

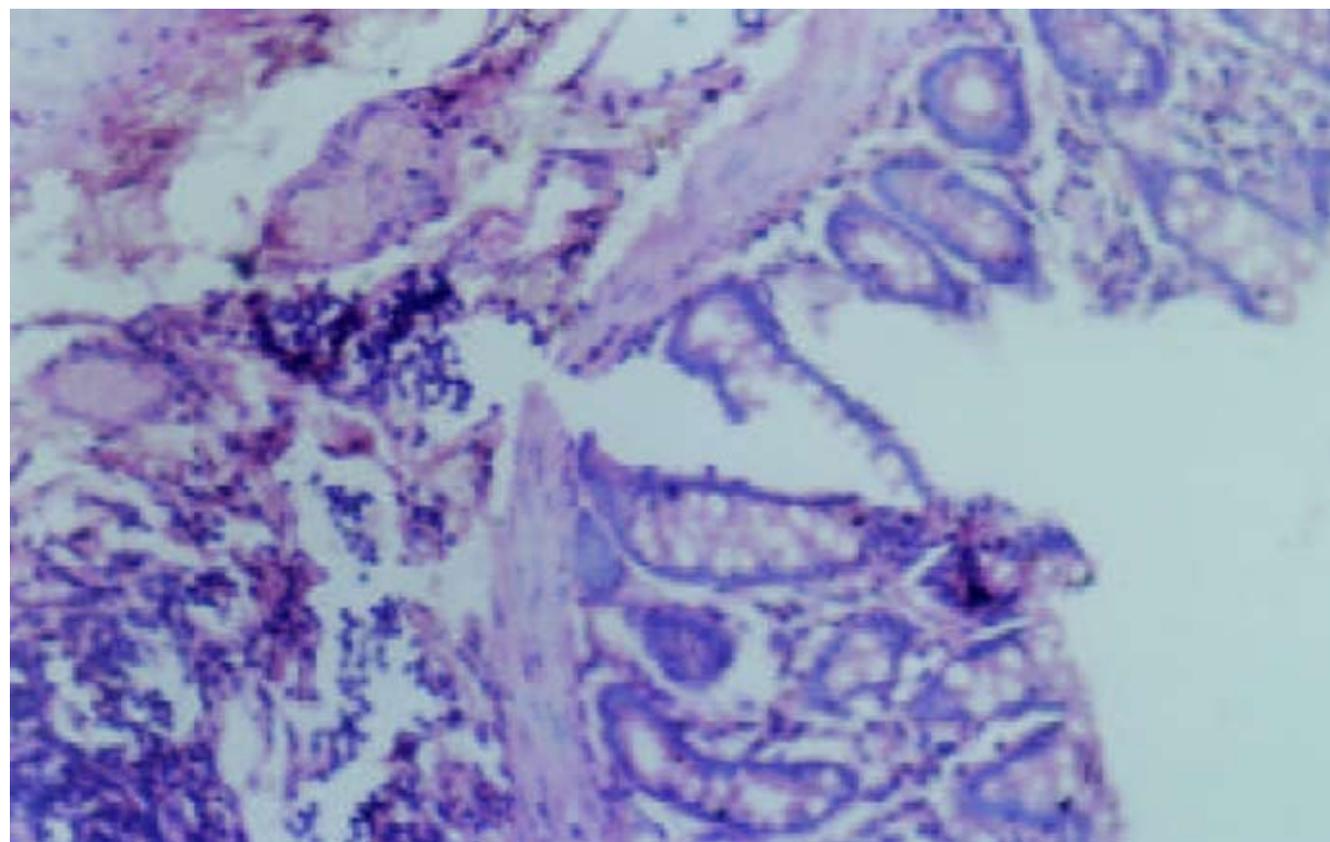
ISSN 1009-3079  
CN 14-1260/R

# 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, 吴东璇, 辛彦 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 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 邢金良, 杨向民, 张思河, 姚西英, 梁瑞安, 陈志南 276 肝癌细胞H <sub>22</sub> 与树突状细胞杂交瘤苗的实验研究 张娟, 张锦堃, 卓少宏 280 肝细胞癌hOGG1 mRNA及其蛋白的表达 周秀敏, 林菊生, 章金艳, 张莉, 周鹤俊 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 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟 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 成军, 李克, 王琳, 陆荫英, 刘妍, 钟彦伟 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 302 应用抑制性消减杂交技术筛选TAHCCP2的反式调节基因 王建军, 刘妍, 成军, 杨倩, 纪冬, 党晓燕, 徐志强, 王春花 306 基因表达谱芯片筛选NS5ATP3转染细胞差异表达基因 刘妍, 杨倩, 成军, 王建军, 纪冬, 党晓燕, 王春花 311 基因表达谱芯片技术筛选NS5A-TP4蛋白反式调节基因 杨倩, 成军, 刘妍, 王建军, 洪源, 张树林 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 319 应用表达谱芯片技术对NS5ATP7反式调节基因的研究 张健, 刘妍, 成军, 王琳, 邵清, 梁耀东, 李强, 刘敏 323 应用表达谱芯片技术筛选NS5ATP9反式调节基因的研究 李强, 梁耀东, 成军, 王琳, 王建军, 张健, 刘妍, 程明亮 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 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩, 王琳 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 蔡永国, 房殿春, 杨仕明, 罗元辉, 杨孟华, 王东旭 339 正常与硬化肝组织基因表达差异的初步分析 刘连新, 陈志宏, 武林枫, 李宏伟, 刘芝华, 姜洪池, 王秀琴, 吴旻 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 347 中药抗纤软肝颗粒抑制PDGF诱导的肝星状细胞MEK-1和c-fos表达 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>
<b>临床研究</b>	<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 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,冯敬生</p>
<b>焦点论坛</b>	<p>390 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>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 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/EBP<math>\beta</math>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 陆茵英,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>
