

## MMP-2 在声带息肉中的表达

宁金梅<sup>1)</sup>, 吴平<sup>2)</sup>, 赵树波<sup>1)</sup>, 刘德华<sup>1)</sup>, 杨明早<sup>1)</sup>, 朱媛<sup>1)</sup>

(1) 曲靖市第一人民医院耳鼻喉头颈外科, 云南 曲靖 655000; 2) 昆明医科大学第二附属医院耳鼻喉科, 云南 昆明 650101)

**[摘要] 目的** 探讨声带息肉的发病机理, 了解 MMP-2 在声带息肉发病机理中的作用, 为临床防治声带息肉提供理论依据. **方法** 选取经病理诊断确诊, 且排除其他声带病变的声带息肉患者标本 35 例为实验组. 取正常声带组织标本 18 例为对照组. 所有标本经 HE 染色后, 进行 MaxVision™ 免疫组织化学染色, 用 PBS (磷酸盐缓冲液) 代替一抗作阴性对照, 并行计算机图像定量分析. **结果** 在正常声带中, MMP-2 的表达较弱, 而在声带息肉组织中的上皮细胞、成纤维细胞、炎性细胞、和血管内皮细胞表达较强. 声带息肉组 MMP-2 阳性单位均值  $(30.57 \pm 7.18)$  高于正常声带组  $(16.14 \pm 4.33)$ , 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ). **结论** 在声带息肉的病理生理方面发挥着重要作用, 参与了组织结构的重塑. 选择性抑制 MMP-2 可望成为声带息肉病人的一种新的治疗方案.

**[关键词]** 基质金属蛋白酶-2; 声带息肉; 免疫组织化学; 图像定量分析; 基底膜

**[中图分类号]** R767.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 11-0143-05

## Expression of MMP-2 in Vocal Fold Polyp

NING Jin-mei<sup>1)</sup>, WU Ping<sup>2)</sup>, ZHAO Shu-bo<sup>1)</sup>, LIU De-hua<sup>1)</sup>, YANG Ming-zao<sup>1)</sup>, ZHU Yuan<sup>1)</sup>

(1) Dept. of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, The First People's Hospital of Qujing City, Qujing Yunnan 655000; 2) Dept. of Otorhinolaryngology, The Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650101, China)

**[Abstract] Objective** Understand the role of MMP-2 in the pathogenesis, and provide a theoretical basis for clinical prevention and treatment of vocal cord polyp. **Methods** 35 patients without other vocal cord lesions underwent polypectomy were enrolled in this study for the experimental group. The specimens of vocal cord polyps were diagnosed by pathological method. Specimens of normal vocal fold were obtained from 18 autopsy cases for the control group. All samples were stained with hematoxylin-eosin, and immunohistochemical staining of MMP-2 was performed with monoclonal antibodies by MaxVision™ method. The average values of positive units which MMP-2 had expressed in vocal fold polyps and normal tissue of vocal folds were analyzed by means of quantitative analysis of computer images. PBS was used as the negative control. **Results** The expression of MMP-2 was weak in the normal vocal fold. In the vocal cord polyp tissues, strong expression for MMP-2 was found in the epithelial cells, fibroblasts, inflammatory cells and vascular endothelial cells. The average value of MMP-2 positive units  $(30.57 \pm 7.18)$  in the vocal cord polyp group was higher than that in the normal vocal group  $(16.14 \pm 4.33)$ , and there was a statistical significant difference ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Indicating that MMP-2 may play an important role in the pathophysiology of vocal cord polyp involved in reshaping organizational structures. With further research, for the patients with vocal cord polyps, selective inhibition of MMP-2 is expected to become a new treatment plan.

**[Key words]** MMP-2; Vocal fold polyp; Immunohistochemistry; Quantitative analysis of computer images; Basement membrane

