论著

文章编号:1000-5404(2006)12-1302-03

MMP-1及TIMP-1在压力性尿失禁患者耻骨宫颈筋膜中的表达

王延洲,梁志清,徐惠成,王 丹 (第三军医大学西南医院妇产科,重庆 400038)

提 要:目的 探讨女性压力性尿失禁(stress urinary incontinence, SUI)患者盆底胶原代谢状态,分析胶原代谢与疾病发生的关系。**方法** 选择因SUI而行手术治疗患者24例,同期选取因妇科良性疾病行全子宫切除、无压力性尿失禁或盆腔脏器脱垂(pelvic floor prolapse, POP)患者24例作为对照。于手术中取患者耻骨宫颈筋膜,采用免疫组化的方法观察基质金属蛋白酶-1(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)、组织金属蛋白酶抑制物-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)表达。**结果** SUI患者耻骨宫颈筋膜中MMP-1表达显著高于对照组($P<0.05$),TIMP-1表达显著低于对照组($P<0.05$)。**结论** SUI患者盆内筋膜胶原代谢活跃,胶原的分解增加可能是SUI发生机制之一。

关键词: 尿失禁,压力性;胶原;基质金属蛋白酶;组织金属蛋白酶抑制物

中图法分类号: R322.65;R345;R654.540.2 **文献标识码:** A

MMP-1 and TIMP-1 expression in pubocervical fascia from patients with stress urinary incontinence

WANG Yan-zhou, LIANG Zhi-qing, XU Hui-cheng, WANG Dan (Department of Obstetrics and Gynecology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate collagen metabolism in stress urinary incontinence (SUI) so as to determine the alteration that contributes to SUI. Methods Biopsy specimens of vaginal wall tissue from 24 women with stress urinary incontinence were collected, with matched specimens from 24 female patients without SUI. Immunohistochenical technique were applied to detect the expression of MMP-1 and TIMP-1. Results SUI group demonstrated a significant increase in MMP-1 expression and a decrease in TIMP-1 expression, with significant difference with control group. Conclusion Patients with SUI were in the predominant status of collagen breakdown, which may contribute to the pathogenesis of SUI.

Key words: urinary incontinence, stress; collagen; matrix metalloproteinases; tissue inhibitor of metalloproteinase

女性压力性尿失禁(stress urinary incontinence, SUI)是一种常见的,严重影响女性生活质量的疾病,而其确切发病机制尚不清楚[1]。目前的研究表明,SUI患者盆底结构中胶原的含量、组成和超微结构均有改变,提示胶原作为结缔组织的主要成分,参与SUI的发生。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)及组织金属蛋白酶抑制物(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMPs)是调控胶原代谢的重要酶系。本研究采用免疫组化的方法观察MMP-1、TIMP-1在女性压力性尿失禁患者盆底筋膜组织中表达,分析胶原代谢在SUI发生中的作用,为其病因学研究提供依据。

作者简介:王延洲(1981-),男,吉林省敦化市人,硕士,主要从事盆底功能障碍性疾病方面的研究。电话:(023)68765402, E-mail: robin.yanzhou.wang@gmail.com

通讯作者:梁志清,电话:(023)68754409

收稿日期:2006-04-29;修回日期:2006-05-07

1 资料与方法

1.1 实验对象及分组

选择2004年9月至2006年3月,西南医院妇产科确诊为SUI并行手术治疗患者24例,分为2组:绝经前SUI组9例,绝经后SUI组15例。手术方式为经阴道无张力尿道中段悬吊术(TVT)或腹腔镜下膀胱颈悬吊术。对照组为同期选取因子宫良性妇科疾病行全子宫切除但无SUI或盆腔脏器脱垂(pelvic floor prolapse, POP)患者24例,分为绝经前对照组9例,绝经后对照组15例。本组患者均无类风湿性关节炎、甲状旁腺功能亢进和甲状腺功能亢进等影响胶原代谢的疾病。绝经后患者均未行雌激素替代治疗。绝经前后SUI组与对照组在年龄、产次、体重指数、绝经时间等方面无显著性差异($P>0.05$)。参照"国际尿控协会"(ICS) 1990年诊断标准,本组患者均为中、重度SUI。

1.2 取材

SUI组及对照组于术中取患者阴道前壁黏膜下耻骨宫颈筋膜,放入10%甲醛中固定。

1.3　试剂

兔抗人 MMP-1 多克隆抗体购自北京中衫公司，TIMP-1 多克隆抗体购自武汉博士德公司。S-P 试剂盒（SP9000）及 DAB 显色试剂盒购自北京中衫公司。

