

MMP 及 TIMP 在子宫内膜异位症中的表达^{*}

范玉香

(赞皇县医院, 河北 赞皇 051230)

[摘要] 目的: 探讨基质金属蛋白酶 MMP-2、MMP-9 及组织抑制因子 TIMP-1、TIMP-2 在子宫内膜异位症 (EMT) 患者血清及腹腔液中的表达及意义。方法: 选取行腹腔镜术 EMT 患者 40 例及同期行腹腔镜术非 EMT 患者 40 例作为研究对象, 采用双抗体夹心酶联免疫吸附法测定两组患者 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1、TIMP-2 在血清和腹腔液中的表达, 同时比较 EMT 不同分期患者血清及腹腔液中 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1、TIMP-2。结果: EMT 组患者血清及腹腔液中 MMP-2、MMP-9 表达水平显著高于非 EMT 组 ($P < 0.05$), EMT 组 TIMP-1、TIMP-2 的表达水平显著低于非 EMT 组 ($P < 0.05$); 随临床 EMT 分期的增加 MMP-2、MMP-9 表达水平相应升高, III ~ IV 期显著高于 I ~ II 期 ($P < 0.05$); 而 TIMP-1、TIMP-2 的表达水平随 EMT 临床分期增高而降低, III ~ IV 期显著低于 I ~ II 期 ($P < 0.05$)。结论: MMP-2、MMP-9 的高表达与 TIMP-1、TIMP-2 的低表达, 可能参与 EMT 的发生与发展过程。

[关键词] 子宫内膜异位症; 血清; 体液, 腹腔; 基质金属蛋白酶; 组织抑制因子

[中图分类号] R711.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2016)02-0238-04

Expression of MMP and TIMP in the Endometriosis

FAN Yuxiang

(Zanhuang Hospital of Hebei Province, Zanhuang 051230, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the expressions of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in the serum and peritoneal fluid in patients with endometriosis (EMT) and their clinical significance. **Methods:** A total of 40 patients with EMT for laparoscopy and 40 patients with non-EMT for laparoscopy at the same period were enrolled in the study. The double-antibody sandwich ELISA was used to detect the expressions of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in the serum and peritoneal fluid. Meanwhile, the expressions of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in the serum and peritoneal fluid in patients with EMT at different stages were compared. **Results:** The expression levels of MMP-2 and MMP-9 in the serum and peritoneal fluid in EMT group were significantly higher than those in the non-EMT group ($P < 0.05$). The expression levels of TIMP-1 and TIMP-2 in EMT group were significantly lower than those in the non-EMT group ($P < 0.05$). With the increasing clinical staging of EMT, the expression levels of MMP-2 and MMP-9 were correspondingly elevated while the expression levels of TIMP-1 and TIMP-2 were reduced with the increasing clinical staging of EMT. Specifically, the expression levels of MMP-2 and MMP-9 at stage III ~ IV were significantly higher than those at stage I ~ II ($P < 0.05$) while the expression levels of TIMP-1 and TIMP-2 at stage III ~ IV were significantly lower than those at stage I ~ II ($P < 0.05$). **Conclusion:** The high expressions of MMP-2 and MMP-9 and low expressions of TIMP-1 and TIMP-2 are probably involved in the genesis and development of EMT.

[Key words] endometriosis; serum; body fluid, abdominal cavity; matrix metalloproteinases; tissue inhibitor

^{*}[基金项目] 河北省科技进步项目 (20150261)

网络出版时间: 2016-02-23 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20160223.2101.056.html>

子宫内膜异位症(EMT)是指子宫内膜组织在子宫腔被覆内膜及子宫肌层以外的部位生长、浸润,导致疼痛、出血、不育等临床症状,是育龄期妇女常见的良性疾病,发病率达 10% ~ 15%,严重影响妇女身心健康及生活质量^[1-2]。EMT 的发病机制与经血逆流种植学说、静脉和淋巴播散学说、免疫学说等相关^[3]。研究指出,EMT 是一种血管生成依赖性疾病,内膜的种植过程是免疫应答异常、局部炎症反应和血管新生的过程,在这个过程中基质金属蛋白酶(MMP)及其组织抑制因子(TIMP)起着重要的作用,二者以 1:1 的比例形成复合物,抑制 MMP 的活性,调控着对细胞外基质(ECM)中 MMP 的降解^[4-5]。本研究旨在探讨基质金属蛋白酶-2、9(MMP-2、MMP-9)及其组织抑制因子-1、-2(TIMP-1、TIMP-2)在 EMT 患者血清及腹腔液中的表达及意义。