声带息肉是喉科常见病,多发病,是声嘶的主要原因,近年发病率有不断升高的趋势,大约占有瘤样喉病变的 39%~70%。在成人多见,男女均可发病。常发生于一侧声带前、中三分之一交界处的边缘,有蒂或广基,也可双侧均发生。随着社会交流的增多,环境污染问题的加剧,其发病率有明显上升趋势,直接影响人们的生理,心理健康。声带的结构分为鳞状上皮层、固有层浅层、固有层中层、固有层深层和声带肌层五层<sup>[1]</sup>。任克氏间隙(Reinke's space)是位于声带上皮下与声韧带之间的一个柔软的、含有无定形物质的潜在间隙,其形态和张力决定了声带的振动特点<sup>[2]</sup>,是一个具有高度特异性的结缔组织屏障,全层几乎没有淋巴引流,主要为细胞外基质(extracellular matrix, ECM)和成纤维细胞(fibroblast, Fb)<sup>[3]</sup>,是声带息肉的好发部位。长期以来普遍认为声带息肉的病因是:(1)用声不当与用声过度;(2)继发于上呼吸道感染,黏膜充血,水肿而形成;(3)吸烟;(4)内分泌紊乱;(5)变态反应。导致声带息肉的形成可能是多方面因素共同作用的结果,而其中某一方面起主导作用。不当用声使声带张力剧增致声带黏膜突然位移,这可能引起血管的损伤致水肿、纤维蛋白渗出、炎性细胞浸润、出血、血栓形成、微血管增生等病理改变致息肉形成。其它病因也可影响声带黏膜致血管损害引起上述病理变化。但是什么因素作用导致声带结构的改变,生成息肉,并不是十分清楚。

既往 Courey 等<sup>[4]</sup>通过检测基底膜中的 IV 胶原纤维发现声带息肉上皮基底膜正常或变薄,小动脉内皮下基底膜比上皮基底膜明显变薄,且黏膜固有层的间质水肿、变性,血管扩张,血栓形成等改变,并由此得出结论,IV 胶原纤维的缺乏,可能是基底膜变弱导致声带息肉形成的重要原因。基质金属蛋白酶 2(MMP-2)是胶原降解的主要酶之一,其特异性底物以 IV 型胶原纤维为主,而 IV 型胶原纤维是基底膜的主要骨架,所以 MMP-2 在启动基底膜降解中起关键作用。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

实验组:选择近年声带息肉患者标本 35 例,其中男性 22 例,女性 13 例,年龄 24~62 岁,平均年 41 岁,病程 1 月至 8 a,均经病理诊断确诊,

且排除其他声带病变。所有患者均为初次手术。

对照组:正常声带组织标本 18 例(因非喉部疾病死亡 24~48 h 内的尸体标本,或病理科保存的正常声带组织标本蜡块)。

### 1.2 试验方法

2 组标本经 10% 甲醛固定,石蜡包埋,作 4  $\mu\text{m}$  厚的连续切片,HE 染色,选取标本中细胞成分多的部位作切片进行免疫组织化学染色。

**1.2.1 免疫组织化学染色** (1) 按即用型 MaxVisionTM 试剂盒要求顺序进行:石蜡切片脱蜡和水化后, PBS (磷酸盐缓冲液, pH7.4) 冲洗 3 次,每次 3 min; (2) 每张切片加 1 滴 3% 过氧化氢,室温下孵育 10 min,以阻断内源性过氧化物酶的活性。PBS 冲洗 3 次,每次 3 min; (3) 除去 PBS 液,每张切片加 1 滴第一抗体(浓缩型鼠抗人 MMP-2 免疫组化单克隆抗体),室温下孵育 60 min, PBS 冲洗 3 次,每次 3 min; (4) 除去 PBS 液,每张切片加 1 滴即用型 MaxVisionTM 试剂,室温下孵育 15 min, PBS 冲洗 3 次,每次 3 分钟; (5) 除去 PBS 液,每张切片加 2 滴新鲜配制的 DAB 溶液,显微镜下观察 3~5 min; (6) 自来水冲洗,苏木精复染,自来水冲洗返蓝。切片经过梯度酒精脱水干燥,二甲苯透明,中性树胶封固。

### 1.3 结果判断

阳性判断标准:与迈新公司的阳性对照片中阳性细胞相比。相同或比其深者为阳性,比其弱或没有染色者为阴性。MMP-2 以细胞浆出现黄色为阳性细胞,将每张切片着色强度与着色细胞数量进行分级。阳性细胞计数:0~5% 为 -, 6%~15% 为  $\pm$ , 16%~25% 为 +, 26%~50% 为 ++, >50% 为 +++。阳性细胞表达强度:无着色或染色与迈新公司的阳性对照片中阳性细胞相比比其弱, + 黄色, ++ 棕黄色, +++ 棕色。

### 1.4 图像定量分析

应用 Nikon Eclipse 50i 计算机图像分析仪,在 400 倍镜下对行 MMP-2 染色的切片每张随机选取 3 个视野的上皮细胞和相邻的细胞间质。因声带息肉病理组织学变化多样,为增加研究的可比性,在 MMP-2 的连续切片中,选取的视野相同。用 Nikon Mivnt 显微图像分析软件(WindowsXP 版),每个视野随机圈定 3 个阳性单位(3 个阳性细胞的细胞质),测定这 3 个阳性单位均值代表该视野的阳性单位均值。用阳性单位均值表示被染色物质的多少,阳性单位均值越大,说明物质的相对含量越高,即抗原物质表达的水平越高,反之亦然。

### 1.5 统计学处理

计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 用 SPSS 软件进行, 正常组与声带息肉组 MMP-2 阳性单位均值比较用  $t$  检验.  $P < 0.05$  为差异有统计学意义.

