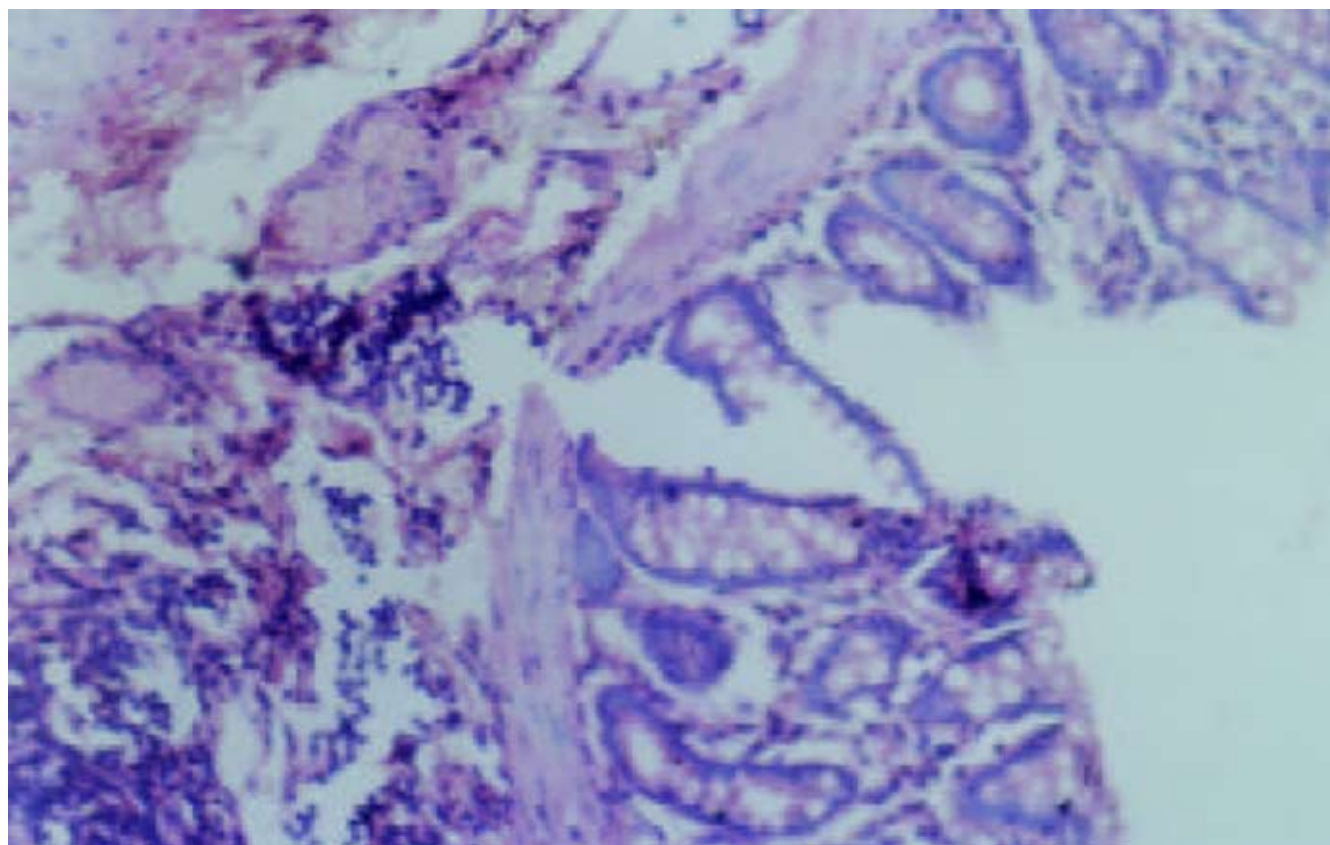


# 世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

2004 年 2 月 15 日 第 12 卷 第 2 期 (Volume 12 Number 2)



**2/2004**

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,  
2003年百种中国杰出学术期刊,  
《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学  
类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊.  
世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,  
荷兰《医学文摘库/医学文摘》,  
俄罗斯《文摘杂志》收录.

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2004 年 2 月 15 日 第 12 卷 第 2 期 (总第119期)

