

[文章编号 1000-1182(2005)04-0273-04]

基础研究 ·

基质金属蛋白酶及其组织抑制剂表达失衡 与涎腺恶性肿瘤浸润生长的关系

田 鲲¹, 陈 宇¹, 耿 宁², 杨名仲¹, 章卫平²

(1. 四川大学华西口腔医院 病理科; 2. 口腔生物医学工程教育部重点实验室 四川大学, 四川 成都 610041)

[摘要] 目的 探讨基质金属蛋白酶 2、9(MMP-2、9)、膜型基质金属蛋白酶 1(MT1-MMP)及基质金属蛋白酶组织抑制剂 1、2(TIMP-1、2)与涎腺恶性肿瘤浸润生长的关系。方法 应用免疫组化 SP 法和明胶酶谱法检测 28 例涎腺良性肿瘤、26 例涎腺恶性肿瘤中 MMP-2、9、MT1-MMP 及 TIMP-1、2 的表达及细胞定位, 分析其中酶原与活性酶的含量比例。结果 涎腺恶性肿瘤中 MMP-2、9 的表达强于良性肿瘤 ($P < 0.05$), TIMP-1、2 的表达低于良性肿瘤 ($P < 0.05$)。MMP-2、MT1-MMP、TIMP-2 的表达有相关性。MMP-9 酶原及活性 MMP-9 在恶性肿瘤中的表达均高于良性肿瘤 ($P < 0.05$)。结论 MMP-2、9 在涎腺恶性肿瘤浸润性生长中扮演了重要角色。涎腺恶性肿瘤中, TIMP-1、2 抑制作用的降低导致了 MMP-2、9 合成、激活的增多, 令 MMP-2、9 与其天然组织抑制剂 TIMP-1、2 之间的平衡失调, 从而基底膜加速降解。

[关键词] 基质金属蛋白酶; 基质金属蛋白酶组织抑制剂; 涎腺肿瘤

[中图分类号] R 780.2 **[文献标识码]** A

Relationship of the Disturbed Balance between Matrix Metalloproteinases and their Tissue Inhibitors and the Invasion of Malignant Salivary Gland Tumours TIAN Kun¹, CHEN Yu¹, GENG Ning², YANG Ming-zhong¹, ZHANG Wei-ping².

(1. Dept. of Oral Pathology, West China College of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Key Laboratory of Oral Biomedical Engineering Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract Objective To detect protein expression of MMPs and TIMPs in various salivary gland neoplasms and to investigate their roles in invasion and metastasis of the malignant salivary gland tumors. **Methods** Immunohistochemistry and Gelatin zymography analyses for MMP-2, MMP-9, MT1-MMP, TIMP-1 and TIMP-2 were performed in 26 malignant and 28 benign salivary gland tumors. **Results** The expression of MMP-2 and MMP-9 was significantly higher in carcinomas than in adenomas ($P < 0.05$). The MMP-2/TIMP-1 and MMP-2/TIMP-2 was also significantly higher in carcinomas than in adenomas ($P < 0.05$). There was a cooperated effect among MMP-2, MT1-MMP and TIMP-2. The expression of active MMP-2, proMMP-9 and active MMP-9 was significantly higher in malignant tumors than in benign tumors ($P < 0.05$). **Conclusion** MMP-2 and MMP-9 may play important roles in invasion of malignant salivary gland tumors. A disturbed balance between MMP-2, MMP-9, TIMP-1 and TIMP-2 in malignant salivary gland tumors was detected. It was the absolute increase of MMP-2 and MMP-9 to induce the unbalance.

