

## 糖肾宁对自发性 2 型糖尿病 KK-Ay 小鼠肾组织 MMP-9、TIMP-1 表达的影响

邹大威 高彦彬 刘迎新 耿建国 彭麒麟 龚慕辛 朱智耀 李娇阳  
杨鑫伟 王晓磊

**【摘要】 目的** 观察糖肾宁对自发性 2 型糖尿病 KK-Ay 小鼠肾功能及肾组织降解酶系基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、基质金属蛋白酶组织抑制剂-1 (tissue inhibitor of metalloproteinase 1, TIMP-1) 蛋白及基因表达的影响。**方法** 采用自发性 2 型糖尿病 KK-Ay 小鼠建立糖尿病肾病模型,随机分为模型组、缬沙坦组和糖肾宁组各 20 只,设立 C57BL/6J 小鼠 20 只为空白组;予通心络及缬沙坦干预 12 周后,测定各组小鼠血清尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN)、血清肌酐 (serum creatinine, SCr),采用 Western Blot、Realtime-PCR、免疫组化方法检测 MMP-9、TIMP-1 蛋白表达或定位及基因表达水平。**结果** 与空白组比较,模型组小鼠 BUN、SCr 均明显升高 ( $P < 0.05$ );肾组织 TIMP-1 蛋白及基因表达明显升高、MMP-9 蛋白及基因表达明显降低 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,糖肾宁组和缬沙坦组 BUN、SCr 均明显降低 ( $P < 0.05$ ),肾组织 TIMP-1 蛋白及基因表达明显降低、MMP-9 蛋白及基因表达明显升高 ( $P < 0.05$ )。**结论** 糖肾宁能够保护自发性 2 型糖尿病 KK-Ay 小鼠肾功能、延缓糖尿病肾病肾纤维化进展,调控糖尿病肾病肾组织降解酶系可能是糖肾宁防治糖尿病肾病的作用机制之一。

**【关键词】** 糖尿病肾病; 糖肾宁; KK-Ay 小鼠; 基质金属蛋白酶-9; 基质金属蛋白酶组织抑制剂-1

**【中图分类号】** R285 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2015.11.013

**Effects of Tangshenning on MMP-9、TIMP-1 expression of renal tissue in type 2 diabetic KK-ay mice** ZOU Da-wei, GAO Yan-bin, LIU Ying-xin, et al. Capital Medical University School of Traditional Chinese Medicine & Beijing Key Laboratory of TCM Collateral Disease Theory Research, Beijing 100069, China

Corresponding author: GAO Yan-bin, E-mail: dfyynfm@163.com

**【Abstract】 Objective** To explore effects of Tangshenning on expression of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9)、tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1) in diabetic nephropathy mice model. **Methods** Diabetic male KK-Ay mice were randomly divided into three groups: the model group ( $n=20$ ), the valsartan group ( $n=20$ ) and the Tangshenning group ( $n=20$ ). Male C57BL/6J ( $n=20$ ) mice were designed as the control group. After intervention with Tangshenning and valsartan for 12 weeks, serum creatinine (Scr) and serum urea nitrogen (BUN) were examined. Expression of MMP-9, TIMP-1 were accessed by Realtime-Pcr, Western Blot and Immunohistochemistry. **Results** Compared

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金 (81302951); 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) (2012CB518602)

作者单位: 100069 北京,首都医科大学中医药学院[邹大威、高彦彬、刘迎新(硕士研究生)、耿建国、彭麒麟(硕士研究生)、龚慕辛、朱智耀、李娇阳(硕士研究生)、杨鑫伟(博士研究生)、王晓磊(硕士研究生)]; 中医络病研究北京市重点实验室[邹大威、高彦彬、刘迎新、耿建国、彭麒麟、朱智耀、李娇阳、杨鑫伟、王晓磊]

