

益气活血方对大鼠放射性肺损伤组织 MMP-2/TIMP-2 表达的影响

刘斌¹, 王炳胜^{2*}, 刘秀芳², 张海²

(1. 河北北方学院, 河北 张家口 075000;

2. 中国人民解放军第 251 医院, 河北 张家口 075000)

[摘要] **目的:**检测益气活血方干预前后大鼠放射性肺损伤组织基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinase-2, MMP2) 和基质金属蛋白酶抑制剂 2 (tissue inhibitor of matrix metalloproteinase, TIMP2) 表达的影响, 了解该方剂的作用机制。**方法:**健康成年雌性 SD 大鼠 120 只, 随机分为模型组 30 只、照射加益气活血方高剂量组 30 只、照射加益气活血方低剂量组 30 只、空白组 30 只。益气活血方高、低剂量组大鼠受照当天开始, 用药量 20, 10 g·kg⁻¹, 每次 ig 益气活血方剂 5 mL·kg⁻¹, 2 次/d; 模型组、空白组每次 ig 蒸馏水 5 mL·kg⁻¹, 2 次/d。4 组大鼠分别于照射后第 4, 8, 12, 16, 20 周末随机抽取 6 只, 处死并取其右肺组织保存。分别用反转录 PCR 技术 (RT-PCR), 蛋白质印迹法 (Western-blotting) 检测 MMP-2/TIMP-2 mRNA 及蛋白表达的动态变化。**结果:**模型组 MMP-2 mRNA 及蛋白表达于第 12 周达高峰, 而 TIMP-2 mRNA 及蛋白表达在照射后第 4 周至 20 周期间出现逐渐升高的趋势, 各时间点模型组与空白组相比均具有明显差异 ($P < 0.01$)。益气活血方高剂量组与模型组相比, 各 mRNA 及蛋白表达趋势与模型组相似, MMP-2 mRNA 及蛋白表达在 12 周前低于模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。益气活血方低剂量组各项指标均有变化, 趋势与模型组类似, 差异没有统计学意义。**结论:**益气活血方高剂量在放射性肺损伤的各个时间段, 从转录及翻译层面对 MMP-2/TIMP-2 的表达进行调整, 使 MMPs/TIMPs 趋于平衡, 从而减轻放射性肺损伤, 这可能是该药防治放射性肺损伤的分子生物学机制。

[关键词] 益气活血方; 放射性肺损伤; 基质金属蛋白酶 2/基质金属蛋白酶抑制剂 2

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903 (2014) 23-0185-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014230185

Effect of Yiqi Huoxue Recipe to MMP-2/TIMP-2 Expression in Radioactive Damaged Lung Tissue

LIU Bin¹, WANG Bing-sheng^{2*}, LIU Xiu-fang², ZHANG Hai²

(1. Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China;

2. The Oncology Department of People's Liberation Army 251th Hospital, Zhangjiakou 075000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of the Yiqi Huoxue recipe on expression of the matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) /tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (TIMP-2) in radiation-induced lung injury model rats, in order to know the mechanism of this recipe. **Method:** One hundred and twenty female rats were divided into four groups at random: namely simple exposure group (model group, $n = 30$), radiational Yiqi Huoxue recipe high-dose group and the radiational Yiqi Huoxue recipe low-dose group ($n = 30$), and blank control group (control group, $n = 30$). Six rats were selected randomly from the four groups each time at the 4th, 6th, 8th, 12th, 26th weekend after first radiation, those rats were executed immediately after intraperitoneal anesthesia, took the right lung tissue of them and saved in right way. Reverse transcription PCR (RT-PCR) was

[收稿日期] 20140428(005)

[基金项目] 全军“十二五”中医药重点项目(10ZYZ105)

[第一作者] 刘斌, 在读硕士, 从事放射性损伤研究, Tel:18331341396, E-mail:863938162@qq.com

[通讯作者] *王炳胜, 硕士, 从事肿瘤放化疗研究, Tel:18803130081, E-mail:bingshengw@126.com

used to detect the dynamic change of mRNA expression of MMP-2, TIMP-2 in each time point. Western-blotting was used to detect the dynamic change of protein expression of MMP-2, TIMP-2 in each time point. **Result:** The expression of MMP-2 mRNA and protein appeared a first increased and then decline trend from 4th weekend to 20th weekend after irradiation, and the peak was in 12th. The expression of TIMP-2 mRNA and protein appeared a rising tend from 4th weekend to 20th weekend after irradiation. The mRNA and protein expression trend is similar to Yiqi Huoxue recipe high-dose group and model group, but they have different change in different time point. In Yiqi Huoxue recipe low-dose group the indicators changed with no statistical significance. **Conclusion:** High-dose Yiqi Huoxue recipe can adjust the expression of MMP-2/TIMP-2 from the transcription and translation level in each period of radioactive lung injury, making so as to reduce the radioactive lung injury. This may be the molecular biology mechanism of the drug in prevention and control of radioactive lung injury.

