

DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20170810.016

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20170810.1038.032.html>

# 压力性尿失禁患者宫骶韧带中 MMPs/TIMPs 表达量、细胞外基质成分含量与细胞凋亡的关系

龚霞

(四川省自贡市第一人民医院妇产科, 四川 自贡 643000)

**[摘要]** **目的:** 研究压力性尿失禁(SUI)患者宫骶韧带中 MMPs/TIMPs 表达量、细胞外基质成分含量与细胞凋亡的关系。 **方法:** 选择在本院诊断为压力性尿失禁并接受手术治疗的 48 例患者作为 SUI 组、同期因良性肿瘤接受阴式子宫全切除术的 30 例患者作为对照组。术中收集宫骶韧带并检测 MMPs/TIMPs、凋亡基因的 mRNA 表达量以及细胞外基质成分的含量。 **结果:** SUI 组患者宫骶韧带中 MMP1、MMP2、MMP9、MMP14、Bax、Caspase-3、Caspase-9、LC3-II 的 mRNA 表达量显著高于对照组, TIMP1、TIMP2、TIMP3 的 mRNA 表达量以及 Col-I、Col-III、Elastin、PYD、Fibulin-5 的含量显著低于对照组; 宫骶韧带中 Bax、Caspase-3、Caspase-9、LC3-II 的 mRNA 表达量与 MMP1、MMP2、MMP9、MMP14 的 mRNA 表达量呈正相关, 与 TIMP1、TIMP2、TIMP3 的 mRNA 表达量以及 Col-I、Col-III、Elastin、PYD、Fibulin-5 的含量呈负相关。 **结论:** 压力性尿失禁患者宫骶韧带中细胞过度凋亡与 MMPs/TIMPs 失衡、细胞外基质成分过度降解有关。

**[关键词]** 压力性尿失禁; 宫骶韧带; 基质金属蛋白酶; 细胞外基质; 凋亡

**[中图分类号]** R694+.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-1237(2017)15-2113-03

## Relationship of MMPs/TIMPs expression and extracellular matrix component levels in utero-sacral ligament with apoptosis in patients with stress urinary incontinence

GONG Xia

(Obstetrics and Gynecology Department, Zigong First People's Hospital in Sichuan Province, Zigong City, Sichuan Province, 643000, China)

**[Foundation Project]:** This study was supported by Project of Sichuan Provincial Health Department (120385).

**[Author]:** GONG Xia (1982-), Female, Zigong Sichuan, Attending physician, Tel: 13778506817, E-mail: 21323671@qq.com.

Received: 2017-07-20 Revised: 2017-07-30

JHMC, 2017; 23(15); 2113-2115

**View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.**

**[ABSTRACT] Objective:** To study the relationship of MMPs/TIMPs expression and extracellular matrix component levels in uterosacral ligament with apoptosis in patients with stress urinary incontinence (SUI). **Methods:** A total of 48 patients who were diagnosed with stress urinary incontinence and received surgical treatment in Zigong First People's Hospital were selected as SUI group, and 30 patients who received vaginal hysterectomy for benign tumor during the same period were selected as control group. The uterosacral ligament was collected during operation to detect the mRNA expression of MMPs/TIMPs and apoptosis genes as well as the levels of extracellular matrix components. **Results:** MMP1, MMP2, MMP9, MMP14, Bax, Caspase-3, Caspase-9 and LC3-II mRNA expression in uterosacral ligament of SUI group were significantly higher than those of control group, while TIMP1, TIMP2 and TIMP3 mRNA expression as well as Col-I, Col-III, Elastin, PYD and Fibulin-5 levels were significantly lower than those of control group; Bax, Caspase-3, Caspase-9 and LC3-II mRNA expression in utero-sacral ligament were positively correlated with MMP1, MMP2, MMP9 and MMP14 mRNA expression, and negatively corre-