## 2 结果

### 2.1 免疫组化观察结果

MMP-2 定位于细胞浆, 细胞核无着色. 阴性对照片中未见阳性反应. MMP-2 在正常声带和声带息肉中均呈程度不一的阳性反应, MMP-2 在正常声带组中, 阳性反应主要位于炎性细胞、成纤维细胞. 在炎性细胞的表达: 计数和表达强度均大多为 ++; 在成纤维细胞的表达: 计数为 ~+, 表达强度为 ~++. 血管内皮细胞、上皮细胞、横纹肌及软骨细胞也有表达, 但表达较弱 (图 1). MMP-2 在声带息肉组中, 阳性反应主要位于上皮细胞、成纤维细胞、炎性细胞、和血管内皮细胞. 在上皮细胞的表达: 计数和表达强度均为 +~++; 在成纤维细胞的表达: 计数为 ±~++, 表达强度为 +~++; 在炎性细胞的表达: 计数为: ±~+, 表达强度大多为 ++; 在血管内皮细胞的表达: 计数为: ±~+, 表达强度: ±~++, 大多为 ++. 在间质也有表达 (图 2~4).

### 2.2 图像分析结果

正常声带和声带息肉组间 MMP-2 阳性单位均值比较有统计学差异 (表 1), 声带息肉组阳性单位均值 ( $30.57 \pm 7.18$ ) 高于正常声带组 ( $16.14 \pm 4.33$ ).

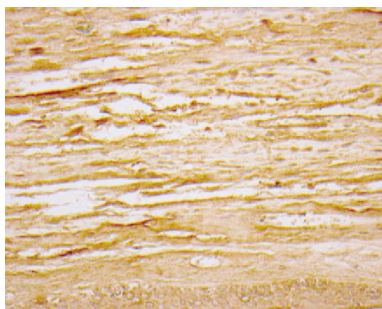


图 1 MMP-2 在正常声带上皮和固有层中的表达

Tab. 1 The expression of MMP-2 in the normal vocal epithelium and lamina propria  
(免疫组化 MaxVisionTM 法,  $\times 200$ )

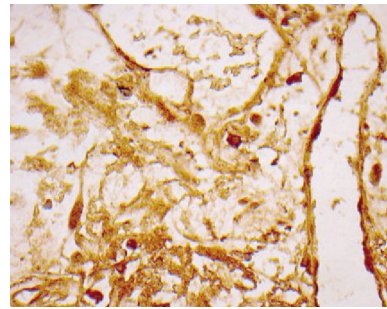


图 2 MMP-2 在声带息肉组织中的表达, 着色于血管和间质

Fig. 2 The expression of MMP-2 in the vocal cord polyp (expression in blood vessel and interstitial tissue)

(免疫组化 MaxVisionTM 法,  $\times 400$ )

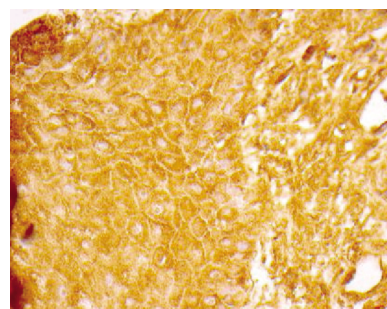


图 3 MMP-2 在声带息肉组织中的表达, 着色于上皮细胞和纤维细胞

Fig. 3 The expression of MMP-2 in the vocal cord polyp (expression in epithelial and fibroblast cells)

(免疫组化 MaxVisionTM 法,  $\times 400$ )

