@sohu.com; TU Ya, E-mail: Tuyab@263.net

**【Abstract】 Objective** To observe the effects of electric acupuncture (EA) on VEGF, VEGF-C, MMP-8 and MMP-13, which are relevant to angiogenesis and injuries in vessels and nerves in hippocampus of CUMS rats. The protective effect of electric acupuncture on the hippocampus neurons of rats with depression induced by chronic stress was explored. **Methods** 40 SD rats were randomly divided into four groups: blank group, model group, EA group, and fluoxetine group. The chronic unpredictable mild stress model was established. Biotin-labeled protein chip technology were used to detect the expression of VEGF, VEGF-C, MMP-8 and MMP-13. **Results** Compared with the blank group, the protein expressions of VEGF, VEGF-C, MMP-8 and MMP-13 in the model group were increased (fold change = 1.20, 1.34,

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81173334, 81373729)

作者单位: 100029 北京中医药大学针灸推拿学院 [于森 (硕士研究生)、郭继红、图娅、许明敏 (硕士研究生)、郭郁 (硕士研究生)、张旭辉 (博士研究生)、王瑜 (博士研究生)、张春涛 (硕士研究生)、赵冰骢 (硕士研究生)]; 郑州大学附属洛阳中心医院康复科 (张丹妹); 中日友好医院针灸科 (史榕苻)

作者简介: 于森 (1989-), 女, 2013 级在读硕士研究生。研究方向: 影响针灸疗效的相关因素研究。E-mail: guihbie@163.com

通讯作者: 郭继红 (1964-), 女, 硕士, 教授, 副主任医师, 硕士生导师。研究方向: 影响针灸疗效的相关因素研究。E-mail: wujihong@sohu.com; 图娅 (1955-), 女, 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师。研究方向: 针刺抗抑郁机理与临床研究。E-mail: Tuyab@263.net

1.25, 1.31)。Compared with the model group, VEGF was decreased in EA group and fluoxetine group (fold change=0.73, 0.70)。VEGF-C was decreased in EA group and fluoxetine group (fold change=0.66, 0.59), MMP-8 was decreased in EA group and fluoxetine group (fold change=0.70, 0.58) and MMP-13 was decreased in EA group and fluoxetine group. **Conclusion** EA can reduce the influence of chronic stress on the hippocampus of rats, and has protective effect on nerve and vessels, which may be one of the molecular mechanisms of anti depression.

**【Key words】** Electric acupuncture; Depression; Hippocampus; VEGF; MMPs

抑郁症又称情感性精神障碍,是一种由生物、心理、社会以及遗传等多种原因导致的常见的精神疾病,其慢性、易复发、高致残致死率的特点给个人和社会都造成了显著的影响<sup>[1]</sup>,因此加强对抑郁症的研究和治疗具有非常重要的现实意义。

现如今治疗抑郁症临床以药物治疗为主,但不同程度毒副作用和禁忌症的缺陷严重制约了抑郁症的治疗效果。而大量研究表明,电针能明显改善抑郁患者的躯体症状,减轻药物的不良反应,其疗效肯定,经济方便等特点受到人们的认可<sup>[2]</sup>,由于针刺抗抑郁机制较为复杂且尚不明确,从而引发对针刺抗抑郁机制研究的必要性。

抑郁症的发病机制错综复杂,其发生发展涉及机体神经免疫内分泌等多个环节,既有基因的改变,也存在着蛋白的变化,而这两者反映着生命机体的整体功能状态。运用生物芯片技术从基因和蛋白等微观角度观察研究抑郁状态下的整体失衡,这为开展针刺抗抑郁研究提供了更为广阔的前景。

