

四妙勇安汤对高胰岛素 / 高糖诱导兔血管平滑肌细胞外基质分泌的影响及机制

于洪静¹ 苑迅² 姜玫¹ 郝国华¹ 李秋梅¹

(1. 大连大学附属新华医院内分泌科, 辽宁 大连 116021; 2. 大连大学医学院, 辽宁 大连 116622)

【摘要】 目的 观察四妙勇安汤药物血清对高胰岛素 / 高糖诱导的兔血管平滑肌细胞 (VSMC) 细胞外基质 (ECM) 分泌的影响及其可能的作用机制。方法 采用血清药理学方法制备药物血清, 高胰岛素 / 高糖诱导兔 VSMC 增殖。实验分为空白组 [10% 胎牛血清 (FBS) 的正常 DMEM]、正常组 (10% FBS 的正常 DMEM + 正常血清)、模型组 (10% FBS 的高糖 DMEM + 100 U/L 胰岛素 + 正常血清)、西药组 (10% FBS 的高糖 DMEM + 100 U/L 胰岛素 + 辛伐他汀血清)、中药组 (10% FBS 的高糖 DMEM + 100 U/L 胰岛素 + 四妙勇安汤血清)。用消化法检测细胞培养上清液中羟脯氨酸 (Hyp) 含量; 逆转录 - 聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测含药血清对兔 VSMC 的四型胶原蛋白 (COL-IV)、基质金属蛋白酶-2 (MMP-2) 及其组织抑制因子 (TIMP-1) 的 mRNA 表达和对 MMP-2/TIMP-1 比值的影响。结果 与模型组比较, 中药组、西药组细胞培养上清液 Hyp 含量明显降低 (均 $P < 0.05$), 且中药组明显低于西药组 (mg/L: 234.19 ± 26.43 比 266.73 ± 30.00 , $P < 0.05$)。与正常组比较, 模型组 COL-IV、MMP-2 的 mRNA 呈显著高表达 (COL-IV mRNA: 0.78 ± 0.03 比 0.41 ± 0.02 , MMP-2 mRNA: 0.80 ± 0.12 比 0.41 ± 0.02 , 均 $P < 0.05$), TIMP-1 mRNA 表达水平降低 (0.35 ± 0.04 比 0.79 ± 0.07 , $P < 0.05$), MMP-2/TIMP-1 比值增加 (2.30 ± 0.35 比 0.52 ± 0.05 , $P < 0.05$)。与模型组比较, 中药组、西药组 COL-IV、MMP-2 mRNA 表达水平均降低, TIMP-1 mRNA 水平提高, MMP-2/TIMP-1 比值有所下降 (COL-IV mRNA: 0.55 ± 0.04 , 0.58 ± 0.03 比 0.78 ± 0.03 , MMP-2 mRNA: 0.62 ± 0.05 , 0.67 ± 0.08 比 0.80 ± 0.12 , TIMP-1 mRNA: 0.56 ± 0.02 , 0.60 ± 0.01 比 0.35 ± 0.04 , MMP-2/TIMP-1: 1.11 ± 0.06 , 1.16 ± 0.15 比 2.30 ± 0.35 , 均 $P < 0.05$), 但中药组、西药组比较差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。结论 四妙勇安汤能够减少高胰岛素 / 高糖诱导的 VSMC 分泌 ECM, 其可能机制与减少 Hyp 合成, 影响 COL-IV、MMP-2、TIMP-1 mRNA 表达水平, 调整 MMP-2/TIMP-1 的平衡有关。

【关键词】 四妙勇安汤; 平滑肌细胞; 动脉粥样硬化; 细胞外基质

Effects of Simiao Yongan decoction on secretion of extracellular matrix of rabbit vascular smooth muscle cells induced by high insulin/high glucose and its mechanism Yu Hongjing, Yuan Xun, Jiang Mei, Hao Guohua, Li Qiumei. *Department of Endocrinology, Xinhua Hospital Affiliated to Dalian University, Dalian 116021, Liaoning, China

