

基质金属蛋白酶-2与肾小球硬化关系的研究新进展

李广波 综述, 林瑞霞 审校

(温州医学院附属育英儿童医院肾内科, 浙江 温州 325027)

[中图分类号] R692.3 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2008)02-0269-04

肾小球硬化是多种生物活性物质、多种细胞成分引起肾小球损伤后出现的一种渐进性病理过程,肾脏局部和机体系统的环境都可以影响其发生发展;是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)逐渐增多和肾小球系膜细胞(glomerular mesangial cells, GMC)增殖的结果^[1]。ECM主要包括胶原蛋白IV、V和VI型,粘连蛋白包括纤连蛋白、层粘连蛋白以及蛋白多糖。ECM在肾小球内的沉积过程及其发生机制十分复杂,归纳起来,认为与肾小球内ECM合成增多,而降解过程受到抑制有关。近年来则对ECM降解机制的研究日益受到重视。ECM降解酶系统主要有三类,即丝氨酸蛋白酶、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)和半胱氨酸蛋白酶。大量研究证实MMPS及其特定的组织金属蛋白酶抑制剂(TIMPs)在ECM降解过程中起着重要的作用,而MMP-2是其家族中的最重要成员之一,在肾脏疾病中,其作用尤其重要^[2]。为此,本文就MMP-2研究进展及其在肾小球硬化中的作用作一综述。

1 MMP-2 简介

1.1 MMP-2 在 MMPs 家族中的位置

MMPs是ECM降解过程中必不可少的酶系。按作用底物分可为5类,包括:①间质胶原酶:MMP-1, 8, 13, 18;②明胶酶:MMP-2, 9;③基质溶解素:MMP-3, 7, 10, 11, 12;④膜型MMPs:MMP-14, 15, 16, 17;⑤其他MMPs:MMP-19,尚需进一步定性。其成员中研究最多,临床最重要的是明胶酶MMP-2, 9。它们的作用底物均为明胶、IV、V、VII、X、XI型胶原、纤连蛋白、蛋白聚糖、弹性蛋白等,同称为IV型胶原酶或明胶胶原酶。

MMP-2又称明胶A,其基因位于人类染色体16q13-q21,由13个外显子和12个内含子组成,结构基因总长约27Kb,分子量为72ku,又称72ku胶原酶。

1.2 MMP-2 的体内调节

1.2.1 MMP-2的正调节机制 MMP-2来源于间质细胞、肿瘤细胞、血液中的单核细胞、巨噬细胞、血管内皮细胞等。其活性调节表现在3个水平上,基因转录的调节,酶原的活化以及活化酶的抑制物。许多因素可以改变MMPs的基因转录,但其中最重要的是生长因子和细胞因子,如白介素-1(IL-1)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)刺激MMP-2水平的升高;血小板衍生生长因子(PDGF)、上皮细胞生长因子(EGF)、成纤维细胞生长因子(bFGF)等均可促使该酶基因的表达,上述作用大多是通过促进或抑制c-fos和c-jun的表达而起作用的,这些原癌基因的产物可形成异二聚体,即活化蛋白-1(AP-1),作为转录激活因子促进MMP-2基因的转录^[3]。近期的研究证实胰岛素生长因子(IGF-1)也调节MMP-2的表达,在一些具有较低转移潜能的细胞系中,增加IGF-1的表达,可以很有意义地增进MMP-2基因和蛋白的表达。TGF- β 可以促进MMP-2的表达和分泌,一氧化氮(NO)可以通过NO/cGMP途径既增进TIMP-2又降低MMP-2表达的水平,NO可以引起内皮细胞介导的平滑肌细胞(SMC)迁移和分化的抑制,在MMP-2和TIMP-2的转录调节中,内皮细胞一氧化氮合成酶(eNOS)基因的转移已被证实通过NO/cGMP途径发挥重要的调节作用。膜联基质金属蛋白酶(MB-MMP)对MMPs具有复杂的调节作用,其中MB1-MMP可以激活MMP-2,它与TIMP-2一起联合调节MMP-2的生物学作用。MMP-2合成以后以无活性的酶原形式分泌至ECM中,只有被活

