论著

文章编号:1000-5404(2005)21-2164-03

基质金属蛋白酶-2及其组织抑制物-2在子宫内膜异位症的表达

吴 平[1],马彩虹[2],李美芝[2] ([1]三峡大学仁和医院妇产科,宜昌 443001;[2]北京大学第三医院妇产科,北京 100083)

提 要:目的 探讨基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2,MMP-2)和组织金属蛋白酶抑制物-2(tissue inhibitor of metalloproteinase-2 ,TIMP-2)在子宫内膜异位症发生发展中的作用。**方法** 采用免疫组化链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶染色法(S-P法)检测22例子宫内膜异位症的异位内膜和在位内膜组织中MMP-2、TIMP-2的表达,并以20例正常子宫内膜为对照组。**结果** 在异位内膜组织的腺上皮细胞MMP-2呈高表达状态,与子宫内膜异位症在位内膜和正常子宫内膜相比,有非常显著性差异($P<0.01$),TIMP-2在异位内膜组织中呈低表达,与子宫内膜异位症在位内膜和正常子宫内膜相比,差异有显著性($P<0.05$),但MMP-2、TIMP-2在子宫内膜异位症在位内膜和正常子宫内膜中的表达,二者间没有显著性差别($P>0.05$)。MMP-2、TIMP-2的表达强度与子宫内膜异位症的严重程度无明显相关性。**结论** 异位内膜组织中MMP-2过度表达,而TIMP-2的表达下降,导致MMP-2/TIMP-2的比例增高,使异位内膜组织具有更强的侵袭力,可能在子宫内膜异位症的发生发展中起重要作用。

关键词:金属蛋白酶类;金属蛋白酶类组织抑制剂;细胞外基质

中图法分类号:R345.3;R345.9;R711.710.2 **文献标识码**:A

Expression of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in endometriosis

WU Ping[1], MA Cai-hong[2], LI Mei-zhi[2] ([1]Department of Obstetrics and Gynecology, Renhe Hospital of Sanxia University, Yichang 443001, [2]Department of Obstetrics and Gynecology, The Third Hospital of Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract: **Objective** To investigate the role of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) in the pathogenesis of endometriosis. **Methods** Immunohistochemical S-P method was employed to detect the expression of MMP-2 and TIMP-2 in the ectopic tissues and eutopic endometrium of 22 patients with endometriosis and 20 normal controls. **Results** The expression of MMP-2 in glandular cells was significantly higher than those of uterine endometrium from women with and without endometriosis ($P<0.01$). The expression of TIMP-2 in the ectopic tissue was lower than that of the eutopic endometrium from women with endometriosis and the normal controls ($P<0.05$). The expression of MMP-2 and TIMP-2 in eutopic endometrium showed no difference from that of the normal controls ($P>0.05$). The expressions of MMP-2 and TIMP-2 were not related to the degree of endometriosis. **Conclusion** The increased expression of MMP-2 and the decreased expression of TIMP-2 in the ectopic endometriotic tissues result in the higher ratio of MMP-2/TIMP-2 that can make ectopic endometrial tissues have a greater capacity to invade and play an important role in the pathogenesis of endometriosis.

Key words: endometriosis; metalloproteinases; tissue inhibitor of metalloproteinase; extraceller matrix

子宫内膜异位症(endometriosis, EMs)是育龄期妇女的常见病和多发病,其发病率呈上升趋势,发病机制至今尚未完全阐明。研究表明,细胞外基质(Extracellular matrix ,ECM)的降解和重建是异位内膜侵袭并种植于腹膜的关键因素[1]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是一组蛋白水解酶,有破坏与降解细胞外基质的作用,它在异位内膜的侵袭作用是目前研究内异症发病机制的热点。金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMPs)是MMPs的特异性抑制因子,TIMPs通过调节MMPs的活

作者简介:吴 平(1964-),女,湖北省宜昌市人,侗族,副主任医师,主要从事妇科内分泌临床方面的研究,发表论文18篇。电话:(0717)6486735

收稿日期:2005-01-06;修回日期:2005-07-23

性来调控 ECM 的更新、破坏，二者之间的平衡会引起多种病理改变[2]。本研究采用免疫组织化学方法检测 MMP-2 和 TIMP-2 在 EMs 的异位内膜、在位内膜及正常子宫内膜中的表达，以探讨其在子宫内膜异位症发病机制中的作用。

