论著

文章编号:1000-5404(2010)18-1970-06

尿激酶对急性深静脉血栓形成后血管重构的影响

杨 冰[1],赵庆华[2],赵 渝[3] (400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院 护理学院[1],护理部[2],血管外科[3])

【摘要】 **目的** 探讨尿激酶对急性深静脉血栓栓后静脉壁胶原增生和基质金属蛋白酶动态表达的影响。**方法** 建立大鼠急性下腔静脉血栓模型,分为尿激酶组、未用药对照组以及假手术组。各组分别于术后第3、5、8、14天获取目标血管段,HE染色光镜观察静脉内膜增生程度;Masson胶原染色计算机图像分析系统定量检测静脉壁胶原沉积量;半定量RT-PCR检测静脉壁MMP-2、MMP-9 mRNA表达。Western blot检测MMP-2、MMP-9蛋白表达水平。**结果** ①血栓形成及消融过程中内膜持续增生,8 d时尿激酶组增生达到峰值,未用药对照组14 d时增生仍呈现高水平状态,较尿激酶组增生程度高($P<0.05$);②栓后管壁中胶原总量增多,尿激酶组术后第8天其表达处高峰值但增生程度较未用药对照组低($P<0.01$);③尿激酶组MMP-2、MMP-9较未用药对照组基因表达提前($P<0.01$):尿激酶组MMP-2基因表达在术后第5天升高,第8天最高,伴MMP-2活性增强,14 d仍有活性;MMP-9的表达于术后第3天和第8天分别增强10倍和25倍;未用药对照组MMP-2基因表达在术后第8天升高,第14天最高,伴MMP-2活性增强;MMP-9的表达于术后第3天和第14天分别增强19倍和27倍,活性未见改变。**结论** 尿激酶治疗大鼠急性下腔静脉血栓形成,能使MMP-2、MMP-9基因表达提前并相应减轻内膜增生,减少胶原沉积,其中溶栓早期MMP-9表达增强,而在血栓消融后则由MMP-2起主导作用。

【关键词】 尿纤溶酶原激活物;静脉血栓形成;基质金属蛋白酶2;基质金属蛋白酶9;血管中膜;血管内膜;增生
【中图法分类号】 R322.123;R364.15;R973.2 【文献标志码】 A

Effect of urokinase on vein wall remodeling after deep vein thrombosis in rats

Yang Bing[1], Zhao Qinghua[2], Zhao Yu[3] ([1]College of Nursing, [2]Department of Nursing, [3]Department of Vascular Surgery, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the effect of urokinase on hyperplasia of collagen and dynamic expression of matrix metalloproteinase (MMP) in early vein wall remodeling after deep vein thrombosis (DVT). **Methods** A total of 84 male 3-month-old Wistar rats were randomly divided into DVT + urokinase treatment group (group A), DVT group (group B), and sham-operation group, with 28 animals in each group. DVT model was established by ligating the infrarenal inferior vena cava (IVC). Urokinase at 2×10^4 U/kg was injected through tail vein at once per day for 10 d in group A, while the rats in group B and C was given normal saline at the same volume. Vein tissue samples with thrombosis were collected in 3, 5, 8 and 14 d after surgery. Intimal hyperplasia and collagen deposition was observed by light microscopy with HE and Masson staining respectively and analyzed with color image analysis system. The expressions of MMP-2,-9 mRNA and protein in all groups were detected by RT-PCR and Western blotting respectively. **Results** During the thrombopoiesis and thrombus ablation, intimal hyperplasia reached the peak value in 8 d in group A, and was in a high level in group B even in 14 d, significantly higher than that of group A ($P<0.05$). Collagen deposition was increased in vein wall after thrombosis, and reached the peak in 8 d in group A, but the amount was significant lower compared with that in group B ($P<0.05$). In group A, MMP-2 and -9 gene were expressed earlier than in B group ($P<0.01$). MMP-2 expression begun to increase in 5 d and then reached the peak value in 8 d with MMP-2 activity was enhanced. MMP-9 expression was increased by 10-fold and 25-fold at days 3 and 8 respectively. In group B, MMP-2 gene expression was elevated at 8 d and reached the peak value at 14 d with its activity was enhanced. MMP-9 expression was increased by 19-fold and 27-fold at days 3 and 14, respectively,

【基金项目】 重庆市卫生局医学科学技术研究项目(2008-2-60)
【通信作者】 赵庆华,电话:(023)89012206,E-mail:qh20063@163.com

but there was no change in its activity. **Conclusion** Urokinase exerts certain effects on the thrombopoiesis in rat DVT, by increasing early MMP-2 and -9 expressions, and attenuating intimal hyperplasia and collagen deposition. During the early stage of thrombolysis, MMP-9 expression is enhanced, but MMP-2 plays a role after thrombus ablation.

