

Received: 2012.04.23
Accepted: 2012.08.09
Published: 2012.09.10

Rola metaloproteinaz w modyfikacji macierzy zewnątrzkomórkowej w nowotworowym wzroście inwazyjnym, w przerzutowaniu i w angiogenezie*

The role of metalloproteinases in modification of extracellular matrix in invasive tumor growth, metastasis and angiogenesis

Krzysztof Fink, Janusz Boratyński

Laboratorium Chemii Biomedycznej „Neolek”, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im Ludwika Hirszfelda we Wrocławiu

Streszczenie

Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP) to rodzina endopeptydaz, które do aktywności proteolitycznej wymagają w centrum aktywnym obecności jonu cynku. Rodzinę MMP można podzielić na sześć grup: matrylizyny, kolagenazy, stromielizyny, żelatynazy, błonowe MMP i niesklasyfikowane MMP. Aktywność MMP regulowana jest na kilku poziomach: transkrypcji genów, stabilności mRNA, aktywacji proteolitycznej zymogenu, hamowania aktywności enzymatycznej, degradacji MMP. Głównymi wewnętrznymi inhibitorami MMP są tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMP). Komórki nowotworowe przez wydzielanie interleukin, interferonów, czynników wzrostu i induktora metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (EMMPRIN), potrafią indukować otaczające komórki gospodarza do wytwarzania potrzebnych im MMP. Oprócz komórek nowotworowych, MMP wytwarzają fibroblasty, makrofagi, komórki tuczne, polimorfojądrowe neutrofile (PMN) i komórki śródbłonna (EC). MMP wpływają na wiele etapów rozwoju nowotworu, umożliwiając jego ekspansję przez wspieranie proliferacji komórek nowotworowych, ich inwazji i migracji, powstawania nowych naczyń krwionośnych w otoczeniu guza, a także przez blokowanie apoptozy komórek nowotworowych. Znanych jest kilka sposobów, za pomocą których MMP mogą wspierać rozwój nowotworu. Degradując macierz zewnątrzkomórkową (ECM) uwalniają przechowywane w niej peptydowe czynniki wzrostu. Mogą także uwalniać czynniki wzrostu z powierzchni komórek lub z wiążących je białek. MMP mogą pośrednio regulować sygnały wysyłane przez integryny lub degradować cząsteczki E-kadheryny zwiększając ruchliwość komórek. MMP wspomagają powstawanie przerzutów m.in. poprzez indukcję EMT (epithelial to mesenchymal transition). Ułatwiają również przechodzenie przez naczynia krwionośne. Rola MMP w angiogenezie polega na uwalnianiu czynników naczyniotwórczych oraz degradacji ECM, by umożliwić migrację komórek śródbłonkowym. MMP mogą także hamować rozwój nowotworu przez trawienie receptorów powierzchni komórkowej, których ligandami są czynniki wzrostu lub poprzez uwalnianie z ECM czynników hamujących angiogenezę.

Słowa kluczowe: metaloproteinazy macierzy • MMP • nowotwór • angiogeneza

* Pracę wykonano w ramach działalności statutowej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN (5/2012). Druk publikacji sfinansowano z funduszu Laboratorium Chemii Biomedycznej IITD PAN „Neolek”.
Artykuł powstał w czasie odbywania przeddyplomowego stażu naukowego pierwszego autora w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu, w Laboratorium Chemii Biomedycznej (kier. prof. Janusz Boratyński).

Summary

Extracellular matrix metalloproteinases (MMPs) are a family of endopeptidases which require a zinc ion at their active site, for proteolytic activity. There are six members of the MMP family: matrilysins, collagenases, stromelysins, gelatinases, membrane MMPs and other MMPs. Activity of MMPs is regulated at the level of gene transcription, mRNA stability, zymogene proteolytic activation, inhibition of an active enzyme and MMP degradation. Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) are main intracellular inhibitors of MMPs. Host cells can be stimulated by tumor cells to produce MMPs by secreted interleukins, interferons, growth factors and an extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN). MMPs are produced by tumor cells, fibroblasts, macrophages, mast cells, polymorphonuclear neutrophils (PMNs) and endothelial cells (ECs). MMPs affect many stages of tumor development, facilitating its growth through promoting tumor cells proliferation, invasion and migration, new blood vessels formation and blocking tumor cells apoptosis. MMPs can promote tumor development in several ways. ECM degradation results in release of peptide growth factors. Growth factors linked with cell surface or binding proteins can also be liberated by MMPs. MMPs can indirectly regulate integrin signalling or cleave E-cadherins, facilitating cell migration. MMPs support metastasis inducing an epithelial to mesenchymal transition (EMT). MMP also support transendothelial migration. MMPs support angiogenesis by releasing pro-angiogenic factors and degrading ECM to support ECs migration. Cell surface growth factor receptors are also cleaved by MMPs, which results in inhibition of tumor development, so is release of anti-angiogenic factors from ECM.

Key words: matrix metalloproteinases • MMP • tumor • angiogenesis

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1009705>

Word count: 8460

Tables: –

Figures: 2

References: 246

Adres autora: prof. dr hab. Janusz Boratyński, Laboratorium Chemii Biomedycznej „Neolek”, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im Ludwika Hirszfelda, ul. R. Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: borat@iitd.pan.wroc.pl

Wykaz skrótów: **ADAM** – białka zawierające domenę dezintegriny i metaloproteinazy; **ADAMTS** – ADAM z motywem trombospondyny; **Ang** – angiopoetyny; **bFGF** – zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów; **BM** – błona podstawna; **CAF** – fibroblasty związane z nowotworem; **CD** – gronko różnicowania (cluster of differentiation); **DAG** – diacyloglicerol; **EC** – komórka śródbłonna; **ECM** – macierz zewnątrzkomórkowa; **EGF** – nabłonkowy czynnik wzrostu; **EGFR** – receptor EGF; **EMMPRIN** – induktor metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej; **EMT** – zmiana fenotypu z nabłonkowego na mezenchymalny; **EPC** – komórki progenitorowe śródbłonna; **ErbB** – receptor EGF; **FAP** – białko aktywujące fibroblasty; **FasL** – ligand Fas; **FGF** – czynnik wzrostu fibroblastów; **FGFR** – receptor czynnika wzrostu fibroblastów; **FRS** – substrat FGF; **GP** – glikoproteina; **GPI** – glikofosfatydyloinozytol; **HIF** – czynnik indukowany niedotlenieniem; **HB-EGF** – związany z heparyną EGF; **HGF** – czynnik wzrostu hepatocytów; **IFP** – ciśnienie płynu śródmiąższowego; **IGF** – insulinopodobny czynnik wzrostu; **IGF-BP** – białko wiążące IGF; **IGF-IR** – receptor IGF typu 1; **IL** – interleukina; **IP3** – 1,4,5-trifosforan inozytol; **LRP** – białko pokrewne receptorowi lipoproteiny niskiej gęstości; **LTBP1** – białko wiążące latentny TGF-β; **MCP** – chemotaktyczne białko makrofagów; **MMP** – metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej; **MT-MMP** – błonowe MMP; **NF-κB** – czynnik jądrowy κB; **PAI-1** – inhibitor aktywatora plazminogenu; **PAR1** – receptor aktywowany proteazą; **PC** – perycyty; **PDGF** – płytkowy czynnik wzrostu; **PG** – proteoglikany; **PKC** – kinaza białkowa C; **PLC** – fosfolipaza C; **PMN** – polimorfojądrowe neutrofile; **RANKL** – receptorowy aktywator liganda NF-κB; **ROS** – reaktywne formy tlenu; **RTK** – receptorowa kinaza tyrozynowa; **SMC** – komórki mięśni gładkich; **TAM** – makrofagi związane z nowotworem; **TGF-α** – transformujący czynnik wzrostu α; **TGF-β** – transformujący czynnik wzrostu β; **TIMP** – tkankowe inhibitory metaloproteinaz; **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworu α; **tPA** – tkankowy aktywator plazminogenu; **TS** – trombospondyna; **uPA** – tkankowy aktywator plazminogenu typu urokinazy; **uPAR** – receptor uPA; **VEGF** – naczyniowy śródbłonkowy czynnik wzrostu.

WSTĘP

Komórki ulegają transformacji nowotworowej w wyniku zmian DNA powodującego utratę kontroli nad procesami regulującymi proliferację, apoptozę, różnicowanie się oraz zdolność do naprawy powstałych mutacji. Komórki nowotworowe ulegają niekontrolowanym podziałom, którym towarzyszą dalsze mutacje. Jednocześnie zachodzi selekcja wśród komórek nowotworowych, wyłaniająca dominujące klony, co w konsekwencji prowadzi do progresji procesu chorobowego.

Jednak nowotwór, aby się rozwijać musi oddziaływać na swoje otoczenie, tworząc warunki sprzyjające jego dalszemu wzrostowi. Mikrośrodowisko jest na pierwszy rzut oka niesprzyjające dla komórek, zwłaszcza takich, które ulegają szybkim podziałom. Jest ono ubogie w tlen, składniki odżywcze oraz charakteryzuje się niższym pH [42,221]. Komórki nowotworowe wypracowały mechanizmy, które pozwalają im przeżyć w niesprzyjających warunkach. Zdolne są m.in. do przejścia z metabolizmu tlenowego na beztlenowy. Ważnym elementem mikrośrodowiska nowotworu jest tzw. macierz zewnątrzkomórkowa, w której znajdują się fibroblasty, komórki śródbłonna (EC) oraz komórki układu odpornościowego. Komórki te aktywnie wspierają wzrost nowotworu np. poprzez wydzielanie metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP) i wytwarzanie różnych czynników wzrostowych.

Progresywny wzrost nowotworu wymaga przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) otaczającej komórki nowotworowe. ECM to złożona struktura wzajemnie oddziałujących makrocząsteczek, służąca nie tylko jako struktura przestrzenna kotwicząca komórki, ale także aktywnie uczestnicząca w regulacji ich rozwoju i funkcji. ECM tworzą dwie grupy cząsteczek, to jest glikoproteiny (GP) oraz proteoglikany (PG), które są wytwarzane głównie przez fibroblasty.

METALOPROTEINAZY MACIERZY ZEWNĄTRZKOMÓRKOWEJ

Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej odgrywają główną rolę w przebudowie ECM. Udział MMP w procesie rozwoju nowotworu był już przedstawiany w polskim piśmiennictwie, w wielu artykułach [80,112,121,129,130,223].

Struktura MMP

MMP to rodzina endopeptydaz, które do aktywności proteolitycznej, wymagają w centrum aktywnym jonu cynku. Upraszczając, MMP zbudowane są przynajmniej z dwóch domen: domeny katalitycznej i prodomeny (z wyjątkiem MMP-23), zawierają także peptyd sygnałowy. Domena katalityczna zawiera wysoce konserwatywny motyw HEXGHXXGXXH, w którym znajdują się trzy reszty histydyny odpowiedzialne za wiązanie z katalitycznym jodem cynku. Umiejscowiony jest tam również, poniżej miejsca aktywnego, motyw „Met-turn”, który odpowiada za właściwą strukturę wokół katalitycznego jonu cynku [170]. W domenie katalitycznej znajduje się także strukturalny jon cynku i przeważnie trzy jony wapnia, które stabilizują strukturę enzymu [44]. Metaloproteinazy do ujawnienia aktywności wymagają aktywacji, polegającej na usunięciu prodomeny. Prodomena w stanie nieaktywnym

zawiera, w swojej C-końcowej części, konserwatywny motyw PRCGVDP, w którym znajduje się reszta cysteiny, zachowująca się jak czwarty ligand cynkowy, zapobiegający aktywacji cząsteczki wody. Proces ten nosi nazwę „przełącznika cysteinowego” (cysteine switch) i przebiega w dwóch etapach. Najpierw prodomena jest trawiona w określonym miejscu, powyżej reszty cysteinowej, a następnie zachodzi autoproteoliza wiązania His-Phe, które określa początek domeny katalitycznej [149]. W MMP mogą także występować domena hemopeksyny oraz bogaty w prolinę, elastyczny łącznik, który łączy domenę hemopeksyny z domeną katalityczną. Domena hemopeksyny odgrywa znaczącą rolę w prawidłowym rozpoznaniu substratu, oddziaływaniu z tkankowymi inhibitorami metaloproteinaz (TIMP) oraz wiązaniu enzymu do ECM lub powierzchni komórki [44,74,148,200]. Elastyczny łącznik natomiast pomaga utrzymać stabilną strukturę enzymu, a także może mieć znaczenie przy degradacji niektórych substratów MMP [136].

Członkowie rodziny MMP

O przynależności do rodziny MMP decyduje: homologia sekwencji aminokwasowej z MMP-1, a więc obecność motywu przełącznika cysteinowego w prodomenie oraz motywu wiążącego cynk w domenie katalitycznej. Na podstawie budowy oraz swoistości substratowej podzielono MMP na sześć grup: matrylizyny, kolagenazy, stromielizyny, żelatynazy, błonowe MMP i niesklasyfikowane MMP.

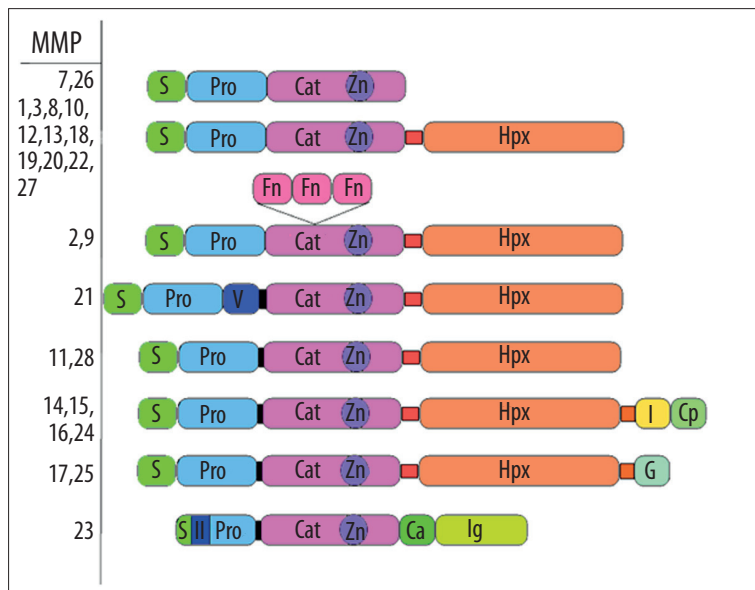
Matrylizyny należą do najprostszych MMP, zbudowane są z peptydu sygnałowego, prodomeny i domeny katalitycznej, nie zawierają domeny hemopeksyny. W tej grupie są MMP-26 i MMP-7, a ich substratami są składniki ECM, a także wymagające aktywacji cząsteczki obecne na powierzchni komórki, takie jak pro- α -defensyna, ligand Fas, pro-czynnik martwicy nowotworu (TNF- α) i E-kadheryna [215].

Kolagenazy zawierają dodatkowo domenę hemopeksyny oraz elastyczny łącznik. W tej grupie znajdują się MMP-1, MMP-8, MMP-13 i MMP-18. Ich substratami są kolageny typu I, II, III, V oraz IX [121], ale mogą także degradować wiele innych białek.

Do stromielizyny należą MMP-3 i MMP-10 charakteryzujące się podobną swoistością substratową, ale MMP-3 ma większą wydajność proteolityczną niż MMP-10 [215]. Enzymy z tej grupy trawią składniki ECM, a MMP-3 aktywuje wiele zymogenów MMP.

Żelatynazy, należące do tej grupy MMP-2 i MMP-9 mają zdolność degradowania kolagenu typu IV, lamininy, a także wykazują aktywność przeciw zdenaturowanemu kolagenowi – żelatynie [44]. Ich unikalną cechą jest to, że w obrębie domeny katalitycznej, zawierają trzy powtórzenia fibronektyny typu II, które umożliwiają wiązanie z kolagenem, żelatyną i lamininą [2,215]. MMP-2 trawi ponadto kolageny typu I, II i III [1,121] i jest szeroko ekspresjonowana w tkankach. Natomiast ekspresja MMP-9 jest indukowana w warunkach wymagających przebudowy tkanki (rozwój tkanki, gojenie się ran, inwazyjny wzrost nowotworu) [170].

Błonowe MMP to MMP związane z błoną komórkową (MT-MMP). Proteazy wchodzące w skład tej grupy podzielono



Ryc. 1. Struktura domen MMP: S – peptyd sygnałowy, Pro – prodomena, Cat – domena katalityczna, Hpx – domena hemopeksyny, Fn – powtórzenie fibronektyny, I – domena transbłonowa typu I, II – domena transbłonowa typu II, Cp – fragment cytoplazmatyczny, G – domena kotwicząca do glikofosfatydyloinytolu, Ca – domena bogata w cysteinę, Ig – domena immunoglobulinopodobna (według [215] zmodyfikowano)

na dwie podgrupy. Do pierwszej należą enzymy z transbłonową domeną zawierającą 24 hydrofobowe reszty aminokwasowe, ułożoną za domeną hemopeksyny i fragment cytoplazmatyczny [44]. Hydrofobowa domena umożliwia umiejscowienie enzymu na powierzchni błony. Do tej podgrupy należą MMP-14 (MT1-MMP), MMP-15 (MT2-MMP), MMP-16 (MT3-MMP) i MMP-24 (MT5-MMP). Do drugiej podgrupy należą MMP, które są zakotwiczone w błonie dzięki połączeniu z glikofosfatydyloinytolem (GPI). Należą do niej MMP-17 (MT4-MMP) i MMP-25 (MT6-MMP). MT-MMP są zdolne do degradacji wielu składników ECM, w tym kolagenu typu I, II i III, fibronektyny, lamininy, fibryny i nidogenu [90,170]. MT-MMP mają także domenę składającą się z 11 reszt aminokwasowych, umieszczoną między propeptydem a domeną katalityczną, która jest trawiona przez furyny – grupę proteaz serynowych obecnych w aparacie Golgiego [44,164].

Niesklasyfikowane MMP – siedem z nich nie zostało przypisanych do żadnej z powyższych grup. Do tej grupy należą MMP-12, MMP-19, MMP-20, MMP-21, MMP-23, MMP-27 i MMP-28.

Budowę i klasyfikację MMP przedstawiło wielu autorów [80,121,129,130], wiele informacji o żelatynazach przedstawiła Kołaczowska [112].

