

· 论 著 ·

食管鳞状细胞癌易感性与 MMP-9 C-1562T 基因多态性的关联研究*

傅 勇^{1#}, 胡华梅², 谭 益³, 唐胜军³, 熊 刚¹, 杨 康^{1△}, 白 云²

(1. 第三军医大学附属西南医院胸心外科, 重庆 400038; 2. 第三军医大学基础部遗传教研室, 重庆 400038; 3 重庆市三峡中心医院胸外科, 重庆 404000)

摘要:目的 研究中国西南地区人群食管鳞状细胞癌(ESCC)与基质金属蛋白酶-9(MMP-9)基因启动子区 C-1562T 多态性的关系。方法 应用聚合酶链反应-限制性片段多态性(PCR-RFLPs)方法检测 202 例 ESCC 患者(ESCC 组)及 260 名健康者(对照组)MMP-9 C-1562T 多态性的分布情况。结果 对照组 MMP-9-1562 CC、CT 和 TT 的基因型频率分别为 78.1%、21.5%、0.4%; ESCC 组 MMP-9-1562 CC、CT 和 TT 的基因型频率分别为 71.8%、25.7%、2.5%。对照组与 ESCC 组的 MMP-9 C-1562T 等位基因型及基因型分布差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 MMP-9 C-1562T 基因多态性可能与中国西南地区人群 ESCC 的易感性无关。

关键词:食管肿瘤; 基质金属蛋白酶; 多态性; 单核苷酸; 疾病易感性

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.07.001

文献标识码: A

文章编号:1671-8348(2011)07-0625-03

Correlation between polymorphisms of matrix metalloproteinase-9 and esophageal squamous cell carcinoma patients in southwest China*

Fu Yong^{1#}, Hu Huamei², Tan Yi³, Tang Shengjun³, Xiong Gang¹, Yang Kang^{1△}, Bai Yun²

(1. Department of Cardiothoracic Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China; 2. Department of Genetics, Division of Basic Courses, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China; 3. Department of Thoracic Surgery, Sanxia Central Hospital, Chongqing 404000, China)

Abstract: Objective To study the correlation between the polymorphisms of matrix metalloproteinase-9 and esophageal squamous cell carcinoma patients in southwest China. **Methods** The polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphisms(PCR-RFLPs) technique was applied to analyze the MMP-9-1562C/T polymorphisms in normal group(260) and ESCC group(202). **Results** Among healthy controls, frequencies of the MMP-9-1562CC, CT, TT genotypes were 78.1%, 21.5%, 0.4%, respectively; among ESCC patients, frequencies of the MMP-9-1562CC, CT, TT genotypes were 71.8%, 25.7%, 2.5%, respectively. No significant difference was found in the overall genotype and allelotype distribution of the MMP-9-1562 SNPs($P>0.05$). **Conclusion** MMP-9 C-1562T polymorphisms might not be correlated with the susceptibility to ESCC in south-west China.

Key words: esophageal neoplasms; matrix metalloproteinase; polymorphism, single nucleotide; disease susceptibility

食管癌在全世界恶性肿瘤发病中居第 9 位, 是常见恶性肿瘤之一^[1]。中国是食管癌高发区, 食管癌死亡占中国恶性肿瘤病死率的 21.8%^[2]。前期研究结果表明, 食道癌的类型及其转移与基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)的蛋白表达相关^[3]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)是一族结构与功能上相关的蛋白水解酶类。MMP-9 是 MMPs 家族中相对分子质量最大的酶, MMP-9 基因多态性影响基因的转录水平, 从而导致基因功能改变。

目前有文献报道, MMP-9 基因多态性与肺癌、胃癌及心血管疾病的发生、发展有相关性^[4-6]; 亦有文献报道, MMP-9 基因多态性与肺癌、肝癌及结直肠癌的发生、发展无相关性^[7-9]。而 MMP-9 基因启动子区 C-1562T 多态性与食管癌发生、发展的关系, 目前国内外尚无相关文献报道。本文通过限制性片段长度多态性方法对 MMP-9 C-1562T 基因多态性与中国西南地区人群中食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)的关系进行初步研究, 旨在深化了解和认识中国西南地区人群 ESCC 发生、发展的相关遗传背景。本研究是完全按照中国医学伦理会要求征得所有研究对象知情同意的前提下进行实验研究的。