Key words matrix metalloproteinases; tissue inhibitors of metalloproteinase; salivary gland tumor

研究表明,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)能降解几乎所有细胞外基质,在体内参与结缔组织的降解、重建、炎症反应等生理、病理过程,在人类多种恶性肿瘤的浸润、转移过程中扮演重要角色^{1,2}。肿瘤细胞直接分泌或诱导宿主细胞分泌酶类降解基底膜和细胞外基质,为肿瘤细胞浸润开辟通道。然而 MMPs 的活性受到基质金属蛋白酶天然组织抑制剂(tissue inhibitors of metalloproteinase, TIMPs)的抑制³。MMPs 与 TIMPs 在体内维持着细胞外基质降解和合成的平衡。当恶性肿瘤中某种因素

使 MMPs 过度表达时,该平衡被打破,基底膜及细胞外基质降解。MMPs 与 TIMPs 在恶性肿瘤发生发展中的作用日益受到关注,但有关 MMPs 与 TIMPs 在涎腺肿瘤中的表达报道较少。本文通过免疫组化 SP 法和明胶酶谱法检测涎腺良、恶性肿瘤中 MMP-2、9、膜型 MMP-1(membrane-type 1 matrix metalloproteinase, MT1-MMP)及 TIMP-1、2 的表达及细胞定位,分析其中酶原与活性酶的含量比例,探讨它们与涎腺恶性肿瘤浸润生长的关系。

1 材料和方法

1.1 材料

单克隆抗体(1:100)MMP-2、9 及 SP 试剂盒购自 ZYMED 公司;TIMP-1 购自 Ameresco 公司(1:100);

[收稿日期 2004-12-25; 修回日期 2005-03-26]

[基金项目]教育部回国人员科研启动基金资助项目(0040305402002)

[作者简介]田 鲲(1978-),女,贵州人,博士研究生

[通讯作者]陈 宇, Tel: 028-85501465

TIMP-2 购自 Santa Cruz 公司 (1:100);MT1-MMP 购自 R&D 公司。聚丙烯酰胺、十二烷基硫酸钠 (Sodium dodecylsulfate, SDS) 均购自 Fulka 公司;甲叉双丙烯酰胺 (bis-acrylamide)、四甲基乙二胺 (N,N,N,N,-tetraamethylethylenediamine, TEMED)、过硫酸铵 (ammonium persulfate, APS)、明胶蛋白 (Gelatin) 均购自 Sigma 公司;低分子量蛋白标准 (Pharmacia 公司);考马斯亮蓝、溴酚蓝、甲醇、冰乙酸、甲酸、丙三醇、异丁醇、甘氨酸、三羟甲基氨基甲烷 (Tromethamine-Aminomethane, Tris 碱)、氯化钙、氯化锌 (成都化学试剂厂分析纯)。

1.2 标本来源

所有标本均来自四川大学华西口腔医院颌面外科 2003 年 6 月~2003 年 10 月涎腺肿瘤患者手术切除的新鲜组织。经 2 位副教授以上的病理专家确诊,所选标本中良性肿瘤 28 例 (基底细胞腺瘤 16 例、肌上皮瘤 12 例),其中男性 14 例,平均年龄 48.6 岁,女性 14 例,平均年龄 41.2 岁。恶性 26 例 (粘液表皮样癌 4 例,腺样囊性癌 6 例,腺泡细胞癌 9 例,恶性肌上皮瘤 1 例,低分化腺癌 6 例),其中男性 16 例,平均年龄 40.7 岁,女性 10 例,平均年龄 38.5 岁。所选标本排除复发涎腺肿瘤和术前曾接受抗肿瘤治疗的患者。

1.3 免疫组化 SP 法检测

标本常规石蜡包埋,制成 4 μm 厚切片,脱蜡后 3 %过氧化氢水溶液封闭,微波抗原修复 10 min,正常山羊血清封闭液,37 ℃ 20 min。分别滴加各因子的抗体,采用 SP 法检测各因子细胞内的表达。滴加一抗体于组织切片上,37 ℃ 孵育 2 h,磷酸缓冲液 (PBS) 清洗 2 次,每次 5 min。滴加生物素标记的二抗,37 ℃ 孵育 30 min。PBS 清洗 2 次,每次 5 min。滴加三抗,37 ℃ 孵育 30 min。滴加新鲜配制的二氨基联苯胺 (diaminobezidin, DAB),显微镜下观察显色,苏木素复染,常规透明封片。

