

基质金属蛋白酶与眼科疾病的研究进展

杨晶晶, 何湘珍

作者单位: (421001) 中国湖南省衡阳市, 南华大学附属第二医院眼科

作者简介: 杨晶晶, 在读硕士研究生, 研究方向: 白内障。

通讯作者: 何湘珍, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 发表国家级、省级科研论文 20 余篇, 研究方向: 青光眼、白内障。1216255816@qq. com

收稿日期: 2011-04-12 修回日期: 2011-05-27

Research progress in matrix metalloproteinases and eye diseases

Jing-Jing Yang, Xiang-Zhen He

Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Correspondence to: Xiang-Zhen He. Department of Ophthalmology, the Second Affiliated Hospital of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China. 1216255816@qq. com

Received: 2011-04-12 Accepted: 2011-05-27

Abstract

• Matrix metalloproteinases (MMPs), which play the most important role in the degradation of extracellular matrix (ECM), belong to the family of Ca^{2+} and Zn^{2+} dependent endoproteases. MMPs participate in the pathological processes of various eye diseases. It's a new way for us to prevent and control the generating and development of kinds of eye diseases from the research of MMPs. If we know more about the MMPs' activation and inhibition, as well as how to express highly, we'll know better about eye diseases. In this review, we mainly focus on the recent research of MMPs.

• KEYWORDS: matrix metalloproteinases; tissue inhibitors of metalloproteinases; eye diseases

Yang JJ, He XZ. Research progress in matrix metalloproteinases and eye diseases. *Guoji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011;11(7):1185-1187

摘要

基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 属于 Zn^{2+} 和 Ca^{2+} 依赖性内肽酶家族, 是参与降解细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的最重要的蛋白酶。因其参与了多种眼科疾病的病理过程, 故对其活化与抑制, 以及如何高表达进行研究, 可为预防和控制各类眼科疾病的发生发展提供崭新的研究方向, 现就其最近的科研进展做一综述。

关键词: 基质金属蛋白酶; 基质金属蛋白酶组织抑制剂; 眼

科疾病

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2011. 07. 018

杨晶晶, 何湘珍. 基质金属蛋白酶与眼科疾病的研究进展. 国际眼科杂志 2011;11(7):1185-1187

0 引言

基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 广泛存在于机体的各组织中, 能降解除多糖以外的全部细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 成份。MMPs 包括胶原酶、明胶酶 (gelatinase)、基质溶解酶 (stromelysin, SL) 等。胶原酶包括 MMP-1, MMP-8, MMP-13 和 MMP-18; 而 MMP-2 和 MMP-9 则属于明胶酶, 是现在研究最多的 MMPs; SL 包括 MMP-3, MMP-10 和 MMP-11; 另外还有一些膜型 MMPs 和其它型 MMPs^[1]。虽然 MMPs 种类各异, 但其均存在若干共同特征, 例如: 具有信号肽区、前肽区、催化结构区、纤维连接素样区和-COOH 末端的血红素结合蛋白样区 5 个基本结构区; 都以酶原形式分泌; 活性都依赖其活性中心 Zn^{2+} ; 可被其它蛋白激酶等激活, 激活后分子量减少约 10kDa; 激活后能降解 ECM 成分; 不同种类 MMPs 的 cDNA 间具有 40% ~ 50% 的同源性。尽管 MMPs 家族大部分序列相同, 但由于其在抗原性、底物特异性及转录调节上的不同, 使得 MMPs 不但可以清除像胶原分子、明胶分子等大分子, 还能够降解胶原蛋白和蛋白多糖, 为新细胞提供生长空间。

MMPs 的表达及活性受到严格的调控。一般情况下, MMPs 以酶原的形式存在, 特定情况下, 可被天然激活剂激活, 相反, 也可被机体内的天然抑制剂如金属蛋白酶组织抑制因子 (tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMP) 抑制。TIMP 是一个多基因家族的编码蛋白, 广泛分布于组织与体液中, 由内皮细胞、成纤维细胞、单核-巨噬细胞等产生。其家族主要有 TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 和 TIMP-4。TIMP-1 和 TIMP-2 可以与 MMPs 形成 1:1 复合体, 这两种抑制物均可与具有生物活性的 MMPs 以 1:1 的比例非共价结合, 但与不具有生物活性的 MMPs 紧密结合在一起形成复合物形式, 并阻断 MMPs 与底物结合, 从而发挥抑制作用^[2]。机体内活化的 MMPs 与 TIMP 的这种平衡关系决定了 MMPs 的活性。