|       |   |
|-------|---|
| 述 评   | 253 肝炎病毒蛋白对肝细胞基因组转录调节及信号转导机制的影响 成军  |
| 胃 癌   | 258 胃癌线粒体DNA拷贝量的变化 韩琤波, 李凡, 杨雪飞, 毛晓韵, 吴东瑛, 辛彦<br>262 胃癌前病变p21 <sup>ras</sup> , c-erbB-2, p53表达与中医证候的关系 胡玲, 劳绍贤<br>266 胃癌淋巴结转移预测的多因素分析 黄宝俊, 徐惠绵, 赵雨杰, 王天骄, 田大彤, 陈峻青  |
| 肝 癌   | 271 人鼠嵌合Fab抗体通用表达载体的构建和抗人肝癌相关抗原HAb18G嵌合Fab抗体的表达<br>邢金良, 杨向民, 张思河, 姚西英, 梁瑞安, 陈志南<br>276 肝癌细胞H <sub>22</sub> 与树突状细胞杂交瘤苗的实验研究<br>张娟, 张锦堃, 卓少宏<br>280 肝细胞癌hOGG1 mRNA及其蛋白的表达<br>周秀敏, 林菊生, 章金艳, 张莉, 周鹤俊<br>283 小鼠AFP-CTLA4融合蛋白真核表达载体的构建及鉴定 田耕, 易继林  |
| 病毒性肝炎 | 286 丙型肝炎病毒核心蛋白结合视黄醇脱氢酶11蛋白<br>成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟<br>291 丙型肝炎病毒非结构蛋白5A结合蛋白37小鼠同源基因的克隆化及结构分析<br>成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟<br>298 新生儿HBe Ag在HBV宫内感染中的作用 邵中军, 门可, 徐剑秋, 徐德忠, 闫永平, 张景霞<br>302 应用抑制性消减杂交技术筛选TAHCCP2的反式调节基因<br>王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 纪冬, 党晓燕, 徐志强, 王春花<br>306 基因表达谱芯片筛选NS5ATP3转染细胞差异表达基因<br>刘妍, 杨倩, 成军, 王建军, 纪冬, 党晓燕, 王春花<br>311 基因表达谱芯片技术筛选NS5A-TP4蛋白反式调节基因<br>杨倩, 成军, 刘妍, 王建军, 洪源, 张树林<br>315 HCV包膜糖蛋白E2基因的克隆、蛋白表达及纯化 杜德伟, 贾战生, 秦鸿雁, 刘秋平, 周永兴, 韩 骅<br>319 应用表达谱芯片技术对NS5ATP7反式调节基因的研究<br>张健, 刘妍, 成军, 王琳, 邵清, 梁耀东, 李强, 刘 敏<br>323 应用表达谱芯片技术筛选NS5ATP9反式调节基因的研究<br>李强, 梁耀东, 成军, 王琳, 王建军, 张健, 刘妍, 程明亮<br>327 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒反式调节靶基因的抑制性消减杂交和基因芯片分析结果的比较<br>成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩, 王琳<br>332 多对型特异性引物巢式PCR检测湖南省乙肝病毒基因型 温志立, 谭德明 |
| 基础研究  | 336 人肝素酶基因正反义腺病毒表达载体的构建及鉴定<br>蔡永国, 房殿春, 杨仕明, 罗元辉, 杨孟华, 王东旭<br>339 正常与硬化肝组织基因表达差异的初步分析<br>刘连新, 陈志宏, 武林枫, 李宏伟, 刘芝华, 姜洪池, 王秀琴, 吴 旻<br>344 癌基因对大鼠肝卵圆细胞分化和转化的影响 廖 冰, 薛 玲, 何萍, 赵国强, 车丽洪<br>347 中药抗纤软肝颗粒抑制PDGF诱导的肝星状细胞MEK-1和Ic-fos表达<br>杨 玲, 朱清静, 笪邦红, 张赤志   |