<b>文献综述</b>	<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>
<b>研究快报</b>	<p>459 胰腺癌组织中COX-2和Bcl-2蛋白的表达及其意义 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 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: [wjgd@wjgnet.com](mailto:wjgd@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

# 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

郑伟达, 王小众, 福建医科大学附属协和医院消化内科 福建省福州市 350001  
项目负责人: 王小众, 350001, 福建省福州市新权路 29 号, 福建医科大学附  
属协和医院消化内科. drwangxz@pub6.fz.fj.cn  
电话: 0591-3357896-8482  
收稿日期: 2003-06-05 接受日期: 2003-09-18

## 摘要

肝纤维化的主要病理变化是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)在肝脏中过多沉积. 肝脏 ECM 的代谢主要由基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)及其抑制因子基质金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs)调节, MMPs 促进 ECM 的降解, 而 TIMPs 通过抑制 MMPs 阻止 ECM 的降解, 从而形成和促进肝纤维化, MMPs 与 TIMPs 不平衡被认为是 ECM 沉积的重要因素. 近年来, 其性质及其在肝纤维化发生、发展过程中的具体机制在体外肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)培养, 肝纤维化动物模型研究中得到进一步阐明.

郑伟达, 王小众. 基质金属蛋白酶及其抑制物与实验性肝纤维化. 世界华人消化杂志 2004;12(2):428-431

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/428.asp>

## 0 引言

基质金属蛋白酶(MMPs)和基质金属蛋白酶组织抑制因子(TIMPs)存在于多种组织器官, 参与细胞外基质代谢, 在正常胚胎发育、器官发生、血管形成、子宫复旧、创伤愈合等生理过程及关节炎、骨质疏松、组织纤维化、肿瘤浸润与转移等多种病理过程中起着重要的作用. 近年来, MMPs 与 TIMPs 在肝脏疾病特别是在肝纤维化、肝硬化中的作用越来越受到重视. 肝细胞与多种间质细胞均能不同程度合成 MMPs 与 TIMPs, 并通过复杂的调节机制, 在维持正常肝脏纤维组织中细胞外基质(ECM)的合成与降解的动态平衡中起关键作用. 肝纤维化是多种慢性肝病晚期共有的组织学变化, 他不仅是慢性肝病向肝硬化发展的必经之路, 而且贯穿肝硬化的始终. 目前认为肝纤维化是肝脏受到慢性损伤时, 肝脏 ECM 分泌和降解失衡, 导致 ECM 可逆积累的结果. 在这过程中, 肝星状细胞(HSC)的决定性作用已被公认, 其被激活后分泌大量 ECM, 造成胶原异常沉积和肝脏组织学重构, 最终导致肝纤维化. 目前的研究表明, 肝脏 ECM 的代谢主要由 MMPs 及其抑制物 TIMPs 所调节, MMPs 促进 ECM 的降解, 而 TIMPs 通过抑制 MMPs 阻止 ECM 的降解, 从而形成和促进纤维化<sup>[1-2]</sup>.

