

- breast cancer[J]. *Int J Oncol*, 2008, 33(6):1165.
- [17] Corkery B, Crown J, Clynes M, et al. Epidermal growth factor receptor as a potential therapeutic target in triple-negative breast cancer[J]. *Ann Oncol*, 2009, 20(7):862.
- [18] Burstein HJ, Elias AD, Rugo HS, et al. Phase II study of sunitinib malate, an oral multitargeted tyrosine kinase inhibitor, in patients with metastatic breast cancer previously treated with an anthracycline and a taxane[J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(11):1810.
- [19] Guler G, Huebner K, Himmetoglu C, et al. Fragile histidine triad protein, WW domain-containing oxidoreductase protein Wwox, and activator protein 2gamma expression levels correlate with basal phenotype in breast cancer[J]. *Cancer*, 2009, 115(4):899.
- [20] Nofech-Mozes S, Trudeau M, Kahn HK, et al. Patterns of recurrence in the basal and non-basal subtypes of triple-negative breast cancers[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2009, 118(1):131.
- [21] Liu ZB, Wu J, Ping B, et al. Expression of CK5/6 and CK17 and its correlation with prognosis of triple-negative breast cancer patients[J]. *中华肿瘤杂志*, 2008, 30(8):610.
- [22] Nogi H, Kobayashi T, Suzuki M, et al. EGFR as paradoxical predictor of chemosensitivity and outcome among triple-negative breast cancer[J]. *Oncol Rep*, 2009, 21(2):413.

(收稿日期:2009-08-25 修回日期:2009-09-27)

## · 综 述 ·

# 基质金属蛋白酶及其抑制剂在胰腺癌中的研究进展

赵晓亮 综述, 孙治君 审核

(重庆医科大学附属第二医院乳腺甲状腺胰腺外科 400010)

**关键词:** 基质金属蛋白酶; 基质金属蛋白酶组织抑制剂; 胰腺癌

**中图分类号:** R735.9

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1671-8348(2010)07-0826-03

胰腺癌(pancreas carcinoma)是胰腺恶性肿瘤中恶性程度较高的肿瘤。在美国恶性肿瘤死亡人数中,胰腺癌占第4位<sup>[1]</sup>,而且其发病率呈上升趋势。胰腺癌是预后较差的恶性肿瘤之一,5年生存率不足5%,其主要因素在于胰腺癌是一种相对缺乏血供的无包膜实体肿瘤,以浸润方式向周围扩展,并具有周围血管性浸润和嗜神经生长,且早期诊断率较低并易于转移,约半数的患者确诊时已有转移发生。胰腺癌具有高度侵袭性,尤其是神经浸润,其发生比例高达53.5%~100%。为改善胰腺癌的预后,探讨其发生发展机制非常重要。研究表明胰腺星状细胞(pancreatic stellate cell, PSC)不仅可以产生细胞外基质(extracellular matrix, ECM),还可以通过分泌基质金属蛋白酶(MMPs)和基质金属蛋白酶抑制物(TIMPs)来调节ECM的降解,ECM和基底膜的降解被认为是肿瘤侵袭转移的首要步骤,而MMPs通过降解、改建ECM和改变肿瘤细胞微环境,增加肿瘤细胞侵袭能力来发挥作用。所以,通过研究MMPs和TIMPs两者在胰腺癌中的分泌及功能,提高对胰腺癌的诊断、治疗及预后有重要意义。本文对MMPs、TIMPs在胰腺癌中近年来的研究综述如下。

## 1 MMPs的结构及生物作用

**1.1 MMPs的结构** 基质金属蛋白酶是一个大家族,因其需要 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 等金属离子作为辅助因子而得名,其家族成员具有相似的结构,一般由5个功能不同的结构域组成:(1)疏水信号肽序列。(2)前肽区,主要作用是保持酶原的稳定。当该区域被外源性酶切断后,MMPs酶原被激活。(3)催化活性区,有锌离子结合位点,对酶催化作用的发挥至关重要。(4)富含脯氨酸的铰链区。(5)羧基末端区,与酶的底物特异性有关。其中酶催化活性区和前肽区具有高度保守性。MMPs成员在上述结构的基础上各有特点。各种MMP间具有一定的底物特异性,但又不是绝对的。同一种MMP可降解多种细胞外基