1 资料与方法

1.1 一般资料 所有的研究对象都是长期居住在中国西南地区(包括云南、贵州、四川、重庆等)的汉族人群。ESCC 组的资料 and 血标本来自 2006 年 6 月至 2008 年 3 月第三军医大学西南医院及重庆市三峡中心医院胸心外科的住院手术治疗的 202 例 ESCC 患者, 全部都由临床病理学诊断结果证实。对照组为同期在该院进行健康体检的健康志愿者 260 名。现吸烟或曾吸烟 5 支/天以上并持续 2 年以上者定义为吸烟者。现饮酒或曾饮酒 100 g/d 以上并持续 2 年以上者定义为饮酒者。

1.2 方法 应用聚合酶链反应-限制性片段多态性(PCR-RFLPs)方法检测 202 例 ESCC 患者(ESCC 组)及 260 名健康者(对照组)MMP-9 C-1562T 基因多态性。

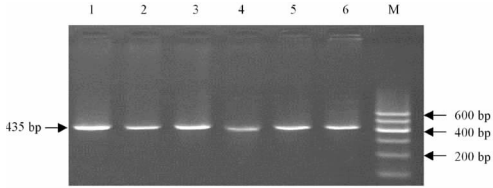
1.2.1 标本采集和 DNA 提取 所有研究对象均采集静脉血 5 mL, 经枸橼酸钠抗凝, 置 4 °C 冰箱保存, 并于采血后 7 d 以内用美国 Promega 公司生产的基因组抽取试剂盒(Wizard Genomic DNA Purification kit)提取全血基因组 DNA, DNA 保存于 -20 °C 冰箱内备用。

1.2.2 试剂 MMP-9 基因扩增反应引物全部由上海 Invitrogen 公司合成。Taq 酶、dNTPs 及 PCR 反应体系为大连宝生

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30872549); 重庆市自然科学基金资助项目(2009BA5013)。△ 通讯作者, Tel: (023) 68754183; E-mail: fuyongd@163.com。# 现在重庆市垫江县人民医院胸外科工作(邮编 408300)。

物工程公司产品。

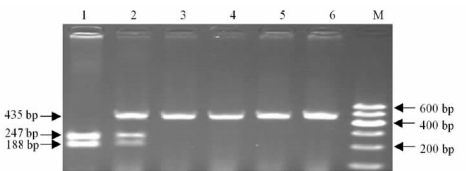
1.2.3 PCR 扩增所需片段 PCR 反应体积为 25 μ L, 其中模板 DNA 100 ng, 10 \times PCR buffer 2.5 μ L, MgCl₂ 1.5 mmol, Taq 酶 0.75 U, dNTPs 200 μ mol 以及上、下游引物各 200 nmol/L, 用蒸馏水补足 PCR 反应体积。扩增的引物序列: 5'-GCC TGG CAC ATA GTA GGC CC-3' (上游), 5'-CTT CCT AGC CAG CCG GCA TC-3' (下游)。反应条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min 后, 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 57 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 35 个循环后, 72 $^{\circ}$ C 继续延伸 5 min。PCR 反应在德国 Eppendorf PCR 仪上进行。反应完成后, 取 5 μ L PCR 反应产物于 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 在紫外灯下观察条带位置, 若在相应位置有清晰扩增条带 (DNA 样品经 PCR 扩增后产生 435 bp 片段), 则进行酶切反应。PCR 扩增产物电泳图谱见图 1。



1~6: MMP-9 PCR 产物; M: 标记物。

图 1 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳

1.2.4 Sph I 限制性内切酶消化扩增片段 在 20 μ L 酶切体系中加入 10 \times H 缓冲液 1 μ L, Sph I 内切酶 10 U, PCR 扩增产物 8 μ L, 用蒸馏水补足酶切反应体积, 放置于 37 $^{\circ}$ C 环境内酶切消化过夜。消化产物以 2% 的琼脂糖凝胶电泳, 于紫外灯下观察结果。MMP-9 C-1562T 的单核苷酸多态性 (SNPs): TT 纯合基因型存在 Sph I 的酶切位点产生 247 bp 和 188 bp 2 条 DNA 片段, CC 纯合基因型由于缺乏 Sph I 的酶切位点从而表现为原始 PCR 后的 435 bp 1 条 DNA 片段, CT 杂合基因型则表现为 435 bp, 247 bp 和 188 bp 3 条 DNA 片段 (图 2)。为进行基因型检测的质量控制, 随机选取 10% 进行重复实验, 重复吻合率为 100%。