## 1 MMPs 分类、功能及其活性调节

MMPs 是一类具有  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Zn}^{2+}$  离子依赖的内源性蛋白酶, 肝内主要由 HSC 合成, 可降解多种 ECM 成分<sup>[3]</sup>. 目前该酶系已发现 23 个成员, 即 MMP<sub>1-26</sub>(其中 4、5、6 位置空缺). 按底物不同分为 4 类: (1)胶原酶(collagenases), 包括 MMP-1、MMP-8、MMP-13, 主要降解 I、II、III 型间质胶原. (2)明胶酶类(gelatinases), 包括明胶酶 A (MMP-2, 72 kD)和明胶酶 B(MMP-9, 92 kD), 主要降解 IV 型胶原及明胶(变性胶原). (3)基质分解素(stromelysin)如 MMP-3、7、10、11, 其底物较广, 包括蛋白多糖、层粘蛋白、纤维连接蛋白、IV 型胶原、明胶等. (4)膜型 MMPs(membrane type matrix metalloproteinase, MT-MMP), 如 MMP-14、-15、-16、-17 等, 除能降解 ECM 外, 也能活化其他 MMPs, 主要是 MMP-2 酶原. MMPs 的基本特征为含有部分相同的氨基酸序列; 至少可以降解一种 ECM 成分; 有  $\text{Zn}^{2+}$  结合的活性位点; 以酶原形式分泌, 需激活产生活性; 其活性可被相应的 TIMPs 所抑制<sup>[3]</sup>.

在体内, MMP-3 在其他 MMPs 的激活中扮演重要角色<sup>[4-5]</sup>. 在肝脏受损后的炎症反应中, 来自炎症细胞的组织蛋白酶 G, 中性粒细胞的弹力蛋白酶, 来自肥大细胞的酪氨酸酶, 均能激活 MMP-3, 后者又可激活多种 MMPs. 炎症反应通过该途径诱发活性的 MMPs 对正常肝组织的破坏. MMP-1, MMP-8, 基质分解素则通过 u-PA(尿激酶纤溶酶原)与 t-PA(组织纤溶酶原)激活系统活化, u-PA 活性受 PAI(纤溶酶原激活物抑制物)抑制<sup>[6]</sup>. 前胶原酶-1(pro matrix metalloproteinase-1, pro-MMP-1)活化分 2 步, 先被纤溶酶裂解, 后被基质分解素(如 MMP-3)裂解<sup>[7]</sup>, 该过程能被 TGF- $\beta$ 1 抑制. 明胶酶 B 的激活过程与此类似<sup>[8]</sup>, 而明胶酶 A 的激活途径与此不同, 前明胶酶 A(pro gelatinase A, pro-MMP-2)在细胞表面被跨膜分子膜型基质金属蛋白酶(membrane type-1 matrix metalloproteinase, MT1-MMP)激活. 在此过程中, TIMP-2 是连接 pro-MMP-2 的 C 末端和 MT1-MMP 的 N 末端的桥梁, 并形成三联体, 三者的比例必须适当, 当 TIMP-2 过量时, MT1-MMP 失活, 也能抑制已释放 MMP-2 的活性<sup>[9-11]</sup>. MT-MMPs 在 MMP-13 的激活中也起重要作用, 这与上述 MMP-1 的活化不同<sup>[12]</sup>. 活化的 MMP-2 也能激活 MMP-13<sup>[13]</sup>, 但 MMP-13 活化是否需要 TIMP-2 参与并不清楚.

虽然 MMP-1 与 MMP-13 都有降解间质胶原的能力, 但他们对细胞因子和生长因子的反应有很大不同.

IL-1 $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  能诱导所有的 MMPs, 血小板衍生生长因子(PDGF)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)上调 MMP-1 的表达, 但对 MMP-13 的影响甚小<sup>[14]</sup>. 已有的研究表明, 转化生长因子 $\beta$ 1(TGF- $\beta$ 1)抑制 MMP-1 的合成, 却诱导 MMP-13 的表达<sup>[15]</sup>. 因此, 在应用以 MMP-13 为主要间质胶原酶的鼠类制造肝纤维化模型时应予注意<sup>[17]</sup>.

