

基质金属蛋白酶及其抑制剂与胃癌侵袭、转移关系的研究进展

肖 艳综述, 魏品康审校

关键词: 胃癌; 侵袭; 转移; 金属蛋白酶; 金属蛋白酶抑制剂

中图分类号: R735.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2002)02-0156-03

胃癌是我国发病率和死亡率最高的恶性肿瘤之一, 及时诊断和阻止其侵袭转移一直是当前研究的热点和难点。癌细胞在转移形成之前要经过多次穿透基底膜才能完成, 肿瘤细胞分泌多种蛋白水解酶对细胞外基质(extracellular matrix, ECM) 的降解是肿瘤侵袭转移过程的一个重要环节, 在此环节中基质金属蛋白酶(matrix metal proteinases, MMPs) 和金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs) 起到重要作用, 尤其是 MMP₁、MMP₂、MMP₇、MMP₉、MT₁-MMP 及 TIMP₁、TIMP₂ 与胃癌的侵袭转移和预后关系密切。

1 金属蛋白酶家族(MMPs) 及其抑制剂(TIMPs)

金属蛋白酶是一类结构高度同源的内肽酶的总称, 因含有金属(锌、钙) 离子而得名。各种 MMP 之间的氨基酸序列存在着以下的同源序列: 活性前区/前肽功能区, 此区含有一个半胱氨酸开关而具有信号肽的作用, 保持酶的稳定性; 催化功能区, 含有二个保守的组氨酸, 它们是锌钙离子的结合位点; 羧基端功能区, 此区决定了 MMPs 作用底物的特异性, 亦参与 MMPs 与 TIMP₁、TIMP₂ 的相互作用。此外 MT₁-MMP (MMP14)、MT₂-MMP (MMP15)、MT₃-MMP (MMP16) 的羧基端尚含有一跨膜区。迄今为止发现的 MMPs 至少有 18 种, 它们几乎能降解除多糖以外的全部细胞外基质的成分, 并可使别的 MMPs 激活, 形成瀑布效应而发挥作用。根据降解的底物不同可将 MMPs 分为 4 大类^[1]: 胶原酶中 MMP₁、MMP₈、MMP₁₃, 主要消化 I、II、III 型胶原和蛋白多糖; 明胶酶(II 型胶原酶) MMP₂、MMP₉, 又称明胶酶 A、B, 主要消化 I、II、III 型胶原和弹性纤维; 基质溶解素中的 MMP₃、MMP₇、MMP₁₀、MMP₁₁, 主要作用于纤维粘连蛋白、层粘连蛋白、弹力纤维、IV 型胶原及 MMP₁、MMP₈、MMP₉;

膜型金属蛋白酶的 MT₁-MMP、MT₂-MMP、MT₃-MMP, 主要作用于明胶、IV 型胶原、MMP₂。

在生理条件下, MMPs 的合成、分泌及其激活的各个环节都受到机体的严密调控。体内绝大多数细胞并不储备 MMPs, 当体内需要 MMPs 的信号传到细胞后, 细胞才临时合成分泌 MMPs, 而当相反信号传入时, 酶的合成停止、活性下降或消失。MMPs 的表达受一些外部刺激因素的直接诱导或抑制, 合成的 MMPs 以无活性的水溶性酶原形式分泌到细胞外, 其活性的封闭是由于在锌离子活性中心旁边结合有该 MMPs 前区肽键内所含的一个半胱氨酸, 该半胱氨酸阻断了活性中心与底物的结合所致, MMPs 的活化过程是在多种酶的参与下将 MMPs 前区劈开, 使半胱氨酸与锌离子分离, 暴露活化中心, 导致了氨基端的自动剪切。丝氨酸蛋白酶(如纤溶酶)、组织蛋白酶、及中性弹力蛋白酶等均参与 MMPs 的活化, 其中血浆纤溶酶和间充质溶解素是已知生理性 MMPs 的激活因子, 血浆纤溶酶由血浆纤溶酶原在尿激酶型(uPA) 或组织型(tPA) 纤溶酶激活因子的作用下激活而来。丝氨酸蛋白酶在大多数的 MMPs 活化中起有决定性的作用^[2], 但 MMP₂ 却除外, Sato 发现它通过 MT₁-MMP、MT₂-MMP 激活, MMP₃ 还可进一步激活 MMP₁, 由此可见, MMPs 之间的相互作用也参与了其激活过程。

