

基质金属蛋白酶及其组织抑制因子与后发性白内障

谢伟英, 徐国兴

基金项目: 中国国家自然科学基金资助项目 (No. 81070715); 中国福建省创新平台基金资助项目 (No. 2010Y2003)
作者单位: (350005) 中国福建省福州市, 福建医科大学附属第一医院眼科中心 福建省眼科研究所
作者简介: 谢伟英, 福建医科大学 2008 级眼科学硕士研究生, 主治医师, 研究方向: 晶状体与视网膜病。
通讯作者: 徐国兴, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 玻璃体视网膜病. zjfmuxgx@pub5. fz. fj. cn
收稿日期: 2011-05-26 **修回日期:** 2011-07-08

Matrix metalloproteinase and its tissue inhibitor in after cataract

Wei-Ying Xie, Guo-Xing Xu

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 81070715); Innovative Platform Foundation of Fujian Province China (No. 2010Y2003)
Fujian Institute of Ophthalmology; Eye Center, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China
Correspondence to: Guo-Xing Xu. Fujian Institute of Ophthalmology; Eye Center, the First Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350005, Fujian Province, China. zjfmuxgx@pub5. fz. fj. cn
Received: 2011-05-26 Accepted: 2011-07-08

Abstract

• Matrix metalloproteinases (MMPs) are a pivotal family of metal enzymes responsible for degradation of the extracellular matrix (ECM) components during cell migration, tissue remodeling and repairing processes, *et al.* The potent proteolytic activities of MMPs are mainly regulated by the balance with specific tissue inhibitors of MMPs (TIMPs). MMPs and TIMPs keep on relative balance and mutual influence in tissue, which decides whether the extracellular matrix (ECM) is degradation or aggregation. ECM not only supports the growth and proliferation of lens epithelial cells (LECs), but also promotes LECs proliferation, migration and adhesion and finally leads to posterior capsule opacification and fibrosis.

• **KEYWORDS:** matrix metalloproteinase; tissue inhibitor of matrix metalloproteinase; after cataract; extracellular matrix

Xie WY, Xu GX. Matrix metalloproteinase and its tissue inhibitor in after cataract. *Guoji Yanke Zazhi (Int J Ophthalmol)* 2011; 11 (8): 1373-1375

摘要

基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 是一类

金属依赖的水解酶家族, 是细胞外基 (extracellular matrix, ECM) 降解的主要介质, 其主要功能是降解细胞外基质, 在细胞迁移、组织重建和修复等病理生理过程中发挥作用。MMPs 的蛋白水解活性主要靠与其抑制剂 (tissue inhibitor of MMPs, TIMPs) 之间平衡来调节。组织中 MMPs 与 TIMPs 之间保持着相对平衡状态, 它们的平衡和相互影响决定着细胞外基质是降解还是聚集。ECM 不但可作为晶状体上皮细胞 (LECs) 生长增殖的支架, 而且还起促进 LECs 增殖、移行和黏附作用, 最终导致晶状体后囊膜的混浊和纤维化。

关键词: 基质金属蛋白酶; 基质金属蛋白酶抑制剂; 后发性白内障; 细胞外基质

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2011. 08. 019

谢伟英, 徐国兴. 基质金属蛋白酶及其组织抑制因子与后发性白内障. 国际眼科杂志 2011; 11 (8): 1373-1375

0 引言

后发性白内障 (after cataract) 又称后囊膜混浊 (posterior capsule opacification, PCO) 是白内障超声乳化或囊外摘除联合人工晶状体植入术后最常见的并发症, 也是导致术后视力再次下降的主要原因。PCO 的发生率在成人为 20% ~ 50%, 在儿童几乎为 100%^[1]。目前临床证实唯一有效治疗 PCO 的方法是 Nd: YAG 激光后囊膜切开术^[2], 但 YAG 激光治疗可能导致严重并发症, 术中可能损伤人工晶状体, 术后可能引起眼压升高、黄斑囊样水肿、视网膜脱离等, 而且也加重了患者的经济负担^[3]。因此, 如何预防 PCO 的发生已成为目前研究的热点^[4]。组织病理学已证实残留的前囊膜或赤道部晶状体上皮细胞增殖、向后囊移行并化生是 PCO 发生的主要原因, 多种生长因子、细胞外基质以及细胞凋亡是目前已知的主要分子生物学机制。MMPs/TIMPs 是决定 ECM 是降解还是聚集的最主要影响因素, 因此, MMPs/TIMPs 在 PCO 发生、发展中所起的作用也越来越受到人们的重视。本文就 MMPs/TIMPs 与 PCO 关系的研究作如下综述。