## 2 TIMPs 分类、功能及其活性调节

目前已发现的 TIMPs 包括 TIMP-1、-2、-3、-4 四种, 分别为 28、21、23、22 kD, 由各自独立的基因表达, 功能也有所不同, 但四者氨基酸序列具有部分同源性, 且都可与特定的活性 MMP 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<sup>[18]</sup>. 多种细胞可表达 TIMPs, 在肝脏主要由 HSC 表达, 并常与 MMPs 共分泌, 某种程度上自我调节 MMPs 的活性. TIMP 有 2 个结构域, 分别在 N-末端和 C-末端. N-末端介导对已活化 MMPs 的抑制作用, 其中 TIMP-2 对 MMP-2 的抑制较 TIMP-1 强 7-10 倍, 而对 MMP-1 的抑制比 TIMP-1 弱. C-末端能结合 pro-MMPs, 调节后者的酶解活化<sup>[19]</sup>. TIMP-1 结合明胶酶原 B, 阻止基质分解素对明胶酶原 B 的激活<sup>[20]</sup>. TIMP-2 在高浓度时抑制 MT1-MMP 对 pro-MMP-2 的活化, 而低浓度时反而有助于 pro-MMP-2 的活化<sup>[21]</sup>. 多种细胞因子和生长因子既可调节 MMPs 又可调节 TIMPs 的表达. 例如 TNF- $\alpha$  既能增加 MMP-1、MMP-3 表达, 又能增加 TIMP-1 表达, TGF- $\beta$ 1 通过提高 TIMP-1 但降低 MMP-1 和 MMP-3 的表达加速网状基质的累积<sup>[16, 22-24]</sup>. TGF- $\beta$ 1 对 TIMP-1 和 TIMP-2 的调节作用相反, 诱导前者, 抑制后者<sup>[25]</sup>. TIMP-1 和 TIMP-2 是多功能分子, 不仅抑制 MMPs, 而且刺激多种细胞增生, 使这些细胞免于凋亡<sup>[26-27]</sup>, 该作用与其抑制 MMPs 活性无关. 此外, TIMP-1 还可能对细胞的生长有调节作用<sup>[28]</sup>. TIMP-3 能诱导肿瘤细胞和血管平滑肌细胞凋亡<sup>[29-30]</sup>, TIMP-4 的功能尚未明确.

## 3 MMPs 和 TIMPs 在原代 HSC 培养中的表达及意义

在原代培养的人类和大鼠 HSC 的研究中发现 HSC 表达多种 MMPs 和 TIMPs. 随着 HSC 的激活,  $\alpha$ 平滑肌动蛋白( $\alpha$ -SMA)表达增加, MMPs 和 TIMPs 表达的模式也发生改变. 在早期培养(0-3 d), HSC 表达 MMP-3, MMP-1(人)或 MMP-13(大鼠), 包括 u-PA 及其受体, 但未检测到 TIMP-1 和 TIMP-2<sup>[31-32]</sup>. 该现象是 HSC 离体后接触培养皿表面及含多种生长因子血清培养液的急性期反应, 说明 HSC 激活早期阶段的功能以基质降解为主. 在进一步培养中, MMPs 和 TIMPs 表达显著改变, 基质分解素和 MMP-1/MMP-13 下调, PAI-1, TIMP-1, TIMP-2 明显增加<sup>[33-35]</sup>. 该趋势在原代培养保持至少 21 d, 在传代培养 HSC 中普遍存在. 表明此时 HSC 不仅减少甚至停

止 MMPs 的表达, 而且增加能抑制 MMPs 酶原活化的 TIMPs 的表达, 同时 HSC 分泌 ECM 也明显增加. 证明 HSC 不仅是 ECM 的主要产生细胞, 也是 MMPs, TIMPs 的主要产生细胞. 随着 HSC 活化, 其他 MMPs 特别是 MMP-2(明胶酶 A)和 MT1-MMP 表达也增加<sup>[36]</sup>. 增高表达的 MMP-2 和 MT1-MMP 与 TIMP-2 组成的三联体, 是 pro-MMP-2 酶解活化所必需, 形成 MMP-2 活性的自我放大效应. MMP-2 能降解正常肝脏基质的 IV 型胶原, 但不能增加纤维化肝脏中过多纤维胶原的降解, 可能和 HSC 与正常肝基质间相互作用中断导致 HSC 增生活化有关, 也可能与 MMP-2 直接促进 HSC 增生有关<sup>[37]</sup>. Theret et al<sup>[38]</sup>观察到在有 I 型胶原存在的 HSC 培养中 MMP-2 酶原的活化显著增加. 可能是 I 型胶原纤维结合到 HSC 或纤维母细胞表面, 通过  $\alpha_2\beta_1$  整合素促进 MMP-2 的活化. Theret et al<sup>[39]</sup>还采用 HSC 单独培养及与肝细胞共培养研究 MMP-2 酶原活化过程中肝内细胞的相互作用. 结果表明 HSC 虽能同时表达 MMP-2、TIMP-2 及 MT1-MMP, 但不能分泌活化的 MMP-2, 肝细胞虽不能表达上述物质, 却能通过细胞膜依赖机制诱导 MMP-2 的活化.