1 材料和方法

1.1 一般资料

选取 2014 年 1 月 ~ 2015 年 1 月妇科经腹腔镜术确诊为 EMT 患者 40 例作为观察组,符合 EMT 疾病诊断标准及分期标准^[6],排除有心、脑、肾等器官严重疾病,排除免疫、代谢、内分泌等激素依赖性疾病,至少 3 月内未接受过任何激素药物治疗;年龄 23 ~ 46 岁,平均(31.3 ± 6.7)岁;体重指数(BMI) 16.2 ~ 25.2 kg/m²,平均(20.8 ± 3.2) kg/m²;根据美国生育协会评分标准(r-AFS)分期, I ~ II 期 15 例, III ~ IV 期 25 例。选取同期因子宫肌瘤或不孕症等行腹腔镜术的非 EMT 患者 40 例作为对照组,其中子宫肌瘤 28 例,不孕症 12 例,引起不孕症原因为卵巢肿瘤、输卵管发育不全或不通等,年龄 24 ~ 46 岁,平均(32.0 ± 5.2)岁;BMI 16.3 ~ 25.7 kg/m²,平均(21.1 ± 3.5) kg/m²。两组患者年龄、BMI 等资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 方法

所有研究对象于入院第 2 天清晨 7 时采集外周静脉血 5 mL,常温静置 1 h,3 500 r/min 离心 20 min,取上清液置 -70 °C 保存待检。腹腔液标本于手术时用无菌注射器吸取子宫直肠陷凹和子宫膀胱陷凹处腹腔液 5 mL,3 500 r/min 离心 20 min,取上清液置 -70 °C 条件保存待检。采用双抗体夹心酶联免疫吸附法测定两组患者血清及腹腔液 MMP-2、

MMP-9 和 TIMP-1、TIMP-2 的水平,试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司,由专业人员按照说明书操作。

1.3 观察指标

观察 EMT 患者与非 EMT 患者血清及腹腔液中 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 TIMP-2 水平,并比较 EMT 不同分期患者血清及腹腔液中 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 TIMP-2 的差异。

1.4 统计学分析

应用 SPSS 18.0 软件分析数据,计量资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验,计数资料用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 TIMP-2

观察组血清 MMP-2、MMP-9 表达水平显著高于对照组($P < 0.05$),TIMP-1、TIMP-2 的表达水平显著低于对照组($P < 0.05$),差异有统计学意义,见表 1。

表 1 两组患者血清中 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 TIMP-2 水平($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 The serum levels of MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 in two groups

指标	观察组($n=40$)	对照组($n=40$)
MMP-2	245.8 ± 58.7 ⁽¹⁾	155.2 ± 50.3
MMP-9	289.3 ± 62.2 ⁽¹⁾	191.1 ± 53.5
TIMP-1	238.7 ± 57.5 ⁽¹⁾	401.2 ± 65.5
TIMP-2	205.5 ± 39.7 ⁽¹⁾	343.7 ± 41.5

⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.05$

2.2 腹腔液 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 TIMP-2

观察组腹腔液中 MMP-2、MMP-9 表达水平显著高于对照组($P < 0.05$),TIMP-1、TIMP-2 的表达水平显著低于对照组($P < 0.05$),差异有统计学意义,见表 2。

表 2 两组患者腹腔液中 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 TIMP-2 水平($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 The peritoneal fluid levels of MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 in two groups

指标	观察组($n=40$)	对照组($n=40$)
MMP-2	25.7 ± 8.5 ⁽¹⁾	15.3 ± 6.2
MMP-9	27.3 ± 4.4 ⁽¹⁾	18.3 ± 5.8
TIMP-1	975.7 ± 421.5 ⁽¹⁾	1 305.5 ± 437.3
TIMP-2	831.5 ± 305.8 ⁽¹⁾	1 131.3 ± 305.7

⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.05$

2.3 不同分期 EMT 患者血清 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 TIMP-2 水平

EMT 患者Ⅲ~Ⅳ期血清 MMP-2、MMP-9 的表达水平显著高于Ⅰ~Ⅱ期,Ⅲ~Ⅳ期血清 TIMP-1、TIMP-2 表达水平显著低于Ⅰ~Ⅱ期,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 3 EMT 不同分期患者血清 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 TIMP-2 水平($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 The serum levels of MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 in EMT patients with different clinical staging

指标	Ⅰ~Ⅱ期($n=25$)	Ⅲ~Ⅳ期($n=15$)
MMP-2	179.2 \pm 39.5	291.3 \pm 54.5 ⁽¹⁾
MMP-9	210.3 \pm 42.2	335.4 \pm 69.5 ⁽¹⁾
TIMP-1	362.7 \pm 71.2	158.5 \pm 42.3 ⁽¹⁾
TIMP-2	241.5 \pm 32.7	115.7 \pm 21.3 ⁽¹⁾

⁽¹⁾与Ⅰ~Ⅱ期比较, $P < 0.05$

2.4 不同分期 EMT 患者腹腔液 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 及 TIMP-2 水平

