

金属蛋白酶组织抑制因子与皮肤创伤愈合

Tissue inhibitor of metalloproteinases and wound healing of skin

赵振拴 陈百成

ZHAO Zhenshuan, CHEN Baicheng

【关键词】 金属蛋白酶组织抑制因子; 皮肤; 伤口愈合 【Key words】 TIMPs; Skin; Wound healing

基质金属蛋白酶(matrix Metalloproteinases MMPs)是参与细胞外基质(ECM)降解的主要蛋白酶,金属蛋白酶组织抑制因子(Tissue Inhibitor of Metalloproteinases TIMPs)是一族内源性抑制因子,可以高度地、有选择地抑制 MMPs 或其前体而表现出许多生物学活性。TIMPs 和 MMPs 的平衡失控可导致创伤延迟愈合和其它许多疾病。现就有关 TIMPs 的种类、结构和生物学作用及在皮肤创伤愈合中作用等研究综述如下。

1 TIMPs 的产生和结构

目前已知 TIMPs 家族有 4 个成员,即 TIMP 1、2、3 和 4。业已证明它们存在于脊椎动物中并发现在果蝇属有类似的抑制因子^[1]。它们通过约束 MMPs 的活性位点以 1:1 化学计量比率来抑制 MMPs。TIMP 1 是一种 29 kDa 的 N 端糖基化的蛋白质,由巨噬细胞、角质生成细胞、成纤维细胞、平滑肌细胞和内皮细胞合成^[2]。TIMP 1 可与 MMP 9 前体及有活性的 MMP 1、3 和 9 形成高度亲和的、非共价键复合物。TIMP 2 是一种 22 kDa 的蛋白质,其 40% 序列与 TIMP 1 相一致,Ashcroft 等^[3]报道正常创伤愈合中由基底的角质生成细胞合成,它抑制 MMP-2 及其前体的活性。TIMP 3 首先从乳腺癌组织中克隆,通过 Northern 分析法可从乳腺肿瘤和成人多种正常组织中测出,TIMP 3 在人类皮肤、乳房、骨和毛发生长中得以表达,它抑制 MMP 1、2、3、9 和 13 的活性^[4]。TIMP 4 是最新克隆的,通过 Northern 分析法从人类心脏中测出,在肾、胎盘的表达是低水平的,相反,在鼠的广泛组织中包括皮肤是显著表达^[5]。它抑制 MMP 2、7 稍强于 MMP 1、3 和 9。

TIMPs 是有两个辖区的较小分子,其 N 端区大约有 125 个氨基酸,C 端区大约有 65 个残基,每一区由 3 个二硫键来稳定^[6],全长的 TIMPs 分子具有向外突出的持续结构^[7]。有人^[8]通过 X 线晶体结构法检测,发现 TIMPs 三维结构呈楔形外表。

2 TIMPs 的生物学功能

TIMPs 有许多生物化学和生理/生物学功能,包括抑制 MMPs、MMPs 前体的活性,调控细胞外基质代谢和抑制血管的生成,也可抑制肿瘤细胞的发生、侵袭和转移。TIMP 1 可

促进内皮细胞增生和刺激 MMP-1 分泌,而且 TIMP 1 和 2 都有促细胞生长的活性。根据细胞增生和基质代谢的情况,表明它们在创伤愈合上起很大的作用^[6]。Barasch 等^[9]报道 TIMP 2 在下部肾单位发生时包含在后肾的间质生长和输尿管芽形态发生中。TIMP 3 和特定的上皮结构形成及胎盘植入有关,其过度表达导致众多癌细胞的凋亡和鼠的血管平滑肌细胞的凋亡。TIMP 3 的 C 端区点突变^[10],导致了 Sorby 黄斑基底营养障碍,引起不可逆的视力丧失。TIMP 4 是新奇的抑制因子,已证明它在体外抑制乳腺癌细胞的浸润,在裸小鼠体内抑制肿瘤细胞生长和转移^[4]。TIMPs 在组织重塑及生理情况下受到控制以保持 ECM 新陈代谢的平衡,破坏这种平衡会导致相关基质代谢失控疾病,如关节炎、肾炎、癌症、心血管疾病、组织溃疡形成和纤维化等^[6]。

