

· 临床研究 ·

腹股沟直疝患者腹横筋膜 MMP-2 及 TIMP-2 的表达研究

李 剑¹, 张学军^{1△}, 孙启玉², 高英梅⁴, 邢恩鸿³, 金小平³, 申兴斌³, 李 巍¹, 蔡建辉⁵

(1. 承德医学院附属医院普外科, 河北承德 067000; 2. 承德医学院附属医院检验科, 河北承德 067000; 3. 承德医学院附属医院中心实验室, 河北承德 067000; 4. 河北省迁安市第一人民医院神经内科 064400; 5. 河北医科大学第二附属医院普外科 河北石家庄 050000)

摘要:目的 比较基质金属蛋白酶-2(MMP-2)及基质金属蛋白酶组织抑制因子-2(TIMP-2)在腹股沟直疝患者腹横筋膜的表达,探讨腹股沟直疝的发病机制。方法 用免疫组化方法检测 2008 年 12 月至 2009 年 10 月在承德医学院附属医院行疝修补术的 13 例直疝与 17 例斜疝患者腹横筋膜中 MMP-2 及 TIMP-2 蛋白的表达情况。结果 直疝患者腹横筋膜 MMP-2 蛋白含量显著高于斜疝患者($P < 0.05$),TIMP-2 蛋白含量显著低于斜疝患者($P < 0.05$)。结论 腹股沟直疝患者腹横筋膜 MMP-2 及 TIMP-2 蛋白的异常变化是其发病原因之一。

关键词:基质金属蛋白酶 2; 疝, 腹股沟; 腹横筋膜

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.26.011

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)26-2627-02

Expressions of MMP-2 and TIMP-2 in the transversalis fascia of direct inguinal hernia

Li Jian¹, Zhang Xuejun^{1△}, Sun Qiyu², Gao Yingmei⁴, Xing Enhong³, Jin Xiaoping³, Shen Xingbin³, Li Wei¹, Cai Jianhui⁵

(1. General Surgery Department, 2. Clinical Laboratory Department, 3. Central Laboratory, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei 067000, China; 4. Department of Neurology, First People's Hospital, Qianan, Hebei 064400, China; 5. General Surgery Department, Second Affiliated Hospital of Hebei Medical University, Shi Jiazhuang, Hebei 050000, China)

Abstract: Objective To investigate the expressions of MMP-2 and TIMP-2 in the transversalis fascia of direct inguinal hernia and explore the pathogenesis of the disease. **Methods** Herniorrhaphy was performed in 30 patients with inguinal hernia (13 direct and 17 indirect), and the expressions of MMP-2 and TIMP-2 in the transversalis fascia were examined by using immunohistochemistry. **Results** An increased expression of MMP-2 and a reduced expression of TIMP-2 in the transversalis fascia were found in direct inguinal hernia when compared with indirect inguinal hernia. **Conclusion** The disordered expressions of MMP-2 and TIMP-2 in transversalis fascia might be associated with the development of direct inguinal hernia.

Key words: matrix metalloproteinase 2; hernia, inguinal; transversalis fascia

对腹股沟直疝的诊治已有近 500 年历史,然而其发生和修补后复发的确切原因仍未完全明了。近年来有研究发现,腹股沟直疝患者腹横筋膜胶原含量明显低于正常人和斜疝患者。认为腹壁组织弹性及张力的下降为直疝发病的主要原因^[1-2]。基质金属蛋白酶-2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)是降解Ⅳ型胶原、明胶、弹性蛋白等基质成分的主要酶类,和其抑制酶——金属蛋白酶组织抑制因子-2(tissue inhibitor of metalloproteinase-2, TIMP-2)相互作用,调节细胞外结缔组织重构。现采用免疫组化方法对患者腹横筋膜中 MMP-2 及 TIMP-2 的表达进行检测,结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2008 年 12 月至 2009 年 10 月在承德医学院附属医院行补片填充式无张力疝修补术患者 30 例。其中直疝 13 例(男 11 例,女 2 例),斜疝 17 例(男 13 例,女 4 例)。年龄 28~67 岁。排除糖尿病,系统感染,恶性肿瘤等及吸烟患者。腹横筋膜取材在远离疝囊相对正常的内侧腹横筋膜处切取标本 0.7~1.0 cm²,标本切取后即 10% 甲醛固定,做石蜡块保存备用。