[Key words] urinary plasminogen activator; venous thrombosis; matrix metalloproteinase 2; matrix metalloproteinase 9; tunica media; tunica intima; hyperplasia

Supported by the Program of Medical Science and Technology Research of Chongqing Municipal Health Bureau (2008-2-60). Corresponding author: Zhao Qinghua, Tel: 86-23-89012206, E-mail: qh20063@163.com

急性深静脉血栓形成(deep venous thrombosis, DVT)后可导致静脉壁损伤:管壁纤维化和由基质蛋白酶介导的有关的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的转归[1]。目前,国际上普遍认可溶栓药物主要有 2 种:尿激酶和组织纤维蛋白溶酶原激活剂(tissue plasminogen activator, tPA)。其中 tPA 在国外应用较多,而我国主要的溶栓药物是尿激酶。有关尿激酶短期溶栓效果已得到肯定,但其对局部血管相关重塑分子及其生物学作用机制还有待进一步研究。本实验通过建立大鼠下腔静脉血栓模型,观察尿激酶对 MMP-2、MMP-9 等血管重塑因子及胶原沉积量的动态变化的影响,并探讨其可能的机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

尿激酶(丽珠集团丽珠制药厂),RNAiso Plus、RT-PCR 试剂盒[宝生物工程有限公司(TaKaRa)],PCR 特异性引物由北京赛百盛生物工程公司合成,兔抗大鼠 MMP-2、MMP-9 抗体购自美国 Lab Vision 公司,即用型快速免疫组化 MaxVision 试剂盒和 DAB 显色试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物与分组 84 只雄性健康 Wistar 大鼠,鼠龄 3 个月,体质量 250 ~ 300 g,由重庆医科大学实验动物中心提供。Wistar 大鼠按照完全随机分组法分为尿激酶组、未用药对照组、假手术组,每组 28 只,每组再分为术后 3、5、8、14 d 4 个时相,每个时相点 7 只大鼠。

1.2.2 急性下腔静脉血栓形成模型的制作[1,2] 2% 苯巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔麻醉,游离左肾静脉与下腔静脉汇合处和髂总静脉分叉处之间的下腔静脉段。分别在左肾静脉汇合下腔静脉处下方、髂总静脉分叉处上方用显微血管夹暂时阻断下腔静脉 1 h,经 25 G 细针穿刺无血液流出。取下血管夹关腹。12 h 后血管超声证实该段静脉内血栓形成。尿激酶组、未用药对照组模型制作成功率为 100%。假手术组按上述方法游离目标血管段但不阻断。

1.2.3 给药 成功建模后,尿激酶组给予尾静脉注入尿激酶 20 000 U/kg,每天 1 次,共 10 d;未用药对照组、假手术组给予相同容量的生理盐水,每天 1 次,共 10 d。

1.2.4 观察指标

1.2.4.1 组织形态学观察 分别于术后的第 3、5、8、14 天,切除血栓形成的腔静脉段约 2 cm,固定于 10% 甲醛溶液。HE、Masson 三色染色观察管壁内膜增生(intimal hyperplasia, IH);胶原纤维沉积情况。应用 Motic Med 6.0 计算机彩色图像分析系统采集数据:胶原纤维沉积情况以 $\bar{x} \pm s$ 标准差作为样本数据;内膜厚度(I)以内弹性膜至血管腔的厚度计算,中膜厚度(M)以内弹性膜和外弹性膜的厚度计算,计算内膜增生程度 R = I/M[3],每隔 1/6 圆周测量 1 次(分别于血管断面的 2、4、6、8、10、12 点处测量),共 6 处,取平均值。

1.2.4.2 MMP-2、MMP-9 mRNA 检测 采用半定量 RT-PCR 方法。具体步骤:提取各组局部管壁组织总 RNA 并定量,用 DNA 酶Ⅰ处理总 RNA 以去除 DNA 污染,各实验组取同等量的 RNA 反转录后进行 PCR。MMP-2、9 PCR 引物设计见表 1(所有引物经 GenBank 查询为目前已知基因特异性引物序列)。将 PCR 扩增的产物以 20 g/L 琼脂糖凝胶上进行电泳检测,电压一般为 70 ~ 80 V。电泳完毕后,长波紫外灯下观测照相。结果用 Quantity One 4.4.0 软件行定量分析,以目的基因与 β-actin 条带平均光密度比值表示目的基因 mRNA 的相对表达量。