Corresponding author: Li Qiumei, Email: lqm5800@sina.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of serum containing Simiao Yongan decoction (SYD) on secretion of extracellular matrix (ECM) of rabbit vascular smooth muscle cells (VSMC) induced by high insulin/high glucose and its mechanism. **Methods** Serum containing SYD was prepared by serum pharmacological method, and the proliferation of rabbit VSMC was induced by high concentrations of glucose and insulin. The experiments were divided into following groups: blank group [normal glucose DMEM containing 10% fetal bovine serum (FBS)], normal group (normal glucose DMEM containing 10% FBS + normal serum), model group (high glucose DMEM containing 10% FBS + 100 U/L insulin + normal serum), western medicine group (high glucose DMEM containing 10% FBS + 100 U/L insulin + serum containing simvastatin), traditional Chinese medicine group (high glucose DMEM containing 10% FBS + 100 U/L insulin + serum containing SYD). The content of hydroxy proline (Hyp) in cell culture supernatant was detected by digestion method. The reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to assay the effects of serum containing drug on the mRNA expressions of collagen-IV (COL-IV), matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), tissue inhibitors metalloproteinase-1 (TIMP-1) and the MMP-2/TIMP-1 ratio of rabbit VSMC. **Results** Compared with the model group, the contents of Hyp in cell culture supernatant in traditional Chinese medicine group and western medicine group were significantly reduced (both $P < 0.05$), and the content in traditional Chinese medicine group was much lower than that in western medicine group (mg/L: 234.19 ± 26.43 vs. 266.73 ± 30.00 , $P < 0.05$). Compared with normal group, the mRNA expressions of COL-IV and MMP-2 were significantly increased (COL-IV mRNA: 0.78 ± 0.03 vs. 0.41 ± 0.02 , MMP-2 mRNA: 0.80 ± 0.12 vs. 0.41 ± 0.02 , both $P < 0.05$), the expression of TIMP-1 mRNA was decreased remarkably (0.35 ± 0.04 vs. 0.79 ± 0.07 , $P < 0.05$), and the ratio of MMP-2/TIMP-1 was increased obviously (2.30 ± 0.35 vs. 0.52 ± 0.05 , $P < 0.05$) in model group. Compared with the model group, the mRNA expressions of

COL-IV and MMP-2 in traditional Chinese medicine group and western medicine group were decreased significantly, the expression of TIMP-1 mRNA was increased obviously, and the ratio of MMP-2/TIMP-1 was decreased (COL-IV mRNA: 0.55 ± 0.04 , 0.58 ± 0.03 vs. 0.78 ± 0.03 , MMP-2 mRNA: 0.62 ± 0.05 , 0.67 ± 0.08 vs. 0.80 ± 0.12 , TIMP-1 mRNA: 0.56 ± 0.02 , 0.60 ± 0.01 vs. 0.35 ± 0.04 , MMP-2/TIMP-1: 1.11 ± 0.06 , 1.16 ± 0.15 vs. 2.30 ± 0.35 , all $P < 0.05$), but no statistically significant difference was found between traditional Chinese medicine group and western medicine group (all $P > 0.05$). **Conclusion** Serum containing SYD can reduce the secretion of ECM of the rabbit VSMC during the high state of glucose and insulin, and the mechanisms are possibly related to reducing the synthesis of Hyp, influencing the mRNA expression levels of COL-IV, MMP-2, TIMP-1, and adjusting the balance of MMP-2/TIMP-1.

【Key words】 Simiao Yongan decoction; Smooth muscle cell; Atherosclerosis; Extracellular matrix

研究表明,在动脉粥样硬化斑块形成的病理过程中,血管平滑肌细胞(VSMC)迁移和侵袭与基质金属蛋白酶(MMP)及其组织抑制因子(TIMP)的细胞外基质(ECM)降解系统功能紊乱密切相关^[1]。本研究观察四妙勇安汤对高胰岛素/高糖诱导的VSMC分泌ECM的影响,分析其可能的作用机制。

1 材料及方法

1.1 实验动物及细胞:选择新西兰雄性大耳白兔9只,体质量(2.0 ± 0.1)kg,由大连医科大学实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(辽)2008-0002。兔胸主动脉平滑肌细胞株购自北京协和细胞中心(资源编号:3111C0001CCC000066)。