将胞浆出现棕黄色颗粒的细胞视为阳性细胞。参考 Nagel 等⁴ 方法,每个标本在高倍镜下随机选取 5 个视野,每个视野至少记数 1 000 个细胞,计阳性细胞数。阳性细胞率 = (阳性细胞数/ 记数细胞总数) × 100 %,将无阳性细胞出现者记为 0 分,阳性细胞率小

于 10 %记为 1 分,10 %~50 %者记为 2 分,大于 50 %者记为 3 分。用阳性细胞平均计分代表各因子细胞内表达的强弱,阳性细胞平均计分 = 5 个视野下阳性细胞计分之和/5。

1.4 明胶酶谱法检测

新鲜标本离体后-70 ℃ 冷冻冰箱内保存。常规匀浆,离心制备组织蛋白抽提液。取上清液,用含 0.1 %明胶的 7.5 %聚丙烯酰胺凝胶进行十二烷基硫酸钠凝胶电泳,采用低分子量蛋白标准品作对照。电泳结束后将胶体置于洗脱液 (2.5 % Triton X-100) 中震荡洗涤。明胶缓冲液 37 ℃ 孵育 18 h,考马斯亮蓝溶液染色 1 h,脱色 30~40 min,得透亮带⁴。

用 4 500 000 像素数码照相机拍照透亮带,IMAGE PRO PLUS 4.10 版专业图像分析软件进行图像分析,记录积分光密度 (intergrated optical density, IOD),此值可反映各因子的表达情况。

1.5 统计学处理

利用 SPSS 10.0 统计软件对所得数据进行 Mann-Whitney 检验及 Logistic 回归分析。

2 结果

2.1 免疫组化检测结果

各肿瘤染色后各因子阳性细胞平均计分见表 1。从表 1 可见 MMP-2、MMP-9、MT1-MMP、TIMP-1、TIMP-2 在涎腺良、恶性肿瘤中有不同程度的表达。同种涎腺肿瘤中 MMP-2 的表达强于 MMP-9,TIMP-2 的表达强于 TIMP-1,MT1-MMP 的表达最强。恶性肿瘤中 MMP-2、MMP-9、TIMP-1 的表达强于良性肿瘤 ($P < 0.05$),MT1-MMP、TIMP-2 在涎腺良、恶性肿瘤均有表达,差异无统计学意义。MMP-2/TIMP-1 及 MMP-2/TIMP-2 的值在涎腺恶性肿瘤中大于良性肿瘤 ($P < 0.05$),提示良性肿瘤中 TIMP-1、TIMP-2 的相对分泌量高于恶性肿瘤。MMP-9/TIMP-1 及 MMP-9/TIMP-2 的值在良、恶性肿瘤中的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。把恶性肿瘤中 MMP-2、MT1-MMP、TIMP-2 阳性细胞积分作 Logistic 回归,证实它们之间有协同关系 ($P < 0.05$),提示 MMP-2、MT1-MMP、TIMP-2 具有协同作用。

表 1 各型肿瘤免疫组化染色后各因子的阳性细胞平均计分

Tab 1 The average score of immunohistochemistry in salivary gland tumors

因子	良性肿瘤阳性细胞平均计分			恶性肿瘤阳性细胞平均计分					\bar{x}
	肌上皮瘤	基底细胞腺瘤	\bar{x}	粘液表皮样癌	腺样囊性癌	腺泡细胞癌	恶性肌上皮瘤	低分化腺癌	
MMP-2	1.33	0.66	0.833	2.00	3.00	3.00	1.00	2.66	2.333
MMP-9	0.66	0.66	0.667	1.50	2.00	2.00	1.00	1.33	1.556
MT1-MMP	3.00	3.00	3.000	3.00	3.00	3.00	2.00	3.00	2.889
TIMP-1	1.66	0.66	1.167	2.50	2.50	2.00	1.00	2.00	2.111
TIMP-2	3.00	2.33	2.667	3.00	3.00	3.00	2.00	2.66	2.778

