

反义基质金属蛋白酶抑制剂-1 基因转染对氧化应激反应介导的肺纤维化大鼠的影响^{*}

荆州市中心医院 朱峰 翟立红¹ 严晓娟^{1*}, 荆州 434020

摘要 目的:探讨反义基质金属蛋白酶抑制剂-1 (TIMP-1cDNA) 基因转染对氧化应激反应介导的肺纤维化大鼠的影响。方法:取 40 只大鼠,其中 30 只建立肺纤维化模型,随机分为模型组、反义组和空载组,其余 10 只为对照组。术后第 1 天,反义组和空载组向气管分别注入反义 TIMP-1cDNA 逆转录病毒载体和空载体,模型组和对照组注入生理盐水溶液。观察 4 组大鼠一般体征和肺组织病理学变化,对比肺系数、丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD) 水平及谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽 (GSH/GSSG) 比值;对比肺组织中基质金属蛋白酶-9 (MMP-9)、TIMP-1、IV 型胶原 mRNA 和蛋白相对表达量及 MMP-9/TIMP-1 比值。结果:对照组大鼠一般状态良好,但模型组和空载组状态逐渐变差,反义组有所改善;对照组肺组织正常,模型组和空载组肺纤维化及组织结构损伤严重,反义组较模型组减轻,但仍有炎症细胞。肺系数、肺组织 MDA 水平、TIMP-1、IV 型胶原 mRNA 和蛋白相对表达量对照组最低,反义组其次,模型组和空载组最高;肺组织 SOD 水平、GSH/GSSG 对照组最高,反义组其次,模型组和空载组最低;肺组织 MMP-9/TIMP-1 mRNA 相对表达量及 MMP-9/TIMP-1 比值组间比较,反义组最高,模型组和空载组其次,对照组最低。上述指标模型组和空载组均相近 ($P > 0.05$),其余每 2 组间比较差异均显著 (均 $P < 0.05$)。结论:反义 TIMP-1 基因转染可减轻氧化应激反应介导的肺纤维化,可能与下调 TIMP-1、上调 MMP-9 mRNA 和蛋白表达有关。

关键词 基质金属蛋白酶抑制剂-1; 氧化应激; 肺纤维化

中图分类号 R563.9

文献标识码 A

DOI 10.11768/nkjwzzzz20190617

Effect of antisense TIMP-1 gene transfection on oxidative stress-mediated pulmonary fibrosis in rats ZHU Feng, ZHAI Li-hong, YAN Xiao-juan^{1*}. Jingzhou Central Hospital, Jingzhou 434020, China

Abstract Objective: To investigate the effect of antisense tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1cDNA) transfection on oxidative stress-mediated pulmonary fibrosis in rats. Methods: Thirty of 40 rats were modeled as pulmonary fibrosis. They were randomly divided into model group, antisense group and no-load group ($n = 10$ each), and the remaining 10 served as control group. On the first postoperative day, the antisense group and no-load group were injected into the trachea with antisense TIMP-1 cDNA retroviral vector and empty vector respectively. The model group and the control group were injected with physiological saline solution for 28 days. The general signs of the rats were observed. The pathological changes of lung tissues in each group were observed. The pulmonary coefficient, the levels of lung malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) levels and glutathione/glutathione oxidized (GSH/GSSG) were compared. The relative expression levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), TIMP-1, type IV collagen mRNA and protein and MMP-9/TIMP-1 in lung tissue were compared. Results: The rats in the control group were generally in good condition, those in the model group and the empty group gradually deteriorated, and those in the antisense group improved. Pathological observation showed that the lung tissue of the control group was normal. Pulmonary fibrosis and structural damage were severe in the model group and the empty group, and those in the antisense group were relieved as compared with the model group, but there were still inflammatory cells. The lung coefficient, MDA levels in lung tissues, TIMP-1, and IV collagen mRNA and protein relative expression were the lowest in control group, the second in antisense group, the highest in model group and no-load group. The levels of SOD, GSH/GSSG in lung tissues were the highest in the control group, the second in antisense group, the lowest in model group and no-load group. The relative expression levels of MMP-9 mRNA and MMP-9/TIMP-1 in lung tissues in the antisense group were the highest, followed by the model group and no-load group, lowest in the control group. The above indexes were similar between the model group and the no-load group ($P > 0.05$), and there were significant differences between the rest each two groups (all $P < 0.05$). Conclusion: Antisense TIMP-1 gene transfection can alleviate oxidative stress-mediated pulmonary fibrosis, which may be related to down-regulation of TIMP-1, and up-regulation of MMP-9 mRNA and protein expression.