激活的 MMPs 可被 TIMPs 抑制, TIMPs 是 MMPs 的特异性抑制因子, 现已发现 4 种 TIMPs, 分别命名为 TIMP₁、TIMP₂、TIMP₃、TIMP₄^[3,4], 它们具有大致相同的结构: N 端功能区的半胱氨酸残基与 MMPs 的锌离子活性中心结合, C 端功能区与 MMPs 的其它部位结合, 以 1:1 的比例形成 MMP-TIMP 复合体, 从而阻断 MMPs 与底物结合, 抑制 MMPs 的活性。四个 TIMP 的分布和作用也略有不同, TIMP₁ (28KD) 广泛存在于组织和体液中, 被多种细胞因子(IL-1、TGF 等) 诱导表达, 与激活的胶原酶、明胶酶有高亲和性; TIMP₂ (21KD) 多随 MMP₂ 的表达而表达, 较少受细胞因子的诱导, TIMP₂ 有双重作用, 既能和 MMP₂ (明胶酶 A) 的酶原结合, 阻止酶原的活化及其与细胞表面接触, 又能和激活的明胶酶结合使其失活; TIMP₃ 仅存在于 ECM 中, 对佛波脂、表皮生长因

收稿日期: 2001-05-20; 修回日期: 2001-11-13

作者单位: 200003 上海长征医院中医科

子(EGF)、TGF- β 的诱导极其敏感;TIMP₄在心肌组织中高表达,在肾脏、结肠、小肠低表达,在肝、脑、肺、胸腺无表达,具有器官特异性。新近的研究表明TIMPs 还有其他生理功能,(如TIMP₂能抑制细胞增殖,TIMP₃可诱导细胞凋亡,TIMP₂、TIMP₃能有效抑制MT₁-MMP 激活MMP₂酶原过程,抑制剂主要抑制MT₁-MMP 的蛋白水解功能^[5]等,从而具有抑制肿瘤细胞生长和转移的作用。)在正常生理状态时MMPs 与TIMPs 协同产生,维持动态平衡,在组织重建、细胞迁移、血管生成、伤口愈合等过程中发挥关键作用,但是,当这种平衡被打破时,ECM 的代谢发生异常,可导致各种疾病和促进疾病的恶化。

2 MMPs、TIMPs 与胃癌的侵袭、转移

随着对MMPs、TIMPs 研究的不断深入和其结构功能的日益明确,MMPs 和TIMPs 与胃癌的关系引起人们的关注,并作了许多研究和探讨:

2.1 胃癌细胞系和动物模型的研究

由于肿瘤细胞的异质性,并非所有的肿瘤细胞都具有转移的潜能,许多实验表明MMPs 的表达和活性水平与胃癌细胞侵袭和转移相关。1994年Schwart 等研究胃癌细胞株SK-GT的MMP₂mRNA 的表达,结果发现浸润型细胞株SK-GT₁、SK-GT₅、SK-GT₆表达MMP₂,而非浸润型细胞株SK-GT₂、SK-GT₄不表达MMP₂,超微结构显示:有丰富伪足、运动能力强的胃癌细胞的MMP₂mRNA 表达明显增强,从无转移及明显浸润胃癌组织中分离的癌细胞则少伪足且低表达,提示MMP₂分泌能力与胃癌侵袭转移密切相关。Koshikawa 将MMP₇及MT₁-MMP 的cDNA 导入无或弱转移潜能的细胞后发现其恶性表型大大提高,Hcc 通过将TIMP₂基因转染肿瘤细胞使其恶性生物学表型得以下降。1998年以来李楠^[6,7]等也对TIMP₂与胃癌进行了全面研究:结果表明转染TIMP₂基因的肿瘤细胞侵袭力下降;在分别将转染和未转染TIMP₂基因的肿瘤细胞种植在裸鼠肾包膜下造成的动物模型实验中,同一肿瘤细胞SGC-7901在两种状态下的生物学行为不同,未转染组的病变侵袭程度深,裸鼠生活质量明显下降,在实验后期因肿瘤转移死亡数量多,免疫组化显示在肿瘤侵袭部位的MT₁-MMP 局部表达异常丰富,型胶原的结构被破坏。刘炳亚^[8]等对SCID小鼠胃癌原位移植模型研究亦显示转染TIMP₂基因后的肿瘤细胞造成的小鼠模型的抑瘤率上升,而肝、腹膜、胰的转移率明显下降,更进一步证实TIMP₂基因对胃癌生长及转移具有抑制作用。