基底细胞腺瘤中 MMP-2 的表达见图 1。腺样囊性癌中肿瘤细胞 MMP-2 的表达见图 2。基底细胞腺瘤中 TIMP-1 的表达见图 3。腺样囊性癌肿瘤中 TIMP-1 的表达见图 4。MMPs 因肿瘤细胞种类不同而表达不同,在表皮样细胞和中间细胞表达较高,粘液细胞表达很少。腺样囊性癌中 MMPs 在不同的组织结构区域其表达也不相同,条索实性区域上皮细胞表达强于腺管-筛孔样区域。

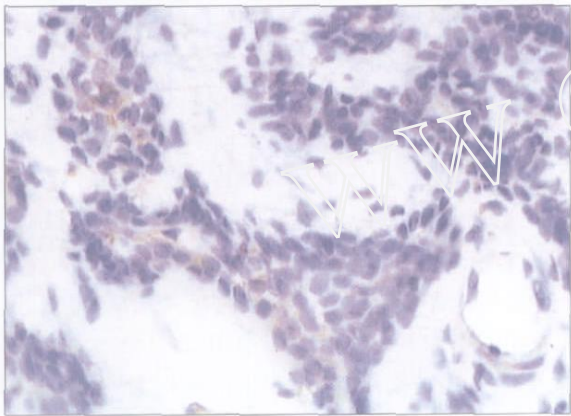


图1 基底细胞腺瘤中少许肿瘤细胞胞浆着色 SP ×40
Fig 1 A few of cells show the positive expression (arrow) in basal cell adenoma SP ×40

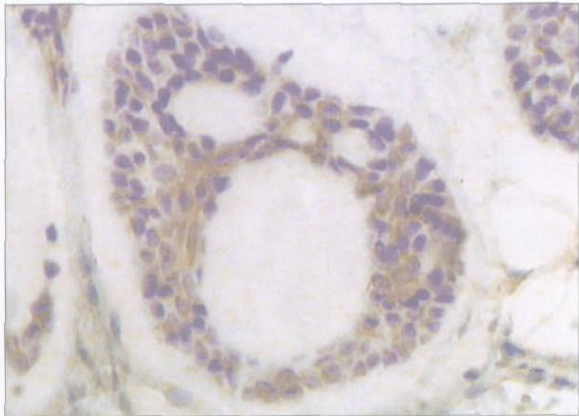


图2 腺样囊性癌中肿瘤细胞呈筛孔样结构,胞浆着色明显 SP ×40
Fig 2 A strong positive reaction (arrow) was observed in adenoid cystic carcinoma SP ×40

2.2 明胶酶谱法检测结果

涎腺肿瘤的明胶酶谱结果见图 5。在图 5 蓝色背景凝胶块中可以看到 5 条带,分别为分子量 92 kD 的 MMP-9 酶原;分子量 83 kD 的活性 MMP-9;72 kD 的 MMP-2 酶原;64 kD 的中间型 MMP-2 ;62 kD 的活性 MMP-2 条带。其中中间型 MMP-2 是去除了 8 kD 的酶原肽段,只有少数恶性肿瘤病例中能观测到。

各型肿瘤中 MMP 酶原与活性 MMP 的 IOD 平均计分见表 2。从表 2 可见 MMP-2 酶原在全部样本中都有较强表达,但良性、恶性肿瘤间的差异无统计学

意义 ($P>0.05$)。活性 MMP-2 在所有样本中都有表达,恶性肿瘤的表达水平高于良性肿瘤 ($P<0.05$)。MMP-9 酶原、活性 MMP-9 在部分良性肿瘤中表达很低或不表达,恶性肿瘤中均有明显表达 ($P<0.05$)。