1　资料与方法

1.1　研究对象

全部研究标本均来自北京大学第三医院妇产科 2002 年 1 月至 2003 年 2 月因 EMs 而行卵巢子宫内膜异位灶剥离术和/或子宫切除术的患者 22 例为试验组，其中增殖期 10 例，分泌期 12 例，年龄(36.3 ± 5.1)岁，按 1985 年美国生殖协会修正的子宫内膜异位症 γ-AFS 分期标准[3]，Ⅰ期 3 例、Ⅱ期 8 例、Ⅲ期 9 例、Ⅳ期 2 例。患者在术前 3 个月未用过激素治疗。19 例 EMs 在位内膜取自上述因子宫内膜异位症行子宫切除的患者，增殖期 9 例，分泌期 10 例，对照组 20 例为同期因子宫肌瘤等良性病变而行子宫切除的子宫内膜，增殖期 9 例，分泌期 11 例，年龄(38.1 ± 4.2)岁。月经周期的划分根据末次月经及子宫内膜病理检查结果确定。试验组与对照组年龄无显著性差异。

1.2　方法

1.2.1　标本采集　　所有标本均在手术时收取，常规用 10% 甲醛溶液固定，常规脱水及石蜡包埋，切成 4μm 厚的石蜡切片，HE 染色，光镜下观察组织学形态，筛选组织标本。

1.2.2　MMP-2、TIMP-2 的免疫组化测定　　采用免疫组化链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶染色法(S-P 免疫组化法)，一抗为兔抗人 MMP-2、兔抗人 TIMP-2 的多克隆抗体，一抗与免疫组化试剂盒(既用型)均购自博士德生物工程有限公司，染色步骤按试剂盒操作说明进行。用已知的阳性乳腺癌切片作对照，阴性对照以 PBS 代替一抗进行。

1.2.3　结果判定　　MMP-2、TIMP-2 的阳性染色为内膜细胞中出现棕黄色或褐色颗粒，根据阳性细胞百分率及显色深浅分级：①阳性细胞百分率：无细胞显色为 0；小于 25% 细胞显色为 1；25% ~ 50% 细胞显色为 2；> 50% 细胞显色为 3。②显色深浅：不显色或显色不清为 0；浅黄色为 1；棕黄色为 2；深褐色为 3。二项的乘积：0 ~ 1 分为阴性(－)；2 ~ 3 分为弱阳性(＋)；4 ~ 5 分为中度阳性(++)；> 5 分为强阳性(+++)。

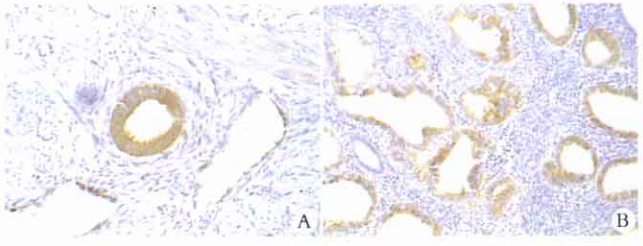
1.3　统计学方法

实验结果采用 SPSS 10.0 软件进行秩和检验。

2　结果

2.1　MMP-2 在子宫内膜异位症在位、异位内膜组织及正常子宫内膜组织中的表达

在正常子宫内膜的腺上皮细胞及间质细胞中均有 MMP-2 的表达，以腺上皮细胞表达为主，MMP-2 在 3 组内膜间质中的表达差异无显著性($P > 0.05$)，但在异位内膜腺上皮的表达强于 EMs 在位内膜和正常子宫内膜，有非常显著性差异($P < 0.01$)，而 EMs 在位内膜腺上皮与正常子宫内膜腺上皮中的表达差异无显著性($P > 0.05$)，MMP-2 在子宫内膜异位症在位内膜及正常子宫内膜中的表达，分泌期强于增生期($P < 0.05$)，而在异位内膜中 MMP-2 的表达强度分泌期与增殖期差异无显著性($P > 0.05$)，见图 1。