表 1 MMPs PCR 引物序列及反应条件

靶基因	引物序列(5′→3′)	引物大小(bp)	退火条温度(℃)	循环次数
β-actin	上游:GTTCGCCATGGATGACGATATC	266	59	30
	下游:GCCAGATCTTCTCCATGTCGTC			
MMP-2	上游:ATGGCAAGGAGTACAACAGC	377	55	30
	下游:GCTGGTGCAGCTCTCATATT			
MMP-9	上游:TGGGCTACGTGACCTATGACAT	172	55	30
	下游:GCCCAGCCCACCTCCACTCCTC			

1.2.4.3 Western blot 检测 MMP-2、MMP-9 蛋白表达 按 10 ml/g 的比例加入全细胞裂解液,组织经匀浆、超声破碎后,用二喹啉甲酸(BCA)法进行蛋白定量。10% 的十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)法上样量为 28 μg。电泳条件 4 ℃。电流 20 ~ 30 mA。电泳结束后,进行蛋白质转膜。转膜条件:采用孔径为 0.22 m 的硝酸纤维素膜(NC),4 ℃,电流 400 mA,转膜 3 h。10% 脱脂牛奶封闭 NC 膜 1 h,TYBS(20 mmol/L Tris-HCl, pH = 7.5, 0.15 mmol/L NaCl, 0.05% Tween20)漂洗 3 次,每次 10 min,然后室温下与 β-actin、MMP2、MMP9 (1∶1 000) 杂交反应 3 h,吐温 20/Tris 盐酸缓冲液

(TTBS)漂洗同前。再将NC膜与辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(1∶5 000)杂交反应1 h。最后用TTBS漂洗NC膜3次,每次10 min,加入ECL试剂反应5 min,保鲜膜包裹,暗室X2光胶片曝光、显影和定影。凝胶图像分析仪获取图形。对图像条带进行光密度分析。以β-actin作内参对各样本进行标准化定量,MMP-2、MMP-9蛋白表达水平以各组样本与β-actin带光密度比值表示。

1.3　统计学分析

数据以$\bar{x} \pm s$表示,采用SPSS 11.0统计软件进行统计学处理,组内不同时相点的比较采用单因素方差分析,组间同一时相点的比较采用t检验。

2　结果

2.1　内膜增生检测结果

术后3 d,尿激酶组内弹性膜均不完整,中膜增生明显,可见不规则排列的平滑肌细胞;未用药对照组内膜增生明显。术后8 d,各组均可见较完整的内弹性膜,中膜见许多排列整齐的胶原纤维,环形排列的平滑肌细胞增多,尿激酶组内膜增生程度达到峰值,但小于未用药对照组($P<0.05$),见图1。术后14 d,未用药对照组内膜继续增厚,出现较多的弹性纤维,中膜平滑肌细胞减少,胶原纤维增多。术后3、5、8、14 d,内膜厚度(I)、中膜厚度(M)及计算所得的内膜增生程度(R)结果见表2。

2.2　下腔静脉壁胶原沉积检测结果

Masson染色结果(图2)显示:与假手术组相比,尿激酶组、未用药对照组分别于第5、8天已有明显胶原纤维沉积($P<0.01$),其中尿激酶组胶原沉积第8天达到峰值,后变化不明显;未用药对照组5、8、14 d胶原沉积量均高于尿激酶组($P<0.01$),且至14 d仍保持较高水平;假手术组未见明显胶原沉积(表3)。

表2　各组各时相点内膜厚度、中膜厚度及内膜增生程度的比较
($n=7, \bar{x} \pm s$)