1 MMPs/TIMPs 的生物学特征

1.1 MMPs 生物学特征 MMPs 是一组基质金属蛋白酶, 是参与细胞外基质 (ECM) 降解的一类锌-钙离子依赖的内源性蛋白水解酶家族。因其需要 Ca^{2+} , Zn^{2+} 等金属离子作为辅助因子而得名, 是迄今为止发现的唯一能分解纤维类胶原的酶。MMPs 几乎能降解除多糖以外的所有 ECM 成分, 在生理病理过程中发挥着重要的作用, 而其天然抑制剂 TIMPs 能与 MMPs 成员结合成复合物抑制其活性^[5]。迄今为止发现的 MMPs 至少有 28 种, 在人体组织中, 共有 24 种^[6], 根据其作用底物的特性不同分为 6 类^[7]: (1) 胶原酶类。主要包括 MMP-1, MMP-8, MMP-13 和 MMP-18。它们能够降解间质胶原 (I, II, III 型胶原) 及其它种类 ECM。MMP-1 又称成纤维细胞型, 是人类主要的间质胶

原酶。(2)明胶酶类(gelatinases)。包括MMP-2(明胶酶A)及MMP-9(明胶酶B)。它们可降解明胶(变性胶原)和IV、V和XI型胶原、层粘连蛋白、蛋白聚糖等。(3)基质分解素(strogylinin)。主要包括MMP-3, MMP-10和MMP-11。底物广泛,包括蛋白多糖、层粘连蛋白、纤维连接蛋白、IV型胶原、明胶等。(4)基质溶解因子(matrilysins)。包括MMP-7及MMP-26。MMP-26能降解许多ECM成分,多储存在细胞内^[8]。(5)膜型金属蛋白酶MT-MMPs(membrane-type MMPs)。这一类特殊的蛋白酶,主要存在于细胞膜上,具有广泛的底物特异性。除了MT14-MMP之外,其它均能激活MMP-2酶原,这些酶能降解许多ECM分子。(6)其它种类的MMPs。包括MMP-12, 19, 20, 21, 23, 27, 28。MMP-12主要在巨噬细胞中表达,对于巨噬细胞的迁移起重要作用。MMP-23主要在一些再生性的组织中表达。MMP-12及MMP-19和MMP-20的主要底物为弹力蛋白、明胶、层粘连蛋白和IV型胶原。MMPs虽然种类各异,但都存在以下几个共同特征^[19]:它们都具有四个基本结构区;它们的活性都依赖于活性中心外锌的存在,中性的pH和Ca²⁺对其稳定性有一定的作用;均能够被其它蛋白激酶或有机汞剂激活;它们都以酶原形式分泌;酶原激活后其分子量减少约10kDa;酶原激活后能降解一种或几种ECM成分;各类MMPs的cDNA之间具有40%~50%的同源性,各种类型酶之间其结构具有高度的恒定性。

1.2 TIMPs的生物学特征 这是一组具有抑制MMPs功能的活性多肽,广泛分布于组织和体液中,可由成纤维细胞、上皮细胞、内皮细胞等产生,在ECM代谢的调节中起着非常重要的作用。目前共发现有4种TIMPs^[10],根据其发现的先后顺序依次命名为TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3和TIMP-4。其中TIMP-1, TIMP-2, TIMP-4为可溶性蛋白质分子;而TIMP-3是仅存在于ECM中、并与ECM紧密结合的不可溶性蛋白质分子^[11]。TIMPs有各自独立的基因表达,但四者氨基酸序列具有部分同源性,且都可与特定的活性MMPs通过非共价键结合成1:1复合物,抑制后者对ECM的降解,这种非共价键结合在生理条件下是可逆的。TIMP-1能被多种细胞因子诱导产生,是体内存在与作用最广泛的一种TIMPs。它能结合除14, 19以外的所有MMPs而使其活性减弱,可有效地抑制除MMP-2和膜型MMP外的大多数MMPs,是MMP-9活性的特异性抑制剂。TIMP-1和TIMP-2能够抑制所有已知的MMPs的活性,从而在维持生理状态下ECM的沉积降解平衡中起关键作用。TIMP-2是IV型胶原酶MMP-2的特异性抑制因子。TIMP-3是一种结合ECM的非可溶性蛋白,它能阻断转化的纤维细胞对ECM的黏附,促进细胞凋亡。

