

MMP-26 在人正常胎盘滋养层细胞中的表达 及激活素 A 对其表达的调节*

仇巍^{1)**} 赵亮^{2)**} 柏素霞¹⁾ QING-XIANG AMY SANG³⁾ 王雁玲^{1)***}

¹⁾中国科学院动物研究所, 计划生育生殖生物学国家重点实验室, 北京 100080;

²⁾中国医科大学第二附属医院, 沈阳 110003;

³⁾Department of Chemistry and Biochemistry and Institute of Molecular Biophysics,
Florida State University, Tallahassee, FL 32306, USA)

摘要 胚胎植入和胎盘形成涉及细胞外基质的降解和重建, 以及细胞的增殖、凋亡、迁移和分化, 基质金属蛋白酶 (MMPs) 是参与这些事件的主要蛋白水解酶系统. MMP-26 是近年来发现的 MMPs 家族的新成员, 但其功能所知甚少. 通过半定量 RT-PCR、免疫组织化学、荧光免疫细胞化学等手段, 发现人胎盘中 MMP-26 主要定位于绒毛滋养层细胞, 在绒毛间质细胞中也有少量表达. 妊娠早期, 胎盘中 MMP-26 表达水平较高, 至妊娠中期降至最低, 但在足月胎盘中其表达又有显著提高, 提示 MMP-26 可能参与妊娠早期滋养层细胞的浸润和分娩时的胎盘剥离. 体外培养的妊娠早期人细胞滋养层细胞能产生一定水平的 MMP-26, 而其表达受到激活素 A 的剂量依赖性刺激, 表明滋养层细胞中存在 MMP-26 表达的自分泌/旁分泌调节.

关键词 基质金属蛋白酶-26, 胎盘, 滋养层细胞, 激活素 A

学科分类号 Q492

基质金属蛋白酶 (MMPs) 是结构相关、以细胞外基质 (ECM) 成分作为水解底物并依赖于 Zn^{2+} 离子的蛋白水解酶类^[1]. MMPs 不仅参与胚胎发育、炎症反应、组织修复、血管生成、肿瘤迁移等各种生理及病理过程中细胞外基质的降解和重建, 近年的研究表明它们还参与了细胞生长、凋亡、迁移和分化^[2]. 到目前为止, 至少有 25 种 MMP 家族成员被发现.

MMP-26(也被称为 endometase 或 matrilysin-2), 是 MMPs 家族的一个新成员, 也是 MMPs 家族中最小的成员. 它的前结构域 (prodomain) 中具有一个独特的半胱氨酸序列 (PHCGVPDGS), 催化结构域含有一个锌结合位点^[3]. 实验表明 MMP-26 也能有效降解纤维蛋白原和纤粘连蛋白等各种 ECM^[3,4]. 最近, 越来越多的数据表明, MMP-26 表达于人子宫内膜, 且呈周期性变化, 在分泌中期子宫内膜上皮细胞中呈现高表达^[3,5-7], 暗示 MMP-26 可能参与了雌性生殖过程的调节.

胚胎植入和胎盘形成是一个复杂的生理过程, 胚胎滋养层细胞向母体子宫内膜的有节制浸润是其中的关键事件, 涉及细胞外基质的降解和重组以及子宫血管的重建等. MMP 家族的许多成员在这些过程中发挥着重要的作用. 最近有研究表明

MMP-26 可能也参与了此过程. Li 等^[8]发现 MMP-26 特异表达在妊娠早期恒河猴子宫内腺上皮和螺旋动脉壁, 似乎表明 MMP-26 参与了植入过程中内膜组织的重建. Zhang 等^[9]发现 MMP-26 在人正常滋养层细胞和绒毛膜上皮癌细胞中有表达, 暗示 MMP-26 在胎盘形成和肿瘤发生过程中发挥了一定的作用. 然而, 关于 MMP-26 在人正常妊娠过程中的表达调节模式和可能的作用尚属未知.

