

Received: 2007.06.15
Accepted: 2008.03.14
Published: 2008.04.07

Rola metaloproteinaz i ich inhibitorów w raku trzustki

The role of metalloproteinases and their inhibitors in pancreatic cancer

Marta Łukaszewicz, Barbara Mroczo, Maciej Szmitkowski

Zakład Diagnostyki Biochemicznej Akademii Medycznej w Białymstoku

Streszczenie

Rak trzustki charakteryzuje się bardzo szybkim przebiegiem, złym rokowaniem i krótkim czasem przeżycia chorych. Jest główną przyczyną zgonów z powodu guzów złośliwych zarówno w Europie, jak i w USA. W rozwoju nowotworów znaczącą rolę odgrywają proteazy, a wśród nich metaloproteinazy (MMPs) i ich inhibitory. MMPs mają zdolność degradacji błony podstawnej naczyń i macierzy zewnątrzkomórkowej, ułatwiając wzrost, migrację i inwazję komórek nowotworowych, powstawanie przerzutów odległych oraz angiogenezę w obrębie guza. Wykazano wzmożoną ekspresję MMPs w nowotworach o różnym umiejscowieniu, które korelowało ze stopniem zaawansowania choroby, większą inwazyjnością, indukcją przerzutów odległych oraz krótszym czasem przeżycia chorych, także pacjentów z rakiem trzustki.

Słowa kluczowe: metaloproteinazy • rak trzustki

Summary

Pancreatic cancer is characterized by aggressive behavior, poor prognosis, and predicted shortened survival. It is a major cause of cancer death in Europe and North America. Matrix metalloproteinases and their inhibitors play an important role in tumor progression. MMPs are able to degrade basement membrane and extracellular matrix and are associated with tumor progression, including invasion, metastasis, growth, migration, and angiogenesis. Some clinical investigations have demonstrated the role of increased MMP expression in several human malignancies, their levels also correlating with tumor stage, invasiveness, and poor survival of patients with pancreatic cancer.

Key words: metalloproteinases • pancreatic cancer

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_62/11561.pdf

Word count: 2856

Tables: 2

Figures: 1

References: 45

Adres autorki: mgr Marta Łukaszewicz, Zakład Diagnostyki Biochemicznej Akademii Medycznej w Białymstoku, ul. J. Waszyngtona 15a, 15-274 Białystok; e-mail: martha_21@interia.pl

RAK TRZUSTKI

Rak trzustki jest ósmą przyczyną zgonów z powodu nowotworów złośliwych na świecie. Rocznie notuje się 4–10 nowych przypadków zachorowań na 100 tysięcy mieszkańców [21]. Ryzyko zachorowania wzrasta wraz z wiekiem, w zależności od regionu geograficznego, płci i rasy. Rak trzustki należy do nowotworów tytoniozależnych. Czynnikiem ryzyka jest także przewlekłe zapalenie trzustki oraz dieta mięsna i bogata w tłuszcze. Potwierdzono udział czynników genetycznych w etiologii tego nowotworu, które odpowiadają za 10% wszystkich przypadków zachorowań na nowotwory trzustki [21]. Gruczolakorak przewodowy stanowi ponad 85% przypadków raka trzustki. Pozostałe 5% wywodzi się z części endokrynej tego narządu. Najczęstsze umiejscowienie nowotworów trzustki dotyczy głowy (60%), pozostałe 20% umiejscawia się w okolicy trzonu i ogona narządu [6].