1.2 试剂 鼠抗人 MMP-2 单克隆抗体、兔抗人 TIMP-2 多克隆抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司);MaxVision™即用型免疫组化试剂盒、DAB 显色试剂盒(福建迈新生物技术开发有限公司)。

1.3 方法 石蜡切片脱蜡水化后,微波修复 16 min。3% H₂O₂ 室温孵育 10 min。PBS 液冲洗,加入 MMP-2, TIMP-2

抗体(工作浓度分别为 1:80 和 1:100)50 μL,室温下孵育 60 min, PBS 漂洗,每张切片加 50 μL 即用型 MaxVision™试剂,室温下孵育 10~15 min, PBS 液冲洗后,每张切片滴加 100 μL 新鲜配制的 DAB 溶液,显微镜下观察 3~5 min。阳性显色为棕黄色。苏木素复染。逐级脱水,透明。用中性树脂封片。光镜下观察,阳性部位呈棕黄色。以 PBS 溶液代替一抗做空白对照。空白对照染色结果为阴性,说明染色方法可靠。免疫组化染色切片经 Olympus BX 60 显微镜观察,摄取图像后,采用 ImagePro Plus 6.0 软件进行分析,每张切片随机取 10 个 40×10 倍视野,测定每个视野积分吸光度(integrated optical density, IOD)值,以 10 个视野的平均值来表示。

1.4 统计学处理 应用 SPSS13.0 软件进行统计学数据处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

MMP-2 和 TIMP-2 在直疝及斜疝腹横筋膜的表达。见表 1 和插图 1、2。

表 1 MMP-2 和 TIMP-2 在直疝及斜疝腹横筋膜的表达($\bar{x} \pm s$, IOD)

类别	MMP-2	TIMP-2
直疝	75 791.762 ± 21 011.736 *	44 861.209 ± 10 714.544 *
斜疝	56 273.104 ± 14 514.019	55 721.004 ± 11 290.332

*: $P < 0.05$, 与斜疝比较。

3 讨 论

腹股沟直疝是外科常见疾病之一,由于其发病率和复发率较高,了解腹股沟直疝的发病机制以及如何使其得到有效治疗已成为当今外科医师所面临的问题。近年来国内、外学者从间质结缔组织方面进行了大量研究,以探讨腹股沟直疝发生和复发的生化因素,为减少其发病、与复发率奠定了理论基础。

腹横筋膜是抵抗腹内压力,维持腹股沟区腹壁张力的最重要的成分之一。胶原是其主要结缔组织成分,对维持腹横筋膜的抗张力强度起决定性作用。有研究发现,腹股沟直疝腹横筋膜胶原含量明显低于斜疝及正常人^[1,3],同时胶原构成比例(I/III型胶原)也明显改变^[4-5]。有研究表明,腹股沟直疝是系统性细胞外结缔组织改变引起的局部表现,弹性纤维赋予结缔组织弹性,与胶原的韧性互补^[6-8]。有研究发现,弹性纤维的重要组分弹性蛋白和 Fibrillin-1 的含量在直疝患者腹横筋膜明显低于斜疝,且分布异常^[9],表明腹横筋膜弹性的下降和直疝的发生密切相关。MMPs 在细胞外基质的动态重建过程中扮演重要角色。MMP-2 是其成员之一,主要由成纤维细胞、内皮细胞、成骨细胞合成。是降解 IV 型胶原、明胶、弹性蛋白、纤维结合素和其他基质成分的酶类^[10-11]。本研究结果显示,直疝患者腹横筋膜 MMP-2 含量明显高于斜疝患者。此结果和国外 Bellón 等^[12]报道相一致,表明直疝患者腹横筋膜 MMP-2 的高表达导致结缔组织基质成分分解的增加,可能是腹股沟直疝发病原因之一。TIMP-2 的主要功能是抑制 MMPs 的活性,它是 MMP-2 的主要抑制酶,可以与激活 MMP-2 结合使其失活,又可以与 MMP-2 共价结合,阻止其与细胞表面接触而抑制其活性^[10-11]。本研究显示,直疝患者腹横筋膜 TIMP-2 含量明显低于斜疝患者。MMP-2 抑制酶 TIMP-2 在直疝患者腹横筋膜的低表达可能是 MMP-2 水平升高的原因之一。TIMP-2 也参与了腹股沟直疝的发生。

本研究表明,MMP-2 和 TIMP-2 参与了直疝患者腹横筋膜的基质重构,由此所致的结缔组织成分改变可能是其发病原因之一。

参考文献:

- [1] 陈双,朱亮民,傅玉如.成人腹股沟区腹横筋膜胶原含量变化与腹股沟疝发病及复发的关系[J].外科理论与实践,2002,7(6):423-425.
- [2] Rodrigues Junior AJ,Rodrigues CJ,da Cunha AC,et al. Quantitative analysis of collagen and elastic fibers in the transversalis fascia in direct and indirect inguinal hernia

[J]. Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo,2002,57(6):265-270.