生物素标记抗体蛋白芯片技术是一种微量分析技术,其重要的特点是高通量并进行分析,适用于蛋白质—蛋白质、蛋白质—小分子物质间的相互作用的分析,可以在一次实验比较生物样品中上千的蛋白质的相对丰度,极大促进蛋白质组学研究进程。本实验通过建立慢性轻度不可预见性应激 (chronic unpredictable mild stress, CUMS) 模型,选取氟西汀作为阳性对照药物,通过电针治疗干预,采用抗体蛋白芯片技术筛选在干预作用下有显著表达变化的蛋白,并着重关注了同时在电针和药物的干预治疗下皆有显著变化的与神经血管生成相关的 VEGF、VEGF-C 和与损伤机制相关的 MMP-8、MMP-13,重点探讨在慢性应激下,电针对神经血管生成和损伤的干预效应,旨在探究针刺的相关抗抑郁机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

SD 清洁级雄性大鼠 40 只,体质量(200±20) g,

由北京华阜康生物科技股份有限公司提供,许可证编号:SCXK(京)2004-2007。

### 1.2 药物、试剂与仪器

盐酸氟西汀分散片(礼来苏州制药有限公司,批号:J20120001)。RayBio 大鼠 L 系列抗体芯片测试盒(美国 RayBiotech 公司),AAR-BLM-1 抗体芯片,标记试剂,终止液,封闭缓冲液,红外荧光剂——链霉亲和素,20X 的洗液 I,20X 的洗液 II。恒温箱(上海一恒科技有限公司,型号:BPH-9082),酶标仪(美国 BioTek,型号:ELX800),离心机(美国 Thermo Scientific,型号:SoRVALL LEGEND MICRO 21R),匀浆机(德国 IKA,型号:T10 basic ULTRA-TURRAX),摇床(江苏 QILIN BEI ER,型号:TS-8),芯片配套产品(膜芯片 2 张、塑料薄片、透析管 2 个、纯化柱 2 个、孵育盒 1 个),红外荧光扫描仪 LI-COR Odyssey Scanner(美国 LI-COR 公司),华佗牌 SDZ-V 型的电针仪。环球牌无菌针灸针(0.30 mm×25 mm 苏州环球针灸医疗器械有限公司)。

### 1.3 方法

1.3.1 分组 大鼠适应性饲养 1 周后,将 40 只大鼠随机分为空白组、模型组、模型+电针组(以下简称电针组)、模型+盐酸氟西汀组(以下简称氟西汀组),每组 10 只。

1.3.2 模型制备与干预 采用 CUMS 抑郁动物模型造模方法,空白组每笼 5 只,正常饲养,不接受任何刺激;模型组、电针组和药物组的大鼠置于小笼中孤养并接受 28 天各种不同刺激,包括冰水游泳(4℃,5 分钟)、潮湿垫料、禁水(24 小时)、夹尾(1 分钟)、束缚(3 小时)、禁食(24 小时)和昼夜颠倒共 7 种刺激。每天随机给予 1 种刺激,相同的刺激不连续出现,每种刺激总共不少于 4 次。电针组在每天应激前 1 小时进行电针干预,氟西汀组在每天应激前 1 小时进行药物灌胃干预。

1.3.3 针刺与给药方法 根据《实验针灸学》选取百会、印堂。选用“环球”牌 0.30 mm×25 mm 针刺针,平刺进针,针刺深度为 0.5~1 cm,电针强度为

2 Hz, 断续波, 30 min/次, 针刺强度以大鼠头部微颤为宜。氟西汀用蒸馏水配成 10 mg/kg, 按 5 mL/kg 浓度灌胃。

1.4 取材及检测方法

1.4.1 取材 造模 28 天后, 灌流固定, 取脑。将每组的大鼠海马组织进行混合, 利用透析管透析, 测定相关蛋白浓度, 用生物素进行标记。经过封闭和孵育后, 利用红外荧光扫描仪进行扫描。运用仪器自带分析软件提取数据。