作者简介: 邹大威 (1982-), 女, 博士, 讲师, 主治医师。研究方向: 中医药防治糖尿病研究。E-mail: taotaosweety@163.com

通讯作者: 高彦彬 (1960-), 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师。研究方向: 中医药防治糖尿病研究。E-mail: dfyynfm@163.com

with control group, BUN and SCr were significantly increased ( $P < 0.05$ ), while them of mice in valsartan and tangshenning group were decreased compared with model group ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the protein and gene expression of MMP9 and TIMP-1 both have the same trend in model group, the expression of MMP9 were decreased significantly and the expression of TIMP-1 were increased significantly ( $P < 0.05$ ). Through the treatment of Tangshenning and valsartan for 12 weeks, the expression of TIMP-1 were down-regulated and the expression of MMP-9 were up-regulated in diabetic KK-Ay mice ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion** Tangshenning could protect renal function and delay the process of renal fibrosis partly through regulating extracellular matrix degradation enzymes MMP-9/TIMP-1 expression.

**【Key words】** Diabetic nephropathy; Tangshenning; KK-Ay mice; Matrix metalloproteinase-9; Tissue inhibitor of metalloproteinase 1

最近的研究报告表明中国成人糖尿病的发病率约为 11.6%, 约 1.139 亿人; 糖尿病前期的发病率约为 50.1%, 约 4.934 亿人<sup>[1]</sup>。糖尿病肾病 (diabetic nephropathy, DN) 是糖尿病最主要的微血管并发症, 也是糖尿病患者致死致残的主要原因。目前认为 DN 的主要发病机制是糖代谢紊乱、糖基化终末产物增多, 氧化应激等因素导致相应靶基因的转录、靶蛋白的表达异常进而引起的肾纤维化, 主要表现为细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 增生<sup>[2]</sup>。基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 和基质金属蛋白酶组织抑制剂-1 (tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1) 是基质金属蛋白酶系的重要成员, 在肾组织细胞外 ECM 合成和分解中起着重要的作用, 若 DN 条件下肾组织二者表达失衡, 则会导致进行性的肾纤维化<sup>[3]</sup>。本课题采用自发性 2 型糖尿病 KK-Ay 小鼠建立 DN 模型, 探讨糖肾宁是否通过调节肾组织降解酶系 TIMP-1、MMP-9, 抑制细胞外基质沉积, 保护肾功能、达到防治糖尿病肾病的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

8 周龄 SPF 级雄性 KK-Ay 小鼠 60 只, 8 周龄 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 20 只, 动物合格证号 SCXK(京)2014-0004, 均购自北京华阜康生物科技股份有限公司。

### 1.2 干预药物与试剂

糖肾宁 (配比: 黄芪 4 份、葛根 2 份、川芎 2 份、大黄 1 份、金樱子 2 份、倒扣草 3 份), 由首都医科大学中医药学院制剂室制备成浸膏粉<sup>[4]</sup>, 缙沙坦胶囊 (规格: 80 mg/粒, lot.: X1448, 北京诺华制药有限公司)。

MMP-9 抗体 (Abcam, ab38898, WB 用), TIMP-1 抗体 (R&D, AF980), MMP-9 抗体 (Abcam, ab137867, 免疫组化用); TRIzol 总 RNA 提取试剂 [DP405-02, 天根生化科技 (北京) 有限公司]; 肌酐测定试剂盒 (lot.: 143011, 中生北控生物科技股份

有限公司); 尿素测定试剂盒 (lot.: 141141, 中生北控生物科技股份有限公司)。兔超敏二步法检测试剂盒 (PV-9001, lot.: K155222C, 中杉金桥); 山羊超敏二步法检测试剂盒 (PV-9003, lot.: K145620B, 中杉金桥)。

### 1.3 仪器

半自动生化仪 (URIT-810, 桂林优利特医疗电子有限公司, 中国); 电泳仪 (DG-300C, 北京鼎国昌盛生物技术有限公司, 中国); 荧光定量 PCR 仪 (ABI7500, Applied Biosystems); 旋涡混合仪 (XW-80A, 海门市其林贝尔仪器制造有限公司); 生物显微镜 (ECLIPSE 80i, Nikon, 日本)。