1.3 MMPs/TIMPs的结构 各种MMPs的cDNA序列具有同源性,编码四个蛋白结构区:(1)活性前区,具有信号肽作用。(2)前肽区,含有一个相当保守的“半胱氨酸开关”结构和两个高度保守区。(3)催化结构,该结构域含一个锌结合部位和一个固有的蛋氨酸结构,是酶由非活性状态转变成活性状态的关键部位。(4)类血凝素酶结合区域,该区调节MMPs前肽与TIMPs结合。TIMPs的结构有两个功能区:N-末端功能区为一大三环结构,其中的半胱氨酸残基为与MMPs锌离子活性中心结合的区域。C-末端功能区的研究相对较少,为一较小的三环结构,该功能区在TIMPs定位和与MMPs形成复合物方面有重要意义。

1.4 MMPs的活性调节 MMPs在机体内的表达,激活及其对底物的分解过程均受到严格的调控^[10],其调控包括酶基因表达水平,酶原激活程序以及酶活性抑制等3个方面^[12]:(1)MMPs的表达水平的调控:正常成人组织大多数MMPs表达水平很低,但在各种炎症细胞因子、激素、生长因子等作用下能促进或抑制MMPs-mRNA的转录。(2)MMPs的活性水平的调控:MMPs均以酶原的形式分泌,活化后才具有降解ECM的作用。纤维蛋白溶解酶是MMPs最强有力的生理性激活物^[13]。(3)MMPs的活性抑制物:激活的MMP可被普通的蛋白酶清除剂抑制,如 α -巨球蛋白,但主要被特异的TIMPs所抑制。TIMPs主要从两个方面抑制MMPs的激活,一方面在酶原活化阶段结合酶原避免无活性MMPs的激活。另一方面在活化的MMPs阶段可以形成MMPs-TIMPs复合物,阻断MMPs与底物结合,从而抑制MMPs活性。

2 MMPs/TIMPs与后发性白内障的关系

2.1 MMPs/TIMPs在正常晶状体中的表达 多数研究表明正常晶状体中有MT1-MMP的存在,而无MMPs和TIMPs的表达。Smine等^[14]利用Western blot在正常成人晶状体中没有发现MMP-2的存在,但证实了MT1-MMP的存在^[11]。Tamiya等^[15]利用酶谱分析法在正常猪晶状体的培养基中也发现了MT1-MMP的存在,但未测到明胶分解活动的存在。Richiert等^[16]利用明胶酶谱分析法在鸡晶状体前囊膜下细胞培养基中未发现MMP-2, MMP-9的存在。Kawashima等^[17]利用免疫组化法也没有在正常晶状体前囊膜中发现MMPs和TIMPs的表达。但因种属差异和检测手段的不同,一些研究得出了与以上不同的实验结果。John等^[18]利用酶谱分析法和Western blot在正常鼠晶状体培养基中未测到明胶分解活动的存在,但在未经培养的新鲜晶状体囊膜提取物中发现了MMP-2和MMP-9的存在,在晶状体纤维中未发现MMP-2的存在,却发现了MMP-9。Nitin等^[19]利用免疫组化法发现在成人正常晶状体中有相当低的MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9和TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3的表达,且定位在LECs中和皮质区内少量处于分化早期的纤维细胞中,而在其余大部分晶状体皮质和核内未发现MMPs和TIMPs的表达。Hodgkinson等^[20]认为在正常人晶状体中,MMPs的活性受到严格地调控,除了MT1-MMP和MT2-MMP在人晶状体前囊高表达外,正常人晶状体囊膜呈现出MMPs基因低表达而TIMPs基因高表达。总之,关于此方面的研究逐年增多,但结果并不完全一致,有待进一步研究。

