DOI:10.16016/j.1000-5404.1998.04.028

分娩子宫组织中基质金属蛋白酶活性的测定及其意义

郭建新* 陈竹钦 颜建华 郑英茹 章 蓉 (第三军医大学附属大坪医院妇产科) 重庆,400042

提 要 **目的**:探讨测定组织中基质金属蛋白酶(MMPs)的方法,了解MMPs活性的变化与分娩发动的关系。**方法**:利用生物素标记的明胶作底物,与组织中MMPs作用后,用酶联免疫法测定剩余明胶的含量,据此测出酶的活性。**结果**:以此法测定了分娩不同阶段的子宫下段和宫颈中MMPs活性,发现总MMPs和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)的活性,从未临产、分娩潜伏期、分娩活跃期、宫口开全依次升高,各组之间相差显著。**结论**:基质金属蛋白酶参与了分娩的发动;生物素标记的明胶可用于测定组织中MMPs活性。

关键词 基质金属蛋白酶;分娩;围产医学

中图法分类号 R714.3

分娩的生理机制至今尚未完全明了。有研究表明[1]胶原的分解代谢可能是分娩发动的基础,宫颈成熟扩张、胎膜破裂均与胶原的分解代谢有关;宫颈及胎膜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],为此我们设计了一种测定MMPs的方法,并用此测定了宫颈中基质金属蛋白酶-9的活性,以探讨分娩发动的机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

MMP-9(Matrix metalloproteinase-9)单克隆抗体(Calbiochem);Triton X-100、乙酸氨基苯汞(Aminophenylmercuric acetate, APMA)(Sigma);明胶酶测定试剂盒(宝灵曼);DG3022A酶联免疫检测仪(南京)。

1.2 方法

1.2.1 取材 剖宫产时取子宫下段($n=33$)约1 g,分成4组:未临产(Ⅰ组,$n=8$)、分娩潜伏期(Ⅱ组,$n=10$)、宫口扩张4 cm~6 cm(Ⅲ组,$n=10$)、宫口扩张>8 cm(Ⅳ组,$n=5$),代表分娩不同阶段子宫颈中的情况;胎儿娩出后取宫颈前唇组结(Ⅴ组,$n=10$)约0.5 g,代表宫口开全时宫颈中的情况。产妇年龄22~28岁,均无妊娠及分娩并发症。取材后用冰生理盐水清洗,并立即置于-70℃保存。

1.2.2 MMPs的提取和预处理 参照Sellers等[3]的方法进行组织中MMPs的冷、热抽提。将每个标本分成两份:一份中加入APMA(终浓度为1 mmol/L)37℃下孵育45 min使MMPs活化,另一份不激活;再将每份标本分成两份,一份中加入终浓度为7 μg/ml的MMP-9单抗,另一份中加入无关抗体(CD4单抗)。

1.2.3 消化生物素标记明胶 取酶联板,每孔加入生物素标记明胶200 μl,加入待检标本20 μl,37℃下消化1 h。以加EDTA(终浓度80 mmol/L)的非孕期宫颈提取液作为空白对照,并用不同浓度的明胶作标准曲线。

1.2.4 测定剩余明胶 按试剂盒提供的方法测定剩余明胶的含量,并算出样本中明胶酶的活性。

实验结果用EXCEL统计软件处理。

2 结果

热提取液中MMPs的含量为冷提液中的1/2,但分布相似,下表中所列值为二者之和。酶的单位以每克组织每小时消化的明胶(ng)表示。

总MMPs和活化MMPs的含量在Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组中依次升高,各组间相关显著($^*P<0.01$),Ⅴ组中总MMPs的活性最高,但与Ⅳ组相比差异不显著,见表1。

表1 不同产程子宫下段和宫颈中MMPs活性的变化

Tab 1 Changes of total activity of MMPs in lower segment of uterus and cervix at different stages of labor

	Lower segment of uterus				Cervix
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ
Total MMPs	35.63±12.45**	102.75±10.69**	224±10.67**	363±11.78	383.5±28.49
Active MMPs	5.31±2.35*	28.5±4.59*	59.75±10.12*	97.5±17.36	108±15.21