Rak trzustki charakteryzuje się szybkim przebiegiem, złym rokowaniem i bardzo krótkim czasem przeżycia, ponieważ w chwili rozpoznania u 90% chorych stwierdza się przerzuty do otaczających węzłów chłonnych i narządów odległych. Średni czas przeżycia od chwili rozpoznania wynosi 3–6 miesięcy. Rak trzustki jest zatem chorobą śmiertelną w około 95% przypadków, ponieważ najczęściej jest rozpoznawany w zaawansowanym stadium choroby, gdy występują już objawy kliniczne procesu nowotworowego. Korzystnymi czynnikami prognostycznymi są: wysoki stopień zróżnicowania histologicznego guza (G1), nowotwór <2 cm, ograniczony do trzustki (T1), bez przerzutów do węzłów chłonnych (N0) i narządów odległych (Mo) [6]. Celem współczesnej medycyny jest poszukiwanie nowych możliwości diagnostycznych raka trzustki i wdrażania innowacyjnych strategii leczenia. Wieloletnie badania, które pozwoliły poznać podstawy biologii molekularnej nowotworów, potwierdziły istotną rolę metaloproteinaz i ich inhibitorów we wzroście i szerzeniu się guzów złośliwych.

METALOPROTEINAZY

Metaloproteinazy (MMP) to grupa Zn-zależnych enzymów proteolitycznych, należących do endopeptydaz. Są one zdolne do degradacji i przebudowy białek przestrzeni pozakomórkowej (extracellular matrix – ECM) i błony podstawnej naczyń, zbudowanej z kolagenu, lamininy, elastyny, fibronektyny i proteoglikanów [18]. Metaloproteinazy są aktywne w obecności jonów wapnia, w lekko zasadowym lub obojętnym pH [26,38]. Nazywane są także kolagenazami lub matryksynami. Dotąd zidentyfikowano i opisano 28 metaloproteinaz, z czego 22 to ludzkie MMPs. Mogą występować w postaci wolnej lub zakotwiczonej w błonie komórkowej (membrane type metalloproteinases – MT-MMP). MMPs odznaczają się znacznym podobieństwem strukturalno-czynnościowym [1,3,26]. W budowie chemicznej metaloproteinaz można wyróżnić charakterystyczne domeny, wspólne dla określonej rodziny lub domeny decydujące o zupełnie odrębnych właściwościach enzymów. Wspólna cecha metaloproteinaz to identyczna sekwencja o ogólnym wzorze HEXGH w miejscu aktywnym, wiążącym jon wapnia i chelatujący atom cynku (Zn^{2+}), który pełni rolę katalityczną i strukturalną w cząsteczce enzymu [16,34].

Metaloproteinazy są wytwarzane przez większość komórek tkanki łącznej, np. fibroblasty oraz przez leukocyty, makrofagi, komórki śródbłonna, a także przez komórki nowotworowe [3,28]. Ich synteza może być regulowana przez różnorodne czynniki. Wydzielanie MMPs jest pobudzane przez naskórkowy czynnik wzrostu (epidermal growth factor – EGF), śródbłonkowy czynnik wzrostu (vascular-endothelial growth factor – VEGF), czynnik martwicy nowotworu α (tumor necrosis factor- α – TNF- α), interleukinę 1 (IL-1), a hamowany przede wszystkim przez hormony steroidowe oraz transformujący czynnik wzrostu β (transforming growth factor- β – TGF- β) [28]. MMPs są wydzielane w postaci pre-pro-enzymów (postać nieaktywna) i uwalniane do przestrzeni zewnątrzkomórkowej jako proenzymy, których aktywność w warunkach fizjologicznych jest regulowana na kilku poziomach [3,18,19,31]:

- stymulacji transkrypcji genów poprzez cytokiny, czynniki wzrostu,
- translacji i aktywacji proenzymów pod wpływem enzymów proteolitycznych, jonów metali, plazminy, oksydantów,
- poprzez inhibitory tkankowe – hamowanie aktywności MMPs przez blokowanie genów odpowiadających za syntezę MMPs lub TIMPs.