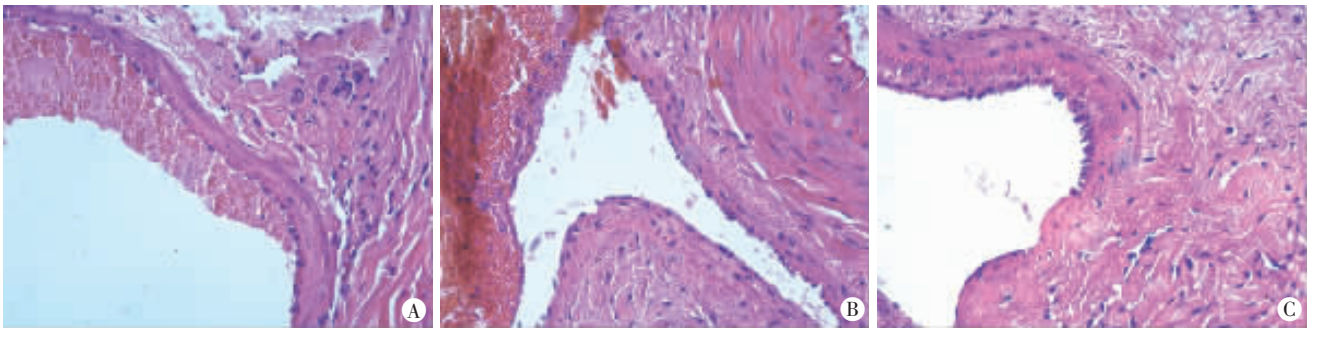
组别	内膜厚度(μm)	中膜厚度(μm)	内膜增生程度
假手术组			
3 d	9.23±1.03	15.24±1.03	0.58±0.03
5 d	8.92±0.98	14.88±1.33	0.51±0.03
8 d	9.34±1.22	15.29±1.00	0.56±0.03
14 d	9.56±1.31	16.88±2.01	0.56±0.04
尿激酶组			
3 d	10.69±1.68	18.51±2.41	0.73±0.05[a]
5 d	24.61±2.91	25.37±2.80	0.86±0.06[a]
8 d	63.09±6.48	44.68±5.29	1.38±0.08[ad]
14 d	64.27±5.25	44.31±4.93	1.46±0.07[a]
未用药对照组			
3 d	21.92±1.85	20.83±2.61	1.06±0.09[ab]
5 d	46.52±2.25	35.17±3.51	1.44±0.08[abc]
8 d	80.04±7.65	48.02±5.17	1.64±0.07[abe]
14 d	84.45±9.39	49.79±4.05	1.69±0.09[ab]

a:$P<0.05$,与假手术组比较;b:$P<0.05$,与尿激酶组比较;c:$P<0.05$,与同组8 d比较;d:$P<0.05$,与同组5 d比较;e:$P<0.05$,与同组14 d比较

表3　各组在术后不同时相点胶原纤维染色面积的比较(%, $\bar{x} \pm s$)

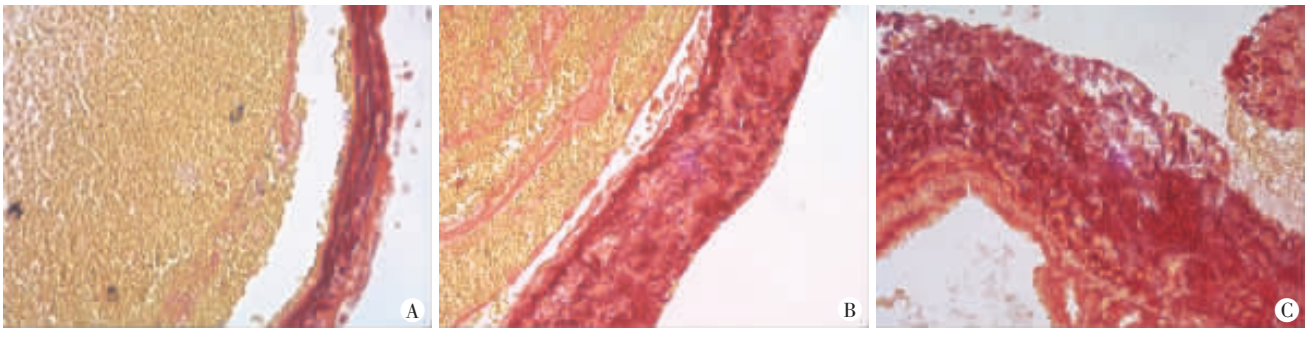
组别	静脉数(条)	3 d	5 d	8 d	14 d
尿激酶组	7	14.10±4.40[a]	18.97±5.40[a]	21.19±5.60[a]	20.52±6.40[a]
未用药对照组	7	13.55±5.20[a]	22.41±5.50[ab]	28.84±6.20[ab]	37.88±7.60[ab]
假手术组	6	7.39±2.10	8.10±3.00	8.63±3.20	7.82±3.40

a:$P<0.01$,与假手术组比较;b:$P<0.01$,与尿激酶组比较



A:假手术组　轻度内膜增生;B:尿激酶组　中度内膜增生;C:未用药对照组　重度内膜增生

图1　HE染色观察术后8 d各组内膜增生程度(×200)

