DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.02.053
第23卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 2
2001年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2001

文章编号:1000-5404(2001)02-0233-02

论著

基质金属蛋白酶-9与宫颈成熟关系的研究

郭建新,陈竹钦,李 力 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所妇产科,重庆 400042)

提 要:目的 研究分娩时宫颈组织中是否有基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的合成,及其来源与分布。方法 以MMP-9单克隆抗体为一抗,用ABC法对分娩期孕妇宫颈组织(n=10)进行免疫组化分析,以非孕期宫颈组织作对照(n=7)。结果 分娩期孕妇宫颈中浸润的多形核白细胞(PMN)胞浆中有MMP-9的阳性染色,宫颈血管中的PMN胞浆中有阳性染色,宫颈组织间质中有散在的弱阳性染色;其它细胞均无阳性染色,对照组中未发现MMP-9的阳性染色。结论 分娩时宫颈组织有MMP-9的合成和分泌,主要来源于宫颈中浸润的PMN;MMP-9可能是宫颈成熟过程中重要的调控因子。

关键词:基质金属蛋白酶-9;分娩;宫颈成熟
中图法分类号:R345.9;R714.3 文献标识码:A

Relationship of matrix metalloproteinase-9 and ripening of pregnant cervix

GUO Jian-xin, CHEN Zhu-qin, LI Li (Department of Obstetrics and Gynecology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To investigate whether matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) was synthesized in pregnant cervix during parturition and its source and distribution. Methods Cervical species (n=10, each weighing about 0.3 g) were taken from pregnant women immediately after delivery. Other cervical species (n=7) were served as negative control from those non-pregnant women but undergoing uterotomy due to other benign diseases. Immunohistochemical method (ABC) was carried out to detect the expression of MMP-9, with a monoclonal antibody against MMP-9. Results Positive staining of MMP-9 was found in the cytoplasm of polymorphonuclear leukocytes (PMN) that had infiltrated into cervix or located in blood vessels of cervix. Scattered light positive staining were found in some interstitial cells of the cervix. No other cells including fibrocytes and lymphocytes were positive to MMP-9. No positive staining was found in control tissues. Conclusion There are strong expressions of MMP-9 in pregnant cervix in term labor, derived mainly from infiltrated PMN. MMP-9 may be an important regulator in the process of cervical ripening.

Key words: matrix metalloproteinase-9; labor; cervical repining

分娩的启动及宫颈成熟的机制至今仍不完全清楚。有研究表明胶原的降解是其发生的重要基础之一[1]。宫颈中胶原的分解代谢主要与基质金属蛋白酶(Matrix Metalloproteinase, MMP)类的作用有关[2],并且可能与其中的MMP-9的作用更密切,但正常分娩时宫颈组织中MMP-9的来源尚不完全清楚,为此我们利用MMP-9单克隆抗体,对正常分娩期宫颈组织进行了免疫组织化学分析,以确定宫颈中MMP-9的来源及其分布,为探讨MMP与宫颈成熟的机制提供线索。

1 材料与方法

1.1 试剂

MMP-9单克隆抗体为Calbiochem公司产品;免疫组化试剂盒购自中山公司。

1.2 取材

于第三产程末取宫颈前唇组织(n=10)约0.3 g,用冰生理盐水清洗去除血凝块,立即固定于10%甲醛液中。以其它因子宫良性疾病行子宫切除的非孕子宫颈组织作对照(n=7)。

2 结果

在分娩时宫颈中浸润的多形核白细胞(Polymorphonuclear leukocyte, PMN)及血管中的PMN的胞浆中有较强的MMP-9染色,在宫颈组织间质中有散在的弱阳性染色,见图1,这些间质附近可见到PMN的浸润;在浸润于宫颈组织的PMN中,有的胞浆中MMP-9的染色与血管中的PMN相同,有的胞浆中MMP-9的染色则较血管中PMN的为弱。在非孕期妇女宫颈的细胞和间质中未发现MMP-9阳性染色。



图1 浸润于妊娠宫颈中的部分多形核白细胞胞浆中有棕黄色的MMP-9阳性染色(➡),宫颈间质中也有散在的弱阳性染色(⇦) (ABC×400)

Fig 1 Positive staining in the cytoplasm of some PMN infiltrated in cervix(➡), scatted weak positive staining in the stroma of cervix(⇦) (ABC×400)

作者简介:郭建新(1969-),男,湖北省武汉市人,硕士,主治医师,讲师,主要从事围产医学方面的研究。电话:(023)68757196

收稿日期:2000-06-25;修回日期:2000-11-13

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 讨论

MMP 是一组能水解胶原和氨基葡聚类的蛋白酶，结构中以含有 Zn^{2+} 和 Ca^{2+} 为特征，目前已发现的 MMP 有 10 多种[2]。这些 MMP 广泛参与炎症、组织修复、月经形成、孕卵着床、分娩及肿瘤转移等过程[3]。其中 MMP-2、MMP-8 及 MMP-9 可能与分娩过程关系更密切[4]。