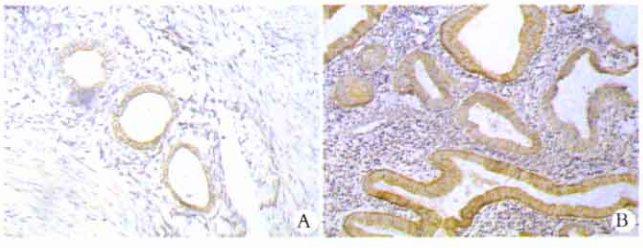
A: MMP-2 expression in ectopic tissues; B: MMP-2 expression in eutopic tissues

图 1　MMP-2 在各组子宫内膜组织中的表达　(S-P × 200)

Fig 1　The expression of MMP-2 in ectopic and eutopic endometrial tissues　(S-P × 200)

2.2　TIMP-2 在三组内膜组织中的表达

在正常子宫内膜的腺上皮细胞及间质细胞中均有 TIMP-2 的表达，TIMP-2 在异位内膜腺上皮及间质中的表达明显低于 EMs 在位内膜和正常内膜，有显著性差异($P < 0.05$)，而在 EMs 在位内膜与正常内膜组织中的表达二者无显著性差异($P > 0.05$)，且增殖期子宫内膜中 TIMP-2 的表达较分泌期子宫内膜增强($P < 0.05$)，见图 2。



A: TIMP-2 expression in ectopic tissues; B: TIMP-2 expression in eutopic tissues

图 2 TIMP-2 在各组子宫内膜组织中的表达　(S-P × 200)

Fig 2　The expression of TIMP-2 in ectopic and eutopic endometrial tissues　(S-P × 200)

2.3　MMP-2、TIMP-2 的表达与内异症临床分期之间的关系

结果显示：不同期别的内膜异位组织中 MMP-2、TIMP-2 的表达强度间无显著性差异($P > 0.05$)，MMP-2、TIMP-2 的表达没有随着临床分期的增高而增强或降低，说明各期的异位内膜同样具有较强的侵袭力。

3　讨论

子宫内膜异位症被认为是一种类似癌性浸润性良

性疾病，目前多数研究认为是子宫内膜种植，即月经期脱落的子宫内膜细胞随经血逆流或经血管、淋巴管等进入盆腹腔或肝、肺等远处器官，种植于其表面，并在该处生长，从而形成 EMs，异位子宫内膜细胞仍然保持在位子宫内膜细胞的再生能力和对卵巢激素的特殊依赖敏感性。逆流入腹腔的内膜组织与腹膜发生异位粘连后，必须降解基底膜和其他的 ECM 成分才能植入腹膜[1,4]。细胞外基质的降解是个复杂的生理过程，对正常组织的发育及某些疾病过程中组织的重塑是必不可少的。Bruner 等[5]在动物实验中发现，通过抑制 MMPs 分泌，可以阻碍异位病灶的形成，MMP-2 是细胞外基质重建的关键酶。早期 EMs 患者的腹腔液中Ⅲ型胶原碎片增加，进一步说明早期 EMs 侵犯细胞外基质而且降解 ECM 成分的蛋白活性增加[6]。基质金属蛋白酶(MMPs)是一个 Zn^{2+} 依赖性蛋白酶家族，参与细胞外基质的降解，MMP-2 是人类子宫内膜产生的主要 MMPs。TIMPs 是体内抑制 MMPs 的主要物质，它除了能抑制激活的 MMPs 外，还可能具有抑制血管形成的作用，TIMP-2 为糖蛋白，在体内较广泛地存在，对 MMP-2 有特异性抑制作用，同时也可抑制其他 MMPs。本实验结果显示，在正常子宫内膜及 EMs 在位内膜中，MMP-2 在腺上皮和间质中均有表达，其表达强度与月经周期有关，即分泌期强于增殖期，而异位内膜组织中，MMP-2 的表达明显高于正常子宫内膜及 EMs 在位内膜，增殖期和分泌期均呈高表达，无周期性变化，说明各期异位内膜均有侵袭力及扩大和种植的能力，在异位内膜中有雌激素和孕激素受体，但受体的表达不随月经周期改变[7]，这可能是异位内膜中 MMP-2 无周期性改变的原因。TIMP-2 在异位内膜组织中明显低于正常子宫内膜，且无周期性变化，在正常子宫内膜及 EMs 患者的在位内膜组织中，TIMP-2 的表达增殖期较分泌期增强，在位内膜 TIMP-2 的表达与正常子宫内膜相比差异无显著性($P>0.05$)。由此可见，EMs 患者的在位内膜并不比正常子宫内膜更具侵蚀性，而异位内膜中 MMP-2 的高表达，则赋予其特有的浸润和种植的能力。结果提示，EMs 患者由于异位内膜 MMP-2 的高表达和 TIMP-2 的低表达，导致 MMP-2/TIMP-2 间的平衡失调，TIMP-2 对 MMP-2 的抑制作用减弱，使 MMP-2 增加，即 MMP-2/TIMP-2 比值增高，MMP-2 的过度表达，使异位内膜具有很强的蛋白水解能力，能够降解异位内膜周围的基底膜及其他 ECM 成分，破坏腹膜间质细胞的连接，进而侵袭腹膜及病灶周围的结缔组织，使异位内膜在腹膜内种植生长并使病灶不断扩大，因此，认为 MMP-2 及 TIMP-2 异常表达在 EMs 的发病中有一定的作用。此外，按照 γ-AFS 评分，内异症各期之间 MMP-2 及 TIMP-2 的表达没有差别，说明各期的异位内膜同样具有较强的侵袭力，并没有随着疾病的严重程度而增加，这也许是内异症病程迁延且不断进展的另一主要原因[8]。Chung 等[9]研究报道，MMP-2mRNA 在异位内膜中的高表达和 TIMP-2 mRNA 的低表达，表明 MMP-2 mRNA/TIMP-2 mRNA 之间的比值增加、平衡失调，改变了腹膜 ECM 的合成与降解，使异位内膜的侵袭力更高，这进一步从 mRNA 水平证实了异位病灶中 MMP-2 与 TIMP-2 比例失调，提示 MMP-2/TIMP-2 在子宫内膜异位症的发生、发展中发挥作用，而抑制 MMP 的表达为子宫内膜异位症的治疗提供了新的靶点。但有关 MMP-2 及 TIMP-2 在异位内膜中表达失调的机制有待进一步研究。