[收稿日期]2007-04-26;[修回日期]2007-07-02

[作者简介]李广波,男,大学,硕士研究生。主攻方向:小儿肾脏病。

化后才具有降解 ECM 的活性, MMP-2 的作用底物是 IV 和 V 型胶原。

1.2.2 MMP-2 的负调节机制 TIMPs 是 MMPs 的内源性特异性抑制物, 从稳定 MMP 酶原、抑制 MMP 酶活性、调节可溶性 MMP 与细胞表面耦联几个水平控制 MMP 网络的活性。目前已克隆出 4 种 TIMPs, 分别命名为 TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, TIMP-4。它们均可以 1:1 比例与 TIMPs 的 Zn^{2+} 活性中心发生不可逆结合, 阻断 MMPs 活性, 从而抑制其对 ECM 的降解^[4]。4 种 TIMP 均存在于肾脏, 其中 TIMP-1 和 TIMP-2 在 ECM 积聚和降解的生理平衡中起关键作用。TIMP-1 优先与胶原酶和基质溶解素结合, 而 TIMP-2 则优先与 MMP-2 结合。TIMP-1 和 TIMP-2 能与 MMP-2 以及 MMP-9 的酶原通过每个分子的羧基端形成一种分泌络合物, 从而抑制其活性。尽管每种 TIMP 都能抑制 MMP-2, 但目前证据表明, TIMP-2 对 MMP-2 的活性特别重要。

1.3 MMP-2 的组织分布及生物学作用

现已证实肾小球系膜细胞、内皮细胞、上皮细胞、包曼氏囊壁层上皮细胞、肾小管上皮细胞、浸润的巨噬细胞和中性粒细胞等能不同程度地表达 MMP-1, 2, 3, 7, 9, 10, 11; 血清和尿中含有 MMP-1, 2, 3; 中性粒细胞含有 MMP-8。已知的 4 种 TIMPs 在肾脏中均有表达, 除 TIMP-3 为不溶性蛋白, 仅定位于 ECM 外, 其余 TIMPs 成员可从血、尿及组织提取液中测出^[4]。

MMP-2 是锌离子依赖的 MMPs 家族的重要成员之一, 其功能是参与 ECM (主要为 IV 型胶原) 的降解, 调节生理和病理状态下 ECM 的合成和代谢平衡。ECM 的完整对于保持肾小球结构和功能是非常重要的。在肾组织中对 MMPs 发挥抑制作用的主要是 TIMP-1, 2^[5]。

MMP-2 除具有降解 ECM 成分作用以外, 还具有类细胞因子样作用, 调节系膜细胞的增殖与分化。此外, MMP-2 可特异性地诱导肾小球系膜细胞的炎症性表型。在肾小球系膜细胞应用反义 RNA 或抗 MMP-2 核酸酶载体系统进行研究后发现, 转染后的系膜细胞表型由活化的炎症表型转化成非常接近体内生理状态下的静止态表型而脱离细胞周期, 标志细胞活化的 α -平滑肌肌动蛋白明显减少或消失, 细胞的增殖速率明显下降, 与 MMP-2 的表达呈对数线性关系^[2]。

2 MMP-2 导致肾损害的机制

肾脏疾病病理改变的特征是 ECM 的异常堆积,

表现为肾小球细胞增生、系膜基质增多和毛细血管基膜增厚; 肾小管间质炎症细胞浸润, 间质水肿和小管坏死。正常肾小球 ECM 主要位于肾小管毛细血管襻基膜和系膜区, 其含量最丰富的是 IV 型胶原, 它是一个三维螺旋空间构型, 构成 GBM 的基本网络状框架结构, 其合成与降解的失衡或多肽链结构异常均影响 GBM 的分子构象和功能状态, 对蛋白尿的产生起着重要的作用。有研究证明^[5], MMP-2 在不同组织类型的肾脏疾病与同一疾病的不同病理阶段, 发挥不同的致病机制。以系膜增生性肾小球肾炎为例, 如果 MMP-2 表达上调, 导致 ECM 的过度降解, 可能导致肾小球基底膜破坏, 影响恢复期肾小球正常结构的重塑; 而在硬化过程时, 如果 MMP-2 表达减少, 倾向于促使 ECM 合成增加, 导致肾小球系膜基质堆积。MMP-2 是降解 IV 型胶原的最重要酶系之一, 正常时对维持基膜正常新陈代谢具有重要作用。病理状态下, MMP-2 表达异常, 导致 IV 型胶原的合成和降解失衡, GBM 重塑障碍, 导致蛋白尿的产生。