激活素是转化生长因子 (TGF- β) 超家族成员之一, 其作用非常广泛^[10]. 有研究表明胎盘滋养层细胞可产生一定水平的激活素 A, 并具备相应的激活素 A 受体^[10], 激活素 A 能通过促使滋养层细胞向子宫内膜浸润^[11]、刺激胎盘激素产生^[12]等方式, 在胚胎发育过程中发挥重要作用. Caniggia 等^[13]还发现激活素 A 能促使细胞滋养层细胞中 MMP-2 和 MMP-9 的表达. 尚未见激活素 A 对滋养层细胞 MMP-26 表达调节的报道.

基于上述背景, 本工作探索了 MMP-26 在人

*国家自然科学基金资助项目(30370542), 国家重点基础发展专项项目(G1999055903)和中国科学院知识创新重要方向项目(KSCX-2-SW-201).

** 并列第一作者. *** 通讯联系人.

Tel: 010-62631832, E-mail: wangyl@ioz.ac.cn

收稿日期: 2004-11-24, 接受日期: 2004-12-10

正常胎盘滋养层细胞中的表达定位, 并研究了激活素 A 对 MMP-26 的表达调节, 试图探讨 MMP-26 在人胚胎植入和胎盘发生中的作用.

1 材料和方法

1.1 人胎盘组织的获取

正常妊娠 6~12 周、孕中期和足月分娩的胎盘组织均来自北京海淀医院妇产科计划生育门诊. 所选择的病人没有家族遗传疾病史, 在妊娠终止前未接受特别的药物处理. 妊娠周龄以末次月经纪录为参照, 并在解剖镜下通过形态学观察进行进一步鉴定. 一部分绒毛组织于液氮中快速冻存用于提取 RNA, 一部分绒毛组织经 4% 的多聚甲醛固定后用于免疫组织化学, 其余部分绒毛组织则用于分离培养细胞滋养层细胞. 每一妊娠时期的胎盘至少收集 3 例.

1.2 免疫组织化学

绒毛组织在 4% 多聚甲醛溶液中固定 8 h 后, 常规逐级脱水、二甲苯透明, 于 58°C 浸蜡过夜, 次日更换石蜡并继续浸蜡 4 h 后包埋并制备 6 μm 切片.

免疫组织化学参照 Qin 等^[3]描述的方法进行. 石蜡切片经常规脱蜡和水合后, 于 EDTA 缓冲液中进行抗原修复, 用 1% H_2O_2 室温孵育 15 min, 加入兔抗人 MMP-26 抗体 (1:100)^[3], 4°C 孵育过夜后, 辣根过氧化物酶标记的二抗复合物(DAKO Envision™ 试剂盒提供, DK-2600 Glostrup, Denmark) 室温孵育 30 min, DAB 显色, 经苏木精复染, 常规脱水封片. 同时用免疫前兔血清代替 MMP-26 抗体作为阴性对照.

1.3 人早孕胎盘细胞滋养层细胞的分离培养

细胞滋养层细胞的分离培养方法参考 Li 等^[4]建立的方法. 绒毛组织确定妊娠周龄后, 用 PBS 漂洗 5~6 次以除去血块, 从基膜剪下绒毛后, 将其剪成 1~2 mm^3 小块, 在 0.25% 胰蛋白酶 -PBS 中于 2~8°C 消化 45 min, 用等体积的 F12/DMEM (1:1, FD) 终止消化. 加入 15 U/ml DNA 酶 I 消化 10 min, 经 80 目和 150 目尼龙网过滤, 离心收集细胞, 经 1.25%~2.5% 的 BSA 密度梯度沉降 1 h. 收集最下层的细胞滋养层细胞, 接种于涂有 I 型胶原的 35 mm 培养皿中, 加入含有 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 表皮生长因子(EGF)、1 mg/L 胰岛素、0.1% 牛血清白蛋白(BSA)和 2 mmol/L 谷胺酰胺的 FD 培养液, 于 37°C, 5% CO_2 条件下培养. 每 24 h 更换新鲜培

养液.

对激活素 A 处理实验组, 接种后 24 h 更换为不含 EGF 的培养液, 并分别加入 0.1、1、10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 激活素 A 处理; 24 h 后收集细胞.