|      |   |
|------|---|
|      | <p>351 实验性肝硬化大鼠小肠血红素氧合酶的表达 田德安, 周晓黎</p> <p>355 胃黏膜保护剂预防幽门螺杆菌培养上清液所致小鼠胃黏膜损伤 崔梅花, 胡伏莲, 董欣红</p> <p>359 结肠充气CT对检测大肠肿瘤的敏感性和特异性 王毅, 龚水根, 张伟国, 陈金华, 张连阳, 陈金萍</p> <p>363 胃溃疡大鼠胃泌素、生长抑素和GD细胞的变化 孙凤莲, 宋于刚, 覃汉荣</p> <p>367 当归多糖对大鼠乙酸性结肠炎的保护作用 刘少平, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平, 吴东方</p> <p>371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响 周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球</p>   |
| 临床研究 | <p>376 恶性腹水基质金属蛋白酶活性分析 孙晓敏, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平</p> <p>379 慢性浅表性胃炎脾胃湿热证与水通道蛋白4蛋白表达的关系<br/>周正, 劳绍贤, 黄志新, 张向菊, 黄烈平, 匡忠生</p> <p>382 肠易激综合征患者肠黏膜肥大细胞的变化 王静, 梁列新, 张志雄, 李国华, 钱伟, 侯晓华</p> <p>385 MRI评估肝硬化再生结节和退变结节 徐海波, 孔祥泉, 熊茵, 冯敢生</p>  |
| 焦点论坛 | <p>390 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例<br/>冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒</p> <p>391 乙型肝炎病毒DNA聚合酶末端蛋白研究进展 陈国凤, 成军, 张玲霞, 李莉</p> <p>393 乙型肝炎病毒DNA 多聚酶P结构域研究进展 陈国凤, 成军, 王琳, 张玲霞, 李莉</p> <p>397 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对转录因子ATF-1的调节<br/>王春花, 成军, 郎振为, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕</p> <p>401 乙型和丙型肝炎病毒与胱冬肽酶3的关系 纪冬, 成军, 王建军, 刘妍, 杨倩, 党晓燕, 王春花</p> <p>403 乙型和丙型肝炎病毒对转录因子Nur77的调节 成军</p> <p>406 乙型肝炎病毒和丙型肝炎病毒对层粘连蛋白表达的调节 王建军, 成军, 刘妍, 杨倩, 纪冬, 王春花</p> <p>408 转录因子C/EBPb的生物学功能 成军</p> <p>412 活性氧簇与肝炎病毒的关系 梁耀东, 成军, 吴君, 程明亮</p> <p>414 趋化因子与病毒性肝炎的关系 陆荫英, 成军, 张玲霞</p> <p>417 病毒性肝炎发病机制中环氧合酶的作用 刘敏, 成军, 张树林</p> |
| 文献综述 | <p>420 乙型肝炎病毒DNA整合的机制及后果 成军</p> <p>428 基质金属蛋白酶及其抑制物与实验性肝纤维化 郑伟达, 王小众</p> <p>432 建议将亚临床型肝性脑病更名为轻微型肝性脑病 贾林</p> <p>434 右叶部分肝移植临床解剖进展 刘静, 高毅, 钟世镇</p> <p>439 肝素酶: 抗肿瘤转移的新靶点 陈陵, 杨仕明, 房殿春, 王东旭</p> <p>443 肠道上皮特异性基因CDX2 宋艳, 李凌</p> <p>446 细胞凋亡与肝移植免疫耐受 刘静, 汪爽, 高毅, 孙尔维</p> <p>450 自身免疫性肝炎诊断与治疗 欧强, 谭德明</p> <p>454 VEGF在肝癌中作用 邓靖宇, 何生</p>   |
| 研究快报 | <p>459 胰腺癌组织中COX-2和Bcl-2蛋白的表达及其意义<br/>刘希双, 李玉军, 田宇彬, 张翠萍, 孙显路, 魏良洲, 薛会光, 刘思良</p> <p>461 3种富集胃癌患者外周血中胃癌细胞方法的比较 陈健, 郭俊明, 金之瑾, 肖丙秀</p> <p>464 肠缺血再灌注对小肠屏障、吸收、通透和传输功能的影响 黎君友, 孙丹, 吕艺, 晋桦, 胡森, 盛志勇</p> <p>467 MUC5AC蛋白在大肠肿瘤中的表达及意义 卜晓东, 李俐, 黄培林, 樊克武, 赵建华</p> <p>469 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒</p> <p>471 肛管直肠原发性恶性黑色素瘤临床病理特点 赵尔增, 张建中, 岳茂兴</p> <p>473 细胞周期蛋白D1 RT-PCR ELISA的建立及其初步应用<br/>陈兵, 张雪, 府伟灵, 常杭花, 刘为纹, 徐采朴, 史景泉</p> <p>476 胃肠激素与不同类型反流所致食管炎的相关性 王雯, 李兆申, 许国铭, 张志坚, 林克荣</p> <p>477 尼美舒利对结肠癌细胞ICAM-1 mRNA表达的影响 刘伟, 张超</p>                  |

## 临床经验

- 480 腹腔镜次/全结肠切除术治疗结肠慢传输性便秘4例 张连阳, 刘宝华, 陈金萍, 文亚洲
- 481 内镜下氩离子凝固术治疗胃肠息肉 毛振彪, 黄介飞, 陆静娴, 俞智华, 倪润洲
- 483 肝硬化门脉系统食管侧支血流动力学与血浆内皮素的关系 肖际东, 李瑞珍, 周平, 朱文晖
- 485 大黄与促肝细胞生长素联合治疗重型肝炎 黄以群, 林珍辉, 纪树梅, 王喻, 王崇国
- 487 5 km长跑对新兵胆囊排空及胃肠激素的影响 李小丽, 郝悦, 杨凤江, 邹勤, 李智力, 李晓春
- 488 药物性肝病41例 苏淑慧, 王春平, 李迎新, 冯永毅
- 490 数字化成像结肠双对比造影检查345例 何发清, 官泳松, 王小林, 郭兵文, 孙龙
- 492 胃十二指肠隐匿性穿孔的诊断与治疗4例 詹世林, 吴良平, 蒲森水
- 494 胃癌及癌前病变中胃黏膜上皮细胞增生及凋亡相关基因蛋白表达 孟华, 刘丽娜, 吕申
- 497 胃十二指肠疾病与幽门螺杆菌感染的相关性分析 周惠萌, 范欣敏
- 499 原发性胆汁性肝硬化37例临床分析 董正芳, 程留芳
- 501 射频消融联合局部热化疗治疗特殊部位肝脏恶性肿瘤 田伏洲, 陈涛, 蔡忠红, 陈琪
- 503 卵巢巨大巧克力囊肿误诊为结核性腹膜炎7 a 1例 冯莉娟, 张桂英, 陈凤英, 晏仲舒