W centrum aktywnym proenzymu Zn^{2+} jest zablokowany wiązaniem koordynacyjnym przez cysteinę N-końcowej części łańcucha białkowego, dzięki czemu metaloproteinazy są utrzymywane we wszystkich tkankach w postaci latentnej [3,26]. Aktywacja MMPs następuje przez odłączenie cysteiny z fragmentu enzymu związanego z atomem cynku. Dochodzi do zmiany konformacji cząsteczki i odcięcia N-końcowego fragmentu, czego konsekwencją jest odsłonięcie miejsca aktywnego z atomem cynku i powstanie enzymu o mniejszej masie cząsteczkowej (10 kDa) od postaci nieaktywnej [15,26]. Aktywacja MMPs może także zachodzić z udziałem innych, aktywnych postaci metaloproteinaz i proteaz serynowych (plazmina, kalikreina, tripsyna) oraz metaloproteinaz błonowych (membrane type metalloproteinases – MT-MMP), jeśli stężenie tkankowych inhibitorów metaloproteinaz (TIMP) jest małe [26].

INHIBITORY METALOPROTEINAZ

Tkankowe inhibitory metaloproteinaz (tissue inhibitors of metalloproteinases – TIMPs) są białkami o masie cząsteczkowej 21–34 kDa [18,28]. Zbudowane są z dwóch domen: identyczna domena N-końcowa, wiążąca się z centrum aktywnym MMPs oraz domena C-końcowa, wpływająca na jego połączenie z fragmentem podobnym do hemopeksyny metaloproteinaz [1]. Podstawową rolą TIMPs jest hamowanie proteolitycznej aktywności metaloproteinaz, co wykazano zarówno w warunkach *in vivo* jak i *in vitro*. Stwierdzono obecność TIMPs w większości tkanek i płynów ustrojowych [18] oraz ich ekspresję w wielu różnych typach komórek, np. w fibroblastach, komórkach śródbłonna czy komórkach nowotworowych. Zidentyfikowano i opisano cztery rodzaje tkankowych inhibitorów metaloproteinaz. TIMP-1, TIMP-2 i TIMP-4 występują w postaci rozpuszczalnej, a TIMP-3 w postaci związanej. Głównymi inhibitorami wiążącymi się ze wszystkimi rodzajami MMPs są TIMP-2 (rozpuszczalne białko o masie cząsteczkowej 21 kDa) oraz TIMP-3 (nierozpuszczalne białko o masie czą-



steczkowej 24 kDa). W tkankach najbardziej rozpowszechnione są TIMP-1 i TIMP-2 [16,18]. Mechanizm hamowania aktywności metaloproteinaz przez TIMPs polega na zablokowaniu możliwości odłączenia N-końcowego fragmentu MMPs i uniemożliwienie odsłonięcia centrum aktywnego metaloproteinaz [1,38]. Tkankowe inhibitory metaloproteinaz są zdolne do wiązania się nie tylko z MMPs, ale także z proMMPs, dzięki czemu mogą regulować proces ich aktywacji [18].

TIMPs pełnią istotną rolę w ustaleniu się równowagi pomiędzy procesem degradacji a syntezą składników macierzy zewnątrzkomórkowej [1,18,34]. Zaburzenie tego układu może zachodzić zarówno w stanach fizjologicznych i patologicznych, tj. gojenie ran, przebudowa tkanek, angiogeneza, karcynogeneza oraz naciekanie i przerzutowanie nowotworów [18]. Tkankowe inhibitory metaloproteinaz regulują wzrost i proliferację wielu komórek, niezależnie od hamującego wpływu na aktywność MMPs [1,18].

Naturalnym, a jednocześnie nieswoistym inhibitorem wszystkich metaloproteinaz jest $\alpha 2$ -makroglobulina, która ze względu na dużą masę cząsteczkową (750 kDa) ma obniżoną zdolność przechodzenia przez łożysko naczyniowe i hamowania aktywności MMPs poza kompartmentem naczyniowym [3,38].

Cytokiny przeciwzapalne, tj. interferon gamma (INF- γ), interleukina 4 (IL-4) oraz leki – deksametason i indometacyna są zdolne do hamowania wytwarzania metaloproteinaz poprzez hamowanie syntezy substancji pośredniczących w wytwarzaniu MMPs, czego przykładem może być prostaglandyna E₂ (prostaglandin E₂ – PGE₂) [3,31]. Aktywność metaloproteinaz może być hamowana przez podawanie związków chelatujących [15]. Rolę pozaustrojowych inhibitorów MMPs pełnią antybiotyki, a wśród nich tetracykliny, tj. oksytetracyklina, a także związki karboksylkowe, hydroksamatowe (batimastat, marimastat), tiole czy fosfonamidy [15,38].