1.4 荧光免疫细胞化学

实验结束时, 细胞用丙酮:乙醇 (1:1) 室温固定 15 min, 用 1% BSA 室温下孵育 30 min 以封闭非特异位点, 然后加入兔抗人 MMP-26 抗体 (1:100), 4°C 孵育过夜, 加入 FITC 标记的小鼠抗兔二抗 (1:100, Santa Cruz 公司), 37°C 孵育 0.5 h, PBS 洗 3 次后, 加入 2 mg/L 碘化丙啶, 室温下放置 5 min. 于激光共聚焦扫描显微镜下观察分析并照相.

1.5 RNA 提取和半定量 RT-PCR

组织样本首先用匀浆器 (Kinematika, Switzerland) 破碎并按照 Trizol 试剂 (Gibco BRL) 说明提取总 RNA. 以 1 μg 总 RNA 作为模板, 1 μl random hexamer primers (500 mg/L, Promega) 作为引物, 用 M-M μ LV 反转录酶 (Fermentas) 进行反转录反应.

在 NCBI 数据库中检索后设计特异引物. MMP-26 引物为 5' CCATTTTGACAAGAATG AACA 3' (反义) 和 5' CATTAAAGGTATGTCA GATGAA 3' (正义); GAPDH 引物为 5' ACCACAGTCCATGCCATCAC 3' (反义) 和 5' TCCACCACCCTGTTGCTGTA 3' (正义). 25 μl PCR 反应体系中包含: 2 μl 反转录产物, 200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ dNTPs, 2 mmol/L MgCl_2 , 1 U Taq 酶和 10 pmol 引物. MMP-26 扩增条件为: 94°C 变性 15 s, 55°C 退火 20 s, 72°C 延伸 20 s, 循环 30 次. GAPDH 扩增条件为: 94°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 45 s, 循环 22 次. 循环数是通过预实验确定, 以确保 PCR 扩增在指数增长期. MMP-26 的扩增片段为 232 bp, GAPDH 为 452 bp. 同时以总 RNA 为模板进行 PCR 反应, 作为阴性对照以确保提取的总 RNA 中没有 DNA 污染. PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳, 紫外下凝胶成像.

1.6 数据统计

每组实验均用不同批次的实验材料重复 3 次. 荧光免疫细胞化学结果经三人进行双盲观察后给出判断. 半定量 RT-PCR 用 Gel-Pro Analyzer 软件进行灰度分析 (software version 4.0; United Bio., USA), 并以 GAPDH 作为内参照给出 MMP-26 的相对灰度值. 将至少 3 次的实验结果进 ANOVA 统计分析, 表示为 $\bar{x} \pm s$, $P < 0.05$ 为差异显著.

2 结 果

2.1 MMP-26 在妊娠不同时期胎盘中的表达变化

半定量 RT-PCR 结果显示, 胎盘中 MMP-26 的 mRNA 水平随妊娠阶段有一定的变化趋势, 即在妊娠 6 周表达相对较高, 随后开始逐渐降低, 至妊娠 10 周时降到最低水平, 约为 6 周时的 20%。妊娠中期(25~26 周), 胎盘 MMP-26 的表达水平约

为 6 周时的 50%。而在足月胎盘中 MMP-26 的表达水平显著上调, 几乎达到 6 周绒毛的 1.5 倍(图 1)。

2.2 MMP-26 在胎盘绒毛中的定位

免疫组织化学显示 MMP-26 蛋白主要分布于绒毛滋养层细胞的细胞质中, 在细胞滋养层细胞、合体滋养层细胞以及滋养层细胞柱中都有较强的信号, 在一些绒毛间质细胞中亦有阳性信号(图 2a~c)。