1 明胶酶 MMP-2 与 MMP-9

鉴于 MMPs 降解 ECM 的作用, 目前国内外对于如何上调表达 MMPs 以及探索其与 TIMP 的相对平衡做了诸多相关研究工作。MMP-2 与 MMP-9 作为 MMPs 家族中的两种明胶酶, 在机体内分布最广, 也是目前研究最多的两种亚型。MMP-2 在基底膜降解、伤口愈合和组织修复中起非常重要的作用。MMP-9 在细胞分化、组织损伤、修复中发挥重要作用。生理情况下, 组织表达 MMP-2 和 MMP-9

的数量极少,炎性细胞因子、激素、生长因子等都可改变其转录水平;此外,介质中各种因子的作用、酶原的激活,以及抑制剂等都可影响二者在组织中的最终活性含量^[3]。王玲等^[4]应用等量总蛋白对以碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)培养的人脉络膜黑色素细胞的蛋白进行蛋白印迹法分析,用MMP-2抗体检测发现:正常人脉络膜黑色素细胞样本有微弱的信号条带,经bFGF处理的样本有清晰的信号条带;用MMP-9抗体检测发现:正常人脉络膜黑色素细胞样本未见信号表达,经bFGF处理的样本有微弱的信号条带。其结果支持bFGF可上调体外培养的人眼脉络膜黑色素细胞表达MMP-2和MMP-9的理论。Lan等^[5]用RT-PCR和ELISA法分别检测以曲伏前列素不同时间处理过的人睫状肌MMP-2在基因和蛋白水平的表达,同时用Zymography技术分别检测各组MMP-2的活性,发现体外培养的人睫状肌细胞接受曲伏前列素作用后,MMP-2表达随药物作用时间延长逐渐增加,活性逐渐增强。刘思伟等^[6]以含不同浓度有机硒化合物的培养基孵育的小梁细胞(trabecular meshwork cell, TMC)后,用免疫组织化学法对MMP-2定性和半定量检测,蛋白印迹法定量检测TIMP-1,发现硒化合物可以减少MMP-2和TIMP-1的分泌,进而影响房水流出通路中ECM之间相互转化的平衡,增加房水流出阻力,参与了原发性开角型青光眼的发病。De Paiva等^[7]在研究皮质类固醇及强力霉素对MMP-9与炎性细胞因子的表达、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)活化的影响时发现,角膜上皮脱水的作用可显著地增加MMP-9的产生,并能增加其在角膜上皮与泪液中的活性。皮质类固醇与强力霉素都可对实验性干眼反应性降低MMP-9的表达及活性。Luo等^[8]在评估小鼠实验性诱导干眼是否可以激活MAPK时也发现,与同龄控制对象相比较,接受诱导干眼处理的小鼠在5或10d后,泪液中的MMP-9显著增加。Kvanta等^[9]通过研究角膜新生血管中MMP-2和MMP-9及血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等可能的作用发现,在未经处理的正常角膜中,MMP-2和MMP-9低表达或者不表达,VEGF在角膜上皮中弱表达。而在新生血管化的角膜中,MMP-2的表达增高,并且主要集中于新生血管形成的浸润细胞中,而这些浸润细胞多为炎症细胞;VEGF的表达和分布与MMP-2大体相同,不同点在于VEGF仍然维持了其在角膜上皮中的弱表达,甚至稍有增高。MMP-9则在角膜上皮损伤部位的上皮再生边缘区呈显著表达,而在血管化的基质区不表达。该研究结果支持MMP-2与VEGF在炎性相关的角膜血管新生中的作用,而MMP-9则似乎涉及角膜上皮的损伤修复这一理论。Shoshani等^[10]通过研究人工晶状体致角膜水肿(pseudophakic corneal edema, PCE)后角膜上皮的炎性细胞因子与MMPs表达,结果证实,与控制样本相比,在PCE角膜上皮中的大部分炎性细胞因子和MMPs的表达明显较高。与控制组比较,MMP-9的表达量最高。其结论表明,PCE角膜上皮中高表达细胞因子和SL,这些细胞因子和SL与炎症反应、损伤修复、血管再生及组织降解有关。这些介质的表达可以部分解释诸如角膜血管新生、角膜大疱的形成及角膜上皮反复脱落等疾病的病理特征。