1.2 药物及试剂

1.2.1 四妙勇安汤组方:金银花30g(产地河南),玄参30g(产地福建),当归20g(产地甘肃),甘草10g(产地甘肃),均由大连大学中医药研究所中药室高明教授鉴定,以上药物经旋转蒸干仪旋蒸浓缩至含生药2.25g/mL。

1.2.2 西药组:辛伐他汀购自杭州默沙东制药有限公司(批号:100257)。

1.2.3 主要试剂:高糖DMEM、低糖DMEM(美国Hyclone公司),胎牛血清(FBS)、0.25%乙二胺四乙酸(EDTA)胰蛋白酶细胞消化液(美国Sigma公司),羟脯氨酸(Hyp)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所),总RNA提取试剂、RNA聚合酶链反应(PCR)Kit(AMV)Ver.3.0、DL1000 DNA Marker、6×上样缓冲液(大连宝生物公司),琼脂糖(西班牙Biowest公司),β-肌动蛋白(β-actin)、IV型胶原蛋白(COL-IV)、MMP-2、TIMP-1引物由上海闪晶有限公司设计。

1.2.4 含药血清制备:按人用药量的体表面积折算系数15换算动物给药量^[2]。将9只新西兰大耳白兔按随机数字表法分为正常血清组、辛伐他汀组、四妙勇安汤组,每组3只,分别给予蒸馏水每次10mL,每日2次;辛伐他汀动物给药量5mg/kg,每日1次;四妙勇安汤按生药量11.25g/kg,每日2次,

连续3d^[3]。于末次灌胃后2h采血,分离血清,用0.22μm微孔滤膜过滤后,-80℃保存备用。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 实验分组及处理:采用高胰岛素/高糖诱导VSMC增殖^[4]。将培养板分为空白组、正常组、模型组、西药组、中药组,每组6个复孔。空白组用含10%FBS的正常DMEM处理;正常组用含10%FBS的正常DMEM+正常血清处理;模型组用含10%FBS的高糖DMEM+100U/L胰岛素+正常血清处理;西药组用含10%FBS的高糖DMEM+100U/L胰岛素+辛伐他汀药物血清处理;中药组用含10%FBS的高糖DMEM+100U/L胰岛素+四妙勇安汤药物血清处理。正常DMEM含1000mg/L葡萄糖,高糖DMEM含4500mg/L葡萄糖。

1.4 检测指标及方法:兔胸主动脉平滑肌细胞株加入含10%FBS和正常DMEM培养液,在37℃、5%CO₂的培养箱中培养,3d更换1次培养液;待细胞生长状况良好时,经胰蛋白酶消化,稀释细胞至 3×10^4 个/mL,接种于6孔培养板中培养24h,倒置显微镜下观察,待细胞呈次融合状态时,为使细胞同步化于G0/G1期,换用含0.5%FBS的正常DMEM培养12h。各组均加入5%浓度的动物血清^[5],继续培养24h。

1.4.1 Hyp水平测定:收集上清液,按照Hyp试剂盒说明书,采用光栅分光光度计检测各组吸光度(A)值以反应其水平。

1.4.2 COL-IV、MMP-2、TIMP-1的mRNA相对表达量测定:用总RNA提取试剂提取细胞内总RNA,紫外分光光度计测定其浓度。取1μL总RNA和9μL反应液进行反转录后与40μL PCR反应液混匀,按95℃5min、94℃30s、55℃30s、72℃30s、72℃30s的反应条件进行PCR扩增,共30个循环。扩增产物进行凝胶电泳,用Quantity One图像分析系统检测电泳条带灰度值,用目的基因/β-actin灰度值的比值反映其相对表达量。

1.5 统计学方法:使用SPSS 17.0统计分析软件处

理数据, 计量资料以均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两独立样本的计量资料采用 *t* 检验, 差异显著性水平设为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 四妙勇安汤对细胞培养上清液 Hyp 含量的影响(表 1): 正常组与空白组 Hyp 含量比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与正常组比较, 模型组、西药组、中药组 Hyp 水平均显著性增加 (均 $P < 0.05$); 与模型组比较, 西药组、中药组 Hyp 水平显著下降; 且中药组降低更显著 (均 $P < 0.05$)。

