

Bcl-2 和 MMP-9 在翼状胬肉中的表达及意义

张丹娜¹, 杨桂芳², 刘钊臣¹

基金项目:湖北省卫生厅资助项目(No. JX5B17)

作者单位:¹(432100) 中国湖北省孝感市中心医院眼科;

²(430071) 中国湖北省武汉市, 武汉大学中南医院病理科

作者简介:张丹娜,女,主治医师,研究方向:眼表疾病。

通讯作者:杨桂芳,女,博士,教授,主任医师,硕士研究生导师。

guifangyang@yahoo.com.cn

收稿日期:2012-02-16 修回日期:2012-08-13

Expression and meaning of Bcl-2 and MMP-9 in pterygium

Dan-Na Zhang¹, Gui-Fang Yang², Zhao-Chen Liu¹

Foundation item: Hubei Provincial Health Department Funded Project(No. JX5B17)

¹Department of Ophthalmology, Xiaogan Centre Hospital, Xiaogan 432100, Hubei Province, China; ²Department of Pathology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China

Correspondence to: Gui-Fang Yang. Department of Pathology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China. guifangyang@yahoo.com.cn

Received:2012-02-16 Accepted:2012-08-13

Abstract

• ATM: To study the expression and the relationship of B-cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2) and matrix metalloproteinases-9 (MMP-9) in pterygium, and to provide the theory basis for the treatment of pterygium.

• METHODS: The expression of Bcl-2 and MMP-9 were detected in 76 cases with pterygium by immunohistochemical method and were compared with the normal conjunctiva epithelium in other 9 cases.

• RESULTS: The expression of Bcl-2 and MMP-9 was higher in pterygium than in normal conjunctiva epithelium ($P < 0.05$). The expression of Bcl-2 was related to that of MMP-9.

• CONCLUSION: The increase of Bcl-2 and MMP-9 are presented in pterygium, which may play an important role in the origin and development of pterygium.

• KEYWORDS: pterygium; immunohistochemical; B-cell lymphoma/leukemia-2; matrix metalloproteinases-9

Citation: Zhang DN, Yang GF, Liu ZC. Expression and meaning of Bcl-2 and MMP-9 in pterygium. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012;12(9):1729-1730

摘要

目的:研究翼状胬肉组织中 Bcl-2 和基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 的表达,以探讨 Bcl-2 和 MMP-9 表达与翼状胬肉之间的关系,为翼状胬肉的治疗提供理论依据。

方法:应用免疫组织化学法检测 76 例翼状胬肉组织中 Bcl-2 和 MMP-9 的表达,并与 9 例正常结膜组织进行比较。

结果:翼状胬肉组织中 Bcl-2 和 MMP-9 的表达均高于正常结膜组织。翼状胬肉组织中 Bcl-2 和 MMP-9 阳性表达间存在正相关 ($P < 0.05$)。

结论:Bcl-2 和 MMP-9 的高表达在翼状胬肉的发生和发展中起着重要作用。

关键词:翼状胬肉;免疫组化;Bcl-2;MMP-9

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2012.09.38

引用:张丹娜,杨桂芳,刘钊臣. Bcl-2 和 MMP-9 在翼状胬肉中的表达及意义. 国际眼科杂志 2012;12(9):1729-1730

0 引言

翼状胬肉表现为结膜下增生的纤维血管组织呈三角形自鼻侧浸及角膜,不仅影响美观,有异物感,而且当病变接近角膜瞳孔区时引起角膜散光或是直接遮挡瞳孔区引起视力下降,是眼科最为常见的眼表疾病,但其发病机制不十分清楚。本实验采用免疫组织化学方法比较正常结膜组织与翼状胬肉组织中基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinases-9, MMP-9) 和凋亡抑制基因 (B-cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2) 的表达差异,以进一步探讨翼状胬肉发生发展的机制。

1 对象和方法

1.1 对象 全部实验标本取自孝感市中心医院眼科 2008/2011 年手术切除标本。正常结膜 9 例,取自治疗性白内障手术的角巩膜缘球结膜;翼状胬肉 76 例,其中男 26 例,女 50 例,平均年龄 58 岁。

