

基质金属蛋白酶-9与缺血性脑损伤的研究进展

薛莉, 张睿智, 杨华林, 张海军, 李娅, 综述, 王文岚 审校

摘要 基质金属蛋白酶(MMPs)是一类含有锌原子结合位点的蛋白酶家族,能够对细胞外基质(ECM)成分进行降解。在大鼠中,MMPs家族包含28个成员。MMP-9与其同源基因MMP-2是MMPs家族的重要成员,属于明胶酶类,能够降解ECM成分中的IV型胶原。研究显示,MMP-9参与脑局部缺血后中枢和周围神经系统功能的恢复,高压氧治疗能够调节MMP-9的表达。本文对MMP-9的结构、MMP-9在缺血再灌注损伤及高压氧(HBO)治疗中的作用作一综述。

关键词 基质金属蛋白酶-9; 功能; 缺血性脑损伤; 高压氧治疗

中图分类号 R 840.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)11-1744-03

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.11.036

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)属于多肽酶家族,在大鼠中MMPs家族共有28个成员。MMPs的结构中包含一个锌指结构域,锌原子可以和该结构域结合,调节MMPs的活性。MMPs能够在中枢神经系统中表达,包括神经细胞在内的多种细胞都能释放MMPs。根据蛋白质结构和所结合底物的特异性,将MMPs家族分为6类,其中MMP-9和MMP-2都属于明胶酶,是该家族非常重要的成员。在缺血性脑损伤的病变区,MMP-2与MMP-9表达增加,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分中的片蛋白、纤维连接蛋白与IV型胶原消失^[1],毛细血管通透性增加^[2-3]。研究^[2-3]显示,MMP-9能够作为缺血性脑损伤的标志物之一,其结构和功能研究成为了缺血性脑损伤的热点之一。现对缺血性脑损伤后MMP-9在高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)治疗中的作用进行综述。

1 MMPs的结构和功能

1.1 MMPs的结构

2017-06-13 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81101466); 陕西省科技计划项目(编号: 2014KGXX59)

作者单位: 第四军医大学航空航天医学系卫生学教研室, 西安 710000

作者简介: 薛莉, 女, 讲师;

王文岚, 女, 副教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: ypw1821@fmmu.edu.cn

1.1.1 结构域与差异 MMPs家族的成员在结构上有共同的特点,即包含3个结构域:①前肽序列:位于氨基末端,在细胞核内存在,在进入细胞质内发挥功能被激活后降解;②催化序列:位于氨基末端,包含锌离子结合域,与锌离子结合后使MMPs发挥功能;③羧基末端:参与到MMPs与ECM底物的结合,与血色素结合蛋白家族具有高度的相似性^[3]。

基于底物的不同以及蛋白结构的差异,MMPs家族成员被分为了几个亚家族,包括明胶酶(MMP-2、MMP-9)、基质溶解酶(MMP-3、7、10、11、12、26)、胶原酶(MMP-1、8、13)、膜型MMPs(MT-MMPs、MMP-14、15、16、17)以及其他MMPs。与其他MMP亚家族不同的是,6个MT-MMPs是膜蛋白。MT4-MMP(MMP17)和MT6-MMP(MMP25)是糖基-磷脂酰肌醇锚定的MMPs,其他的MT-MMPs是跨膜蛋白^[4]。

1.1.2 氨基酸序列 MMP-9基因有内含子12个,外显子13个。包含有一个前肽序列,在MMP-9的mRNA中称为A2RE序列。MMP-9转录水平的表达由激活蛋白1(activate protein-1, AP-1)和 κ 基因结合核因子(nuclear factor- κ -gene binding, NF- κ B)调节,mRNA水平的稳定由NO调节。体内MMP-9蛋白能够与体内特异的抑制剂基质金属蛋白酶抑制剂1(metalloproteinase inhibitor 1, TIMP-1)相互结合^[5-6]。在细胞膜上,低密度脂蛋白受体相关蛋白(low density lipoprotein receptor-related protein, LRP)与MMP-9结合,介导基质的降解途径^[7-8]。

羧基端的类似血色素结合蛋白结构域是一个4个 β 折叠片构成的结构,除了MMP-7(基质溶解素)和MMP-26(基质溶解素-2)外,所有的MMPs中都存在^[9]。一个拉链结构联接了羧基端和氨基端,在胶原酶中短一点,在其他的MMPs中都长一点。在蛋白质的氨基末端,有一个短的信号肽序列,在前肽区域,在剪接后形成新的MMPs转运到细胞表面^[4]。