质成分,而某一种细胞外基质成分又可被多种MMP降解,但不同酶的降解效率可不同。根据其对底物的特异性和原始结构分为5大类:间质胶原酶(collogenases)、明胶酶(gelatinase)、基质溶解素(stromelysins)、膜性MMPs(membrane type MMPs, MT. MMPs)和其他MMPs。由发现的先后顺序对MMP编号,目前已明确的人类MMP有23种<sup>[2]</sup>。MMP成员根据其在细胞中表达部位的不同,可分为胞质型和膜型两大类,前者分布在胞质中,后者表达在膜上。MMPs在结构上虽然大小各异,底物也不完全相同,但均含有信号肽、前肽和催化区3个结构域。并且酶催化区和前肽区两个结构域具有高度保守性。

**1.2 MMPs主要生物作用** MMPs主要生物作用是特异性的降解细胞外基质成分,但研究发现,MMPs在肿瘤组织中都是以无活性的酶原形式表达和分泌,因此,发挥其生物学效应前必须进行活化,活化过程主要是在激活基的作用下,使酶原形式的MMP脱去前肽,而具有酶活性。大多数MMP成员的活化过程需要外源性酶的参与,而膜型MMP则以活性酶的形式分泌,免疫组化和原位杂交的实验结果表明,MMP在肿瘤组织中表达具有组织特异性并受多种基因调控。一种肿瘤组织可以表达并分泌多种MMP,有些成员是由肿瘤细胞分泌的,有些是由基质分泌,还有一些成员则由肿瘤细胞和基质细胞共同分泌。MMPs在癌症的侵袭、生长、转移等生物学行为中起着至关重要的作用,如肿瘤的发生、肿瘤血管的生成等等。

## 2 TIMPs的结构及生物作用

**2.1 TIMPs的结构** TIMPs是金属蛋白酶的特异性抑制剂,在调控MMP的活性方面起着重要作用,MMPs的抑制剂可分为天然抑制剂和人工化学合成抑制剂两大类。天然抑制剂有金属蛋白酶组织抑制因子和 $\alpha$ -巨球蛋白TIMP,人工合成的抑制剂因其可批量生产并有较好的抑制肿瘤侵袭和转移作用

而成为目前的抗癌药物研究的一个新热点<sup>[3]</sup>,目前报道的共有 4 种:TIMP-1、TIMP-2、TIMP-3 和 TIMP-4<sup>[4-6]</sup>。它们都是由相应的 184~194 个氨基酸构成,其中有 12 个保守的半胱氨酸,有 6 个二硫化物结合区,由 TIMP-1 显示它是由一个 N 末端和一个 C 末端组成,且每个末端有 3 个二硫化物结合区。

**2.2 TIMPs 主要生物作用** 所有 MMPs 的家族成员都被一组组织金属蛋白酶抑制剂所抑制。在机体内活化的 MMPs 和 TIMPs 之间存在一种平衡关系,正是这种平衡关系,决定 MMPs 的活性。一旦改变了这种平衡关系,就将影响细胞的浸润以及肿瘤的侵袭、转移<sup>[7]</sup>。所有 TIMPs 作为 MMPs 的特异性抑制因子,均能以非共价键形式紧密结合 MMPs 催化区锌离子结合位点,从而抑制了 MMPs 对 ECM 的降解,所以,对抑制癌的浸润转移相当重要。TIMPs 除了能抑制已激活的 MMPs 的活性外,还能阻止或延缓酶原型 MMPs 转变为激活型 MMPs 的过程<sup>[8]</sup>。TIMPs 主要由巨噬细胞和结缔组织产生,成纤维细胞、成骨细胞也可产生 TIMPs<sup>[9]</sup>,TIMPs 主要从 2 个方面抑制 MMPs:(1) 在酶原活性阶段,所有的 TIMPs 均有与酶原形成复合物的能力,如:TIMP-2 与 proMMP-2, TIMP-1 与 proMMP-9 形成稳定的复合体阻碍 proMMP-1 的酶原自我激活;(2) 在活化的 MMPs 阶段,TIMPs 与活化状态的 MMPs 以 1:1 克分子比例非共价结合,这种结合是不可逆且稳定的,从而抑制 MMPs 的活性。