1.2 方法 标本经 10% 中性福尔马林固定,石蜡包埋,连续切片,片厚 4 μ m,常规 HE 染色。免疫组化采用 SP 法,抗原修复均行高压修复,具体步骤按说明书进行,DAB 显色,苏木素复染,PBS 返蓝,脱水,二甲苯透明封片观察。Bcl-2 及 MMP-9 阳性染色位于细胞浆内,阳性信号为黄色至棕黄色。每张切片随机选取 5 个不同高倍视野 ($\times 400$),计数 500 个细胞,根据阳性细胞数占所计数细胞的百分率分为:(1)阴性(-):阳性细胞数 $< 5\%$;(2)阳性(+):阳性细胞数 $> 5\%$ 。

统计学分析:使用 SPSS 13.0 软件,采用四格表法和 Pearson 相关分析进行统计,以 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 Bcl-2 和 MMP-9 蛋白在正常结膜及翼状胬肉中的表达 Bcl-2 在 9 例正常结膜中仅 1 例表达,阳性率为 11.11%;在 76 例翼状胬肉中,有 56 例阳性表达,阳性率为 73.68%,各层均有表达,主要分布于上皮层,尤其是上皮基底层(图 1),经统计学处理,两组有显著差异 ($P < 0.01$)。MMP-9 在 9 例正常结膜中 2 例表达,阳性率为 22.22%;在 76 例翼状胬肉中,有 58 例表达,阳性率为 76.32%,主要分布在血管内皮细胞(图 2A)和间质的纤

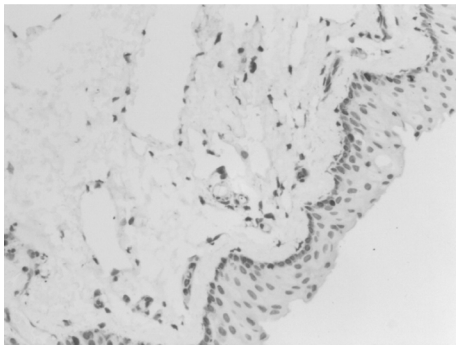


图1 Bcl-2在翼状胬肉中的表达(SP×400)。

纤维母细胞胞浆中(图2B),经统计学处理,两者有统计学差异($P < 0.05$)。

2.2 Bcl-2与MMP-9在翼状胬肉中表达的相互关系

经 Pearson 相关分析: Bcl-2与MMP-9在翼状胬肉中的表达呈正相关($P < 0.05$,表1)。

3 讨论

原癌基因 Bcl-2 家族是目前用来研究细胞凋亡常用的一类调控基因。Bcl-2 家族包括 Bax, Bcl-2, Bak 和 Bcl-xl 四个家族分子。其中 Bcl-2 基因是目前已知作用最强的凋亡抑制基因,大量存在线粒体外膜上,其作用是维护线粒体膜的完整性和正常的生理通透性^[1]。Bcl-2 与 Bax 是 Bcl-2 家族中功能相反的两个重要成员,二者的比例决定着细胞的存亡^[2]。Bcl-2 抑制凋亡需与 Bax 形成异源二聚体来实现,若 Bcl-2 水平增高使细胞无法平衡 Bax 促凋亡的作用,从而抑制细胞凋亡。有研究表明^[3],Bax 在正常结膜与翼状胬肉的表达中无差异性。本实验中 Bcl-2 在翼状胬肉组织中的表达明显高于正常结膜组织,且在各层均有表达,多见于上皮层尤其是基底层,可见在翼状胬肉中凋亡抑制基因的启动以及异常增殖并非组织自身平衡效应,而是受刺激后产生的病理反应。我们可以推测,由于紫外线照射、风沙、粉尘等的刺激引起正常球结膜的蛋白变性及细胞因子的异常分泌直接或间接通过某种信号启动凋亡抑制基因,使得上皮基底细胞正常的凋亡受到抑制,同时外界的刺激及其分泌的细胞因子引起大量的细胞增生,基质金属蛋白酶(MMPs)的高表达,溶解上皮基底膜中的胶原蛋白,增强了向角膜侵袭的能力^[4]。