ADAM

Białka ADAM (a disintegrin-like and metalloproteinase) są rodziną transbłonowych białek powierzchni komórkowej, które wykazują działanie zarówno adhezyjne, jak i proteolityczne. Termin „dezintegryna” był początkowo stosowany do opisu bogatych w cysteinę białek, zawierających motyw RGD, izolowanych z jadu węża, które hamują agregację płytek krwi i adhezję komórkową z użyciem integryn [77,125,141,153]. Później homologiczne białka, w których reszta argininy wewnątrz motywu RGD została zastąpiona innym aminokwasem, tworząc motywy, takie jak: KGD [125,161], MGD [125,154], VGD [28,125], WGD lub MLDG [125,189], także dołączono do rodziny dezintegryn. Ostatecznie termin „dezintegryny” został

zarezerwowany dla określonych toksyn jadu węża, a termin „białko typu dezintegryny” dla białek z motywem RGD z podobnymi właściwościami, ale inną ogólną budową. Do białek typu dezintegryny należą m.in. rodziny ADAM i ADAMTS (ADAM z motywami trombospondyny). Białka te tworzą jedną podrodzinę, tzw. adamalizyn, która z metaloproteinazami należy do nadrodziny metyzyn [246]. Dotąd zidentyfikowano 34 członków ADAM w wielu różnych organizmach.

REGULACJA AKTYWNOŚCI MMP

Aktywność MMP jest regulowana na kilku poziomach: transkrypcji genów, stabilności mRNA, aktywacji proteolitycznej zymogenu, inhibicji aktywnego enzymu, degradacji MMP.

Regulacja transkrypcji MMP

Ekspresja większości MMP jest w prawidłowych warunkach niewielka, wzrasta, gdy zachodzi potrzeba przebudowy ECM. Zwiększenie poziomu MMP obserwowane w nowotworach jest spowodowane m.in. zmianami transkrypcji genów MMP oraz stabilności mRNA, w odpowiedzi na czynniki wzrostu, cytokiny oraz modyfikacje środowiska ECM. Metaloproteinazy należą do białek konserwatywnych i ich geny charakteryzują się dobrą stabilnością. Zauważono jednak, że w promotorach genów MMP istnieje polimorfizm, który wpływa na transkrypcję genów. Na przykład w promotorze MMP-1 występuje polimorfizm pojedynczego nukleotydu, w którym mogą występować jedna lub dwie guaniny. Obecność dwóch guanin tworzy funkcjonalne miejsce wiążące ETS, sąsiadujące z miejscem AP-1 i wzmacniające transkrypcję. Inny polimorfizm znajduje się w promotorze genu MMP-3, który zawiera pięć lub sześć adenozy. Homozygoty allelu 6A mają połowę aktywności transkrypcyjnej allelu 5A [51,235]. Informacje i przykłady wpływu polimorfizmu na ekspresję MMP przedstawiono w [130].

Promotory genów MMP zawierają wiele różnych elementów regulatorowych, m.in. AP-1, PEA3, Sp1, Tcf/Lef-1,

NFκB, RARE[36]. W wielu promotorach można znaleźć także sekwencje TATA i sekwencje bogate w GC. Jednym z głównych elementów regulatorowych jest AP-1, z którym wiążą się członkowie rodziny czynnika transkrypcyjnego AP-1. Są to białka z motywem suwaka leucynowego, które są spowinowacone z sekwencją DNA 5'-TGAG/CTCA-3'. Czynniki transkrypcyjne AP-1 wiążą się z DNA w postaci dimerów, tworzonych przez członków rodziny Jun (c-Jun, JunB i JunD) oraz rodziny Fos (cFos, Fra-1, Fra-2 i FosB) [5,33]. Innym ważnym elementem regulatorowym jest miejsce PEA3, z którym wiążą się czynniki transkrypcyjne ETS. Są to białka z motywem helisa-zwrot-helisa, które rozpoznają sekwencję 5'-A/CGGAA/T-3' [184,218]. Czynniki transkrypcyjne ETS nie wiążą się z DNA same, ale tworzą kompleksy z innymi czynnikami transkrypcyjnymi, dla których działają jak kofaktory. Do członków tej rodziny należą np. ETS-1, ERGB/Fli-1 i PU.1. Zdolność czynników transkrypcyjnych AP-1 i ETS do wiązania DNA jest regulowana przez szlaki sygnalizacyjne MAPK. Do szlaku MAPK należą: ERK1,2, który jest aktywowany przez mitogeny oraz JNK/SAPK i p38, aktywowane przez stres środowiskowy i cytokiny zapalne. Schemat szlaku sygnalizacyjnego MAPK podany jest w [218].

Aktywacja pro-MMP

Wszystkie MMP syntetyzowane są w postaci nieaktywnych zymogenów (pro-MMP). Aby uaktywnić enzym wymagane jest usunięcie prodomeny, blokującej miejsce aktywne. Większość MMP aktywowanych jest na zewnątrz komórki, ale dla kilku z nich zaobserwowano aktywację wewnątrzkomórkową w aparacie Golgiego. Do tej grupy należą: MT-MMP, MMP-1 i MMP-21 zawierające domenę furynopodobną.

Aktywację MMP wywołuje wiele czynników, np. HgCl₂, detergenty (SDS), niskie pH, podwyższona temperatura, reaktywne formy tlenu (ROS) lub proteazy [130]. ROS aktywują MMP przez utlenianie cysteiny w prodomeń [107,220]. Ważnymi aktywatorami MMP są: tkankowy aktywator plazminogenu typu urokinazy (uPA) i tkankowy aktywator plazminogenu (tPA). MMP mogą się aktywować także wzajemnie. Najlepiej poznano mechanizm aktywacji MMP-2 przez MT1-MMP [51,197]. Aktywacja MMP-2 przebiega przez trójskładnikowy kompleks: MT1-MMP, TIMP-2 i pro-MMP-2. TIMP-2 jest inhibitorem MMP, który wiąże się poprzez swoją domenę N-końcową z miejscem aktywnym MT1-MMP, a przez domenę C-końcową z domeną hemopeksyny pro-MMP-2. Następnie druga cząsteczka MT1-MMP, wolna od TIMP-2, trawi prodomeń w miejscu N37 – L38, a dalsza autoproteoliza wywołuje pełną aktywację MMP-2. TIMP-2 może więc służyć nie tylko jako inhibitor MMP, ale także pomagać w aktywacji tych enzymów. Należy jednak pamiętać, że aby zaistniała aktywacja MMP-2 stężenie TIMP-2 musi być stosunkowo niskie, tak żeby mógł zostać utworzony trójcząsteczkowy kompleks, ale jednocześnie nie wszystkie MT1-MMP uległy wysyceniu. Podobnie aktywacja MMP-2 przebiega z udziałem MT3-MMP i TIMP-2 lub TIMP-3 [95,240]. MMP-2 może być także aktywowana w procesie z udziałem kładyn i MT1-MMP [185,195]. Trombospondyna 1 (TS1) wiąże się z pro-MMP-2 i -9 hamując ich aktywację [20,48,95]. Ogólne mechanizmy aktywacji pro-MMP opisano wcześniej [129,130], natomiast w [80,121] opisano przebieg aktywacji pro-MMP-2.

Inhibitory MMP

Głównymi wewnętrznymi inhibitorami metaloproteinaz są tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMP), z których zidentyfikowano dotąd: TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 i TIMP-4 [6,23,44,46,79]. Wszystkie TIMP mają podobną budowę. Składają się z domeny N-końcowej, zawierającej sześć reszt cysteiny (trzy mostki disiarczkowe) odpowiedzialnych za wiązanie z domeną katalityczną MMP oraz z domeny C-końcowej, w której także znajduje się sześć cystein tworzących trzy mostki. Domena ta wiąże się z domenami hemopeksyny zymogenów niektórych MMP, co może prowadzić do aktywacji enzymu. TIMP mogą pełnić rolę zarówno inhibitora, jak i aktywatora MMP, mogą hamować aktywność wszystkich MMP, jednak z różną swoistością [24]. TIMP-3, w przeciwieństwie do pozostałych TIMP, oddziałując z siarczanami glikoaminoglikanów jest „immobilizowany” w ECM. TIMP pełnią także wiele innych funkcji, są m.in. zaangażowane w różnicowanie komórek, wzrost, migrację, inwazję, angiogenezę i apoptozę. Zaobserwowano, że TIMP-2 zapobiega autoproteolitycznej przemianie MT1-MMP, do nieaktywnej postaci o masie cząsteczkowej 45 kDa.

Innym wewnętrznym inhibitorem MMP jest białko RECK, które hamuje aktywność MMP-2, MMP-9 i MT1-MMP. RECK jest zakotwiczony w błonie komórkowej poprzez GPI i jest ekspresjonowany w wielu tkankach, ale jego poziom w komórkach nowotworowych jest niski. W polskim piśmiennictwie inhibitory metaloproteinaz opisano w wielu pracach [80,121,129,130].

Unieczynnianie MMP

Oprócz proteolitycznej aktywacji metaloproteinaz enzymy te podobnie jak wszystkie białka ulegają proteolizie. Aktywność i swoistość MMP mogą być regulowane przez proteolityczną degradację. Jednak nie każde trawienie dezaktywuje MMP, np. usunięcie domeny hemopeksyny, powoduje utratę aktywności względem pewnych substratów, a zachowana zostaje możliwość trawienia innych. Odcięcie domeny hemopeksyny znosi zdolność niektórych MMP do wiązania się z błoną komórkową. Trawienie MMP może również zmniejszyć ich powinowactwo do TIMP.

MMP mogą być fizycznie usunięte z ECM, tworząc kompleksy z białkami błonowymi, które ulegają endocytozie. Takimi białkami są np. α-makroglobulina oraz trombospondyna 2 (TS2), które po związaniu MMP ulegają endocytozie za pośrednictwem białka pokrewnego receptora lipoproteiny o niewielkiej gęstości (LRP) [51,192,234], która jest substratem MT1-MMP [95,181]. MMP-13 wiąże się z receptorem (170 kDa) o dużym powinowactwie do MMP-13. Wiązanie wymagające Ca²⁺ prowadzi do internalizacji i degradacji MMP-13 wewnątrz komórki.

Wśród błonowych MMP wyróżniono dwa mechanizmy endocytozy: endocytoza z udziałem kaweoli lub zależna od klatryny. Najlepiej zjawisko to opisano dla MT1-MMP. Kompleks adaptorowy klatryny AP-2 wiąże się do motywu dwuleucynowego (Leu-Leu-Tyr573) w domenie cytoplazmatycznej MT1-MMP [102,169,211]. Fosforylacja tyrozyny (Tyr573) w sposób zależny od kinazy tyrozynowej Src jest wymagana do proliferacji i wzrostu inwazyjnego

komórek nowotworowych [156,169]. Fosforylacja endoliny A2 (białka generującego fałdowanie błony podczas tworzenia pęcherzyków endocytarnych) przez kompleks FAK-Src prowadzi do redukcji endocytozy MT1-MMP i zwiększonej degradacji ECM [169,228]. Także kolagen typu I może indukować inhibicję endocytozy MT1-MMP [169]. MT1-MMP i rozpuszczalne MMP znajdują się na kaweolarnych błonach, a same kaweole są wymagane do prawidłowego umiejscowienia i działania MT1-MMP podczas migracji komórkowej. Domena cytoplazmatyczna MT1-MMP oddziałuje z ufosforylowaną tyrozyną (Tyr14) kaweoliny 1, głównego składnika kaweoli [114,160].

Innymi cząsteczkami regulującymi stężenie MT1-MMP na powierzchni komórkowej są tetraspaniny. Tetraspaniny to integralne białka błonowe z czterema przewidywanymi transbłonowymi domenami tworzą dużą grupę powszechnie ekspresjonowanych białek. Wśród MMP wiążących się z tetraspaninami jest MT1-MMP, który tworzy kompleks z CD63 [185]. CD63 bierze udział w transporcie MT1-MMP z powierzchni komórek do lizosomów, gdzie MT1-MMP ulegają proteolizie. Również CD151 w EC i CD9, CD81 i TSAN12 w komórkach nowotworowych zostały powiązane z regulacją aktywności MT1-MMP [116,185,233], ale działają przeciwnie do CD63, ponieważ wspierają ekspresję MT1-MMP na powierzchni komórek.

ŹRÓDŁA MMP W NOWOTWORACH

Choć MMP są istotne dla przeżycia i ekspansji komórek nowotworowych, to są przez nie wytwarzane tylko w niewielkim stopniu. Komórki nowotworowe, w parakrynowy sposób, poprzez wydzielanie interleukin, interferonów, czynników wzrostu i induktora metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (EMMPRIN), inicjują otaczające komórki gospodarza do wytwarzania potrzebnych im MMP [155,162,195,244]. MMP wydzielane przez prawidłowe komórki mogą być następnie wiązane na powierzchni komórek nowotworowych. Do „producentów” MMP, oprócz komórek nowotworowych, należą fibroblasty, makrofagi, komórki tuczne, wielojądrowe neutrofile (PMN), adypocyty i komórki śródbłonkowe.

Komórki nowotworowe wytwarzają głównie MMP-7 [85,155], która wpływa na wczesne etapy nowotworzenia, takie jak proliferacja, apoptoza i migracja. Zidentyfikowano dwa rodzaje fibroblastów zaangażowanych w rozwój nowotworu. Miofibroblasty, które powstają z fibroblastów pod wpływem wydzielanego przez komórki nowotworowe transformującego czynnika wzrostu- β (TGF- β) [30,212]. Miofibroblasty mogą pochodzić z komórek nabłonkowych, które przeszły EMT [175,225] i w przeciwieństwie do fibroblastów, które wytwarzają składniki ECM wydzielają enzymy, które degradują ECM. Drugim rodzajem są fibroblasty związane z nowotworem (CAF). CAF mogą powstawać przez aktywację fibroblastów zrębowych lub fibroblastów z krwiobiegu [175]. Cechą charakterystyczną CAF jest ekspresja wimentyny, dezmyny, aktyny α mięśni gładkich i białka aktywującego fibroblasty (FAP). Ponadto wytwarzają wiele cytokin, czynników wzrostu i białek ECM, wpływając na mikrośrodowisko komórek nowotworowych i wspierając ich rozwój [212]. Obecność np. czynników wzrostu hepatocytów (HGF) prowadzi do inwazyjnego fenotypu komórek nowotworowych i podobnie jak TGF- β ,

może indukować u nich zmianę fenotypu nabłonkowego na mezenchymalny (EMT – epithelial to mesenchymal transition). W konsekwencji powiązane z EMT czynniki transkrypcyjne Twist 1 i 2 indukowane onkogenem mogą znosić przedwczesne starzenie się komórek nowotworowych [140,212]. Poprzez wytwarzanie białek ECM, CAF mogą fizycznie modyfikować mikrośrodowisko tworząc barierę utrudniającą infiltrację guza przez komórki układu odpornościowego [132,152]. Komórki nowotworowe w parakrynowy sposób stymulują CAF do wytwarzania MMP, takich jak MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-11, MMP-13 i MT1-MMP [89,170,213]. Co ciekawe, zwiększone wytwarzanie MMP obserwowane jest w starzejących się fibroblastach, co może być ważną częścią tworzenia środowiska sprzyjającego powstawaniu nowotworów [17,122,155]. W nowotworach odkryto także obecność makrofagów związanych z nowotworem (TAM). Monocyty mogą, zależnie od bodźca, przechodzić w prozapalne (M1) lub przeciwzapalne (M2) makrofagi. Komórki TAM są podobne do makrofagów M2 [212], prawdopodobnie przyczyniają się do rozwoju nowotworu oraz powstawania przerzutów, ale nie mają wpływu na inicjację procesu nowotworowego. Ułatwiają degradację macierzy oraz wspierają ruchliwość komórek nowotworowych, ułatwiając migrację. Przenikanie komórek nowotworowych do naczyń krwionośnych następuje z udziałem okołonaczyniowych makrofagów, które wzmacniają oddziaływanie komórek nowotworowych z komórkami śródbłonka i ułatwiają przechodzenie przez ściany naczyń [212,229]. TAM wspierają angiogenezę gromadząc się w niedotlenionych obszarach guza i uruchamiając przełącznik naczyniotwórczy i neowaskularyzację poprzez wydzielanie pronaczyniotwórczych czynników, takich jak czynnik wzrostu śródbłonka naczyń (VEGF), interleukina 1 β (IL-1 β), TNF- α , angiogenina i semaforina 4D. TAM wytwarzają wiele MMP: MMP-1, -2, -3, -7, -9, -10, -12, -13, -14 i -19 [45,152] oraz pronowotworowe czynniki, takie jak TGF- β i IL-10 [188,212]. Nowotwory mogą „werbować” makrofagi dzięki wydzielaniu chemotaktycznych białek makrofagów (MCP)-1, -2 i -3 [31]. MMP mogą znosić aktywność chemotaktyczną MCP przez ich degradację, np. MCP-3 jest trawione przez MMP-2 [142]. W przeciwieństwie do granulocytów, które są gotowe do uwolnienia swoich MMP na żądanie, makrofagi wymagają stymulacji do zwiększenia ich wytwarzania. Oddziaływanie z aktywowanymi EC i adhezja ze składnikami ECM wydają się głównymi stymulatorami, które zwiększają wytwarzanie MMP przez aktywowane makrofagi. Komórki tuczne gromadzą się wokół oraz wewnątrz guza wspierając jego wzrost. Komórki te uwalniają MMP-2 i MMP-9 [58,155] oraz proteazy serynowe, w tym tryptazy i chymazy, które mogą aktywować zymogeny MMP-3 i MMP-9 [58,81,155]. Są również źródłem cytokin i czynników wzrostu, takich jak VEGF, zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF) i TNF- α . Wielojądrowe neutrofile zaangażowane w rozwój nowotworu są źródłem MMP-8 i MMP-9 [155,206]. MMP-8 jest uwalniana ze specjalnych ziarnistości w miejscach stanu zapalnego i uważana jest za główny regulator aktywności chemokin. Pochodząca z neutrofilów pro-MMP-9 nie tworzy kompleksów z TIMP-1 i dzięki temu łatwiej ulega aktywacji [107]. Adypocyty są ważną częścią zrębu nowotworu i przyczyniają się do rozwoju choroby. Wytwarzane przez nie lipoliny, takie jak leptyna, regulują ekspresję i aktywację MMP, np. leptyna indukuje wytwarzanie MMP-13 w komórkach glejaka [107,236]. W fazie

inwazyjnego wzrostu otaczająca nowotwór tkanka tłuszczowa wytwarza MMP-11 oraz hamuje różnicowanie adypocytów, indukując odróżnicowanie dojrzałych adypocytów, sprzyjając gromadzeniu związanych z nowotworem fibroblastów [107,146]. W procesie powstawania przerzutów ważna jest także współpraca z EC. Śródbłonek i błona podstawna tworzą barierę fizyczną, utrudniającą wnikanie komórek nowotworowych do naczyń krwionośnych [212]. Komórki nowotworowe mogą indukować w EC reorganizację aktomiozynowego cytoszkieletu oraz prowadzić do rozzerwania połączeń między komórkami śródbłonna, zależnych od działania VE-kadheryny. Udział makrofagów, neutrofilów i komórek tucznych w rozwoju nowotworu przedstawiono w [223].

MMP WE WZRÓŚCIE INWAZYJNYM I MIGRACJI KOMÓREK NOWOTWOROWYCH

MMP wpływają na wiele etapów rozwoju nowotworu, umożliwiając jego ekspansję poprzez wspieranie proliferacji komórek nowotworowych, ich inwazyjności i migracji, powstawania nowych naczyń krwionośnych w otoczeniu guza, a także przez blokowanie apoptozy komórek nowotworowych.