[Key words] Yiqi Huoxue recipe; radiation-induced lung injury; matrix metallo proteinase/tissue inhibitor of matrix metallo proteinase

放射治疗是对胸部肿瘤最重要的治疗方法之一。然而,报道指出,辐射诱导肺损伤(RILI),包括急性肺炎或纤维化,发生率为 5%~24%。RILI 的发病机制涉及许多因素,如剂量,体积和细胞因子等^[1],多数学者认为,放射线损伤毛细血管内皮细胞、肺泡 II 型上皮细胞等靶细胞,靶细胞释放多种细胞因子,这些细胞因子之间相互影响、作用,从而引发的早期炎症反应和后期纤维化形成,是放射性肺损伤发生的主要机制^[2-4]。对于放射性肺损伤的研究主要集中与早期放射性肺炎的预防与治疗,放射性肺纤维化很难逆转,治疗原则主要有:①吸氧、祛痰、扩张支气管药物;②激素类药物;③抗生素以及免疫调节剂;④自由基、活性氧清除剂;⑤细胞因子拮抗剂;⑥基因疗法。这些方法中对于放射性肺纤维化的直接抑制机制不明。

近年来基质金属蛋白酶(MMP2)/基质金属蛋白酶抑制剂 2(TIM P2)与放射性肺损伤的关系也开始受到关注。笔者前期试验证明 MMP-2/TIMP-2 为放射性肺损伤的关键基因,与放射性肺损伤的发生有密切的关系^[5-6]。同时也证明了益气活血方能够降低其发生率及放射性损伤相关细胞因子的表达,减轻其症状持续时间^[7-8]。该药在临床上应用广泛,是肿瘤放化疗患者良好的辅助用药,并且具有副作用小等优点,但其作用的分子机制不明确。本实验通过采用小剂量多次照射复制大鼠放射性肺损伤模型,并应用益气活血方药进行干预,观察益气活血方对 MMP-2/TIMP-2 mRNA 及蛋白表达的影响,揭示该药防治放射性肺损伤的分子生物学机制。

1 材料

1.1 动物 健康成年雌性 SD 大鼠 120 只,体重(200±20)g,购于北京维通利华实验动物技术有限

公司,合格证号 SCXK(京)2012-0001。

1.2 仪器 6MV-X 射线直线加速器(美国 VARIAN 公司),PX2 梯度 PCR 仪(美国 Thermo 公司),DYY-III TB 型转移电泳仪(北京六一仪器厂),半干式全能型蛋白转印系统(美国 BIO-RAD 公司)。

1.3 试剂 动物组织总 RNA 提取试剂盒及 RT-PCR 试剂盒(北京天根生物科技有限公司,批号 DP431),BCA 蛋白浓度测定试剂盒(北京鼎国昌盛生物有限责任公司,批号 BCA-01),总蛋白提取试剂盒(普利莱基因技术有限公司,批号 P1250),蛋白 Marker(美国 Thermo 公司,批号 26616),MMP-2 兔抗鼠多克隆抗体(批号 BA0569),TIMP-2 兔抗鼠多克隆抗体(批号 BA0576),免疫印迹所用辣根过氧化物酶标记的羊抗兔单克隆二抗(BA1054),均为武汉博士德生物工程有限公司,ECL 发光液(上海索莱宝科技有限公司,批号 PE0020-100)。