## 封面故事

- 371 达纳康对大鼠溃疡性结肠炎细胞因子的影响  
周燕红, 于皆平, 何小飞, 余细球 世界华人消化杂志 2004; 12(2): 371-375  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v12/i2/371.htm>

## 国际会议

- 13th United European Gastroenterology Week, UEGW  
October 15-20, 2005
- American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting  
October 28-November 2, 2005
- ISGCON 2005  
November 11-15, 2005  
[isgcon2005@yahoo.co.in](mailto:isgcon2005@yahoo.co.in)  
[www.isgcon2005.com](http://www.isgcon2005.com)
- Advanced Capsule Endoscopy Users Course  
November 18-19, 2005  
[www.asge.org/education](http://www.asge.org/education)
- II Latvian Gastroenterology Congress  
November 29, 2005  
[gec@stradini.lv](mailto:gec@stradini.lv)  
[www.gastroenterologs.lv](http://www.gastroenterologs.lv)
- 2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases  
December 1-3, 2005  
[c.chase@imedex.com](mailto:c.chase@imedex.com)  
[www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm](http://www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm)
- 10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus  
February 22-25, 2006  
[isde@sapmea.asn.au](mailto:isde@sapmea.asn.au)  
[www.isde.net](http://www.isde.net)

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名  
陈可冀 题写版权刊名  
(半月刊)

创刊 1993-01-15  
改刊 1998-01-25  
出版 2004-02-15  
原刊名 新消化病学杂志

名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生

编辑部主任 张海宁 中文编辑 潘伯荣 张海宁

英文编辑 张海宁 排版校对 张敏 张勇 李琪

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会  
030001, 山西省太原市双塔西街77号

出版 世界胃肠病学杂志社  
100023, 北京市2345信箱  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

电话: 010-85381901  
传真: 010-85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内: 北京报刊发行局  
国外: 中国国际图书贸易总公司  
(100044, 北京市399信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部  
(100023, 北京市2345信箱)  
电话: 010-85381901  
传真: 010-85381893

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊. 世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录.

### 特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

2005年版权归世界胃肠病学杂志社所有

ISSN 1009-3079  
CN 14-1260/R

邮发代号  
82-262

国外代号  
M 4481

国内定价  
每期24.00元 全年576.00元

广告经营许可证  
1401004000050

[www.wjgnet.com](http://www.wjgnet.com)

# 恶性腹水基质金属蛋白酶活性分析

孙晓敏, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平

孙晓敏, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平, 武汉大学人民医院消化内科  
湖北省武汉市 430060  
孙晓敏, 女, 1971 年生, 河南省洛阳市人, 汉族. 武汉大学人民医院硕士研究生, 主治医师. 主要从事消化道肿瘤的研究.  
湖北省自然科学基金资助项目, No. 99J163  
项目负责人: 董卫国, 430060, 湖北省武汉市, 武汉大学人民医院消化内科.  
dongwg@public.wh.hb.cn  
电话: 027-88041911 传真: 027-88042292  
收稿日期: 2003-05-14 接受日期: 2003-06-02

## Matrix metalloproteinase activity in malignant ascites

Xiao-Min Sun, Wei-Guo Dong, Bao-Ping Yu, He-Sheng Luo,  
Jie-Ping Yu

Xiao-Min Sun, Wei-Guo Dong, Bao-Ping Yu, He-Sheng Luo, Jie-Ping Yu,  
Department of Gastroenterology, Wuhan University Renmin Hospital,  
Wuhan 430060, Hubei Province, China  
Supported by Natural Science Foundation of Hubei Province, No. 99J163  
Correspondence to: Dr. Wei-Guo Dong, Department of Gastroenterology,  
Wuhan University Renmin Hospital, Wuhan 430060, Hubei Province  
China. dongwg@public.wh.hb.cn  
Received: 2003-05-14 Accepted: 2003-06-02

## Abstract

**AIM:** To explore the relationship between matrix metalloproteinase and malignant ascites.

**METHODS:** A total of 67 patients, 38 male and 29 female, including cirrhotic ascites (36 cases), tuberculous ascites (8 cases) and malignant ascites (23 cases) were collected and studied in the following experiment. The matrix metalloproteinase activity was detected by gelatin zymography.

**RESULTS:** The activity of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase -9 could not be detected in ascites of hepatic cirrhosis and tuberculous peritonitis but could be detected in 87.0% and 78.3% of malignant ascites ( $n=23$ ) respectively. Furthermore, the activity of MMP-2 was higher than that of MMP-9 ( $0.01 < P = 0.022 < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The detection of matrix metalloproteinase activity is useful in differential diagnosis between benign and malignant ascites. Matrix metalloproteinase may be related to the formation of malignant ascites.