ROLA METALOPROTEINAZ I ICH INHIBITORÓW

MMPs mają ogromne znaczenie w wielu procesach fizjologicznych organizmu. Biorą udział w przebudowie tkanki podporowej wszystkich narządów. Są potrzebne do prawidłowego rozwoju szkieletu, wpływając na przebudowę kości i chrząstek. Odgrywają istotną rolę w patogenezie osteoporozy, a nieprawidłowe stężenia metaloproteinaz są wykrywane w wadach rozwojowych stawów, chrząstek czy więzadeł [28,38,45]. MMPs warunkują odnowę i naprawę tkanki łącznej oraz uczestniczą w procesie angiogenezy. Stymulują tworzenie się nowych naczyń krwionośnych zarówno w fizjologii, jak i stanach patologicznych, np. w nowotworach [28]. Uczestniczą także w przebudowie endometrium macicy w czasie cyklu miesiączkowego oraz podczas ciąży, porodu i połogu [19,36,45]. Mogą stanowić również wskaźnik zagrożenia porodem przedwczesnym, ponieważ poziom MMPs i TIMPs zmienia się wraz z zaawansowaniem akcji porodowej [36]. Rolę metaloproteinaz wykazano w patogenezie zespołu policystycznych jajników. Biorą one udział w dojrzewaniu i atrezji pęcherzyków Graafa [45].

Metaloproteinazy warunkują prawidłową migrację komórek, w tym także komórek biorących udział w odpowiedzi

Tabela 1. Podział metaloproteinaz (MMPs) [8,14]

Stromelizyny	MMP-3, MMP-10, MMP-11, MMP-18
Kolagenazy	MMP-1, MMP-8, MMP-13
Żelatynazy	MMP-2, MMP-9
MMPs błonowe	MMP-14 (MT1-MMP), MMP-15 (MT2-MMP), MMP-16 (MT3-MMP), MMP-17 (MT4-MMP)
Inne MMPs	MMP-7 (matrylizyna), MMP-12

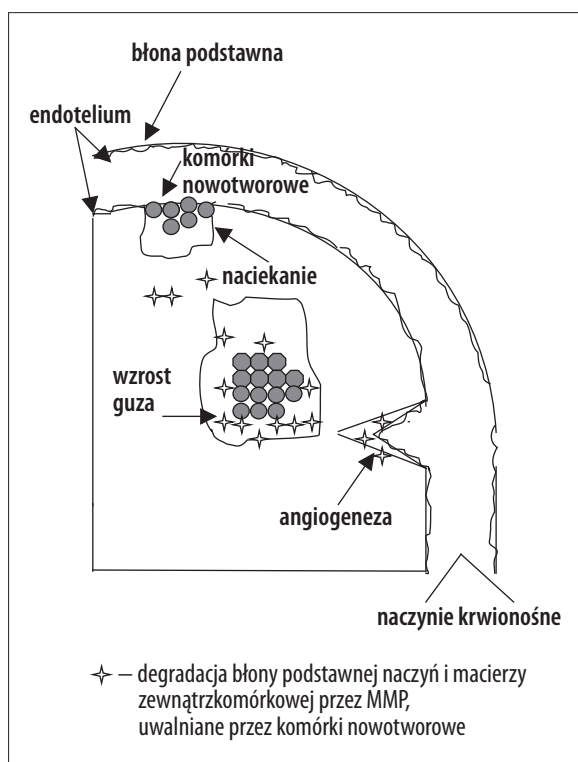
zapalnej. Dzięki ich zdolności do degradacji składników błony podstawnej naczyń, umożliwiają przechodzenie komórek do uszkodzonej tkanki oraz uwalnianie cytokin i ich receptorów. Uczestniczą w procesie gojenia się ran i w tworzeniu blizn [3,28,45]. Obniżona aktywność MMPs i duża TIMPs, jest przyczyną nadmiernej syntezy kolagenu oraz niedostatecznej jego degradacji [45]. MMPs mają znaczenie w patogenezie chorób autoimmunologicznych (toczeń trzewny układowy, reumatoidalne zapalenie stawów) [45] oraz w powstawaniu owrzodzeń żołądka i dwunastnicy [28,38]. Wykazano także znaczenie metaloproteinaz w marskości wątroby oraz w chorobie Leśniowskiego-Crohna [38,45].