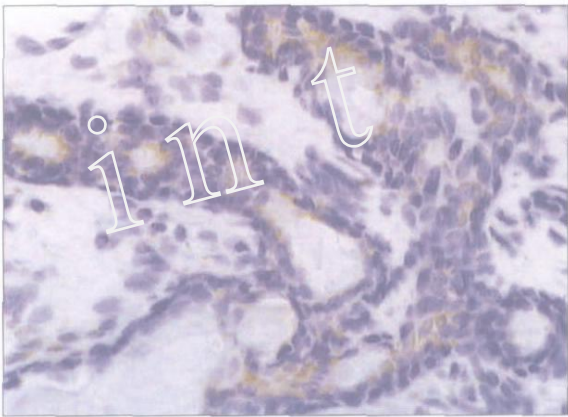


图3 基底细胞腺瘤中部分肿瘤细胞着色 SP ×40
Fig 3 Some tumor cell show positive expression (arrow) in basal cell adenoma SP ×40

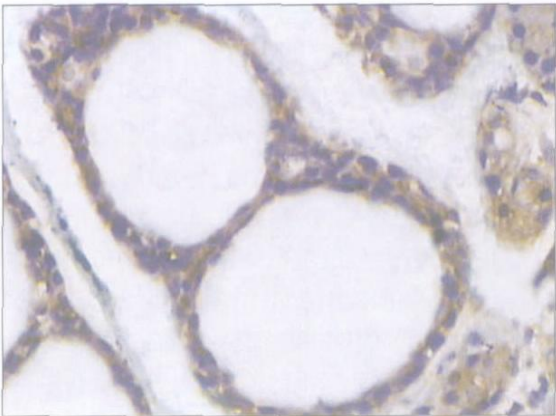
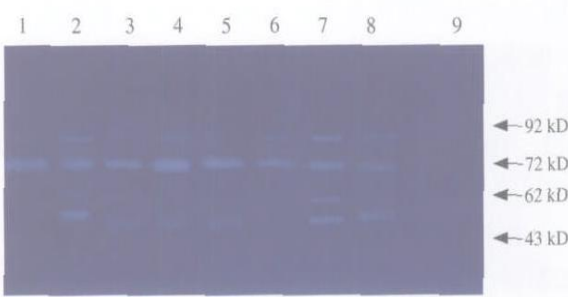


图4 腺样囊性癌肿瘤细胞呈筛孔样结构,胞浆着色较深 SP ×40
Fig 4 A diffuse positive reaction (arrow) was observed in adenoid cystic carcinoma SP ×40



1:基底细胞腺瘤; 2:腺泡细胞癌; 3:粘液表皮样癌; 4:恶性肌上皮瘤; 5:腺样囊性癌; 6:肌上皮瘤; 7:腺样囊性癌; 8:粘液表皮样癌; 9:Marker

图5 涎腺肿瘤的明胶酶谱

Fig 5 The result of gelatin zymography of various salivary gland tumors
表2 各型肿瘤中 MMP 酶原与活性 MMP 的 IOD 值

Tab 2 The IOD score of pro-MMP and active MMP in salivary gland tumors

活性酶类型	良性肿瘤 IOD 值			恶性肿瘤 IOD 值					
	肌上皮瘤	基底细胞腺瘤	\bar{x}	粘液表皮样癌	腺样囊性癌	腺泡细胞癌	恶性肌上皮瘤	低分化腺癌	\bar{x}
MMP-2 酶原	105 973.14	54 896.54	80 434.84	53 422.34	113 782.43	90 973.05	101 817.99	92 570.60	90 764.09
活性 MMP-2	46 055.78	16 073.31	31 064.55	57 831.99	86 362.27	65 133.72	52 658.19	60 981.72	66 261.57
MMP-9 酶原	9 719.48	10 323.13	10 021.30	41 304.13	75 005.08	45 761.14	41 919.85	32 599.51	47 482.43
活性 MMP-9	8 261.10	7 441.51	7 851.30	32 127.23	41 998.50	23 402.82	26 076.15	42 570.91	38 226.54