2.2 MMPs/TIMPs在白内障术后的表达 Hodgkinson等^[20]研究认为白内障术后,在人晶状体囊膜中,除MMP-14和TIMP-2的基因表达下调外,其余的MMP和TIMP基因表达都升高,而且纤维连接蛋白(LN)和 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的表达也随之升高,表明MMP-14和TIMP-2在维持LECs的功能方面起了重要作用,而LN和 α -SMA基因上调则是成纤维化的重要特征。白内障囊外摘出术后,虹膜和晶状体囊膜均可表达MMPs和TIMPs^[17],这些因子进入前房而成为房水中的MMPs和TIMPs的重要来源。房水中MMPs的变化与白内障术后眼内炎症反应密切相关,推测MMPs可能是白内障术后眼内炎症的重要炎症介质之一^[21]。MMPs一旦被激活,其活性的控制有赖于局部TIMPs及其他非特异性蛋白抑制剂的浓度。Galís等^[22]研究发现MMPs升高时,TIMPs也明显增多,一方面

TIMPs 通过对 MMPs 的抑制以防止 MMPs 对组织的过度降解,另一方面 TIMPs 通过对 MMPs 的作用调控 ECM 代谢,有助于 ECM 在透明的后囊膜上沉积。ECM 不但可作为晶状体上皮细胞(LECs) 生长增殖的支架,而且还起促进 LECs 增殖、移行和黏附作用,最终导致晶状体后囊膜的混浊和纤维化。

2.3 MMPs/TIMPs 与后发性白内障的防治 近年来 MMPs/TIMPs 在晶状体上皮细胞 ECM 中的作用越来越受到重视,研究证明抑制白内障患者 MMPs 表达可有效防止白内障的发生,减轻症状。白内障术后,MMP-2,MMP-9 表达明显增加^[23],Wong 等^[24]发现 GM6001(一种广谱 MMPs 抑制剂)能使 MMP-2,MMP-9 产物的表达明显减少,减少 LEC 向后囊迁移,减轻囊膜混浊。Dwivedi 等^[25]将在 M199 培养基中培养后的 Wistar 大鼠的晶状体分别设立对照组、TGF- β 组和 TGF- β + GM6001 组,发现 TGF- β + GM6001 组和对照组晶状体透明,而 TGF- β 组的晶状体则表现出囊膜下混浊,也说明了 GM6001 能抑制 TGF- β 诱导的囊膜下白内障的形成。Awasthi 等^[26]研究表明蛋白酶抑制剂 MG132 能分别通过抑制 FGF-2,HGF,MMP-2,MMP-9 和 TGF- β 2 的活性来阻止白内障术后残余的 LECs 的增殖、迁移和转分化,从而阻止 PCO 的发生。以上实验证明 MMPs 抑制剂在治疗后囊膜混浊中能起到重要作用。Awasthi 等^[26]认为很多药物被用于防治 PCO,但没有一种被临床证明是有效的,这里面很大部分原因是因为这些药物在针对 LECs 产生作用的同时也对眼球其它组织产生有害影响。Maloo 等^[27]设计出一种囊膜优化装置,能使对眼内其它组织有毒药物在囊膜内释放,从而有选择性地针对残留的 LECs,避免对眼内其它组织产生有害影响。

3 小结

ECM 在胚胎的形态发生、细胞的黏着与铺展、细胞的增殖与分化等过程中均起着十分重要的作用。作为降解 ECM 成分最重要的酶,MMPs 及其组织抑制因子在这一过程中起着非常重要的作用。MMPs/TIMPs 的动态平衡破坏可以促进术后 ECM 在后囊沉积,进而诱导 LECs 移行、黏附,在后囊膜混浊的形成中起重要的作用。进一步研究 MMPs/TIMPs 对 LECs 的调控并寻求有效的药物控制,将对 PCO 的防治起到积极的作用。

参考文献

- 1 Sehaunberg DA, Dana MR, Christen WG, et al. A systematic overview of the incidence of posterior capsule opacification. *Ophthalmology* 1998;105(7):1213-1221
- 2 Awasthi N, Guo S, Wagner BJ. Posterior capsular opacification, a problem reduced but not yet eradicated. *Arch Ophthalmol* 2009;127(4):555-562
- 3 Aslam TM, Devlin H, Dhillon B. Use of Nd:YAG laser capsulotomy. *Surv Ophthalmol* 2003;48(6):594-612
- 4 Yang JS. Clinical analysis of Nd:YAG laser in the treatments of after-cataract. *Int J Ophthalmol(Guoji Yanke Zazhi)* 2006;6(1):188-190
- 5 Roderfeld M, Hemmann S, Roeb E. Mechanisms of fibrinolysis in chronic liver injury (with special emphasis OR MMPs and TIMPs). *Z Gastroenterol* 2007;45(1):25-33
- 6 Iyer S, Wei S, Brew K, et al. Crystal structure of the catalytic domain of matrix metalloproteinase-1 in complex with the inhibitory domain of tissue inhibitor of metalloproteinase-1. *J Biol Chem* 2007;282(1):364-371
- 7 Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovascular Res* 2006;69(3):562-573
- 8 Marchenko ND, Marehenko GN, Weinreb RN, et al. Beta-catenin