1.4　方法

1.4.1　免疫组化方法　　筋膜组织在 10% 甲醛中固定 24 h 后逐级脱水，二甲苯透明，于 58℃浸蜡过夜，次日更换石蜡继续浸腊 4 h 后包埋并制备 4 μm 切片。脱蜡、水化，3% H_2O_2 灭活内源性过氧化物酶 10 min，85 ℃微波抗原修复 10 min，血清封闭 30 min，分别滴加 TIMP-1 、MMP-1 一抗，4 ℃过夜后再依次滴加生物素耦联的二抗和辣根酶标记的链霉卵白素工作液，DAB 显色、苏木精染核，分化、脱水、透明、封片。观察上述各项指标。

1.4.2　免疫组化结果图像分析　　选择 400 倍视野，每张免疫组化片上随机选择 5 个视野，每个视野拍摄 5 幅照片；②采用 Image-Pro Plus 5.1 免疫组化定量分析软件计算每一视野中免疫组化阳性表达的积分光密度值，然后计算平均值。

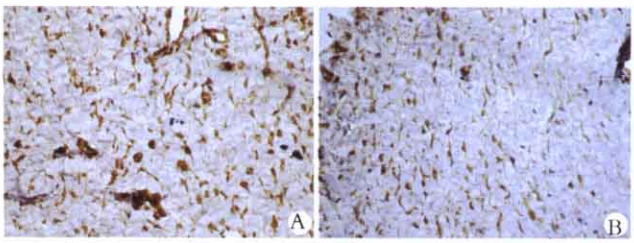
1.5　统计学处理

数据资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 11.5 统计软件进行 t 检验。

2　结果

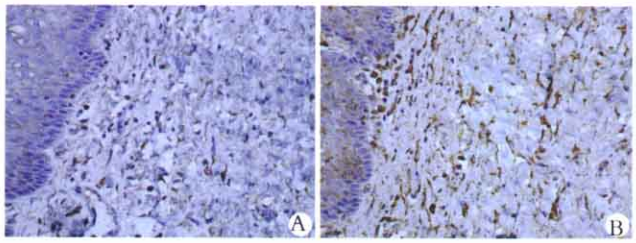
2.1　免疫组化阳性表达比较

镜下 SUI 与对照组患者耻骨宫颈筋膜中均可见 MMP-1 阳性表达，阳性表达产物定位于成纤维细胞及巨噬细胞细胞质，SUI 组表达强于对照组（图 1）。TIMP-1 亦在所有切片的成纤维细胞及巨噬细胞细胞质中显示阳性表达，但在对照组表达强于 SUI 组（图 2）。



A：SUI 组；B：对照组

图 1　MMP-1 在耻骨宫颈筋膜中表达　（S-P×400）



A：SUI 组；B：对照组

图 2　TIMP-1 在耻骨宫颈筋膜中表达　（S-P×400）

2.2　积分光密度分析

计算机图像分析系统测定结果显示，绝经前或绝经后 SUI 患者 MMP-1 表达量均显著高于正常对照组（$P<0.05$）；绝经前或绝经后 SUI 患者 TIMP 表达量均显著低于正常对照组（$P<0.05$）（表 1）。

表 1　耻骨宫颈筋膜内 MMP-1 和 TIMP-1 的积分光密度（$\bar{x} \pm s$）

组别		n	积分光密度	
			MMP-1	TIMP-1
SUI 组	绝经前	9	176 543 ± 57 300[a]	99 258 ± 5 388[a]
	绝经后	15	216 009 ± 35 570[b]	34 621 ± 10 106[b]
对照组	绝经前	9	124 872 ± 59 101	118 658 ± 8 968
	绝经后	15	188 749 ± 25 881	97 548 ± 11 253

a：$P<0.05$，与绝经前对照组比较；b：$P<0.05$，与绝经后对照组比较

3　讨论

胶原纤维是盆底筋膜、韧带的主要成分，是连接固定盆腔脏器的主要组织结构。盆底的结缔组织主要由Ⅰ型胶原和Ⅲ型胶原组成。Ⅰ型胶原与支持作用有关，硬度较大，直径较粗；Ⅲ型胶原直径较细，与组织弹性有关。许多学者对胶原在 SUI 及压力性尿失禁或盆腔脏器脱变（pelvic floor prolapse，POP）发病中的作用进行了研究。发现 SUI 及 POP 患者，阴道壁、耻骨宫颈筋膜，腹部皮肤及圆韧带中胶原含量均较正常人低对照组减少[2]。并由此判断正是胶原的减少导致了韧带、筋膜等支持结构的松弛，最终导致 SUI 及 POP 的发生。