MMP-2 可能通过两种机制导致肾小球损伤: ①诱导系膜细胞由静止表型转变为炎症表型, 出现快速增殖, 表达新型蛋白, 合成 ECM 增多, 导致系膜基质堆积; ②可降解基底膜, 破坏细胞与基质的正常连接, 致肾小球正常结构破坏, 影响肾小球 ECM 的重塑。但与此同时, MMP-2 也可以通过降解沉积的 ECM 起到正面的保护作用^[2]。肾组织表达 MMP-2 增高有助于消除过多的 ECM, 为肾组织的纤维化形成一种自身抑制效应; TIMP-2 表达增高, 导致 ECM 降解减少, 从而参与肾组织纤维化的发生机制。MMP-2 导致肾损害的机制尚需进一步研究。

3 MMP-2 与肾小球硬化

MMPs 及其抑制物 TIMPs 是调节 ECM 动态平衡的最重要的一大酶系。其中 MMP-2 不仅参与肾小球内 ECM 的异常降解过程, 且可诱导 GMC 获得炎症性细胞表型, 即快速增殖、表达新型蛋白质, 出现 GMC 的明显增殖及 ECM 的沉积, 最终出现肾小球硬化^[6]。肾小球硬化是多种原因引起肾小球损伤后出现的共同转归, 是肾功能衰竭的主要病理基础, 其本质是由 ECM 过度沉积所致^[1]。而 ECM 合成过程增强, 降解过程被抑制是其过度沉积的主要机制, 而 MMPs 与 TIMPs 调节失调, 则导致 ECM 降解减少, 积聚增多。冯均才等^[7]对人肾小管上皮细胞 (TE) 施以低氧 (1%) 培养 24 h, 发现其 TIMP-2 分

泌增多, MMP-2 活性显著下降, I 型胶原堆积, 提示缺血缺氧对肾小管细胞有损害。在研究肾间质硬化的过程中, 采用体外细胞培养的方法, 培养人近曲小管上皮细胞, 发现近曲小管上皮细胞向成纤维细胞转化可能是导致肾间质硬化的关键事件。上皮细胞转化之后表达 α -平滑肌肌动蛋白, 并产生大量 MMP-2 破坏肾小管基底膜。采用酶谱与 Western blot 方法分析显示 MMP-2 剂量呈时间依赖上升。由于 MMP-2 的参与, 导致肾小管基底膜破坏, 正常组织结构瓦解, 促进了肾间质硬化的发生^[2]。在单侧输尿管梗阻的小鼠模型中, 晚期 MMP-2 可能通过降解 ECM 而加速巨噬细胞的渗入肾脏; 而应用 MMP-2 抑制剂则可以减少巨噬细胞的渗入, 从而加速肾小球硬化及肾间质硬化^[8]。Bauvois 等^[9]研究发现在局灶节段性肾小球硬化患者体内, MMP-2 的水平是升高的, MMP-2 可能通过潜在的各种机制来调节肾小球硬化及肾间质硬化。

糖尿病肾病病理变化的基础是 ECM 的异常积聚, MMPs 的下调将减少 ECM 降解, 最终导致肾脏结构与功能改变。体外实验显示, 高糖可上调人系膜细胞尿激酶纤溶酶原复合物、IV 型胶原 TGF- β 的转录及分泌, 抑制 MMP-2 的表达, 增加 TIMP-2 的表达, 使 MMPs 与 TIMPs 之间的比例失衡^[10]。有研究表明^[11]在糖尿病鼠 MMP-2 表达的减少可以导致 IV 型胶原的聚集。

Zhang 等^[12]研究证实肾小球细胞 MMP-2 和 TIMP-2 mRNA 的过度表达可能在肾小球硬化的发展中起到至关重要的作用。

另有研究^[13]证实在慢性肾脏病患者, MMP-2 和 MMP-9 与血肌酐存在密切关系, MMP-2 和 MMP-9 可能参与慢性肾脏病的发病机制。目前, 慢性肾脏病和肾衰竭的问题越来越严重, 不考虑其病因, 慢性肾脏病的特征就是肾小管萎缩、间质纤维化、肾小球硬化; 已经证实 MMPs 活性的降低会导致 ECM 和胶原的聚集, MMP-2 对于慢性肾脏病产生的病理和功能性改变是必需的, 在疾病的早期, MMP-2 导致肾小管基底膜结构的改变, 进而出现肾小管萎缩、纤维化和肾衰竭, 因此早期(出现纤维化前)应用 MMP-2 抑制剂可能是治疗该疾病的另外一种方法^[14]。Endo 等^[15]认为各种肾脏疾病进展为终末期肾衰竭都是由于 ECM 的聚集和 GBM 的增厚, MMP-2 对于 GBM 的降解起着非常重要的意义。