2.2 胃癌组织内的研究

多项研究表明MMPs 在

胃癌组织具有高表达的特点,而在正常胃粘膜组织中低表达或不表达,而且MMPs 的表达与胃癌的侵袭转移及其预后呈正相关。李楠^[9]用免疫组化及分子原位杂交法检测人胃癌标本中MMP₂、MMP₉、MT₁-MMP 的表达时发现三者 mRNA 和蛋白水平的表达阳性率均较癌旁组织的表达阳性率高。梁雨荣^[10]等发现胃癌患者淋巴结转移组的MMP₂、MMP₉的阳性率(86%、91%)明显高于无淋巴结转移组(36%、43%),说明二者在胃癌细胞突破基底膜向淋巴结转移过程中起重要作用;弥漫型胃癌的阳性率(94%、94%)明显高于肠型胃癌(45%、55%),表明分化差的癌细胞具有更强的诱导MMPs 表达的能力,因而具有更强的浸润转移能力。Nomura、万远廉^[11]都发现MT₁-MMP 在胃癌组织中特异表达,且MT₁-MMP 的表达高低与胃癌浸润深度、有无淋巴结转移及淋巴管癌栓呈正相关,提示MT₁-MMP 参与了胃癌的直接浸润和转移。Inoue^[12]在103例胃癌组织中发现MMP₁的阳性率为75.2%,阳性表达者多数已有淋巴结或/和腹腔转移。Handa 发现MMP₇表达增高的胃癌患者其癌细胞向周围组织直接浸润能力强。

2.3 胃癌患者预后的探讨

以上研究都证实MMPs/TIMPs 在胃癌发展过程中发挥关键作用,通过突破细胞外基质和基底膜这道宿主防范的天然屏障进入血液循环,促进胃癌的浸润转移,加速病情恶化,影响胃癌患者的预后。一项前瞻性研究表明胃粘膜内癌TIMP₂的表达阳性率为63%,MMP₂的阳性率为19%,进展期胃癌TIMP₂的表达阳性率下降而MMP₂的阳性率升高,凡原发灶TIMP₂高表达而MMP₂的低表达的胃癌患者生存时间显著延长。Allgayer^[13]等用免疫组化法发现MMP₂的表达在弥漫型胃癌中要高于肠型胃癌,单变量分析显示MMP₂高表达与其预后差有关。Bando^[14]等对127例胃癌患者的检测发现72例(57%)MT-MMP 阳性,并根据多元性分析显示MT-MMP 的过度表达与胃癌患者的预后关系密切,认为MT-MMP 有可能成为胃癌转移能力及预后的标志物。

2.4 血浆(或血清)检测的研究

关于MMPs/TIMPs 与胃癌的研究大多集中于胃癌组织内的研究,在血浆(或血清)检测方面的研究正处在开始阶段,且多集中于型胶原酶(MMP₂、MMP₉)。Torri^[15]根据检测发现患者血浆中MMP₉的浓度高于正常对照组,胃癌术前高于术后,且血浆MMP₉的浓度与肿瘤大小、TNM 分期有关,国内杜勤和史洪涛的研究结果与Torri 类似。Endo^[16]等对70例胃癌患者的血清检测发现型胶原酶高于正常对照组,冀

明、王爱民^[17]的研究亦证明胃癌患者型胶原酶高于胃溃疡组和正常对照组,因为型胶原酶作用于基底膜的主要骨架结构-型胶原,所以血清型胶原酶的测定作为无创伤性指标预示胃癌转移与预后可能具有一定的临床意义。

3 应用和展望

综上所述,众多学者已从体外细胞系、动物模型、胃癌组织、患者预后等方面对胃癌侵袭转移与 MMPs/TIMPs 的关系进行研究,根据研究结果可见 TIMPs 对胃癌的浸润转移具有抑制作用,可用于胃癌临床治疗用药,而且人工合成的金属蛋白酶抑制剂 BB2516 (Matimastat)、BB94 (Batimastat) 已进入临床前期试验阶段,并取得一定的成果。BB2516 在健康自愿者中进行的期临床试验得出用药的最佳剂量 (10mg, Bid), 且观察到 50mg 用量可引起关节肌肉疼痛的不适反应,但停药后即消失;期临床试验只在少量胰腺癌和胃癌患者中进行,用血清肿瘤标志物检测效果,发现 50% 的病人在 50mg, Bid 的剂量时有反应;正在进行的期临床试验观测 BB2516 与化学药物联合应用的效果^[18]。顾斌^[19]等在体外侵袭实验中表明细胞毒新药多西紫杉醇和 BB94 均能抑制小鼠前胃癌 (MFC) 细胞侵袭并穿过重组基底膜的能力,而且 BB94 可增强多西紫杉醇的作用;在体内的实验表明给予最大剂量的多西紫杉醇 (20mg/kg) 或多柔比星 (6mg/kg, i.v., 1 次/4d, 共 3 次) 和 BB94 (30mg/kg, i.p., 1 次/d, 连续 20d) 均具有明显的抗肿瘤转移作用,且 BB94 可明显增强多西紫杉醇的抗肿瘤作用。

