

## Compound 48/80 诱导 BN 大鼠类过敏反应的蛋白组学研究

陈桂荣<sup>1</sup>, 徐煜彬<sup>2\*</sup>, 冉小库<sup>1</sup>, 韩雪莹<sup>1</sup>, 窦德强<sup>1\*</sup>

1. 辽宁中医药大学 药学院, 辽宁 大连 116600

2. 台州市中心医院 台州学院附属医院, 浙江 台州 318000

**摘要:** **目的** 探讨 Compound 48/80 诱导 BN 大鼠类过敏反应的发生机制, 采用 iTRAQ 蛋白组学技术对类过敏的发生过程进行研究, 并鉴定候选标志物。 **方法** 将 BN 大鼠按体重随机分为对照 1 组、2 组和 Compound 48/80 1 组、2 组, 每组各 6 只。对照组 iv 生理盐水 5 mL/kg, Compound 48/80 组分别 iv Compound 48/80 2.5 mL/kg, 取血浆样品经蛋白提取、电泳和质谱分析, 确定类过敏反应差异蛋白。 **结果** 通过蛋白组学研究共鉴定 10 585 个肽段, 总共鉴定 1 987 个蛋白质。提取 7 个与类过敏反应相关的差异蛋白。与对照组比较, Ica、Galectin-1 上调; Hpse HEP、Mpo、MMP8、Hprt1、MMP9 下调。 **结论** Hpse HEP、Mpo、MMP8、Hprt1、Ica、MMP9、Galectin-1 均可以作为类过敏反应的候选生物标志物。

**关键词:** Compound 48/80; 类过敏反应; 蛋白组学; 差异蛋白

**中图分类号:** R967 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2019)05-1279-06

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.05.003

## Proteomic study of Compound 48/80 induced anaphylactoid reaction in BN rats

CHEN Gui-Rong<sup>1</sup>, XU Yu-Bin<sup>2</sup>, RAN Xiao-Ku<sup>1</sup>, HAN Xue-Ying<sup>1</sup>, DOU De-Qiang<sup>1</sup>

1. College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Medicine, Dalian 116600, China

2. Taizhou Central Hospital (Taizhou University Hospital), Taizhou 318000, China

**Abstract: Objective** To investigate the mechanism of Compound 48/80-induced anaphylactoid reaction in BN rats, and ITRAQ proteomics technique was used to study the occurrence of anaphylaxis, and identify candidate markers. **Methods** BN rats were randomly divided into control group 1 and 2, Compound 48/80 group 1 and 2 according to body weight, and each group had 6 rats. Rats in control group were iv administered with normal saline 5 mL/kg, and Compound 48/80 groups were iv Compound 48/80 2.5mL/kg. The plasma samples were analyzed by protein extraction, electrophoresis, and mass spectrometry to determine the differential proteins of anaphylactoid reaction. **Methods** A total of 10 585 peptide segments and 1 987 proteins were identified by proteomics. Seven differential proteins related to anaphylactoid reaction were extracted. Compared with the control group, Ica and Galectin-1 were up-regulated, and Hpse HEP, Mpo, MMP8, Hprt1, and MMP9 were down-regulated. **Conclusion** Hpse HEP, Mpo, MMP8, Hprt1, Ica, MMP9, and Galectin-1 can be used as candidate biomarkers for anaphylaxis.

**Key words:** Compound 48/80; anaphylactoid reaction; proteomics; differential protein

类过敏的发生过程(即致敏原如何刺激机体产生类过敏反应)通常与蛋白相关。然而目前对于致敏原通过何种途径导致机体发生类过敏反应并没有系统的研究。iTRAQ 技术作为蛋白质组学的主流分析技术,具有独特的高敏感性、高准确性以及较高的重复性,在蛋白组学研究中已经取得较大的

进展。Compound 48/80 是 *N*-甲氧苯胺和甲醛的缩合物,常被用来作为实验性过敏反应的诱导剂<sup>[1-3]</sup>。因此,本实验选用 Compound 48/80 为研究对象,诱导 BN 大鼠类过敏反应,采用 iTRAQ 蛋白组学技术对类过敏的发生过程进行研究,探讨类过敏的发生机制。