3 讨论

3.1 MMP-2、MMP-9 的过表达与涎腺恶性肿瘤的浸润

作为降解包括基底膜在内的细胞外间质的重要因子,MMP-2、MMP-9 在身体各系统肿瘤的浸润转移中都起到了至关重要的作用。本研究发现 MMP-2 总量,特别是其活性酶含量在涎腺恶性肿瘤中远大于良性肿瘤,而 MMP-9 无论是酶原还是活性酶在恶性肿瘤中的表达都明显高于涎腺良性肿瘤,提示涎腺恶性肿瘤组织中的基底膜及细胞外基质降解明显高于良性肿瘤,促进了肿瘤细胞的浸润和转移³。

一些研究者进行明胶酶谱试验时观测到一条微弱表达的透明带即 64 kD 带,命名为中间型 MMP-2⁶。它是 MMP-2 酶原(72 kD)脱掉 8 kD 肽段初步激活后形成的过渡性产物,继续反应脱掉一个 2 kD 肽段后即成为活性型 MMP-2(62 kD)。在 MMP-2 酶原的激活过程中,中间型 MMP-2 相当于一个储备库,维持活性型 MMP-2 的高浓度,不因 MMP-2 酶原的量暂时变化而影响最终活性酶的浓度,维持了细胞外基质的降解速率。本实验在低分化腺癌和腺样囊性癌中观察到微弱的中间型 MMP-2(64 kD)蛋白带表达,而在涎腺良性肿瘤中未发现中间型 MMP-2 表达,说明随着涎腺恶性肿瘤持续生长,作为活性酶的储备库中间型 MMP-2 将不断转化为活性 MMP-2,使活性酶持续增高或维持在一个相对较高的水平,令细胞外基质持续降解。

3.2 TIMP-1、TIMP-2 的表达及 MMP/ TIMP 的比值意义

TIMP-1、TIMP-2 是 MMP-2、9 在体内的天然组织抑制剂,通过与 MMP-2、9 上 Zn 结合位点结合而阻止 MMP-2、9 的活化,抑制其降解胶原的功能,减慢细胞外基质的降解速度³。许多文献报道在良性肿瘤中 TIMP1、2 的表达高于恶性肿瘤,提示 TIMP1、2 含量高而抑制了 MMP-2、9 的表达,从而抑制了肿瘤细胞的生长^{6、7}。本实验中免疫组化结果显示,恶性肿瘤中的 TIMP-1 表达高于良性肿瘤,TIMP-2 在良、恶性肿瘤

中表达无统计学差异。分析本实验数据发现,虽然恶性肿瘤中 TIMP-1 的绝对值高于良性肿瘤,但其 MMP-2、MMP-9 表达的绝对值也高于良性肿瘤,因此单纯比较良、恶性肿瘤中 MMPs 和 TIMPs 的表达并不能真实反映肿瘤组织中 MMP-2 与 TIMP-1 的实际关系,而 MMP/ TIMP 的值则较能客观的反映肿瘤中细胞外基质生成与降解间的平衡。本实验结果发现,良性肿瘤中 MMP-2/ TIMP-1 及 MMP-2/ TIMP-2 明显小于恶性肿瘤,说明良性肿瘤细胞 TIMP-1 的相对分泌量大于恶性肿瘤细胞。TIMP-1、2 对 MMP-2 有一定的抑制作用。这与 Nagel 等⁴的结果相似。但 MMP-9/ TIMP1 及 MMP-9/ TIMP-2 在良、恶性肿瘤间却无统计学意义差异,原因是本实验的样本含量较小还是 TIMP-1、2 对 MMP-9 的抑制作用不显著,或是还受其他相关因子调控,有待进一步研究。