3 TIMPs 在皮肤创伤愈合中的作用

创伤愈合是复杂的、有序的和精细的过程,它是不同细胞类型、结构蛋白、众多生长因子和蛋白酶之间错综复杂的相互作用结果^[11]。细胞迁移、肉芽组织形成、新血管生成和基质重塑都要求控制周围基质的溶解,MMPs 是蛋白酶家族,包括 11 种酶,可以有选择清除细胞外基质的所有成分,就包含于上述过程中^[12]。研究证明 MMPs 对控制创伤修复是至关重要的^[11],而 TIMPs 作为这些酶的局部抑制剂,能有效地抑制 MMPs 诱导的细胞外基质降解,所以 TIMPs 在创伤愈合中起重要的调控作用。此外,TIMPs 在创伤愈合中空间的和时间的分布对控制蛋白质水解也很关键^[3]。

3.1 TIMPs 与急性创伤愈合 急性创伤愈合是一种有规律的成熟过程。Vaalamo 等^[4]研究表明 TIMP 1 mRNA 表达于正常愈合伤口 3~5 天的增生上皮中,还发现 TIMP 3 mRNA 也可表达于正常愈合创伤后 3~5 天的增生的角朊细胞中,由于 TIMP 3 和 TIMP 1 的 mRNA 在人类急性创伤愈合的表达有类似的结果,采用原位杂交的方法确定 TIMP 3 和 TIMP 1 在接近断面的表达方式特点,发现相同数量的增生角朊细胞是产生这两种 TIMPs 的主要原因。研究结果还提示需要 TIMP 1 和 3 促进合适的新上皮形成和保护新形成的 BM 带,而且 TIMP 1 和 3 都已知具有类生长因子的活性^[2],因此不能排除它们参与基质代谢。Vaalamo 等还测出 TIMP 2 蛋白质在正常创伤愈合中局限于迁移上皮顶部周围和痂下组织中,而在慢性溃疡表达很弱。TIMP 4 在正常伤口愈合中没

有表达^[4]。

3.2 TIMPs 与慢性伤口 如果一个伤口不能以一个规律的或时间的顺序愈合,或愈合过程中不能形成完整结构,那么认为伤口是慢性的。皮肤溃疡是最常见的慢性类型^[13]。其原因是缺乏规律的 MMPs 和 TIMPs 表达导致异常的 ECM 降解,使从炎症到肉芽形成阶段中止而失败^[14]。人类慢性伤口渗液表明含持续升高的 MMP 2 和 MMP 9 水平^[15],因此,慢性伤口不能规律地形成肉芽组织或许是蛋白酶水平异常升高的直接结果。MMPs 过度增多会降解伤口周围环境中的基质,持续降解内源性及增补的生长激素,抑制细胞素和生长因子等而导致慢性炎症和不愈合的溃疡^[13]。TIMP 1 和 MMPs 的失衡引起慢性静脉性溃疡的延迟愈合^[3,15],其渗液中含低水平的 TIMP 1,还在慢性伤口增生的角朊细胞中发现 TIMP 3 蛋白。正如缺乏 TIMP 1,-3 一样,太低水平的 TIMP 2 也因明胶酶缺乏抑制使伤口愈合延迟。TIMP 4 蛋白通过免疫组化的方法偶尔发现可由慢性溃疡在血管附近的基质细胞产生。总之,慢性伤口的 TIMP 1,-2,-3 的表达和正常愈合的伤口相比是减少的。由于 TIMPs 在组织环境中起中和蛋白酶的作用,因此,TIMPs 能预防过度的基质降解,而 TIMPs 的不足可导致不愈合或慢性的伤口形成^[4]。

3.3 TIMPs 与创伤愈合纤维化 纤维化的情况可简单地看作由于缺乏足够的蛋白酶活性致伤口重塑失败。在一个辐射诱导的皮肤纤维化的猪的模型中^[14],因缺乏 MMP-1 mRNA 表达,成纤维细胞持续制造 TIMPs,结果是蛋白酶活性异常地下降,过度细胞外基质合成使伤口重塑失败。在人类硬皮病的皮肤和血清中的肌成纤维细胞的 TIMPs 的表达相对于 MMPs 而言是较高的。MMPs 相关的缺陷以类似的机制构成疤痕疙瘩和肥大疤痕形成^[16]。