1.4.2 抗体蛋白芯片技术检测 (1) 海马组织裂解液置备: 用 pH 7.4 的 PBS 洗净海马组织, 剪碎放至离心管, 加入 500  $\mu$ L 细胞裂解液, 匀浆机裂解组织 30 秒, 取上清移至新的离心管中保存。(2) 样品透析: 取 200  $\mu$ L 组织裂解液加入透析管中, 之后在 4000 mL 的 1 $\times$ PBS (pH = 8) 中 4 $^{\circ}$ C 边搅拌边透析。每 3 小时更换透析液 1 次。(3) 蛋白浓度测定: 采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒, 检测海马组织裂解液蛋白浓度。(4) 生物素标记样品: 先将标记试剂小管快速离心, 管中加入 500  $\mu$ L 的 1 $\times$ PBS 溶解粉末, 制备成 1 $\times$ 标记试剂溶液。再向新的离心管中加入适当量的标记试剂。快速混匀, 摇床上室温孵育 30 分钟。每 5 分钟轻弹离心管, 混合反应试剂。加入 5  $\mu$ L 终止液, 然后用纯化柱去除未结合生物素, 再将拧开盖子与底部栓的柱子放入 50 mL 收集管中, 于 1000 g 离心 3 分钟去掉储存液。之后向柱中加入 5 mL 的 1 $\times$ PBS, 于 1000 g 离心 3 分钟, 倒出 50 mL 离心管中的 5 mL 1 $\times$ PBS, 再重复 2 次此步操作, 清洗干净柱子。将柱子放入一个新的 50 mL 离心管中, 缓慢将标记好的样品加入树脂床的中央。将柱子离心后收集样品, 储存于 -80  $^{\circ}$ C 备用。(5) 封闭和孵育: 在孵育盒中加入 2.5 mL 封闭缓冲液, 用镊子拖着膜的边缘将膜缓慢浸没到封闭缓冲液中, 避免气泡产生, 室温振荡孵育 1 小时。用抽液泵抽去封闭液后, 每张膜芯片加入 2.5 mL 封闭液稀释好的样品, 4 $^{\circ}$ C 过夜。抽去样品, 每个孵育盒中加入约 3 mL 的 1 $\times$ 洗液 I (20 $\times$ 洗液用去离子水稀释) 室温振荡洗膜, 洗膜 4 次, 每次 5 分钟。抽去 1 $\times$ 洗液 I, 加入 1 $\times$ 洗液 II 室温振荡洗膜, 洗膜 3 次, 每次 5 分钟。抽去 1 $\times$ 洗液 II, 每张膜加入 2.5 mL 用封闭液 8000 倍稀释的 CW800-链霉亲和素。室温避光振荡孵育 2 小时。洗膜 (步骤同上)。(6) 抗体芯片信号的检测: 使用 LI-COR Odyssey Scanner 进行扫描, 设定波长为 800 扫描通道, 扫描强度为 7.0, 分辨率

为 42  $\mu$ m。

1.5 统计学处理

用仪器自带分析软件提取数据, 采用 AAR-BLM-1 的数据分析软件来进行数据预分析。将每组 10 个样品进行混合, 采用蛋白表达水平变化 (fold change) 比较方法, 即两组样本蛋白表达量均值之比的方法进行差异分析, 直观地表现组间的蛋白表达差异, 选取差异蛋白最多的“fold change 大于 1.2 或小于 0.8”档位进行分析, 并进行组间校正。

2 结果

造模 4 周后, 与空白组相比, 模型组大鼠海马 VEGF 蛋白表达上调 (fold change = 1.20); 相较于模型组, 电针组、氟西汀组 VEGF 表达下调 (fold change = 0.73, 0.70)。与空白组相比, 模型组大鼠海马 VEGF-C 蛋白表达上调 (fold change = 1.34); 相较于模型组, 电针组、氟西汀组 VEGF-C 表达下调 (fold change = 0.66, 0.59)。与空白组相比, 模型组大鼠海马 MMP-8 蛋白的表达上调 (fold change = 1.25); 与模型组相比, 电针组、氟西汀组 MMP-8 表达下调 (fold change = 0.70, 0.58)。与空白组相比, 模型组大鼠海马 MMP-13 蛋白的表达上调 (fold change = 1.31); 与模型组相比, 电针组、氟西汀组 MMP-13 表达下调 (fold change = 0.74, 0.63)。具体见表 1 和图 1 ~ 图 4。