2.2 四妙勇安汤对兔 VSMC COL-IV、MMP-2、TIMP-1 的 mRNA 表达及 MMP-2/TIMP-1 的影响(表 1; 图 1): 与空白组比较, 正常组 COL-IV、MMP-2、TIMP-1 的 mRNA 表达差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$); 与正常组比较, 模型组、中药组、西药组的 COL-IV、MMP-2 mRNA 均呈显著高表达 (均 $P < 0.05$), TIMP-1 mRNA 表达水平降低 ($P < 0.05$), MMP-2/TIMP-1 比值增加 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 中药组、西药组均能降低 COL-IV、MMP-2 的 mRNA 表达, 提高 TIMP-1 mRNA 的表达, MMP-2/TIMP-1 比值有所下降 (均 $P < 0.05$), 但中药组和西药组之间差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

3 讨论

四妙勇安汤是治疗脱疽的经典方, 近年在防治糖尿病大血管病变方面取得良好的效果^[6-9], 方中金银花解毒清热, 玄参清热凉血滋阴, 当归养血活血和营, 生甘草解毒, 调和诸药, 全方共奏解毒清热、滋阴养血、活血化痰之功效。本课题组前期实验研究表明, 四妙勇安汤含药血清可抑制 VSMC 增殖, 并能降低细胞培养上清液中白细胞介素-6 (IL-6) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的含量, 说明四妙勇安汤防治动脉粥样硬化 (AS) 的可能作用机制之一为抑制 VSMC 炎症因子的分泌^[10-11]。他汀类调脂药具有改善血管内皮功能、抑制炎症介质释

放, 降低 ECM 分泌, 稳定 AS 的作用^[11-14], 故以辛伐他汀为阳性对照。本实验主要观察四妙勇安汤含药血清对高胰岛素 / 高糖诱导兔 VSMC 的 ECM 分泌的影响, 并分析其作用机制。

在生理状态时, 成熟的 VSMC 呈收缩表型, 产生 ECM 的速度很慢。但在病理状态下, 可导致斑块形成和血管重塑^[15]。ECM 包括胶原、弹性蛋白、纤黏蛋白、层黏蛋白等, 其中胶原 IV 是基底膜主要成分, 主要由 VSMC 分泌。Hyp 是胶原蛋白的特征性氨基酸, 约占 13.4%, 在弹性蛋白中占极少量或几乎不存在。因此, 测定 Hyp 含量, 可反映平滑肌细胞分泌胶原的水平^[16]。本实验研究发现, 四妙勇安汤、辛伐他汀含药血清均能降低高胰岛素 / 高糖诱导的兔 VSMC 培养上清液 Hyp 含量, 且中药组较西药组 Hyp 含量降低更显著, 说明四妙勇安汤还可能通过减少胶原合成及 ECM 的分泌来抑制 VSMC 的增殖及动脉硬化斑块的形成。

ECM 在正常情况下处于生成 / 降解动态平衡中, 涉及 ECM 代谢的主要酶系是 MMPs/TIMPs。MMPs 能特异性地降解变性胶原, 参与 ECM 的转运及组织重构, 其中 MMP-2/9 可降解平滑肌细胞基底膜、弹性蛋白和胶原^[17]。TIMPs 作为 MMPs 的特异性内源性因子, 能与 MMPs 的催化中心结合, 封闭其催化活性, 从而阻断 MMPs 与底物结合, 抑制 ECM 的降解; TIMP-1 能拮抗 MMP-2/9 的作用, MMP-2/TIMP-1 的平衡对调节 ECM 代谢, 预防 AS 斑块的形成和稳定 AS 斑块具有重要意义^[1]。复习近年文献可发现, MMPs/TIMPs 分泌失衡会导致高血压、糖尿病等大血管病变的发生。临床研究表明, 糖尿病组血清 MMP-2/TIMP-1 的比值高于非糖尿病组和健康组, 且 MMP-2 是糖尿病足的独立危险因素^[18]。另有研究表明, MMP-2 和 TIMP-2 水平与收缩压、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、糖化血红蛋白 (HbA1c) 呈正相关; 2 型糖