Znaczenie zaburzonej homeostazy między MMPs a TIMP wykazano w procesie powstawania tętniaków oraz w patogenezie miażdżycy, dochodzi wówczas do uszkodzania naczyń krwionośnych przez MMPs [28,45]. Zmiany aktywności metaloproteinaz wykazano w przebiegu zawału mięśnia sercowego. W początkowej fazie po zawale poziom kalagenazy 1 i TIMP-1 był obniżony, po czym wzrastał do wartości prawidłowej w okresie wytwarzania blizny pozawałowej [20,45].

Dane z piśmiennictwa wskazują na znaczenie MMPs w chorobach układu nerwowego; są zdolne do stymulacji wzrostu neurytów. Biorą także udział zarówno w mechanizmach naprawczych, jak i degeneracyjnych ośrodkowego układu nerwowego. Przykładem tego są zmiany stężeń metaloproteinaz i ich inhibitorów w chorobie Alzheimera, stwardnieniu rozsianym, stwardnieniu zanikowym bocznym, szpiczaku mnogim, czerniaku złośliwym, w którym stwierdza się podwyższoną aktywność tych enzymów [19,43].

METALOPROTEINAZY I ICH INHIBITORY W PRZEBIEGU CHOROBY NOWOTWOROWEJ

Metaloproteinazy to enzymy proteolityczne, które jako jedyne trawią kolagen typu IV, będący szkieletem błony podstawnej naczyń krwionośnych. Nastęstwem tego procesu jest migracja komórek śródbłonna do macierzy zewnątrzkomórkowej i tworzenie nowych naczyń w degradowanej przez MMPs przestrzeni. Proteoliza błony podstawnej naczyń oraz składników macierzy zewnątrzkomórkowej umożliwia migrację komórek nowotworowych, czego konsekwencją jest wzrost guza i powstawanie ognisk przerzutowych. Migracja komórek nowotworowych może być nasiloną zwiększoną ekspresją MMPs i spadkiem ekspresji TIMPs [26]. W patogenezie rozwoju nowotworu i w powstawaniu przerzutów znaczącą rolę spełnia proces tworzenia się nowych naczyń krwionośnych [34]. Znaczenie



Ryc 1. Rola metaloproteinaz we wzroście, naciekaniu i angiogenezie nowotworu

MMPs w procesie angiogenezy polega nie tylko na degradacji błony podstawnej i przebudowie macierzy zewnątrzkomórkowej, ale także na regulacji aktywności, różnicowania i apoptozy czynników bioangiogennych, biorących udział we wzroście komórek śródbłonna [17]. Wykazano, iż metaloproteinazy mogą wpływać na wzrost guza poprzez uwalnianie insulinopodobnego czynnika wzrostu (insulin-like growth factor – IGF). Jednocześnie są w stanie hamować wzrost nowotworu, wydzielając TGF- β [3]. Wykazano, że MMPs uszkodzają receptory interleukiny 2 (IL-2) na limfocytach T, hamując reakcję immunologiczną organizmu przeciwko komórkom nowotworowym [3]. Komórki nowotworowe i niektóre komórki prawidłowe są zdolne do wytwarzania swoistego czynnika stymulującego syntezę metaloproteinaz przez fibroblasty (extracellular matrix metalloproteinase inducer – EMMPRIN), który stymuluje fibroblasty do wytwarzania kolagenaz, stromielizyny 1 i żelatynazy A oraz ich aktywatorów, powodując proteolizę ECM. Zwiększony poziom EMMPRIN wykazano na powierzchni komórek raka piersi, pęcherza moczowego, płuc oraz nowotworów przewodu pokarmowego [26].