表 1 各组大鼠海马血管生成相关蛋白比较

组别	n	VEGF	VEGF-C	MMP-8	MMP-13
空白组	10	755.55	533.55	312.05	422.05
模型组	10	909.20	715.18	391.12	553.78
电针组	10	661.73	474.56	273.46	407.99
氟西汀组	10	636.87	424.40	227.69	349.51

表 2 各组蛋白表达量均值之比

Fold chang	VEGF	VEGF-C	MMP-8	MMP-13
模型组/空白组	1.20 <sup>a</sup>	1.34 <sup>a</sup>	1.25 <sup>a</sup>	1.31 <sup>a</sup>
针刺组/模型组	0.73 <sup>b</sup>	0.66 <sup>b</sup>	0.70 <sup>b</sup>	0.74 <sup>b</sup>
氟西汀组/模型组	0.70 <sup>b</sup>	0.59 <sup>b</sup>	0.58 <sup>b</sup>	0.63 <sup>b</sup>

注: 与空白组相比, <sup>a</sup>fold chang>1.2; 与模型组相比, <sup>b</sup>fold chang<0.8

3 讨论

抑郁机制与治疗研究选择恰当的动物模型是一个实验的基础, 本实验采用 CUMS 慢性温和和不可预知应激抑郁模型, 它可以模拟人类抑郁症中各种慢性应激源导致抑郁症的发生发展过程<sup>[3]</sup>, 是目前公认的经典抑郁症动物模型之一<sup>[4]</sup>。