MMPs 是一类参与细胞外基质降解的内源性水解酶,其中 MMP-9 属于明胶酶 B,能降解明胶、IV型胶原(基质膜)、V型胶原、VII型胶原、纤维连接蛋白和弹性蛋白,参与炎症、组织损伤和修复等多种病理过程^[5]。本实验中 MMP-9 在翼状胬肉组织的表达强度也高于正常对照组。并且显示 MMP-9 在翼状胬肉组织的各层均有表达,主要表达在血管内皮细胞和间质的纤维母细胞胞浆中,提示在翼状胬肉的生成和发展过程中,一方面纤维母细胞中的 MMP-9 降解了基质中的胶原纤维,促使胶原纤维的崩解致使细胞侵入^[6],已有研究表明 MMP-9 不仅可以破坏IV型、V型胶原,还可以破坏突变的胶原,最终导致胶原的完全破坏、细胞侵入^[7];另一方面 MMP-9 促使新生血管的生成为翼状胬肉的发展提供了必要的营养供应。有研究表明,MMP-9 具有调节微环境及血管生长的作用,血管的发生极大地依赖于 MMPs 的活性^[8]。

本实验中 Bcl-2 和 MMP-9 呈正相关,我们可以推测正常结膜受到外界因素的刺激后启动凋亡抑制基因如 Bcl-2,使得上皮基底细胞的正常凋亡受到抑制。并有

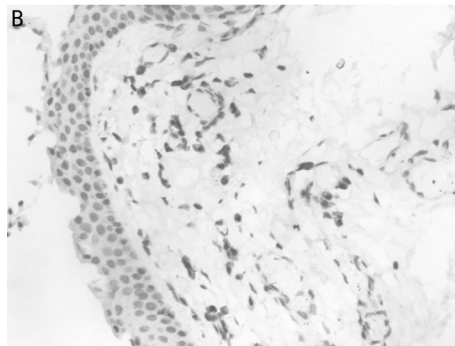
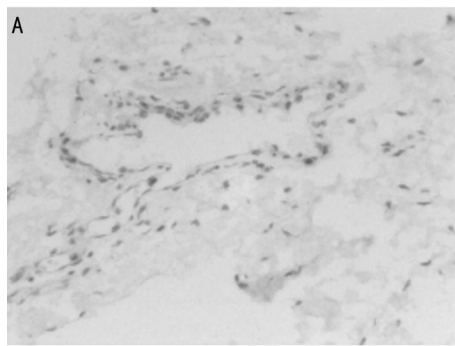


图2 MMP-9在翼状胬肉中的表达 A:位于血管内皮细胞(SP×100);B:位于间质的纤维母细胞胞浆(SP×400)。

表1 Bcl-2与MMP-9在翼状胬肉中表达的相互关系 例

MMP-9	Bcl-2		合计
	+	-	
+	47	11	58
-	9	9	18
合计	56	20	76

MMPs 如 MMP-9 等产物的出现使得基质中胶原纤维溶解,为翼状胬肉组织的入侵提供了场地;加之如 MMP-9 等产物促使新生血管的形成又为翼状胬肉提供了必要的营养保障,使得翼状胬肉呈高增殖状态。因此,我们认为在翼状胬肉的发生和发展中是细胞的异常凋亡和失控性增生的共同作用。进一步研究如何对细胞凋亡和增殖进行有效调控,对翼状胬肉的预防、治疗及防止术后复发有重要的研究价值。

参考文献

- 张泳,刘红学.人胚胎心肌组织发育过程中Cx43和Bcl-2蛋白表达的研究.解放军医学杂志2010;35(2):201-203
- Chen T, Li M, Zhang R, et al. Dihydroartemisinin induces apoptosis and sensitizes human ovarian cancer cells to carboplatin therapy. *J Cell Mol Med* 2009;13(7):1358-1370
- 郑卫国,徐国兴,胡建章,等.翼状胬肉中细胞增殖与凋亡相关基因蛋白的表达及其意义.中国实用眼科杂志2003;21(9):649-651
- 姚静艳,陆培荣,沈伟,等. MMP-8在翼状胬肉中的表达.国际眼科杂志2006;6(3):623-625
- 曾军,姜德咏,刘湘平,等.基质金属蛋白酶在翼状胬肉真的表达.眼科学报2004;22(5):511
- Schellini SA, Hoyama E, Oliveira DE, et al. Matrix metalloproteinase-9 expression in pterygium. *Arq Bras Oftalmol* 2006;69(2):161-164
- Moon HI, Chung GH. The effect of erythrodiol-3-acetate on the expression of matrix metalloproteinase-9 caused by ultraviolet-irradiated human keratinocyte cells. *Ethnopharmacol* 2005;21(6):85-93
- Seandel M, Noack-Kunmann K, Zhu D, et al. Growth factor induced angiogenesis *in vivo* requires specific cleavage of fibrillar type I collagen. *Blood* 2001;97(8):2323-2332