**[基金项目]** 四川省卫生厅项目(120385)

**[作者简介]** 龚霞(1982-),女,四川自贡人,主治医师,电话: 13778506817, E-mail: 21323671@qq.com.

**[收稿日期]** 2017-07-20 **[修回日期]** 2017-07-30 **网络出版时间:** 2017-08-10 10:38:46

lated with TIMP1, TIMP2 and TIMP3 mRNA expression as well as Col-I, Col-III, Elastin, PYD and Fibulin-5 levels. Conclusion: The excessive apoptosis in uterosacral ligament of patients with stress urinary incontinence is related to the imbalance of MMPs/TIMPs and the excessive degradation of extracellular matrix components.

[KEY WORDS] Stress urinary incontinence; Uterosacral ligament; Matrix metalloproteinase; Extracellular matrix; Apoptosis

盆底器官功能障碍性疾病 (pelvic floor dysfunction, PFD) 是中老年女性的常见疾病, 主要包括压力性尿失禁和盆底器官脱垂, 会严重影响患者的日常生活。女性生殖系统依靠盆底肌、韧带、骨性骨盆等结构来支撑, 盆底支持结构的损伤会增加压力性尿失禁及盆底器官脱垂的发生风险。盆底支持结构的破坏不仅与阴道分娩所引起的盆底肌肉、筋膜及韧带损伤有关, 还与组织结构中肌肉细胞过度凋亡、细胞外基质成分改变有关<sup>[1,2]</sup>。基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 及基质金属蛋白酶抑制剂 (tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, TIMPs) 是调节细胞外基质成分合成和降解的重要分子<sup>[3,4]</sup>。在下列研究中, 我们分析了压力性尿失禁患者宫骶韧带中 MMPs/TIMPs 表达量、细胞外基质成分含量与细胞凋亡的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择 2011 年 5 月~2016 年 10 月期间在自贡市第一人民医院诊断为压力性尿失禁并接受手术治疗的 48 例患者作为 SUI 组, 所有患者均符合压力性尿失禁的诊断标准, 排除合并恶性肿瘤的患者、服用过雌孕激素药物的患者以及既往接受过盆腔手术的患者。选择同期在自贡市第一人民医院因良性肿瘤接受阴式子宫全切除术的 30 例患者作为研究的对照组。SUI 组患者的年龄 43~63 岁, 分娩次数 (2.31±0.35) 次; 对照组患者的年龄 42~61 岁, 分娩次数 (2.19±0.29) 次。两组患者一般资料的比较无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

### 1.2 研究方法

1.2.1 组织标本收集方法 两组患者均在完成修补手术或手术切除病灶的操作后, 留取适量宫骶韧带组织, 生理盐水洗净残留的血液后立即在液氮中冷冻, 约 30 分钟后取出并放置在 -70℃ 冰箱保存。

1.2.2 基因表达的检测方法 取宫骶韧带组织, 加入 Trizol 提取 RNA 后, 采用荧光定量 PCR 试剂盒测定 MMP1、MMP2、MMP9、MMP14、TIMP1、TIMP2、TIMP3、Bax、Caspase-3、Caspase-9、LC3-II 的 mRNA 表达量; 加入 RIPA 提取蛋白质后, 采用酶联免疫吸附试剂盒测定 Col-I、Col-III、Elastin、PYD、Fibulin-5 的含量。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件录入基因表达的数据并对两组间的

数据进行  $t$  检验, 对两数据间的相关性进行 Pearson 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 宫骶韧带中 MMPs/TIMPs 的表达量

SUI 组患者宫骶韧带中 MMP1、MMP2、MMP9、MMP14 的 mRNA 表达量显著高于对照组, TIMP1、TIMP2、TIMP3 的 mRNA 表达量显著低于对照组。两组患者宫骶韧带中 MMP1、MMP2、MMP9、MMP14、TIMP1、TIMP2、TIMP3 mRNA 表达量的差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1、2。