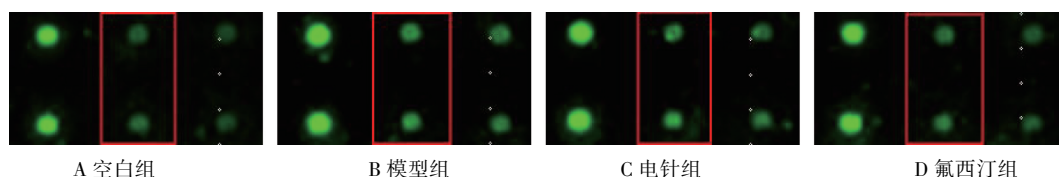


图 1 各组大鼠海马 VEGF 抗体芯片点阵图

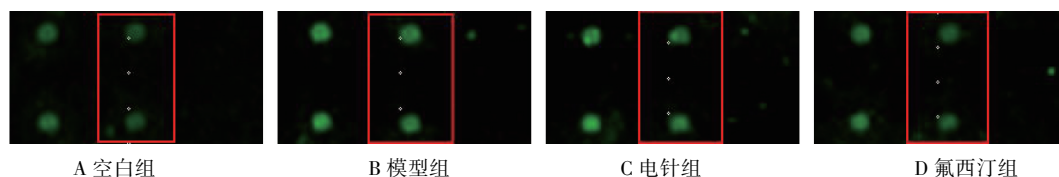


图 2 各组大鼠海马 VEGF-C 抗体芯片点阵图

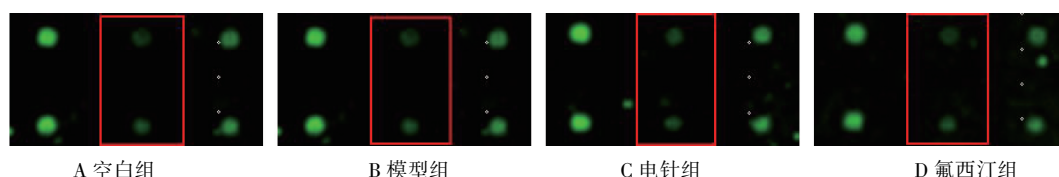


图 3 各组大鼠海马 MMP-8 抗体芯片点阵图

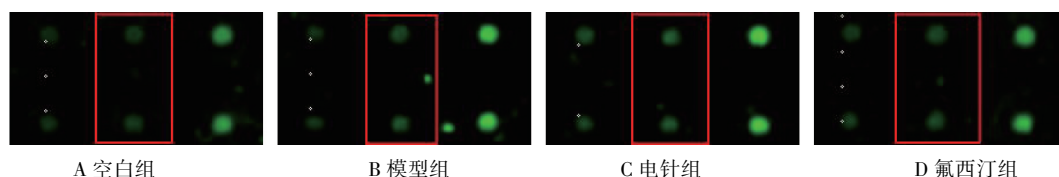


图 4 各组大鼠海马 MMP-13 抗体芯片点阵图

抗体芯片技术是检测生物样品中蛋白表达模式的新方法,它的显著优点是在同一张芯片上对成百上千种不同样品的蛋白表达模式进行分析比较。对于抑郁症研究,这项技术可以同时比对不同组间大鼠的多种蛋白,为筛选表达有差异的蛋白提供了良好的技术支持及可靠的实验依据,也给予了后期的研究方向。本实验在慢性应激模型大鼠上,运用此技术,同时对比四个组大鼠海马内的蛋白,发现部分蛋白表达水平出现了不同程度的上调或下调,本课题组前期着重探讨星形胶质细胞功能改变对抗抑郁作用的影响<sup>[5]</sup>及电针抗抑郁的机制可能与促进了海马内环境的稳态有关<sup>[6]</sup>。本实验延续前期并重点关注与神经血管生成密切相关的 VEGF/VEGF-C、MMP-8/MMP-13 的蛋白表达水平,发现二者无论在模型组与空白组比较中,还是电针组、药物组与模型组比较中蛋白表达均有显著的变化,推测电针可能通过抑制 MMP-8/MMP-13 的蛋白表达从而降低应激状态下病理性血管的生成和神经细胞外基质的降解,同时对神经血管产生保护效应,从而良性调节 VEGF/VEGF-C 的蛋白表达水平,

发挥抗抑郁的作用。

血管内皮生长因子家族具有增加微静脉、小静脉的通透性,促进血管内皮细胞分裂、增殖,以及诱导血管生成等作用。通常所说 VEGF 即指 VEGF-A。其中 VEGF-A 及 VEGF-C 是主要成员,VEGF-A 是最早发现的,其促进血管生成的作用也最强。在脑内,VEGF 与神经、血管再生联系紧密,它能特异地通过提高血管通透性、促进内皮细胞分裂、增殖及迁移,在血管新生形成过程发挥重要作用<sup>[7]</sup>,此外,它还具有促进内皮细胞存活与抗凋亡的作用。而且越来越多的研究表明 VEGF 影响海马神经的发生,它主要通过参与海马神经元细胞内的多条信号通路促进海马神经元前体生存、渗透、迁移和增殖<sup>[8]</sup>。Palmer 等<sup>[9]</sup>研究中发现海马中含有较高水平的 VEGF,由此 VEGF 很可能直接促进了神经细胞的增殖;也有可能通过刺激内皮细胞增殖,间接地诱导神经祖细胞的分裂。在调节血管生成方面 VEGF-C 与 VEGF 有相同的作用:能刺激内皮细胞迁移和增生,增加血管通透性,同时它还表现出与 VEGF 的协同作用<sup>[7]</sup>。