EMT 患者Ⅲ~Ⅳ期腹腔液 MMP-2、MMP-9 的表达水平显著高于Ⅰ~Ⅱ期,Ⅲ~Ⅳ期腹腔液 TIMP-1、TIMP-2 表达水平显著低于Ⅰ~Ⅱ期,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

表 4 EMT 不同分期患者腹腔液 MMP-2、MMP-9、TIMP-1、TIMP-2 水平($\mu\text{g/L}$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 The peritoneal fluid levels of MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 in EMT patients with different clinical staging

指标	Ⅰ~Ⅱ期($n=25$)	Ⅲ~Ⅳ期($n=15$)
MMP-2	18.5 \pm 6.7	27.1 \pm 5.0 ⁽¹⁾
MMP-9	19.3 \pm 5.7	28.9 \pm 4.3 ⁽¹⁾
TIMP-1	1 215.6 \pm 502.1	870.3 \pm 267.9 ⁽¹⁾
TIMP-2	1 115.3 \pm 375.8	781.6 \pm 215.4 ⁽¹⁾

⁽¹⁾与Ⅰ~Ⅱ期比较, $P < 0.05$

3 讨论

EMT 被认为是类似癌性浸润的一种良性疾病,月经期脱落的子宫内膜细胞随经血逆流,经血管或淋巴管进入腹腔、肝、肺等器官,种植于器官表面并生长。异位内膜本身及其周围组织血液供应的建立和维持是 EMT 的发病基础,目前已发现许多肽类生长因子以自分泌或旁分泌形式促进血管

内皮细胞增殖与分化。EMT 患者全身及盆腔局部发生了免疫状况改变,不能对异位的内膜清除,导致机体巨噬细胞数量增加,MMP 由巨噬细胞、结缔组织细胞、内皮细胞、粒细胞等合成及分泌,是具有高度同源性的内肽酶,可以加快血管内皮细胞新生血管的形成,与整合素相互活化增强细胞间黏附,在内膜细胞的异位种植生长中起促进作用^[7-9]。TIMP 是 MMP 的特异性抑制因子,MMP 的活性可被 TIMP 和巨球蛋白所抑制,通过调节 MMP 的活性调控 ECM 的更新与破坏^[10-11]。基底膜的完整性是判断异位内膜浸润与侵袭的重要标志,MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1、TIMP-2 在这一过程的调节中具有特殊意义^[12]。MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1、TIMP-2 主要分布在 EMT 患者的血管内皮细胞和腺上皮细胞,在间质细胞表达相对较低,于 EMT 在位内膜和正常子宫内膜血管内皮细胞、腺上皮细胞及间质细胞中的表达率较低^[13]。MMP-2、MMP-9 的表达随 EMT 临床分期的升高而增强,提示与 EMT 患者异位内膜的侵袭呈正相关。由于 MMP-2 和 MMP-9 在 EMT 患者早期就有表达,在异位组织中明显增高,临床可通过检测 MMP-2、MMP-9 的水平来判断愈后情况^[14]。本研究表明,EMT 患者 MMP-2、MMP-9 在血清和腹腔液中的表达水平显著高于对照组,随着临床分期的增加 MMP-2、MMP-9 的表达水平也相应升高,本组Ⅲ~Ⅳ期 MMP-2、MMP-9 的表达水平明显高于Ⅰ~Ⅱ期,说明 MMP-2、MMP-9 在异位内膜中的过度表达,使得异位内膜有很强大的水解能力,降解病变周围的基底膜,使异位内膜在组织内种植生长并使病灶不断扩大。TIMP 通过调解 MMP 的活性调控着细胞外基质的合成与降解,MMP 与 TIMP 间的平衡如果失调,会引起多种病理改变,这种现象在 EMT 的发生发展过程中起重要作用,TIMP-1 和 TIMP-2 随着 EMT 病情的发展和 r-AFS 分期的升高其表达水平逐渐降低,而 MMP-2 和 MMP-9 活性反而增强^[15]。本研究显示 TIMP-1、TIMP-2 在 EMT 的表达水平低于对照组,且随临床分期的增加 TIMP-1、TIMP-2 的表达水平也相应降低,本组Ⅲ~Ⅳ期的 TIMP-1、TIMP-2 表达水平明显低于Ⅰ~Ⅱ期($P < 0.05$),使 MMP-2/TIMP-2 与 MMP-9/TIMP-1 间的比值增加,平衡出现失调,使异位内膜侵袭力增加,改变了 ECM 的合成与降解,与文献^[15]报道一致。研究认为 MMP 与 TIMP 平衡的失调,改变了 ECM 合成与降解过程,诱发并促进 EMT 的发生与发展^[16]。