### 3 MMPs 及 TIMPs 与肿瘤的关系

**3.1 MMPs 对肿瘤的作用** 肿瘤组织中的 MMPs 主要有 3 个来源,即肿瘤细胞、基质细胞(成纤维细胞和浸润的炎性细胞)和癌旁组织。肿瘤发生发展的不同阶段与 MMPs 的表达密切相关,恶性肿瘤与良性肿瘤间 MMPs 表达也有显著的差异<sup>[10]</sup>。Liu 等<sup>[11]</sup>和 Chandru 等<sup>[12]</sup>报道乳腺癌患者肿瘤组织中的 MMP-2 和 MMP-9 明显增高,并且 MMP-2 在肿瘤组织和血浆中的水平与肿瘤的大小正相关,肿瘤是否有转移及在肿瘤发展的不同阶段 MMP-2 的水平也有显著的差别。MMP-2 及 MMP-9 在胃癌、非小细胞肺癌、肝癌等肿瘤组织中均增高<sup>[13]</sup>。目前的研究发现 MMPs 也有抑制肿瘤生长的作用,如 MMP-9 在卵巢癌患者上皮细胞有抑制肿瘤生长的作用,而在间质中则有促进肿瘤生长的作用,其机制尚不清楚<sup>[14]</sup>。MMPs 的作用主要是:(1)降解细胞外基质;(2)调节细胞黏附;(3)促进新生血管形成;(4)免疫功能的影响发现 MT1-MMP 可以裂解补体 C3b 片断,使乳腺癌细胞免受补体系统的损伤<sup>[15]</sup>;(5)调节肿瘤细胞凋亡。如:MMP-3、MMP-7、MMP-11 均有调节细胞凋亡的功能。

**3.2 TIMPs 对肿瘤的作用** TIMPs 被证明能抑制 MMPs 从而抑制恶性肿瘤的生长、侵袭和转移。TIMPs 也有另外一些生理功能,如:TIMP-1 和 TIMP-2 对许多细胞有促有丝分裂的能力,高表达这些抑制剂能减少肿瘤细胞生长;TIMP-2 抑制成纤维细胞生长因子,从而减少上皮细胞生长<sup>[16]</sup>,TIMPs 在细胞分裂周期聚集在成纤维细胞核内(在 S 期量最多),这些均证明 TIMPs 参与细胞生长,并且 TIMPs 这些生理作用与抑制 MMPs 无关。TIMP-3 调节血管细胞黏附分子外功能区释放,随着细胞因子的激活 TIMP-3 减少,提示 TIMP-3 有调节内皮细胞活化的功能<sup>[17]</sup>。

### 4 MMPs 及 TIMPs 与胰腺癌

研究发现很多 MMPs 和 TIMPs 在人类胰腺癌的发生、发展及预后中都有作用。MMPs 及 TIMPs 参与了胰腺癌的侵袭和转移行为,尤其是对于肿瘤包膜的侵犯、神经束的侵犯以及

血管内癌栓的形成过程。Crawford 等发现 MMP-7 是表达高的在胰腺癌组织中比在正常胰腺中,且 Yamamoto 等发现 MMP-7 在胰腺癌中的表达是预后不良和低的生存率。Lucie 等发现 MMP-11 在胰腺癌中的高表达显示低的生存率<sup>[18-19]</sup>。许多研究表明 MMP-7 和 MMP-11 的高表达均预示低的生存率,但 MMP-7 更具有独立性。而 MMP-2 和 MMP-9 与胰腺肿瘤的血管侵犯和远处转移及神经浸润有关,且 Jones 等<sup>[20]</sup>报道 MMP-9 的表达与肿瘤分化、大小、淋巴结转移及预后无关。MMP-2 可降解细胞外基质和基底膜的主要成分 IV 型胶原,在肿瘤细胞的浸润、转移灶的形成以及瘤组织内新生血管的形成中均起重要作用。研究表明 MMP-2 蛋白在癌组织中既可以表达于癌细胞,也可以表达于其他间质细胞,有人已经在胰腺癌组织中的癌细胞、成纤维细胞和内皮细胞内检测到 MMP-2 蛋白的存在。近年研究发现,胰腺癌组织中 MMP-2 过表达除了可导致细胞外基质降解还可以破坏神经束膜,使癌细胞能脱离癌巢向周围神经及淋巴管浸润,促进胰腺癌细胞的神经浸润、远处转移和病程的进展。也有研究表明,MMP-2 在胰腺癌中只改变细胞外基质,从而促进肿瘤的浸润与转移,而不是促进细胞增殖与凋亡<sup>[21]</sup>。另外发现 MMP-2 mRNA 和 MMP-14 mRNA 有内在联系,MMP-14 可能与 MMP-2 前体的活化有关。TIMPs 在许多细胞和组织中的不同表达表明每个 TIMP 的生理作用是有差别的,且 TIMPs 不仅有抑制 MMPs 的作用,而且对细胞的生理功能也有一定的作用。早期研究显示 TIMPs 有抗肿瘤和抗转移作用。然而,研究显示在胃癌中 TIMP-1 的高表达是预后不良的。有研究表明 TIMP-1 基因在胰腺癌中的表达阳性率随病理分化程度降低而减少,但是 TIMPs 在胰腺癌中的研究仍非常少。虽然,目前一些人工合成的 TIMPs(如:马马斯他、新伐司他、普琳司他等等)以 MMPs 催化部位为靶点并通过与有催化作用的锌离子整合起作用而用于肿瘤研究,但实验结果并不理想。所以,对 TIMPs 在胰腺癌中的作用还有待于进一步研究。