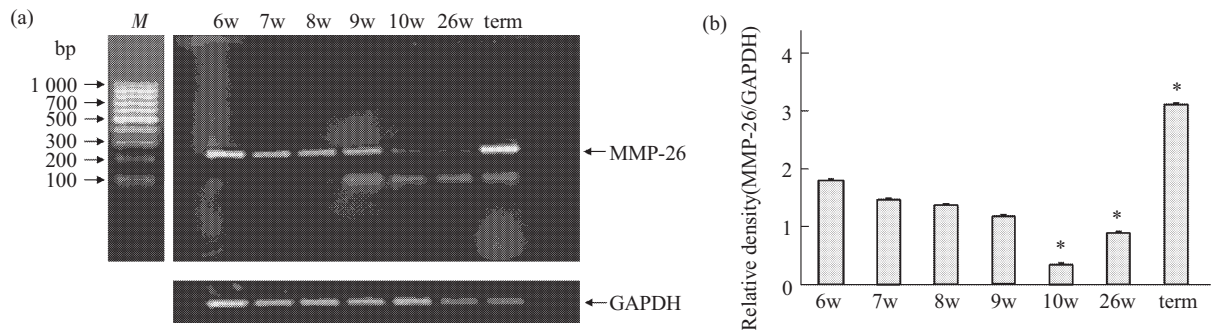


Fig.1 The results of semi-quantity RT-PCR manifested the expression of MMP-26 in the placenta at the different stages of the pregnancy

6w, 7w, 8w, 9w, 10w, 26w and term separately denote the placenta of 6 week, 7 week, 8 week, 9 week, 10 week, 26 week and term. (a) The RT-PCR products were electrophoresed on 2% agarose gel. (b) Statistical analysis of semi-quantity RT-PCR from 3 independent of experiments by ANOVA, using histogram to show the comparative expression of MMP-26. *: vs 6 week, $P < 0.05$.

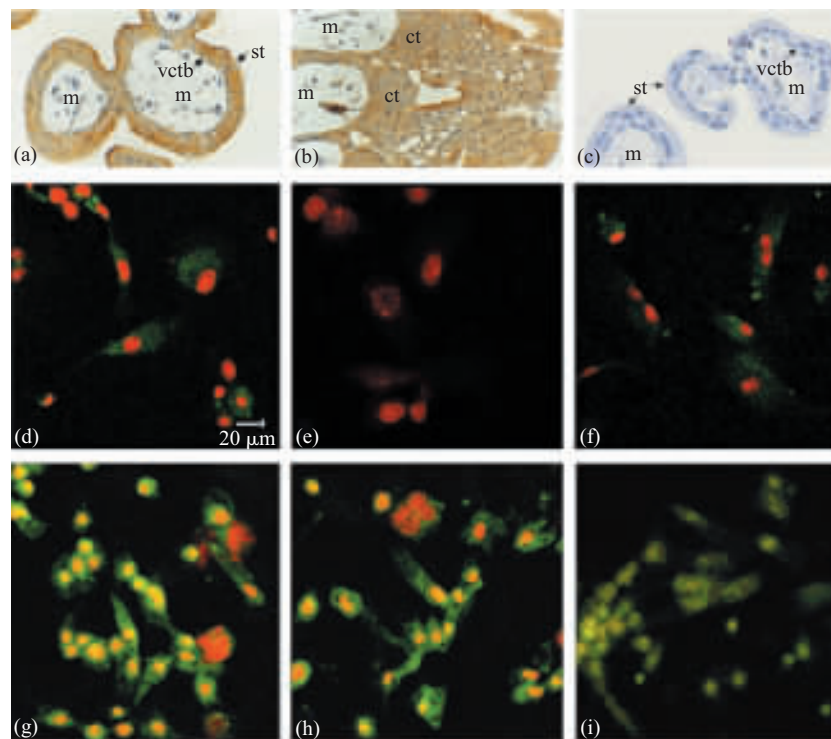


Fig.2 The expression and regulation of MMP-26 protein in human villi and the primary cytotrophoblast cells

(a)~(c) Immunohistochemical staining showed the localization in the human villi at the early pregnancy. (a) and (b) displayed that MMP-26 mainly localized in villous cytotrophoblast cells(vctb), syncytiotrophoblast cells(st) and the column trophoblast(ct), and positive signal also can be found in some villous mesenchymal cells. (d) fluorescence immunohistochemistry showed the expression of MMP-26 in the primary cytotrophoblast cells, and the positive signal mainly localized in the cytoplasm. (e) Negative comparison. (f)~(i) Fluorescence immunohistochemistry showed the regulation of activin A to MMP-26 expression in the primary cytotrophoblast cells. (f)~(i) Separately denote the expression of MMP-26 protein after stimulation by 0, 0.1, 1, 10 $\mu\text{g/L}$ activin A.