总之, MMP-2、MMP-9 的高表达与 TIMP-1、TIMP-2 的低表达,可能参与 EMT 的发生与发展,临床通过检测其表达水平,对预测疾病的发生发展与转归具有重要意义。

4 参考文献

- [1] 郭广宏,田亚平. 子宫内膜异位症血清标志物的研究进展[J]. 标记免疫分析与临床, 2013(2):126-128.
- [2] 施秀,徐炜,孙莹,等. 甾体激素受体辅激活子对子宫内膜异位症患者异位子宫内膜基质细胞中基质细胞衍生因子 1 表达的影响[J]. 中华妇产科杂志, 2014(3):114-119.
- [3] 吴佩蔚. 子宫内膜异位症不孕患者血清 IL-6 及 TNF- α 水平变化研究[J]. 中国妇幼保健, 2013(10):1644-1646.
- [4] 王菲菲,龚晔晨,张洁琼. 子宫内膜异位症患者血清和腹腔液中 VEGF、IL-6、IL-8 的表达情况及临床意义[J]. 北京医学, 2015(2):138-141.
- [5] 步仰高,张洪福,胡勇,等. 基质金属蛋白酶 MMP-2、MMP-9 及其组织抑制剂 TIMP-1、TIMP-2 与滋养细胞疾病关系的研究[J]. 安徽医学, 2009(4):368-371.
- [6] Borrelli GM, Abrao MS, Mechsner S. Can chemokines be used as biomarkers for endometriosis? A systematic review[J]. Hum Reprod, 2014(29):253-266.
- [7] 陶晓薇,顾丽娟. 基质金属蛋白酶 MMP-2、MMP-9 及其抑制因子 TIMP-1、TIMP-2 在子宫内膜异位症血清中的表达及临床意义[J]. 中国优生与遗传杂志, 2014(8):57-58.
- [8] 黄燕清,黄峥,孙玲,等. 腹腔液基质金属蛋白酶-1、-2、-3、-9 与子宫内膜异位症的相关性[J]. 广东医学, 2010(4):433-435.
- [9] 贾津,邱晓红. 子宫内膜异位症免疫机制研究进展[J]. 中国优生与遗传杂志, 2012(2):134.
- [10] 锁丙荣,於建鹏. 异位内膜中明胶酶表达与子宫内膜异位症(EMs)分期的相关性分析[J]. 医学信息, 2012(3):195-196.
- [11] 袁国平,陈俊杰,谢芳. MMP-2、MMP-9 及其组织抑制因子在子宫内膜异位症中的表达[J]. 中国卫生检验杂志, 2014(9):1267-1268.
- [12] 邱晓红,李荷莲. 基质金属蛋白酶 MMP-2 MMP-9 及其抑制因子 TIMP-1TIMP-2 在子宫内膜异位症中的表达及意义[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2004(3):158-160.
- [13] 张玉英,王靖雯,王伟,等. 子宫内膜异位症患者血清基质金属蛋白酶-9 及其诱导因子血管内皮生长因子的变化[J]. 济宁医学院学报, 2010(2):92-96.
- [14] 黄瑾,阳丽君,苏园园,等. MMP-2、MMP-9 在子宫内膜增生症和腺癌中的表达[J]. 广东医学院学报, 2011(2):129-132.
- [15] 李建芳,李利波,萧君明,等. 基质金属蛋白酶 2、9 及其抑制因子 1、2 在子宫内膜异位症患者血清及腹腔液中的表达[J]. 中国伤残医学, 2014(3):29-31.
- [16] 汪沙,段华. 子宫内膜异位症生物标志物的研究进展[J]. 中华妇产科杂志, 2014(49):392-394.

(2015-06-23 收稿,2015-11-21 修回)

中文编辑:戚璐;英文编辑:刘华

医学名词术语使用规范

名词、术语应统一,不要一义多词或一词多义。妇产科学、耳鼻咽喉科学、血液病学、呼吸病学、内分泌学、眼科学和外科学的名词已由医学名词审定委员会审定公布,应严格执行,其它尚未审定者,目前以下列 2 个主题词索引为准:(1)《医学主题词注释字顺表中文索引》(中国医学科学院医学信息研究所);(2)《中医药主题词表》(中国中医研究院图书情报研究所)。在这 2 个主题词表中找不到者,则以人民卫生出版社出版的《英汉医学词汇》、化学工业出版社出版的《药名词汇》和科学出版社出版的各学科名词审定本为准。如“发烧”应改为“发热”,“红血球”应改为“红细胞”,“血色素”应改为“血红蛋白”,“剖腹产术”应改为“剖宫产术”等。国内尚无统一译名的,参考以上词典慎重拟定,并在译名后加括号加注外文,在医学名词审定委员会正式公布后,应立即严格遵照执行。

《贵阳医学院学报》编辑部