- [3] Pans A,Pierard GE,Albert A,et al. Adult groin hernias: new insight into their biomechanical characteristics[J]. Eur J Clin Invest,1997,27(10):863-868.
- [4] Klinge U,klosterhalfen B,Muller M,et al. Altered collagen synthesis in fascia transversalis of patients with inguinal hernia[J]. Hernia,1999,3(4):181-87.
- [5] Friedman DW,Boyd CD,Norton P,et al. Increases in type III collagen gene expression and protein synthesis in patients with inguinal hernias[J]. Ann Surg,1993,218(6):754-60.
- [6] Rosch R,Klinge U,Si Z,et al. A role for the collagen I/III and MMP-1/-13 genes in primary inguinal hernia[J]. BMC Med Genet,2002(3):2.
- [7] Klinge U,Zheng H,Si ZY,et al. Synthesis of type I and III collagen,expression of fibronectin and matrix metalloproteinases-1 and -13 in hernial sac of patients with inguinal hernia[J]. Int J Surg Investig,1999,1(3):219-27.
- [8] Klinge U,Zheng H,Si Z,et al. Expression of the extracellular matrix proteins collagen I,collagen III and fibronectin and matrix metalloproteinase-1 and -13 in the skin of patients with inguinal hernia[J]. Eur Surg Res,1999,31(6):480-490.
- [9] 李剑,蔡建辉,张学军.弹性蛋白与原纤维蛋白-1在腹股沟直疝及斜疝患者腹横筋膜的表达[J].重庆医学,2011,40(4):370-371
- [10] Maskos K,Bode W. Mol Biotechnol. Structural basis of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases[J]. Mol Biotechnol,2003,25(3):241-266.
- [11] Bode W,Maskos K. Structural basis of the matrix metalloproteinases and their physiological inhibitors,the tissue inhibitors of metalloproteinases[J]. Biol Chem,2003,384(6):863-872.
- [12] Bellón JM,Bajo A,Ga-Honduvilla N,et al. Fibroblasts from the transversalis fascia of young patients with direct inguinal hernias show constitutive MMP-2 overexpression[J]. Ann Surg,2001,233(2):287-291.

(收稿日期:2011-04-26 修回日期:2011-06-10)

(上接第 2626 页)

456-458.

- [8] Johnson PJ. The role of serum alpha-fetoprotein estimation in the diagnosis and management of hepatocellular carcinoma[J]. Clin Liver Dis,2001,(1):145-159.
- [9] 丁磊,陈孝平,张志伟,等.原发性肝癌拓扑异构酶 II α 的表达及其与 P53 基因突变之间的关系[J].肝胆外科杂志,2006,14(3):222-225.
- [10] 陆震,熊茂明,孟翔凌.多药耐药基因相关蛋白在原发性肝癌中的表达及意义[J].中国临床保健杂志,2006,9(6):556-559.
- [11] 闵婕,冯英明,张贺龙,等.多药耐药相关蛋白 Topo II 在原发性肝癌的表达及意义[J].陕西医学杂志,2005,

34(7):787-789.

- [12] 欧盛秋,马亦龙,崔英,等. P53 表达与肝细胞癌临床病理学特征及 AFP、HBV 感染之间的关系研究[J].广西医科大学学报,2007,24(1):14-16.
- [13] Fridman JS,Lowe SW. Control of apoptosis by P53[J]. Oncogene,2003,22(56):9030-9040.
- [14] Goldsmith M,Gudas JM,Schneider E,et al. Wild type P53 stimulates expression from the human multidrug resistance promoter in a P53-negative cell line[J]. J Biol Chem,1995,270(4):1894-1898.

(收稿日期:2011-04-21 修回日期:2011-05-23)