Key words Tissue inhibitor of metalloproteinase-1; Oxidative stress; Pulmonary fibrosis

^{*}基金项目:湖北省卫计委基金项目 (No: WJ2018M288)

¹湖北文理学院附属医院,襄阳市中心医院

^{*}通信作者:严晓娟, E-mail: 14360814@qq.com

肺纤维化是由多种疾病引起的慢性肺间质性疾病。目前临床中对肺纤维化的治疗仍不乐观,预后中位生存期仅为 3 年^[1]。随着分子生物学技术的不断发展,人们对细胞因子或其抑制剂参与肺纤维化的机制进行了更深入的了解^[2~3]。研究发现,应用细胞因子或其抑制剂干预肺纤维化进展具有特异性强、副作用小等优点,在肺纤维化治疗中具有广泛前景^[4]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)在肺纤维化细胞外基质的代谢过程中起重要作用。本研究观察肺局部转染反义 MMP 抑制剂-1 (matrix metalloproteinase inhibitor-1cDNA, TIMP-1cDNA)对氧化应激反应介导的肺纤维化大鼠的影响,报道如下。

材料与方法

材料

实验动物:无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级雄性多雷(sprague dawley, SD)大鼠 40 只,8 周龄,体质量 180~220 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号 SCXK(京)2017-0001。

药物、主要试剂和仪器:博来霉素 A5 (Bleomycin A5, BLMA5, 天津太河制药有限公司,批号:150306,规格:8 mg/支),反义 TIMP-1cDNA 逆转录病毒载体及空载体由南京大学医学院临床学院惠赠,氧化应激指标检测试剂盒(南京建成生物工程研究所),Trizol (Invitrogen 公司),逆转录试剂盒 (Takara 公司),二喹啉甲酸(Bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量分析试剂盒(Thermo 公司),兔抗大鼠基质金属蛋白酶-9 (Matrix metalloproteinase-9, MMP-9)单抗、TIMP-1 多抗、IV 型胶原多抗 (Santa Cruz 公司),二氨基联苯胺 (Diaminobenzidine, DAB)显色试剂盒(福州迈新公司);SM2010R 型切片机、EG1150 型分体式包埋机(徕卡显微系统贸易公司),7500 实时荧光定量聚合酶链反应(Polymerase chain reaction, PCR)仪、PE2400 电泳仪、ChemiDoc XRS 化学发光成像分析系统(Bio-rad 公司)。

方法

模型建立与干预:取 30 只大鼠建立肺纤维化模型:10 g/L 戊巴比妥钠麻醉大鼠,仰卧位固定后颈部剃毛备皮。消毒后颈部正中切口暴露气管,注射器于气管软骨环间隙按照 5 mg/kg 注射 0.4% BLMA5 生理盐水溶液,立即竖立大鼠并旋转,缝合切口消毒。大鼠苏醒后将其随机分为 3 组:模型组、反义

组、空载组。其余 10 只大鼠同法注射等量生理盐水溶液,设为对照组。术后第 1 天,反义组和空载组分别向气管注入 0.5 mL 反义 TIMP-1cDNA 逆转录病毒载体和空载病毒载体,模型组和对照组分别注入 0.5 mL 生理盐水溶液,继续饲养 28 d。

肺系数及肺组织病理学观察:干预 28 d 后脱颈处死大鼠,称取大鼠体质量及肺湿重,取部分左肺组织立即置于 10% 甲醛溶液中固定 48 h 后,酒精梯度脱水,常规石蜡包埋,制作 5 μ m 连续切片。切片经二甲苯脱蜡后,酒精梯度水化,采用常规苏木精-伊红(Hematoxylin-Eosin, HE)染色法进行染色,中性树胶封片后置于显微镜下观察。肺系数=肺湿重/体质量。