2.3 MMP-26 在体外培养的人细胞滋养层细胞中的表达变化

在无血清体系中培养的人早孕细胞滋养层细胞为上皮样单核细胞, 荧光免疫细胞化学显示, 这些细胞为 MMP-26 阳性, 信号主要定位于细胞质中(图 2d~e). 半定量 RT-PCR 进一步显示, 妊娠 6 周到 12 周的细胞滋养层细胞中, MMP-26 mRNA 的表达水平没有显著的变化(图 3).

2.4 激活素 A 对人细胞滋养层细胞表达 MMP-26 的调节

体外培养的人细胞滋养层细胞经 0.1~10 $\mu\text{g/L}$

激活素 A 处理 48 h, 细胞生长状态没有明显变化. 而荧光免疫细胞化学显示, 激活素 A 刺激 24 h 后, 细胞中 MMP-26 的蛋白质水平即有明显升高, 以 0.1 $\mu\text{g/L}$ 和 1 $\mu\text{g/L}$ 激活素 A 的作用最为显著, 而 10 $\mu\text{g/L}$ 激活素 A 的作用又有所减弱(图 2f~i). 同时, 半定量 RT-PCR 显示细胞中 MMP-26 mRNA 表达的变化与蛋白质变化相一致, 0.1、1 和 10 $\mu\text{g/L}$ 激活素 A 分别使细胞中 MMP-26 mRNA 水平达到对照组的 2.7、2.2 和 1.6 倍(图 4).

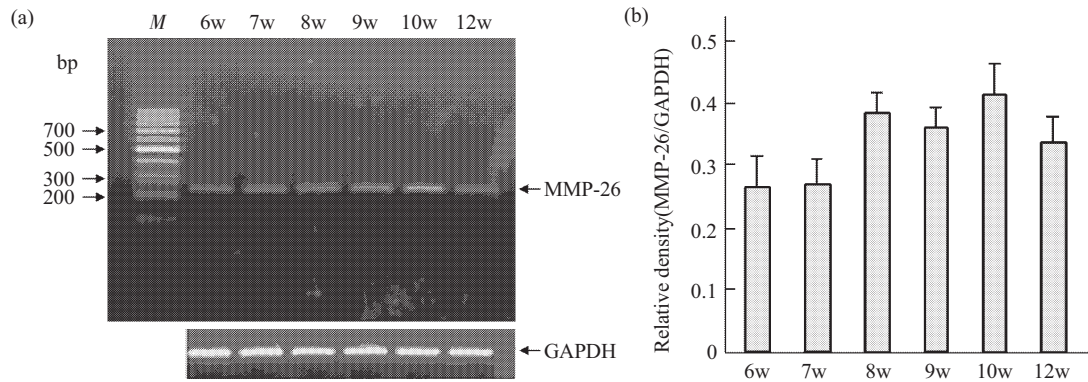


Fig.3 The results of semi-quantity RT-PCR manifested the expression of MMP-26 in the cytotrophoblast cells at the different stages of the early pregnancy

6w, 7w, 8w, 9w, 10w and 12w separately denote the cytotrophoblast cells of 6 week, 7 week, 8 week, 9 week, 10 week and 12 week. (a) The RT-PCR products were electrophoresed on 2% agarose gel. (b) Statistical analysis of semi-quantity RT-PCR from 3 independent of experiments by ANOVA, using histogram to show the comparative expression of MMP-26.

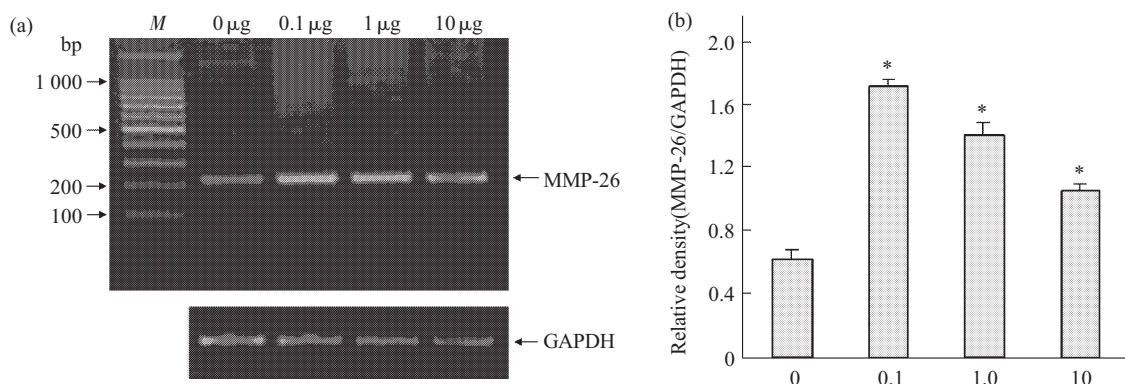


Fig.4 The results of semi-quantity RT-PCR manifested the regulation of activin A to MMP-26 in the primary cytotrophoblast cells