另有学者进一步研究了胶原减少的原因，发现耻骨宫颈筋膜Ⅰ、Ⅲ型胶原蛋白含量均明显减少，而Ⅰ、Ⅲ型前胶原蛋白基因表达量并未发生明显改变，因此认为盆底组织胶原含量减少可能是由胶原酶的降解增多所致[3]。2004 年 Chen 等[4]对 SUI 患者盆内筋膜纤维母细胞进行体外培养，亦发现 SUI 患者成纤维细胞合成的胶原蛋白Ⅰ/Ⅲ的能力与对照组无明显差异，而提出 SUI 患者盆筋膜中胶原含量的减少不是因为成纤维细胞合成、分泌胶原蛋白减少造成的。而是胶原降解增多所致。Kushner 等[5]的研究也证明胶原降解加速是绝经后 SUI 患者胶原总含量降低的原因。

MMPs 能有效降解细胞外基质（extracellular martrix，ECM），迄今已经有 5 大类 20 余种 MMPs 家族成员被陆续阐明。各种 MMP 之间具有一定的底物特异性，但并不绝对，同一种 MMPs 可降解多种细胞外基质成分，某一种细胞外基质也可被多种 MMPs 所降解，但其效率不同，至于哪几种 MMPs 参与某一降解过程，则根据不同的细胞、组织类型与环境决定。目前研究表明盆内筋膜中该间质胶原酶（MMP-1）、明胶酶（MMP-2，MMP-9）与盆底功能障碍性疾病的关系较密切。本研究表明无论绝经前或绝经后，MMP-1 表达含量，SUI

组较正常组明显增加。SUI 患者筋膜组织中胶原含量的减少，可能是参与 SUI 发生的重要机制。

分析 MMP-1 活性增加的原因，可能与以下几种情况有关：①基因表达和酶原合成增加；②酶原活化抑制作用减弱；③酶活性抑制作用减弱。TIMP-1 是 MMP-1 的主要特异性抑制物，按 1∶1 与 MMP-1 形成复合体，抑制 MMP-1 的活性及其酶原活化，从而造成 MMP-1 活性降低，减少胶原降解。Chen 等[6]比较了压力性尿失禁女性与对照组阴道壁组织中 MMP-1、MMP-2、MMP-9 和其抑制剂 TIMP-1、TIMP-2 和 TIMP-3 mRNA 表达量。显示在女性压力性尿失禁患者中 TIMP-1 mRNA 表达减少，MMP-1 mRNA 表达增加，这与胶原破坏增加的背景相一致。本研究亦显示 TIMP-1 在尿失禁组表达明显低于正常对照组（$P<0.05$）。这提示我们：MMP-1 表达下降可能不仅仅与 MMP-1 基因表达下降有关，TIMPs 表达相对减少，对 MMP-1 的抑制作用降低也可能是 SUI 形成的重要机制。

综上所述：SUI 患者阴道前壁耻骨宫颈筋膜中存在 MMP-1 表达的增强，TIMP-1 表达降低。二者共同作用可能使盆内筋膜胶原降解增加，参与了 SUI 的发生。通过下调 MMP-1 的活性，上调 TIMP-1 的表达有可能成为治疗 SUI 有效方法。

参考文献：

[1] HANNESTAD Y S, RORTVEIT G, SANDVIK H, *et al*. A community-based epidemiological survey of female urinary incontinence: the Norwegian EPINCONT study. Epidemiology of Incontinence in the County of Nord-Trondelag[J]. J Clin Epidemiol, 2000, 53(11): 1150-1157.

[2] LIAPIS A, BAKAS P, PAFITI A, *et al*. Changes in the quantity of collagen type Ⅰ in women with genuine stress incontinence[J]. Urol Res, 2000, 28(5): 323-326.

[3] BAKAS PG, LIAPIS A E, ZERVOLEA I, *et al*. mRNA assessment for procollagen production in women with genuine stress urinary incontinence[J]. Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct, 2004, 15(6): 429-431.

[4] CHEN Y, DESAUTEL M, ANDERSON A, *et al*. Collagen synthesis is not altered in women with stress urinary incontinence[J]. Neurourol Urodyn, 2004, 23(4): 367-373.

[5] KUSHNER L, MATHRUBUTHAM M, BURNEY T, *et al*. Excretion of collagen derived peptides is increased in women with stress urinary incontinence[J]. Neurourol Urodyn, 2004, 23(3): 198-203.