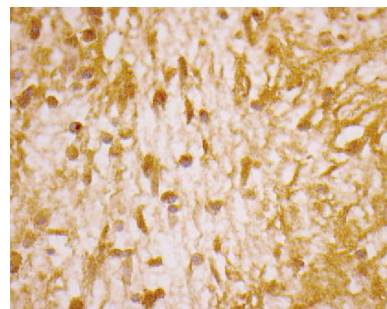


图 4 MMP-2 在声带息肉组织中的表达, 着色于纤维细胞和炎性细胞

Fig. 4 The expression of MMP-2 in the vocal cord polyp (expression in fibroblast and inflammatory cells)

(免疫组化 MaxVisionTM 法,  $\times 400$ )

表 1 正常声带和声带息肉 MMP-2 阳性单位均值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 The average value of MMP-2 expression positive units in vocal fold polyps and normal tissue of vocal folds ( $\bar{x} \pm s$ )

MMP-2	阳性单位均值
正常声带组	$16.14 \pm 4.33$
声带息肉组	$30.57 \pm 7.18^*$

与正常声带组比较,  $*P < 0.05$ .

### 3 讨论

Eckley CA 等<sup>[5]</sup>研究得出结论: 声带有潜在解剖异常者在嗓音滥用时更易受损致声带息肉, 可能因为不正常的声带关闭和声带不规则的震动边缘引起。息肉的发生在病理上被认为是非特异性慢性炎症, 炎症灶内血管的渗透性增加, 组织充血水肿, 细胞渗出, 局部细胞增生逐渐形成息肉, 在此过程中有血管生成和细胞外基质成分变化的参与。血管生成是通过组织中已成熟的脉管系统血管的内皮细胞发生增殖和游走, 通过出芽、剪切、内填等方式形成新的小血管<sup>[6]</sup>, 这在正常和疾病状况下都是一个重要的过程。声带息肉是在声带炎症基础上, 始于粘膜固有层的局部循环障碍, 致组织结构障碍, 粘膜上皮继发性萎缩, 声带 Reinke's 间隙内静脉充血水肿出血而形成息肉。Thibeault 等<sup>[7]</sup>报导了声带息肉和 Reinke's 间隙水肿中细胞外基质分子的改变。但从病理表现上声带息肉和鼻息肉具有相似性, 主要表现为黏膜下出血、纤维素、铁盐沉着、血栓形成、玻璃样变、表皮正常或萎缩、部分病例可见上皮不同程度增生及间质炎症细胞浸润。

已进行了大量关于 MMPs 在生理和病理情况下组织重塑方面生物学行为的研究, MMPs 能降解细胞外基质、基底膜和其它蛋白, 同时降低细胞免疫力<sup>[8,9]</sup>。Can IH 等<sup>[10]</sup>研究发现: 和慢性鼻窦炎、对照组相比, MMP-2 在鼻息肉组织中的表达显著增强, 差异有统计学意义。因此推论: MMP-2 在鼻粘膜中表达增强则导致息肉形成。Erdemoglu E 等<sup>[11]</sup>在子宫内膜息肉中的研究显示: MMP-2 和 MMP-9 在绝经前后子宫内膜息肉的上皮细胞和间质都有表达。Eyibilen A 等<sup>[12]</sup>研究报道: 与对照组相比, MMP-2 在鼻息肉和慢性鼻窦炎中的表达显著增加, 差异有统计学意义。MMP-2 着色于慢性鼻窦炎和鼻息肉的上皮细胞, 粘膜下腺, 血管内皮和炎症细胞。提示 MMP-2 可能与慢性鼻窦炎及鼻息肉有关。Malinsky RR 等<sup>[13]</sup>研究发现: MMP-2 and MMP-9 在鼻息肉中的表达显著高于对照组 (中鼻甲); 慢性鼻窦炎合并鼻息肉的患者中, MMP-2 and MMP-9 mRNA 基因的表达显著高于对照组。Wang LF 等<sup>[14]</sup>研究显示: MMP-2 在复发性鼻息肉表面上皮细胞中的表达显著高于对照组。Yigit O 等<sup>[15]</sup>研究得出结论: 口服皮质类固醇激素主要减少组织中 MMP-2, 其次影响 TIMP-1 (基质金属蛋白酶抑制剂 -1)。鼻息肉的严重程度主要与 MMP-2/TIMP-1 增加有关, 其次是 MMP -