收稿日期: 2018-09-20

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(81303205); 辽宁省高等学校创新人才计划项目(LR2017002); 沈阳市中青年科技创新人才支持计划项目(RC170344)

作者简介: 陈桂荣(1980—),女,博士,副教授,硕士生导师,研究方向为中药药效物质基础和作用机制。E-mail: cgr800404@sohu.com

\*通信作者 徐煜彬(1988—),博士,助理研究员,研究方向为中药药效物质基础。E-mail: gxr20080131@163.com

窦德强(1967—),男,博士,教授,博士生导师,研究方向为中药药性及有效成分研究。E-mail: deqiangdou@163.com

## 1 仪器和试剂

### 1.1 实验仪器

5430R 高速冷冻离心机 (Eppendorf, Germany), Milli-Q Advantage 超纯水机 (Millipore, USA), Precellys24 多功能样品均质器 (Bertin, French), VCX130 超声波破碎仪 (Sonics, USA), Mini PROTEAN tetra Cell 电泳仪 (BIO-RAD, USA), iMark ELISA Reader (BIO-RAD), nanoACQuity UPLC (Waters), Triple TOF 5600 质谱仪 (AB SCIEX)。

### 1.2 试剂

生理盐水 (沈阳志鹰制药厂, 批号 20131209); Compound 48/80 (Sigma, USA, 批号 073M4050V); 胰蛋白酶 (Trypsin Gold) (Promega, Madison, USA), Ultremex SCX column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) (Phenomenex, USA), 四乙基溴化铵 TEAB (Applied Biosystems, USA), 2-D quant Kit (GE Healthcare, USA)。

### 1.3 实验动物

BN 大鼠, 雄性, 体质量 (200.00±20.00) g, 北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 动物生产合格证号 SCXK (京) 2012-0001。常规颗粒饲料喂养, 自由饮水, 室温 (24±2) °C, 相对湿度 45%, 12 h 昼夜节律。

## 2 方法和结果

### 2.1 分组、给药和处理

参照文献方法<sup>[4]</sup>, 按照 BN 大鼠最大注射量为 0.2 mL/10 g 和预实验结果, 将 BN 大鼠按体质量随机分为对照 1 组、2 组和 Compound 48/80 1 组、2 组, 每组各 6 只。对照组 iv 生理盐水 5 mL/kg, Compound 48/80 组分别 iv Compound 48/80 2.5 mL/kg。各组 BN 大鼠分别 iv 给予以上不同受试物, 20 s 内注射完毕, 在 30 min 取血, 血浆离心, -80 °C 保存。

### 2.2 蛋白质提取

取适量血浆样品, 加入适量蛋白裂解液使其溶解, 再分别添加终浓度为 1 mmol/L 苯甲基磺酰氟 (PMSF) 和 2 mmol/L 乙二胺四乙酸 (EDTA), 静置 5 min, 然后添加终浓度 10 mmol/L 二硫苏糖醇 (DTT), 超声 15 min, 离心 20 min, 取上清液。在上清液中加入 5 倍体积的预冷丙酮, -20 °C 沉淀 2 h, 离心 20 min, 弃去上清。取适量沉淀加入适量的蛋白裂解液使沉淀溶解, 再分别添加终浓度为 1 mmol/L PMSF 和 2 mmol/L EDTA, 静置 5 min, 然后添加终浓度 10 mmol/L DTT, 超声 15 min, 离心 20 min, 取上清液。在 56 °C 下加入终浓度 10 mmol/L DTT 处理 1 h, 再加入终浓度 55 mmol/L 碘乙酰胺 (IAM), 在暗室静置 45 min 进行半胱氨酸的烷基化封闭, 然后加入适量冷丙酮, 在 -20 °C 静置 2 h, 离心 20 min, 弃去上清液, 沉淀加入 200 μL 0.5 mol/L 四乙基溴化铵 (TEAB), 超声 15 min, 离心 20 min 取上清液。