3.3 MTI-MMP 的表达及 MMP-2 酶原-TIMP-2-MTI-MMP 复合物的作用

MTI-MMP 是一种跨膜蛋白,大部分由肿瘤基质细胞产生,分泌后吸附到肿瘤细胞表面和细胞内⁸,少量 MTI-MMP 位于基质成纤维细胞和肿瘤血管的内皮细胞。因此,本实验发现,在涎腺肿瘤中 MTI-MMP 在肿瘤细胞胞浆、胞膜和一些间质细胞有极强的表达。MMP-2 酶原活化的过程中,MTI-MMP 扮演了载体和控制阀门的角色,它水解 MMP-2 酶原,通过 TIMP-2 的 N 末端与 MMP-2 酶原-TIMP-2 复合物结合完成 MMP-2 激活过程⁸。统计分析发现 MMP-2、TIMP-2、MTI-MMP 之间有协同作用,提示在涎腺肿瘤中当 MMP-2、TIMP-2、MTI-MMP 三者同时存在时,作用效能提高,作用明显强于三者的单独作用。

3.4 MMPs 及 TIMPs 在一些涎腺肿瘤中的定位特征

本实验还观察到,粘液表皮样癌中 MMPs 主要表达在表皮样细胞和中间细胞,粘液细胞着色少。根据组织学分级,粘液细胞分化相对成熟,表皮样细胞、中间细胞分化较低,显示了较强的生长活性。该结果与 Ross 等⁹的相关结论吻合,即中间细胞是粘液表皮样癌中最具侵袭性的细胞,腺样囊性癌中实性条索样区

(下转第 279 页)

[参考文献]

- 1] 曾益新主编. 肿瘤学 M. 北京:人民卫生出版社, 1999:196-225.
(Zeng YX. Oncology M. Beijing: People Health Publish Press, 1999:196-225.)
- 2] 高雅娟. 热休克蛋白与肿瘤免疫 J. 国外医学免疫学分册, 2000, 23(5):290-293.
(Gao YJ. Relationship between heat shock protein and tumor immunity J. Section Immunol Foreign Medical Sciences, 2000, 23(5):290-293.)
- 3] Wei YQ, Zhao X, Kariya Y, et al. Induction of autologous tumor killing by heat treatment of fresh human tumor cells: involvement of cells and heat shock protein 70 J. Cancer Res, 1996, 56(5):1104-1110.
- 4] Okamoto M, Tazawa K, Kawagoshi T, et al. The combined effect against colon-26 cells of heat treatment and immunization with heat treated colon-26 tumor cell extract J. Int J Hyperthermia, 2000, 16(3):263-273.
- 5] Multhoff G. Heat Shock protein 72 (Hsp72), a hyperthermia-inducible immunogenic determinant on leukemic K562 and Ewing's sarcoma cells J. Int J Hyperthermia, 1997, 13(1):39-48.
- 6] Multhoff G, Botzler C, Wiesnet M, et al. A stress-inducible 72 kD heat-shock protein is expressed on the surface of human tumor cells, but

not on normal cells J. Int J Cancer, 1995, 61(2):272-279.

- 7] 吴伟忠, 刘康达, 高艳琴, 等. 热休克蛋白 70 的纯化及其抗小鼠肝癌作用的研究 J. 中华肿瘤杂志, 2000, 22(2):96-98.
(Wu WZ, Liu KD, Gao YQ, et al. Purification of hsp70 and its immunoprotective effect against mouse hepatoma J. Chin J Oncology, 2000, 22(2):96-98.)
- 8] 杨英, 李秀娟, 孙祖明, 等. 黑色素瘤 B₁₆ 细胞热休克蛋白-抗原肽复合物的体内外抑瘤效应 J. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2000, 7(2):121-123.
(Yang Y, Li XJ, Sun ZM, et al. *In vivo* and *in vitro* anti-tumor efficiency of B₁₆ melanoma HSP-Antigen peptide complex (HAC) J. Chin J Cancer Biotherapy, 2000, 7(2):121-123.)
- 9] Ito A, Shinkai M, Honda H, et al. Heat shock protein 70 express induce antitumor immunity during intracellular hyperthermia using magnetite nanoparticles J. Cancer Immunol Immunother, 2003, 52(2):80-88.
- 10] Ito A, Matsuoka F, Honda H, et al. Heat shock protein 70 gene therapy combined with hyperthermia using magnetite nanoparticles J. Cancer Gene Therapy, 2003, 10(12):918-925.
- 11] Ito A, Matsuoka F, Honda H, et al. Antitumor effects of combined therapy of recombinant heat shock protein 70 and hyperthermia using magnetite nanoparticles. in an experimental subcutaneous murine melanoma J. Cancer Immunol Immunother, 2004, 53(1):20-32.