参考文献：

[1] Sillem M, Hahn U, Coddington C C 3rd, *et al.* Ectopic growth of endometrium depends on its structural integrity and proteolytic activity in the cynomolgus monkey (Macaca fascicularis) model of endometriosis [J]. Fertil Steril, 1996, 66(3): 468-473.

[2] Cox K E, Piva M, Sharpe Timms K L. Differential regulation of matrix metalloproteinase-3 gene expression in endometriotic lesions compared with endometrium[J]. Biol Reprod, 2001, 65(4): 1297-1303.

[3] 顾美皎. 临床妇产科学[M]. 北京：人民卫生出版社, 2002. 839-840.

[4] Regidor P A, Vogel C, Regidor M, *et al.* Expression pattern of integrin adhesion molecules in endometriosis and human endometrium [J]. Hum Reprod Update, 1998, 4(5): 710-718.

[5] Bruner K L, Matrisian L M, Rodgers W H, *et al.* Suppression of matrix metalloproteinases inhibits establishment of ectopic lesions by human endometrium in nude mice [J]. J Clin Invest, 1997, 99(12): 2851-2857.

[6] Spuijbroek M D, Dunselman G A, Menheere P P, *et al.* Early endometriosis invades the extracellular matrix [J]. Fertil Steril, 1992, 58(5): 929-933.

[7] Osteen K C, Rodgers W H, Gaire M, *et al.* Stromal-epithelial interaction mediates steroidal regulation of metalloproteinase expression in the human endometrium [J]. Proc Acad Sci USA, 1994, 91(21): 10129-10133.

[8] Wenzl R J, Heinzl H. Localization of matrix metalloproteinase-2 in uterine endometrium and ectopic implants [J]. Gynecol Obstet Invest, 1998, 45(4): 253-257.

[9] Chung H W, Lee J Y, Moon H S, *et al.* Matrix metalloproteinase-2, membranous type 1 matrix metalloproteinase, and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression in ectopic and eutopic endometrium [J]. Fertil Steril, 2002, 78(4): 787-795.

(编辑 栾 嘉)