### 1.4 实验方案

本实验采用自发性 2 型糖尿病 KK-Ay 小鼠建立糖尿病肾病模型, C57BL/6J 小鼠作为空白对照组小鼠, 实验全程 KK-Ay 小鼠予以高脂饲料饮食诱发糖尿病肾病, C57BL/6J 小鼠予以普通饲料喂养。8 周龄 KK-Ay 小鼠予以高脂饲料饲养 4 周后, 测定 24 小时尿白蛋白排泄率 (urinary albumin excretion rate, UAER), 与空白对照组 C57BL/6J 小鼠相比, 24 小时 UAER 明显升高且血糖  $\geq 16.7$  mmol/L 视为糖尿病肾病模型建立成功。造模成功的 KK-Ay 小鼠随机分为模型组 20 只 (等量蒸馏水灌胃), 缙沙坦组 20 只 (10 mg/kg · d 灌胃), 糖肾宁组 20 只 (生药 20 g/kg · d 灌胃); 空白对照组 20 只 (等量蒸馏水灌胃), 实验期间自由进食饮水, 连续给药 12 周。

### 1.5 标本收集及指标检测

给药 12 周末, 各组小鼠禁食 12 小时于次日清晨处理。根据小鼠体质量, 用 5% 水合氯醛麻醉 (0.1 mL/10 g), 摘眼球取血, 分离血清 4℃ 保存待测, 采用苦味酸法测定血清肌酐, 采用酶偶联速率法测定血清尿素氮。取肾脏纵切, 一半用于 10% 多聚甲醛固定、石蜡包埋, 用于后续 Masson 染色和免疫组化检测, 一半用预冷的生理盐水洗去血渍和杂质, 取肾皮质迅速放入液氮中保存, Western Blot 方

法检测肾组织中 MMP-9 及 TIMP-1 蛋白表达水平, Realtime-PCR 方法检测肾组织中 MMP-9 及 TIMP-1 mRNA 表达水平。

### 1.6 Western blot

将肾组织用灭菌的预冷的眼科剪刀分离,迅速放入匀浆器中匀浆,超声粉碎,4℃离心后取上清,BCA 法蛋白定量。每个样品取相同总蛋白含量在 10% SDS-PAGE 胶上电泳分离,之后转印至硝酸纤维素膜(XLL092-2,PALL)。用 5% 脱脂奶粉封闭振荡,一抗 4℃ 孵育过夜, TBST 摇床洗膜 5 分钟×3 次,二抗孵育, TBST 摇床洗膜 5 分钟×3 次, ECL 试剂暗室内胶片曝光,扫描胶片,用图像分析软件分析目标条带。

### 1.7 实时定量荧光 PCR(Realtime-PCR)

采用 TRIzol 总 RNA 提取试剂进行样本 RNA 提取,采用 PrimeScript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 进行 cDNA 反转录,用 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪进行扩增,实验操作按产品说明书进行,采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法进行数据的相对定量分析。以下引物均在北京 Invitrogen 公司合成,具体如下:

表 1 引物序列

基因名称	引物序列(5'to 3')	产物大小(bp)
MMP-9	上游引物: GCGTGTCTGGAGATTCGAC	166
	下游引物: GAAACTCACACGCCAGAAGA	
TIMP-1	上游引物: TCTTGTTCCCTGGCGTACT	138
	下游引物: CCGATCCGTCACAAACAGT	
ACTIN	上游引物: GCCTTCCTTCTTGGGTAT	174
	下游引物: GGCATAGAGGTCTTTACGG	

### 1.8 免疫组化

按照常规免疫组化步骤进行,制作石蜡切片,厚度 4μm,微波炉内进行抗原修复,滴入 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 灭活,10% 血清封闭,加入一抗,4℃ 冰箱孵育一晚,烤箱 37℃ 复温 60 分钟,0.01M PBS 漂洗三次,滴入适当二抗,烤箱 37℃ 孵育, PBS 漂洗三次, DAB 染色,镜下控制反应时间,苏木素轻度复染,脱水,透明,封片,光学显微镜观察。

### 1.9 统计方法

采用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA),数据以均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,统计数据符合正态分态且方差齐,多重比较均采用 LSD 检验,以  $P < 0.05$  为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 糖肾宁对肾功能的影响