### 2.3 蛋白质浓度测量

采用 Bradford 定量法对蛋白浓度进行测量。采用 0.2 μg/μL BSA 依次配制浓度分别为 0.02、0.04、0.06、0.08、0.10、0.12、0.14、0.16、0.18 μg/μL BSA 蛋白, 每管加入 20 μL 不同浓度蛋白, 另取一管添加 20 μL 纯水作为参照管, 准备 BSA 标准品标准曲线, 样品稀释至测量范围内, 各取 20 μL 置管中, 向每管加入 180 μL protein assay reagent, 混合均匀, 室温培养 10 min, 在 595 nm 下测定吸光度值, 以纯水管作为参照, 读出每个样品的数值, 根据标准曲线计算样品蛋白浓度, 见表 1。

### 2.4 蛋白质酶解

每个样品精确取出 100 μg 蛋白, 按蛋白、酶 20:1 的比例加入胰蛋白酶, 在 37 °C 酶解 4 h, 然后按上述比例再补加 1 次胰蛋白酶, 在 37 °C 继续酶解 8 h。

表 1 样品蛋白质信息

Table 1 Information of the sample protein

样品	浓度/(μg μL <sup>-1</sup> )	体积/μL	Total protein/μg
Con (1)	1.09	200	218.37
Con (1')	1.18	200	235.01
C48/80 (1)	1.22	200	244.25
C48/80 (1')	1.68	200	336.67

## 2.5 iTRAQ 标记

蛋白质酶解后,用真空离心泵抽干肽段,加入 0.5 mol/L TEAB 复溶肽段,按照 iTRAQ 手册对蛋白进行标记,每一组肽段被不同的 iTRAQ 标签标记,室温培养 2 h。将标记后的各组肽段均匀混合,拟使用 SCX 柱进行分离。

## 2.6 SCX 分离

采用岛津 LC-20AB 液相系统、Ultremex SCX 分离柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)对样品进行分离。流动相: A: 4 mL 缓冲液 A (25 mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 25% ACN, pH 2.7) 将标记后抽干的混合肽段复溶,以 1 mL/min 的速率进行梯度洗脱: 首先在 5% 缓冲液 B (25 mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mol/L KCl, 25% ACN, pH 2.7) 中洗脱 7 min, 再从 7~20 min 进行直线梯度洗脱缓冲液 B, 最后从 22~24 min 使用缓冲液 B 洗脱 1 min, 然后恢复到 5% 平衡 10 min, 紫外检测波长为 214 nm, 最终经过筛选得到 12 个组分。每个组分分别用 Strata X 除盐柱除盐, 冷冻抽干。结果电泳条带合格, 与胶图上样量基本保持平行, 胶图脱色均匀, 笔直均一, 条带清晰且数量繁多, 重复样品之间相似度较高, 样品满足后续分析要求, 见图 1。

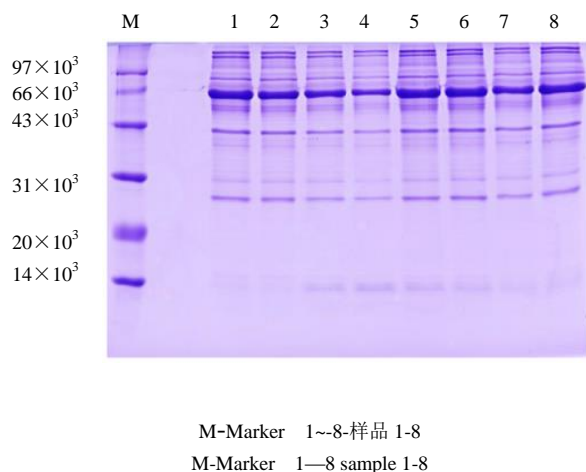


图 1 去除高丰度蛋白之前的胶图

Fig. 1 Glue before removing high abundance proteins

## 2.7 基于 Triple TOF 5600 的 LC-ESI-MSMS 检测分析

用缓冲液 A (5% ACN, 0.1% FA) 将每个组分复溶至约 0.5 μg/μL, 离心 10 min, 除去不溶物质。每个组分上样 5 μL, 通过岛津公司 LC-20AD 纳升液相色谱仪进行分离。所用的柱子包括 Trap 柱和分析柱两部分。分离程序如下: 先以 8 μL/min 的流速