0 μg , 0.1 μg , 1 μg and 10 μg separately denote the cytotrophoblast cells stimulated by 0 $\mu\text{g/L}$, 0.1 $\mu\text{g/L}$, 1 $\mu\text{g/L}$ and 10 $\mu\text{g/L}$ activin A. (a) The RT-PCR products were electrophoresed on 2% agarose gel; (b) Statistical analysis of semi-quantity RT-PCR from 3 independent of experiments by ANOVA, using histogram to show the comparative expression of MMP-26. *:vs 0 $\mu\text{g/L}$, $P < 0.05$.

3 讨 论

MMP家族成员在胚胎植入和胎盘形成过程中起着重要的作用. 已有的研究发现多种 MMP 分子 (如 MMP-2、-9 和 -14 等) 在胎盘绒毛滋养层细胞中的表达, 体外模型亦证实它们能促进滋养层细胞的浸润, 表明这些 MMP 分子参与调节子宫内膜组织重建过程^[5]. MMP-26 为新近发现的 MMP 家族成员^[3], 它是否参与胚胎植入过程尚属未知. 本工作发现 MMP-26 在多种绒毛滋养层细胞中表达, 同时随妊娠过程又有特殊的时间变化模式, 提示此分子参与了妊娠过程中滋养层细胞行为的调节. 一些研究表明, MMP-26 本身可能不直接参与细胞浸润行为的调节, 而主要作为酶原型 MMP-9 的激活因子^[4,6]. 我们所观察到的 MMP-26 在胎盘绒毛中的时空变化模式与 Bai 等^[7]报道的 MMP-9 的表达变化非常相似, 提示 MMP-26 可能通过与其他 MMP 分子 (如 MMP-9) 的协同, 参与胚胎植入和胎盘发生过程中的细胞浸润和组织重建. 此外, 有研究表明一些 MMP 分子除了降解 ECM 等底物外, 还能参与调节细胞增殖、凋亡和分化^[2]. MMP-26 是否有这样的功能还有待深入研究.

从时间上来看, MMP-26 在妊娠早期绒毛滋养层组织中表达水平较高, 妊娠 10 周, 降至极低水平, 而体外实验表明细胞滋养细胞中 MMP-26 的表达没有明显变化. 因此, 滋养层组织中 MMP-26 的时间变化可能是由于随妊娠周龄增加, 细胞滋养层细胞在绒毛中的比例下降造成的, 也可能是由于合体滋养层细胞和 (或) 绒毛外滋养层细胞中 MMP-26 的表达发生了变化. 值得一提的是, 我们发现足月胎盘中的 MMP-26 的表达水平有极其显著的提高, 达到 6 周绒毛的 1.5 倍. 据报道, MMP-26 能够有效降解多种 ECM 分子, 如纤维原 (fibrinogen)、纤粘连蛋白 (fibronectin)、波粘连蛋白 (vitronectin) 以及变性胶原 (denatured collagen) 等^[5]. 已知 ECM 与整合素受体的相互作用, 特别是纤粘连蛋白和整合素 $\alpha 5 \beta 1$ 的特异识别, 对于胎盘锚定于子宫壁十分重要^[8], 我们在妊娠恒河猴母胎界面上发现, 整合素 $\alpha 5$ 、 $\alpha 1$ 、 $\alpha 4$ 、 $\beta 1$ 和 $\beta 3$ 及其对应的 ECM 分子 (包括纤粘连蛋白, 层粘连蛋白及 IV 型胶原) 在足月胎盘滋养层细胞中的水平都显著降低, 表明它们在分娩时胎盘的剥离过程中起着重要的作用^[13]. 所以, 我们推测足月胎盘中高水平的 MMP-26 可能是通过降解多种 ECM 分子以促进胎

盘的剥离.