24 周龄时,与空白组(CTL)相比,模型组(M)

小鼠的 BUN、SCr 明显升高( $P < 0.05$ );与模型组相比,缬沙坦(XST)、糖肾宁组(TSN)小鼠的 BUN、SCr 均有不同程度的降低( $P < 0.05$ ),各干预组间比较无显著差异( $P > 0.05$ )。实验结果表明糖肾宁具有明显的保护肾功能的作用。见表 2。

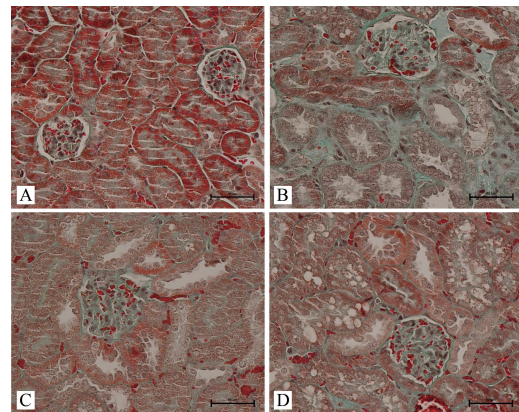
表 2 各组小鼠 24 周龄 BUN、SCr 的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	BUN(mmol/L)	SCr(μmol/L)
CTL	12	9.32±2.54	18.70±1.66
M	12	13.42±1.95 <sup>a</sup>	27.28±2.31 <sup>a</sup>
XST	12	10.95±1.69 <sup>b</sup>	23.69±2.03 <sup>b</sup>
TSN	12	10.68±1.65 <sup>b</sup>	24.14±2.50 <sup>b</sup>

注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

### 2.2 糖肾宁对糖尿病小鼠肾组织纤维化的影响

本实验采用 Masson 染色观察糖肾宁对糖尿病小鼠肾组织纤维化的影响,Masson 染色是观察显示组织中纤维的一种特殊染色方法,如图所示绿染区为纤维成分,主要沉积在肾小球系膜区及肾间质。空白组:肾组织形态大致正常,肾小管排列整齐,胶原沉积较少。模型组:肾小球肥大,肾小管形态结构较模糊,呈空泡样病变,肾小球系膜区及肾间质胶原沉积较多。糖肾宁组及西药组较模型组的肾纤维化程度有所减轻。见图 1。



A 空白组 B 模型组 C 缬沙坦组 D 糖肾宁组

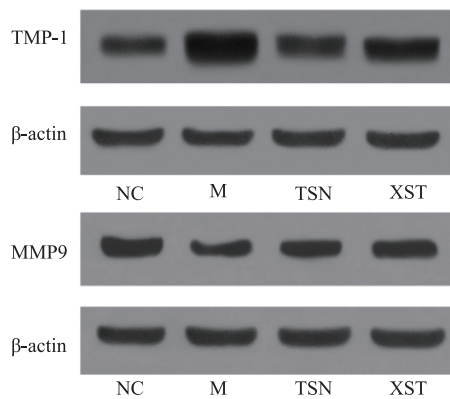
图 1 各组小鼠肾组织病理改变比较

(Masson 染色, Bar=50 μm, ×400)

### 2.3 Western Blot 方法检测糖肾宁对 MMP-9、TIMP-1 蛋白表达的影响

与空白对照组相比,模型组肾组织 MMP-9 蛋白表达明显降低( $P < 0.05$ );与模型组相比,糖肾宁及缬沙坦组肾组织 MMP-9 蛋白表达明显升高( $P < 0.05$ )。与空白对照组相比,模型组肾组织 TIMP-1 表达明显升高( $P < 0.05$ );与模型组相比,糖肾宁及缬沙坦组肾组织 TIMP-1 蛋白表达明显降低( $P < 0.05$ )。见图 2、表 3。