洗脱 4 min, 紧接着总流速为 300 nL/min, 分离并传输至质谱系统。先 5% 缓冲液 B (95% CAN, 0.1% FA) 下洗脱 5 min, 35 min 的线性梯度, 在接下来的 5 min 内提高到 60%, 然后在 2 min 内缓冲液 B 增加到 80% 并保持 2 min, 最后在 1 min 内恢复至 5%, 并在此条件下平衡 10 min。采用 TripleTOF 5600 质谱仪器 (AB SCIEX, Concord, ON), 离子源为 Nanospray IIIsource (AB SCIEX, Concord, ON), 放射器为石英材料控制的喷针 (New Objectives, Woburn, MA), 数据采集。

## 2.8 数据分析

在生物信息分析中, 将质谱原始文件转换成 mgf 格式, 数据通过 Mascot 2.3.02 软件进行蛋白鉴定和定量, 经 Unriprot-RAT (去冗余后 34 908 seqs) 数据库搜索, 参数设置见表 2。根据软件对鉴定得到的蛋白质打分, 报告阈值 ≥20, 以达到鉴定蛋白的置信度为 99%, 每个蛋白至少有一个独立肽段。按照 Mascot 加权方式, 根据同位素报告基团相对含量进行定量, 以 C4880-1/Con-1 (117/113)、C4880-2/Con-2 (119/115) 的直接比值 (差异倍数) 为相对定量结果, 以不同肽段鉴定次数进行统计分析, 判断定量结果的统计学差异, 选择 P<0.05 并且差异倍数 >1.2 的蛋白作为差异蛋白。

表 2 蛋白鉴定相关参数选择

Table 2 Selection of related parameters for protein identification

项目	参数
搜索类型	MS/MS Ion search
酶	Trypsin
片段质量公差	0.1
离子选择	Monoisotopic
变量修改	“Gln->pyro-Glu(N-termQ)”, “Oxidation(M)”, “iTRAQ8plex(Y)”
肽质量公差	0.05
仪器类型	Default
酶切位点数	1
固定修改	“Carbamidomethyl(C)”, “iTRAQ8plex(N-term)”, “iTRAQ8plex(K)”
数据库	Unriprot_RAT (去冗余后 34908seqs)

### 2.9 样品重复性分析

本研究中样品做了两次重复，第一组样品分别标记为：113 标记 Con-1（对照 1 组），117 标记 C4880-1（Compound 48/80 1 组）；第二组重复样品分别标记为：115 标记 Con-2（对照 2 组），119 标记 C4880-2（Compound 48/80 2 组）。只有稳定的质谱实验过程才能得到稳定的结果，因此对于有重复的质谱实验首先需要对其进行重复性分析。本实验分别比较了两组数据中的重复性，结果见图 2。两组重复数据均有超过 30% 的蛋白在标准误差 < 0.1 的范围，超过 93% 的蛋白在 < 0.5 的范围。该结果表明两次实验的重复性较好，得到的数据比较可靠（横坐标表示不同变异水平，左边纵坐标表示不同变异水平的定量蛋白数，柱形与之对应，右边纵坐标表示不同变异水平所占总定量蛋白的比例的累加，折线图与之对应）。

### 2.10 基本鉴定信息

鉴定共得到 362 893 张二级谱图，匹配到的谱图数量为 41 864 张，其中 35 961 张为匹配到特有肽段的谱图，共鉴定到 10 585 个肽段，其中 9 516 个为特有肽段序列，最后共鉴定到 1 987 个蛋白质。