Sun XM, Dong WG, Yu BP, Luo HS, Yu JP. Matrix metalloproteinase activity in malignant ascites. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(2):376-378

## 摘要

**目的:** 初步探讨基质金属蛋白酶与恶性腹水的关系。

**方法:** 收集腹水患者 67 例, 男 38 例, 女 29 例. 肝硬化腹水 36 例, 结核性腹水 8 例, 恶性腹水 23 例. 用明胶酶谱

法测定基质金属蛋白酶活性。

**结果:** 肝硬化腹水、结核性腹水不能检出基质金属蛋白酶-2, -9(MMP-2, -9)活性, 而恶性腹水 MMP-2 检出率为 87.0%, MMP-9 检出率为 78.3%, 且 MMP-2 活性高于 MMP-9 活性( $0.01 < P = 0.022 < 0.05$ ).

**结论:** 基质金属蛋白酶活性检测对于良、恶性腹水的鉴别诊断有重要价值, 他可能与恶性腹水形成有关。

孙晓敏, 董卫国, 余保平, 罗和生, 于皆平. 恶性腹水基质金属蛋白酶活性分析. *世界华人消化杂志* 2004;12(2):376-378

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/376.asp>

## 0 引言

腹水是一种常见的临床表现, 可由多种疾病引起. 不同疾病引起的腹水, 其治疗和预后迥然不同, 故良、恶性腹水的鉴别诊断一直是学者们关注的主要课题. 腹水中找到肿瘤细胞乃是确诊恶性腹水的一种迅速、可靠、经济的方法, 但由于其受经验、技术条件及细胞数量的限制, 对相当数量恶性腹水难以做出定性诊断. 近年来, 越来越多的研究表明, 基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP), 尤其是基质金属蛋白酶-2 (MMP-2) 和基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 与多种肿瘤生长、浸润、转移密切相关<sup>[1-5]</sup>. 我们通过明胶酶谱法测定各种类型腹水中 MMP 活性, 旨在探讨其与恶性腹水的关系, 以期为临床腹水鉴别诊断及恶性腹水的治疗提供重要参考。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2002-07/2003-3 武汉大学人民医院、中南医院、湖北省肿瘤医院住院腹水患者 67 例, 男 38 例, 平均年龄 51 岁; 女 29 例, 平均年龄 49 岁. 肝硬化腹水 36 例, 结核性腹水 8 例, 恶性腹水 23 例(卵巢癌 8 例, 胃癌 6 例, 结肠癌 5 例, 肝癌 2 例, 胰腺癌 1 例, 原发性腹膜癌 1 例). 以上病例均经细胞学检查、病理活检、B 超及 CT 等确诊. 普通试剂由武汉大学医学院生化教研室提供. MMP 标准品 IV 型胶原酶为 Invitrogen 公司产品. MMP 特异性抑制剂邻菲罗林(1, 10-Phenanthroline)购于上海生物工程有限公司. 主要仪器: BIO-RAD 垂直电泳槽, 国产(上海)恒温孵育箱.

**1.2 方法** 常规腹腔穿刺抽取腹水 10 mL, 3 000 r/min 离心 15 min, 取上清液, 按每次用量分装后立即置 -70℃ 冰箱冻存待测, 同时测蛋白浓度. 明胶酶谱法测定

MMP 活性<sup>[6]</sup>: 将标本自 -70 °C 冰箱取出后置室温下解冻, 按每泳道 70  $\mu$ g 蛋白量处理标本(NS 稀释). 取处理后的标本 40  $\mu$ L 加蛋白处理液(100 mmol/L Tris-HCL pH 25 g/L SDS, 400 g/L 蔗糖, 0.5 g/L 溴酚兰)20  $\mu$ L, 置 37 °C 恒温水浴箱孵育 40 min. 制备 80g/L 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)为分离胶(含 1 g/L 明胶), 上覆 50 g/L 浓缩胶, 取孵育后的标本 20  $\mu$ L 上样, 20 mA 恒流电泳, 溴酚兰刚好逸出时停止电泳. 电泳结束后, 将凝胶依次置于洗脱液(25 g/L TritonX-100, 50 mmol/L Tris-HCL, 5 mmol/L CaCl<sub>2</sub>, 1  $\mu$ mol/L ZnCl<sub>2</sub>, pH 8.3)中振荡洗脱 2 次, 45 min/次; 漂洗液(不含 TritonX-100 的洗脱液)中振荡漂洗 2 次, 20 min/次, 以上操作均在 4 °C 进行. 接着, 将凝胶置于孵育液中(0.1 mol/L glycine, 50 mmol/L Tris-HCL, 5 mmol/L CaCl<sub>2</sub>, 1  $\mu$ mol/L ZnCl<sub>2</sub>, 0.5 mol/L NaCl, pH 8.3) 37 °C 恒温低速振荡孵育 60 h. 然后经染色液(750 mg/L 考马斯亮兰, 300 mL/L 甲醇, 100 mL/L 乙酸)染色 3 h, 用脱色液 A, B, C (浓度分别为甲醇 300、200、100 mL/L, 乙酸 100、100、50 mL/L)分别脱色 30 min, 1 h, 2 h, 直至显示 MMP 的蓝色背景上的负染带透亮清晰. 为证实所检出的负染带为具有活性的 MMP, 采用邻菲罗林(1, 10-phenanthroline)抑制试验<sup>[7]</sup>. 取各组标本, 加 2.5 mmol/L 1, 10-phenanthroline 观察结果, 以鉴定 MMP 的存在.