表 1 宫骶韧带中 MMPs 的 mRNA 表达量 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	MMP1	MMP2	MMP9	MMP14
SUI 组	48	2.89±0.52	3.25±0.42	2.27±0.36	2.46±0.38
对照组	30	1.04±0.16	1.07±0.12	0.98±0.11	1.02±0.14
<i>t</i>		17.598	22.138	13.498	16.582
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 2 宫骶韧带中 TIMPs 的 mRNA 表达量 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	TIMP1	TIMP2	TIMP3
SUI 组	48	0.47±0.07	0.35±0.06	0.52±0.08
对照组	30	1.04±0.16	1.06±0.12	0.98±0.11
<i>t</i>		11.385	16.587	9.183
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

### 2.2 宫骶韧带中细胞外基质成分的含量

SUI 组宫骶韧带中 Col-I、Col-III、Elastin、PYD、Fibulin-5 的含量显著低于对照组。两组患者宫骶韧带中 Col-I、Col-III、Elastin、PYD、Fibulin-5 含量的差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 宫骶韧带中细胞外基质成分的含量 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	Col-I (ng/mL)	Col-III (ng/mL)	Elastin (ng/mL)	PYD (pg/mL)	Fibulin-5 (pg/mL)
SUI 组	48	2.03±0.35	1.77±0.24	1.13±0.13	249.48±34.57	174.51±20.35
对照组	30	3.94±0.52	3.61±0.57	2.68±0.34	642.84±78.93	426.76±52.38
<i>t</i>		9.283	11.327	14.598	13.627	12.574
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

### 2.3 宫骶韧带中凋亡基因的表达量

SUI 组宫骶韧带中 Bax、Caspase-3、Caspase-9、LC3-II 的 mRNA 表达量显著高于对照组。两组患者宫骶韧带中 Bax、Caspase-3、Caspase-9、LC3-II mRNA 表达量的差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。Pearson 检验显示: 宫骶韧带中 Bax、Caspase-3、Caspase-9、LC3-II 的 mRNA 表达量与 MMP1、MMP2、MMP9、MMP14 的 mRNA 表达量呈正相关, 与 TIMP1、TIMP2、TIMP3 的 mRNA 表达量以及 Col-I、Col-III、Elastin、PYD、Fibulin-5 的含量呈负相关。

表 4 宫骶韧带中凋亡基因的 mRNA 表达量( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	Bax	Caspase-3	Caspase-9	LC3-II
SUI 组	48	2.44±0.39	3.25±0.41	2.31±0.39	2.03±0.31
对照组	30	1.04±0.18	1.02±0.16	0.97±0.14	0.95±0.15
t		13.598	22.149	15.328	11.495
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

### 3 讨论

压力性尿失禁(SUI)属于盆底器官功能障碍性疾病(PFD),具体是指在逼尿肌未收缩、而腹压升高时尿液从尿道口溢出现象<sup>[5,6]</sup>。盆底支持结构破坏是 SUI 患者重要的病理特征,细胞外基质成分大量丢失并造成盆底结构的支持力减弱<sup>[7,8]</sup>。MMPs 是一族依赖锌离子的蛋白酶,对细胞外基质中的胶原、弹性蛋白、层黏连蛋白等成分具有水解作用<sup>[9,10]</sup>。我们通过分析 SUI 患者宫骶韧带中 MMPs 的表达量可知:SUI 组患者宫骶韧带中 MMP1、MMP2、MMP9、MMP14 的 mRNA 表达量显著高于对照组。这就说明多种 MMPs 的高表达与 SUI 的发生密切相关。MMPs 降解细胞外基质的催化活性受到多种 TIMPs 分子的影响,TIMPs 家族中的 TIMP1、TIMP2、TIMP3 能够与多种 MMPs 分子结合并抑制其催化活性<sup>[11]</sup>。我们进一步对 SUI 患者宫骶韧带中 TIMPs 表达量进行了分析,结果显示:SUI 组患者宫骶韧带中 TIMP1、TIMP2、TIMP3 的 mRNA 表达量显著低于对照组。这就进一步说明 MMPs/TIMPs 的失衡与 SUI 的发生密切相关,MMPs 降解的催化活性增加能够造成细胞外基质降解过度、引起盆底组织结构的支持力下降并导致 SUI 的发生。