到目前为止, 关于 MMP-26 的表达调节所知甚少. 激活素 A 是一种多功能的生长因子, 胎盘滋养层细胞能够产生一定量的激活素 A, 并具备激活素 A 的受体^[9]. 近年来发现它通过上调滋养层细胞中 MMP-2 和 MMP-9 的表达促使滋养层细胞向子宫蜕膜浸润, 同时刺激胎盘激素的产生, 对早期胎盘形成发挥重要作用^[11]. 我们的研究表明, 激活素 A 能促使细胞滋养层细胞中 MMP-26 的表达, 而其有效作用剂量与正常胎盘中激活素 A 的水平相吻合^[20], 进一步暗示 MMP-26 可能与 MMP-2 和 MMP-9 等分子协同参与了胚胎向母体的浸润过程, 也表明滋养层细胞中存在 MMP-26 表达的自分泌调控机制.

总之, 本文首次报道了 MMP-26 在人妊娠不同时期正常胎盘中的时空表达, 并探讨了激活素 A 对细胞滋养层细胞表达 MMP-26 的调节. 表明滋养层细胞能通过自分泌方式调节 MMP-26 的表达, 而 MMP-26 可能通过与其他 MMP 分子的协同, 参与胚胎植入和胎盘剥离过程.

参 考 文 献

- 1 Nagase H and Woessner J F. Matrix Metalloproteinases. *J Biol Chem*, 1999, **274** (31): 21491~21494
- 2 Werb Z. ECM and cell surface proteolysis: Regulating cellular ecology. *Cell*, 1997, **91** (4): 439~442
- 3 Park H I, Ni J, Gerkema F E, *et al.* Identification and characterization of human endometase (matrix metalloproteinase-26) from endometrial tumor. *J Biol Chem*, 2000, **275** (27): 20540~20544
- 4 Uria J A, Lopez Otin C. Matrilysin-2, a new matrix metalloproteinase expressed in human tumors and showing the minimal domain organization required for secretion, latency, and activity. *Cancer Res*, 2000, **60** (17): 4745~4751
- 5 Marchenko G N, Ratnikov B I, Rozanov D V, *et al.* Characterization of matrix metalloproteinase-26, a novel metalloproteinase widely expressed in cancer cells of epithelial origin. *Biochem J*, 2001, **356** (3): 705~718
- 6 Chegini N, Rhoton V A, Williams R S. Expression of matrix metalloproteinase-26 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-3 and -4 in endometrium throughout the normal menstrual cycle and alteration in users of levonorgestrel implants who experience irregular uterine bleeding. *Fertil Steril*, 2003, **80** (3): 564~570
- 7 Pilka R, Whatling C, Domanski H, *et al.* Epithelial expression of matrix metalloproteinase-26 is elevated at mid-cycle in the human endometrium. *Mol Hum Reprod*, 2003, **9** (5): 271~277
- 8 Li Q, Wang H, Zhao Y, *et al.* Identification and specific expression of matrix metalloproteinase-26 in rhesus monkey endometrium during early pregnancy. *Mol Hum Reprod*, 2002, **8** (10): 934~940