2 方法

2.1 动物分组与造模 大鼠供试前在动物房常规饲养观察 3 d,无异常者入组实验。实验大鼠被随机分为模型组(A 组)30 只、照射加益气活血方高剂量组(B 组)30 只、照射加益气活血方低剂量组(C 组)30 只、空白组(D 组)30 只。模型组及益气活血方组大鼠均采用 6MV-X 射线直线加速器照射其右肺,照射前使用 7%的水合氯醛(5 mL·kg⁻¹)ip 麻醉,俯卧于平台,模拟机下定位,铅块遮挡左肺及纵隔,照射野面积 3 cm×3 cm,每次 5 Gy,每周 1 次,共计 6 次,总量 30 Gy。对照组大鼠只进行麻醉,不予照射。益气活血方高、低剂量于受照当天开始 ig 给药,益气活血方高剂量用药量为 20 g·kg⁻¹,益气活血方低剂量用药量为 10 g·kg⁻¹,2 次/d;模型组及对照组每次灌胃蒸馏水 5 mL·kg⁻¹,2 次/d。

2.2 方剂组成 黄芪 30 g, 党参 25 g, 白术 15 g, 茯苓 15 g, 丹参 30 g, 鸡血藤 30 g, 地龙 15 g, 川芎 15 g, 当归 20 g, 苦参 30 g, 香附 30 g, 麦冬 15 g, 枇杷叶 15 g, 紫金牛 10 g, 水煎、醇沉、浓缩、分装、消毒备用, 生药含量 $2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.3 检测指标 于首次照射大鼠开始计时, 4 组大鼠均于第 4, 8, 12, 16, 20 周末随机抽取 6 只大鼠, 用 7% 的水合氯醛 ($5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) *ip* 麻醉后立即开胸取其右肺组织, 将受照射肺组织及对照组正常肺组织均分成两部分保存于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱及 4% 的多聚甲醛中备用。

2.4 MMP2/TIMP2 mRNA 的检测 按照动物总 RNA 提取试剂盒说明书进行操作, 提取大鼠肺组织总 RNA, 并检测其纯度及完整性。根据 GenBank 公布的大鼠全基因的序列, 设计 MMP-2, TIMP-2 的引物, 扩增片段大小分别为: 552, 210 bp (上海生工生物工程有限公司合成)。MMP-2 正链: 5'-GCAAGT-GGTCCGAGTAAAGT-3', 负链: 5'-GCTGCCACAAG-GAATAGG-3'; TIMP-2 正链: 5'-ATGAGCGAGAAG-GAGGTG-3', 负链: 5'-TGAACCACTCCATCCAGAG-3'; β -actin 正链: 5'-GAGCGTGGCTACAGCTTCAC-3', 负链: 5'-GGATGCCACAGGATTCATA-3'。按 RT-PCR 试剂盒说明书进行 RT-PCR。50 $^\circ\text{C}$ 30 min; 扩增条件: 预变性 94 $^\circ\text{C}$ 2 min; 变性 94 $^\circ\text{C}$ 30 s, 退火 52 ~ 56 $^\circ\text{C}$ 30 s, 延伸 65 $^\circ\text{C}$ 60 s, 40 个循环; 最终延伸 65 $^\circ\text{C}$ 10 min。取 PCR 产物 5 μL 进行 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测分析。将凝胶置于 GelDoc2000 凝胶图像分析系统, 测得 PCR 电泳条带荧光强度值, 将不同产物扫描值与 β -actin 表达产物扫描值相比, 以样本/内参的比值表示 mRNA 表达水平。

2.5 MMP2/TIMP2 因子的检测 取冻存肺组织, 剪碎, 按动物总蛋白提取试剂盒说明书操作, 提取肺组织总蛋白。用 BCA 蛋白定量法对提取的动物总蛋白进行定量进行聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 进行电泳, 然后将胶上的蛋白完全转移至 PVDF 膜上。将 PVDF 膜在丽春红染色液中染色 5 min (摇床摇匀); PBS-T 洗膜, 20 min \times 3 次; 5% 的脱脂奶粉 37 $^\circ\text{C}$ 孵育 1 h; 一部分加 PBS-T (1:200) 稀释的一抗 (MMP-2, TIMP-2), 一部分加 β -actin (1:1 000) 稀释, 4 $^\circ\text{C}$ 过夜; 加辣根过氧化物酶标记二抗 37 $^\circ\text{C}$ 摇床孵育 1 h。PBS-T 洗膜 20 min \times 3 次; 在 PVDF 膜上覆以配制好的 ECL 溶液, 作用 1 min 后滤纸吸干, 置于玻璃板上, 再放入化学发光凝胶成像系统。在图像分析系统中作半定量分析, 结果以积分吸光度 (IA) 表示。以样本/内参表示蛋白表达水平。