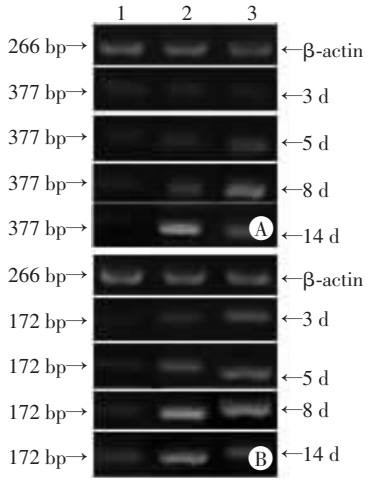


A:假手术组　轻度胶原沉积;B:尿激酶组　中度胶原沉积;C:未用药对照组　重度胶原沉积

图2　术后8 d Masson染色观察各组胶原沉积(×200)

2.3 各组 MMP-2、MMP-9 mRNA 水平比较

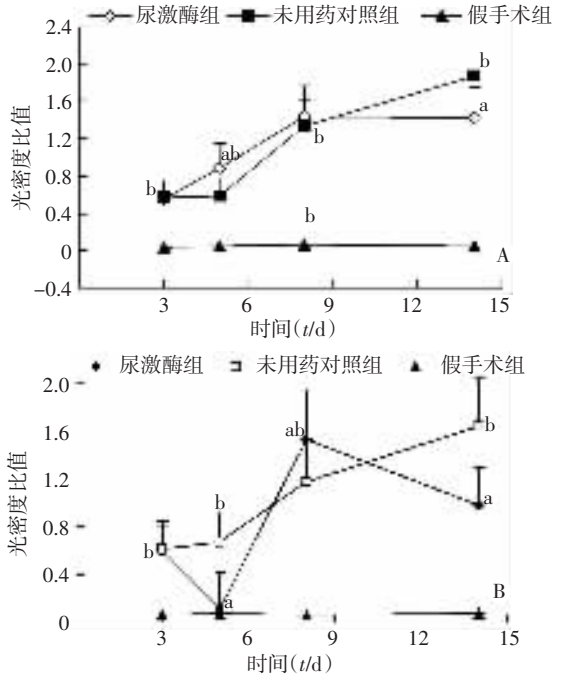
RT-PCR 检测大鼠局部管壁组织 MMP-2、MMP-9 mRNA 的表达水平：尿激酶组 MMP-2、MMP-9 较未用药对照组基因表达提前($P<0.01$)：尿激酶组 MMP-2 基因表达在术后第 5 天升高，8 天最高；未用药对照组 MMP-2 基因表达在术后第 8 天升高，第 14 天最高。尿激酶组 MMP-9 的表达于术后第 3 天和第 8 天分别较假手术组增强 10 倍和 25 倍；未用药对照组 MMP-9 的表达于术后第 8 天和第 14 天分别较假手术组增强 19 倍和 27 倍($P<0.01$，图 3、4)。