NC:空白组;M:模型组;TSN:糖肾宁组;XST:缬沙坦组  
图2 各组小鼠肾组织 MMP-9、TIMP-1 蛋白表达比较

表3 各组小鼠肾组织中 MMP-9、TIMP-1 的蛋白表达比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	MMP-9/ $\beta$ -actin	TIMP-1/ $\beta$ -actin
CTL	4	1.98 $\pm$ 0.14	1.29 $\pm$ 0.16
M	4	1.16 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	2.95 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>
XST	4	1.43 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>	2.05 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>
TSN	4	1.39 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	1.79 $\pm$ 0.23 <sup>b</sup>

注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$

2.4 Realtime-PCR 方法检测糖肾宁对 MMP-9、TIMP-1 基因 mRNA 转录水平的影响

与空白对照组相比,模型组肾组织 MMP-9 mRNA 表达明显降低( $P<0.05$ );与模型组相比,糖肾宁及缬沙坦组肾组织 MMP-9 mRNA 表达明显升高( $P<0.05$ )。与空白对照组相比,模型组肾组织 TIMP-1 mRNA 表达明显升高( $P<0.05$ );与模型组相比,糖肾宁及缬沙坦组肾组织 TIMP-1 mRNA 表达明显降低( $P<0.05$ )。见表4。

表4 各组小鼠肾组织中 MMP-9、TIMP-1 mRNA 表达的比较( $\bar{x}\pm s$ )

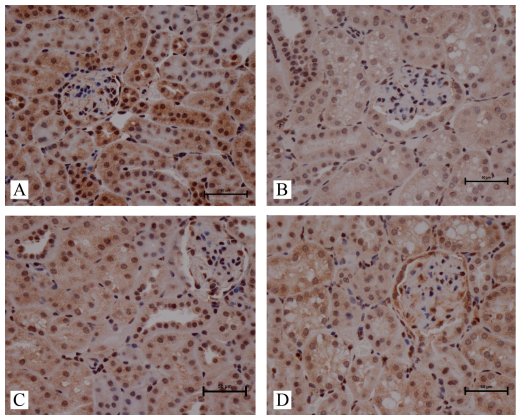
组别	n	MMP-9 mRNA	TIMP-1 mRNA
CTL	5	1.05 $\pm$ 0.05	1.03 $\pm$ 0.04
M	5	0.21 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	4.33 $\pm$ 0.26 <sup>a</sup>
XST	5	0.64 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	2.89 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>
TSN	5	0.69 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	2.77 $\pm$ 0.17 <sup>b</sup>

注:与空白组比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$

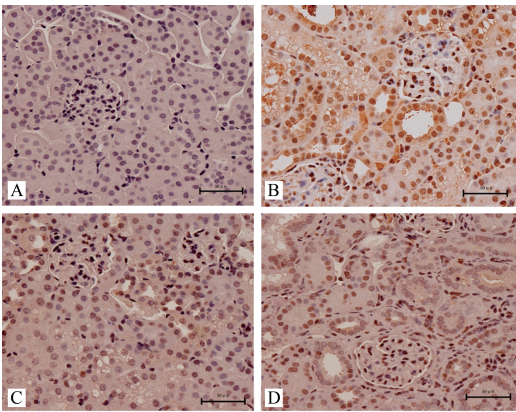
2.5 免疫组化方法检测糖肾宁对 MMP-9、TIMP-1 蛋白表达的影响

如图所示,棕黄色为 MMP-9、TIMP-1 阳性染色区,主要表达在肾小球,系膜区及肾小管。空白组 C57 小鼠 MMP-9 表达较多,TIMP-1 表达较少,模型组 KK-Ay 小鼠 MMP-9 表达较少、TIMP-1 表达较多,经糖肾宁及缬沙坦治疗后有所改善。这与 Western

blot 及 Realtime-PCR 检测 MMP-9、TIMP-1 蛋白和基因表达各组趋势是一致的。见图3、4。



A 空白组 B 模型组 C 缬沙坦组 D 糖肾宁组  
图3 各组小鼠肾组织 MMP-9 蛋白表达及定位典型图片  
(Bar=50  $\mu$ m, $\times 400$ )



A 空白组 B 模型组 C 缬沙坦组 D 糖肾宁组  
图4 各组小鼠肾组织 TIMP-1 蛋白表达及定位典型图片  
(Bar=50  $\mu$ m, $\times 400$ )