(本文编辑 王 晴)

(上接第 276 页)

域较腺管和筛孔样区域浸润性更强^{10,11}。本实验还发现肿瘤条索状实性区域 MMPs 的表达强于腺管-筛孔样区域, 这提示 MMPs 在涎腺恶性肿瘤浸润、侵袭过程中的重要作用。本实验中腺泡细胞癌高度表达 MMPs 和 TIMPs, 而 Nagel 等⁴ 的实验显示, 正常涎腺组织中只有导管细胞表达 MMP-2、9, TIMP-1、2 在腺泡细胞并不表达。两者矛盾的可能解释为: 肿瘤性腺泡细胞在生物特性或某些抗原特征上完全不同于正常腺泡上皮; 支持腺泡细胞癌来源于闰管或闰管储备细胞的理论。这些观点有待进一步证实。

[参考文献]

- 1] Katayama A, Bandoh N, Kishibe K, et al. Expressions of matrix metalloproteinases in early-stage oral squamous cell carcinoma as predictive indicators for tumor metastases and prognosis J. Clin Cancer Res, 2004, 10(2):634-640.
- 2] Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry J. Circ Res, 2003, 92(8):827-839.
- 3] Johansson N, Ahonen M, Kahari VM. Matrix metalloproteinases in tumor invasion J. Cell Mol Life Sci, 2000, 57(1):5-15.
- 4] Nagel H, Laskawi R, Wahlers A, et al. Expression of matrix metalloproteinases MMP-2, MMP-9 and their tissue inhibitors TIMP-1, -2, and -3 in benign and malignant tumours of the salivary gland J. Histopathology, 2004, 44(3):222-231.

- 5] 刘煜, 张嘉宁, 朱正美. 基质金属蛋白酶酶谱分析法 J. 生殖医学杂志, 1998, 7(3):111-113.
(Liu Y, Zhang JN, Zhu ZM. The study of gelatin zymography of matrix metalloproteinases J. Chinese J Reproductive Medicine, 1998, 7(3):111-113.)
- 6] Ishihara Y, Nishikawa T, Iijima H, et al. Expression of matrix metalloproteinase, tissue inhibitors of metalloproteinase and adhesion molecules in silicotic mice with lung tumor metastasis J. Toxicol Lett, 2003, 142(1-2):71-75.
- 7] Nomura H, Fujimoto N, Seiki M, et al. Enhanced production of matrix metalloproteinases and activation of matrix metalloproteinase 2 (gelatinase A) in human gastric carcinomas J. Int J Cancer, 1996, 69(1):9-16.
- 8] Joanna R, Philip B, Thompkins B, et al. Sequence Motifs of tissue inhibitor of metalloproteinases 2 determining progelatinase A binding and activation by membrane-type metalloproteinase J. Biochem Soc, 2003, 372(3):799-809.
- 9] Ross DA, Huaman JA, Barsky SH. A study of the heterogeneity of the mucoepidermoid tumor and the implication for future therapies J. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 1992, 118(11):1172-1178.
- 10] Raitz R, Martins MD, Araujo VC. A study of the extracellular matrix in salivary gland tumors J. J Oral Pathol Med, 2003, 32(5):290-296.
- 11] Harbo G, Bundgaard T, Pedersen D, et al. Prognostic indicators for malignant tumours of the parotid gland J. Clin Otolaryngol, 2002, 27(6):512-516.

(本文编辑 王 晴)