9/TIMP-1。因此, 对于鼻息肉患者, 选择性抑制 MMP-2 和活化 TIMP-1 可能是一种新的治疗方案。国外学者 Karahan N 等<sup>[16]</sup>在声带息肉的研究中显示: 和正常声带相比, MMP-2、MMP-9 在声带息肉间质梭形细胞和血管壁的表达显著增强, MMP-2 在粘膜上皮基底细胞的表达也增强, 而 MMP-9 在粘膜上皮基底细胞的表达则没有显著差异。说明 MMP-2 在声带息肉的发展中发挥着作用。Vaiva Lesauskaite 等<sup>[17]</sup>用免疫组织化学方法研究 MMP-2 和 MMP-9 在声带息肉组织中的表达, 结果显示: MMP-2 在声带息肉组间质的表达明显高于正常对照组, 差异有统计学意义。在本实验中, MMP-2 在正常声带和声带息肉中均呈程度不一的阳性反应。在正常声带中, MMP-2 阳性反应主要位于炎症细胞、成纤维细胞。在声带息肉组中, MMP-2 阳性反应主要位于上皮细胞、成纤维细胞、炎症细胞、和血管内皮细胞。声带息肉组 MMP-2 染色较正常声带组深, 经图像定量分析, 正常声带和声带息肉组间 MMP-2 阳性单位均值比较较有统计学差异, 声带息肉组 MMP-2 阳性单位均值 ( $30.57 \pm 7.18$ ), 高于正常声带组 ( $16.14 \pm 4.33$ )。笔者在光镜下还发现粘膜上皮下基底膜部分病例可见变薄或不完整。而 MMP-2 能分解基底膜的主要结构成分 - IV 型胶原, 这是炎症的早期步骤<sup>[18]</sup>。声带息肉是多因素共同作用的结果, 各种原因导致反复的声带损伤, 引起局部充血、水肿、出血, 粘膜上皮变性、坏死、脱落, 炎症细胞浸润, 血管增生、扩张, MMP-2 合成分泌增多, 降解细胞外基质, 上皮下 BM 变薄或断裂, 损伤修复、组织结构重塑, 导致息肉形成。

可通过多种途径抑制 MMP 的作用, 以达到治疗声带息肉的目的。Silletti<sup>[19]</sup>成功地用一种有机化合物在动物实验中抑制了 MMP-2 与整合素  $\alpha v \beta 3$  结合, 从而抑制了 MMP-2 作用。虽然此方法目前还未得到临床验证, 但它很可能成为一种既抑制了 MMP-2 的促癌作用, 又保留了其潜在的抑癌作用的方法, 而且此方法在动物实验中已取得肯定效果。抑制 MMP 最直接的方法就是抑制其酶活性。组织抑制剂 TIMP-2, TIMP-4 在实验模型中都表现出较高功效<sup>[20]</sup>, 但 TIMPs 可能也有与 MMP 无关的促进肿瘤发展的生物活性, 如 TIMP-1 和 TIMP-2 都可抑制肿瘤细胞凋亡。现已人工合成三类 MMP 抑制剂: 胶原拟肽类物质、胶原非拟肽类物质、四环素类衍生物。另一类已应用于临床实验的新 MMP 抑制剂为微肽, 此物质在动物实验中表现出抑制 MMP-2、MMP-9 的明确效

果<sup>[21]</sup>. 拟肽类 MMP 抑制剂主要是竞争 MMP 与底物的结合位点, 包括 Batimastat (抗肿瘤药: 巴马司他) 和 Marimastat (抗肿瘤药: 马立马司他). 非拟肽类 MMP 抑制剂是根据 MMP 活性位点合成的, 主要包括 BAY12-9566, Prinomastat/AG3340、BMS275291 和 CGS27023A/MMI270. 四环素类衍生物既可抑制 MMP 活性又可抑制其合成. 没有抗菌活性的四环素同形物已被应用于治疗癌症.

MMP-2 在声带息肉中的表达明显高于正常声带组织, 差异有统计学意义, 这说明 MMP-2 可能在声带息肉的病理生理方面发挥着重要作用, 参与了组织结构的重塑. 无论是抑制 MMP 合成, 还是抑制 MMP 与其他蛋白间相互作用, 或者直接抑制 MMP 活性, 都可以抑制 MMP 的作用, 以达到治疗声带息肉的目的. 相信随着研究的深入, MMP-2 在声带息肉中的作用将得到更新的认识, 其抑制剂在声带息肉治疗中也必会取得新的突破. 研制出适合临床应用的 MMP-2 特异性抑制剂以治疗声带息肉, 有望成为治疗声带息肉的新途径.