乳酸脱氢酶、腹水细胞学检查、血清综合指标(AFP, CEA, CA 系列)由本院检验科及病理科检测.

统计学处理 用 $\chi^2$ 检验及确切概率法进行统计学分析.

## 2 结果

同一份阳性标本加入 1, 10-phenanthroline 后, 电泳结果为阴性, 说明本实验所检测到的均为 MMP (图 1, 2). 用任意等级积分法对恶性腹水 MMP 活性进行半定量分析. 等级积分  $\pm$ : 条带弱但可检测到, 宽度小于 1.0 mm; 1+: 条带清晰可见, 宽度 1.0-1.5 mm; 2+: 条带清晰且亮, 宽度 1.5-3.0 mm. 肝硬化腹水、结核性腹水均未检出 MMP-2、MMP-9 (表 1, 图 1A). 恶性腹水 MMP-2 检出率为 87.0%, 活性积分为 1+ 以上占 80.0%; MMP-9 检出率为 78.3%, 活性积分为 1+ 以上占 44.4%; MMP-2 活性高于 MMP-9 活性(0.01<P=0.022<0.05); MMP-2 和 MMP-9 活性积分为 2+ 各有 3 例, 均为原发性腹膜癌 1 例, 卵巢癌 2 例(表 1, 图 2A). 电泳结果还发现, 在 36 例肝硬化腹水中有 6 例检出  $M_r$ <72 000 的 MMP, 而在 23 例恶性腹水中则检测出 7 例, 而且在有 MMP-2 表达的腹水中, 若同时有  $M_r$ <72 000 的 MMP 表达时, 则该例腹水 MMP-2 活性明显增强(表 1, 图 2A). 在 23 例恶性腹水中, MMP-2 阳性 20 例, 阳性率为 87.0%, 显著高于腹水常规检查(乳酸脱氢酶、腹水细胞学、血清综合指标)(P<0.01); MMP-9 阳性 18 例, 阳性率为

78.3%, 高于乳酸脱氢酶、腹水细胞学检查(P<0.05), 但与血清综合指标相比, 差异无显著性(P>0.05)(表 2).

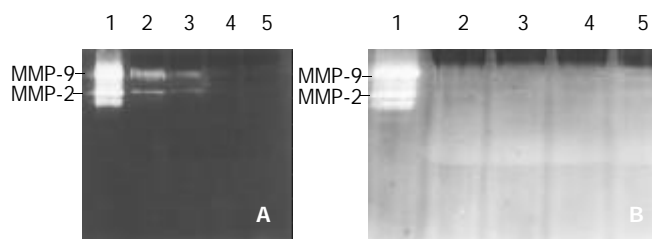


图 1 腹水 MMP 活性定性 SDS-PAGE 电泳图. A: 1: Marker; 2, 3: 恶性腹水; 4: 肝硬化腹水; 5: 结核性腹水. B: 加入 MMP 抑制剂后, 阳性标本电泳结果为阴性.

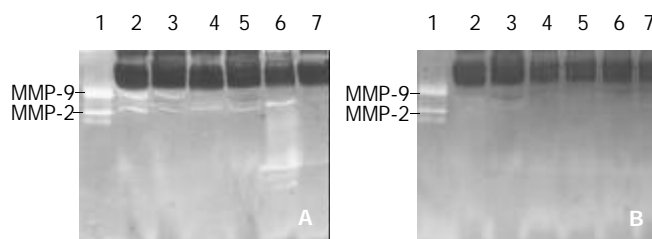


图 2 恶性腹水 MMP 活性定性 SDS-PAGE 电泳图. A: 1: Marker; 2-7: 恶性腹水(2, 3 可见 92 000、72 000 二条透亮带; 4, 5 仅见 72 000 一条透亮带; 6 除见 72 000 一条透亮带外, 尚可见<72 000 的一条透亮带; 7 仅见一条<72 000 的透亮带). B: 加入 MMP 抑制剂后, 电泳结果为阴性.

表 1 不同类型腹水 MMP 活性检测结果

| 组别     | n  | MMP-2 活性 |    |    | MMP-9 活性 |    |    | $M_r$ <72 000 |
|--------|----|----------|----|----|----------|----|----|---------------|
|        |    | $\pm$    | 1+ | 2+ | $\pm$    | 1+ | 2+ |               |
| 肝硬化腹水  | 36 | 0        | 0  | 0  | 0        | 0  | 0  | 6             |
| 结核性腹水  | 8  | 0        | 0  | 0  | 0        | 0  | 0  | 0             |
| 恶性腹水   | 23 | 4        | 13 | 3  | 10       | 5  | 3  | 7             |
| 胃癌     | 6  | 1        | 4  | 0  | 3        | 2  | 0  | 2             |
| 结肠癌    | 5  | 1        | 2  | 0  | 4        | 1  | 0  | 2             |
| 肝癌     | 2  | 1        | 1  | 0  | 0        | 1  | 0  | 1             |
| 胰腺癌    | 1  | 0        | 1  | 0  | 0        | 0  | 0  | 0             |
| 卵巢癌    | 8  | 1        | 5  | 2  | 3        | 1  | 2  | 2             |
| 原发性腹膜癌 | 1  | 0        | 0  | 1  | 0        | 0  | 1  | 0             |