此外, 部分学者对高血压性肾小球硬化进行了研究。高血压被认为是导致肾小球硬化进展的重要因素之一, 其特征是广泛的 ECM 沉积。在临床上采

用降压药(如 ACEI 类)和低蛋白饮食等措施可以缓解病理改变的进行。但迄今为止, 导致 ECM 沉积的细胞机制并不是十分明确。En-Nia 等^[16]对鼠系膜细胞在振荡高压(oscillating hyperbaric pressure, OHP)的情况下分泌改变的研究中发现, 相对于在大气压(atmospheric pressure, AP)下培养的系膜细胞, 12 h 内 OHP 环境下的活化状态 MMP-2 增多, 在 24 h 时, OHP 组的明胶分解活性仍观察到有增长, 但在 48 h 观察时发现, OHP 组的明胶分解活性已经低于 AP 组。对于 mRNA 检测的结果与之相一致。在 12 h 内, OHP 组的 mRNA 表达出现明显上调, 24 h AP 组与 OP 组相持平。48 h OHP 组 MMP-2 mRNA 表达较 AP 组减少。由此说明, 在高血压肾病中, MMP-2 在出现短时间的表达增加和活性升高以后, 就转为受抑制状态。MMP-2 的活动失衡可能参与了高血压性肾小球硬化的发生机制。

MMPs 可以降解 ECM, 在肾病的进展过程中起着重要的作用。通过提高 MMPs 的活力, 降低 ECM 沉积, 防止或延缓肾小球硬化, 无疑具有重要临床意义。体外实验表明糖皮质激素能抑制 MMPs 的基因表达, 肝素能增加牛生长因子转基因鼠肾小球 MMP-9 mRNA 表达, 逆转高糖诱导的人系膜细胞 MMP-2、TIMP-2 基因表达的失衡, 从而对 ECM 的聚集产生一定影响^[17]。

总之, MMP-2 与肾小球硬化关系非常密切, MMP-2 可能与 MMP-9 一样在两个阶段参与肾小球硬化进程。在早期损伤阶段, MMP-2 表达增加, 活性增强, 造成组织损伤、GBM 破坏, 同时激发 ECM 合成, 使 ECM 的产生与降解在高水平上保持动态平衡; 在基质合成阶段, MMP-2 表达下调, TIMP-1, 2 却持续上升, 最终使 MMP-2/TIMP1, 2 失衡, 胶原降解受抑, 导致 ECM 聚集^[18]。

4 展望

有关 MMPs 的研究日益广泛, 尤其是 MMP-2 更是目前研究的热点^[19~21]。GMC 过度增殖及 ECM 过度积聚导致肾小球硬化, MMP-2 对 ECM 的代谢具有重要的调控作用。在不同的动物模型和临床病例中, MMP-2 参与了肾小球硬化的发生发展。目前 MMP-2 在肾小球硬化中的作用机制及肾小球硬化的发病机制越来越受到学者的重视。认识和了解 MMP-2 与肾小球硬化的关系有助于寻找 MMP-2 激活剂或表达促进剂或者 TIMP-2 的抑制剂, 有可能成为预防和治疗肾小球硬化的新方法。

[参 考 文 献]