许多研究表明,抑郁大鼠海马内 VEGF 的表达降低<sup>[10-11]</sup>,但也有研究发现抑郁症患者与健康人相比 VEGF 水平升高<sup>[12-14]</sup>,且有研究证实缺氧、缺血及实体肿瘤等情况下可以提高 VEGF 的表达<sup>[15-16]</sup>,并且在某些病理状态也有 VEGF 合成增加的情况。本实验中,通过筛查发现,模型组大鼠海马 VEGF、VEGF-C 蛋白表达水平上调,推测应激状态下,造成了神经血管的损伤和凋亡,而机体可能通过升高 VEGF、VEGF-C 的途径促进血管和神经的再生,从而启动了机体的神经血管保护机制,以拮抗应激对抗神经血管的损伤;电针干预后,大鼠海马的 VEGF/VEGF-C 蛋白表达趋于正常水平。推测电针治疗可通过某种途径减轻了慢性应激对大鼠海马神经和血管的损伤,使大鼠脑内稳态趋于正常,从而良性调节了 VEGF 及 VEGF-C 的蛋白表达。

基质金属蛋白酶(matrix metalloprotein, MMPs)是一个可以降解细胞外基质不同成分的锌依赖蛋白家族<sup>[17]</sup>,它们在生理和病理性血管生成中发挥重要作用。MMP-8 在内皮细胞、干细胞等多处表达<sup>[18]</sup>,并且在血管组织中非常活跃,可以使内皮细胞功能变得敏感<sup>[19]</sup>,同时它还会促使血管结构破坏,功能紊乱,分布无序的病理性血管生成<sup>[20]</sup>。在中枢神经系统,MMP-13 来自神经胶质细胞,神经元及脑血管内皮细胞,其活化可通过降解神经细胞外的基质,从而破坏脑神经细胞和血管的完整性<sup>[21]</sup>,并且在某些病理状态也有 MMP-13 合成增加的情况<sup>[22-23]</sup>。本实验发现:CUMS 大鼠海马内 MMP-8、MMP-13 明显高于正常组,而经过电针干预后的大鼠海马内这两种蛋白表达会显著降低。电针可能通过下调 MMP-8、MMP-13 的蛋白表达水平,从而抑制了慢性应激导致的神经细胞外基质的降解及病理性血管的生成,改善了神经血管的损伤,对神经细胞和血管行使保护的效应。

本实验中从电针对神经血管保护效应的角度,从筛查的蛋白中关注和分析了与神经血管密切相关的 VEGF/VEGF-C 及 MMP-8/MMP-13,发现电针能够通过启动大鼠的神经血管保护机制,抵抗慢性应激对大鼠海马的损害,维护海马的稳态,从而产生抗抑郁的作用。与神经血管保护相关的蛋白仍有许多,本文只从筛查蛋白中重点描述了 VEGF、VEGF-C、MMP-8 及 MMP-13,对针刺抗抑郁作用的靶点和途径的描述是远远不够的,在今后的研究中,将继续深入研究其他被筛查出来有显著差异的