2.6 统计学处理 每组实验重复 6 次, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 统计学处理应用 SPSS 17.0 软件。两独立样本间比较采用独立样本的 *t* 检验。各组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 MMP-2 mRNA 表达的影响 MMP-2 mRNA 在模型组自 12 周时达高峰, 各时间点模型组与空白组相比均具有明显差异 ($P < 0.01$)。MMP-2 mRNA 在照射加益气活血方高剂量组与模型组相比表达下降, 在第 4, 8 周末中差距有统计学意义 ($P < 0.05$), 12 周时差距最大 ($P < 0.01$), 12 周以后无统计学意义。MMP-2 mRNA 在照射加益气活血方低剂量组与模型组相比稍减弱, 但无统计学意义。见表 1。

表 1 益气活血方对放射性肺损伤大鼠肺组织 MMP-2 mRNA 在不同时间点的相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	MMP-2/ β -actin				
		4 周	8 周	12 周	16 周	20 周
空白	-	0.41 \pm 0.07	0.45 \pm 0.02	0.40 \pm 0.01	0.50 \pm 0.11	0.39 \pm 0.01
模型	-	1.20 \pm 0.01	1.41 \pm 0.02	1.64 \pm 0.02 ¹⁾	1.60 \pm 0.07 ¹⁾	1.30 \pm 0.02 ¹⁾
益气活血方	20	0.88 \pm 0.01	1.20 \pm 0.02 ²⁾	1.40 \pm 0.01 ³⁾	1.40 \pm 0.17	1.09 \pm 0.01
	10	1.15 \pm 0.01	1.35 \pm 0.01	1.79 \pm 0.01	1.50 \pm 0.16	1.20 \pm 0.01

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$; 与模型组比较²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 4 同)。

3.2 对肺组织 TIMP-2 mRNA 表达的影响 与空白组相比 TIMP-2 mRNA 在模型组第 4 周及 8 周时表达稍增强, 差异无统计学意义; 12 周后表达明显增多, 且持续增强 ($P < 0.01$); TIMP-2 mRNA 在益气活血方高剂量组与模型组相比在第 12 周后明显减弱

($P < 0.05$)。低剂量组与模型组相比差距无统计学意义。见表 2。

3.3 对肺组织 MMP-2 蛋白表达的影响 MMP-2 模型组各时间点与空白组相比均升高, 差异有显著性 ($P < 0.01$); 益气活血方高剂量组较模型组下降,

表 2 益气活血方对放射性肺损伤大鼠肺组织 TIMP-2 mRNA 在不同时间点的相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	TIMP-2/ β -actin				
		4 周	8 周	12 周	16 周	20 周
空白	-	0.70 ± 0.02	0.80 ± 0.02	0.80 ± 0.15	0.80 ± 0.01	0.75 ± 0.01
模型	-	0.90 ± 0.02	1.29 ± 0.02	1.60 ± 0.02 ¹⁾	1.90 ± 0.02 ¹⁾	2.40 ± 0.02 ¹⁾
益气活血方	20	0.85 ± 0.01	1.10 ± 0.15	1.30 ± 0.01 ²⁾	1.45 ± 0.16 ²⁾	1.80 ± 0.02 ²⁾
	10	0.88 ± 0.15	1.25 ± 0.16	1.50 ± 0.11	1.75 ± 0.15	2.26 ± 0.02

12 周前差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 但 12 周以后差异无统计学意义。MMP-2 在益气活血方

低剂量组与模型组相比差异无统计学意义, 见表 3。

表 3 益气活血方对放射性肺损伤大鼠肺组织 MMP-2 蛋白在不同时间点的相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	MMP-2/ β -actin				
		4 周	8 周	12 周	16 周	20 周
空白	-	0.800 ± 0.016	0.802 ± 0.019	0.813 ± 0.013	0.701 ± 0.018	0.750 ± 0.013
模型	-	1.801 ± 0.017 ¹⁾	1.298 ± 0.020 ¹⁾	1.599 ± 0.008 ¹⁾	1.900 ± 0.015 ¹⁾	2.396 ± 0.015 ¹⁾
益气活血方	20	1.500 ± 0.017 ²⁾	1.102 ± 0.018 ²⁾	1.251 ± 0.013 ²⁾	1.452 ± 0.014	1.799 ± 0.019
	10	1.700 ± 0.017	1.249 ± 0.013	1.644 ± 0.103	1.700 ± 0.017	2.198 ± 0.009