## 4 MMPs 和 TIMPs 在肝纤维化进程中的作用

研究表明, 肝纤维化是一个戏剧性过程, 一方面, 基质沉积, 疾病进展; 另一方面, 基质降解, 疾病减轻. 研究还表明, 如果病因有效去除, 肝纤维化可逆转<sup>[40]</sup>. 该过程与 MMPs 和 TIMPs 的表达变化密切相关<sup>[41]</sup>. 研究 CCl<sub>4</sub> 诱导大鼠肝纤维化模型发现: (1) 疾病进展与 pro-MMP-2 和 MT1-MMP 表达增加, MMP-2 活性增强有关<sup>[17]</sup>. MMP-2 在肝纤维化进程中的作用存在互相矛盾的两方面, 一方面, 通过降解正常的肝基底膜成分和促进 HSC 增生, 启动并加重肝纤维化进程, 一方面, MMP-2 又能清除部分变性的过多 ECM, 减缓肝纤维化进程; (2) 肝纤维化进程中活化的 HSC 分泌间质胶原明显增多, 而 MMP-1/MMP-13 表达及活性无相应提高, 导致间质胶原在肝内过度沉积; (3) TIMP-1、-2 蛋白表达在肝损伤 6 h 后显著增加并持续整个肝纤维化过程<sup>[34, 42]</sup>, 同时, 胶原 I mRNA 也进行性增加, ECM 沉积, 提示 ECM 过度沉积不仅是由于 ECM 合成增多, 更大程度上(特别是后期)是由于降解减少引起的. Yoshiji et al<sup>[43]</sup>通过 TIMP-1 转基因小鼠模型研究证实了上述假设. 在 CCl<sub>4</sub> 肝损伤下, TIMP-1 转基因小鼠过度表达 TIMP-1, 肝纤维化发展比野生型小鼠更快, 范围更广, 但在无损伤原因时, TIMP-1 转基因小鼠过度表达 TIMP-1 但无肝纤维化, 表明肝纤维化发展是 ECM 对肝损伤的反应性合成增加与 TIMP-1 介导的 ECM 降解减少的共同结果.

## 5 MMP 和 TIMP 与肝纤维化的自然衰退

随着损肝因素的去, 肝纤维化的自然衰退和逆转已成共识. 大鼠肝纤维化自然逆转模型的研究表明该机制

与 MMPs 和 TIMPs 表达的变化,特别是活化的 HSC 凋亡密切相关。CCl<sub>4</sub> 诱导大鼠肝纤维化 4 wk 后停止给药,可见肝纤维化的自然衰退过程,同时伴有活化 HSC 的凋亡增加,TIMP-1, -2 表达水平快速下降,胶原酶活性增加,但 MMP-13 无明显变化。Iredale et al<sup>[44]</sup>认为是由于活化的 HSC 凋亡导致 HSC 总数减少, HSC 分泌的 ECM 和抑制 ECM 降解的 TIMPs 减少是肝纤维化发生自然衰退的关键。Yoshiji et al<sup>[45]</sup>应用 TIMP-1 转基因小鼠研究 TIMP-1 在肝纤维化自发性恢复中发现,正常对照组小鼠 I 型胶原酶、羟基脯氨酸含量、 $\alpha$ -SMA 阳性细胞数量快速下降,而 TIMP-1 转基因小鼠组上述指标变化不大,提出 TIMP-1 可能通过降低 MMPs 活性,抑制活化 HSC 凋亡等机制在阻碍自发性肝纤维化恢复中起重要作用。

## 6 与 MMPs 和 TIMPs 相关的抗纤维化治疗

综合人的正常及纤维化肝脏、大鼠各种肝纤维化动物模型及体外细胞培养实验的研究结果, MMPs 及 TIMPs 在肝纤维化的发展过程中具有十分重要的作用。因此任何提高 MMPs、降低 TIMPs 表达及活性,促进 ECM 降解的方法都有可能成为抗肝纤维化的有效手段。

目前在实验中发现细胞松弛素 B、秋水仙素、前列腺素、IL-10 等的抗纤维化作用与上述机制有关。将激活后的 HSC 暴露于细胞松弛素 B 可使其胶原合成和沉积均减少,伴随 TIMP-1、TIMP-2 的平行下降,提示细胞松弛素是一个特异性下调 TIMP-1, TIMP-2 的因子<sup>[46]</sup>。秋水仙素可干扰胶原蛋白的分泌,在成纤维细胞培养中能够诱导细胞分泌 MMP-1。用秋水仙素治疗 CCl<sub>4</sub> 诱导的大鼠肝纤维化,可使肝内胶原纤维比对照组减少约一半<sup>[47]</sup>。前列腺素在肝损伤动物模型中可预防纤维化形成,这可能与前列腺素 PGE<sub>2</sub> 参与各种生长因子诱导 MMP-1 合成增加有关。Wang et al<sup>[48]</sup>进行体内外研究显示 HSC 在激活过程中出现 IL-10 及其受体的表达,研究结果表明 IL-10 可能通过减少胶原合成和增加胶原酶两方面作用重构 ECM,对肝纤维化产生负反馈作用。在观察 IL-10 对实验性肝纤维化影响的实验中发现 IL-10 干预组肝纤维化较对照组明显减轻,且干预时间越长,差异越明显,免疫组织化学检测 IL-10 干预组 MMP-2 表达明显提高<sup>[49-52]</sup>。