2 胶原酶 MMP-1 与基质溶解酶 MMP-3

MMPs家族中的MMP-1作为胶原酶的一种,可特异地作用于I型和III型胶原,使其分子降解。SL中的MMP-3激活后不仅能广泛降解ECM,也可以降解完整的基底膜IV型胶原,并能激活其它MMPs一同参与到ECM的降解过程中。张冰洁等^[11]在体外培养人角膜基质细胞的培养液中添加或不添加多核白细胞弹性蛋白酶或白介素-1 α (IL-1 α),通过免疫印迹法测定培养上清液中的MMP-1和MMP-3的表达,发现无任何刺激下的人角膜基质细胞不表达MMP-1与MMP-3;添加IL-1 α 后可诱导表达前体MMP-1与前体MMP-3;而添加多核白细胞弹性蛋白酶虽不能诱导MMP-1与MMP-3表达,但其可激活在IL-1 α 诱导下产生的前体MMP-1与前体MMP-3转化为各自的活化形式,说明多核白细胞弹性蛋白酶和IL-1 α 可以协同诱导角膜细胞的胶原降解,这为角膜溃疡的诱发提供了理论依据。袁洪峰等^[12]以地塞米松培养人眼TMC,用RT-PCR方法检测TMC中MMP-3及TIMP-1的表达,发现地塞米松处理后MMP-3的表达明显减少,而TIMP-1无明显改变,说明激素性青光眼的发病与MMP-3降低有关。刘菲等^[13]用添加了转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)的培养液培养牛眼TMC,用免疫组化SP法进行染色,发现TGF- β_1 抑制TMC表达MMP-3及MMP-9,造成小梁网ECM异常堆积,房水引流阻力增高。濮清岚等^[14]用含肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的培养液培养人眼TMC,发现TNF- α 在一定范围内促进TMC中MMP-3及MMP-9的表达,增加小梁网异常堆积的ECM的降解,使房水流出增加,眼压降低。李超等^[15]用不同浓度的IL-1 β 培养人眼TMC 24h后,以RT-PCR法和ELISA法检测MMP-3含量,发现IL-1 β 在一定范围内可促进MMP-3的表达,并且呈现一定的剂量依赖性,推测IL-1 β 可以通过促进MMP-3的表达来减少小梁网组织ECM的堆积,使房水引流通畅,从而降低眼内压。MMP-2和MMP-9能够溶解胶原蛋白IV,使胶原蛋白与蛋白多糖变性。MMP-3可以溶解纤维连接蛋白,使胶原蛋白、层粘连蛋白与蛋白多糖变性,同时还涉及蛋白多糖酶的蛋白水解活性^[16]。

目前多数针对青光眼的研究仍在于探寻其病因,原发性开角型青光眼(primary open angle glaucoma, POAG)眼压升高的重要原因之一是小梁途径的房水外流排出系统发生病变,多数人认为其原因可能是由于小梁组织局部的病变,导致小梁内皮细胞活性改变,细胞密度降低,小梁束的胶原变性,小梁板片增厚融合,小梁内间隙特别是近小管组织的ECM异常堆积,Schlemm管壁的内皮细胞吞饮泡减少,最终导致房水流出的阻力增加^[17]。现在,在人眼TMC中发现了MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9及TIMP-1的表达,TMC与睫状肌细胞内有丰富的ECM,其支架作用和维持部分房水流出的作用均受到MMPs的调控。而原发性青光眼的病理表现是小梁网内异常ECM的堆积,所以MMPs上调,ECM降低;反之,MMPs下调,则ECM堆积。

3 胶原酶 MMP-8 与膜型 MMP-14

MMP-8属于胶原酶中的一种,与MMP-1同属一类MMP。I, II, III, VII, X型胶原、明胶、TNF- α 等构成前者的水解底物。MMP-14属于膜型MMP,可以水解酶原型