3 讨论

目前2型糖尿病肾病的建立,应用较为广泛的是高糖高脂饮食加小剂量链脲佐菌素(streptozocin, STZ)注射诱导2型DN动物模型的建立,但不同动物个体对STZ注射后胰腺损伤也具有个体差异,为疾病研究的准确性带来了干扰<sup>[5]</sup>。本实验的KK-Ay小鼠模型是在KK小鼠的基础上转入黄色肥胖基因(Ay)而成,遗传背景清楚,血糖在小鼠16周龄达到中高水平,持续稳定,符合2型糖尿病动物模型的特点,且非常接近人类DN的临床表型<sup>[6]</sup>。本实验结果表明12周龄KK-Ay小鼠的尿白蛋白及血糖均符合糖尿病肾病的成模标准,说明模型建立成功。糖肾宁给药12周后具有明显的降低血清肌酐、尿素氮的作用,提示糖肾宁能够保护2型糖尿病肾病

KK-Ay 小鼠肾功能。

目前普遍认为糖尿病肾病是糖代谢紊乱,血流动力学异常,氧化应激,细胞因子多种因素综合作用的结果<sup>[7]</sup>。其主要的病理特征是 ECM 在肾小球及肾间质的沉积,最终导致肾小球硬化及肾间质纤维化,因此 ECM 降解系统与糖尿病肾病密切相关。MMPS/TIMPS 是参与 ECM 降解过程的重要酶系,其中 MMP-9 为相对分子质量为 92000 的明胶酶,是肾脏表达的基质金属蛋白酶家族的主要成员,可降解多种 ECM 组分(Ⅳ型胶原、Ⅴ型胶原、Ⅵ型胶原及纤维连接蛋白等)。TIMP-1 是体内存在和作用最广泛的一种 TIMPs,在肾脏主要表达于肾小球系膜细胞、内皮细胞、上皮细胞,是 MMP-9 的特异性抑制物<sup>[8]</sup>。高糖条件下,肾脏固有细胞及间质细胞合成的多种细胞因子及生长因子自分泌及旁分泌的方式发挥其作用,最终导致系膜细胞增殖,细胞外基质增生,导致 DN 的发生。而细胞因子(如结缔组织生长因子)可通过影响肾脏 MMP-9 及 TIMP-1 的表达和活化,引起 MMP-9 表达下降, TIMP-1 表达升高,导致 ECM 合成及降解失衡<sup>[9-10]</sup>。研究表明糖尿病大鼠模型的 MMP-9 的蛋白表达水平随着 DN 进展明显下调<sup>[11]</sup>。

本研究结果显示,与空白对照组相比,模型组小鼠肾组织 MMP-9 蛋白及基因表达明显降低, TIMP-1 蛋白及基因表达明显升高, DN 小鼠肾组织 ECM 降解酶系 MMP-9/TIMP-1 失衡,势必导致 ECM 沉积增加, Masson 染色显示肾小球系膜区及肾间质胶原沉积较多。经糖肾宁治疗后 DN 小鼠肾组织 MMP-9/TIMP-1 失衡有所改善,肾脏病理亦有明显改善。提示糖肾宁能够通过调控 ECM 降解酶系 MMP-9/TIMP-1,抑制 DN 小鼠肾组织肾纤维化,延缓 DN 进展。

本研究团队认为糖尿病肾病日久出现的肾系并发症,病位在肾,继发于消渴病,因此称为消渴病肾病<sup>[12]</sup>。糖尿病肾病的基本病理改变是肾之络脉结构损伤,导致肾功能失常,糖肾宁是在通络原则指导下结合老师多年临床经验创立的方剂,主要由黄芪、金樱子、川芎、大黄等组成,方中黄芪益气扶正,金樱子固精缩尿,大黄逐瘀清热降浊,川芎活血化瘀通络。前期临床研究<sup>[13]</sup>表明糖肾宁可明显降低 DN 患者尿白蛋白、保护肾功能,安全有效。中药药理研究表明黄芪通过免疫调节、降低尿蛋白、调节血糖血脂、改善肾脏血流动力学异常及抗纤维化等作用共同参与了肾脏保护机制<sup>[14]</sup>;金樱子具有抗氧化、增强免疫力及保护肾脏等作用<sup>[15]</sup>;大黄具有