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* Ⅳ

* 郭建新,男,28岁,住院医师

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

活化 MMPs 占总 MMPs 的比例在Ⅰ组中为 10%，在Ⅲ组中为 26.7%，在Ⅴ组中为 28%，Ⅰ、Ⅲ、Ⅴ组间相差显著（$P<0.05$）。

MMP-9 含量在Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ组中依次升高，各组间相差显著（$P<0.01$），Ⅴ组与Ⅳ组相比差异不显著，见表 2。

表 2 不同产程子宫下段和宫颈中 MMP-9 活性的变化

Tab 2 Changes of MMP-9 activity in lower segment of uterus and cervix at different stages of labor

	Low segment of uterus				Cervix
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ
Total MMP-9	5.93±1.5**	29.8±5.44**	96±16.2**	193±8.7	208.5±23.5
Active MMP-9	0.72±0.12**	6.0±2.95**	28.25±4.21*	54.15±8.3	601±0.31

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ *vs* Ⅳ

活化 MMP-9 占总活化 MMP 的比例在未临产为 13%，而宫口扩张 4 cm～6 cm 以后则为 53%。前后相差显著（$P<0.05$）。

3 讨论

宫颈中总 MMPs、活化 MMPs 的含量及总 MMPs 中 MMP-9 占的比例随产程进展而迅速升高，MMPs 活性的变化可能与分娩发动密切相关，其中 MMP-9 活力的迅速升高可能是分娩发动的关键环节之一。

既往测定金属蛋白酶的活性，一般是利用放射性同位素特别是^{3}H 标记的明胶为底物，该方法灵敏度高、特异性强，但有放射性污染、测定费时（至少需要 24 h 以上）数据变异大、价格较昂贵等缺点。本研究首次利用宝灵曼公司的明胶酶测定试剂盒测定了子宫组织中 MMPs 活性，发现本法也有较高的灵敏度，而且数据变异小、价格便宜，整个实验可在 4 h 内完成，利于普及开展。

MMPs 活性变化在分娩发动中的作用越来越受到重视，它可能参与了从受孕到分娩的整个过程[4]。我们对宫颈组织中 MMPs 的研究发现，基质金属蛋白酶的含量和活性随产程进展而升高，并与宫口扩张的程度呈正相关，这与 Rajabi 等[2]的报道一致。从未临产到宫口开全，活化 MMPs 和总 MMPs 分别升高 30 和 10.76 倍，二者之比由 15%增加到 28.16%。活化 MMPs 代表着宫颈中金属蛋白酶的实际活性。其迅速增加、大量胶原被分解可能是宫颈成熟和分娩发动的基础。

Vadillo-Ortega 等[5]报道 MMP-9 与胎膜的破裂密切相关，破膜前后胎膜和羊水中 MMP-9 活性显著升高[6]。我们发现宫颈的成熟和扩张也与 MMP-9 的活性密切相关，未临产时 MMP-9 仅占总 MMPs 的 16%，而宫颈开全时则为 54%。从未临产到宫口开全，活化 MMP-9 和总活化 MMPs 分别升高 20 和 83 倍，总活化 MMPs 中 MMP-9 的比例由 13%上升到 55.5%，因此 MMP-9 活性的升高快于其它 MMPs。这种 MMP-9 活性突发性升高可能是分娩启动的关键环节之一。

宫颈中基质金属蛋白酶的分布及其调控目前尚不完全清楚。由于 MMPs 以酶原（Pro-MMPs）的形式从细胞分泌，在体内需要经过蛋白酶的水解后才有活性，本结果表明未临产时 Pro-MMPs 占总 MMPs 的 90%，宫口开全时占 73.3%，因此由 Pro-MMPs 向活化 MMPs 的转变可能是 MMPs 重要的调控环节。宫颈中 MMP-9 主要由中性粒细胞（PMN）分泌，有报道分娩宫颈中 PMN 及其激活因子 IL-8 均增加[7]，我们的研究也发现宫颈中 IL-8 在分娩时升高（数据未列出），因此免疫调节可能也是其重要的调控环节。

参考文献

1 Paavola L G, Furth E E, Degado V *et al*. Striking changes in the structure and organization of rat fetal membranes precede parturition. Biol Reprod, 1995; 53(2): 321

2 Rajabi M R, Dean D D, Beydiun S N *et al*. Elevated tissue levels of collagenase during dilation of uterine cervix in human parturition. Am J Obstet Gynecol, 1988; 159(4): 971