氧化损伤指标检测:干预 28 d 后脱颈处死大鼠,取左肺后称取质量,然后取 2 g 肺组织加入 10 mL 生理盐水制备组织匀浆液,3 000 转/min 离心 10 min 后取上清液, -80℃ 冻存备用。严格按照试剂盒说明书操作步骤,检测上清液丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)、氧化型谷胱甘肽(glutathione Oxidized, GSSG)水平。

肺组织基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、TIMP-1、IV 型胶原信使核糖核酸(messenger ribonucleic acid, mRNA)相对表达量检测:取肺组织 75 mg,立即加入液氮研磨,并用 Trizol 法提取组织中总 RNA,逆转录试剂盒将合成反向转录脱氧核糖核苷酸(c deoxyribonucleotide, cDNA)。产物经琼脂糖凝胶电泳法鉴定并检测 cDNA 浓度,进行实时荧光定量 PCR,设定反应体系:荧光结合探针(SYBR Premix Ex Taq)11.5 μ L, 5 μ mol/L 上下游引物各 1 μ L, cDNA 1 μ L, 重蒸水(ddH₂O)10.5 μ L;反应条件:95℃ 预变性 1 min;94℃ 变性 30 s, 59℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 45 s, 重复 35 个循环。以内参(β -actin)为管家基因, 2- $\Delta\Delta$ CT 为目的基因的相对表达强度,所有实验重复 3 次取平均值。引物均由金瑞斯生物科技有限公司设计及合成。

肺组织 MMP-9、TIMP-1、IV 型胶原蛋白相对表达量检测:取肺组织液氮研磨后加入细胞裂解液,沸水浴、离心后取上清液,采用 BCA 法进行蛋白定量。取 50 μ g 样品加入等体积缓冲液混匀,沸水浴 3 min, 12 000 转/min 离心 10 min 取上清液,进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳,电转仪电转 60 min,加入封闭液室温摇床孵育 2 h,加入一抗(1:1 000), 4℃ 摇床孵育过夜后加入二抗(1:10 000),常温孵育

1 h, DAB 显色试剂盒暗室中曝光、显影。以 MMP-9、TIMP-1、IV 型胶原蛋白灰度值与内参 β -actin 灰度值表示蛋白相对表达量。

观察指标:①大鼠一般情况;②肺组织病理学及肺系数;③肺组织 MDA、SOD 水平及 GSH/GSSG 比值;④肺组织 MMP-9、TIMP-1、IV 型胶原 mRNA 相对表达量及 MMP-9/TIMP-1 比值;⑤肺组织 MMP-9、TIMP-1、IV 型胶原蛋白相对表达量及 MMP-9/TIMP-1 比值。

统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件,计量资料均采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,2 组间比较用 t 检验;多组本比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

大鼠一般情况 对照组大鼠活动正常,毛发正常;模型组和空载组大鼠术后第二天开始发现食欲不振、眼神呆滞喜卧,逐渐消瘦、毛发蓬乱无光泽;反义组大鼠精神及活动状况较模型组和空载组大鼠有所改善。

肺组织病理学观察及肺系数比较 肺系数组间比较,对照组最低,反义组其次,模型组和空载组最高。除模型组和空载组无明显差异外($P > 0.05$),每 2 组间比较差异均显著(均 $P < 0.05$)。肺组织病理学观察,对照组肺泡壁结构完整,无水肿及炎症现象;模型组和空载组肺间隔明显增宽,部分肺泡壁塌陷,胶原纤维增生明显;反义组肺间隔、胶原纤维较模型组减轻,但仍有炎症细胞聚集,见表 1,图 1。

表 1 肺系数比较 $(\bar{x} \pm s)$

组别	只	肺系数($\times 10^{-3}$)
对照组	10	5.90 ± 0.61
模型组	10	$10.52 \pm 1.40^{*\Delta}$
空载组	10	$11.04 \pm 1.36^{*\Delta}$
反义组	10	$7.94 \pm 0.81^*$