1：假手术组；2：未用药对照组；3：尿激酶组

A：MMP-2；B：MMP-9

图 3 RT-PCR 检测各组术后不同时间 MMP-2、MMP-9 mRNA 的表达



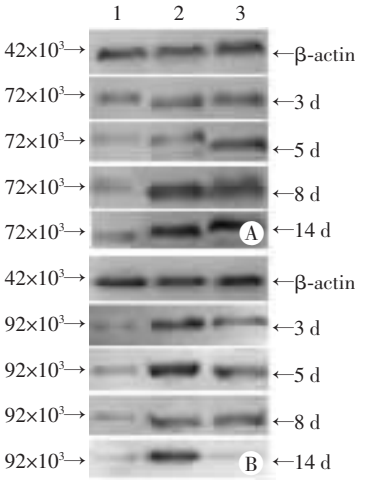
a：$P<0.01$，与未用药对照组比较；b：$P<0.01$，与假手术组比较

A：MMP-2；B：MMP-9

图 4 各组术后不同时间 MMP-2、MMP-9 mRNA 的表达

2.4 各组不同时相点 MMP-2、MMP-9 蛋白水平表达的比较

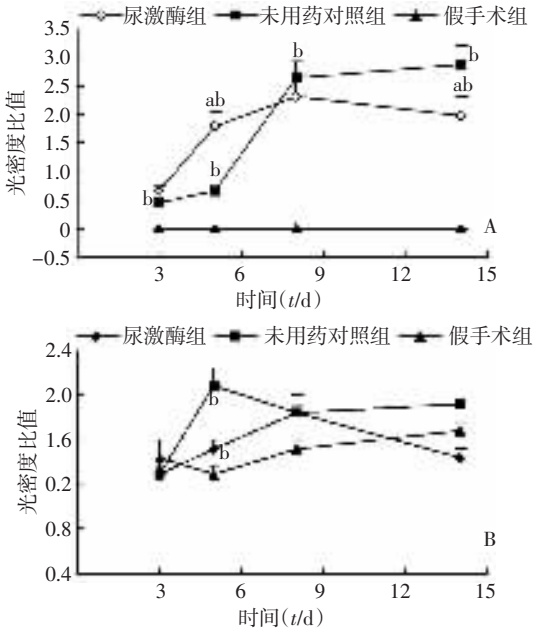
尿激酶组 MMP-2 活性在术后第 5 天升高，较未用药对照组高($P<0.05$)，14 d 时仍有活性；未用药对照组 MMP-2 活性表达在术后第 8 天升高，14 d 达到峰值，较尿激酶组高($P<0.01$)。尿激酶组与未用药对照组比较 MMP-9 活性无改变($P>0.05$，图 5、6)。



1：假手术组；2：未用药对照组；3：尿激酶组

A：MMP-2；B：MMP-9

图 5 Western blot 检测各组术后不同时间 MMP-2、MMP-9 蛋白的表达



a：$P<0.01$，与未用药对照组比较；b：$P<0.01$，与假手术组比较

A：MMP-2；B：MMP-9

图 6 各组术后不同时间 MMP-2、MMP-9 蛋白的表达

3 讨论

从20世纪90年代后期以来,大量研究发现DVT的消融过程同炎症有密切关系[4,5]:DVT时发生亚急性炎症,使促炎症细胞因子在局部释出,并有中性粒细胞浸润,继而出现单核和吞噬细胞,引发血栓静脉的管壁类似创伤愈合的重塑病变[6-8]:内膜增生、管壁纤维化和由基质蛋白酶介导的有关的ECM的转归。基质金属蛋白酶(matric x metalloproteinases, MMPs)是一个依赖锌离子的肽链内切酶基因家族,主要由中性粒细胞、单核细胞、血管内皮细胞合成与分泌。生理条件下MMPs的活性受到严格的调控,当其以酶原的形式从胞内分泌到胞外后,经酶解过程而激活,能分解纤维类胶原,在ECM重塑的部位易于诱导表达,是调节细胞外基质动态平衡最重要的酶系[9,10],其中MMP-2和MMP-9能清除Ⅳ、Ⅴ、Ⅶ、Ⅹ、Ⅺ型胶原,水解不溶性弹性蛋白,进一步降解裂解的胶原片段,是细胞迁移中的关键酶,因能降解明胶而又称明胶酶。TIMP是MMP的内源性特异性抑制因子,通过抑制MMP活性参与血管重塑。抑制MMP-2(MMP-9)或过表达TIMP-1(TIMP-2、TIMP-3、TIMP-4)有助于减轻血管损伤后内膜增生[11]。在正常稳定状态组织中MMPs表达量极少,而在炎性细胞因子、激素、生长因子刺激下和细胞转化过程其表达明显上调。同时,部分研究表明,在急性DVT形成中,管壁内各种MMP基因的表达和活性的变化并不同步:Deatrick等[12]在动物实验研究发现:DVT后管壁中胶原总量增多,溶胶原Ⅰ和Ⅲ也相应增加,术后第12天其表达处于高峰值,MMP-2基因表达在术后第12天升高23倍,伴MMP-2活性明显增强,MMP-9的表达于术后第4天和第8天增强,但其活性无改变。张丽芳等[13]观察大鼠血管内膜损伤后MMP-2、TIMP-2的变化规律,发现动脉内膜损伤后3 d各因子表达均明显增加,随后下降,MMP-1至术后14 d、MMP-2至术后21 d降低至与对照组比较差异无统计学意义,TIMP-2至术后21 d时仍持续高于对照组,故推测大鼠动脉损伤后21 d内是较好的干预时间窗。本实验对照组结果显示基本与文献结果相似:MMP-2基因表达在术后第8天升高,14 d仍高水平表达,伴MMP-2活性增强;MMP-9的表达于术后第3天和第14天分别增强19倍和27倍,活性未见改变。可见MMP-2在栓后对局部静脉管壁重塑后期起到的主导作用。