1: MMP-9-1562T 纯合子; 2: MMP-9-1562 杂合子; 3~6: MMP-9-1562C 纯合子; M: 标记物。

图 2 MMP-9 基因限制性片段长度多态性分析

1.3 统计学处理 数据统计分析采用 SPSS13.0 软件进行。经 χ^2 检验比较基因型频率的观察值与预期值进行 Hardy-Weinberg 平衡分析。ESCC 组与对照组的基因型分布比较采用四格表 χ^2 检验。以非条件 logistic 回归法计算表示相对危险度的近似估计值比 (odds ratio, OR) 及其 95% 可信区间 (confidence interval, CI)。所有统计学检验以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象人口学分布情况 ESCC 组及对照组研究对象的平均年龄分别为 [57.1 \pm 8.2 (34~80)] 岁, [56.2 \pm 8.5 (34~80)] 岁, 组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。ESCC 组吸烟、饮酒者显著高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 因

而吸烟、饮酒显著增加患 ESCC 的发病风险, 见表 1。

表 1 两组研究对象人口学分布及 MMP-9-1562C/T 等位基因型频率比较 [n (%)]

项目	对照组	ESCC 组	χ^2	P
性别				
男	187(71.9)	158(78.2)	2.38	0.12
女	73(28.1)	44(21.8)		
年龄(岁)				
≤ 50	61(23.5)	38(18.8)	1.46	0.23
> 50	199(76.5)	164(81.2)		
吸烟状况				
吸烟者	109(41.9)	123(60.9)	16.36	0.00
不吸烟者	151(58.1)	79(39.1)		
饮酒状况				
饮酒者	75(28.8)	84(41.6)	8.17	0.00
不饮酒者	185(71.2)	118(58.4)		
MMP-9 等位基因				
C	462(88.8)	342(84.7)		
T	58(11.2)	62(15.3)		

表 2 两组 MMP-9 SNPs 多态性的分层比较 [n (%)]

项目	CC	CT	TT	OR(95% CI)
年龄小于或等于 50 岁				
对照组	56(21.5)	5(1.9)	0(0)	0.25(0.08~0.80)
ESCC 组	28(13.9)	9(4.5)	1(0.5)	
年龄大于 50 岁				
对照组	147(56.5)	51(19.6)	1(0.4)	0.88(0.55~1.40)
ESCC 组	117(57.9)	43(21.3)	4(2.0)	
不吸烟者				
对照组	108(41.5)	43(16.5)	0(0)	1.03(0.56~1.90)
ESCC 组	57(28.2)	19(9.4)	3(1.5)	
吸烟者				
对照组	95(36.5)	13(5.0)	1(0.4)	0.37(0.19~0.73)
ESCC 组	88(43.6)	33(16.3)	2(1.0)	
不饮酒者				
对照组	139(53.5)	45(17.3)	1(0.4)	0.71(0.47~1.09)
ESCC 组	91(45.0)	23(11.4)	4(2.0)	
饮酒者				
对照组	64(24.6)	11(4.2)	0(0)	0.31(0.14~0.68)
ESCC 组	54(26.7)	29(14.4)	1(0.5)	
总计				
对照组	203(78.1)	56(21.5)	1(0.4)	1.59(1.05~2.40)
ESCC 组	145(71.8)	52(25.7)	5(2.5)	

2.2 基因多态性分析 所有标本均成功进行了基因分型, 重复实验的吻合率达到 100%。ESCC 组 MMP-9-1562 C、T 等位基因型频率分别为 84.7%、15.3%, 对照组 MMP-9-1562 C、T 等位基因型频率分别为 88.8%、11.2%(表 1); ESCC 组 MMP-