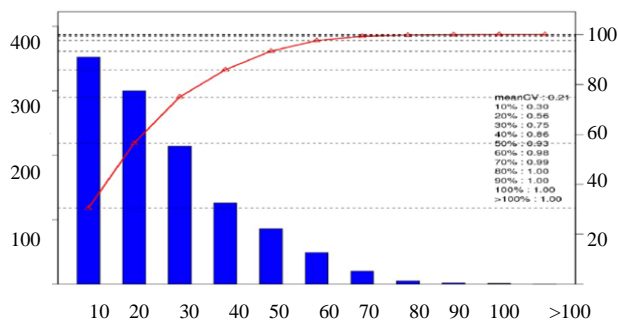


图 2 样品重复性分析图

Fig. 2 Repeatability analysis chart of samples

### 2.11 类过敏差异蛋白筛选

根据类过敏反应特性，表 3 中按照不同致类过敏物质重点分析了几种与类过敏相关的差异蛋白。提取 7 个与类过敏反应相关的差异蛋白，包括类肝素酶（Hpse HEP）、髓过氧化物酶（Mpo）、基质金属蛋白酶 8（MMP8）、次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶 1（Hppt1）、转铁蛋白（Ica）、基质金属蛋白酶 9（MMP9）、半乳糖凝集素-1（Galectin-1）。与对照组比较，Ica、Galectin-1 上调，Hpse HEP、Mpo、MMP8、Hppt1、MMP9 下调。

表 3 部分类过敏相关的差异蛋白

Table 3 Partial allergic-related differential proteins

编号	Cov%	UniProt Accession #	名称	Peptide (99%)	Unique Peptide	对照 vs Compound 48/80
1	19.2	Q71RP1	Hpse HEP	10	10	0.817*
2	43.7	P11247	Mpo	18	7	0.794*
3	22.1	O88766	MMP8	9	9	0.713*
4	30.3	P27605	Hppt1	6	6	0.68*
5	18.4	Q9DBD0	Ica	8	8	1.303*
6	9.3	P50282	MMP9	6	6	0.691*
7	40	P11762	Galectin-1	6	6	1.296*

\*P < 0.05 表格中蛋白的命名跟 UniProt 数据库一致

\*P < 0.05 The names of the proteins in the table are consistent with the UniProt database

### 3 讨论

蛋白质组学已经在生命科学、中医药等各领域蓬勃发展，已经广泛用于血液、组织等多种样本的蛋白质鉴定和定量。目前类过敏的研究主要集中在组胺、类胰蛋白酶等效应物质的检测上，对于致敏原通过何种途径导致机体发生类过敏反应并没有系统的研究。而类过敏的发生过程（即致敏原如何刺激机体产生类过敏反应）通常与蛋白相关。由于独特的高敏感性、高准确性和较高的重复性，iTRAQ 技

术作为蛋白质组学的主流分析技术，在中药的蛋白质组学研究中已经取得较大的进展。因此本实验采用蛋白质组学对 Compound 48/80 建立 BN 大鼠为模型的致敏机制进行探究，采用 iTRAQ 蛋白质组学技术对类过敏的发生过程进行研究，丰富和完善了类过敏反应机制的研究。

关于类过敏动物模型的建立，首先从行为学上如实验动物出现呼吸困难、步态不稳等典型类过敏症状来判定。本研究选用已被临床医生们喻为一项

急性过敏监测的“金标准”组胺升高,血浆组胺常作为早期诊断指标之一<sup>[5]</sup>。组胺升高率能很好地实现对动物过敏症状评价不足的补充,并且排除了不同动物之间本身的组胺差异,是可靠的体内指标。本研究选用的指标可靠、有效,对类过敏反应评价动物模型的选择具有很强的实用性。结果显示 BN 大鼠适合类过敏反应的综合评价。

肥大细胞广泛分布于结缔组织,细胞较大。肥大细胞参与过敏性反应的病理生理,细胞质内含有嗜染性的粗大颗粒,当受到免疫学和非免疫学刺激,细胞内储存的组胺、肝素等将被释放出来,参与多种免疫反应和炎症反应。Compound 48/80 是强分泌促进剂之一,诱导肥大细胞活化,促使细胞外的钙离子向细胞内摄入,细胞内钙离子的增加引起第二信使 cAMP 和 cGMP 量发生变化,导致肥大细胞释放组胺,诱发过敏反应。