regulates the gene of MMP-26, a novel metalloproteinase expressed both in carcinomas and normal epithelial cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36(5):942-956

- 9 Camev DE, McCann UG, Schiller HJ, et al. Metalloproteinase inhibition prevents acute respiratory distress syndrome. *Surg Res* 2001;99:245-252
- 10 Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Cite Res* 2003;92(8):827-839
- 11 Yu WH, Yu S, Meng Q, et al. TIMP-3 binds to sulfated glycosaminoglycans of the extracellular matrix. *J Biol Chem* 2000;275(40):31226-31232
- 12 Ferrans VJ. New insights into the world of matrix metalloproteinases. *Circulation* 2002;105(4):405-407
- 13 Kitaura-Ikenaga K, Hara M, Higuchi K, et al. Gene expression of cardiac mast cell chymase and tryptase in a murine model of heart failure caused by viral myocarditis. *Circ J* 2003;67(10):881-884
- 14 Smine A, Plantner JJ. Membrane type-1 matrix metalloproteinase in human ocular tissues. *Curr Eye Res* 1997;16(9):925-929
- 15 Tamiya S, Wormstone IM, Marcantonio JM, et al. Induction of matrix metalloproteinases 2 and 9 following stress to the lens. *Exp Eye Res* 2000;71(6):591-597
- 16 Richiert DM, Ireland ME. Matrix metalloproteinases secretion is stimulated by TGF-beta in cultured lens epithelial cells. *Curr Eye Res* 1999;19(3):269-275
- 17 Kawashima Y, Saika S, Miyamoto T, et al. Matrix metallo-proteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases of fibrous humans lens capsules with intraocular lenses. *Curr Eye Res* 2000;21(6):962-967
- 18 John M, Jaworski C, Chen Z, et al. Matrix metalloproteinases are down-regulated in rat lenses exposed to oxidative stress. *Exp Eye Res* 2004;79(6):839-846
- 19 Nitin HS, Nick DG, Timothy MN, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases in the human lens: implications for cortical cataract formation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:4075-4082
- 20 Hodgkinson LM, Duncan G, Wang L, et al. Differential gene expression of the MMPs and TIMPs in the adult human lens capsular bag after cataract. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48:5644
- 21 Steinmann NK, Ziswiler R, Kung M, et al. Inhibition of matrix metalloproteinases attenuates anti-Thy-1, II nephritis. *Am Soc Nephrol* 1998;9:397-407
- 22 Galis ZS, Sukhova GK, Libby P. Microscopic localization of active proteinases by in situ zymography: detection of matrix metalloproteinase activity in vascular tissue. *Faseb J* 1995;9(10):974-980
- 23 Miettinen PJ, Ebner R, Lopez AR, et al. TGF-beta induced transdifferentiation of mammary epithelial cells to mesenchymal cells: involvement of type I receptors. *J Cell Biol* 1994;127(6 Pt 2):2021-2036
- 24 Wong TT, Daniels JT, Crowston JG, et al. MMP inhibition prevents human lens epithelial cell migration and contraction of the lens capsule. *Br J Ophthalmol* 2004;88(7):868-872
- 25 Dwivedi DJ, Pino G, Bznh A, et al. Matrix metalloproteinase inhibitors suppress transforming growth factor-beta-induced subcapsular cataract formation. *J Phthal* 2006;168(1):69-79
- 26 Awasthi N, Wang-Su ST, Wagner BJ. Downregulation of MMP-2 and-9 by proteasome inhibition: a Possible mechanism to decrease LEC migration and prevent posterior capsular opacification. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:1998-2003
- 27 Maloo A, Neilson G, Milverton EJ, et al. Selective and specific targeting of lens epithelial cells during cataract surgery using sealed-capsule irrigation. *J Cataract Refract Surg* 2003;29(8):1566-1568