注:与对照组比较, $^*P < 0.05$;与反义组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

肺组织 MDA、SOD 水平及 GSH/GSSG 比值比较

肺组织 MDA 水平、SOD 水平、GSH/GSSG 比值组间比较,除模型组和空载组无明显差异外($P > 0.05$),每 2 组间比较差异均显著(均 $P < 0.05$),见表 2。

表 2 肺组织 MDA、SOD 水平及 GSH/GSSG 比值比较

$(\bar{x} \pm s)$

组别	只	MDA (nmol/mgprot)	SOD (U/mgprot)	GSH/GSSG
对照组	10	0.81 ± 0.09	53.12 ± 6.20	0.18 ± 0.02
模型组	10	$1.13 \pm 0.15^{*\Delta}$	$35.46 \pm 4.02^{*\Delta}$	$0.11 \pm 0.01^{*\Delta}$
空载组	10	$1.17 \pm 0.12^{*\Delta}$	$34.88 \pm 3.95^{*\Delta}$	$0.10 \pm 0.01^{*\Delta}$
反义组	10	$0.97 \pm 0.10^*$	$45.07 \pm 5.13^*$	$0.15 \pm 0.02^*$

注:与对照组比较, $^*P < 0.05$;与反义组比较, $^{\Delta}P < 0.05$

肺组织 MMP-9、TIMP-1、IV 型胶原 mRNA 相对表达量及 MMP-9/TIMP-1 比值比较 肺组织 MMP-9 mRNA、TIMP-1、IV 型胶原 mRNA 相对表达量及 MMP-9/TIMP-1 比值组间比较,除模型组和空载组无明显差异外($P > 0.05$),每 2 组间比较差异均显著(均 $P < 0.05$),见表 3。

肺组织 MMP-9、TIMP-1、IV 型胶原蛋白相对表达量及 MMP-9/TIMP-1 比值比较 MMP-9、TIMP-1、IV 型胶原蛋白相对表达量及 MMP-9/TIMP-1 比值组间比较,除模型组和空载组无明显差异外($P > 0.05$),每 2 组间比较差异均显著(均 $P < 0.05$),见表 4,图 2。

讨 论

肺纤维化进展过程包括细胞外基质(extracellular matrix, ECM)增生、肺实质重构等多种病理学特点,其中氧化应激反应在其进展中扮演了重要角色^[5]。反义核酸技术是从反向生物学的角度来探索基因表达及调控的一种技术,具有靶向性及可调控性^[6]。本研究应用反义转染的 TIMP-1cDNA 对肺纤维化大鼠进行干预,观察其对大鼠肺氧化应激、ECM 增生等的影响。

本研究发现,模型组和空载组大鼠一般状态和

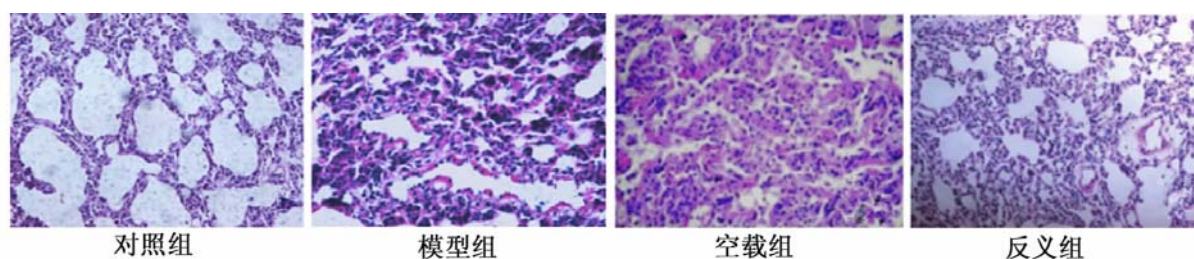


图 1 肺组织病理学观察(HE 染色, $\times 200$)

表3 肺组织 MMP-9、TIMP-1、IV型胶原 mRNA 相对表达量及 MMP-9/TIMP-1 比值比较

($\bar{x} \pm s$)