Hpse HEP 为硫酸类肝素蛋白聚糖(HSPG)的重要降解酶,能促进结合在 HSPG 位点上的许多细胞功能性蛋白质调节因子的释放<sup>[6-7]</sup>,促进嗜中性粒细胞迁移和癌细胞从血管进入组织导致免疫反应或促进癌细胞转移及生长肿瘤的血管供养。Compound 48/80 组与对照组比较下调 Hpse HEP,可以作为类过敏凝血和免疫反应途径的候选指标。

Mpo 是中性粒细胞(PMN)表达最为丰富的蛋白成分,主要功能是在细胞的吞噬小体内杀灭微生物产生的次氯酸盐和有氧化能力的自由基构成 Mpo-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-卤素杀菌系统<sup>[8]</sup>。研究表明,Mpo 在感染、缺血、动脉粥样硬化和急性髓性白血病多种疾病中呈现高表达水平<sup>[9-10]</sup>。Mpo 具有广泛的生物杀菌活性。在生理情况下,激活的 PMN、Mpo 催化次氯酸的产生,主要是次氯酸和其他有毒中间体,大大提高中性粒细胞的杀菌活性。Compound 48/80 组与对照组比较下调 Mpo,可以作为类过敏抗菌反应途径的候选指标。

人体组织器官是由各种细胞成分、细胞外基质(ECM)构成,因此 ECM 是器官结构稳定的基础。MMP8 仅来自于成熟活化的中性粒细胞,因而称为中性粒细胞胶原酶<sup>[11]</sup>,该酶能降解 ECM 中的重要组成成分 I、II、III 型胶原成分,而这 3 种胶原成分是对组织结构起连接、支持、稳定作用<sup>[12]</sup>,因此在炎症反应性疾病中,中性粒细胞胶原酶分泌增多,必然大量分解 ECM 中的胶原成分,造成组织器官结构与功能破坏。研究表明 MMP9 参与胚胎形成、

风湿性关节炎、冠状动脉粥样硬化、创伤修复、组织发育与重构、血管新生、恶性肿瘤转移等生理病理过程<sup>[13]</sup>。转化生长因子  $\beta$ 、干扰素  $\gamma$  下调其表达,IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等可诱导 MMP9 合成<sup>[14]</sup>。因此,维持人体 MMP9 的稳态具有重要作用。Compound 48/80 组与对照组比较 MMP8 和 MMP9 均下调,可以作为类过敏的抗炎和抗凝血途径的候选指标。

Hprt1 是一种细胞质酶,广泛存在于体内。Hprt1 参与细胞内嘌呤核苷酸的补救合成途径,调控嘌呤碱基的补救合成途径和嘌呤类药物的体内代谢<sup>[15-16]</sup>。该酶影响机体代谢,是鸟嘌呤或次黄嘌呤磷酸核糖化的一种非必需酶。Compound 48/80 组与对照组比较 Hprt1 下调,可以作为类过敏的嘌呤核苷酸的补救合成途径的候选指标。

细胞吸收铁的主要途径是转铁蛋白 Ica 和其受体形成复合物,然后内吞化形成内吞小体。转铁蛋白在内吞小体中的酸性环境中释放出铁,这时的铁可作为血红素蛋白、核糖核苷酸还原酶的辅因子或贮存在铁蛋白中。免疫刺激或炎性可能降低循环 Ica 的水平<sup>[17]</sup>,Compound 48/80 组与对照组比较上调 Ica,可以作为类过敏的抗炎和提高免疫途径的候选指标。