Znanych jest kilka dróg, za pomocą których MMP mogą wspierać rozwój komórek nowotworowych. Peptydowe czynniki wzrostu, zdeponowane w białkach ECM stają się biodostępne po degradacji przez MMP. MMP lub ADAM uwalniają związane z błoną komórkową prekursorzy niektórych czynników wzrostu. Wpływając na skład ECM, MMP mogą pośrednio regulować proliferacyjne sygnały poprzez integryny. W niektórych przypadkach MMP uwalniają receptory znajdujące się na powierzchni komórek, co prowadzi do zablokowania przekazywanych przez nie sygnałów. Uwolnione receptory mogą się dalej wiązać ze swoimi ligandami, uniemożliwiając im przyłączenie się do aktywnych receptorów. MMP trawią cząsteczki adhezji komórkowej, takie jak E-kadheryna, co prowadzi do osłabienia adhezji komórka-komórka i zwiększa ich ruchliwość. Oddziaływanie z innym typem cząsteczek adhezji komórkowej, integrynami ułatwia MMP degradację swoich substratów oraz wpływa na komórkę poprzez szlaki sygnalizacyjne indukowane przez integryny. MMP mogą również ujemnie wpływać na rozrost komórek nowotworowych poprzez generowanie proapoptotycznych cząsteczek, takich jak ligand Fas (FasL), TNF- α [149] lub antynacyniotwórczych cząsteczek, takich jak angiostatyna i tumstatyna.

Degradacja ECM

ECM to dynamiczna sieć wzajemnie oddziałujących cząsteczek, która otacza komórki, wpływając na ich rozwój i funkcje. Degradacja ECM powoduje nie tylko usunięcie bariery fizycznej dla powiększającego się guza, ale także uwalnia wiele aktywnych biologicznie cząsteczek oraz ujawnia ukryte miejsca w ECM, do których mogą się przyłączać różne receptory komórkowe. Trawienie składników ECM przez komórki jest możliwe dzięki specjalnym strukturalnym komórkowym, inwadopodiom. Są to inwazyjne wypustki, na powierzchni których gromadzą się enzymy proteolityczne degradujące macierz, w tym MMP. W powstawaniu inwadopodiów aktywną rolę odgrywają sploty aktyny, które ukierunkowują i stabilizują wypustki.

Mikrotubule natomiast zajmują się dostarczaniem do wierzchołka inwadopodiów niezbędnych enzymów. Powstawanie inwadopodiów zapoczątkowuje adhezja komórki do ECM oraz wytwarzanie czynników wzrostu, które aktywują integryny i receptory kinaz tyrozynowych [198]. Prowadzi to do agregacji F-aktyny i innych białek cytoszkieletowych, m.in. kortaktyny [10,25,181], co inicjuje akumulację MT1-MMP w tworzących się inwadopodiach [8,181]. Rozpuszczalne MMP przyłączają się na powierzchni inwadopodiów do cząsteczek adhezyjnych, takich jak integryny i CD44. MMP degradują różnorodny zbiór składników ECM, uwalniając wiele rodzajów cząsteczek wpływających na zachowanie się komórek.

Jednym z substratów MMP jest fibronektyna, degradowana przez MMP-9 związaną z cząsteczką adhezyjną CD44 [128,230]. Degradacja prowadzi do uwolnienia aktywnej cząsteczki TGF- β . Czynnikiem ten jest związany z białkiem wiążącym latentny TGF- β (LTBP1). LTBP1 łączy się z pośrednictwem proteoglikanów siarczanu heparanu z fibronektyną i w ten sposób zostaje wbudowany w ECM [113]. Także dekoryna uważana za rezerwuuar TGF- β uwalnia ten czynnik po degradacji przez MMP-1, -2, -3, -7 i -9 [97,128]. Działanie TGF- β zależy od etapu rozwoju nowotworu. W prawidłowych komórkach nabłonkowych, śródbłonkowych oraz nowotworowych na wczesnym etapie rozwoju nowotworu, TGF- β powoduje zahamowanie proliferacji komórek. Hamowanie proliferacji odbywa się poprzez indukcję ekspresji inhibitorów kinaz cyklinowych p15INK4b, p21CIP1 i p27KIP1 oraz tłumienie ekspresji c-myc [54]. Zaobserwowano jednak, że 85% wszystkich nowotworów u ludzi staje się oporna na hamujący proliferację wpływ TGF- β [54,168]. Od tej chwili TGF- β wspiera rozwój nowotworu. Opracowano dwie teorie, które tłumaczą tę zmianę. Pierwsza z nich mówi, że po unieważnieniu na TGF- β komórki nowotworowe zwiększają jego wytwarzanie, co wpływa na ECM i cząsteczki adhezji komórkowej, ułatwiając przerzutowanie, angiogenezę oraz indukują immunosupresję [113]. Druga teoria mówi natomiast, że wpływ TGF- β na komórki nowotworowe zmienia się po przejściu przez nie EMT. Co więcej, TGF- β może indukować EMT. Szlak sygnalizacyjny TGF- β może prowadzić do apoptozy komórki, zazwyczaj za pośrednictwem cząsteczek Smad. Zaobserwowano jednak, że aktywacja szlaku kinaza PI3/Akt może zahamować indukowaną TGF- β apoptozę, przez wiązanie Akt do Smad3, co zapobiega fosforylacji i translokacji do jądra białka Smad3 [34,38,54]. TGF- β wpływa także na adhezję komórka-komórka oraz komórka-ECM przez zmniejszenie ekspresji E-kadheryny, co obniża adhezję między komórkami, zwiększenie ekspresji integryn związanych z inwazją i zwiększenie ekspresji białek wiążących integryny, np. fibuliny 5 [54,71,143,182].

Zaobserwowano także trawienie innych składników ECM. MMP-2 i MT1-MMP trawią łańcuch $\gamma 2$ lamininy 5, nadając jej właściwości chemotaktyczne i stymulując migrację komórkową [72,170]. Laminina 5 jest składnikiem nabłonkowej błony podstawnej komórki, w skład której wchodzi także kolagen typu IV, laminina 1, enaktyna/nidogen i proteoglikany. Ponadto oddziałuje ona z integrynami, co jest decydujące dla adhezji komórek nabłonkowych do błon podstawnych [12]. Nietrawiona laminina 5 tworzy stabilne połączenia z komórką, natomiast produkty trawienia przez MMP wspierają migrację. Na przykład domena

zawierająca tripeptyd RGD lamininy wewnątrz łańcucha α wspiera adhezję komórek przez wiązanie się do integryny $\beta 1$. Domena YIGSR wewnątrz łańcucha β lamininy, poprzez wiązanie się z nieintegrynowym receptorem lamininy [16,193], indukuje oddziaływanie komórka-komórka, reguluje morfogenezę i reorganizuje EC w struktury rurkopodobne [78,193]. Kolejnym substratem dla MMP jest kolagen typu IV. Jego degradacja uwalnia niekolagenowe (NC) domeny łańcuchów $\alpha 2$, $\alpha 3$ i $\alpha 6$ o właściwościach antynacyniotwórczych [166,170]. Domena C-końcowa łańcucha $\alpha 3$ jest nazywana tumstatyną, a niektóre jej fragmenty po degradacji przez MMP-9 są zdolne do wiązania integryny $\alpha \nu \beta 3$ komórek śródbłonna i wywołania antynacyniotwórczej odpowiedzi [131,170]. Łańcuch $\alpha 3$ jest także zdolny do obniżania ekspresji MT1-MMP. MMP trawią także domeny NC kolagenu typu XVIII uwalniając fragment o nazwie endostatyna oraz domeny NC kolagenu XV uwalniając restyne, oba fragmenty powodują zahamowanie procesu angiogenezy [138,170]. MMP-3, MMP-7, MMP-9 i MMP-12 trawią plazminogen, uwalniając N-końcowy fragment, zwany angiostatyną, który hamuje proliferację komórek śródbłonkowych [26,47,170]. Natomiast degradacja fibrylin przez MMP-2, MMP-9 i MMP-12 powoduje powstawanie peptydów z motywem XGXXPG, które wiążą się do receptora 67 kDa. Wiązanie to powoduje chemotaksję, proliferację i migrację komórek nowotworowych oraz wytwarzanie MMP-2 przez fibroblasty [26,103,170]. Z kolei MMP-1 i MMP-3 degradują perlekan i uwalniają bFGF [170,221].

Uwalnianie czynników wzrostu z powierzchni komórek

Z powierzchnią komórek związanych jest wiele czynników wzrostu w ich nieaktywnej postaci. Za ich uaktywnienie odpowiedzialne są MMP. Przyłączenie MMP-7 do CD44 powoduje, że związany z heparyną nabłonkowy czynnik wzrostu (HB-EGF) w wyniku proteolizy ulega aktywacji do aktywnej postaci EGF [21,212]. Także MMP-3 może degradować HB-EGF i uwalniać aktywny czynnik wzrostu [128,201]. Proteinazy ADAM również biorą udział w regulacji szlaku receptora EGF (EGFR). ADAM-10 uwalnia np. rozpuszczalny EGF, natomiast ADAM-17 przetwarza postaci proinnych ligandów EGFR, takich jak TGF- α i epiregulina [107]. Wpływ EGF na komórki nowotworowe może przebiegać przez różne szlaki, ogólnie jednak sprzyja proliferacji komórek nowotworowych. EGF może uruchamiać szlak ERK, który prowadzi do zwiększonej proliferacji, wzrostu transkrypcji członków rodziny Bcl-2 i inhibitorów białek apoptotycznych. EGF może aktywować także szlak kinazy PI3/AKT i JAK/STAT. JAK fosforyluje białka STAT umiejscowione w błonie plazmatycznej. To prowadzi do przemieszczenia białek STAT do jądra, gdzie aktywują transkrypcję genów związanych z przeżyciem komórki. W procesie angiogenezy nowotworowej, uwolniony przez MMP, EGF aktywuje kinazę tyrozynową receptorów (RTK), która może wspierać „werbowanie” perycytów i dojrzewanie naczyń [52,193].

MMP uwalniają TNF- α , jedną z najważniejszych prozapalnych cytokin, która jest ekspresjonowana jako związany z błoną prekursor (pro-TNF- α) na powierzchni m.in. makrofagów i komórek T. Wśród MMP trawiących pro-TNF- α znajdują się MMP-1, -2, -3, -9, -12, -14, -15 i -17

[107,136], chociaż uważa się, że głównym enzymem aktywnym TNF- α jest ADAM-17, znany także jako TACE (TNF converting enzyme). Wiele nowotworów wytwarza nadmiernie TNF- α i wspiera przeżycie komórek nowotworowych w sposób zależny od NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) [107,126].

Uwalnianie czynników wzrostu z wiążących je białek

Niektóre czynniki wzrostu tworzą kompleksy z wybranymi białkami, które uniemożliwiają im wiązanie się do swoich receptorów. MMP trawią te białka i uwalniają aktywny czynnik wzrostu.

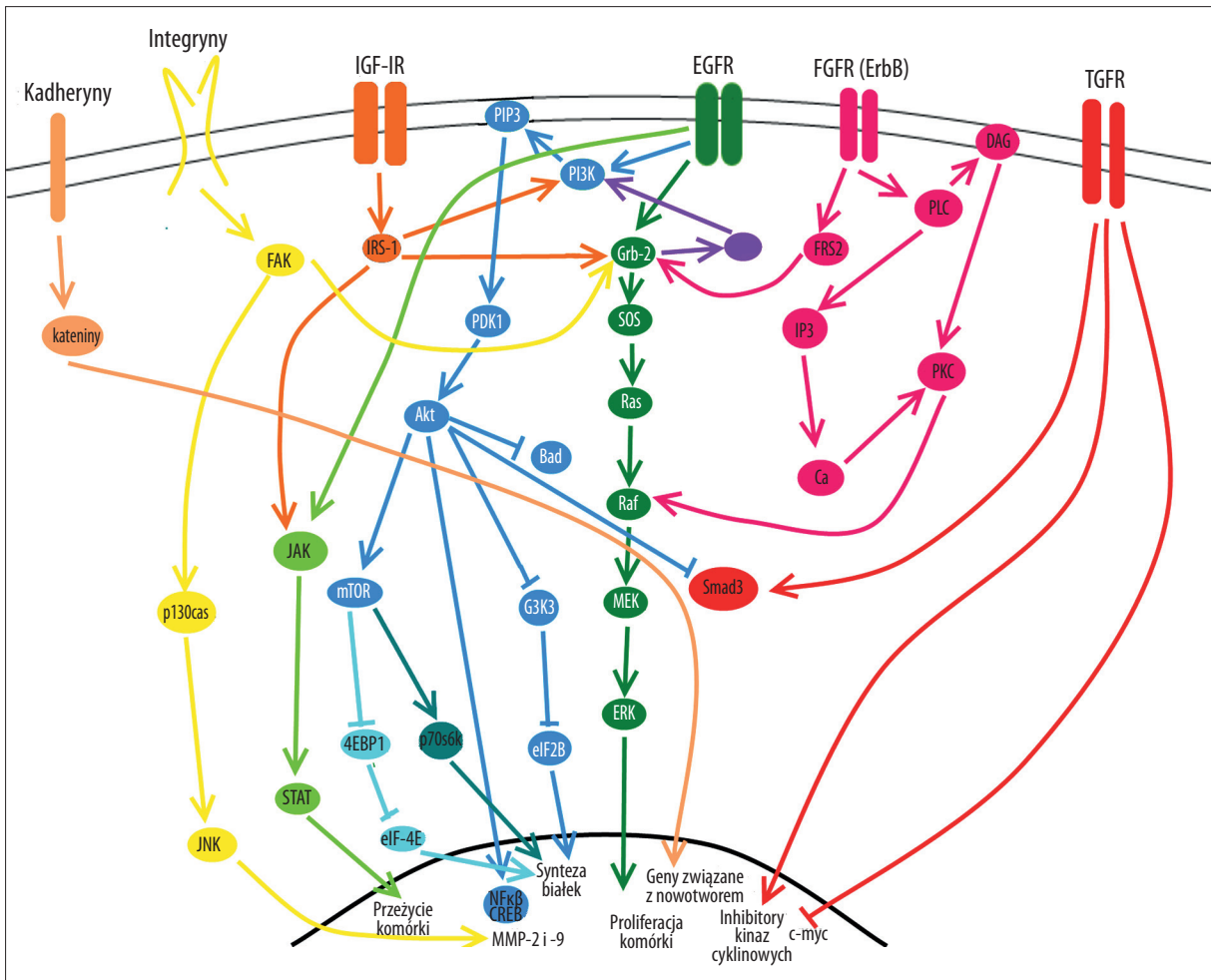
Ilustracją zjawiska jest uwolnienie insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF). Związany z białkiem tworzy nieaktywny kompleks IGF-BP, podatny na proteolizę MMP. W wyniku trawienia dochodzi do uwolnienia IGF [51,135]. Wykazano, że kompleks IGF-BP1 jest trawiony przez MMP-11, IGF-BP3 przez MMP-1, MMP-2 i MMP-3, a IGF-BP5 przez MMP-1 i MMP-2 [65,128,135,206]. Następnym kaskadą sygnalizacyjnych wywołanych przez IGF jest indukcja proliferacji komórek. Receptor IGF typu 1 (IGF-IR) reguluje cykl komórkowy. Może ułatwiać przejście z fazy G0 do G1 poprzez aktywację p70 S6K, prowadząc do fosforylacji białka rybosomowego S6 i zwiększenia puli rybosomów niezbędnej do wejścia w cykl [50,183]. Może wspierać przejście G1-S przez zwiększenie ekspresji genów cykliny D1 i CDK4, prowadząc do uwolnienia czynnika transkrypcyjnego E2F i syntezy cykliny E [183,185]. Wykazano, że szlak sygnalizacyjny $\alpha \nu \beta 3$ przedłuża sygnał z IGF-IR, który również wpływa na ekspresję MMP-2. Zwiększa syntezę tego enzymu, kiedy aktywowany jest szlak PI3K, ale zmniejsza wytwarzanie MMP-2 kiedy sygnał biegnie przez szlak MAPK [183,239]. IGF-IR zwiększa aktywność związanej z powierzchnią komórki MMP-9 [144,183].

Trawienie receptorów powierzchni komórki

W wyniku działań MMP dochodzi do uwolnienia receptorów związanych z błoną komórkową, uwalniając ich rozpuszczalne, nieaktywne postaci MMP-2 trawi np. domenę zewnątrzkomórkową receptora czynnika wzrostu fibroblastów (FGFR1) [128]. Uwolniony FGFR1 nadal zachowuje zdolność wiązania z FGF, kontrolując bioaktywność tego czynnika. Zaobserwowano, że FGF indukuje ekspresję MMP-2. Trawienie receptora FGF przez MMP-2 może być częścią sprzężenia zwrotnego mającego na celu hamowanie sygnału przekazywanego przez FGFR1. Aktywowane receptory FGF mogą uruchamiać wiele szlaków, prowadząc do proliferacji i migracji komórek. Do receptorów może się przyłączyć substrat 2 FGFR (FRS2) i prowadzić do aktywacji szlaków RAF, MAPK [56,209] oraz antyapoptotycznego szlaku, zależnego od AKT [4,209]. Niezależnie od FRS2 do receptora może się wiązać fosfolipaza C [165,209]. Fosfolipaza C (PLC) prowadzi do aktywacji kinazy białkowej C (PKC), która wzmacnia aktywację szlaku MAPK.

Degradacja i oddziaływanie z cząsteczkami adhezji komórki

Cząsteczki adhezji komórki należą do grupy receptorów na powierzchni komórek, które wybiórczo oddziałują z cząsteczkami obecnymi na powierzchni sąsiednich



Ryc. 2. Schemat szlaków sygnałowych, angażujących MMP

komórek lub w ECM. Receptory na powierzchniach komórek należą do pięciu głównych klas: kadheryn, integryn, super rodziny immunoglobulin (Ig-CAM), selektyn i receptorów hialuronowych CD44 [24,134]. Wewnątrz komórki receptory oddziałują z wieloma cząsteczkami zaangażowanymi w szlaki sygnalizacyjne.