1.1.3 MMPs的调节 MMPs的调节可以分为转录水平以及转录后的调节。第一步调节在转录水平:大部分MMPs并不是固有表达的,炎症因子、生长因子及致癌基因等可诱导MMPs基因的转录。转录出

的 MMPs 带有信号肽(前肽)序列,成为 pre-pro-MMPs^[4,10]。

转录后的修饰提供了 MMPs 的第二个水平的调节。以非活性的酶原形式存在的 pre-pro-MMPs 前肽区域中包含一个半胱氨酸残基,锌离子与其结合后成为催化位点,形成 pro-MMPs。在激活因子如血纤蛋白溶酶原等的激活下,pro-MMPs 进一步移除前肽区域得到完全的激活,成为激活型的 MMPs。激活型的 MMPs 才能够进一步对各种刺激和诱导做出应答^[11]。

1.2 MMPs 的功能 MMPs 在许多损伤和胁迫中表达都会迅速的增高,活性被严格调节,这些分子是潜在的蛋白水解酶,具有很广泛的降解能力。有许多资料证明,在神经系统中,MMPs 和发病机制有关,尤其是在许多硬化和神经胶质瘤中^[12]。MMPs 在中风、阿尔兹海默症以及中枢神经系统病毒性的传染病中都有关系。通过减少神经血管基底膜的表达,MMPs 能够损伤血脑屏障,因此引起水肿和出血。通过降解神经血管的基质,MMPs 能够干扰细胞-基质之间的动态平衡,进而造成失巢状的细胞凋亡通路。MMPs 也通过增强神经血管的炎症,参与到了实质损伤和神经降解过程中。MMPs 并不是独立起作用的,相反,这些蛋白酶类都与一个叫基质金属蛋白酶抑制剂的內源性抑制剂家族一起参与到了复杂的动态平衡网络中^[12]。

2 MMP-9 与缺血性脑损伤

2.1 MMP-9 与缺血再灌注 研究^[5]显示,MMP-9 在急性卒中患者中可作为蛋白标志物,有很强的特异性。脑缺血再灌注后,MMP-9 表达增加与脑梗死面积密切相关。在脑缺血病变区,MMP-2 与 MMP-9 表达增加,在缺血后 3~4 h 开始增加,4~5 d 达到高峰,在缺血后 15 d 恢复到正常对照的水平^[5]。

使用 MMP-9 基因敲除的裸鼠研究^[13]显示,MMP-9 表达受阻能够使脑缺血后的梗塞灶体积减小 34%;使用 MMP-9 的抑制剂 TIMP-1 治疗白细胞分化抗原 CD-1 小鼠后,脑缺血后的梗塞灶体积减小 28%;此外也有研究^[5]显示,使用 MMP-9 抑制剂治疗脑缺血大鼠后,脑缺血后的梗塞灶体积减小 30%;在大鼠中将 MMP-9 的基因进行敲除,结果显示大鼠脑缺血损伤明显减轻^[14]。研究^[15]显示,在脑缺血后 2 周内,用 MMPs 的抑制剂能够抑制 MMP-9 的表达,同时能够减少成神经细胞向缺血区域的移动,提示 MMP-9 除了和脑缺血后的损伤有关^[16],

也可能与缺血脑神经细胞的恢复有关。目前临床治疗缺血性脑损伤,可以用溶栓类和其他非溶栓类药物。r-tPA 溶栓是目前最有效的药物之一,但是能够导致出血。细胞培养实验以及动物体内实验证明,r-tPA 能够使 MMP-9 的表达增高^[17-18]。临床研究^[19]显示,脑缺血过程中,MMP-2 与 MMP-9 的表达增高,而其抑制剂 TIMP-1 显著下降。

以上结果显示,缺血缺氧对模式动物脑损伤的影响可能与 MMP-9 的表达水平有关;抑制 MMP-9 的表达,可以抑制脑梗塞灶的体积。因此,未来有可能通过抑制 MMPs 的活性对缺血性脑血管病进行治疗。