与神经血管密切相关的蛋白,通过结合相关信号通路,继续深入进行针刺的抗抑郁机制研究。

## 参 考 文 献

- [1] 江常莺,王谨敏. 抑郁症的病因研究进展[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2014,12(1):90-92.
- [2] 段冬梅,图娅,陈利平. 电针与百忧解对伴躯体症状抑郁症有效性的评价[J]. 中国针灸,2008,28(3):167-170.
- [3] 叶娜,郑卫英. 抑郁症动物模型建立及评价的研究进展[J]. 数理医药学杂志,2015,28(6):902-904.
- [4] 薛涛,邹丽莎,刘新民,等. 抑郁症动物模型及评价方法研究进展[J]. 中国实验动物学报,2015,23(3):321-326.
- [5] 胡诚,王晶,张丹妹,等. 电针对慢性应激抑郁大鼠海马 CNTF R $\alpha$ /EGFR 蛋白表达的影响[J]. 世界中医药,2014,9(5):616-618.
- [6] 胡诚,张丹妹,包伍叶,等. 电针对抑郁大鼠海马 E-选择素和抵抗素蛋白表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志,2014,21(11):56-58.
- [7] 陈宏宇,韩毅,慕刚,等. 血管内皮生长因子 C 的研究进展[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2008,12(11):2138-2142.
- [8] 张丁,刘可愚,冯正直,等. VEGF 调控抑郁症海马神经发生的研究进展[J]. 现代生物医学进展,2013,13(8):1579-1582.
- [9] Palmer TD,Willhoite AR,Gage FH. Vascular Niche for Adult Hippocampal Neurogenesis[J]. The Journal of Comparative Neurology,2000,425(4):479-494.
- [10] 郑晓霓,王德山,单德红. 定志小丸对抑郁大鼠海马血管内皮生长因子表达的影响[J]. 中医药学刊,2006,24(5):844-845.
- [11] 吴翊馨,苏胜林. 水迷宫训练对抑郁大鼠齿状回神经干细胞增殖和血管内皮生长因子表达的影响[J]. 中国医科大学学报,2014,43(1):59-63.
- [12] Takebayashi M,Hashimoto R,Hisaoka K,et al. Plasma Levels of Vascular Endothelial Growth Factor and Fibroblast Growth Factor 2 in Patients with Major Depressive Disorders[J]. J Neural Transm,2010,117(9):1119-1122.
- [13] Clark-raymond A,Meresh E,Hoppensteadt D,et al. Vascular Endothelial Growth Factor: a Potential Diagnostic Biomarker for Major Depression[J]. Journal of Psychiatric Research,2014,59:22-27.
- [14] Iga J,Ueno S,Yamauchi K,et al. Gene Expression and Association Analysis of Vascular Endothelial Growth Factor in Major Depressive Disorder[J]. Progress in Neuro-psychopharmacology and Biological Psychiatry,2007,31(3):658-663.
- [15] Simons M. An Inside View: Vegf Receptor Trafficking and Signaling[J]. Physiology,2012,27(4):213-222.
- [16] Merrill MJ,Oldfield EH. A Reassessment of Vascular Endothelial Growth Factor in Central Nervous System Pathology[J]. Journal of Neurosurgery,2005,103(5):853-868.
- [17] Koolwijk P, Sidenius N, Peters E, et al. Proteolysis of the

- Urokinase-type Plasminogen Activator Receptor By Metalloproteinase-12: Implication for Angiogenesis in Fibrin Matrices[J]. Blood, 2001, 97(10): 3123-3131.
- [18] 房长存. 基质金属蛋白酶 8 在血管生成中的作用机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2013.
- [19] Chen Q, Jin M, Yang F, et al. Matrix Metalloproteinases: Inflammatory Regulators of Cell Behaviors in Vascular Formation and Remodeling[J]. Mediators of Inflammation, 2013: 928315.
- [20] 张锋, 任景怡, 陈红. 基质金属蛋白酶 8 在动脉粥样硬化中的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2015, 23(6): 629-633.
- [21] 刘旺华, 李花, 周小青. 论神经细胞外基质与中医脾土相关及其对脑缺血保护的启示[C]//中华中医药学会中医诊断学分会第十次学术研讨会论文集, 2009: 227-232.
- [22] 李芳, 李妍, 李琳, 等. 外源性 H<sub>2</sub>S 对糖尿病大鼠心肌纤维化及 MMP-13、MMP-14 和 TIMP-1 表达的影响[J]. 重庆医科大学学报, 2015, 21(7): 993-996.
- [23] 徐正府, 姚登福, 邱历伟, 等. 慢性肝炎及肝硬化患者血清中 MMP-13、TNF- $\alpha$  及 IL-6 的表达[J]. 苏州大学学报(医学版), 2005, 25(5): 114-116, 119.

(收稿日期: 2015-09-07)

(本文编辑: 董历华)