- [1] 何文锦,陈珏蓉,叶学锋. 肾小球硬化研究进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2006,7(1):57-58.
- [2] 傅思莹,陶瑜. MMP-2与肾脏疾病[J]. 国外医学泌尿系统分册,2003,23(4):466-469.
- [3] 杨栋,戎彪学,蔡曦光. 基质金属蛋白酶 MMP-2与肺癌关系的研究进展[J]. 国外医学·老年医学分册,2006,27(2):89-92.
- [4] 杨荆,白云凯. 基质金属蛋白酶及其抑制因子与肾脏疾病[J]. 云南医药,2005,26(1):60-62.
- [5] 朱清义,蒋玉红,谷照敏. 基质金属蛋白酶-2与肾疾病关系研究进展[J]. 实用医学杂志,2006,22(6):722-723.
- [6] 陈佳兮,周君富,沈汉超. 慢性肾小球疾病患者肾组织基质金属蛋白酶-2、3及其抑制物-1、2的表达[J]. 中华内科杂志,2003,42(10):729-730.
- [7] 冯均才,李有华. 基质金属蛋白酶及其抑制剂在肾脏病中的作用[J]. 中国中西医结合肾病杂志,2001,2(10):617-620.
- [8] Nishida M, Okumura Y, Ozawa S, Shiraishi I, Itoi T, Hamaoka K. MMP-2 inhibition reduces renal macrophage infiltration with increased fibrosis in UUO [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 354(1):133-139.
- [9] Bauvois B, Mothu N, Nguyen J, Nguyen-Khoa T, Noël LH, Jungers P. Specific changes in plasma concentrations of matrix metalloproteinase-2 and -9, TIMP-1 and TGF-beta1 in patients with distinct types of primary glomerulonephritis[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2007, 22(4):1115-1122.
- [10] Paolo M, Cristina C, Francesco P, Giulio AC, Angela DA, Spiridione G. Monocyte/Mesangial cell interactions in high-glucose cocultures[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2001, 16(5):913-922.
- [11] 董凤芹,李红,蔡卫民,陶君,郑芬萍,张哲. 糖尿病大鼠肾小球基质金属蛋白酶2和9的表达[J]. 浙江大学学报(医学版),2004,33(3):245-249.
- [12] Zhang ZG, Liu XG, Chen GP, Zhang XR, Guo MY. Significance of MMP-2 and TIMP-2 mRNA expressions on glomerular cells in the development of glomerulosclerosis[J]. *Chin Med Sci J*, 2004, 19(2):84-88.
- [13] Chang HR, Yang SF, Li ML, Lin CC, Hsieh YS, Lian JD. Relationships between circulating matrix metalloproteinase-2 and -9 and renal function in patients with chronic kidney disease[J]. *Clin Chim Acta*, 2006, 366(1-2):243-248.
- [14] Cheng S, Pollock AS, Mahimkar R, Olson JL, Lovett DH. Matrix metalloproteinase 2 and basement membrane integrity: a unifying mechanism for progressive renal injury[J]. *FASEB J*, 2006, 20(11):1898-1900.
- [15] Endo T, Nakabayashi K, Sekiuchi M, Kuroda T, Soejima A, Yamada A. Matrix metalloproteinase-2, matrix metalloproteinase-9, and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in the peripheral blood of patients with various glomerular diseases and their implication in pathogenetic lesions: study based on an enzyme-linked assay and immunohistochemical staining[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2006, 10(4):253-261.
- [16] En-Nia A, Reisdorff J, Stefanidis I, Floege J, Heinrich PC, Mertens PR. Mesangial cell gelatinase A synthesis is attenuated by oscillating hyperbaric pressure[J]. *Biochem J*, 2002, 362(Pt 3):693-700.
- [17] Vincenti MP. The matrix metalloproteinase (MMP) and tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP) genes. Transcriptional and posttranscriptional regulation, signal transduction and cell-type-specific expression[J]. *Methods Mol Biol*, 2001, 151:121-148.
- [18] 温继兰,李荣山. 基质金属蛋白酶9与肾脏疾病[J]. 国际移植与血液净化杂志,2007,5(1):36-38.
- [19] 富建华,薛辛东. 基质金属蛋白酶-8及其组织抑制因子-1在高氧致新生鼠肺纤维化中的基因表达及其意义[J]. 中国当代儿科杂志,2007,9(1):1-5.
- [20] 肖建武,吴小川,易著文. 地塞米松对大鼠肾小球系膜细胞增生水平的影响[J]. 中国当代儿科杂志,2002,4(6):446-447.
- [21] 甘卫华,蔡毅,陈荣华,黄松明,黄文彦,费莉,等. 细胞凋亡与大鼠肾小球硬化关系的初步探讨[J]. 中国当代儿科杂志,2002,4(3):198-200.

(本文编辑:吉耕中)