表 2 MMP-2, MMP-9 与其他检测指标对恶性腹水的检出比较

|       | MMP-2    | MMP-9 | LDH 腹水/LDH 血清 | 腹水细胞学          | 血清综合指标 |
|-------|----------|-------|---------------|----------------|--------|
|       | (>1 为阳性) |       |               | (AFP, CEA, CA) |        |
| 阳性(n) | 20       | 18    | 10            | 11             | 13     |
| 阳性率   | 87.0%    | 78.3% | 43.4%         | 47.8%          | 56.5%  |

## 3 讨论

肿瘤细胞在侵袭转移过程中必须破坏由细胞间基质和基底膜组成的细胞外基质(extracellular maxtrix, ECM). 在参与破坏 ECM 的酶类中 MMP 是主要的直接作用者, 而其中 MMP-2( $M_r$ , 72 000)和 MMP-9( $M_r$ , 92 000), 又称 IV 型胶原酶或明胶酶 A 和明胶酶 B, 与肿瘤侵袭转移的关系最为密切. 因为, IV 型胶原酶不但可以酶



解细胞间基质成分,还能酶解基底膜主要成分IV型胶原。许多肿瘤组织、转移灶及肿瘤转移患者血清中IV型胶原酶表达明显增强<sup>[8-12]</sup>。然而,IV型胶原酶与恶性腹水的关系,目前国内外研究的还较少<sup>[13-14]</sup>。近期,有研究发现转移性乳腺癌患者尿液中<sup>[15-16]</sup>、脑肿瘤患者脑脊液中<sup>[17]</sup>MMP活性增高。但是,少见腹水中MMP活性检测的报道。

恶性腹水是恶性肿瘤腹膜侵袭和转移的结果,鉴于MMP与肿瘤浸润、转移的关联性,可推测恶性腹水中有望检测到MMP。本结果显示,肝硬化腹水、结核性腹水均未检测到MMP-2和MMP-9;恶性腹水MMP-2检出率为87.0%,显著高于腹水常规检查( $P < 0.01$ );MMP-9检出率为78.3%,高于乳酸脱氢酶、腹水细胞学检查( $P < 0.05$ ),这表明IV型胶原酶可作为良、恶性腹水的鉴别诊断指标。同时我们发现,恶性腹水MMP-2活性高于MMP-9活性( $P < 0.01$ ),这可能与不同组织来源恶性肿瘤MMP-2和MMP-9表达上的差异有关。另外,在我们的实验研究中4例原因不明腹水2例经腹膜活检确诊,1例为卵巢癌腹腔转移,1例为原发性腹膜癌,而这2例MMP-2、MMP-9活性检测均阳性,且活性积分均在1+以上;另2例通过胃镜及结肠镜分别确诊为胃癌和结肠癌腹腔转移,其MMP-2、MMP-9活性检测也均阳性,但活性较弱。以上实验结果提示腹水MMP-2、MMP-9活性在很大程度上反映肿瘤生物学行为,他的检测对于良、恶性腹水的定性诊断有重要价值,并有助于判断导致恶性腹水的肿瘤组织来源。

我们还发现,36例肝硬化腹水中6例检出 $M_r < 72\ 000$ 的MMP,而在23例恶性腹水中则检测出7例。而且,在有MMP-2表达的腹水中,若同时有 $M_r < 72\ 000$ 的MMP表达时,则该MMP-2活性明显增强。不排除该MMP为I型膜型MMP的可能性。有资料表明I型膜型MMP不仅本身具有降解ECM能力,而且能结合并激活MMP-2<sup>[18-19]</sup>,该实验结果支持“MT1-MMP结合并激活MMP-2”的观点。但其在不同性质腹水中表达的作用有待深入研究。

国外文献报道MMP-2在卵巢癌细胞腹膜内入侵中起明显作用<sup>[13]</sup>。另有研究发现基质金属蛋白酶抑制剂可消退恶性胸腹水<sup>[20-22]</sup>。我们发现肝硬化腹水、结核性腹水均不表达MMP-2和MMP-9;相反,大部分恶性腹水有MMP-2、MMP-9较高水平的表达,这些可推测MMP尤其是MMP-2、MMP-9与恶性腹水形成密切相关,从而为MMP抑制剂在恶性腹水中的应用提供了临床依据。

#### 4 参考文献

- 1 Waas ET, Lomme RM, DeGroot J, Wobbes T, Hendriks T. Tissue levels of active matrix metalloproteinase-2 and -9 in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2002;86:1876-1883
- 2 Kleiner DE, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases and