## 7 参考文献

- 1 姜慧卿, 张晓岚. 肝纤维化的发生机制. 世界华人消化杂志 2000; 8:687-689
- 2 白文元, 姚希贤, 冯丽英. 肝纤维化的研究现状. 世界华人消化杂志 2000;8:1267-1268
- 3 Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999;30:21491-21494
- 4 Johnson JL, Jackson CL, Angelini GD, George SJ. Activation of matrix-degrading metalloproteinases by mast cell proteases in atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18:1707-1715
- 5 Zhang J, Gruber BL, Marchese MJ, Zucker S, Schwartz LB, Kew RR. Mast cell tryptase does not alter matrix metalloproteinase

- expression in human dermal fibroblasts: further evidence that proteolytically-active tryptase is a potent fibrogenic factor. *J Cell Physiol* 1999;181:312-318
- 6 Irigoyen JP, Monoz-Canoves P, Montero L, Koziczak M, Nagamine Y. The plasminogen activator system: biology and regulation. *Cell Mol Life Sci* 1999;56:104-132
  - 7 Hu B, Kapila YL, Buddhikot M, Shiga M, Kapila S. Coordinate induction of collagenase-1, stromelysin-1 and urokinase plasminogen activator (uPA) by the 120-kDa cell-binding fibronectin fragment in fibrocartilaginous cells: uPA contributes to activation of procollagenase-1. *Matrix Biol* 2000;19:657-669
  - 8 Murphy G, Stanton H, Cowell S, Butler G, Knauper V, Atkinson S, Gavrilovic J. Mechanisms for pro matrix metalloproteinase activation. *APMIS* 1999;107:38-44
  - 9 Hernandez-Barrantes S, Toth M, Bernardo MM, Yurkova M, Gervasi DC, Raz Y, Sang QA, Fridman R. Binding of active (57 kDa) membrane type 1-matrix metalloproteinase (MT1-MMP) to tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-2 regulates MT1-MMP processing and pro-MMP-2 activation. *J Biol Chem* 2000;275:12080-12089
  - 10 Butler GS, Butler MJ, Atkinson SJ, Will H, Tamura T, van Westrum SS, Crabbe T, Clements J, d'Ortho MP, Murphy G. The TIMP2 membrane type 1 metalloproteinase "receptor" regulates the concentration and efficient activation of progelatinase A. A kinetic study. *J Biol Chem* 1998;273:871-880
  - 11 Monea S, Lehti K, Keski-Oja J, Mignatti P. Plasmin activates pro-matrix metalloproteinase-2 with a membrane-type 1 matrix metalloproteinase-dependent mechanism. *J Cell Physiol* 2002;192:160-170
  - 12 Cowell S, Knauper V, Stewart ML, D'Ortho MP, Stanton H, Hembry RM, Lopez-Otin C, Reynolds JJ, Murphy G. Induction of matrix metalloproteinase activation cascades based on membrane-type 1 matrix metalloproteinase: associated activation of gelatinase A, gelatinase B and collagenase 3. *Biochem J* 1998;331 (Pt 2):453-458
  - 13 Knauper V, Will H, Lopez-Otin C, Smith B, Atkinson SJ, Stanton H, Hembry RM, Murphy G. Cellular mechanisms for human procollagenase-3 (MMP-13) activation. Evidence that MT1-MMP (MMP-14) and gelatinase a (MMP-2) are able to generate active enzyme. *J Biol Chem* 1996;271:17124-17131
  - 14 Balbin M, Pendas AM, Uria JA, Jimenez MG, Freije JP, Lopez-Otin C. Expression and regulation of collagenase-3 (MMP-13) in human malignant tumors. *APMIS* 1999;107:45-53
  - 15 Uria JA, Jimenez MG, Balbin M, Freije JM, Lopez-Otin C. Differential effects of transforming growth factor-beta on the expression of collagenase-1 and collagenase-3 in human fibroblasts. *J Biol Chem* 1998;273:9769-9777
  - 16 Martelli-Junior H, Cotrim P, Graner E, Sauk JJ, Coletta RD. Effect of transforming growth factor-beta1, interleukin-6, and interferon-gamma on the expression of type I collagen, heat shock protein 47, matrix metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-2 by fibroblasts from normal gingiva and hereditary gingival fibromatosis. *J Periodontol* 2003;74:296-306
  - 17 Hironaka K, Sakaida I, Matsumura Y, Kaino S, Miyamoto K, Okita K. Enhanced interstitial collagenase (matrix metalloproteinase-13) production of Kupffer cell by gadolinium chloride prevents pig serum-induced rat liver fibrosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;267:290-295
  - 18 Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, Thorgeirsson UP. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur J Cell Biol* 1997;74:111-122
  - 19 Bode W, Fernandez-Catalan C, Grams F, Gomis-Ruth FX, Nagase H, Tschesche H, Maskos K. Insights into MMP-TIMP interactions. *Ann N Y Acad Sci* 1999;878:73-91
  - 20 von Bredow DC, Cress AE, Howard EW, Bowden GT, Nagle RB. Activation of gelatinase-tissue-inhibitors-of-metalloproteinase complexes by matrilysin. *Biochem J* 1998;331 (Pt 3):965-972
  - 21 Hernandez-Barrantes S, Toth M, Bernardo MM, Yurkova M, Gervasi DC, Raz Y, Sang QA, Fridman R. Binding of active (57 kDa) membrane type 1-matrix metalloproteinase (MT1-MMP) to tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-2 regulates MT1-MMP processing and pro-MMP-2 activation. *J Biol Chem* 2000;275:12080-12089