Kadheryny to transbłonowe glikoproteiny zależne od Ca^{2+} , które uczestniczą w adhezji między komórkami przez wiązanie się do ektodermy homotypowych kadheryn sąsiednich komórek. Ich wewnątrzkomórkowy C-koniec oddziałuje z inną grupą białek, kateninami (α , β , γ i p120), które regulują stabilność adhezji międzykomórkowej [24,32,98]. Oddziaływanie to jest fundamentalne dla adhezji, przekazywania sygnałów i proliferacji komórek. Kadheryny są substratami dla kilku MMP. E-kadheryna jest substratem dla MMP-3 i MMP-7, natomiast P-kadheryna dla MMP-1 i MMP-2 [24,178]. Utrata kadheryn powoduje spadek kohezji między komórkami, co ułatwia ich rozprzestrzenianie i migrację. W wyniku tego procesu dochodzi do umiejscowienia β -kateniny w jądrze. β -katenina jako kofaktor transkrypcji reguluje różne geny zaangażowane w rozwój nowotworu [170]. Rozpuszczalna E-kadheryna może także hamować działanie E-kadheryny związanej z błoną w parakrynowy sposób, poprzez hamowanie agregacji komórkowej zależnej od E-kadheryny. Zaobserwowano zwiększoną aktywność MMP-2, MMP-9 i MT1-MMP spowodowaną

pojawieniem się rozpuszczalnej E-kadheryny w komórkach nowotworowych raka płuc [151,170]. Proteoliza E-kadheryny jest jednym z początkowych etapów EMT.

Integryny są heterodimerami, zbudowanymi z dwóch niekowalencyjnie związanych podjednostek: łańcucha α i mniejszego łańcucha β . Integryny oddziałują z białkami tworzącymi ECM, z komórkami i z rozpuszczalnymi cząsteczkami obecnymi w płynach ustrojowych. Po związaniu liganda w integrynach zachodzą zmiany konformacyjne, po których następuje przesłanie sygnałów do wnętrza komórki poprzez szlaki wykorzystujące kinazę ogniskowo-adhezyjną (FAK) lub RTK [24,70,176]. Sygnały te wpływają na adhezję, przeżycie, proliferację i migrację komórek. Zaobserwowano, że szlaki FAK i RTK są często nadaktywne w nowotworach, przyczyniając się do ich rozwoju. Aktywowany przez integryny FAK powoduje uruchomienie szlaku sygnalizacyjnego Ras/MAP [115,207]. FAK jest także zaangażowany w aktywację kinazy JNK oraz fosfolipazy C. JNK stymuluje jądro komórkowe do syntezy MMP-2 i MMP-9 [207]. Białka ECM zawierają motyw RGD, umożliwiając im przyłączanie się do odpowiednich integryn. Wiele MMP również oddziałuje z integrynami, np. MMP-2 oddziałuje z $\alpha v \beta 3$ na powierzchni naczyń krwionośnych podlegających angiogenezie [24], MMP-9 oddziałuje z $\alpha v \beta 3$ wspierając migrację komórek raka piersi [24,180], a z $\alpha v \beta 5$ oddziałują aktywne postaci MMP-2

i MT1-MMP, wpływając na ich lokalizację w błonie komórkowej [24,94,183]. MMP-1 i MMP-9 oddziałują z integryną $\alpha 2\beta 1$ [49,170]; $\alpha \nu\beta 3$ bierze udział w aktywacji pro-MMP-2 [170]. Integryny wiążąc się do obszarów powstających po degradacji ECM przez MMP mogą wspierać przeżycie komórek nowotworowych. Wykazano, że integryna $\alpha \nu\beta 3$ może się wiązać z produktem degradacji kolagenu typu I przez MMP-1 w komórkach czerniaka [129]. Oddziaływanie to chroniło komórki nowotworowe przed apoptozą i związane było ze wzrostem stosunku bcl2: bax. Integryny mogą być także substratami dla MMP, np. MMP-7 trawiąc podjednostkę $\beta 4$ zwiększa potencjał migracyjny komórek raka stercza [128,216]. MT1-MMP może trawić prekursor $\alpha \nu$, $\alpha 5$ i $\alpha 3$ [11,24,177]. Kontakt między swoistymi integrynami ekspresjonowanymi przez komórki nowotworowe a ECM nie zawsze sprzyja rozwojowi nowotworu, np. ekspresja integryny $\alpha 2\beta 1$ odwraca złośliwy charakter komórek, gdy są w kontakcie z macierzą kolagenową [44,245]. Ważną integryną powiązaną z angiogenezą jest receptor witronektyny, $\alpha \nu\beta 3$, który jest ekspresjonowany w EC podlegających angiogenezie [55].

Komórki nowotworowe wykazują zwiększoną liczbę izoform CD44. Receptory CD44 wiążą MMP-9 na ich powierzchni [62,238], a powstały kompleks jest zaangażowany w degradację kolagenu typu IV [143]. Aktywacja MMP-9 za pomocą CD44 powoduje zmiany w inwazyjności nowotworowej i angiogenezie prawdopodobnie przez aktywację TGF- β [45,238]. Do CD44 przyłącza się również MMP-7. Natomiast MT1-MMP bierze udział w degradacji CD44, wspierając w ten sposób migrację komórek [24,104].

Udział MMP w inwazji nowotworu jest przedstawiony w polskojęzycznym piśmiennictwie [80,112,121,129].

MMP w powstawaniu przerzutów nowotworowych

Proces powstawania przerzutów nie jest wydajny, szacuje się, że tylko około 0,01% uwolnionych ze zmiany pierwotnej komórek nowotworowych zapoczątkowuje tworzenie się nowych zmian [24,35]. Proces przerzutowania jest wieloetapowy, następuje: rozluźnienie międzykomórkowych połączeń i uwolnienie pojedynczych komórek od guza; niedopuszczenie do anoikis; degradacja ECM i migracja komórek; przenikanie do naczyń krwionośnych lub limfatycznych; adhezja do komórek śródbłonna i wzrost wtórny w nowym miejscu [237].

Anoikis jest apoptozą komórki wywołaną przez utratę połączeń między komórką a ECM. W komórkach nowotworowych zaobserwowano niewrażliwość na ten mechanizm. Jednym ze sposobów w jaki komórki nowotworowe mogą radzić sobie z anoikis jest EMT. Komórki, które przeszły EMT mają bardziej inwazyjny charakter i mogą migrować, nabierają cech komórek macierzystych. Jak już wspomniano EMT może być indukowane przez degradację E-kadheryny lub uwolnienie TGF- β . MMP-3 aktywuje program EMT [123,175] w mysich komórkach nabłonkowych przez zwiększenie poziomu ROS [174,175]. Do EMT może także prowadzić aktywacja szlaku sygnalizacyjnego Wnt. Klasyczny szlak Wnt hamuje fosforylację β -kateniny i jej późniejszą degradację w proteosomie, co skutkuje translokacją β -kateniny do jądra komórkowego [22,186],

gdzie zostaje związana z rodziną białek wiążących DNA LEF/TCF [18,175]. Wśród genów, których ekspresja zwiększa się pod wpływem szlaku Wnt są geny MMP, takie jak MMP-3, MMP-7 [40,175], MT1-MMP [175,202] i MMP-26 [137,175]. Komórki o fenotypie mezenchymalnym wytwarzają więcej MMP, dlatego też są mniej uzależnione od wytwarzania tych enzymów przez komórki gospodarza, co zwiększa ich zdolność do przerzutowania. Po przemieszczeniu się do miejsca tworzenia przerzutów komórki nowotworowe mogą powrócić do swojego fenotypu nabłonkowego. Badania ujawniły, że w zależności od czynnika wywołującego EMT, wzrost wytwarzania poszczególnych MMP zachodzi w różnym stopniu. Na przykład w komórkach nabłonkowych sutka transformowanych Ras i traktowanych TGF- β , w celu indukcji EMT, największy wzrost ekspresji zachodził dla MMP-2, MMP-12 i MMP-13 [101,175]. Natomiast indukcja EMT w komórkach MCF10A przez traktowanie TGF- β lub ekspresję ErbB2 stymulowała ekspresję MMP-2 i MMP-9 [108,109,175]. Aktywacja EMT w komórkach NMuMg przez traktowanie nadtlakiem wodoru, prowadziła do wzrostu ekspresji MMP-3, MMP-10 i MMP-13 [145,175], a indukcja EMT przez kinazę tyrozynową Abl w tej samej linii komórkowej prowadziła do wzrostu ekspresji MMP-3 i MMP-9 [3,175].

Migracja komórek nowotworowych pozwala zasiedlać nowe, często odległe miejsca. Opisano dwa sposoby w jaki komórki mogą się przemieszczać w ECM; przemieszczanie się zbioru komórek lub pojedynczych komórek [66,212]. Podczas przemieszczania zbioru międzykomórkowe połączenia pozostają zachowane. Występuje ono w nieobecności TGF- β i zachodzi w układzie limfatycznym [69,212]. Natomiast przemieszczanie „indywidualne” może przebiegać na sposób „ameboidalny” lub przez przemieszczanie typu mezenchymalnego. Typ ameboidalny zachodzi poprzez cykle rozszerzania się i kurczenia komórki i jest niezależny od proteaz. Mezenchymalny typ migracji jest wykorzystywany przez komórki po zmianie fenotypu (EMT). Wyróżniono trzy etapy ruchu komórek: przyłączenie, kurczenie się i odłączenie. Udział MMP ogranicza się do fazy przyłączania i odłączania w migracji typu mezenchymalnego [27,128,158]. Podczas migracji MMP związane są z cząsteczkami adhezyjnymi na powierzchni komórki [14,128]. MMP trawiąc elementy ECM ułatwiają przemieszczanie komórek. Degradacja i reorganizacja ECM podczas inwazji mezenchymalnej prowadzi do tworzenia mikroprzestrzeni, które mogą być wykorzystane i poszerzone przez inne komórki [181,227]. Komórki depozycją cząsteczki adhezyjne i MMP w pęcherzykach błonowych, które pozostają w obrębie ECM. Komórki nowotworowe mogą zmieniać sposób poruszania się w zależności od warunków. Hamowanie proteaz sprzyjać będzie typowi ameboidalnemu, a przy sztywności ECM dominujący będzie typ mezenchymalny [212]. MMP mogą także stymulować migrację komórek nowotworowych w nieproteolityczny sposób. Kompleks MT1-MMP/TIMP-2 aktywuje kaskadę sygnalizacyjną MEK1/3 – ERK1/2 – p90RSK, co skutkuje zwiększoną ruchliwością komórek [193,194].

Wejście do naczyń krwionośnych, tzw. intrawazacja wymaga obecności MMP-9. Zaobserwowano, że nadekspresja MT1-MMP zwiększa liczbę komórek nowotworowych przeżywiających po ich podaniu dożylnie [51,208]. W proces intrawazacji zaangażowane są okołonaczyniowe makrofagi

[37,212]. Perycyty ograniczają intrawazację komórek nowotworowych. Jednak perycyty „zwerbowane” przez komórki nowotworowe w miejscach przerzutów uwalniają czynniki naczyniotwórcze, wspierające wzrost nowotworu [29]. Po wejściu komórki nowotworowej do naczyń krwionośnych jest ona narażona na reakcję układu immunologicznego gospodarza. Obecność MMP pozwala komórkom nowotworowym przetrwać m.in. dzięki oddziaływaniom z płytkami krwi. Opłaszczone trombocytami komórki mogą ochronić się przed działaniem efektorowych komórek systemu immunologicznego. Agregaty komórek nowotworowych z płytkami krwi tworzą zatory w naczyniach, dzięki temu komórki te mogą zmniejszyć zdolność do przemieszczania się przylegając do komórek śródbłonnka. Kolejnym etapem jest oddzielenie się płytek krwi i ekstrawazacja komórek nowotworowych. Zaobserwowano, że MMP stymulują agregację komórek nowotworowych z trombocytami. MMP mogą trawić receptor α interleukiny 2 (IL-2R α) na powierzchni komórek T obniżając ich zdolność do proliferacji [68,187]. MMP aktywują także TGF- β , który tłumy reakcję cytotoksyczną limfocytów T [68,76]. Receptory ICAM-1 znajdujące się na powierzchni komórek NK przyłączają pro-MMP-9, która po aktywacji trawi receptor osłabiając działanie cytotoksyczne komórek NK. Natomiast produkt trawienia inhibitora proteiny α 1 przez MMP-11 zmniejsza wrażliwość komórek nowotworowych na działanie komórek NK [68,106].

Zaobserwowano, że pierwotne guzy wytwarzają rozpuszczalne czynniki, które indukują werbowanie krwiotwórczych komórek progenitorowych (HPC) do premetastatycznych nisz, stwarzając korzystne warunki dla krążących komórek nowotworowych [45,105]. HPC odkładając się w miejscach tworzenia przerzutu stwarzają dogodne warunki do ich zasiedlenia przez komórki nowotworowe [45]. Proces powstawania nisz zasiedlających wydaje się zależny od MMP-9 wytwarzanych przez HPC [223].

MMP a apoptoza

MMP wykazują działanie zarówno pro- jak i antyapoptotyczne. MMP-7 uwalnia związany z błoną ligand Fas, który indukuje apoptozę, łącząc się ze swoim receptorem inicjuje odpowiedni szlak sygnalizacyjny [170,171]. MMP-3 indukuje apoptozę, w przypadku jego nadekspresji w komórkach nabłonkowych, prawdopodobnie przez trawienie lamininy [51,226]. MMP mogą także wspomagać apoptozę komórek w procesie anoikis. W wyniku tego typu zjawisk dochodzi do wyselekcjonowania komórek opornych i działanie MMP może prowadzić do przetrwania komórek tumorogennych o obniżonej wrażliwości na apoptotyczne bodźce. MMP mogą hamować apoptozę przez uwalnianie czynników wzrostu, np. EGF i IGF. Udział TIMP w procesie apoptozy opisano w [223].

ANGIOGENEZA

Wzrost guza powyżej średnicy 2–3 mm wymaga zaopatrzenia w tlen i składniki odżywcze. Do proliferujących komórek nowotworowych muszą zostać doprowadzone nowe naczynia krwionośne, które dostarczą niezbędnych składników [63]. Istnieje kilka sposobów powstawania nowych naczyń krwionośnych. Pierwszym jest waskulogeneza, czyli tworzenie naczyń *de novo* z angioblastów, które

następnie różnicują się w dojrzałe komórki śródbłonkowe [39]. Naczynia mogą powstawać także na bazie istniejącej już sieci naczyń, w procesie zwanym angiogenezą. Najczęściej opisywanym mechanizmem angiogenezy jest „kiełkowanie” (sprouting) naczyń krwionośnych, poprzez proliferację i migrację EC, które tworzą ściany tych naczyń [179]. Komórki nowotworowe mogą wykorzystywać istniejącą sieć naczyń krwionośnych, mogą także tworzyć nieprawidłowe naczynia krwionośne w zjawisku zwanym naśladownictwem naczyniowym. Macierzyste komórki nowotworowe mogą różnicować się w nowotworowy śródbłonek [29,217]. Z powodu gwałtowności inicjacji angiogenezy, zjawisko to zostało nazwane „włącznikiem naczyniotwórczym” (angiogenic switch) [45]. Zaobserwowano, że niektóre komórki nowotworowe mogą szybko dokooptować istniejące naczynia gospodarza, by zapewnić dobre unaczynienie rozwijającego się guza [93]. Jednak ta dokooptowana sieć naczyń nie podlega angiogenezie, ale raczej cofa się z powodu przerywania oddziaływań między EC a perycytami (PC)/komórkami mięśni gładkich (SMC) oraz apoptozy EC. Regresja może prowadzić do powstania martwicy w centrum guza, po której tworzy się silny naczyniotwórczy odczyn na obrzeżach guza [92,93]. Wysoka ekspresja czynników pronaczyniotwórczych powoduje, że naczynia utworzone podczas angiogenezy nowotworowej są często poszerzone, kręte oraz nieszczelne. Większa przepuszczalność naczyń nowotworu prowadzi do zwiększenia ciśnienia płynu śródmiąższowego (IFP) [13,193]. Głównym mechanizmem leżącym u podstaw przełącznika naczyniotwórczego jest zmiana równowagi między poziomami aktywatorów i inhibitorów angiogenezy, na korzyść tych pierwszych [19,45].

Angiogeneza nowotworowa dotyczy głównie małych naczyń krwionośnych, takich jak żyłki i tętniczki pozawłosowate oraz naczynia włosowate, które są zbudowane z pojedynczej warstwy komórek śródbłonkowych, którą otacza błona podstawna (BM). EC wpływają na wiele metabolicznych funkcji, takich jak: koagulacja i tromboliza, kontrola napięcia ściany naczyń, prezentacja antygenów i synteza składników BM i czynników wzrostu. BM dodaje natomiast wytrzymałości na rozciąganie i może dostarczać substratów do przyłączania komórek. Warstwę EC i BM otacza płaszcz perycytów. PC pomagają regulować przepływ krwi w naczyniach włosowatych i proliferację EC, a także mogą się różnicować w dojrzałe komórki mięśni gładkich, które są obecne w większych naczyniach krwionośnych [91].

Wyróżniono pięć kolejnych etapów angiogenezy: (1) zwiotczenie ściany naczyń i pobudzenie komórek śródbłonnka, (2) degradacja błony podstawnej i macierzy zewnątrzkomórkowej, (3) migracja i proliferacja komórek śródbłonnka, (4) wytworzenie rurkowatych struktur nowego naczynia, (5) otoczenie nowo powstałych naczyń przez komórki mezenchymalne [236].

Inicjacja procesu angiogenezy

Niedotlenienie lub niedokrwienie prowadzi do indukcji wielu czynników transkrypcyjnych, takich jak czynnik indukowany niedotlenieniem (HIF), które są odpowiedzialne za uruchomienie programu angiogenezy. HIF łączy się z promotorem VEGF, który jest główną cytokiną o pronaczyniotwórczym działaniu [64,236]. Rodzina VEGF składa

się z kilku członków [232]. VEGF-A jest głównym czynnikiem stymulującym angiogenezę, zarówno w warunkach fizjologicznych, jak i patologicznych [29,59,150]. Wiąże się on z receptorem VEGFR-1, VEGFR-2 lub VEGFR-3, z różnym powinowactwem. EC ekspresjonują głównie VEGFR-1 i -2, natomiast ekspresja VEGFR-3 jest ograniczona do śródbłonna limfatycznego i indukuje tworzenie naczyń limfatycznych [205]. Szlak inicjowany przez VEGFR-1 wspiera wzrost komórek nowotworowych w sposób niezależny od angiogenezy [29,120]. VEGF powoduje wzrost przepuszczalności naczyń, ich poszerzenie i zwiotczenie przez stymulację wytwarzania tlenu azotu (NO) przez pobudzony śródbłonek [242,243]. Od ścian naczyń odłączają się perycyty (PC), co powoduje, że EC tracą swą przyczepność i naczynie rozszerza się. VEGF powoduje także wzrost ekspresji MMP. Zauważono, że TIMP-3 hamuje neowaskularyzację stymulowaną VEGF w sposób niezależny od aktywności inhibitorowej wobec MMP. TIMP-3 wiąże się z VEGFR-2, przez co blokuje aktywację tego receptora przez VEGF [173]. Jednak u myszy z niedoborem TIMP-3 nie zaobserwowano nieprawidłowej budowy naczyń, chociaż utrata hamowania szlaku VEGFR powinna prowadzić do zwiększenia przepuszczalności i uszkodzenia naczyń [117]. Dlatego też sądzi się, że choć TIMP-3 jest inhibitorem VEGFR nie jest on jednak głównym jego regulatorem. Odkryto również homolog VEGF – PIGF, którego obecność nie jest jednak wymagana w fizjologicznej angiogenezie [29,64]. Jego rola w nowotworzeniu polega na stymulacji angiogenezy oraz aktywacji progenitorowych komórek szpikowych oraz ECM, w celu utworzenia bardziej sprzyjającego mikrośrodowiska do wzrostu komórek nowotworowych [29].