保护肾功能的作用<sup>[16]</sup>;川芎能够抑制肾细胞凋亡,保护肾脏<sup>[17]</sup>。

本实验研究结果提示中药复方糖肾宁具有防治糖尿病肾病,保护肾功能的作用,其机制与通过调控 ECM 降解酶系 MMP-9/TIMP-1 蛋白及基因表达,减少肾组织 ECM 沉积,抑制肾纤维化有关,但是否通过其他机制防治糖尿病肾病的进展尚需进一步的研究。

## 参 考 文 献

- [1] Yu Xu, Limin Wang, Jiang He, et al. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults [J]. JAMA, 2013, 310 (9): 948-958.
- [2] Williams WW, Salem RM, McKnight AJ, et al. GENIE Consortium, Association testing of previously reported variants in a large case-control meta-analysis of diabetic nephropathy [J]. Diabetes, 2012, 61 (8): 2187-2194.
- [3] 刘兰英, 檀金川. TIMP-1、MMP-9 与糖尿病肾病的关系[J]. 临床合理用药, 2014, 7 (10): 173-174.
- [4] 邹大威, 高彦彬, 李娇阳, 等. 糖肾宁对糖尿病肾病大鼠肾组织 nephrin, desmin 表达的影响[J]. 环球中医药, 2015, 8 (3): 307-312.
- [5] 刘晓丹, 杨刚, 范秋灵, 等. 自发性 2 型糖尿病动物模型 KK-Ay 小鼠肾脏损害的特征与演变[J]. 中国医科大学学报, 2011, 40 (2): 104-106.
- [6] Iwatasuka H, Shimo A, Suzuoki Z. General survey of diabetic features of yellow KK mice [J]. Endocrinol Jpn, 1970, 17 (1): 23-35.
- [7] 林善锁. 糖尿病肾病发病机制的研究进展[J]. 中华内科杂志, 2001, 40 (11): 782.
- [8] 肖谦, 汪恕萍, 郭建增. 金属蛋白酶-2 和金属蛋白酶组织抑制物-1 与糖尿病肾病关系的实验研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2003, 11 (3): 194.
- [9] 王广利, 杨毅华, 洪楷, 等. MMP-9 对 1 型糖尿病肾病早期诊断的意义[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34 (5): 526-529.
- [10] 王玉梅. 糖尿病肾病肾组织纤维化发病机制的研究进展[J]. 国外医学泌尿系统手册, 2003, 23 (5): 543-546.
- [11] 陶仕英, 王晓梅, 穆长征, 等. 金属蛋白酶-9 在糖尿病肾病发病机制中的作用[J]. 解剖学杂志, 2009, 32 (1): 35-37.
- [12] 高彦彬, 赵慧玲. 从络病学说论治糖尿病慢性并发症[J]. 世界中医药, 2007, 2 (6): 357-358.
- [13] 高彦彬, 赵慧玲, 关崧, 等. 糖肾宁治疗气阴两虚、络脉瘀滞型早期糖尿病肾病临床研究[J]. 中华中医药杂志, 2006, 21 (7): 409-411.
- [14] 焦志娜, 张昱. 黄芪治疗肾脏病机理研究进展[J]. 中国中医药现代远程教育, 2012, 10 (22): 155-157.
- [15] 吴玉兰, 曹运长. 中药金樱子的化学成分及其药理作用研究进展[J]. 微量元素与健康研究, 2012, 29 (1): 53-56.
- [16] 唐铭坚, 谭礼萍, 刘争红. 大黄的药理活性研究进展[J]. 中国热带医学, 2012, 12 (7): 886-889.
- [17] 金玉青, 洪远林, 李建蕊, 等. 川芎的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中药与临床, 2013, 4 (3): 44-48.

(收稿日期: 2015-08-15)

(本文编辑: 蒲晓田)