表 1 四妙勇安汤对 VSMC 培养上清液 Hyp 含量及对 VSMC 中 COL-IV、MMP-2、TIMP-1 的 mRNA 相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数 (孔)	Hyp (mg/L)	mRNA 相对表达量			
			COL-IV	MMP-2	TIMP-1	MMP-2/TIMP-1
空白组	6	147.74 ± 27.85	0.38 ± 0.06	0.31 ± 0.02	0.72 ± 0.02	0.53 ± 0.02
正常组	6	153.23 ± 20.60	0.41 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.79 ± 0.07	0.52 ± 0.05
模型组	6	351.66 ± 17.10 ^a	0.78 ± 0.03 ^a	0.80 ± 0.12 ^a	0.35 ± 0.04 ^a	2.30 ± 0.35 ^a
西药组	6	266.73 ± 30.00 ^{ab}	0.58 ± 0.03 ^{ab}	0.67 ± 0.08 ^{ab}	0.60 ± 0.01 ^{ab}	1.16 ± 0.15 ^{ab}
中药组	6	234.19 ± 26.43 ^{abc}	0.55 ± 0.04 ^{ab}	0.62 ± 0.05 ^{ab}	0.56 ± 0.02 ^{ab}	1.11 ± 0.06 ^{ab}

注: 与正常组比较, ^a $P < 0.05$; 与模型组比较, ^b $P < 0.05$; 与西药组比较, ^c $P < 0.05$



图 1 四妙勇安汤对兔 VSMC COL-4、MMP-2、TIMP-1 的 mRNA 表达

尿病患者血清 MMP-2、TIMP-2 水平增加较显著,尤其是 CIMT 增厚者更加显著,提示糖尿病大血管病变的危险因素之一可能是 MMP-2 和 TIMP-2 的增加及 MMP-2/TIMP-2 比例失调^[19]。人脐静脉内皮细胞体外培养发现,在 33 mmol/L 的高糖状态下,内皮细胞 MMP-2 和 TIMP-2 的表达及活性均增加,可见 MMP-2/TIMP-2 比例的紊乱是导致血管损害的一个关键因素之一^[20-21]。

本研究显示,正常状态下兔 VSMC 的 COL-IV、MMP-2 mRNA 仅有少量表达,在高糖/高胰岛素刺激后, COL-IV、MMP-2 mRNA 表达增强, TIMP-1 mRNA 表达减弱, MMP-2/TIMP-1 mRNA 比例显著失衡,与文献报道一致^[18-22],提示高胰岛素/高糖诱导平滑肌细胞显著增殖后, MMP-2 对基底膜 COL-IV 进行降解,致使大量胶原堆积, MMPs/TIMPs 分泌失衡。经四妙勇安汤含药血清干预后,细胞 COL-IV、MMP-2 的 mRNA 表达降低, TIMP-1 mRNA 表达增强, MMP-2/TIMP-1 比值趋于平衡,其作用与辛伐他汀相当。表明四妙勇安汤可能通过降低 VSMC 分泌 MMP-2 mRNA,减少其对 COL-IV mRNA 降解,同时增强 TIMP-1 mRNA 分泌,进而抑制 MMP-2 蛋白表达,整体调节使 MMP-2/TIMP-1 mRNA 平衡,从而减少 ECM 的降解,减少胶原堆积来实现抗 AS 的作用。

本研究首次证实中药经典方四妙勇安汤可改善高胰岛素/高糖所致的动脉平滑肌 ECM 主要胶原成分 Hyp 的分泌,抑制 COL-IV 表达,降低 MMP-2/TIMP-1 比值,体现了中医药的整体调节作用。依据本实验结果及相关文献推论,如能抑制 MMP-2 或增加 TIMP-1 的表达,维持 MMP-2/TIMP-1 平衡,将对动脉硬化斑块的形成和稳定起着重要作用。下一步工作可以 MMPs/TIMPs 作为深入研究防治 AS 的新靶点,从而为防治糖尿病及血管并发症的研究提供新途径。

参考文献

[1] Hlawaty H, San Juan A, Jacob MP, et al. Inhibition of MMP-2 gene expression with small interfering RNA in rabbit vascular smooth muscle cells [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 293 (6): H3593-H3601.

[2] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学 [M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2002: 202-203.