W inwazji komórek nowotworowych szczególną rolę odgrywają MMP-2 (żelatynaza A) i MMP-9 (żelatynaza B), które ze względu na zdolność do degradacji kolagenu typu IV, biorą udział w mechanizmie uszkodzenia błony podstawnej naczyń. Wykazano podwyższony poziom MMP-2 i MMP-9 w raku jelita grubego [37], żołądka [35], płuc [41] i piersi [13], a ich aktywności lub stężenia wzrastały wraz z zaawansowaniem nowotworu. Zhang i wsp. wykazali, że aktywność kolagenaz w moczu pacjentek z rakiem piersi wzrastała przy współistniejących przerzutach [44]. Podobną zależność stwierdził Guo w płynie mózgo-

wo-rzeniowym chorych z rakiem mózgu [7]. Do wzrostu nowotworu przyczyniają się także MMP-1, MMP-8 oraz błonowe enzymy komórek nowotworowych – MT-MMPs, zdolne do aktywacji różnych MMPs [15]. Wykazano, że wzmożona ekspresja MMP-1 jest czynnikiem niekorzystnie rokującym w raku jelita grubego [25], żołądka [23], przełyku [24], trzustki [12] i czerniaka złośliwego [29]. Nadekspresję MMP-8 stwierdzono w nowotworach głowy i szyi [22] oraz jajnika [33].

Tkankowe inhibitory metaloproteinaz odgrywają również znaczącą rolę w rozwoju nowotworu, zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo* [18]. Ekspresja TIMPs w tkankach nowotworowych oraz ich obecność w surowicy pacjentów z chorobą nowotworową, wskazują na potencjalną rolę w karcynogenezie [1]. Obniżona ekspresja TIMPs jest związana z większą inwazyjnością komórek nowotworowych, podczas gdy ich nadekspresja redukuje zdolność wzrostu guza i tworzenie przerzutów odległych [1, 18]. TIMP-1 i TIMP-2 działają antyangiogennie, hamując migrację i proliferację komórek śródbłonna, a TIMP-2 jest odpowiedzialny za cytotoksyczne działanie na komórki guza, zamykając je w sieci kolagenu [1,3]. Przeciwnowotworowe właściwości TIMPs polegają na degradacji zewnątrzkomórkowych białek, innych niż strukturalne białka ECM oraz regulacji takich procesów komórkowych jak wzrost, różnicowanie czy apoptoza [1]. Wykazano, iż TIMPs mogą niekiedy stymulować wzrost guza. Podwyższona aktywność TIMP-1 i TIMP-2 w tkance nowotworowej niekorzystnie rokuje [1,15]. Przeciwnowotworowe właściwości tkankowych inhibitorów metaloproteinaz, tj. hamowanie wzrostu guza i powstawanie przerzutów odległych, stwarzają nadzieje na zastosowanie ich w nowej strategii walki z nowotworami złośliwymi, w tym także raka trzustki.

ROLA MMPs i TIMPs W RAKU TRZUSTKI

Zaburzenie równowagi pomiędzy metaloproteinazami a ich inhibitorami jest głównym mechanizmem odpowiedzialnym za rozwój wielu nowotworów, w tym również raka trzustki [38,39,45].