3.4 TIMP-2 蛋白的表达 模型组大鼠肺组织 TIMP-2 蛋白 4, 8 周与空白组比无统计学意义, 12 周后逐渐增强, 20 周最强 ($P < 0.01$); 益气活血方高剂

量组与模型组比 12 周前差异无统计学意义, 第 12 周后显著降低 ($P < 0.05$); TIMP-2 的表达在益气活血方低剂量组与模型组比差距无统计学意义 (表 4)。

表 4 益气活血方对放射性肺损伤大鼠肺组织 MMP-2 蛋白在不同时间点的相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	MMP-2/ β -actin				
		4 周	8 周	12 周	16 周	20 周
空白	-	0.650 ± 0.008	0.650 ± 0.012	0.650 ± 0.009	0.65 ± 0.015	0.653 ± 0.015
模型	-	0.790 ± 0.127	0.900 ± 0.014	1.35 ± 0.012 ¹⁾	1.490 ± 0.016 ¹⁾	1.851 ± 0.011 ¹⁾
益气活血方	20	0.699 ± 0.014	1.753 ± 0.016	0.990 ± 0.015 ²⁾	1.150 ± 0.012 ²⁾	1.449 ± 0.009 ²⁾
	10	0.750 ± 0.009	0.870 ± 0.012	1.467 ± 0.405	1.383 ± 0.013	1.696 ± 0.013

4 讨论

放射性肺损伤主要分为早期放射性肺炎和晚放射线性肺纤维化, 早期放射性肺炎主要发生于放射治疗后的 1~3 个月, 放射线性肺纤维化主要发生于放疗后的 3~6 个月。本实验中用小剂量分次照射大鼠右肺造模, 类似于临床胸部肿瘤患者的放疗方式。该模型动物死亡率低、稳定可靠, 模型大体外观变化、肺组织形态学变化符合临床放射性肺损伤患者间质水肿期、肺泡炎期和间质纤维化期的发病规律。笔者把 RT-PCR, Western blotting 化的检测时间定在照射开始后第 4, 8, 12, 16, 20 周末可分别观察益气活血方干预前后 MMP-2/TIMP-2 mRNA 及蛋白表达的动态变化, 以揭示益气活血方对放射性肺损伤作用的分子机制。

基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 是一组金属依赖性蛋白酶, 能特异性地降解细胞外基质 (extracellular matrix, ECM), 并可以被组织金属蛋白酶抑制剂 (tissue matrix metalloproteinase inhibitors, TIMPs) 特异性抑制。TIMPs 是 MMPs 功能的重要调节因素, 主要抑制 MMPs 对 ECM 的降解。生理状态下 ECM 处于不断产生和不断降解的动态平衡中, MMPs/TIMPs 是影响 ECM 降解的最主要的一组酶系。IV 型胶原为肺泡基底膜的主要成分, MMP-2 是降解 IV 型胶原的主要酶, 而 TIMP-2 是 MMP-2 的特异性抑制物。通常在放射性肺损伤早期, 当肺组织受照后, 肺泡基底膜和间隔内产生较多 IV 型胶原, 此时肺组织产生的多种基质金属蛋白酶 (MMPs) 降解过多的 IV 型胶原^[9], IV 型胶原的降

解产物又刺激巨噬细胞进一步产生 MMPs,形成恶性循环,使肺组织重建无效,最终导致放射性肺纤维化的形成^[9]。

中医学认为,放射线是热毒之邪。肺组织受到射线辐照后,热毒袭肺,肺热内壅,损伤肺脏血络耗气灼血,脉络瘀阻。因此,放射性肺损伤之病机以气虚血瘀为主,治疗以益气活血为主,佐以养阴。本方剂是以辨证与辨病相结合,经过 10 余年临床经验总结出的防治放射性肺损伤的方药。本方中黄芪、党参、当归、川芎益气补血活血,白术、茯苓益气健脾,丹参、鸡血藤活血养血补血,地龙通络平喘,苦参清热燥湿,香附理气,麦冬、枇杷叶养阴清肺,紫金牛镇咳祛痰。