### 5 结 语

尽管目前针对胰腺癌的药物不断发展,也有针对胰腺癌干细胞的靶向治疗试验等,但胰腺癌在病程的较早期即可发生扩散,且无包膜而且分化不良者转移发生更常见。肿瘤的包膜浸润、周围神经浸润、血管浸润和腹腔淋巴结转移是胰腺癌进展的特点。胰腺癌的发生、发展是一个非常复杂的过程,在这个过程中 MMPs 与 TIMPs 发挥了极其重要的作用。所以,胰腺癌组织中 MMPs 及 TIMPs 分布,以及量的研究对胰腺癌早期诊断,早期治疗及预后有重要的意义。因此,对 MMPs 和 TIMPs 值得进一步去研究的方面:(1)它们在胰腺组织的变化是否是正常组织转变为肿瘤的使动因素之一;(2)这种变化是否能给在胰腺癌的早期诊断及治疗提供新的方法。

### 参考文献:

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer Statistics, CA Cancer[J]. Clin, 2008, 58(1): 71.
- [2] Gillian M, Hideaki N. Progress in matrix metalloproteinase research[J]. Molecular Aspects of Medicine, 2008, 29(3): 290.
- [3] Milner JM, Rowan AD, Cawston TE, et al. Metalloproteinase and inhibitor expression profiling of resorbing cartilage reveals pro-collagenase activation as a critical step for collagenolysis[J]. Arthritis Res Ther, 2006, 8