2.2 MMP-9 与高压氧治疗 许多研究^[20-21]显示,HBO 治疗缺血低氧性脑损伤效果显著,因此 HBO 治疗的应用越来越广泛。对 HBO 治疗的机制研究^[22-23]显示,HBO 有可能通过抑制 MMP-9 的增高实现对缺血低氧性脑病的治疗。高压氧预处理能够保护大鼠神经细胞,使缺血再灌注造成的全脑神经细胞死亡程度显著降低^[20-21]。缺血性脑损伤后 MMP-9 表达的增多与细胞外基质成分的降解有关,HBO 治疗能够通过减少 ECM 成分中的层黏连蛋白 laminin-5 的降解,进而抑制缺血后脑损伤程度^[22]。用 HBO 预处理对急性高血糖后的缺血再灌注损伤,可以显示 MMP-2/MMP-9 的表达均降低,神经功能损伤程度能够被 HBO 预处理抑制^[23]。

此外,国内有研究者报道 MMP-9 的表达在缺血再灌注损伤后 48 h 开始减少,脑梗死灶体积在 HBO 治疗后 120 h 开始缩小,这可能说明脑缺血性损伤后,及时有效的 HBO 治疗能够通过减少 MMP-9 的表达抑制梗死灶体积^[24]。前期的研究^[25]结果显示,MMP-9 的表达受脑缺血低氧诱导。根据 MMP-9 的表达模式可以推测,在脑缺血低氧损伤后,细胞核内非活化的 pro-MMP-9 表达增多,进入胞质内前肽序列被降解,成为激活型的 MMP-9,从胞质转移,锚定到细胞膜上,最终降解细胞外基质,使细胞膜受损^[25]。研究^[25]同时也显示,HBO 治疗能够抑制脑缺血低氧损伤后 MMP-9 的表达。

3 展望

MMP-9 是 MMPs 家族中非常重要的成员之一。在缺血再灌注损伤后,MMP-9 的表达增加与脑梗死面积有直接关系;选择 MMP-9 的抑制剂或者使用 MMP-9 基因敲除的模式动物,可以减小脑梗死体积;HBO 治疗缺血性脑损伤可以降低 MMP-9 的表

达,减轻缺血损伤。目前,MMP-9参与缺血再灌注损伤调节的机制还不清楚;应用HBO治疗抑制MMP-9的表达,减轻缺血性脑损伤的机制研究尚处于研究的初步阶段。深入研究MMP-9在缺血再灌注损伤中的功能,研究HBO对MMPs家族的调节,将有助于阐明HBO治疗缺血性脑损伤的机制,为HBO治疗的推广和应用提供理论支持。