Znaczenie MMP-2 w rozwoju, naciekaniu i w powstawaniu przerzutów odległych raka trzustki zostało potwierdzone przez wielu autorów [4,9]. MT-MMP, przez aktywację MMP-2, pełni ważną rolę w rozwoju raka trzustki i warunkuje wzmożoną inwazyjność komórek nowotworowych [4]. Wykazano obecność mRNA dla MMP-2 i MT1-MMP w komórkach raka trzustki. Stwierdzono wyższą ekspresję MMP-2, MT1-MMP i MT2-MMP w tkankach raka trzustki w porównaniu z grupą kontrolną i pacjentami z przewlekłym zapaleniem trzustki [4]. Wykazano ponadto korelację pomiędzy ekspresją i aktywnością MT-MMP i MMP-2 a stopniem charakterystycznego dla raka trzustki odczynu desmoplastycznego, polegającego na rozwoju procesu włóknienia wokół guza [4,30]. Yang i wsp. stwierdzili zależność pomiędzy ekspresją MMP-2 i MMP-9 a stopniem inwazyjności raka trzustki [40]. Zdolność komórek nowotworowych do wzmożonej syntezy tych proteaz może ułatwiać naciekanie komórek guza i wzmacniać jego inwazyjność [40]. Nagakawa i wsp. wykazali, iż rak trzustki ma szczególną zdolność do naciekania dużych naczyń krwionośnych, co może być związane z większym ryzykiem przerzutów do wątroby i często wiąże się ze wzmożonym

Tabela 2. Znaczenie MMPs w nowotworach o różnym umiejscowieniu [14,15,34,45]

Umiejscowienie nowotworu	Zmiany ekspresji MMPs i TIMPs w przebiegu nowotworów o różnym umiejscowieniu
Trzustka	<ul style="list-style-type: none"> wzmożona ekspresja MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-11, TIMP-1, TIMP-2 obniżona ekspresja MMP-15
Jelito grube	<ul style="list-style-type: none"> wzmożona ekspresja MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9
Żołądek	<ul style="list-style-type: none"> wzmożona ekspresja MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP
Pierś	<ul style="list-style-type: none"> wzmożona ekspresja MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-11, MT1-MMP
Przełyk	<ul style="list-style-type: none"> wzmożona ekspresja MMP-1, MMP-2, MMP-9
Głowa i szyja	<ul style="list-style-type: none"> wzmożona ekspresja MMP-1, MMP-9
OUN	<ul style="list-style-type: none"> wzmożona ekspresja MMP-7, MT1-MMP
Prostata	<ul style="list-style-type: none"> wzmożona ekspresja MMP-2, MMP-7, MMP-9, MT1-MMP
Płuca	<ul style="list-style-type: none"> wzmożona ekspresja MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9
Pęcherz moczowy	<ul style="list-style-type: none"> wzmożona ekspresja MMP-2, MT1-MMP

wydzielaniem metaloproteinaz 2 i 9, a tym samym większą inwazyjnością tego nowotworu [27]. Badania Haq i wsp. wskazują, że komórki raka trzustki wytwarzają mniej MMPs, w warunkach *in vitro* niż *in vivo*. Dopiero stymulacja komórek linii raka trzustki przez PMA (ester forbolu) zwiększała wytwarzanie MMPs i wywoływała podobne skutki działania metaloproteinaz na nowotwór jak w warunkach *in vivo* [9].