- 22 Delany AM, Canalis E. The metastasis-associated metalloproteinase stromelysin-3 is induced by transforming growth factor-beta in osteoblasts and fibroblasts. *Endocrinology* 2001;142:1561-1566
- 23 Dudas J, Kovalszky I, Gallai M, Nagy JO, Schaff Z, Knittel T, Mehde M, Neubauer K, Szalay F, Ramadori G. Expression of decorin, transforming growth factor-beta 1, tissue inhibitor metalloproteinase 1 and 2, and type IV collagenases in chronic hepatitis. *Am J Clin Pathol* 2001;115:725-735
- 24 姜虹, 李定国. TGF- $\beta$ 1 与肝纤维化. *世界华人消化杂志* 2003;11:326-329
- 25 Zafarullah M, Su S, Martel-Pelletier J, DiBattista JA, Costello BG, Stetler-Stevenson WG, Pelletier JP. Tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) mRNA is constitutively expressed in bovine, human normal, and osteoarthritic articular chondrocytes. *J Cell Biochem* 1996;60:211-217
- 26 Shibusaki T, Yamashita K, Aoki T, Iwayama Y, Nishikawa T, Hayakawa T. Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1 and TIMP-2) stimulate osteoclastic bone resorption. *J Bone Miner Metab* 1999;17:245-251
- 27 Corcoran ML, Stetler-Stevenson WG. Tissue inhibitor of metalloproteinase-2 stimulates fibroblast proliferation via a cAMP-dependent mechanism. *J Biol Chem* 1995;270:13453-13459
- 28 Zhao WQ, Li H, Yamashita K, Guo XK, Hoshino T, Yoshida S, Shinya T, Hayakawa T. Cell cycle-associated accumulation of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) in the nuclei of human gingival fibroblasts. *J Cell Sci* 1998;111(Pt 9):1147-1153
- 29 Baker AH, George SJ, Zaltsman AB, Murphy G, Newby AC. Inhibition of invasion and induction of apoptotic cell death of cancer cell lines by overexpression of TIMP-3. *Br J Cancer* 1999;79:1347-1355
- 30 Baker AH, Zaltsman AB, George SJ, Newby AC. Divergent effects of tissue inhibitor of metalloproteinase-1, -2, or -3 overexpression on rat vascular smooth muscle cell invasion, proliferation, and death *in vitro*. TIMP-3 promotes apoptosis. *J Clin Invest* 1998;101:1478-1487
- 31 Vyas SK, Leyland H, Gentry J, Arthur MJ. Rat hepatic lipocytes synthesize and secrete transin (stromelysin) in early primary culture. *Gastroenterology* 1995;109:889-898
- 32 Leyland H, Gentry J, Arthur MJ, Benyon RC. The plasminogen-activating system in hepatic stellate cells. *Hepatology* 1996;24:1172-1178
- 33 Iredale JP, Benyon RC, Arthur MJ, Ferris WF, Alcolado R, Winwood PJ, Clark N, Murphy G. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 messenger RNA expression is enhanced relative to interstitial collagenase messenger RNA in experimental liver injury and fibrosis. *Hepatology* 1996;24:176-184
- 34 Benyon RC, Iredale JP, Goddard S, Winwood PJ, Arthur MJ. Expression of tissue inhibitor of metalloproteinases 1 and 2 is increased in fibrotic human liver. *Gastroenterology* 1996;110:821-831
- 35 陈治新, 陈运新, 翁山耕, 黄月红, 张莉娟, 王小众. PDGF-BB 对肝星状细胞表达 MMP-2 及 TIMP-1 的影响. *胃肠病学和肝病学杂志* 2003;12:46-48
- 36 Atkinson SJ, Patterson ML, Butler MJ, Murphy G. Membrane type 1 matrix metalloproteinase and gelatinase A synergistically degrade type 1 collagen in a cell model. *FEBS Lett* 2001;491:222-226