- metastasis. *Cancer Chemother Pharmacol* 1999;43(Suppl):S42-51
- 3 Ji F, Wang WL, Yang ZL, Li YM, Huang HD, Chen WD. Study on the expression of matrix metalloproteinase-2 mRNA in human gastric cancer. *World J Gastroenterol* 1999;5:455-457
- 4 蒋泽生,高毅. 基质金属蛋白酶的生物学特性及其在肝癌浸润转移中的作用. *世界华人消化杂志* 2000;8:1403-1404
- 5 Ellenrieder V, Alber B, Lacher U, Hendler SF, Menke A, Boeck W, Wagner M, Wilda M, Friess H, Buchler M, Adler G, Gress TM. Role of MT-MMPs and MMP-2 in pancreatic cancer progression. *In J Cancer* 2000;85:14-20
- 6 Kleiner DE, Stetler-Stevenson WG. Quantitative zymography: detection of picogram quantities of gelatinases. *Anal Biochem* 1994;218:325-329
- 7 Young TN, Rodriguze GC, Rinehart AR, Bast RC Jr, Pizzo SV, Stack MS. Characterization of gelatinases linked to extracellular matrix invasion in ovarian adenocarcinoma: purification of matrix metalloproteinase 2. *Gynecol Oncol* 1996;62: 89-99
- 8 Wang ZN, Xu HM. Relationship between collagen IV expression and biological behavior of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2000;6:438-439
- 9 郝远瑞,赵跃武,孔令非,银平章. 人肝细胞癌组织中MMP-2酶活性的变化. *世界华人消化杂志* 2000;8:952-953
- 10 Ylisirnio S, Hoyhtya M, Turpeenniemi-Hujanen T. Serum matrix metalloproteinase -2, -9 and tissue inhibitors of metalloproteinases-1, -2 in lung cancer-TIMP-1 as a prognostic marker. *Anticancer Res* 2000;20:1311-1316
- 11 Gohji K, Fujimoto N, Hara I, Fujii A, Gotoh A, Okada H, Arakawa S, Kitazawa S, Miyake H, Kamidono S, Nakajima M. Serum matrix metalloproteinase-2 and its density in men with prostate cancer as a new predictor of disease extension. *Int J Cancer* 1998;78:392-393
- 12 Torii A, Kodera Y, Uesaka K, Hirai T, Yasui K, Morimoto T, Yamamura Y, Kato T, Hayakawa T, Fujimoto N, Kito T. Plasma concentration of matrix metalloproteinase 9 in gastric cancer. *Br J Surg* 1997;84:133-136
- 13 Fishman DA, Bafetti LM, Banionis S, Kearns AS, Chilukuri K, Stack MS. Production of extracellular matrix-degrading proteinases by primary cultures of human epithelial ovarian carcinoma cells. *Cancer* 1997;80:1457-1463
- 14 Aslam N, Marino CR. Malignant ascites: new concepts in pathophysiology, diagnosis, and management. *Arch Intern Med* 2001;161:2733-2737
- 15 Moses MA, Wiederschain D, Loughlin KR, Zurakowski D, Lamb CC, Freeman MR. Increased incidence of matrix metalloproteinases in urine of cancer patient. *Cancer Res* 1998;58:1395-1399
- 16 张群,陈龙邦,藏静,褚晓源. 用酶谱电泳技术检测乳腺癌患者尿液基质金属蛋白酶. *南京大学学报* 2002;38:192-195
- 17 高芸,李新娜,李少一,宗志宏,王学荣,于秉治. 肿瘤患者脑脊液中基质金属蛋白酶活性表达的研究. *中国医科大学学报* 2000;29:10-12
- 18 Ohuchi E, Imai K, Fujii Y, Sato H, Seiki M, Okada Y. Membrane type 1 matrix metalloproteinase digests interstitial collagens and other extracellular matrix macromolecules. *J Bio Chem* 1997;272:2446-2451
- 19 Kinoshita T, Sato H, Takino T, Itoh M, Akizawa T, Seiki M. Processing of a precursor of 72-kilodalton type IV collagenase/gelatinase A by a recombinant membrane-type 1 matrix metalloproteinase. *Cancer Res* 1996;56:2535-2538
- 20 Beattie GJ, Smyth JF. Phase I study of intraperitoneal metalloproteinase inhibitor BB94 in patients with malignant ascites. *Clin Cancer Res* 1998;4:1899-1902
- 21 Parsons SL, Watson SA, Steele RJ. Phase I/II trial of batimastat, a matrix metalloproteinase inhibitor, in patients with malignant ascites. *Eur J Surg Oncol* 1997;23:526-531
- 22 Macaulay VM, O' Byrne KJ, Saunders MP, Braybrooke JP, Long L, Gleeson F, Mason CS, Harris AL, Brown P, Talbot DC. Phase I study of intrapleural batimastat (BB-94), a matrix metalloproteinase inhibitor, in the treatment of malignant pleural effusions. *Clin Cancer Res* 1999;5:513-520



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