研究表明，胶原和氨基葡聚糖的降解、间质含水量的增加是宫颈成熟的发生基础，胶原含量下降的主要原因是其降解增加，这一过程与宫颈中 MMP 活性升高密切相关[5]。Osmers 等[6]将 55 例足月孕妇分成未临产、潜伏期及活跃期 3 组进行对照研究发现：子宫下段、子宫肌层及胎膜中 MMP 的活性随产程的进展而显著升高（$P<0.01$）。我们测定了分娩期子宫下段和宫颈中总 MMP 和 MMP-9 的活性，发现它们都随产程的进展而升高，并且 MMP-9 是宫颈中 MMP 的主要成分之一，在组织提取物中加入 MMP 抑制剂 EDTA 后，分解胶原的活性即完全消失[7]。MMP-9 主要作用为降解完整的Ⅳ型胶原和已经部分降解的Ⅰ型和Ⅲ胶原，后者是宫颈组织的主要成分。Granstom[8]等发现分娩时宫颈中总胶原的含量较非孕期降低 60%，可溶性胶原的比例则由非孕期的 33.3%升高到 92.3%，可溶性胶原代表失去交联或已经部分降解的胶原，其比例升高与其他 MMP 的作用有关，MMP-9 能使这些胶原彻底降解。可见宫颈成熟与宫颈中 MMP 的活性升高密切相关。

关于宫颈中 MMP-9 的来源，尚未见文献中有确定的报道。MMP 主要是由细胞合成并分泌到基质中。宫颈中细胞成分主要有纤维细胞、平滑肌细胞、驻留的巨噬细胞、淋巴细胞和多形核白细胞等多种成分。Junqueira 等[9]用电镜观察发现：在宫颈成熟时，宫颈中浸润的多形核白细胞 PMN 有脱粒现象，其周围有胶原溶解现象，因此推断宫颈中 MMP 可能主要来源于浸润的 PMN。Osmers 等[10]发现宫颈中纤维细胞基本无 MMP-9 的表达，巨噬细胞、淋巴细胞等中均无 MMP-9 的表达。本研究证实分娩时宫颈中只有 PMN 中有 MMP-9 的阳性染色，并且驻留宫颈中的 PMN 胞浆的染色较血管中 PMN 的弱，因此宫颈中的 MMP-9 可能主要来源于宫颈中浸润的 PMN。Vadillo-Ortega 等[11]用原位杂交的方法发现胎膜中的羊膜上皮细胞、滋养细胞、蜕膜细胞等中有 MMP-9 的表达，因此分娩时宫颈中的 MMP-9，少部分有来源于胎膜的可能。另外我们还发现宫颈间质中有散在 MMP-9 的弱阳性染色，这些 MMP-9 可能是由 PMN 分泌到细胞间质中的。

Imada 等[5]发现直接提取的宫颈纤维细胞中无 MMP-9 的表达，但在 IL-1β 的作用下，纤维细胞能表达 MMP-9；分娩期宫颈组织含有包括 IL-1 在内的多种细胞因子，究竟为何在体内纤维细胞无 MMP-9 的表达，原因不清楚。

分娩发动后宫颈中 PMN 的浸润较未临产时显著增加，很多诱导宫颈成熟的方法如阴道放置 IL-8 及前列腺素药物等，都发现伴有宫颈中 PMN 浸润的增加。分娩期宫颈中 PMN 能分泌 MMP、白细胞介素等多种因子，这些因子与宫颈成熟关系密切，因此宫颈中 PMN 的驻留和活化可能是分娩调控中重要的环节之一。

参考文献：

[1] Ekman G, Malmstom A, Uldbjerg N, *et al*. Cervical collagen: an important regulator of cervical function in term labor[J]. Obstet Gynecol, 1986, 67(5): 633－636.

[2] Woessner J F. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling[J]. FASEB J, 1991, 5(8): 2 145－2 154.

[3] Emonard H, Grimaud J A. Matrix Metalloproteinases: a review[J]. Cell Mol Biol (Noisy le-grand), 1990, 36(2): 131－153.

[4] Vadillo-Ortega F, Hernanderz A, Gonzalez-Avila G, *et al*. Increased matrix metalloproteinase activity and reduced tissue inhibitor of metalloproteinase-1 levels in amniotic fluids from pregnancies complicated by premature rupture of membranes[J]. Am J Obstet Gynecol, 1996, 174(4): 1 371－1 376.

[5] Imada K, Ito A, Sato T, *et al*. Hormonal regulation of matrix metalloproteinase 9/gelatinase B gene expression in rabbit uterine cervical fibroblasts [J]. Biol Reprod, 1997, 56(3): 575－580.

[6] Osmers R G W, Blaser J, Kuhn W, *et al*. Interleukin-8 synthesis and the onset of labor[J]. Obstet Gynecol, 1995, 86(2): 223－229.

[7] 郭建新，陈竹钦，颜建华. 分娩子宫组织中基质金属蛋白酶活性的测定及其意义[J]. 第三军大学学报，1998，20(4)：345－347.

[8] Granstrom L, Ekman G, Ulmsten U, *et al*. Changes in the connective tissue of corpus and cervix uteri during ripening and labor in term pregnancy [J]. Br J Obstet Gynecol, 1989, 96(10): 1 198－1 202.

[9] Junqueira L C U, Zugaib M, Montes G S, *et al*. Morphologic and histochemical evidence for the occurrence of collagenolysis and for the role of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes during cervical dilation[J]. Am J Obstet Gynecol, 1980, 138(3): 273－281.

[10] Osmers R, Rath W, Adelmann-Grill B C, *et al*. Origin of cervical collagenase during parturition[J]. Am J Obstet Gynecol, 1992, 166(5): 1 455－1 460.

[11] Vadillo-Ortega F, Gonzalez-Avila G, Futh E E, *et al*. 92-kd type IV collagenase (matrix metalloproteinase-9) activity in human amniochorion increases with labor[J]. Am J Pathol, 1995, 146(1): 148－156.

（编辑 谢义霞）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net