急性DVT后收缩型血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell,VSMC)在多种因素的刺激下,转化为合成型VSMC,大量合成胶原[14]。一方面,VSMC分泌ECM及分解基质的MMPs,另一方面不同的ECM参与平滑肌细胞(SMC)的增殖迁移、促进SMC表型的改变。因此,阐明尿激酶对胶原、ECM和MMPs之间复杂的相互关系对抑制静脉血管重塑具有重要的意义。目前,尿激酶在动脉管壁的重塑过程中的影响报道较多,但对于急性DVT后对局部静脉管壁重塑因子的动态影响还鲜有研究且说法不一:国外学者发现尿激酶可增加组织细胞MMP-2及MMP-9的含量和活性[15,16];文献[17-19]通过实验发现tPA可通过细胞因子或介质等途径来增量调节MMP-9的表达;而Dewyer等[20]却发现纤溶酶抑制剂在大鼠DVT后血栓消融过程中能增加MMP-9的活性并能降低管壁硬化程度。本实验采用半定量RT-PCR和Western blot分别检测MMP-2、MMP-9 mRNA和蛋白含量的变化,结果显示:MMP-2、MMP-9在假手术组未见明显表达,在尿激酶组、未用药对照组局部静脉组织MMP-2及MMP-9的含量和活性增加;但尿激酶组较未用药对照组其基因表达提前($P<0.01$)而含量未明显升高($P>0.05$)。本实验说明尿激酶在治疗急性DVT血栓消融过程对血管重塑因子MMP-2、9的影响仅在于使其基因表达提前,至于其含量与活性的表达升高仍然可能由于炎症刺激等因素所促使。对照国外相关文献结果分析尿激酶导致基因表达提前但表达含量未明显增加的原因可能有如下几个方面:一方面,尿激酶能直接与细胞表面受体(uPAR)结合并激活局部粘着斑激酶,继而激活Ras-Raf-MEK1/2-ERK1/2信号转导途径,激活的ERK1/2进一步活化NF-KB和AP-1,最终导致MMP-2、MMP-9 mRNA转录增强和蛋白表达增高[21,22]。因此,在用药早期,大剂量的尿激酶干预能较对照组直接促使MMP-2、MMP-9基因表达提前。另一方面,由于急性血栓所引起的血管壁急性炎性反应迅速而强烈,炎症刺激血管平滑肌增生迁移分泌大量的ECM,胶原是ECM的主要成分,正常血管壁以较粗大的Ⅰ型胶原为主,而纤细的Ⅲ型胶原量较少,Ⅲ型胶原在损伤早中期大量合成,参与了内膜部分的增厚[23]。MMP-2、MMP-9是平滑肌细胞发生迁移的条件:MMPs不断降解ECM,屏障作用减弱,促进了平滑肌的增生和迁移。本实验中,大剂量尿激酶迅速溶解血栓防止其局部发挥持久作用,可以减轻内膜损伤和血栓机化这种内膜增生的途径(本实验结果示尿激酶

干预组 IH 程度及胶原沉积程度较对照组低，$P < 0.05$）。这种差异不仅因尿激酶的溶栓作用，而且是因为它能减轻血栓引起的血管壁急性炎症反应[24]。炎症反应的减弱，使得在一定程度抑制血管平滑肌增生迁移分泌 ECM，从而进一步减轻胶原沉积与内膜增生及 MMPs 的诱导表达。本研究结果证实尿激酶干预组 MMP-2、MMP-9 在 mRNA 转录增强和蛋白表达增高与该组胶原沉积与内膜增生平行的演变关系（正常血管中未见表达，损伤 5 d 开始表达增加，8 d 达到高峰，以后逐渐下降）。再者，也有研究[12,25]认为 MMPs 的表达状况与 TIMPs 的活性调节密切相关，单一 MMPs 表达水平的高低并不能预测和评估 DVT 溶栓预后，需同时检测 TIMPs 的表达。因此，MMP-2、MMP-9 的表达能否准确评价尿激酶干预预后，尚有待于进一步研究。

综上所述，尿激酶治疗大鼠急性下腔静脉血栓形成，能使 MMP-2 、MMP-9 基因表达提前并相应减轻内膜增生，减少胶原沉积，其中溶栓早期 MMP-9 表达增强，而在血栓消融后则由 MMP-2 起主导作用。

参考文献：

[1] Moaveni D K, Lynch E M, Luke C, *et al*. Vein wall re-endothelialization after deep vein thrombosis is improved with low-molecular-weight heparin[J]. J Vasc Surg, 2008, 47(3): 616 – 624.

[2] Zhou J, May L, Liao P, *et al*. Inferior vena cava ligation rapidly induces tissue factor expression and venous thrombosis in rats[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009, 29(6): 863 – 869.

[3] 张鲁锋，肖锋，李简，等. 局部缓释雷帕霉素抑制静脉移植血管内膜增生[J]. 中华医学杂志，2006，86(24)：1706 – 1709.

[4] Poredos P, Jezovnik M K. The role of inflammation in venous thromboembolism and the link between arterial and venous thrombosis[J]. Int Angiol, 2007, 26(4): 306 – 311.