盆底支持结构中的尿道下阴道壁、耻骨尿道韧带、耻骨尾骨肌以及尿道周围结缔组织对控制女性尿道关闭具有重要意义,而胶原蛋白 Col-I、Col-III 和弹性蛋白 Elastin 是决定盆底支持结构韧性和弹性的主要成分<sup>[12,13]</sup>。盆底支持结构中 Col-I、Col-III、Elastin 等成分在 MMPs 的作用下发生降解会引起组织的支持力减弱,进而造成尿道无法正常关闭并引起尿失禁的发生<sup>[14]</sup>。我们通过分析 SUI 患者宫骶韧带中胶原和弹性蛋白的含量可知:SUI 组患者宫骶韧带中 Col-I、Col-III、Elastin 的含量显著低于对照组。这就说明宫骶韧带中胶原及弹性蛋白的丢失与 SUI 的发生密切相关。在胶原蛋白和弹性蛋白互相交联并维持局部组织韧性、弹性的过程中,PYD 和 Fibulin5 发挥了重要作用。PYD 是胶原蛋白间形成胶原纤维的交联物、对胶原链的结构具有稳定作用,Fibulin5 则能够有效促进弹性蛋白形成、抑制弹性蛋白降解<sup>[15]</sup>。我们进一步对 SUI 患者宫骶韧带中上述两种功能分子的含量进行了分析,结果显示:SUI 组患者宫骶韧带中 PYD、Fibulin-5 的含量显著低于对照组。这就说明盆底支持

结构中胶原蛋白、弹性蛋白及其交联产物的降解与 SUI 的发生密切相关。

近年来关于 SUI 患者盆底支持结构中病理特征的研究发现,凋亡细胞数目增多是局部组织重要的特征<sup>[16]</sup>。盆底支持结构中肌细胞的凋亡会直接影响组织结构的支持力,同时也会出现组织瘢痕修复并影响细胞外基质的成分。Bax 是通过线粒体途径调节细胞凋亡的重要分子,能够启动 Caspase-9、Caspase-3 的级联激活并引起细胞凋亡;LC3-II 是调节细胞自噬的关键分子,LC3-I 向 LC3-II 的过度转化会造成细胞自噬过度,进而引起细胞凋亡。我们通过分析 SUI 患者宫骶韧带中上述细胞凋亡基因的表达量可知:SUI 组患者宫骶韧带中 Bax、Caspase-3、Caspase-9、LC3-II 的 mRNA 表达量显著高于对照组。这就说明盆底支持结构中细胞过度凋亡与 SUI 的发生密切相关。进一步分析细胞凋亡与 MMPs/TIMPs 表达量及细胞外基质成分含量的相关性可知:宫骶韧带中 Bax、Caspase-3、Caspase-9、LC3-II 的 mRNA 表达量与 MMP1、MMP2、MMP9、MMP14 的 mRNA 表达量呈正相关,与 TIMP1、TIMP2、TIMP3 的 mRNA 表达量以及 Col-I、Col-III、Elastin、PYD、Fibulin-5 的含量呈负相关。这就说明 SUI 患者盆底支持结构中细胞的过度凋亡会造成局部组织结构中 MMPs/TIMP 失衡并引起细胞外基质成分过度丢失,进而导致盆底结构支持力减弱,最终发生 SUI。

宫骶韧带中细胞过度凋亡是压力性尿失禁的重要特征;细胞过度凋亡会影响 MMPs/TIMPs 并造成细胞外基质中胶原、弹性蛋白等成分过度降解,进而引起盆底结构支持力减弱并导致尿失禁的发生。