Rola MMP w uwalnianiu czynników pro- i antynaczyniotwórczych

Pobudzone EC, stymulowane przez czynniki uwalniane w pierwszym etapie angiogenezy, wytwarzają MMP, prowadząc do zniszczenia bariery fizycznej uniemożliwiającej im migrację. Jedną z głównych MMP zaangażowanych w proces angiogenezy jest MMP-9, której udowodniono udział w uruchomieniu włącznika naczyniotwórczego. W tym celu posłużono się modelem wielostopniowego nowotworzenia w trzustce u transgenicznych myszy RIP1-Tag2 [45]. U myszy tych, podczas inicjacji angiogenezy w wysepkach hiperplastycznych, MMP-2 i MMP-9 były podwyższone. Usunięcie genu MMP-9 wiązało się z brakiem inicjacji angiogenezy. Natomiast transplantacja szpiku kostnego typu dzikiego przywracała indukcję angiogenezy w wysepkach trzustkowych organizmu z brakiem MMP-9. Dowodzi to istotnej roli MMP-9 w uruchamianiu włącznika naczyniotwórczego oraz sugeruje, że MMP-9 pochodzi z komórek krwi powstających w szpiku kostnym. W przypadku MMP-2 nie udało się jednoznacznie ustalić jej wpływu na włącznik naczyniotwórczy. Większość badań sugeruje, że MMP-2 nie bierze udziału w inicjacji angiogenezy [45,57,139], niektóre jednak sugerują, że jest ona zaangażowana w ten proces [45,96].

Podczas degradacji okołonaczyniowej ECM i BM uwalniany jest VEGF. W uwolnienie VEGF z ECM zaangażowane są MMP, takie jak MMP-9 [43,45], MMP-2 i MT1-MMP [45] oraz MMP-3, -7 i -19 [45,118]. Rozpuszczalne i związane z ECM VEGF wydają się stosować różne wzory

nowotworowej neowaskularyzacji: rozrost naczyń (rozpuszczalny VEGF) lub kielkowanie i rozgałęzianie naczyń (VEGF związany z ECM). Dwie postaci są zaangażowane w różne szlaki sygnalizacyjne, chociaż obie wiążą się do tego samego receptora powierzchni komórkowej. MT1-MMP może także regulować biodostępność VEGF na poziomie transkrypcji. MT1-MMP tworzy kompleks z VEGFR-2, co powoduje aktywację szlaków Akt i mTOR [53,194] lub ERK1/2 [194,203]. Innym czynnikiem naczyniotwórczym uwalnianym przez MMP jest bFGF. Uwolnienie bFGF odbywa się przez trawienie proteoglikanu, siarczanu heparanu przez MMP-2, MMP-9 i MT1-MMP [7,45,184,204,241]. Czynnikiem ten występuje w dwóch izoformach. Pierwsza – 18 kDa bFGF zwiększa proliferację i ruchliwość EC wiążąc się ze swoim receptorem na ich powierzchni. Druga – 22–24 kDa bFGF, po translokacji do jądra komórkowego, wpływa na proliferację komórek śródbłonna poprzez pobudzenie transkrypcji rDNA [111,243]. Trombospondyna 1 pobudza przyleganie między komórkami EC i blokuje ich odpowiedź na bFGF. Troponina I swoiście hamuje wpływ bFGF na EC. Niski poziom FGF jest niezbędny do utrzymania spójności naczyń [29,147]. W badaniach nad rakiem stercza zaobserwowano, że MT1-MMP uwalnia z powierzchni komórek nowotworowych receptorowy aktywator liganda NF- κ B (RANKL) [182,193]. Prowadzi to do stymulacji migracji komórek. MMP-1 degraduje receptor aktywowany proteazą (PAR1), który w dużych ilościach znajduje się na powierzchni EC. Aktywacja PAR1 prowadzi do aktywacji szlaku MAPK i ostatecznie skutkuje przekształceniem EC ze stanu spoczynkowego do stanu wzbudzonego [45,73]. Za to MMP-9 uwalnia ligand sKit, który pełni ważną rolę we wroście guza i angiogenezie [45,87]. MT1-MMP uwalnia związaną z błoną komórkową semaforynę 4D, która odpowiada za indukcję rozwoju naczyń [15,45]. MMP, oprócz swojej pronaczyniotwórczej aktywności, mogą generować czynniki antynaczyniotwórcze. Kilka MMP, w tym MMP-2, -7, -9, -12, jest zdolnych do trawienia plazminogenu i uwalniania angiostatyny [45,160]. Angiostatyna zwiększa apoptozę komórek nowotworowych [110]. Endostatyna jest tworzona przez MMP-3, -7, -9, -12, -13 i -20 [45,60], chociaż czynnik ten jest wytwarzany głównie przez elastazę i katepsynę. Endostatyna tworzy stabilne kompleksy z pro-MMP-9 i -13 i blokuje ich aktywację [157]. Hamuje także proliferację EC, ich migrację i tworzenie naczyń włosowatych, częściowo poprzez wiązanie się do integryny α 5 β 1 i blokowanie fosforylacji FAK [45,222]. Tumstatyna jest tworzona przez MMP-9, hamuje proliferację EC przez wiązanie się do integryny α v β 3 [45,82]. Funkcjonalny receptor uPA (uPAR) jest decydujący w tworzeniu przez EC rurkowatych struktur. uPAR może być substratem dla MMP-12. MT1-MMP, poprzez uwalnianie endogliny z powierzchni komórek, hamuje angiogenezę w warunkach *in vitro* [86,193]. Rozpuszczalna endoglina wiąże się z TGF- β i blokuje dalsze przekazywanie sygnałów w EC. Interleukiny (IL-10, -12, -18) zmniejszają syntezę VEGF, TNF- α i MMP-9. IL-10 stymuluje również TIMP-1.

Działanie MMP powoduje także odstawianie wielu ukrytych epitopów białek ECM. MMP-9 trawi kolagen typu IV, odstawiając epitop HUIV26, który wiąże się do integryny α v β 3 z EC, regulując rozwój naczyń krwionośnych [45,84,231]. Innym epitopem jest HU177, obecny w kolagenu typu I i IV [45,84], jego usunięcie z naczyń nowotworu

skutkuje ekspresją inhibitora cyklu komórkowego, inhibitora kinazy cyklicznej p27^{kip1} w EC [41,193]. Także proteoliza lamininy przez niektóre MMP powoduje odkrycie nowych epitopów, jednak ich fizjologiczne działanie pozostaje niewyjaśnione [45,186].

Czynnikami, które mają właściwości pronaczyniotwórcze są: interleukiny (IL-8, IL-1 i IL-6), angiogenina i TNF- α . Interleukiny stymulują chemotaksję, proliferację i migrację EC. Angiogenina natomiast pobudza enzymy proteolityczne, a TNF- α prawdopodobnie nasila migrację i różnicowanie EC. Znalezione też wiele czynników o hamującym działaniu na angiogenezę. Antynaczyniotwórcze interferony, IFN- γ i IFN- β tłumią transkrypcję MMP-9 indukowaną przez pronaczyniotwórcze czynniki. Endorepelin, fragment C-końcowej domeny perlekanu [75,193], hamuje angiogenezę poprzez oddziaływanie z $\alpha 1\beta 1$. Czynnikiem płytkowy 4, to cytokina, wytwarzana przez płytki krwi, która blokuje wiązanie naczyniotwórczych czynników wzrostu z proteoglikanami w BM. Do czynników wpływających na angiogenezę należą także chemokiny CXC. W chemokinach tych trzy ostatnie aminokwasy na N-końcu łańcucha polipeptydowego to dwie cysteiny przedzielone innym aminokwasem (C-X-C). Jeżeli chemokiny te mają w końcowym fragmencie łańcucha sekwencję Glu-Leu-Arg, która nazywa się motywem ELR, to wykazują działanie pronaczyniotwórcze. Natomiast chemokiny pozbawione tego motywu działają antynaczyniotwórczo.

Informacje te sugerują, że główne role w procesie angiogenezy pełnią MMP-2, MMP-9 i MT1-MMP. Inne MMP mogą odgrywać rolę pomocniczą przez uzupełnianie aktywności głównych MMP. Jednakże w badaniach z wykorzystaniem myszy z knockoutem któregoś z genów MMP, często nie obserwowano żadnych negatywnych następstw na rozwój sieci naczyń krwionośnych. Spowodowane to może być powszechnością angiogenezy, która może występować w warunkach fizjologicznych właściwie w każdej tkance w organizmie. EC tworzące nowe naczynia napotykają wiele różnych składników ECM, potrzebują więc wielu różnych MMP, by je zdegradować. Tak więc w organizmie występuje naturalny nadmiar degradacji i przy braku jednych enzymów ich rolę mogą pełnić inne [124].

Migracja komórek śródbłonna oraz dojrzewanie naczyń

Wraz z degradacją ECM tworzy się tymczasowa macierz złożona z witronektyny, fibryny i fibronektyny, stanowiąca matrycę, na której zasiedlają się EC. Stymulatory angiogenezy, takie jak VEGF, mogą zwiększyć przepuszczalność naczyń, powodując wyciek białek osocza, takich jak fibrynogen, do okołonaczyniowego środowiska. Fibrynogen jest następnie trawiony przez trombinę i tworzy nierozpuszczalne białko ECM, fibrynę [224]. Integryny wiążąc się z ECM chronią komórki przed apoptozą, a przez przyłączenie się do różnych czynników, dostarczają komórkom wielu sygnałów, np. wiązanie się z czynnikami wzrostu (takimi jak VEGF, FGF, angiopoetyna – Ang-1) lub z ich receptorami (VEGFR-2 i FGFR) stymuluje wzrost naczyń [29]. Integryny przyczyniają się także do zwiększenia ekspresji i aktywacji pro-MMP oraz wspierają dojrzewanie naczyń przez regulowanie oddziaływań między EC, PC, a ECM. Dwie główne integryny, które biorą

udział w angiogenezie to $\alpha v\beta 3$ oraz $\alpha v\beta 5$. $\alpha v\beta 3$ jest ekspresjonowany podczas angiogenezy, ale nie w niestymulowanych EC. Za pośrednictwem integryn $\alpha v\beta 3$ dochodzi do przylegania komórek do fibrynowemu, lamininy, kolagenu, witronektyny lub czynnika Willebranda [196,243]. Ustalono, że bFGF i TNF- α indukują angiogenezę zależną od integryny $\alpha v\beta 3$, a VEGF i TGF- β zapoczątkowują angiogenezę zależną od $\alpha v\beta 5$ [33,235]. MT1-MMP przeprowadza proteolityczne dojrzewanie podjednostki αv , integryny $\alpha v\beta 3$ [45].

Wspólnemu przemieszczaniu się EC pod wpływem sygnałów naczyniotwórczych zapobiega wyselekcjonowanie komórek szczytowych, które nadają kierunek powstającemu naczyniu. Komórki z sąsiedztwa komórek szczytowych przyjmują dodatkowe pozycje jako komórki łożogowe, które dzielą się wydłużając powstające naczynie. Komórki szczytowe zostają aktywowane przez VEGF-C, ligand receptorów VEGFR-2 i VEGFR-3 [29,210]. W odpowiedzi na związanie VEGF do receptora VEGFR-2, w tych komórkach zwiększona zostaje ekspresja DLL4 [29,167]. W komórkach łożogi DLL4 aktywuje szlak NOTCH, który prowadzi do tłumienia VEGFR-2, stymuluje natomiast VEGFR-1, co sprawia, że komórki te stają się mniej podatne na VEGF, ale bardziej wrażliwe na płytkowy czynnik wzrostu (PDGF). EC ciągle konkurują o pozycje komórek szczytowych przez precyzyjne dostrajanie ekspresji VEGFR-2 i VEGFR-1 [29,100]. Ponadto komórki szczytowe zawierają filopodia, by odbierać środowiskowe sygnały orientacji, takie jak efryny i semaforyny, natomiast komórki łożogowe uwalniają cząsteczki, takie jak EGFL7, by przekazać informację o swojej pozycji sąsiadom [29]. Ostatnim etapem angiogenezy jest dojrzewanie nowo powstałych naczyń. W procesie dojrzewania naczyń konieczne jest wytworzenie oddziaływań EC z ECM i komórkami mezenchymy. Migrujące i proliferujące EC, po utworzeniu rurkowatych struktur, muszą zostać pokryte warstwą BM i perycytów. Prawidłowe przyłączenie perycytów do naczyń krwionośnych ogranicza powstawanie przerzutów nowotworowych [193,230]. Czynniki, które wspierają ten proces są m.in. PDGF, angiopoetyny i TGF- β [29,99]. EC i komórki nowotworowe uwalniają PDGF- β , by przyciągać perycyty [29,67,88]. Perycyty mogą także powstawać z okołonaczyniowych progenitorów perycytów PDGFR- β^+ , werbowanych ze szpiku kostnego [29,191]. Niezbędne do połączenia EC z otaczającymi je komórkami mezenchymalnymi są receptory kinazy tyrozynowej Tie-1 i Tie-2. Receptor Tie-1 uczestniczy w różnicowaniu EC i utrzymaniu integralności naczynia krwionośnego, natomiast receptor Tie-2 jest ważny w tworzeniu sieci naczyń [181,243]. MT1-MMP indukuje uwolnienie Tie-2 z EC [105]. Aktywność MT1-MMP prowadzi do spadku poziomu Tie-2 w śródbłonnku, wywołując destabilizację naczyń i następującą po niej migrację EC. Angiopoetyny 1 i 2 wiążą się z receptorem Tie-2 i mogą pobudzać lub hamować EC. Ang-1 przyczynia się do dojrzewania sieci naczyń przez stabilizowanie oddziaływań między EC i otaczającym je ECM, a mezenchymą werbującą PC/SMC i stabilizującą naczynia krwionośne [199]. Natomiast Ang-2 zwiększa wrażliwość EC na czynniki angiogenne oraz powoduje destabilizację naczynia przez odłączenie się komórek mięśni gładkich i perycytów [133,243]. Ang-2, w przeciwieństwie do Ang-1 wiążąc się z Tie-2 nie powoduje fosforylacji tego receptora, a zatem działa jak jego antagonist. To

wiązanie powoduje rozluźnienie ściany naczyń krwionośnych, zmniejsza kontakty między EC a ECM i PC/SMC. To czyni EC bardziej dostępnymi i podatnymi na bodźce naczyniotwórcze. Jednak jeżeli Ang-2 jest obecna bez dalszych bodźców naczyniotwórczych, destabilizowane naczynia cofają się [83]. Ang-2 jest ekspresjonowane tylko podczas przebudowy naczyń. Całkowity wpływ systemu Ang-Tie na nowotwory jest zależny od kontekstu. Ang-1 oprócz przyczyniania się do dojrzewania naczyń wspiera przeżycie EC stymulując wzrost nowotworu. Jednak hamuje wynaczynianie komórek nowotworowych i utrzymuje spójność zdrowych naczyń poza obszarem guzów. Ang-2 natomiast stymuluje angiogenezę nowotworową i werbuje pronaczyniotwórcze, ekspresjonujące Tie-2, monocyty (TEM), a inhibicja Ang-2 wspiera cofanie się naczyń. Inhibitory proteaz (TIMP) i inhibitor aktywatora plazminogenu 1 (PAI-1) stwarzają warunki do tworzenia się błony podstawnej. PC wytwarzają duże ilości TIMP-2 i TIMP-3 hamując w ten sposób zdolność EC do przebudowy ECM.

Z wielu badań wynika, że neowaskularyzacja nowotworowa zależy także od komórek progenitorowych, głównie pochodzenia szpikowego, mobilizowanych z układu krążenia przez cytokiny i czynniki wzrostu [9,45]. Mobilizacja tych komórek progenitorowych zachodzi w sposób zależny od MMP-9, z udziałem złożonego systemu chemokin [45,127,163]. Same komórki szpikowe także wytwarzają MMP. Wydzielanie MMP-2 i -9 przez komórki progenitorowe śródbłonna (EPC) i OEC (outgrowth endothelial cells) jest decydujące dla dojrzewania i naprawy naczyń podczas niedokrwienia [172,190,193,215].