- (5):142.
- [4] Xia D, Yan LN, Tong Y, et al. Construction of recombinant adenoviral vector carrying human tissue inhibitor of metalloproteinase-1 gene and its expression in vitro[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2005, 4(2):259.
  - [5] Lu KV, Jong KA, Rajasekaran AK, et al. Upregulation of tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)-2 promotes matrix metalloproteinase (MMP)-2 activation and cell invasion in a human glioblastoma cell line[J]. Lab Invest, 2004, 84(1):8.
  - [6] Han X, Zhang H, Jia M, et al. Expression of TIMP-3 gene by construction of a eukaryotic cell expression vector and its role in reduction of metastasis in a human breast cancer cell line[J]. Cell Mol Immunol, 2004, 1(4):308.
  - [7] Waveren C, Sun Y, Cheung HS, et al. Oxidative phosphorylation dysfunction modulates expression of extracellular matrix remodeling genes and invasion[J]. Carcinogenesis, 2006, 27(3):409.
  - [8] Rapti M, Knauper V, Murphy G, et al. Characterization of the AB loop region of TIMP-2. Involvement in pro-MMP-2 activation[J]. J Biol Chem, 2006, 281(33):2338.
  - [9] Rothhut B, Ghoneim C, Antonicelli F, et al. Epidermal growth factor stimulates matrix metalloproteinase-9 expression and invasion in human follicular thyroid carcinoma cells through focal adhesion kinase[J]. Biochimie, 2007, 89(5):613.
  - [10] Rapti M, Knauper V, Murphy G, et al. Characterization of the AB loop region of TIMP-2. Involvement in pro-MMP-2 activation[J]. J Biol Chem, 2006, 281(33):2338.
  - [11] Liu SC, Yang SF. Relationships between the level of matrix metalloproteinase-2 and tumor size of breast cancer[J]. Clin Chim Acta, 2006, 371(1):92.
  - [12] Chandru H, Sharada AC, Manjunath S. Expression of matrix metalloproteinase (MMP-2) and extracellular matrix metalloproteinases inducer (EMMPRIN) in benign and advanced breast cancer tissue samples[J]. Biomed Khim, 2007, 53(4):461.
  - [13] Wu ZS, Wu Q, Yang JH, et al. Prognostic significance of MMP-9 and TIMP-1 serum and tissue expression in breast cancer[J]. Cancer, 2008, 2(3):210.
  - [14] Frich L, Bjornland K, Pettersen S, et al. Increased activity of matrix metalloproteinase 2 and 9 after hepatic radiofrequency ablation[J]. J Surg Res, 2006, 135(2):297.
  - [15] Sillanpaa S, Anttila M, Voutilainen K, et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in epithelial ovarian cancer[J]. Gynecol Oncol, 2007, 104(2):296.
  - [16] Rozanov DV, Savinov AY, Golubkov VS, et al. Cellular membrane type-1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) cleaves C3b, an essential component of the complement system[J]. Biol Chem, 2004, 279(45):4655.
  - [17] Lambert E, Dasse E, Haye B, et al. TIMPs as multifunctional proteins[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2004, 49(3):187.
  - [18] Singh RJ, Mason JC, Lidington EA, et al. Cytokine stimulated vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) ectodomain release is regulated by TIMP-3[J]. Cardiovasc Res, 2005, 67(1):39.
  - [19] Lucie EJ, Michelle J, Humphreys, et al. Comprehensive analysis of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor expression in pancreatic cancer[J]. Clinical Cancer Research Vol, 2004, 10(21):2832.
  - [20] Jones LE, Humphreys MJ, Campbell F, et al. Comprehensive analysis of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor expression in pancreatic cancer; increased expression of matrix metalloproteinase-7 predicts poor survival[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(8):2832.
  - [21] Zhi YH, Song MM. Suppression of matrix metalloproteinase-2 via RNA interference inhibits pancreatic carcinoma cell invasiveness and adhesion[J]. Gastroenterol, 2009, 15(9):1072.

(收稿日期:2009-08-27 修回日期:2009-09-09)

(上接第 816 页)

疗,无 1 例发生明显的出血现象。

#### 参考文献:

- [1] 徐蕾,罗荣城,紫杉醇,吉西他滨分别联合顺铂治疗晚期乳腺癌的临床研究[J]. 重庆医学,2005,34(3):440.
- [2] Schmid P, Possinger K. Chemotherapy for metastatic breast cancer[J]. Zentralbl Gynakol, 2006, 128(6):318.
- [3] 孙燕,周际昌. 临床肿瘤内科手册[M]. 北京:人民卫生出版社,2003:301.
- [4] 徐兵河,袁梵,冯继峰. 洛铂联合长春瑞滨治疗晚期乳腺癌 33 例的临床疗效[J]. 临床肿瘤学杂志,2006,11(12):877.
- [5] Bonadonna G. Vinorelbine, an active non cross-resistant drug in advanced breast cancer, Results from a phase II study[J].

Breast Cancer Research and Treatment, 2003, 45:285.

- [6] Shamseddine A, El-Saghir N, Chehal A, et al. CisPlatin and vinorelbine (PVn) for the treatment of advanced breast cancer: 10 years of experience[J]. J Med Liban, 2004, 52(3):126.
- [7] Shamseddine A, Khalifeh M, Chehal A, et al. A clinical phase II study of cisplatin and vinorelbine (PVn) in advanced breast carcinoma (ABC)[J]. Am J Clin Oncol, 2005, 28(4):393.
- [8] 文国娟,梁彬,郑玉军. AT 和 NP 方案治疗晚期复发转移性乳腺癌近期疗效观察[J]. 大连医科大学学报, 2006, 28(5):393.

(收稿日期:2009-08-29 修回日期:2009-12-14)