### 参考文献

- 1 Tan T, Cholewa NM, Case SW, et al. Micro-structural and Bi-axial Creep Properties of the Swine Uterosacral-Cardinal Ligament Complex [J]. Ann Biomed Eng, 2016, 44(11):3225-3237.
- 2 Augusto KL, Bezerra LRPS, Murad-Regadas SM, et al. Defecatory dysfunction and fecal incontinence in women with or without posterior vaginal wall prolapse as measured by pelvic organ prolapse quantification (POP-Q)[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2017, 214:50-55.
- 3 Wang X, Li Y, Chen J, et al. Differential expression profiling of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in females with or without pelvic organ prolapse[J]. Mol Med Rep, 2014, 10(4):2004-2008.
- 4 Karachalios C, Bakas P, Kaparos G, et al. Matrix metalloproteinase-3 gene promoter polymorphisms: A potential risk factor for pelvic organ prolapse [J]. Biomed Rep, 2016, 5(3):337-343.
- 5 Castro-Pardiñas MA, Torres-Lacomba M, Navarro-Brazález B. Muscle function of the pelvic floor in healthy, puerperal women with pelvic floor dysfunction [J]. Actas Urol Esp, 2017, 41(4): 249-257.

- (32): e4466.
- 2 Brooks HL, Pollow DP, Hoyer PB. The VCD Mouse Model of Menopause and Perimenopause for the Study of Sex Differences in Cardiovascular Disease and the Metabolic Syndrome [J]. *Physiology* (Bethesda), 2016, 31(4): 250-257.
  - 3 Park BR, Park HN, Jung JB, et al. Efficacy and safety of drospirenone 2 mg/17 $\beta$ -estradiol 1 mg hormone therapy in Korean postmenopausal women[J]. *Obstet Gynecol Sci*, 2017, 60(2): 213-217.
  - 4 Neri-Gómez T, Espinosa-Raya J, Diaz-Cintra S, et al. Tibolone modulates neuronal plasticity through regulating Tau, GSK3 $\beta$ /Akt/PI3K pathway and CDK5 p35/p25 complexes in the hippocampus of aged male mice[J]. *Neural Regen Res*, 2017, 12(4): 588-595.
  - 5 Echiburú B, Crisosto N, Maliqueo M, et al. Metabolic profile in women with polycystic ovary syndrome across adult life[J]. *Metabolism*, 2016, 65(5): 776-782.
  - 6 Lenart-Lipińska M, Matyjaszek-Matuszek B, Woźniakowska E, et al. Polycystic ovary syndrome: clinical implication in perimenopause[J]. *Prz Menopauzalny*, 2014, 13(6): 348-351.
  - 7 Neri-Gómez T, Espinosa-Raya J, Diaz-Cintra S, et al. Tibolone modulates neuronal plasticity through regulating Tau, GSK3 $\beta$ /Akt/PI3K pathway and CDK5 p35/p25 complexes in the hippocampus of aged male mice[J]. *Neural Regen Res*, 2017, 12(4): 588-595.
  - 8 Khan N, Gavrilidis E, Kulkarni J. Tibolone treatment for perimenopausal depression: Three cases[J]. *Aust N Z J Psychiatry*, 2016, 50(12): 1213-1214.
  - 9 Tanaka Y, Mori T, Ito F, et al. Effects of low-dose combined drospirenone-ethinylestradiol on perimenstrual symptoms experienced by women with endometriosis[J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2016, 135(2): 135-139.
  - 10 Zhao X, Zhang XF, Zhao Y, et al. Effect of combined drospirenone with estradiol for hypertensive postmenopausal women: a systemic review and meta-analysis[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2016, 32(9): 685-689.
  - 11 Echiburú B, Crisosto N, Maliqueo M, et al. Metabolic profile in women with polycystic ovary syndrome across adult life[J]. *Metabolism*, 2016, 65(5): 776-782.
  - 12 Indhavivadhana S, Rattanasrithong P. The relationship between bone mineral density and metabolic syndrome in peri- and postmenopausal Thai women[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2015, 292(5): 1127-1133.