PIŚMIENICTWO

- [1] Aimes R.T., Quigley J.P.: Matrix metalloproteinase-2 is an interstitial collagenase. Inhibitor-free enzyme catalyzes the cleavage of collagen fibrils and soluble native type I collagen generating the specific 3/4- and 1/4-length fragments. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 5872–5876
- [2] Allan J.A., Docherty A.J., Barker P.J., Huskisson N.S., Reynolds J.J., Murphy G.: Binding of gelatinases A and B to type-I collagen and other matrix components. *Biochem. J.*, 1995; 309: 299–306
- [3] Allington T.M., Gallher-Beckley A.J., Schiemann W.P.: Activated Abl kinase inhibits oncogenic transforming growth factor- β signaling and tumorigenesis in mammary tumors. *FASEB J.*, 2009; 23: 4231–4243
- [4] Altomare D.A., Testa J.R.: Perturbations of the AKT signaling pathway in human cancer. *Oncogene*, 2005; 24: 7455–7464
- [5] Angel P., Karin M.: The role of Jun, Fos and the AP-1 complex in cell-proliferation and transformation. *Biochem. Biophys. Acta*, 1991; 1072: 129–157
- [6] Apte S.S., Mattei M.G., Olsen B.R.: Cloning of the cDNA encoding human tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP-3) and mapping of the TIMP3 gene to chromosome 22. *Genomics*, 1994; 19: 86–90
- [7] Ardi V.C., Van den Steen P.E., Opendakker G., Schweighofer B., Deryugina E.I., Quigley J.P.: Neutrophil MMP-9 proenzyme, unencumbered by TIMP-1, undergoes efficient activation *in vivo* and catalytically induces angiogenesis via a basic fibroblast growth factor (FGF-2)/FGFR-2 pathway. *J. Biol. Chem.*, 2009; 284: 25854–25866
- [8] Artym V.V., Zhang Y., Seillier-Moisewitsch F., Yamada K.M., Mueller S.C.: Dynamic interactions of cortactin and membrane type 1 matrix metalloproteinase at invadopodia: defining the stages of invadopodia formation and function. *Cancer Res.*, 2006; 66: 3034–3043
- [9] Asahara T., Takahashi T., Masuda H., Kalka C., Chen D., Iwaguro H., Inai Y., Silver M., Isner J.M.: VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *EMBO J.*, 1999; 18: 3964–3972
- [10] Ayala I., Baldassarre M., Giacchetti G., Calderi G., Tete S., Luini A., Buccione R.: Multiple regulatory inputs converge on cortactin to control invadopodia biogenesis and extracellular matrix degradation. *J. Cell Sci.*, 2008; 121: 369–378
- [11] Baciuc P.C., Suleiman E.A., Deryugina E.I., Strongin A.Y.: Membrane type-1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) processing of pro- α v integrin regulates cross-talk between α v β 3 and α 2 β 1 integrins in breast carcinoma cells. *Exp. Cell Res.*, 2003; 291: 167–175
- [12] Baker S.E., Hopkinson S.B., Fitchum M., Andreason G.L., Frasier F., Plopper G., Quaranta V., Jones J.C.: Laminin-5 and hemidesmosomes: role of the α 3 chain subunit in hemidesmosome stability and assembly. *J. Cell Sci.*, 1996; 109: 2509–2520
- [13] Baluk P., Hashizume H., McDonald D.M.: Cellular abnormalities of blood vessels as targets in cancer. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2005; 15: 102–111
- [14] Basbaum C.B., Werb Z.: Focalized proteolysis: spatial and temporal regulation of extracellular matrix degradation at the cell surface. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1996; 8: 731–738
- [15] Basile J.R., Holmbeck K., Bugge T.H., Gutkind J.S.: MT1-MMP controls tumor-induced angiogenesis through the release of semaphorin 4D. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 6899–6905
- [16] Basson C.T., Knowles W.J., Bell L., Albelda S.M., Castronovo V., Liotta L.A., Madri J.A.: Spatiotemporal segregation of endothelial cell integrin and nonintegrin extracellular matrix-binding proteins during adhesion events. *J. Cell Biol.*, 1990; 110: 789–801
- [17] Bavik C., Coleman I., Dean J.P., Knudsen B., Plymate S., Nelson P.S.: The gene expression program of prostate fibroblast senescence modulates neoplastic epithelial cell proliferation through paracrine mechanisms. *Cancer Res.*, 2006; 66: 794–802
- [18] Behrens J., von Kries J.P., Kuhl M., Bruhn L., Wedlich D., Grosschedl R., Birchmeier W.: Functional interaction of β -catenin with the transcription factor LEF-1. *Nature*, 1996; 382: 638–642
- [19] Bergers G., Benjamin L.E.: Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat. Rev. Cancer*, 2003; 3: 401–410
- [20] Bigg H.F., Shi Y.E., Liu Y.E., Steffensen B., Overall C.M.: Specific, high affinity binding of tissue inhibitor of metalloproteinases-4 (TIMP-4) to the COOH-terminal hemopexin-like domain of human gelatinase A. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 15496–15500

PODSUMOWANIE

MMP odgrywają główną rolę właściwie we wszystkich najważniejszych etapach rozwoju nowotworu: inwazyjności i migracji komórek nowotworowych, ucieczce przed apoptozą i nadzorem układu odpornościowego, powstawaniu przerzutów i w rozwoju naczyń krwionośnych. Ich aktywność polega głównie na degradacji ECM oraz uwalnianiu wielu czynników wpływających na zachowanie komórek. MMP przeważnie wspierają rozwój guza, jednak zahamowanie tych enzymów może prowadzić do przyspieszenia procesu nowotworzenia. Może to być spowodowane nieswoistością używanych inhibitorów, które hamują aktywność wielu MMP, w tym tych niekoniecznie sprzyjających rozwojowi guza. W celu skuteczniejszego działania przeciwnowotworowego należałoby opracować inhibitory swoiste tylko wobec tych członków MMP, który wykazuje właściwości pronowotworowe. Wpływ MMP zmienia się w zależności od rodzaju nowotworu, czy stadium rozwoju guza. Wydaje się, że największą rolę odgrywają one w początkowych stadiach rozwoju nowotworu, w których tłumienie ich aktywności mogłoby doprowadzić do zahamowania wzrostu guza i jego degradacji. Natomiast dla w pełni uformowanego i unaczynionego guza aktywność MMP nie jest decydująca dla przeżycia. Tłumaczyć to może brak dobrych wyników terapii z użyciem inhibitorów MMP, której zostali poddani pacjenci w zaawansowanych stadiach rozwoju nowotworu. Istotne jest także powstrzymanie MMP biorących udział w powstawaniu przerzutów, które są najczęstszą przyczyną śmierci pacjentów z chorobą nowotworową.

- [21] Blaine S.A., Ray K.C., Branch K.M., Robinson P.S., Whitehead R.H., Means A.L.: Epidermal growth factor receptor regulates pancreatic fibrosis. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2009; 297: 434–441
- [22] Blavier L., Lazaryev A., Shi X., DeClerck Y., Dorey F.J., Shackelford G.M.: Stromelysin-1 (MMP-3) is a target and a regulator of Wnt1-induced epithelial-mesenchymal transition (EMT). *Cancer Biol. Ther.*, 2010; 10: 198–208
- [23] Boone T.C., Johnson M.J., De Clerck Y.A., Langley K.E.: cDNA cloning and expression of a metalloproteinase inhibitor related to tissue inhibitor of metalloproteinases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990; 87: 2800–2804
- [24] Bourboulia D., Stetler-Stevenson W.G.: Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): positive and negative regulators in tumor cell adhesion. *Semin. Cancer Biol.*, 2010; 20: 161–168
- [25] Bowden E.T., Barth M., Thomas D., Glazer R.I., Mueller S.C.: An invasion-related complex of cortactin, paxillin and PKC ζ associates with invadopodia at sites of extracellular matrix degradation. *Oncogene*, 1999; 18: 4440–4449
- [26] Brassart B., Randoux A., Hornebeck W., Emonard H.: Regulation of matrix metalloproteinase-2 (gelatinase A, MMP-2), membrane-type matrix metalloproteinase-1 (MT1-MMP) and tissue inhibitor of metalloproteinases-2 (TIMP-2) expression by elastin-derived peptides in human HT-1080 fibrosarcoma cell line. *Clin. Exp. Metastasis*, 1998; 16: 489–500
- [27] Brooks P.C., Strömblad S., Sanders L.C., von Schalscha T.L., Aimes R.T., Stetler-Stevenson W.G., Quigley J.P., Cheres D.A.: Localization of matrix metalloproteinase MMP-2 to the surface of invasive cells by interaction with integrin α v β 3. *Cell*, 1996; 85: 683–693
- [28] Calvete J.J., Fox J.W., Agelan A., Niewiarowski S., Marcinkiewicz C.: The presence of the WGD motif in CC8 heterodimeric disintegrin increases its inhibitory effect on α Ib β 3, α v β 3, and α 5 β 1 integrins. *Biochemistry*, 2002; 41: 2014–2021
- [29] Carmeliet P., Jain R.K.: Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*, 2011; 473: 298–307
- [30] Cat B., Stuhlmann D., Steinbrenner H., Alili L., Holtkötter O., Sies H., Brenneisen P.: Enhancement of tumor invasion depends on trans-differentiation of skin fibroblasts mediated by reactive oxygen species. *J. Cell Sci.*, 2006; 119: 2727–2738
- [31] Cavaillon J.M.: Cytokines and macrophages. *Biomed. Pharmacother.*, 1994; 48: 445–453
- [32] Cavallaro U., Christofori G.: Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2004; 4: 118–132
- [33] Chakraborti S., Mandal M., Das S., Mandal A., Chakraborti T.: Regulation of matrix metalloproteinases: an overview. *Mol. Cell Biochem.*, 2003; 253: 269–285
- [34] Chen R.H., Su Y.H., Chuang R.L., Chang T.Y.: Suppression of transforming growth factor- β -induced apoptosis through a phosphatidylinositol 3-kinase/Akt-dependent pathway. *Oncogene*, 1998; 17: 1959–1968
- [35] Chiang A.C., Massague J.: Molecular basis of metastasis. *N. Engl. J. Med.*, 2008; 359: 2814–2823
- [36] Clark I.M., Swingle T.E., Sampieri C.L., Edwards D.R.: The regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2008; 40: 1362–1378
- [37] Coffelt S.B., Hughes R., Lewis C.E.: Tumor-associated macrophages: effectors of angiogenesis and tumor progression. *Biochim. Biophys. Acta*, 2009; 1796: 11–18
- [38] Conery A.R., Cao Y., Thompson E.A., Townsend C.M.Jr., Ko T.C., Luo K.: Akt interacts directly with Smad3 to regulate the sensitivity to TGF- β induced apoptosis. *Nat. Cell Biol.*, 2004; 6: 366–372
- [39] Conway E.M., Collen D., Carmeliet P.: Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc. Res.*, 2001; 49: 507–521
- [40] Crawford H.C., Fingleton B.M., Rudolph-Owen L.A., Goss K.J., Rubinfeld B., Polakis P., Matrisian L.M.: The metalloproteinase matrilysin is a target of β -catenin transactivation in intestinal tumors. *Oncogene*, 1999; 18: 2883–2891
- [41] Cretu A., Roth J.M., Caunt M., Akalu A., Policarpio D., Formenti S., Gagne P., Liebes L., Brooks P.C.: Disruption of endothelial cell interactions with the novel HU177 cryptic collagen epitope inhibits angiogenesis. *Clin. Cancer Res.*, 2007; 13: 3068–3078
- [42] Cuvier C., Jang A., Hill R.P.: Exposure to hypoxia, glucose starvation and acidosis: effect on invasive capacity of murine tumor cells and correlation with cathepsin (L+B) secretion. *Clin. Exp. Metastasis*, 1997; 15: 19–25
- [43] Dean R.A., Butler G.S., Hamma-Kourbali H., Delbe J., Brigstock D.R., Courty J., Overall C.M.: Identification of candidate angiogenic inhibitors processed by matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) in cell-based proteomic screens: disruption of vascular endothelial growth factor (VEGF)/heparin affinity regulatory peptide (pleiotrophin) and VEGF/Connective tissue growth factor angiogenic inhibitory complexes by MMP-2 proteolysis. *Mol. Cell Biol.*, 2007; 27: 8454–8465
- [44] DeClerck D.A.: Interactions between tumour cells and stromal cells and proteolytic modification of the extracellular matrix by metalloproteinases in cancer. *Eur. J. Cancer*, 2000; 36: 1258–1268
- [45] Deryugina E.L., Quigley J.P.: Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: contrasting, overlapping and compensatory functions. *Biochim. Biophys. Acta*, 2010; 1803: 103–120
- [46] Docherty A.J., Lyons A., Smith B.J., Wright E.M., Stephens P.E., Harris T.J., Murphy G., Reynolds J.J.: Sequence of human tissue inhibitor of metalloproteinases and its identity to erythroid-potentiating activity. *Nature*, 1985; 318: 66–69
- [47] Dong Z., Kumar R., Yang X., Fidler I.J.: Macrophage-derived metalloelastase is responsible for the generation of angiostatin in Lewis lung carcinoma. *Cell*, 1997; 88: 801–810
- [48] Douglas D.A., Shi Y.E., Sang Q.A.: Computational sequence analysis of the tissue inhibitor of metalloproteinase family. *J. Protein Chem.*, 1997; 276: 8403–8408
- [49] Dumin J.A., Dickeson S.K., Striker T.P., Bhattacharyya-Pakrasi M., Roby J.D., Santoro S.A., Parks W.C.: Pro-collagenase 1 (matrix metalloproteinase-1) binds to the α 2 β 1 integrin upon release from keratinocytes migrating on type I collagen. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 29368–29374
- [50] Dupont J., Pierre A., Froment P., Moreau C.: The insulin-like growth factor axis in cell cycle progression. *Horm. Metab. Res.*, 2003; 35: 740–750
- [51] Egeblad M., Werb Z.: New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat. Rev. Cancer*, 2002; 2: 161–174
- [52] Eguchi S., Dempsey P.J., Frank G.D., Motley E.D., Inagami T.: Activation of MAPKs by angiotensin II in vascular smooth muscle cells. Metalloprotease-dependent EGF receptor activation is required for activation of ERK and p38 MAPK but not for JNK. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 7957–7962
- [53] Eisenach P.A., Roghi C., Fogarasi M., Murphy G., English W.R.: MT1-MMP regulates VEGF-A expression through a complex with VEGFR-2 and Src. *J. Cell Sci.*, 2010; 123: 4182–4193
- [54] Elliott R.L., Blobel G.C.: Role of transforming growth factor β in human cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2005; 23: 2078–2093
- [55] Enestein J., Kramer R.H.: Confocal microscopic analysis of integrin expression on the microvasculature and its sprouts in the neonatal foreskin. *J. Invest. Dermatol.*, 1994; 103: 381–386
- [56] Eswarakumar V.P., Lax L., Schlessinger J.: Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2005; 16: 139–149
- [57] Fang J., Shing Y., Wiederschain D., Yan L., Butterfield C., Jackson G., Harper J., Tamvakopoulos G., Moses M.A.: Matrix metalloproteinase-2 is required for the switch to the angiogenic phenotype in a tumor model. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 97: 3884–3889
- [58] Fang K.C., Wolters P.J., Steinhoff M., Bidgol A., Blount J.L., Caughey G.H.: Mast cell expression of gelatinases A and B is regulated by kit ligand and TGF- β . *J. Immunol.*, 1999; 162: 5528–5535
- [59] Ferrara N.: VEGF-A: a critical regulator of blood vessel growth. *Eur. Cytokine Netw.*, 2009; 20: 158–163
- [60] Ferreras M., Felbor U., Lenhard T., Olsen B.R., Delaisse J.: Generation and degradation of human endostatin proteins by various proteinases. *FEBS Lett.*, 2000; 486: 247–251
- [61] Fischer C., Mazzone M., Jonckx B., Carmeliet P.: FLT1 and its ligands VEGFB and PlGF: drug targets for anti-angiogenic therapy? *Nature Rev. Cancer*, 2008; 8: 942–956
- [62] Foda H.D., Zucker S.: Matrix metalloproteinases in cancer invasion, metastasis and angiogenesis. *Drug Discov. Today*, 2001; 6: 478–482
- [63] Folkman J.: Tumor angiogenesis. *Adv. Cancer Res.*, 1974; 19: 331–358
- [64] Forsythe J.A., Jiang B., Iyer N.V., Agani F., Leung S.W., Koos R.D., Semenza G.L.: Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol. Cell Biol.*, 1996; 16: 4604–4613
- [65] Fowlkes J.L., Enghild J.J., Suzuki K., Nagase H.: Matrix metalloproteinases degrade insulin-like growth factor-binding protein-3 in dermal fibroblast cultures. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 25742–25746