[5] Wakefield T W, Myers D D, Henke P K. Mechanisms of venous thrombosis and resolution[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28(3): 387 – 391.

[6] Henke P K, Varma M R, Deatrick K B, *et al*. Neutrophils modulate post-thrombotic vein wall remodeling but not thrombus neovascularization[J]. Thromb Haemost, 2006, 95(2): 272 – 281.

[7] Zhou J, May L, Liao P, *et al*. Inferior vena cava ligation rapidly induces tissue factor expression and venous thrombosis in rats[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol[J]. 2009, 29(6): 863 – 869.

[8] Henke P K, Wakefield T. Thrombus resolution and vein wall injury: dependence on chemokines and leukocytes[J]. Thromb Res, 2009, 123(Suppl 4): S72 – S78.

[9] Magid R, Murphy T J, Galis Z S. Expression of matrix metalloproteinase-9 in endothelial cells is differentially regulated by shear stress. Role of c-Myc[J]. J Biol Chem, 2003, 278(35): 32994 – 32999.

[10] Henke P K. Plasmin and matrix metalloproteinase system in deep venous thrombosis resolution[J]. Vascular, 2007, 15(6): 366 – 371.

[11] Galis Z S, Khatri J J. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly[J]. Circ Res, 2002, 90(3): 251 – 262.

[12] Deatrick K B, Eliason J L, Lynch E M, *et al*. Vein wall remodeling after deep vein thrombosis involves matrix metalloproteinases and late fibrosis in a mouse model[J]. J Vasc Surg, 2005, 42(1): 140 – 148.

[13] 张丽芳，柯元南. 大鼠动脉内膜损伤后血管重塑相关因子的动态变化[J]. 中日友好医院学报，2007，21(2)：91 – 93.

[14] Raffetto J D, Khalil R A. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease[J]. Biochem Pharmacol, 2008, 75(2): 346 – 359.

[15] Solomatina M A, Plekhanova O S, Men 'shikova M Y, *et al*. Urokinase increases the content and activity of matrix metalloproteinases 2 and 9 during *in vivo* constrictive arterial remodeling [J]. Bull Exp Biol Med, 2005, 139(3): 283 – 286.

[16] Menshikov M, Elizarova E, Plakida K, *et al*. Urokinase upregulates matrix metalloproteinase-9 expression in THP-1 monocytes via gene transcription and protein synthesis[J]. Biochem J, 2002, 367(Pt 3): 833 – 839.

[17] Wang X, Lee S R, Arai K, *et al*. Lipoprotein receptor-mediated induction of matrix metalloproteinase by tissue plasminogen activator [J]. Nat Med, 2003, 9(10): 1313 – 1317.

[18] Wang S, Lee S R, Guo S Z, *et al*. Reduction of tissue plasminogen activator-induced matrix metalloproteinase-9 by simvastatin in astrocytes[J]. Stroke, 2006, 37(7): 1910 – 1912.

[19] Zhang C, An J, Haile W B, *et al*. Microglial low-density lipoprotein receptor-related protein 1 mediates the effect of tissue-type plasminogen activator on matrix metalloproteinase-9 activity in the ischemic brain[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2009, 29(12): 1946 – 1954.

[20] Dewyer N A, Sood V, Lynch E M, *et al*. Plasmin inhibition increases MMP-9 activity and decreases vein wall stiffness during venous thrombosis resolution[J]. J Surg Res, 2007, 142(2): 357 – 363.

[21] Roztocil E, Nicholl S M, Davies M G. Mechanisms of kringle fragment of urokinase-induced vascular smooth muscle cell migration[J]. J Surg Res, 2007, 141(1): 83 – 90.

[22] Nicholl S M, Roztocil E, Davies M G. Urokinase-induced smooth muscle cell responses require distinct signaling pathways: a role for the epidermal growth factor receptor[J]. J Vasc Surg, 2005, 41(4): 672 – 681.

[23] Gerthoffer W T. Migration of airway smooth muscle cells[J]. Proc Am Thorac Soc, 2008, 5(1): 97 – 105.

[24] Patel V P, Bong M, Di-Cesare P E. Heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis[J]. Am J Orthop, 2007, 36(5): 255 – 260.

[25] Nakata N, Kira Y, Yabunaka Y, *et al*. Prevention of venous thrombosis by preoperative glycyrrhizin infusion in a rat model[J]. J Orthop Sci, 2008, 13(5): 456 – 462.

（收稿 2010-04-01 修回 2010-04-28）

（编辑 张 维）