- 37 Benyon RC, Hovell CJ, Da Gaca M, Jones EH, Iredale JP, Arthur MJ. Progelatinase A is produced and activated by rat hepatic stellate cells and promotes their proliferation. *Hepatology* 1999;30:977-986
- 38 Theret N, Lehti K, Musso O, Clement B. MMP2 activation by collagen I and concanavalin A in cultured human hepatic stellate cells. *Hepatology* 1999;30:462-468
- 39 Theret N, Musso O, L'Helgoualc'h A, Clement B. Activation of matrix metalloproteinase-2 from hepatic stellate cells requires interactions with hepatocytes. *Am J Pathol* 1997;150:51-58
- 40 Hammel P, Couvelard A, O'Toole D, Ratouis A, Sauvanet A, Flejou JF, Degott C, Belghiti J, Bernades P, Valla D, Ruszniewski P, Levy P. Regression of liver fibrosis after biliary drainage in patients with chronic pancreatitis and stenosis of the common bile duct. *N Engl J Med* 2001;344:418-423
- 41 李保森, 游绍莉, 赵志海, 辛绍杰, 赵景民, 王松山. 实验性肝纤维化形成过程中几种金属基质蛋白酶表达的研究. *世界华人消化杂志* 2003;11:483-485
- 42 聂青和, 谢玉梅, 周永兴, 程勇前, 罗红, 罗新栋. 正常及实验性肝纤维化大鼠肝脏中的金属蛋白酶组织抑制因子-1. *世界华人消化杂志* 2003;11:204-208
- 43 Yoshiji H, Kuriyama S, Miyamoto Y, Thorgeirsson UP, Gomez DE, Kawata M, Yoshiji J, Ikenaka Y, Noguchi R, Tsujinoue H, Nakatani T, Thorgeirsson SS, Fukui H. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 promotes liver fibrosis development in a transgenic mouse model. *Hepatology* 2000;32:1248-1254
- 44 Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, McCullen M, Northrop M, Pawley S, Hovell C, Arthur MJ. Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. *J Clin Invest* 1998;102:538-549
- 45 Yoshiji H, Kuriyama S, Yoshiji J, Ikenaka Y, Noguchi R, Nakatani T, Tsujinoue H, Yanase K, Namisaki T, Imazu H, Fukui H. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 attenuates spontaneous liver fibrosis resolution in the transgenic mouse. *Hepatology* 2002;36(4 Pt 1):850-860
- 46 Williams EJ, Benyon RC, Trim N, Hadwin R, Grove BH, Arthur MJ, Unemori EN, Iredale JP. Relaxin inhibits effective collagen deposition by cultured hepatic stellate cells and decreases rat liver fibrosis *in vivo*. *Gut* 2001;49:577-583
- 47 Favari L, Perez-Alvarez V. Comparative effects of colchicine and silymarin on CCl4-chronic liver damage in rats. *Arch Med Res* 1997;28:11-17
- 48 Wang SC, Ohata M, Schrum L, Rippe RA, Tsukamoto H. Expression of interleukin-10 by *in vitro* and *in vivo* activated hepatic stellate cells. *J Biol Chem* 1998;273:302-308
- 49 Wang XZ, Zhang LJ, Li D, Huang YH, Chen ZX, Li B. Effects of transmitters and interleukin-10 on rat hepatic fibrosis induced by CCl4. *World J Gastroenterol* 2003;9:539-543
- 50 张莉娟, 王小众, 黄月红, 陈治新. 白介素-10 对实验性肝纤维化的影响. *中华消化杂志* 2002;22:179-180
- 51 黄月红, 张莉娟, 李丹, 陈治新, 王小众. IL-10 对实验性肝纤维化大鼠基质金属蛋白酶-2 影响的研究. *肝脏* 2001;6:162-164
- 52 Wang XZ, Chen ZX, Zhang LJ, Chen YX, Li D, Chen FL, Huang YH. Expression of insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth factor 1 receptor and its intervention by interleukin-10 in experimental hepatic fibrosis. *World J Gastroenterol* 2003;9:1287-1291



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