[6] CHEN B H, WEN Y, LI H, *et al*. Collagen metabolism and turnover in women with stress urinary incontinence and pelvic prolapse[J]. Int Urogynecol J Pelvic Floor Dysfunct, 2002, 13(2): 80-87.

（编辑 栾 嘉）

（上接 1301 页）

3 讨论

缺氧和二氧化碳潴留均对中枢神经系统产生明显的影响，可导致中枢神经损害，使患者产生精神神经症状。有资料表明肺性脑病患者的缺氧可增加 β-内啡肽释放，血浆 β-内啡肽样免疫活性物质含量可升高 5～6 倍，β-内啡肽直接或间接作用于脑内吗啡受体，抑制中枢神经，尤其抑制呼吸中枢，引起呼吸衰竭[3]。纳洛酮是羟二氢吗啡酮的衍生物，为吗啡样物质的特异拮抗剂，它与吗啡受体的亲和力比 β-内啡肽等吗啡样物质大，能竞争性阻止并取代 β-内啡肽类吗啡样物质与受体结合，从而阻断 β-内啡肽类吗啡样物质的作用，兴奋肺性脑病患者的呼吸，增加呼吸中枢对二氧化碳的敏感性，改善脑实质供血，保护和恢复脑细胞功能[4,5]。当机体缺血缺氧时，细胞内氧自由基大量增加，损伤细胞的正常结构。而纳洛酮能增加脑缺血区血流量，减轻脑水肿，且不增加肺性脑病的氧耗，还可减轻肺间质水肿，从而改善通气和换气功能，有利于气体的交换[6]，并产生了强有力的催醒作用，改善多种原因所致的意识障碍。

醒脑静是由安宫牛黄丸制成的水溶性溶液，可透过血脑屏障直接作用于中枢神经系统，其主要成分是麝香、山栀、冰片及郁金等，其中麝香芳香开窍，可增加中枢神经系统对缺氧的耐受性，兴奋呼吸中枢，并减少氧耗；冰片与郁金起协调作用，冰片辛香走窜通窍，可协同麝香发挥兴奋呼吸中枢的作用；郁金行气活血，化瘀开郁通窍；山栀为清热解毒药。诸药协同，共奏醒脑开窍、解痉退热之功效。现代研究表明醒脑静具有镇静、抗惊厥、镇痛、解热、抗炎、增强免疫功能和保护脑组织等作用，其对中枢神经系统起双向调节作用，既可以兴奋呼吸中枢，保护脑功能，又可解除患者的烦躁、谵妄等精神症状，能改善通气、换气功能，提高血氧分压及氧饱和度，降低二氧化碳分压，纠正酸碱失衡，大大提高了抢救成功率[4,7]。

传统的呼吸兴奋剂如尼可刹米等，虽然能兴奋呼吸中枢，增加通气量，但同时增加了氧的消耗量，因而影响了实际临床效果，对肺性脑病的促醒方面疗效较差。本研究中纳洛酮与醒脑静合用并未显示较纳洛酮组和醒脑静组单独使用有更大的优势，故没必要强调纳洛酮与醒脑静联合使用。

关键词：慢性肺心病；肺性脑病
中图法分类号：R541.505 文献标识码：B

参考文献：

[1] 陈贵廷，薛蕙琴. 最新国内外疾病诊断标准[M]. 北京：学苑出版社，1992：149-150.

[2] 戴瑞鸿. 内科疾病诊断标准[M]. 第10版. 上海：上海科技教育出版社，1992：162.

[3] 郑伟贤，唐修明. 纳络酮治疗肺性脑病46例临床观察[J]. 实用心脑肺血管杂志，2004，12(5)：315-316.

[4] 李汝峰，王爱秋. 醒脑静与纳洛酮联用对慢性呼吸衰竭的临床观察[J]. 现代中西医结合杂志，2004，13(19)：3553-3554.

[5] FRABER D L. Naloxone and shock[J]. Crit Care Med, 2000, 28(1): 279.

[6] JOHNSON S M, SMITH J C, FELDMAN J L. Modulation of respiratory rhythm *in vitro*: role of G_i/o protein-mediated mechanisms[J]. J Appl Physiol, 1996, 80(6): 2120-2133.

[7] 沈思佳，傅晓东，费震宇，等. 醒脑静注射液的临床应用进展[J]. 中国中医急症，2004，13(1)：49-50.

（编辑 陈聪连）