9-1562 CC、CT 和 TT 的基因型频率分别为 71.8%、25.7%、2.5%；对照组的 MMP-9-1562 CC、CT 和 TT 的基因型频率分别为 78.1%、21.5%、0.4% (表 2)。ESCC 组与对照组 MMP-9 等位基因型及基因型频率分布比较差异均无统计学意义 (χ^2 分别为 3.57、2.42, P 值分别为 0.06、0.12)。因为 MMP-9-1562 TT 纯合子在 ESCC 和对照组人群中的比例都很低, 本实验把 MMP-9-1562 CT 和 TT 基因型合并进行分层分析, 与 CC 基因型相比, CT 和 TT 基因型并不能增加 ESCC 的发病风险 (校正 $OR=0.71, 95\% CI=0.47\sim 1.09$)。当按吸烟和饮酒进行分层分析时, 对照组与 ESCC 组的 MMP-9-1562 CT 基因型频率分布比较也未发现明显差异。

由于淋巴结转移是影响 ESCC 患者预后的重要因素, 所以本研究也进行了 MMP-9 基因多态性与 ESCC 淋巴结转移的关联性分析。ESCC 有淋巴结转移的患者中 MMP-9-1562 CC 基因型占 15.9%, CT+TT 占 7.4%, ESCC 无淋巴结转移的患者中 MMP-9-1562 CC 基因型占 55.9%, CT+TT 占 20.8%, ESCC 有或无淋巴结转移的患者中 MMP-9 CC 基因型与 CT+TT 基因型比较差异无统计学意义 ($\chi^2=0.41, P=0.52$), 见表 3。ESCC 组及对照组基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡 (P 值分别为 0.90、0.16)。

表 3 ESCC 淋巴结转移与 MMP-9 基因多态性的关系

淋巴结转移	CC[n(%)]	CT+TT[n(%)]	P	OR(95%CI)
阳性	32(15.9)	15(7.4)		
阴性	113(55.9)	42(20.8)	0.52	0.793(0.39~1.61)

3 讨论

MMPs 是一组 Zn^{+} 依赖酶, 属于 Metzincin 超家族。迄今为止, 已经发现人体内有 26 种 MMPs, 根据其结构和作用底物不同, 可以分为 5 类: 间质胶原酶类、明胶酶类、基质分解素类、基质裂解蛋白酶类和模型 MMPs 类^[10-11]。有研究发现, MMPs 主要介导肿瘤细胞对宿主细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的降解, 从而影响细胞黏附分子的功能及调控肿瘤细胞的生长^[12]; MMP-2、MMP-7 等基因的启动子区域存在的单核苷酸多态性在胃癌、肺癌等肿瘤的发生、发展中存在个体间的显著性差异^[13-14], 表明 MMPs 基因内的遗传多态性在肿瘤发生、发展过程中可能具有基因型依赖性的差异, 并且其可能以等位特异性的方式影响相应 MMPs 的表达。

MMP-9 又称明胶酶 B, 相对分子质量为 92 kD, 是 MMPs 家族的重要成员之一, 它可以有效地降解基底膜的主要成分 IV、V、VI、X 型胶原, 从而破坏基底膜的完整性, 以利于肿瘤细胞的发生、发展^[15]。人类 MMP-9 基因位于染色体 20q11.2-q13.1, 包括 13 个外显子和 12 个内含子^[16-17]。与肿瘤相关的一些基因可通过天然的遗传变异, 从而调节转录和翻译, 影响个体对肿瘤的易感性。MMP-9-1562C/T 基因多态所在的启动子区域是一转录抑制因子的识别位点, 而 C→T 破坏了抑制因子的识别结合位点, 从而改变了启动子的活性, 影响到基因的转录水平, 导致基因功能的改变。Matsumura 等^[5]研究发现, MMP-9-1562C/T 基因的 T 等位基因与胃癌的浸润深度、淋巴结转移有显著相关性。而 Grieu 等^[18]研究发现, MMP-9-1562C/T 基因的 T 等位基因与乳腺癌的预后具有显著相关性。