Galectin-1 参与细胞的黏附、增殖和凋亡,介导炎症反应等多种生理与病理过程,在肾脏、胸腺、心肌、骨骼肌、平滑肌、感觉和运动神经元及胎盘中含量丰富。目前 Galectin-1 的免疫抑制特性研究比较广泛,尤其是诱导 T 细胞凋亡并具有抗炎功能,并且使 Th2 细胞因子增多<sup>[18]</sup>。Compound 48/80 组与对照组比较上调 Galectin-1,可以作为类过敏的抗炎途径的候选指标。

综上所述,Hpse HEP、Mpo、MMP8、Hprt1、Ica、MMP9、Galectin-1 均可以作为类过敏反应的候选生物标志物。

#### 参考文献

- [1] Behar S M, Porcelli S A, Beckman E M, *et al*. A pathway of costimulation that prevents anergy in CD28-T cells: B7-independent costimulation of CD1-restricted T cells [J]. *J Exp Med*, 1995, 182(6): 2007-2018.
- [2] 李秀芳, 金若敏, 符胜光, 等. 不同品系大鼠对天花蛋白诱导被动皮肤过敏差异性的比较研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2010, 21(4): 382-385.
- [3] Antunes M A, Abreu S C, Damaceno-Rodrigues N R, *et al*. Different strains of mice present distinct lung tissue

- mechanics and extracellular matrix composition in a model of chronic allergic asthma [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2009, 165(2-3): 202-207.
- [4] Xu Y, Dou D, Ran X, *et al.* Integrative analysis of proteomics and metabolomics of anaphylactoid reaction induced by Xuesaitong injection [J]. *J Chromatogr A*, 2015(1416): 103-111.
- [5] 郭姗姗, 王意忠, 张毅, 等. BN大鼠和豚鼠评价双黄连注射液的过敏反应 [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2009, 23(2): 128-133.
- [6] Fairbanks M B, Mildner A M, Leoe J W, *et al.* Processing of the human heparanase precursor and evidence that the active enzyme is a heterodimer [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(42): 29587-29590.
- [7] 李素霞, 袁勤生. 类肝素酶 [J]. *中国生化药物杂志*, 2002, 23(2): 104-107.
- [8] Klebanoff S J, Kettle A J, Rosen H., *et al.* Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms [J]. *J Leukoc Biol.*, 2013, 93(2): 185-198.
- [9] Klebanoff S J. Myeloperoxidase: friend and foe [J]. *J Leukoc Bio*, 2005, 77(5): 598-625.
- [10] Mathijssen R A, Huugen D, Hoebbers N T, *et al.* Myeloperoxidase is critically involved in the induction of organ damage after renal ischemia reperfusion [J]. *Am J Pathol*, 2007, 171(6): 1743-1752.
- [11] Segura-Valdez L, Pardo A, Gaxiola M, *et al.* Upregulation of gelatinases a and B, collagenases 1 and 2, and increased parenchymal cell death in COPD [J]. *Chest*, 2000, 117(3): 684-694.
- [12] 吴二喜, 王凤飞, Mikie N. 基质金属蛋白酶 [J]. *生命科学研究*, 1999, 3(3): 175-194.
- [13] Dumont O, Loufrani L, Henrion D. Key role of the NO-pathway and matrix metalloproteinase-9 in high blood flow induced remodeling of rat resistance arteries [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(2): 317-324.
- [14] 李骊华, 雷寒. 基质金属蛋白酶-9与动脉粥样硬化及斑块稳定性 [J]. *中国老年学杂志*, 2009, 29(6): 771-773.
- [15] Hüttner E, Speit G, Lambere B, *et al.* European HPRT workshop in Collaboration with GUM Gatersleben-Quedlinburg [J]. *Mutat Res*, 1996, 359(1): 71-76.
- [16] 丁慧, 岳丽杰, 杨春兰. 次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶研究进展 [J]. *遗传*, 2013, 35(8): 948-954.
- [17] 王丛珠, 王登平. 转铁蛋白介导作用的应用进展 [J]. *放射免疫学杂志*, 2003, 16(5): 304-306.
- [18] 任声权. Galectin-1的生物活性及其研究进展 [J]. *微生物学免疫学进展*, 2008, 36(2): 41-44.