侵袭和转移是恶性肿瘤最本质的特性受各种因素的调控。在 MMPs/TIMPs 与胃癌侵袭、转移关系方面的研究虽已取得一定的成果,而其作用机制尚不十分清楚,不少问题有待探索,如在不同类型和分化程度的胃癌发生、发展过程中 MMPs/TIMPs 表达调控的精确机制,在 MMPs/TIMPs 的表达中胃癌细胞与间质细胞间的信号传导及途径等,另外 TIMPs 作为强有力的抑制剂具有使 MMPs 失活,在作为临床用药治疗时应兼顾考虑其对人体正常生理功能的影响,使取得较高治疗效果的同时将不良反应降至最低。相信随着医学科学的进步与发展,这些问题的逐渐解决, MMPs/TIMPs 这一系统无论是作为胃癌的血清检测标志物、基因治疗的手段和临床治疗用药,还是胃癌预后的预测指标都具有广阔的研究前景。

参考文献:

- [1] PendasAM, KnauerPV, PuentsXS, et al. Identification and characterization of a novel human matrix metallo proteinase with unique structural characteristic, chromosomal location, and tissue distribution[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272 (7): 4281-4286.
- [2] CelentanoDC, FrishmanWH. Matrix metallo proteinases and coronary artery disease: a novel therapeutic target[J]. *J Clin Pharmacol*, 1997, 37 (11): 991-1000.
- [3] BakerAH, ZaltsmanAB, GeorgeSJ, et al. Divergent effects of tissue inhibitor of metallo proteinase-1, 2 or 3, over expression in rat vascular smooth muscle cell invasion, proliferation, and death in vitro, TIMP-3 promotes apoptosis[J]. *J Clin Invest*, 1998, 101 (6): 1478-1487.
- [4] GreeneJ, WangM, LiuYE, et al. Molecular cloning and characterization of human tissue inhibitor of metallo proteinase 4[J]. *J Biol Chem*, 1996, 271 (48): 30375-30380.
- [5] KinoshitaT, SatoH, TakinoT, et al. Processing of a precursor of 72-kilodalton type collagenase/gelatinase A by a recombinant membrane-type 1 matrix metallo proteinase[J]. *Cancer Res*, 1996, 56 (11): 2535-2538.
- [6] 李楠, 徐采朴, 刘为纹, 等. 转染金属蛋白酶抑制剂对胃癌细胞体外侵袭能力的影响[J]. *中国癌症杂志*, 2000, 10 (2): 163-165.
- [7] 李楠, 徐采朴, 刘为纹, 等. 组织蛋白酶抑制剂 TIMP-2 基因转染对胃癌细胞内外侵袭能力的影响[J]. *中华病理学杂志*, 1998, 27 (5): 362-365.
- [8] 刘炳亚, 朱丽华, 郭礼和, 等. 转染 TIMP2 基因抑制胃癌浸润转移的实验研究[J]. *中华消化杂志*, 2000, 32 (1): 61-63.
- [9] 李楠, 徐采朴, 房殿春, 等. 人胃癌 MMP-2、MMP-9 及 MT1-MMP 基因的过度表达—免疫组化和原位杂交研究[J]. *中国肿瘤临床*, 1998, 25 (11): 806-809.
- [10] 梁雨荣, 赵涛, 何尔斯泰, 等. 基质金属蛋白酶 MMP₂、MMP₉ 与胃癌转移的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2000, 15 (2): 119.
- [11] 万远廉, 郭源, 魏群, 等. 膜型基质金属蛋白酶 1 在人胃癌中是表达[J]. *北京医科大学学报*, 2000, 32 (1): 61-63.
- [12] InoueT, YashiroM, NishimuraS. Matrix metallo proteinase 1 expression is a prognostic factor for patients with advanced gastric cancer[J]. *Int J Mol Med*, 1999, 4 (1): 73-77.
- [13] AllgayerH, BabicR, BeyerB, C.M., et al. Prognostic relevance of MMP2 (78 kDa collagenase) in gastric cancer[J]. *Oncology*, 1998, 55 (2): 152-160.
- [14] BandoE, YonemuraK, EndouY, et al. Immunohistochemical study of MT1-MMP tissue status in gastric carcinoma and correlation with survival analysis[J]. *Onco Rep*, 1998, 5 (6): 1483-1488.
- [15] TorriA, KoderaK, UesakaK, et al. Plasma concentration of matrix metallo proteinase 9 in gastric cancer[J]. *Br J Surg*, 1997, 84 (1): 133-136.
- [16] EndoK, MaeharaY, BabaH, et al. Elevated levels of serum and plasma metallo proteinases in patients with gastric cancer[J]. *Anti-cancer Res*, 1997, 17 (3): 2253-2258.
- [17] 冀明, 王爱民, 于中麟. 胃癌患者血清型胶原降解酶活性的研究[J]. *中国内科杂志*, 1999, 38 (3): 189-190.
- [18] StuardWP. Marimastat (BB2516): Current status of development[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1999, 43 (suppl): S56-S60.
- [19] 顾斌, 吴德政, 李盟军, 等. 多西紫杉醇单独或与巴马司他 (BB-94) 联合应用抗小鼠前胃癌转移的作用[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2000, 14 (3): 177-182.

(刘红武校对)