- 9 Zhang J, Cao Y J, Zhao Y G, *et al.* Expression of matrix metalloproteinase-26 and tissue inhibitor of metalloproteinase-4 in human normal cytotrophoblast cells and a choriocarcinoma cell line, JEG-3. *Mol Hum Reprod*, 2002, **8** (7): 659~666
- 10 Rebecca L J, Lois A S, Zhao Y C, *et al.* Expression of activin receptors, follistatin and betaglycan by human endometrial stromal cells; consistent with a role for activins during decidualization. *Mol Hum Reprod*, 2002, **8** (4): 363~374
- 11 Caniggia I, Lye S J, Cross J C. Activin is a local regulator of human cytotrophoblast cell differentiation. *Endocrinology*, 1997, **138** (9): 3976~3986
- 12 Petraglia F, Vaughan J, Vale W. Inhibin and activin modulate the release of gonadotropin-releasing hormone, human chorionic gonadotropin and progesterone from cultured human placental cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, **86** (13): 5114~5117
- 13 Qin L, Wang Y L, Bai S X, *et al.* Expression of integrins and extracellular matrix proteins at the maternal-fetal interface during tubal implantation. *Reproduction*, 2003, **126** (3): 383~391
- 14 Li R H, Zhuang L Z. Study on reproductive endocrinology of human placenta--culture of highly purified cytotrophoblast cell in serum-free hormone supplemented medium. *Sci Chin B*, 1991, **34** (8): 938~946
- 15 Woessner J F, Nagase H. *Matrix Metalloproteinases and TIMPs*. New York: Oxford University Press, 2000. 14~30
- 16 Zhao Y G, Xiao A Z, Newcomer R G, *et al.* Activation of pro-gelatinase B by endometase/matrilysin-2 promotes invasion of human prostate cancer cells. *J Biol Chem*, 2003, **278** (17): 15056~15064
- 17 Bai S X, Wang Y L, Qin L, *et al.* Temporal and spatial expression of MMP-2, -9 and -14 and the tissue inhibitor (TIMP-1,2,3) at the implantation site during tubal pregnancy of human. *Reproduction*, 2005, **129** (1): 103~113
- 18 Aplin J D, Haigh T, Jones C J, *et al.* Development of cytotrophoblast columns from explanted first-trimester human placental villi: role of fibronectin and integrin alpha5beta1. *Biol Reprod*, 1999, **60** (4): 828~838
- 19 Qu J. Inhibin and activin production in human placenta. *Endocrine Rev*, 1995, **16** (4): 485~507
- 20 Euan M W, Budi M, Katrina T, *et al.* First trimester levels of inhibins and activin A in normal and failing pregnancies. *Clin Endocrinol*, 2004, **60** (4): 484~490

Expression of Matrix Metalloproteinase-26 in Human Normal Placental Cytotrophoblast Cells as Well as Its Regulation by Activin A*

QIU Wei^{1)**}, ZHAO Liang^{2)**}, Bai Su-Xia¹⁾, SANG QING-XIANG AMY³⁾, Wang Yan-Ling^{1)***}

¹⁾State Key Laboratory of Reproductive Biology, Institute of Zoology, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China;

²⁾The Second Hospital, China Medicine University, Shenyang 110003, China;

³⁾Department of Chemistry and Biochemistry and Institute of Molecular Biophysics, Florida State University, Tallahassee, FL 32306, USA)

Abstract The processes of implantation and placentation involve various cell events, such as degradation and remodeling of extracellular matrix, cellular proliferation, apoptosis, and differentiation. Evidence indicates that members of the matrix metalloproteinase (MMP) family play crucial roles in these processes. In the present study, the expression and localization of MMP-26/endometase/matrilysin-2 in human cytotrophoblast cells as well as its regulation by activin A were investigated by using methods of reverse transcriptase-polymerase chain reaction, immunohistochemistry and fluorescence immunohistochemistry. The results showed that MMP-26 was strongly localized in villous trophoblast cells, and weakly in some of the villous mesenchyma. The mRNA level of MMP-26 in chorionic villi was high in early pregnancy, and was down-regulated from gestational week 10 on, reaching a very low level at week 26. However, its mRNA expression was significantly up-regulated in the term placenta. In the primary cultured cytotrophoblast cells, the mRNA expression of MMP-26 maintained a stable level during gestational week 6~12. Moreover, the expression of MMP-26 in the cytotrophoblast cells was stimulated by activin A in a dose-dependent manner. All the data indicated that MMP-26 may be involved in trophoblast invasion during early pregnancy and placenta detachment at the time of delivery. There may exist autocrine/paracrine regulation of MMP-26 expression in cytotrophoblast cells.

Key words matrix metalloproteinase-26, placenta, cytotrophoblast, activin A

*This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (30370542), The Special Funds for Major State Basic Research of China(G1999055903) and The Knowledge Innovation Project of The Chinese Academy of Sciences (KSCX-2-SW-201).

**QIU Wei and ZHAO Liang contributed equally to the work.

***Corresponding author . Tel: 86-10- 62631832, E-mail: wangyl@ioz.ac.cn

Received: November 24, 2004 Accepted: December 10, 2004