组别	只	MMP-9	TIMP-1	MMP-9/TIMP-1	IV型胶原
对照组	10	0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.01	1.09 ± 0.11	0.15 ± 0.04
模型组	10	0.77 ± 0.09 ^{*△}	0.52 ± 0.06 ^{*△}	1.48 ± 0.15 ^{*△}	1.76 ± 0.21 ^{*△}
空载组	10	0.79 ± 0.07 ^{*△}	0.54 ± 0.05 ^{*△}	1.46 ± 0.17 ^{*△}	1.79 ± 0.20 ^{*△}
反义组	10	0.93 ± 0.12 [*]	0.33 ± 0.05 [*]	2.82 ± 0.27 [*]	0.83 ± 0.09 [*]

注:与对照组比较,^{*} $P < 0.05$;与反义组比较,[△] $P < 0.05$

表4 肺组织 MMP-9、TIMP-1、IV型胶原蛋白相对表达量、MMP-9/TIMP-1 比值比较

($\bar{x} \pm s$)

组别	只	MMP-9	TIMP-1	IV型胶原	MMP-9/TIMP-1
对照组	10	0.17 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.89 ± 0.09
模型组	10	0.73 ± 0.10 ^{*△}	0.56 ± 0.06 ^{*△}	0.98 ± 0.09 ^{*△}	1.30 ± 0.14 ^{*△}
空载组	10	0.71 ± 0.08 ^{*△}	0.54 ± 0.06 ^{*△}	0.97 ± 0.10 ^{*△}	1.31 ± 0.15 ^{*△}
反义组	10	0.92 ± 0.15 [*]	0.44 ± 0.05 [*]	0.71 ± 0.09 [*]	2.55 ± 0.26 [*]

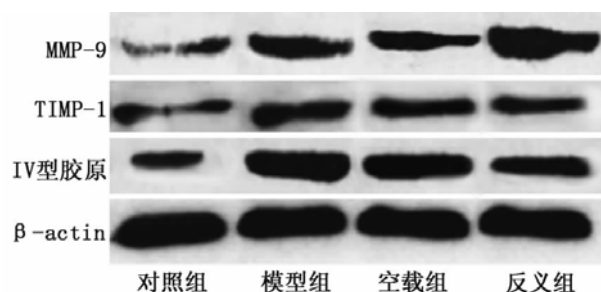
注:与对照组比较,^{*} $P < 0.05$;与反义组比较,[△] $P < 0.05$ 

图2 蛋白免疫印迹图

病理学均较差,反义组有所改善,对照组肺系数、MDA水平最低,反义组其次,模型组和空载组最高(均 $P < 0.05$),SOD水平、GSH/GSSG比值变化趋势相反(均 $P < 0.05$),提示反义TIMP-1基因转染可减轻大鼠纤维化过程中氧化应激损伤。活性氧(reactive oxygen species,ROS)是多种疾病的重要介质,氧化/抗氧化失衡在肺纤维化进展过程中有重要作用^[7,8]。SOD是机体重要的ROS清除剂,是抗氧化的第一道防线,氧化应激时SOD减少^[9]。当ROS过量时可造成细胞膜中多不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应,使得MDA生成量增多^[10]。GSH/GSSG比值可反映氧化还原缓冲系统状态,对机体氧化应激十分敏感,氧化应激损伤时,GSH减少,GSH/GSSG比值减少^[11]。研究证实^[12],当机体氧化应激水平升高时,可引起炎症反应,可通过激活核因子κB调控MMP-9基因的表达,参与ECM代谢。本研究应用反义TIMP-1基因转染进行局部干预后,可能通过调节细胞外TIMP-1表达,进而调节MMP-9水平,参与调节肺组织氧化应激平衡,抑制肺纤维化进程。