- [66] Friedl P, Gilmour D.: Collective cell migration in morphogenesis, regeneration and cancer. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2009; 10: 445–457
- [67] Gaengel K., Genove G., Armulik A., Betsholtz C.: Endothelial-mural cell signaling in vascular development and angiogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2009; 29: 630–638
- [68] Gialeli C., Theocharis A.D., Karamanos N.K.: Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. *FEBS J.*, 2011; 278: 16–27
- [69] Giampieri S., Pinner S., Sahai E.: Intravital imaging illuminates transforming growth factor β signaling switches during metastasis. *Cancer Res.*, 2010; 70: 3435–3439
- [70] Giancotti F.G., Tarone G.: Positional control of cell fate through joint integrin/receptor protein kinase signaling. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2003; 19: 173–206
- [71] Giannelli G., Fransvea E., Marinosci F., Bergamini C., Colucci S., Schiraldi O., Antonaci S.: Transforming growth factor- β 1 triggers hepatocellular carcinoma invasiveness via α 3 β 1 integrin. *Am. J. Pathol.*, 2002; 161: 183–193
- [72] Gilles C., Polette M., Coraux C., Tournier J.M., Meneguzzi G., Munaut C., Volders L., Rousselle P., Birembaut P., Foidart J.M.: Contribution of MT1-MMP and a human laminin-5 γ 2 chain degradation to mammary epithelial cell migration. *J. Cell Sci.*, 2001; 114: 2967–2976
- [73] Goerge T., Barg A., Schnaeker E.M., Poppelmann B., Shpacovitch V., Rattenholl A., Maaser C., Luger T.A., Steinhoff M., Schneider S.W.: Tumor-derived matrix metalloproteinase-1 targets endothelial proteinase-activated receptor 1 promoting endothelial cell activation. *Cancer Res.*, 2006; 66: 7766–7774
- [74] Gohlke U., Gomis Ruth F.X., Crabbe T., Murphy G., Docherty A.J., Bode W.: The C-terminal (haemopexin-like) domain structure of human gelatinase A (MMP2): structural implications for its function. *FEBS Lett.*, 1996; 378: 126–130
- [75] Gonzalez E.M., Reed C.C., Bix G., Fu J., Zhang Y., Gopalakrishnan B., Greenspan D.S., Iozzo R.V.: BMP-1/tolloid-like metalloproteases process endorepellin, the angiostatic C-terminal fragment of perlecan. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 7080–7087
- [76] Gorelik L., Flavell R.A.: Immune-mediated eradication of tumors through the blockade of transforming growth factor- β signaling in T cells. *Nat. Med.*, 2001; 7: 1118–1122
- [77] Gould R.J., Polokoff M.A., Friedman P.A., Huang T.F., Holt J.C., Cook J.J., Niewiarowski S.: Disintegrins: a family of integrin inhibitory proteins from viper venoms. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1990; 195: 168–171
- [78] Grant D.S., Tashiro K., Segui-Real B., Yamada Y., Martin G.R., Kleinman H.K.: Two different laminin domains mediate the differentiation of human endothelial cells into capillary-like structures *in vitro*. *Cell*, 1989; 58: 933–943
- [79] Greene J., Wang M., Liu Y.E., Raymond L.A., Rosen C., Shi Y.E.: Molecular cloning and characterization of human tissue inhibitor of metalloproteinase 4. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 30375–30380
- [80] Groblewska M., Mroczko B., Szmietkowski M.: Rola wybranych metalloproteinaz i ich inhibitorów w rozwoju raka jelita grubego. *Postepy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 22–30
- [81] Gruber B.L., Marchese M.J., Suzuki K., Schwartz L.B., Okada Y., Nagase H., Ramamurthy N.S.: Synovial procollagenase activation by human mast cell tryptase dependence upon matrix metalloproteinase 3 activation. *J. Clin. Invest.*, 1999; 84: 1657–1662
- [82] Hamano Y., Kalluri R.: Tumstatin, the NC1 domain of α 3 chain of type IV collagen, is an endogenous inhibitor of pathological angiogenesis and suppresses tumor growth. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005; 333: 292–298
- [83] Hanahan D.: Signaling vascular morphogenesis and maintenance. *Science*, 1997; 277: 48–50
- [84] Hangai M., Kitaya N., Xu J., Chan C.K., Kim J.J., Werb Z., Ryan S.J., Brooks P.C.: Matrix metalloproteinase-9-dependent exposure of a cryptic migratory control site in collagen is required before retinal angiogenesis. *Am. J. Pathol.*, 2002; 161: 1429–1437
- [85] Harrell P.C., McCawley L.J., Fingleton B., McIntyre J.O., Matrisian L.M.: Proliferative effects of apical, but not basal, matrix metalloproteinase-7 activity in polarized MDCK cells. *Exp. Cell Res.*, 2005; 303: 308–320
- [86] Hawinkels L.J., Kuiper P., Wiercinska E., Verspaget H.W., Liu Z., Pardali E., Sier C.F., ten Dijke P.: Matrix metalloproteinase-14 (MT1-MMP)-mediated endoglin shedding inhibits tumor angiogenesis. *Cancer Res.*, 2010; 70: 4141–4150
- [87] Heissig B., Hattori K., Dias S., Friedrich M., Ferris B., Hackett N.R., Crystal R.G., Besmer P., Lyden D., Moore M.A., Werb Z., Rafii S.: Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell*, 2002; 109: 625–637
- [88] Hellberg C., Ostman A., Heldin C.H.: PDGF and vessel maturation. Recent results. *Cancer Res.*, 2010; 180: 103–114
- [89] Heppner K.J., Matrisian L.M., Jensen R.A., Rodgers W.H.: Expression of most matrix metalloproteinase family members in breast cancer represents a tumor-induced host response. *Am. J. Pathol.*, 1996; 149: 273–282
- [90] Hernandez-Barrantes S., Bernardo M., Toth M., Fridman R.: Regulation of membrane-type matrix metalloproteinases. *Semin. Cancer Biol.*, 2002; 12: 131–138
- [91] Hirschi K.K., D'Amore P.A.: Pericytes in the microvasculature. *Cardiovasc. Res.*, 1996; 32: 687–698
- [92] Holash J., Maisonpierre P.C., Compton D., Boland P., Alexander C.R., Zagzag D., Yancopoulos G.D., Wiegand S.J.: Vessel cooption, regression, and growth in tumors mediated by angiopoietins and VEGF. *Science*, 1999; 284: 1994–1998
- [93] Holash J., Wiegand S.J., Yancopoulos G.D.: New model of tumor angiogenesis: dynamic balance between vessel regression and growth mediated by angiopoietins and VEGF. *Oncogene*, 1999; 18: 5356–5362
- [94] Hornebeck W., Emonard H., Monboisse J.C., Bellon G.: Matrix-directed regulation of pericellular proteolysis and tumor progression. *Semin. Cancer Biol.*, 2002; 12: 231–241
- [95] Hua H., Li M., Luo T., Yin Y.: Matrix metalloproteinases in tumorigenesis: an evolving paradigm. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2011; 63: 3853–3868
- [96] Huang S., Van Arsdall M., Tedjarati S., McCarty M., Wu W., Langley R., Fidler I.J.: Contributions of stromal metalloproteinase-9 to angiogenesis and growth of human ovarian carcinoma in mice. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2002; 94: 1134–1142
- [97] Imai K., Hiramatsu A., Fukushima D., Pierschbacher M.D., Okada Y.: Degradation of decorin by matrix metalloproteinases: identification of the cleavage sites, kinetic analyses and transforming growth factor- β 1 release. *Biochem. J.*, 1997; 322: 809–814
- [98] Ishiyama N., Lee S.H., Liu S., Li G.Y., Smith M.J., Reichardt L.F., Ikura M.: Dynamic and static interactions between p120 catenin and E-cadherin regulate the stability of cell-cell adhesion. *Cell*, 2010; 141: 117–128
- [99] Jain R.K.: Molecular regulation of vessel maturation. *Nature Med.*, 2003; 9: 685–693
- [100] Jakobsson L., Franco C.A., Bentley K., Collins R.T., Ponsioen B., Aspalter I.M., Rosewell I., Busse M., Thurston G., Medvinsky A., Schulte-Merker S., Gerhardt H.: Endothelial cells dynamically compete for the tip cell position during angiogenic sprouting. *Nature Cell Biol.*, 2010; 12: 943–953
- [101] Janda E., Lehmann K., Killisch I., Jechlinger M., Herzig M., Downward J., Beug H., Grunert S.: Ras and TGF β cooperatively regulate epithelial cell plasticity and metastasis: dissection of Ras signaling pathways. *J. Cell Biol.*, 2002; 156: 299–313
- [102] Jiang A., Lehti K., Wang X., Weiss S.J., Keski-Oja J., Pei D.: Regulation of membrane-type matrix metalloproteinase 1 activity by dynamin-mediated endocytosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 13693–13698
- [103] Jung S., Rutka J.T., Hinek A.: Tropoelastin and elastin degradation products promote proliferation of human astrocytoma cell lines. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*, 1998; 57: 439–448
- [104] Kajita M., Itoh Y., Chiba T., Mori H., Okada A., Kinoh H., Seiki M.: Membrane-type 1 matrix metalloproteinase cleaves CD44 and promotes cell migration. *J. Cell Biol.*, 2001; 153: 893–904
- [105] Kaplan R.N., Rafii S., Lyden D.: Preparing the 'soil': the premetastatic niche. *Cancer Res.*, 2006; 66: 11089–11093
- [106] Kataoka H., Uchino H., Iwamura T., Seiki M., Nabeshima K., Kono M.: Enhanced tumor growth and invasiveness *in vivo* by a carboxyl-terminal fragment of α 1-proteinase inhibitor generated by matrix metalloproteinases: a possible modulatory role in natural killer cytotoxicity. *Am. J. Pathol.*, 1999; 154: 457–468
- [107] Kessenbrock K., Plaks V., Werb Z.: Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*, 2010; 141: 52–67
- [108] Kim E.S., Sohn Y.W., Moon A.: TGF- β -induced transcriptional activation of MMP-2 is mediated by activating transcription factor (ATF)2 in human breast epithelial cells. *Cancer Lett.*, 2007; 252: 147–156

- [109] Kim I.Y., Yong H.Y., Kang K.W., Moon A.: Overexpression of ErbB2 induces invasion of MCF10A human breast epithelial cells via MMP-9. *Cancer Lett.*, 2009; 275: 227–233
- [110] Kim Y.M., Jang J.W., Lee O.H., Yeon J., Choi E.Y., Kim K.W., Lee S.T., Kwon Y.G.: Endostatin inhibits endothelial and tumor cellular invasion by blocking the activation and catalytic activity of matrix metalloproteinase 2. *Cancer Res.*, 2000; 60: 5410–5413
- [111] Klein S., Roghani M., Rifkin D.B.: Fibroblast growth factors as angiogenesis factors: new insights into their mechanism of action. *EXS*, 1997; 79: 159–192
- [112] Kołaczowska E.: Metaloproteinaza 9 (MMP-9) jako szczególnie przedstawiciel metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej: rola w napływie i apoptozie neutrofilów w trakcie reakcji zapalnej. *Postępy Biol. Kom.*, 2010; 2: 471–499
- [113] Krzyżanowska-Gołąb D., Lemańska-Perek A., Kałtnik-Prastowska I.: Fibronektyna jako aktywny składnik macierzy pozakomórkowej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 655–663
- [114] Labrecque L., Nyalendo C., Langlois S., Durocher Y., Roghi C., Murphy G., Gingras D., Beliveau R.: Src-mediated tyrosine phosphorylation of caveolin-1 induces its association with membrane type 1 matrix metalloproteinase. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 52132–52140
- [115] LaFlamme S.E., Auer K.L.: Integrin signaling. *Semin. Cancer Biol.*, 1996; 7: 111–118
- [116] Lafleur M.A., Xu D., Hemler M.E.: Tetraspanin proteins regulate membrane type-1 matrix metalloproteinase-dependent pericellular proteolysis. *Mol. Biol. Cell*, 2009; 20: 2030–2040
- [117] Leco K.J., Waterhouse P., Sanchez O.H., Gowing K.L., Poole A.R., Wakeham A., Mak T.W., Khokha R.: Spontaneous air space enlargement in the lungs of mice lacking tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP-3). *J. Clin. Invest.*, 2001; 108: 817–829
- [118] Lee S., Jilani S.M., Nikolova G.V., Carpizo D., Iruela-Arispe M.L.: Processing of VEGF-A by matrix metalloproteinases regulates bioavailability and vascular patterning in tumors. *J. Cell Biol.*, 2005; 169: 681–691
- [119] Levi E., Fridman R., Miao H.Q., Ma Y.S., Yayon A., Vlodavsky I., Miao H.Q., Ma Y.S.: Matrix metalloproteinase 2 releases active soluble ectodomain of fibroblast growth factor receptor 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 7069–7074
- [120] Lichtenberger B.M., Tan P., Niederleithner H., Ferrara N., Petzelbauer P., Sibila M.: Autocrine VEGF signaling synergizes with EGFR in tumor cells to promote epithelial cancer development. *Cell*, 2010; 140: 268–279
- [121] Lipka D., Boratyński J.: Metaloproteinazy MMP. Struktura i funkcja. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 328–336
- [122] Liu D., Hornsby P.J.: Senescent human fibroblasts increase the early growth of xenograft tumors via matrix metalloproteinase secretion. *Cancer Res.*, 2007; 67: 3117–3126
- [123] Lochter A., Galosy S., Muschler J., Freedman N., Werb Z., Bissell M.: Matrix metalloproteinase stromelysin-1 triggers a cascade of molecular alterations that leads to stable epithelial-to-mesenchymal conversion and a premalignant phenotype in mammary epithelial cells. *J. Cell Biol.*, 1997; 139: 1861–1872
- [124] Lopez-Otin C., Overall C.M.: Protease degradomics: a new challenge for proteomics. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2002; 3: 509–519
- [125] Lu D., Scully M., Kakkar V., Lu X.: ADAM-15 disintegrin-like domain structure and function. *Toxins*, 2010; 2: 2411–2427
- [126] Luo J.L., Maeda S., Hsu L.C., Yagita H., Karin M.: Inhibition of NF- κ B in cancer cells converts inflammation-induced tumor growth mediated by TNF α to TRAIL-mediated tumor regression. *Cancer Cell*, 2004; 6: 297–305
- [127] Lyden D., Hattori K., Dias S., Costa C., Blaikie P., Butros L., Chadburn A., Heissig B., Marks W., Witte L., Wu Y., Hicklin D., Zhu Z., Hackett N.R., Crystal R.G., Moore M.A., Hajar K.A., Manova K., Benezra R., Rafii S.: Impaired recruitment of bone marrow-derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumor angiogenesis and growth. *Nat. Med.*, 2001; 7: 1194–1201
- [128] Lynch C.C., Matrisian L.M.: Matrix metalloproteinases in tumor-host cell communication. *Differentiation*, 2002; 70: 561–573
- [129] Łukaszewicz M., Mroczko B., Szmítkowski M.: Rola metaloproteinaz i ich inhibitorów w raku trzustki. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2003; 62: 141–147
- [130] Łukaszewicz-Zajęc M., Mroczko B., Szmítkowski M.: Znaczenie metaloproteinaz oraz ich inhibitorów w raku żołądka. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 258–265
- [131] Maeshima Y., Colorado P.C., Kalluri R.: Two RGD-independent α v β 3 integrin binding sites on tumstatin regulate distinct anti-tumor properties. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 23745–23750
- [132] Magzoub M., Jin S., Verkman A.S.: Enhanced macromolecule diffusion deep in tumors after enzymatic digestion of extracellular matrix collagen and its associated proteoglycan decorin. *FASEB J.*, 2008; 22: 276–284
- [133] Maisonpierre P.C., Suri C., Jones P.F., Bartunkova S., Wiegand S., Radziejewski C., Compton D., McClain J., Aldrich T.H., Papadopoulos N., Daly T.J., Davis S., Sato T.N., Yancopoulos G.D.: Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts *in vivo* angiogenesis. *Science*, 1997; 277: 55–60
- [134] Makrilia N., Kollias A., Manolopoulos L., Strygros K.: Cell adhesion molecules: role and clinical significance in cancer. *Cancer Invest.*, 2009; 27: 1023–1037
- [135] Manes S., Mira E., Barbacid M.M., Cipres A., Fernandez-Resa P., Buesa J.M., Merida I., Aracil M., Marquez G., Martinez A.C.: Identification of insulin-like growth factor-binding protein-1 as a potential physiological substrate for human stromelysin-3. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 25706–25712
- [136] Manicone A.M., McGuire J.K.: Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2008; 19: 34–41
- [137] Marchenko G.N., Ratnikov B.I., Rozanov D.V., Godzik A., Deryugina E.I., Strongin A.Y.: Characterization of matrix metalloproteinase-26, a novel metalloproteinase widely expressed in cancer cells of epithelial origin. *Biochem. J.*, 2001; 356: 705–718
- [138] Marneros A.G., Olsen B.R.: The role of collagen-derived proteolytic fragments in angiogenesis. *Matrix Biol.*, 2001; 20: 337–345
- [139] Masson V., de la Ballina L.R., Munaut C., Wielockx B., Jost M., Maillard C., Blacher S., Bajou K., Itoh T., Itoharu S., Werb Z., Libert C., Foidart J.M., Noël A.: Contribution of host MMP-2 and MMP-9 to promote tumor vascularization and invasion of malignant keratinocytes. *FASEB J.*, 2005; 18: 234
- [140] May C.D., Sphyrin N., Evans K.W., Werden S.J., Guo W., Mani S.A.: Epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cells: a dangerously dynamic duo in breast cancer progression. *Breast Cancer Res.*, 2011; 13: 202
- [141] McLane M.A., Sanchez E.E., Wong A., Paquette-Straub C., Perez J.C.: Disintegrins. *Curr. Drug Targets Cardiovasc. Haematol. Disord.*, 2004; 4: 327–355
- [142] McQuibban G.A., Gong J.H., Wong J.P., Wallace J.L., Clark-Lewis I., Overall C.M.: Matrix metalloproteinase processing of monocyte chemoattractant proteins generates CC chemokine receptor antagonists with anti-inflammatory properties *in vivo*. *Blood*, 2002; 100: 1160–1167
- [143] Miettinen P.J., Ebner R., Lopez A.R., Derynck R.: TGF- β induced transdifferentiation of mammary epithelial cells to mesenchymal cells: involvement of type I receptors. *J. Cell Biol.*, 1994; 127: 2021–2036
- [144] Mira E., Manes S., Lacalle R.A., Marquez G., Martinez A.C.: Insulin-like growth factor I-triggered cell migration and invasion are mediated by matrix metalloproteinase-9. *Endocrinology*, 1999; 140: 1657–1664
- [145] Mori K., Shibamura M., Nose K.: Invasive potential induced under long-term oxidative stress in mammary epithelial cells. *Cancer Res.*, 2004; 64: 7464–7472
- [146] Motrescu E.R., Rio M.C.: Cancer cells, adipocytes and matrix metalloproteinase 11: a vicious tumor progression cycle. *Biol. Chem.*, 2008; 389: 1037–1041
- [147] Murakami M., Nguyen L.T., Zhang Z.W., Moodie K.L., Carmeliet P., Stan R.V., Simons M.: The FGF system has a key role in regulating vascular integrity. *J. Clin. Invest.*, 2008; 118: 3355–3366
- [148] Murphy G., Knauper V.: Relating matrix metalloproteinase structure to function: why the “hemopexin” domain? *Matrix Biol.*, 1997; 15: 511–518
- [149] Nagase H.: Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol. Chem. Hoppe Seyler*, 1997; 378: 151–160
- [150] Nagy J.A., Dvorak A.M., Dvorak H.F.: VEGF-A and the induction of pathological angiogenesis. *Annu. Rev. Pathol.*, 2007; 2: 251–275
- [151] Nawrocki-Raby B., Gilles C., Polette M., Bruyneel E., Laronze J.Y., Bonnet N., Foidart J.M., Mareel M., Birembaut P.: Upregulation of MMPs by soluble E-cadherin in human lung tumor cells. *Int. J. Cancer*, 2003; 105: 790–795
- [152] Newby A.C.: Metalloproteinase expression in monocytes and macrophages and its relationship to atherosclerotic plaque instability. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2008; 28: 2108–2114