本研究发现 MMP-9-1562C/T 基因多态性与中国西南地区人群 ESCC 的发生、发展易感性无关; MMP-9-1562C/T 基

因多态性与中国西南地区人群 ESCC 淋巴结转移亦无关, 与 Wang 等^[7]和 Xu 等^[9]研究结果相同, 而与 Matsumura 等^[5]、Pollanen 等^[6]和 Grieu 等^[18]研究结果相反, 考虑主要可能与研究的人群、肿瘤的类型、研究的背景等不同以及病例与对照组样本数量有限等有关。下一步本研究还将进行更大样本的研究工作, 以进一步阐明中国西南地区人群 MMP-9 基因多态性与食管癌易感性的相关性, 从而为临床医生早诊断、早治疗食管癌以及判断食管癌预后提供一定的理论依据。

参考文献:

- [1] McCabe ML, Dlamini Z. The molecular mechanisms of oesophageal cancer[J]. Int Immunopharmacol, 2005, 5(5-7): 1113-1130.
- [2] 邵令方. 食管及贲门恶性肿瘤[M]//顾恺时. 顾恺时胸心外科手术学. 上海: 上海科学技术出版社, 2003: 926-930.
- [3] 熊松柏, 徐义, 杨康, 等. 食管鳞状细胞癌中 MMP-9、CD-147 的表达及意义[J]. 现代生物医学进展, 2007, 1(7): 42-43.
- [4] Hu ZB, Huo X, Lu D, et al. Functional polymorphisms of matrix metalloproteinase-9 are associated with risk of occurrence and metastasis of lung cancer[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(15): 5433-5439.
- [5] Matsumura S, Oue N, Nakayama H, et al. A single nucleotide polymorphism in the MMP-9 promoter affects tumor progression and invasive phenotype of gastric cancer[J]. Cancer Res Clin Oncol, 2005, 131(1): 19-25.
- [6] Pollanen PJ, Karhunen PJ, Mikkelsen J, et al. Coronary artery complicated lesion area is related to functional polymorphism of matrix metalloproteinase 9 gene: an autopsy study[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21(9): 1446-1450.
- [7] Wang YM, Fang SM, Wei LZ, et al. No association between the C-1562T polymorphism in the promoter of matrix metalloproteinase-9 gene and non-small cell lung carcinoma[J]. Lung Cancer, 2005, 49(2): 155-161.
- [8] Zhai Y, Qiu W, Dong XJ, et al. Functional polymorphisms in the promoters of MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-12 and MMP-13 are not associated with hepatocellular carcinoma risk[J]. Gut, 2007, 56(3): 4452-4471.
- [9] Xu EP, Huang Q, Lu BJ, et al. The correlation between polymorphisms of matrix metalloproteinase-2 and-9 genes and colorectal cancer of Chinese patients[J]. Chin J Med Genet, 2006, 23(1): 78-81.
- [10] Johnson N, Ahonen M, Kahari VN, et al. Matrix Metalloproteinases in tumor invasion[J]. Cell Mol Life Sci, 2000, 57(1): 5-15.
- [11] Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs [J]. Cardiovasc Res, 2006, 69(3): 562-573.
- [12] Borgers D. Mild hypertension; drug prophylaxis or primary prevention[J]. MMW Munch Med Wochenschr, 1979, 121(43): 1407-1410.
- [13] Zhou Y, Yu C, Miao X, et al. Functional (下转第 630 页)

及对软骨及骨的侵蚀。但青蒿琥酯在抑制炎症时 IL-17、MMP-3 及 MMP-9 和 TNF- α 三者之间的关系目前还不清楚,还有待进一步探讨。IL-17 在佐剂性关节炎发病中作用的揭示,针对 IL-17 及与 IL-17 相关的细胞因子进行治疗干预手段,就有可能早期阻止病情进展,为治疗该类疾病提供了新的思路。但 RA 是一种复杂的免疫性疾病,有多种免疫活性细胞参与发病过程,IL-17 在 RA 中的具体作用机制以及与其他免疫细胞的相互作用,尚需进一步的研究和探讨。随着对 IL-17 研究的不断加深,将促进人们对免疫系统效应功能更全面的认识,为自身免疫性疾病等发病机制和防治对策提供新的认识。

参考文献:

- [1] 樊有龙,傅颖媛. 类风湿关节炎患者 AECA、VEGF、IL-17 的检测及临床相关性研究[J]. 中国实验诊断学,2010,14(6):34-36.
- [2] 魏平,付爽,王俊祥,等. 基质金属蛋白酶-3 在类风湿关节炎中的表达及其意义[J]. 临床荟萃,2006,21(19):1389-1390.
- [3] Giannelli G, Erriquez R, Iannone F. MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 levels in patients with rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis[J]. Clin Exp Rheumatol, 2004,22(3):335-338.
- [4] 刘鹏,叶玉津,许韩师,等. 青蒿琥酯对类风湿关节炎滑膜细胞 TNF- α 分泌的抑制作用及其机制研究[J]. 中国药物与临床,2007,7(7):520-523.
- [5] Kurosaka D, Yoshida K, Yasuda J, et al. Inhibition of arthritis by systemic administration of endostatin in passive murine collagen induced arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2003,62(7):677-679.
- [6] 张晶,左晓霞,李通,等. 沙利度胺对大鼠佐剂性关节炎的治疗作用及其对炎性细胞因子的影响[J]. 中华风湿病学杂志,2005,11(9):656-659.
- [7] Chen Z, O'shea JJ. Regulation of IL-17 production in hu-

man lymphocytes[J]. Cytokine,2008,41(2):71-78.

- [8] Annunziato F, Cestai K, Santafilaaci V, et al. Phenotypic and functional features of human Th17 cells[J]. J Exp Med,2007,204(9):1849-1851.
- [9] Pickens SR, Volin MV, Mandelin AM, et al. IL-17 contributes to angiogenesis in rheumatoid arthritis[J]. J Immunol,2010,184(6):3233-3241.
- [10] Lubberts E. IL-17/Th17 targeting: On the road to prevent chronic destructive arthritis? [J]. Cytokine,2008,41(2):84-91.
- [11] Shahrara S, Pickens SR, Dorfleutner A, et al. IL-17 induces monocyte migration in rheumatoid arthritis[J]. J Immunol,2009,182(6):3884-3891.
- [12] Kirkham BW, Lassere MN, Edmonds JP, et al. Synovial membrane cytokine expression is predictive of joint damage progression in rheumatoid arthritis: a two-year prospective study(the damage study cohort)[J]. Arthritis Rheum,2006,54(4):1122-1131.
- [13] 汤天凤,梁清华,罗徐,等. 活动期类风湿关节炎患者血清基质金属蛋白酶-3 及其组织抑制剂-1 水平的检测和意义[J]. 中华风湿病学杂志,2005,9(5):291-294.
- [14] Zhu P, Ding J, Zhou J, et al. Expression of CD147 on monocytes/macrophages in rheumatoid arthritis: its potential role in monocyte accumulation and matrix metalloproteinase production [J]. Arthritis Res Ther, 2005,7(5):R1023-1033.
- [15] Ma HL, Napierata L, Stedman N, et al. Tumor necrosis factor alpha blockade exacerbates murine psoriasis-like disease by enhancing Th17 function and decreasing expansion of Treg cells[J]. Arthritis Rheum,2010,62(2):430-440.

(收稿日期:2010-05-10 修回日期:2010-09-15)

(上接第 627 页)

- haplotypes in the promoter of matrix metalloproteinase-2 and lung cancer susceptibility[J]. Carcinogenesis, 2005, 26(6):1117-1121.
- [14] Zhang J, Jin X, Fang S, et al. The functional polymorphism in the matrix metalloproteinase-7 promoter increases susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma, gastric cardiac adenocarcinoma and non-small cell lung carcinoma[J]. Carcinogenesis,2005,26(10):1748-1753.
 - [15] Lamper K, Machein U, Machein MR, et al. Expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitor in human brain tumors[J]. Am J Pathol,1998,153(2):429-432.

- [16] Sang QXA, Douglas DA. Comprtational sequence-analysis of matrix metalloproteinases[J]. Protein Chem,1996,15(2):137-160.
- [17] Linn R, Dupon BR, Knight CB, et al. Reassignment of the 92Kda type Iv collagenase gene (CLG4B) to human chromosome 20[J]. Cytogenet Cell Genet,1996,72(23):159-161.
- [18] Grieu F, Li WQ, Iacopetta B. Genetic polymorphisms in the MMP-2 and MMP-9 genes and breast cancer phenotype[J]. Breast Cancer Res Treat,200,88(3):197-204.

(收稿日期:2010-08-16 修回日期:2010-11-04)