此外,本研究中,肺组织TIMP-1、IV型胶原mRNA和蛋白相对表达量组间比较,对照组最低,反义组其次,模型组和空载组最高(均 $P < 0.05$),MMP-9

mRNA相对表达量及MMP-9/TIMP-1组间比较,反义组最高,模型组和空载组其次,对照组最低(均 $P < 0.05$),提示反义TIMP-1基因转染抑制肺纤维化、缓解氧化应激损伤可能与下调TIMP-1、上调MMP-9 mRNA和蛋白表达有关。有研究发现,肺泡壁基底膜损伤是肺纤维化病程进展中的关键,胶原蛋白可被MMPs降解^[13]。MMP-9属于锌离子依赖的内切蛋白水解酶家族重要成员之一,IV型胶原蛋白是其重要作用底物^[14]。TIMP-1是一种小分子蛋白,可阻断MMP-9与其相应底物结合,抑制ECM降解^[15]。正常状态下,MMP-9与TIMP-1间处于动态平衡状态,维持ECM平衡;肺纤维化时产生氧化应激损伤,MMP-9/TIMP-1平衡被打破,引起早期炎症损伤^[16]。随着病情进展,成纤维细胞增多,导致其分泌的TIMP-1增多,MMP-9/TIMP-1比值下降,ECM分解代谢不足,胶原沉积,肺纤维化形成^[17]。在纤维化早期应用反义TIMP-1基因转染,TIMP-1表达被抑制,释放MMP-9活性,MMP-9/TIMP-1比值进一步升高,IV型胶原被大量分解,抑制纤维化进程,利于肺组织修复重塑。

综上所述,反义TIMP-1基因转染可减轻氧化应激损伤介导的大鼠肺纤维化,抑制其进程,推测与下调TIMP-1、上调MMP-9表达有关。

参考文献

- Collard HR, Ryerson CJ, Corte TJ, et al. Acute Exacerbation of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An International Working group Report [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2016, 194(3):265-275.
- 朱平, 邢顺鹏, 徐侨翌, 等. 正丁酸抑制脂多糖诱导肺纤维化的作用及机制[J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28(1):8-14.

(下转第507页)

- smooth muscle cell proliferation through inhibition of the STAT3/Pim-1/NFAT pathway[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2014, 50(2): 379-388.
- 17 Sutendra G, Dromparis P, Wright P, et al. The role of Nogo and the mitochondria-endoplasmic reticulum unit in pulmonary hypertension[J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3(88): 88ra55.
 - 18 Dromparis P, Paulin R, Sutendra G, et al. Uncoupling protein 2 deficiency mimics the effects of hypoxia and endoplasmic reticulum stress on mitochondria and triggers pseudohypoxic pulmonary vascular remodeling and pulmonary hypertension[J]. *Circ Res*, 2013, 113(2): 126-136.
 - 19 Sutendra G, Dromparis P, Bonnet S, et al. Pyruvate dehydrogenase inhibition by the inflammatory cytokine TNF α contributes to the pathogenesis of pulmonary arterial hypertension[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2011, 89(8): 771-783.
 - 20 Sutendra G, Bonnet S, Rochefort G, et al. Fatty acid oxidation and malonyl-CoA decarboxylase in the vascular remodeling of pulmonary hypertension[J]. *Sci Transl Med*, 2010, 2(44): 44ra58.
 - 21 de Frutos S, Spangler R, Alb D, et al. NFATc3 Mediates Chronic Hypoxia-induced Pulmonary Arterial Remodeling with α -Actin Up-regulation[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(20): 15081-15089.
 - 22 de Frutos S, Diaz JM, Nitta CH, et al. Endothelin-1 contributes to increased NFATc3 activation by chronic hypoxia in pulmonary arteries[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2011, 301(2): C441-C450.
 - 23 Amberg GC, Rossow CF, Navedo MF, et al. NFATc3 regulates Kv2.1 expression in arterial smooth muscle[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(45): 47326-47334.
 - 24 Hou X, Chen J, Luo Y, et al. Silencing of STIM1 attenuates hypoxia-induced PASMCs proliferation via inhibition of the SOC/Ca²⁺/NFAT pathway[J]. *Respir Res*, 2013, 14(1): 2.
 - 25 Kang K, Peng X, Zhang X, et al. MicroRNA-124 suppresses the transactivation of nuclear factor of activated T cells by targeting multiple genes and inhibits the proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(35): 25414-25427.
 - 26 Zhao Y, Wu J, Zhang M, et al. Angiotensin II induces calcium/calci-neurin signaling and podocyte injury by downregulating microRNA-30 family members[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2017, 95(8): 887-898.
 - 27 Yang Y, Zhou Y, Luo T, et al. Effect of miRNA-155 on hypertrophy of myocardial cells and expression of CaN- β and NFAT4[J]. *Chin J Geriatr Heart Brain Vessel Dis*, 2015, 17(1): 73-78.