参考文献

- [1] Tryggvason K, Huhtala P, Höyhty M, et al. 70 K type IV collagenase (gelatinase) [J]. *Matrix Suppl*, 1992, 1: 45 - 50.
- [2] Lee J H, Piao M S, Choi J Y, et al. Up-regulation of cyclooxygenase 2 and matrix metalloproteinases-2 and -9 in cutaneous squamous cell carcinoma: active role of inflammation and tissue remodeling in carcinogenesis [J]. *Ann Dermatol*, 2013, 25(2): 145 - 51.
- [3] Nagase H. Matrix metalloproteinases. A mini-review [J]. *Contrib Nephrol*, 1994, 107: 85 - 93.
- [4] Planas A M, Solé S, Justicia C. Expression and activation of matrix metalloproteinase-2 and -9 in rat brain after transient focal cerebral ischemia [J]. *Neurobiol Dis*, 2001, 8(5): 834 - 46.
- [5] Romanic A M, White R F, Arleth A J, et al. Matrix metalloproteinase expression increases after cerebral focal ischemia in rats: inhibition of matrix metalloproteinase-9 reduces infarct size [J]. *Stroke*, 1998, 29(5): 1020 - 30.
- [6] Ghaffarpour S, Ghazanfari T, Kabudanian Ardestani S, et al. Correlation between MMP-9 and MMP-9/ TIMPs complex with pulmonary function in sulfur mustard exposed civilians: sardasht-Iran cohort study [J]. *Arch Iran Med*, 2017, 20(2): 74 - 82.
- [7] Selvais C, D'Auria L, Tyteca D, et al. Cell cholesterol modulates metalloproteinase-dependent shedding of low-density lipoprotein receptor-related protein-1 (LRP-1) and clearance function [J]. *FASEB J*, 2011, 25(8): 2770 - 81.
- [8] Van den Steen P E, Van Aelst I, Hvidberg V, et al. The hemopexin and O-glycosylated domains tune gelatinase B/MMP-9 bioavailability *via* inhibition and binding to cargo receptors [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(27): 18626 - 37.
- [9] Wang W, Zhang H T, Yang X L. Effect of matrix metalloproteinase and their inhibitors on atrial myocardial structural remodeling [J]. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*, 2013, 14(4): 265 - 9.
- [10] Ugarte-Berzal E, Bailón E, Amigo-Jiménez I, et al. A novel CD44-binding peptide from the pro-matrix metalloproteinase-9 hemopexin domain impairs adhesion and migration of chronic lymphocytic leukemia (CLL) cells [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(22): 15340 - 9.
- [11] Dufour A, Zucker S, Sampson N S, et al. Role of matrix metalloproteinase-9 dimers in cell migration: design of inhibitory peptides [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(46): 35944 - 56.
- [12] Michelin A C, Justulin L A Jr, Delella F K, et al. Differential MMP-2 and MMP-9 activity and collagen distribution in skeletal muscle from pacu (*Piaractus mesopotamicus*) during juvenile and adult growth phases [J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2009, 292(3): 387 - 95.
- [13] Gidday J M, Gasche Y G, Copin J C, et al. Leukocyte-derived matrix metalloproteinase-9 mediates blood-brain barrier breakdown and is proinflammatory after transient focal cerebral ischemia [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289(2): H558 - 68.
- [14] Copin J C, Goodyear M C, Gidday J M, et al. Role of matrix metalloproteinases in apoptosis after transient focal cerebral ischemia in rats and mice [J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 22(7): 1597 - 608.
- [15] Wang L, Zhang Z G, Zhang R L, et al. Matrix metalloproteinase 2 (MMP2) and MMP9 secreted by erythropoietin-activated endothelial cells promote neural progenitor cell migration [J]. *J Neurosci*, 2006, 26(22): 5996 - 6003.
- [16] 卞合涛, 初建峰. 高压氧预处理对大鼠脑梗死后脑水肿的影响及机制研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2016, 51(10): 1445 - 9.
- [17] Chelluboina B, Klopfenstein J D, Pinson D M, et al. Matrix metalloproteinase-12 induces blood-brain barrier damage after focal cerebral ischemia [J]. *Stroke*, 2015, 46(12): 3523 - 31.
- [18] Tai S H, Chen H Y, Lee E J, et al. Melatonin inhibits postischemic matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) activation *via* dual modulation of plasminogen/plasmin system and endogenous MMP inhibitor in mice subjected to transient focal cerebral ischemia [J]. *J Pineal Res*, 2010, 49(4): 332 - 41.
- [19] Gu J, Chen J, Yang N, et al. Combination of Ligusticum chuanxiong and Radix Paeoniae ameliorates focal cerebral ischemic in MCAO rats *via* endoplasmic reticulum stress-dependent apoptotic signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 187: 313 - 24.
- [20] Soejima Y, Hu Q, Krafft P R, et al. Hyperbaric oxygen preconditioning attenuates hyperglycemia-enhanced hemorrhagic transformation by inhibiting matrix metalloproteinases in focal cerebral ischemia in rats [J]. *Exp Neurol*, 2013, 247: 737 - 43.
- [21] Ostrowski R P, Jadhav V, Chen W, et al. Reduced matrix metalloproteinase-9 activity and cell death after global ischemia in the brain preconditioned with hyperbaric oxygen [J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2010, 106: 47 - 9.
- [22] Magenta G, Borenstein X, Rolando R, et al. Rosiglitazone inhibits metastasis development of a murine mammary tumor cell line LMM3 [J]. *BMC Cancer*, 2008, 8: 47.
- [23] Zhao H, Zhang Q, Xue Y, et al. Effects of hyperbaric oxygen on the expression of claudins after cerebral ischemia-reperfusion in rats [J]. *Exp Brain Res*, 2011, 212(1): 109 - 17.
- [24] Yang J, Wang G, Gao C, et al. Effects of hyperbaric oxygen on MMP-2 and MMP-9 expressions and spinal cord edema after spinal cord injury [J]. *Life Sci*, 2013, 93(25 - 26): 1033 - 8.
- [25] 薛莉, 王文岚, 岳荣, 等. MMP-9在高压氧治疗急性CO中毒脑损伤中的作用 [J]. *中国急救医学*, 2013, 33(10): 933 - 7.