3 Sellers A, Woessers J F. The extraction of a neutral metalloproteinase from the involuting rat uterus, and its action on cartilage protcoglycan. Biochem J, 1980; 189(3): 521

4 Clark I M, Morrison J J, Hackett G A *et al*. Tissue inhibitor of metalloproteinases: Serum levels during pregnancy and labor, term and preterm. Obstet Gynecol, 1994; 83(4): 532

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

6 Vadillo-Ortega F, Hernanderz A, Gonzalez-Avila *et al*. In-

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

creased matrix metalloproteinase activity and reduced tissue inhibitor of metalloproteinase-I levels in amniotic fluids from pregnancies complicated by premature rupture of membranes. Am J Obstet Gynecol, 1996;174(4):1371

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

(收稿:1997-12-03;修回:1998-03-18)
(编辑 汪勤俭)

Determination of activity of uterine tissue matrix metalloproteinase in different stages of parturition and its significance

Guo Jianxin, Chen Zhuqin, Yan Jianhua, Zheng yingru, Zhang Rong (Department of Obstetrics and Gynecology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042)

Abstract Objective: To seek a method of determining the activity of matrix metalloproteinase (MMPs) in the uterine tissues and explore the relationship between MMPs and initiation of labor. Methods: MMPs were extracted from 10 cervix specimens and 33 low uterine segment specimens taken from patients in different stages of parturition. Then they were reacted with biotin-labeled gelatin. The amount of undigested gelatin was detected with ELISA to determine the activity of MMPs. Results: The activity of MMPs and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) was gradually increased with the labor process and 52% of the total gelatinase activity was gained by MMP-9 when the cervix were dilated to 10 cm. Conclusion: MMPs, especially MMP-9, participate in the initiation of parturition. Biotin-labeled gelatin is useful in the determination of the activity of MMPs in the tissues.

Key words matrix metalloprotein; parturition; peripartal medicine

院区微机网络系统简介

A brief introduction about hospital information net system

穆云庆* 张建群 (第三军医大学附属西南医院设备科) 重庆,400038

1 院区网络建设的目的、原则

院区网络的建设是医院信息系统(Hospital information system,HIS)的基础;是实施"军卫工程"的前提条件;同时也是为适应国家卫生信息化的需要,提高医院的科学管理水平[1,2]。

院区网络的建设应本着"实用、先进、升级简便、扩充性好、开放性好"五项原则进行建设。"实用"就是要满足HIS建设的需要。"先进、升级简便、扩充性好"是顺应计算机网络和通讯技术发展的潮流,尽最大可能保护现有投资。"开放性好"是为了与各级机关、各兄弟院校、INTERNET等联网的需要。

2 院区网的总体方案及内容

为适应在信息高速公路的高速发展,院区网络建设的主干网必须是100Mbps,各站点的传输速率为10Mbps或100Mbps。主干网还必须具有高可靠性、灵活的结构、易扩充、能联接已有部门网络和校园网等。目前能满足主干网的有FDDI、ATM、Fast Ethernet等主要3种技术。通过比较,快速以太网实用、先进、升级方便、扩充性好和开放性好。

我院院区网络的主要内容包括光纤、电力电缆线、地线和网络站点等项目。网络设备均采用3Com公司的设备。中心机房的Core Builder 5000型高档交换机用于连接两台双工服务器和各种网络设备。该中心交换机能支持以太、令牌环网、FDDI及快速以太网和ATM信元交换;容错能力强,允许冗余连接;具有容错控制模块、冗余电源;背板可提供16Gbps的ATM交换容量和2Gbps的包交换容量。各大楼购有一个SuperStack Ⅱ 1000交换机通过光纤与中心交换机相连,在1000交换机上堆迭SuperStack Ⅱ 100共享式HUB连接各楼的站点。此外还有一SuperStack Ⅱ Access Builder 2208远程访问服务器。工程全部完工后医院人员能在家里或外地通过电话拨号即可联接到院区网上,存取查询网上许可信息。

关键词 医院信息系统;院区网络
中图法分类号 R197.324

参考文献

1 李本增."金卫工程"的进展和展望.中国医院管理杂志,1998;18(1):198

2 刘安滨,袁志玉,杨霜英等.初具规模的医院局域网络实施与应用.医药与计算机杂志.1995;3(1):4

(收稿:1997-10-22;修回:1998-02-25)
(编辑 冷怀明)

* 穆云庆,男,32岁,工程师

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