- [153] Niewiarowski S., McLane M.A., Kloczewiak M., Stewart G.J.: Disintegrins and other naturally occurring antagonists of platelet fibrinogen receptors. *Semin. Hematol.*, 1994; 31: 289–300
- [154] Nikai T., Taniguchi K., Komori Y., Masuda K., Fox J.W., Sugihara H.: Primary structure and functional characterization of bilitoxin-1, a novel dimeric P-II snake venom metalloproteinase from *Agkistrodon bilineatus* venom. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2000; 378: 6–15
- [155] Noel A., Jost M., Maquoi E.: Matrix metalloproteinases at cancer tumor-host interface. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2008; 19: 52–60
- [156] Nyalendo C., Beaulieu E., Sartelet H., Michaud M., Fontaine N., Gingras D., Beliveau R.: Impaired tyrosine phosphorylation of membrane type 1-matrix metalloproteinase reduces tumor cell proliferation in three-dimensional matrices and abrogates tumor growth in mice. *Carcinogenesis*, 2008; 29: 1655–1664
- [157] Nyberg P., Heikkilä P., Sorsa T., Luostarinen J., Heljasvaara R., Stenman U.H., Pihlajaniemi T., Salo T.: Endostatin inhibits human tongue carcinoma cell invasion and intravasation and blocks the activation of matrix metalloproteinase-2, -9, and -13. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 22404–22411
- [158] Olson M.W., Toth M., Gervasi D.C., Sado Y., Ninomiya Y., Fridman R.: High affinity binding of latent matrix metalloproteinase-9 to the $\alpha 2(IV)$ chain of collagen IV. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 10672–10681
- [159] Onimaru M., Yonemitsu Y., Suzuki H., Fujii T., Sueishi K.: An autocrine linkage between matrix metalloproteinase-14 and Tie-2 via ectodomain shedding modulates angiopoietin-1-dependent function in endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2010; 30: 818–826
- [160] O'Reilly M.S., Holmgren L., Shing Y., Chen C., Rosenthal R.A., Moses M., Lane W.S., Cao Y., Sage E.H., Folkman J.: Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. *Cell*, 1994; 79: 315–328
- [161] Oshikawa K., Terada S.: Ussuristatin 2, a novel KGD-bearing disintegrin from *Agkistrodon ussuriensis* venom. *J. Biochem.*, 1999; 125: 31–35
- [162] Overall C.M., Lopez-Otin C.: Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. *Nat. Rev. Cancer*, 2002; 2: 657–672
- [163] Papaspyridonos M., Lyden D.: The role of bone marrow-derived cells in tumor angiogenesis and metastatic progression. *Methods Enzymol.*, 2008; 444: 255–269
- [164] Pei D., Weiss S.J.: Furin-dependent intracellular activation of the human stromelysin-3 zymogen. *Nature*, 1995; 375: 244–247
- [165] Peters K.G., Marie J., Wilson E., Ives H.E., Escobedo J., Del Rosario M., Mirda D., Williams L.T.: Point mutation of an FGF receptor abolishes phosphatidylinositol turnover and Ca^{2+} flux but not mitogenesis. *Nature*, 1992; 358: 678–681
- [166] Petitclerc E., Boutaud A., Prestayko A., Xu J., Sado Y., Ninomiya Y., Sarras M.P.Jr., Hudson B.G., Brooks P.C.: New functions for non-collagenous domains of human collagen IV. Novel integrin ligands inhibiting angiogenesis and tumor growth *in vivo*. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 8051–8061
- [167] Phng L.K., Gerhardt H.: Angiogenesis: a team effort coordinated by Notch. *Dev. Cell*, 2009; 16: 196–208
- [168] Pietenpol J.A., Stein R.W., Moran E., Yaciuk P., Schlegel R., Lyons R.M., Pittelkow M.R., Mürner K., Howley P.M., Hoses H.L.: TGF- β 1 inhibition of *c-myc* transcription and growth in keratinocytes is abrogated by viral transforming proteins with pRB binding domains. *Cell*, 1990; 61: 777–785
- [169] Poincloux R., Lizarraga F., Chavrier P.: Matrix invasion by tumour cells: a focus on MT1-MMP trafficking to invadopodia. *J. Cell Sci.*, 2009; 122: 3015–3024
- [170] Polette M., Nawrocki-Raby B., Gilles C., Clavel C., Birembaut P.: Tumour invasion and matrix metalloproteinases. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2003; 49: 179–186
- [171] Powell U.C., Fingleton B., Wilson C.L., Boothby M., Matrisian L.M.: The metalloproteinase matrilysin proteolytically generates active soluble Fas ligand and potentiates epithelial cell apoptosis. *Curr. Biol.*, 1999; 9: 1441–1447
- [172] Purhonen S., Palm J., Rossi D., Kaskenpää N., Rajantie I., Ylä-Herttua S., Alitalo K., Weissman I.L., Salven P.: Bone marrow-derived circulating endothelial precursors do not contribute to vascular endothelium and are not needed for tumor growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008; 105: 6620–6625
- [173] Qi J.H., Ebrahim Q., Moore N., Murphy G., Claesson-Welsh L., Bond M., Baker A., Anand-Apte B.: A novel function for tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP3): inhibition of angiogenesis by blockage of VEGF binding to VEGF receptor-2. *Nat. Med.*, 2003; 9: 407–415
- [174] Radisky D.C., Levy D.D., Littlepage L.E., Liu H., Nelson C.M., Fata J.E., Leake D., Godden E.L., Albertson D.G., Nieto M.A., Werb Z., Bissell M.J.: Rac1b and reactive oxygen species mediate MMP-3-induced EMT and genomic instability. *Nature*, 2005; 436: 123–127
- [175] Radisky E.S., Radisky D.C.: Matrix metalloproteinase-induced epithelial-mesenchymal transition in breast cancer. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 2010; 15: 201–212
- [176] Rathinam R., Alahari S.K.: Important role of integrins in the cancer biology. *Cancer Metastasis Rev.*, 2010; 29: 223–237
- [177] Ratnikov B.I., Rozanov D.V., Postnova T.I., Baciuc P.G., Zhang H., DiScipio R.G., Chestukhina G.G., Smith J.W., Deryugina E.I., Strongin A.Y.: An alternative processing of integrin αv subunit in tumor cells by membrane type-1 matrix metalloproteinase. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 7377–7385
- [178] Ribeiro A.S., Albergaria A., Sousa B., Correia A.L., Bracke M., Seruca R., Schmitt F.C., Paredes J.: Extracellular cleavage and shedding of P-cadherin: a mechanism underlying the invasive behaviour of breast cancer cells. *Oncogene*, 2010; 29: 392–402
- [179] Risau W.: Mechanisms of angiogenesis. *Nature*, 1997; 386: 671–674
- [180] Rolli M., Fransvea E., Pilch J., Saven A., Felding-Habermann B.: Activated integrin $\alpha v\beta 3$ cooperates with metalloproteinase MMP-9 in regulating migration of metastatic breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 9482–9487
- [181] Rozanov V.D., Hahn-Dantona E., Strickland D.K., Strongin A.Y.: The low-density lipoprotein receptor-related protein LRP is regulated by membrane type-1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) proteolysis in malignant cells. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 4260–4268
- [182] Sabbota A.L., Kim H.R., Zhe X., Fridman R., Bonfil R.D., Cher M.L.: Shedding of RANKL by tumor-associated MT1-MMP activates Src-dependent prostate cancer cell migration. *Cancer Res.*, 2010; 70: 5558–5566
- [183] Samani A.A., Yakar S., LeRoith D., Brodt P.: The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights. *Endocr. Rev.*, 2007; 28: 20–47
- [184] Sanderson R.D., Yang Y., Kelly T., MacLeod V., Dai Y., Theus A.: Enzymatic remodeling of heparan sulfate proteoglycans within the tumor microenvironment: growth regulation and the prospect of new cancer therapies. *J. Cell. Biochem.*, 2005; 96: 897–905
- [185] Sato H., Takino T.: Coordinate action of membrane-type matrix metalloproteinase-1 (MT1-MMP) and MMP-2 enhances pericellular proteolysis and invasion. *Cancer Sci.*, 2010; 101: 843–847
- [186] Schenk S., Quaranta V.: Tales from the crypt[ic] sites of the extracellular matrix. *Trends Cell Biol.*, 2003; 13: 366–375
- [187] Sheu B.C., Hsu S.M., Ho H.N., Lien H.C., Huang S.C., Lin R.H.: A novel role of metalloproteinase in cancer-mediated immunosuppression. *Cancer Res.*, 2001; 61: 237–242
- [188] Sica A., Larghi P., Mancino A., Rubino L., Porta C., Totaro M.G., Rimoldi M., Biswas S.K., Allavena P., Mantovani A.: Macrophage polarization in tumour progression. *Sem. Cancer Biol.*, 2008; 18: 349–355
- [189] Siigur E., Aaspollu A., Tu A.T., Siigur J.: cDNA cloning and deduced amino acid sequence of fibrinolytic enzyme (lebetase) from *Vipera lebetina* snake venom. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1996; 224: 229–236
- [190] Skóra J., Biegus J., Pupka A., Barć P., Sikora J., Szyber P.: Molekularne podstawy angiogenezy. *Postepy Hig. Med. Dosw.*, 2006; 60: 410–415
- [191] Song S., Ewald A.J., Stallcup W., Werb Z., Bergers G.: PDGFR β + perivascular progenitor cells in tumours regulate pericyte differentiation and vascular survival. *Nature Cell Biol.*, 2005; 7: 870–879
- [192] Sottrup-Jensen L., Birkedal-Hansen H.: Human fibroblast collagenase- α -macroglobulin interactions. Localization of cleavage sites in the bait regions of five mammalian α -macroglobulins. *J. Biol. Chem.*, 1989; 264: 393–401
- [193] Sounni N., Paye A., Host L., Noël A.: MT-MMP as regulators of vessel stability associated with angiogenesis. *Front. Pharmacol.*, 2011; 2: 111
- [194] Sounni N.E., Rozanov D.V., Remacle A.G., Golubkov V.S., Noel A., Strongin A.Y.: Timp-2 binding with cellular MT1-MMP stimulates invasion-promoting MEK/ERK signaling in cancer cells. *Int. J. Cancer*, 2010; 126: 1067–1078
- [195] Sternlicht M.D., Werb Z.: How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2001; 17: 463–516
- [196] Stromblad S., Chersesh D.A.: Integrins, angiogenesis and vascular cell survival. *Chem. Biol.*, 1996; 3: 881–885

- [197] Strongin A.Y., Collier I., Bannikov G., Marmer B.L., Grant G.A., Goldberg G.L.: Mechanism of cell surface activation of 72-kDa type IV collagenase. Isolation of the activated form of the membrane metalloprotease. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 5331–5338
- [198] Stylli S.S., Kaye A.H., Lock P.: Invadopodia: at the cutting edge of tumour invasion. *J. Clin. Neurosci.*, 2008; 15: 725–737
- [199] Suri C., Jones P.F., Patan S., Bartunkova S., Maisonpierre P.C., Davis S., Sato T.N., Yancopoulos G.D.: Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, during embryonic angiogenesis. *Cell*, 1996; 87: 1171–1180
- [200] Suzuki K., Lees M., Newlands G.F., Nagase H., Woolley D.E.: Activation of precursors for matrix metalloproteinases 1 (interstitial collagenase) and 3 (stromelysin) by rat mast-cell proteinases I and II. *Biochem. J.*, 1995; 305: 301–306
- [201] Suzuki M., Raab G., Moses M.A., Fernandez C.A., Klagsbrun M.: Matrix metalloproteinase-3 releases active heparin-binding EGF-like growth factor by cleavage at a specific juxtamembrane site. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 31730–31737
- [202] Takahashi M., Tsunoda T., Seiki M., Nakamura Y., Furukawa Y.: Identification of membrane-type matrix metalloproteinase-1 as a target of the β -catenin/Tcf4 complex in human colorectal cancers. *Oncogene*, 2002; 21: 5861–5867
- [203] Takino T., Tsuge H., Ozawa T., Sato H.: MT1-MMP promotes cell growth and ERK activation through c-Src and paxillin in three-dimensional collagen matrix. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2010; 396: 1042–1047
- [204] Tholozan F.M., Gribbon C., Li Z., Goldberg M.W., Prescott A.R., McKie N., Quinlan R.A.: FGF-2 release from the lens capsule by MMP-2 maintains lens epithelial cell viability. *Mol. Biol. Cell*, 2007; 18: 4222–4231
- [205] Thomas K.A.: Vascular endothelial growth factor, a potent and selective angiogenic agent. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 603–606
- [206] Thraill K.M., Quarles L.D., Nagase H., Suzuki K., Serra D.M., Fowlkes J.L.: Characterization of insulin-like growth factor-binding protein 5-degrading proteases produced throughout murine osteoblast differentiation. *Endocrinology*, 1995; 136: 3527–3533
- [207] Totoń E., Rybczyńska M.: Charakterystyka białka FAK i jego rola w procesie nowotworzenia. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 303–309
- [208] Tsunozuka Y., Kinoh H., Takino T., Watanabe Y., Okada Y., Shinagawa A., Sato H., Seiki M.: Expression of membrane-type matrix metalloproteinase 1 (MT1-MMP) in tumor cells enhances pulmonary metastasis in an experimental metastasis assay. *Cancer Res.*, 1996; 56: 5678–5683
- [209] Turner N., Grose R.: Fibroblast growth factor signalling: from development to cancer. *Nat. Rev. Cancer*, 2010; 10: 116–129
- [210] Tvorogov D., Anisimov A., Zheng W., Leppanen V. M., Tammela T., Laurinavicius S., Holthöner W., Helotera H., Holopainen T., Jeltsch M., Kalkkinen N., Lankinen H., Ojala P. M., Alitalo K.: Effective suppression of vascular network formation by combination of antibodies blocking VEGFR ligand binding and receptor dimerization. *Cancer Cell*, 2010; 18: 630–640
- [211] Uekita T., Itoh Y., Yana I., Ohno H., Seiki M.: Cytoplasmic tail-dependent internalization of membrane-type 1 matrix metalloproteinase is important for its invasion-promoting activity. *J. Cell Biol.*, 2001; 155: 1345–1356
- [212] Ungefroren H., Sebens S., Seidl D., Lehnert H., Hass R.: Interaction of tumor cells with the microenvironment. *Cell Commun. Signal.*, 2011; 9: 18
- [213] Uria J.A., Stahle-Backdahl M., Seiki M., Fueyo A., Lopez-Otin C.: Regulation of collagenase-3 in human breast carcinomas is mediated by stroma-epithelial cell interactions. *Cancer Res.*, 1997; 57: 4882–4888
- [214] Van Lint P., Libert C.: Matrix metalloproteinase-8: cleavage can be decisive. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2006; 17: 217–223
- [215] Visse R., Nagase H.: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ. Res.*, 2003; 92: 827–839
- [216] von Bredow D.C., Nagle R.B., Bowden G.T., Cress A.E.: Cleavage of $\beta 4$ integrin by matrilysin. *Exp. Cell Res.*, 1997; 236: 341–345
- [217] Wang R., Chadalavada K., Wilshire J., Kowalik U., Hovinga K.E., Geber A., Fligelman B., Leverisha M., Brennan C., Tabar V.: Glioblastoma stem-like cells give rise to tumour endothelium. *Nature*, 2010; 468: 829–833
- [218] Wastermack J., Kahari V.M.: Regulatin of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion. *FASEB J.*, 1999; 13: 781–792
- [219] Weber C.E., Kuo P.C.: The tumor microenvironment. *Surg. Oncol.*, 2012; 21: 172–177
- [220] Weiss S.J., Peppin G., Ortiz X., Ragsdale C., Test S.T.: Oxidative autoactivation of latent collagenase by human neutrophils. *Science*, 1985; 227: 747–749
- [221] Whitelock J.M., Murdoch A.D., Iozzo R.V., Underwood P.A.: The degradation of human endothelial cell-derived perlecan and release of bound basic fibroblast growth factor by stromelysin, collagenase, plasmin and heparanases. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 10079–10086
- [222] Wickstrom S.A., Alitalo K., Keski-Oja J.: Endostatin associates with integrin $\alpha 5 \beta 1$ and caveolin-1, and activates Src via a tyrosyl phosphatase-dependent pathway in human endothelial cells. *Cancer Res.*, 2002; 62: 5580–5589
- [223] Wiśniewski M., Wiśniewski M.: Mechanizmy przerzutowania i molekularne markery progresji nowotworów złośliwych. I. Rak jelita grubego. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 453–470
- [224] Will H., Hinzmann B.: cDNA sequence and mRNA tissue distribution of a novel human matrix metalloproteinase with a potential transmembrane segment. *Eur. J. Biochem.*, 1995; 231: 602–608
- [225] Willis B.C., duBois R.M., Borok Z.: Epithelial origin of myofibroblasts during fibrosis in the lung. *Proc. Am. Thorac. Soc.*, 2006; 3: 377–382
- [226] Witty J.P., Lempka T., Coffey R.J.Jr., Matrisian L.M.: Decreased tumor formation in 7,12-dimethylbenzanthracene-treated stromelysin-1 transgenic mice is associated with alterations in mammary epithelial cell apoptosis. *Cancer Res.*, 1995; 55: 1401–1406
- [227] Wolf K., Wu Y.I., Liu Y., Geiger J., Tam E., Overall C., Stack M.S., Friedl P.: Multi-step pericellular proteolysis controls the transition from individual to collective cancer cell invasion. *Nat. Cell Biol.*, 2007; 9: 893–904
- [228] Wu X., Gan B., Yoo Y., Guan J.L.: FAK-mediated src phosphorylation of endophilin A2 inhibits endocytosis of MT1-MMP and promotes ECM degradation. *Dev. Cell*, 2005; 9: 185–196
- [229] Wyckoff J.B., Wang Y., Lin E.Y., Li J.F., Goswami S., Stanley E.R., Segall J.E., Pollard J.W., Condeelis J.: Direct visualization of macrophage-assisted tumor cell intravasation in mammary tumors. *Cancer Res.*, 2007; 67: 2649–2656
- [230] Xian X., Hakansson J., Stahlberg A., Lindblom P., Betsholtz C., Gerhardt H., Semb H.: Pericytes limit tumor cell metastasis. *J. Clin. Invest.*, 2006; 116: 642–651
- [231] Xu J., Rodriguez D., Petitclerc E., Kim J.J., Hangai M., Moon Y.S., Davis G.E., Brooks P.C.: Proteolytic exposure of a cryptic site within collagen type IV is required for angiogenesis and tumor growth *in vivo*. *J. Cell Biol.*, 2001; 154: 1069–1079
- [232] Yancopoulos G.D., Davis S., Gale N.W., Rudge J.S., Wiegand S.J., Holash J.: Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature*, 2000; 407: 242–248
- [233] Yañez-Mó M., Barreiro O., Gonzalo P., Batista A., Meqias D., Genis L., Sachs N., Sala-Valdés M., Alonso M.A., Montoya M.C., Sonnenberg A., Arroyo A.G., Sánchez-Madrid F.: MT1-MMP collagenolytic activity is regulated through association with tetraspanin CD151 in primary endothelial cells. *Blood*, 2008; 112: 3217–3226
- [234] Yang Z., Strickland D.K., Bornstein P.: Extracellular matrix metalloproteinase 2 levels are regulated by the low density lipoprotein-related scavenger receptor and thrombospondin 2. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 8403–8408
- [235] Ye S., Eriksson P., Hamsten A., Kurkinen M., Humphries S.E., Henney A.M.: Progression of coronary atherosclerosis is associated with a common genetic variant of the human stromelysin-1 promoter which results in reduced gene expression. *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 13055–13060
- [236] Yeh W.L., Lu D.Y., Lee M.J., Fu W.M.: Leptin induces migration and invasion of glioma cells through MMP-13 production. *Glia*, 2009; 57: 454–464
- [237] Yoon S.O., Park S.J., Yun C.H., Chung A.S.: Roles of matrix metalloproteinases in tumor metastasis and angiogenesis. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 2003; 36: 128–137
- [238] Yu Q., Stamenkovic I.: Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF- β and promotes tumor invasion and angiogenesis. *Genes Dev.*, 2000; 14: 163–176
- [239] Zhang D., Bar-Eli M., Meloche S., Brodt P.: Dual regulation of MMP-2 expression by the type 1 insulin-like growth factor receptor: the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and Raf/ERK pathways transmit opposing signals. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 19683–19690

- [240] Zhao H., Bernardo M.M., Osenkowski P., Sohail A., Pei D., Nagase H., Kashiwagi M., Soloway P.D., DeClerck Y.A., Fridman R.: Differential inhibition of membrane type 3 (MT3)-matrix metalloproteinase (MMP) and MT1-MMP by tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-2 and TIMP-3 regulates pro-MMP-2 activation. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 8592–8601
- [241] Zhou Z., Apte S.S., Soininen R., Cao R., Baaklini G.Y., Rauser R.W., Wang J., Cao Y., Tryggvason K.: Impaired endochondral ossification and angiogenesis in mice deficient in membrane-type matrix metalloproteinase I. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000; 97: 4052–4057
- [242] Ziche M., Mombidielli L., Choudhuri R., Zhang H.T., Donnini S., Grnager H.J., Bicknell R.: Nitric oxide synthase lies downstream from vascular endothelial growth factor-induced but not basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis. *J. Clin. Invest.*, 1997; 99: 2625–2634
- [243] Zielonka T.M.: Angiogeneza – Część I. Mechanizm powstawania nowych naczyń krwionośnych. *Alergia Astma Immunologia*, 2003; 8: 169–174
- [244] Zigrino P., Löffek S., Mauch C.: Tumor-stroma interactions: their role in the control of tumor cell invasion. *Biochimie*, 2005; 87: 321–328
- [245] Zutter M.M., Santoro S.A., Staatz W.D., Tsung Y.L.: Re-expression of the alpha 2 beta 1 integrin abrogates the malignant phenotype of breast carcinoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 7411–7415
- [246] Żebrowska A., Wysoczyńska K., Waszczykowska E.: Adamalizyny – metaloproteinazy biorące udział w patofizjologii chorób skóry. *Alergia Astma Immunologia*, 2005; 10: 187–193

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.