(2018-05-30 收稿 2019-05-08 修回)

(上接第503页)

- 3 Habgood AN, Tatler AL, Porte J, et al. Secretory leukocyte protease inhibitor gene deletion alters bleomycin-induced lung injury, but not development of pulmonary fibrosis[J]. *Lab Invest*, 2016, 96(6): 623-631.
- 4 Huang X, Wang W, Yuan H, et al. Sunitinib a small-molecule kinase inhibitor attenuates bleomycin-induced Pulmonary Fibrosis in Mice[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2016, 239(4): 251-261.
- 5 Kulkarni T, O'Reilly P, Antony VB, et al. Matrix remodeling in pulmonary fibrosis and emphysema[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2016, 54(6): 751-760.
- 6 Oyaghire SN, Cherubim CJ, Telmer CA, et al. RNAG-quadruplex invasion and translation inhibition by antisense γ -peptide nucleic acid oligomers[J]. *Biochemistry*, 2016, 55(13): 1977-1988.
- 7 Andersson-Sjöland A, Karlsson JC, Rydell-Törmänen K. ROS-induced endothelial stress contributes to pulmonary fibrosis through pericytes and Wnt signaling[J]. *Lab Invest*, 2016, 96(2): 206-217.
- 8 武小杰, 倪望. 外周血活性氧作为标记物评估慢性阻塞性肺疾病中肺组织的氧化应激程度[J]. *内科急危重症杂志*, 2017, 23(3): 197-200.
- 9 Zhang Q, Tao H, Lin Y, et al. A superoxide dismutase/catalase mimetic nanomedicine for targeted therapy of inflammatory bowel disease[J]. *Biomaterials*, 2016, 105(10): 206-221.
- 10 Atli A, Bulut M, Bez Y, et al. Altered lipid peroxidation markers are related to post-traumatic stress disorder (PTSD) and not trauma itself in earthquake survivors[J]. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 2016, 266(4): 329-336.
- 11 马志敏, 李晓玲, 魏会强, 等. 还原型谷胱甘肽对大鼠肺纤维化的干预作用[J]. *中国呼吸与危重监护杂志*, 2016, 15(4): 401-405.
- 12 Devanarayanan S, Nandeesha H, Kattimani S, et al. Relationship between matrix metalloproteinase-9 and oxidative stress in drug-free male schizophrenia: a case control study[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2016, 54(3): 447-452.
- 13 Ma R, Yuan B, Du J, et al. Electroacupuncture alleviates nerve injury after cerebra ischemia in rats through inhibiting cell apoptosis and changing the balance of MMP-9/TIMP-1 expression[J]. *Neurosci Lett*, 2016, 633(1): 158-164.
- 14 Abuelezz SA, Hendawy N, Osman WM. Aliskiren attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats: focus on oxidative stress, advanced glycation end products, and matrix metalloproteinase-9[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2016, 389(8): 897-909.
- 15 高娟, 韩茹, 任丽萍. 阿托伐他汀钙对百草枯致肺纤维化大鼠 MMP-9 及 TIMP-1 表达的影响[J]. *中国辐射卫生*, 2016, 25(6): 742-745.
- 16 郭贵州, 宋文龙, 甘桃梅, 等. 基于 MMP-9/TIMP-1 失衡研究补益宗气方干预慢性阻塞性肺疾病大鼠气道重塑的机制[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 31(11): 4678-4680.
- 17 Pardo A, Selman M. Lung Fibroblasts, Aging, and Idiopathic Pulmonary Fibrosis[J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2016, 13(5): S417-S421.

(2018-08-28 收稿 2019-07-01 修回)