MMP-2^[1]。Holopainen 等^[18]通过实验发现角膜的修复更新速率维持于较高水平,并被角膜胶原蛋白及其它基质蛋白分解的比率所影响。相应地,在正常测试者的泪液中 MMP-8 与 MMP-14 维持在较高的水平。而屈光性角膜切削术(photorefractive keratectomy, PRK)术后患者的角膜伤口快速愈合,其 MMP-8 和 MMP-14 水平及其活化速率则较正常人更高。由此可以看出 MMP-8 与 MMP-14 在角膜伤口愈合级联反应中的重要作用。另外, MMP-14 还有可能参与了 MMP-8 的前体激活的过程。这项研究为角膜上皮损伤的愈合提供了新的研究角度。

综上所述,尽管关于 MMPs 本身的蛋白酶作用机制以及 MMPs 与 TIMP 的平衡性研究已经取得一定进展,但仍需对其进行更进一步的研究,从而为眼科疾病的预防与治疗提供更好的理论依据。

参考文献

- 1 顾国利,王石林,魏学明. 基质金属蛋白酶及其抑制剂研究进展和临床应用展望. 空军总医院学报 2007;23(2):93-98
- 2 吴琼,张德秀,李琛,等. 肿瘤坏死因子- α 对体外培养的牛眼小梁细胞 MMP-3, MMP-9 和 TIMP-2 表达的影响. 国际眼科杂志 2006;6(2):328-331
- 3 康剑书,何为民. 明胶酶 MMP-2 和 MMP-9 及其组织抑制剂与眼科疾病. 国际眼科杂志 2009;9(11):2154-2157
- 4 王玲,卢清君,王宁利,等. bFGF 对人眼脉络膜黑色素细胞 MMP-2 和 MMP-9 表达的影响. 眼科研究 2006;24(4):385-388
- 5 Lan YQ, Xiao JH, Peng W, *et al.* Effect of travoprost on matrix metalloproteinase-2 expression in human ciliary muscle cells cultured *in vitro*. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu Yu Linchuang Kangfu* 2007;11(41):8414-8417
- 6 刘思伟,吴琼,张德秀. 硒对体外培养的牛眼小梁细胞 MMP-2 和 TIMP-1 分泌的影响. 国际眼科杂志 2006;6(3):620-622
- 7 De Paiva CS, Corrales RM, Villarreal AL, *et al.* Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression,

- MAPK activation in the corneal epithelium in experimental dry eye. *Exp Eye Res* 2006;83(3):526-535
- 8 Luo L, Li DQ, Doshi A, *et al.* Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(12):4293-4301
 - 9 Kvanta A, Sarman S, Fagerholm P, *et al.* Expression of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in inflammation-associated corneal neovascularization. *Exp Eye Res* 2000;70(4):419-428
 - 10 Shoshani Y, Pe'er J, Doviner V, *et al.* Increased expression of inflammatory cytokines and matrix metalloproteinases in pseudophakic corneal edema. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(6):1940-1947
 - 11 张冰洁,郝继龙,卢佳,等. 多核白细胞弹性蛋白酶对人角膜基质细胞 MMP-1, MMP-3 表达的影响. 中国老年学杂志 2010;30(2):148-149
 - 12 袁洪峰,贺翔鸽. 地塞米松对人眼小梁细胞 MMP-3 及 TIMP-1 mRNA 表达的影响. 国际眼科杂志 2006;6(5):1027-1029
 - 13 刘菲,张德秀,曹培龙,等. 转化生长因子 β_1 对体外培养的牛眼小梁细胞 MMP₃ 和 MMP₉ 表达的影响. 眼科研究 2002;20(5):428-430
 - 14 濮清岚,吴瑜瑜,林玲,等. 肿瘤坏死因子- α 对体外培养的人眼小梁细胞基质金属蛋白酶-3 和基质金属蛋白酶-9 表达的影响. 眼视光学杂志 2007;9(4):217-221
 - 15 李超,吴瑜瑜. 白细胞介素-1 β 对人眼小梁细胞基质金属蛋白酶-3 表达的影响. 临床眼科杂志 2008;16(4):298-301
 - 16 Ckling A. Effect of Latanoprost on the extracellular matrix of the ciliary muscle. A study on cultured cells and tissue sections. *Exp Eye Res* 1998;67(2):179-191
 - 17 葛坚. 眼科学. 第 1 版. 北京:人民卫生出版社 2005:254
 - 18 Holopainen JM, Moilanen JA, Sorsa T, *et al.* Activation of matrix metalloproteinase-8 by membrane type 1-MMP and their expression in human tears after photorefractive keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(6):2550-2556