在本实验中,MMP-2 mRNA 及蛋白表达均出现一个先增高后降低的趋势。而 TIMP-2 mRNA 及蛋白表达则呈现一直增高的趋势。这是因为在放射性肺损伤初期,毛细血管内皮细胞、肺泡 II 型上皮细胞等靶细胞释放的 TGF- β_1 , TNF- α , γ -INF 等细胞因子与 MMP-2 之间形成一个相互调控的关系,共同促进了放射性肺炎的形成。与此同时,受损的肺组织在经历一个损伤重建的阶段,胶原组织在肺泡基质间积聚,MMPs 降解积聚的胶原组织,同时刺激细胞产生 TIMPs 抑制 MMPs^[10]。但此时组织产生的 TIMPs 还不足以平衡 MMPs,故此阶段主要表现为放射性肺炎,而并无肺纤维化形成。因此,此阶段表现为 MMP-2 mRNA 及蛋白表达升高,TIMP-2 mRNA 及蛋白表达增高不明显。随着肺组织炎症反应逐渐减弱,MMP-2 的产生与活化逐渐减少,但 TIMP-2 的表达仍持续升高,引发了 MMP-2/TIMP-2 比例失衡,胶原形成增多,ECM 代谢紊乱,肺纤维化形成。因此 MMP-2 mRNA 及蛋白表达在放射性肺损伤过程中均出现一个高峰期,而 TIMP-2 mRNA 及蛋白表达则是逐渐增高的变化趋势。

本实验发现在放射性肺损伤初期,益气活血方主要下调与放射性肺炎成正相关的 MMP-2 的表达。而在放射性肺损伤后期该药主要通过下调 TIMP-2 的表达来减轻 TIMP-2 对 MMP-2 的抑制的作用,间接使胶原纤维降解增多,从而减轻肺纤维化的程度。总之,笔者的实验结果证明益气活血方在各个时段,从转录及翻译层面对放射性肺损伤大鼠模型 MMP-2/TIMP-2 的表达进行调整,从而

使 MMPs/TIMPs 趋于平衡,减轻放射性肺炎,降低放射性肺纤维化的程度,这可能是该药防治放射性肺损伤的分子生物学机制。

[参考文献]

- [1] Vildan Kaya, Rasih Yazkan, Mustafa Yildirim, et al. The relation of radiation-induced pulmonary fibrosis with stress and the efficiency of antioxidant treatment; An experimental study [J]. Med Sci Monit, 2014 (20): 290.
- [2] Boothe D L, Coplowitz S, Greenwood E, et al. Transforming growth factor β_1 (TGF- β_1) is a serum biomarker of radiation induced fibrosis in patients treated with intracavitary accelerated partial breast irradiation; preliminary results of a prospective study [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2013, 87(5): 1030.
- [3] Przybyszewska M, Miłoszewska J, Rzońca S, et al. Soluble TNF- α receptor I encoded on plasmid vector and its application in experimental gene therapy of radiation-induced lung fibrosis [J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2011, 59(4): 315.
- [4] Wirsdörfer F, Cappuccini F, Niazman M, et al. Thorax irradiation triggers a local and systemic accumulation of immunosuppressive CD4⁺ FoxP3⁺ regulatory T cells [J]. Radiat Oncol, 2014, 9(1): 98.
- [5] Zhang J, Yin L, Wu J, et al. Detection of serum VEGF and MMP-9 levels by Luminex multiplexed assays in patients with breast infiltrative ductal carcinoma [J]. Exp Ther Med, 2014, 8(1): 175.
- [6] Li H, Wu H, Gao Y, et al. Effect of Yangyinqingfei decoction on radiation-induced lung injury via downregulation of MMP12 and TIMP-1 expression [J]. Exp Ther Med, 2014, 8(1): 9.
- [7] 李凤玉,王炳胜,刘秀芳,等.益气活血中药对放射性肺损伤大鼠血清转化生长因子- β_1 和 γ -干扰素的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2009, 16(4): 25.
- [8] 王炳胜,吕国士,张海,等.益气活血养阴方对放射性肺损伤的影像疗效观察 [J]. 中国肺癌杂志, 2007, 10(3): 240.
- [9] Zhu H, Cai X, Fan X. Effect of puerarin on matrix metalloproteinase-2 in human fetal scleral fibroblasts treated with low frequency electromagnetic fields [J]. J Tradit Chin Med, 2013, 33(5): 664.
- [10] 李明,宋良文,孙俐,等. IV 型胶原、MMP-9 和 TIMP-1 基因表达在早期放射性肺纤维化启动中的作用 [J]. 解放军医学杂志, 2007, 32(10): 1063.