#### [参考文献]

- [1] NOORDZIJ J P, OSSOFF R H. Anatomy and physiology of the larynx [J]. *Otolaryngol Clin North Am*, 2006, 39(1): 1-10.
- [2] THIBEAULT S L. Advances in our understanding of The Reinkespace [J]. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 2005, 13(3):148-151.
- [3] 赵丽娜, 张雷. 任克间隙和任克水肿的现代概念与策略 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2007, 21(3): 140-144.
- [4] COUREY M S, SHOHET J A, SCOTT M A, et al. Immunohistochemical characterization of benign laryngeal lesions [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1996, 105(7):525-531.
- [5] ECKLEY C A, SWENSSON J, DUPRAT ADE C, et al. Incidence of structural vocal fold abnormalities associated with vocal fold polyps [J]. *Braz J Otorhinolaryngol*, 2008, 74(4):508-511.
- [6] BYRNE M A, BOUCHIER-HAYES D J, HARMEY J H. Angiogenic and cell survival functions of vascular endothelial growth factor [J]. *J Cell Mol Med*, 2005, 9(4):777-794.
- [7] THIBEAULT S L, GRAY S D, LI W, et al. Genotypic and phenotypic expression of vocal fold polyps and Reinke's edema: a preliminary study [J]. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 2002, 111(4):302-309.
- [8] GOROGE T, BEIER U H, BAUMKEN J, et al. Metalloproteinases and their inhibitors: influence on tumor invasiveness and metastasis formation in head and neck squamous cell carcinomas [J]. *Head Neck*, 2006, 28(1):31-39.
- [9] LIU W W, ZENG Z Y, WU Q L, et al. Overexpression of MMP-2 in laryngeal squamous cell carcinoma: a potential indicator for poor prognosis [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2005, 132(3):395-400.
- [10] CAN I H, CEYLAN K, CAYDERE M, et al. The expression of MMP-2, MMP-7, MMP-9, and TIMP-1 in chronic rhinosinusitis and nasal polyposis [J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2008, 139(2):211-215.
- [11] ERDEMOGLU E, GNEY M, KARAHAN N, et al. Expression of cyclooxygenase-2, matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in premenopausal and postmenopausal endometrial polyps [J]. *Maturitas*, 2008, 59(3):268-274.
- [12] EYIBILEN A, CAYLI S, ALADAG I, et al. Distribution of matrix metalloproteinases MMP-1, MMP-2, MMP-8 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-2 in nasal polyposis and chronic rhinosinusitis [J]. *Histol Histopathol*, 2011 May, 26(5):615-621.
- [13] MALINSKY R R, VALERA F C, CAVALLARI F E, et al. Matrix metalloproteinases and their impact on sinusal extension in chronic rhinosinusitis with nasal polyps [J]. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2013, 270(4):1345-1348.
- [14] WANG L F, CHIEN C Y, CHIANG F Y, et al. Expression of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in recurrent chronic rhinosinusitis with nasal polyposis [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2013, 29(1):26-31.
- [15] YIGIT O, ACIOLU E, GELIGEN R, et al. The effect of corticosteroid on metalloproteinase levels of nasal polyposis [J]. *Laryngoscope*, 2011, 121(3):667-673.
- [16] KARAHAN N, BASPINAR S, YARIKTAS M, et al. Matrix Metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) and cyclooxygenase-2 (COX-2) expressions in vocal fold polyps [J]. *J Voice*, 2009, 23(1):29-33.
- [17] VAIVA LESKAUSKAITE, VIRGILIJUS ULOZA, VYKINTAS LIUTKEVICIUS, et al. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in vocal fold polyps [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2008, 44(4):322-327.
- [18] LEONARDI A, BRUN P, DI STEFANO A, et al. Matrix metalloproteinases in vernal keratoconjunctivitis, nasal polyps and allergic asthma [J]. *Clin Exp Allergy*, 2007, 37(6): 872-879.
- [19] SILLETTI S, KESSLER T, GOLDBERG J, et al. Disruption of matrix metalloproteinase 2 binding to integrin  $\alpha v \beta 3$  by an organic molecule inhibits angiogenesis and tumor growth in vivo [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(1): 119-124.
- [20] CELIKER M Y, WANG M, LIU X, et al. Inhibition of Wilm's tumor growth by intramuscular administration of tissue inhibitor of metalloproteinase-4 plasmid DNA [J]. *Oncogene*, 2001, 20(32):4337-4343.
- [21] KOIVUNEN E, ARAP W, VALTANEN H, et al. Tumor targeting with selective gelatinase inhibitor [J]. *Nature Biotechnol*, 1999, 17(8):768-774.

(2014-08-16 收稿)