  - 13 Ye H, Li X, Zheng T, et al. The effect of the immune system on ovarian function and features of ovarian germline stem cells [J]. *Springerplus*, 2016, 5(1): 990.
  - 14 Trop-Steinberg S, Azar Y. AP-1 Expression and its Clinical Relevance in Immune Disorders and Cancer[J]. *Am J Med Sci*, 2017, 353(5): 474-483.
  - 15 K Au K, Peterson N, Truesdell P, et al. CXCL10 alters the tumour immune microenvironment and disease progression in a syngeneic murine model of high-grade serous ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2017, 145(3): 436-445.
  - 16 Salerno EP, Bedognetti D, Mauldin IS, et al. Human melanomas and ovarian cancers overexpressing mechanical barrier molecule genes lack immune signatures and have increased patient mortality risk[J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(12): e1240857.
- 
- (上接第 2115 页)
- 6 de Menezes Franco M, Driusso P, Bø K, et al. Relationship between pelvic floor muscle strength and sexual dysfunction in postmenopausal women: a cross-sectional study[J]. *Int Urogynecol J*, 2017, 28(6):931-936.
  - 7 Davis NF, Coakley DN, Callanan A, et al. Evaluation of xenogenic extracellular matrices as adjuvant scaffolds for the treatment of stress urinary incontinence [J]. *Int Urogynecol J*, 2013, 24(12):2105-2110.
  - 8 Min J, Li B, Liu C, et al. Extracellular matrix metabolism disorder induced by mechanical strain on human parametrial ligament fibroblasts[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(5):3278-3284.
  - 9 Zhang Q, Liu C, Hong S, et al. Excess mechanical stress and hydrogen peroxide remodel extracellular matrix of cultured human uterosacral ligament fibroblasts by disturbing the balance of MMPs/TIMPs via the regulation of TGF  $\beta$ 1 signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(1): 423-430.
  - 10 Leegant A, Zuckerwise LC, Downing K, et al. Transforming growth factor  $\beta$ 1 and extracellular matrix protease expression in the uterosacral ligaments of patients with and without pelvic organ prolapse [J]. *Female Pelvic Med Reconstr Surg*, 2015, 21(1):53-8.
  - 11 Borazjani A, Kow N, Harris S, et al. Transcriptional Regulation of Connective Tissue Metabolism Genes in Women With Pelvic Organ Prolapse[J]. *Female Pelvic Med Reconstr Surg*, 2017, 23(1):44-52.
  - 12 Estanol MV, Crisp CC, Oakley SH, et al. Systemic markers of collagen metabolism and vitamin C in smokers and non-smokers with pelvic organ prolapse [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2015, 184: 58-64.
  - 13 Darzi S, Urbankova I, Su K, et al. Tissue response to collagen containing polypropylene meshes in an ovine vaginal repair model [J]. *Acta Biomater*, 2016, 15(39): 114-123.
  - 14 Borazjani A, Kow N, Harris S, et al. Transcriptional Regulation of Connective Tissue Metabolism Genes in Women With Pelvic Organ Prolapse[J]. *Female Pelvic Med Reconstr Surg*, 2017, 23(1):44-52.
  - 15 Chin K, Wieslander C, Shi H, et al. Pelvic Organ Support in Animals with Partial Loss of Fibulin-5 in the Vaginal Wall [J]. *PLoS One*. 2016, 11(4):e0152793.
  - 16 Saatli B, Kizildag S, Cagliyan E, et al. Alteration of apoptosis-related genes in postmenopausal women with uterine prolapse [J]. *Int Urogynecol J*, 2014, 25(7): 971-977.