4 调节 TIMPs 水平以达到临床治疗目的

最近对 TIMPs 的许多研究表明其重要性在于调控基质重塑和血管生成,缺乏灵敏的 MMP/TIMP 平衡导致创伤愈合延迟或纤维化。现在新工作集中在弄清 MMPs 和 TIMPs 是如何被调控的,它们如何形成正常表达模式和在异常修复中模式破裂,以便采取更有效的新措施来治疗急、慢性伤口、肥大疤痕和疤痕疙瘩等疾患。目前国外已人工合成了 MMPs 抑制剂,Witte 等^[17]将其用在 SD 大鼠皮肤切开的模型上,实验证明 TIMPs 能抑制胶原降解,增强伤口机械强度,促进创伤愈合。

最近几年关于 TIMPs 的多样性、结构和生物学角色的研究虽然有了很大的进展,然而这些新发现同时揭露出一些问题,如 TIMPs 对细胞影响的基本机制仍不太清楚等^[6],表明了对于 TIMPs 了解在某些方面是肤浅的,有待于深入地研究以便更好地为临床服务。

参考文献

1 Pohar N, Godenschwege TA, Bucher E. Invertebrate tissue inhibitor of metalloproteinase structure and nested gene organization within the

synapsin locus is conserved from *Drosophila* to human. *Genomics*, 1999, 57: 293-296.

- 2 Gomez DE, Alonso DF, Yoshij H, et al. Tissue inhibitors of metalloproteinases: Structure, regulation and biological functions. *Eur J Cell Biol*, 1997, 74: 111-122.
- 3 Ashcroft GS, Herrick SE, Tarnuzzer RW, et al. Human ageing impairs injury induced expression of tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)-1 and -2 proteins and mRNA. *J Pathol*, 1997, 183: 169-176.
- 4 Vaalamo M, Leivo T, Saarialho-Kere V. Differential expression of inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1, -2, -3, and -4) in normal and aberrant wound healing. *Hum Pathol*, 1999, 30(7): 795-802.
- 5 Wu I, Moses MA. Molecular cloning and expression analysis of the cDNA encoding rat tissue inhibitor of metalloproteinase 4. *Matrix Biol*, 1997, 98: 339-342.
- 6 Brew K, Dinakarandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: Evolution, structure and function. *Biochimica Biophys Acta*, 2000, 1477: 267-283.
- 7 Tuuttila A, Morgunova E, Bergmann U, et al. Three dimensional structure of human tissue inhibitor of metalloproteinase 2 at 2.1 Å resolution. *J Mol Biol*, 1998, 284: 1133-1140.
- 8 Gomis Rütth FX, Maskos K, Bode W, et al. Mechanism of inhibition of the human matrix metalloproteinase stromelysin 1 by TIMP 1. *Nature*, 1997, 389: 77-81.
- 9 Barasch J, Yang J, Qiao J, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase 2 stimulates mesenchymal growth and regulates epithelial branching during morphogenesis of the rat metanephros. *J Clin Invest*, 1999, 103: 1299-1307.
- 10 Tabata Y, Isashiki Y, Kamimura K, et al. A novel splice site mutation in the tissue inhibitor of metalloproteinase 3 gene in Sorsby's fundus dystrophy with unusual clinical features. *Hum Genet*, 1998, 103: 179-182.
- 11 Buerk AA, Vitello WA, Laughlin RT. Advances in wound healing. *Curr Opin Orthop*, 2000, 11: 92-98.
- 12 Arumugam S, Jang YC, Cherr Jensen C, et al. Temporal activity of plasminogen activator and matrix metalloproteinases during cutaneous wound repair. *Surgery*, 1999, 125(6): 587-593.
- 13 Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *AM J Surg*, 1998, 176(Suppl 2A): 26-38.
- 14 Soo C, Shaw WW, Zhang X, et al. Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue derived inhibitors in cutaneous wound repair. *Plast Reconstr Surg*, 2000, 105(2): 638-647.
- 15 Bullen EC, Longaker MT, Updike DL, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase 1 is decreased and activated gelatinases are increased in chronic wounds. *J Invest Dermatol*, 1995, 104: 236-240.
- 16 Neely A, Clendening C, Gardner J, et al. Gelatinase activity in keloids and hypertrophic scars. *Wound Repair and Regeneration*, 1999, 7: 166-171.
- 17 Witte MB, Thornton FJ, Kiyama T, et al. Metalloproteinase inhibitors and wound healing: A novel enhancer of wound strength. *Surgery*, 1998, 124(2): 464-470.

(收稿: 2001-11-12 编辑: 李为农)