[3] 许颖智,张军平,李明,等. 四妙勇安汤对实验性动脉粥样硬化易损斑块内血管新生的影响 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2012, 18(2): 161-163.

[4] Trovati M, Anfossi G. Influence of insulin and of insulin resistance on platelet and vascular smooth muscle cell function [J]. *J Diabetes Complications*, 2002, 16(1): 35-40.

[5] 楚玉峰,姜毅,张继承,等. 脂多糖诱导血管平滑肌细胞分泌白细胞介素-6 及 p38 丝裂素活化蛋白激酶的调控作用 [J]. *中国危重病急救医学*, 2010, 22(5): 291-294.

[6] 李娜,曲晓波,简爽,等. 四妙勇安汤对大鼠血栓闭塞性脉管炎的抗炎作用及其机制 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2013, 39(2): 264-267, 后插 2.

[7] 刘焱,王学美. 400 例 2 型糖尿病患者中医证型与糖尿病慢性并发症、生存质量及实验室指标的相关研究 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2010, 17(2): 76-79.

[8] 王立茹. 四妙勇安汤治疗冠状动脉粥样硬化性心脏病 60 例 [J]. *陕西中医*, 2010, 31(2): 131-132.

[9] 廖荣德,陈远平. 四妙勇安汤治疗不稳定性心绞痛 24 例疗效观察 [J]. *云南中医中药杂志*, 2009, 30(11): 42.

[10] 于洪静,李秋梅,张宝文,等. 四妙勇安汤含药血清对高糖/高胰岛素诱导的兔 VSMC 增殖的影响及其机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(17): 251-254.

[11] Standl E. Statins and beyond: concurrent strategies for prevention of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes [J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2013, 10(2): 99-114.

[12] Hu T, Wang HC. The effect of statins in chronic heart failure: beyond its cholesterol-lowering effect [J]. *Heart*, 2012, 98(Suppl 2): E237-238.

[13] Massaro M, Zampolli A, Scoditti E, et al. Statins inhibit cyclooxygenase-2 and matrix metalloproteinase-9 in human endothelial cells: anti-angiogenic actions possibly contributing to plaque stability [J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 86(2): 311-320.

[14] Zheng C, Azcutia V, Aikawa E, et al. Statins suppress apolipoprotein CIII-induced vascular endothelial cell activation and monocyte adhesion [J]. *Eur Heart J*, 2013, 34(8): 615-624.

[15] Matsumura S, Kawazoye S, Tian SF, et al. Biochemical characterization of the fibres of collagen and elastin in the aortic wall of SHRSP [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl*, 1995, 22(1): S136-138.

[16] 彭哲. PTA 术后益气活血解毒方药物血清对兔 VSMC 在 RS 中作用的研究 [D]. 北京:北京中医药大学, 2004.

[17] 李旭,张晓娟,马晓春. 肝素对脂多糖诱导内皮细胞损伤中基质金属蛋白酶及其组织抑制剂基因表达的影响 [J]. *中国危重病急救医学*, 2012, 24(8): 490-492.

[18] 陈畅,臧彬. 急性心肌梗死患者经皮冠状动脉介入治疗后血清基质金属蛋白酶-9 和肿瘤坏死因子- α 的变化 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2012, 19(4): 244-247.

[19] 唐灵,涂晶晶,陈春莲,等. 2 型糖尿病患者血清基质金属蛋白酶 2 和金属蛋白酶 2 组织抑制剂及超敏 C 反应蛋白与大血管病变的关系研究 [J]. *中国全科医学*, 2013, 16(9): 991-994.

[20] Ho FM, Liu SH, Lin WW, et al. Opposite effects of high glucose on MMP-2 and TIMP-2 in human endothelial cells [J]. *J Cell Biochem*, 2007, 101(2): 442-450.

[21] 王志禄,吴增颖,杨小芳,等. 家族聚集性高血压心血管疾病标志物功能分类基因表达的研究 [J]. *中国危重病急救医学*, 2010, 22(11): 684-687.

[22] Kimura K, Cheng XW, Nakamura K, et al. Matrix metalloproteinase-2 regulates the expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2010, 37(11): 1096-1101.

(收稿日期: 2014-10-21)

(本文编辑: 李银平)