Badania Ito i wsp. wykazały zależność pomiędzy podwyższoną ekspresją MMP-1 w komórkach raka trzustki a krótszym czasem przeżycia pacjentów z tym nowotworem. Stwierdzono ponadto obecność mRNA dla MMP-1 w komórkach raka trzustki [12]. Gurevich wskazał, iż ekspresja MMP-2 może być markerem rokowniczym inwazyjności nowotworów trzustki i wskazywać guza o większej złośliwości. Wskazał on ponadto, iż słaba ekspresja MMP-9 w komórkach może odpowiadać za łagodny fenotyp komórek raka trzustki [8]. Harvey i wsp. sugerują potencjalne znaczenie prognostyczne także MMP-9 w raku trzustki ze względu na zdolność tej proteazy do degradacji ECM i indukcji angiogenezy [10]. Nadekspresja tej metaloproteinazy we krwi pacjentów z rakiem trzustki może świadczyć o krótszym czasie przeżycia pacjentów z tym nowotworem [10]. Yamamoto i wsp. sugerują możliwość zastosowania MMP-7 jako nowego, niekorzystnego czynnika prognostycznego. Stwierdzono, iż pacjenci, u których wykazano wzmożoną ekspresję MMP-7 (matrylizyny) w komórkach guzów trzustki, wykazywali krótszy czas przeżycia w porównaniu z chorymi z nowotworami bez obecności MMP-7 [39]. Jones i wsp. wykazali znacząco wyższą ekspresję MMP-7, -8, -9, -11 oraz TIMP-1 i -3 w komórkach raka trzustki w porównaniu z prawidłową tkanką tego narządu. Stwierdzono także znaczny wzrost poziomu mRNA dla MMP-11 oraz obniżoną ekspresję MMP-15 w komórkach raka trzustki. Badania wskazują, że jedynie podwyższona ekspresja MMP-7 może być niezależnym czynnikiem prognostycznym, korelującym z krótszym czasem przeżycia pacjentów z tym nowotworem. Natomiast wzmożona ekspresja MMP-11 była związana z obecnością przerzutów do węzłów chłonnych [14].

Wykazano, iż metaloproteinazy mogą mieć znaczenie diagnostyczne w raku trzustki. Yokoyama i wsp. stwierdzili obecność aktywnej postaci MMP-2 w 91,6% i proMMP-2 w 100% przypadków raków trzustki, w porównaniu z chorymi z przewlekłym zapaleniem trzustki i z grupą kontrolną. Wskaźnik aktywności, czyli stosunek aktywnej postaci MMP-2 do całkowitego MMP-2 w soku trzustkowym, był znacząco wyższy u pacjentów z guzem trzustki, w porównaniu z grupą kontrolną. Wykazano ponadto obecność aktywnej MMP-2 w soku trzustkowym trzech pacjentów z nowotworem <2 cm, ograniczonym do trzustki. Ocena aktywności MMP-2 w soku trzustkowym za pomocą zymografii może być użytecznym markerem w diagnostyce raka trzustki, także nowotworów w słabo zaawansowanym stadium choroby [42]. Iki i wsp. wykazali obecność MMP-2 i MMP-9 w surowicach chomików, którym wszczepiono komórki raka trzustki. Aktywność tych metaloproteinaz w surowicach zwierząt wzrastała wraz z progresją nowotworu. Wykazano ponadto nadekspresję mRNA dla MMP-2, MMP-9 i TIMP-1 w komórkach raka trzustki, która była związana z rozwojem raka trzustki. Badania Iki i wsp. jako jedne z pierwszych doniesień wskazują, iż ocena aktywności MMPs w surowicy pacjentów może być użytecznym markerem w monitorowaniu chorych z tym nowotworem, mając zastosowanie nie tylko w diagnostyce, ale także u chorych z rakiem trzustki [11].

Bloomston i wsp. potwierdzili, iż nadekspresja TIMP-1 korzystnie wpływa na redukcję stopnia złośliwości komórek raka trzustki, hamując wzrost, naciekanie, angiogenezę oraz powstawanie przerzutów odległych, jednocześnie nasilając apoptozę komórek nowotworowych. Badania wskazują na możliwość wykorzystania terapii genowej u chorych z rakiem trzustki z zastosowaniem genu kodującego ciałkowe inhibitory metaloproteinaz, co obecnie jest jeszcze w fazie badań klinicznych [2]. Nową strategią w walce z rakiem trzustki jest zastosowanie związków hydroksamotowych, należących do syntetycznych, niskocząsteczkowych inhibitorów metaloproteinaz, tj. batimastata oraz marimastata. Znaczenie inhibitorów MMPs w leczeniu pacjentów z guzami złośliwymi polega na zahamowaniu dalsze-

go wzrostu guza, angiogenezy i powstawania przerzutów odległych wraz z konwencjonalną chemioterapią i cytostatykami. W terapii zaawansowanego raka trzustki szczególne znaczenie wydaje się mieć marimastat [5,14,32], ze względu na możliwość doustnego podania, małej cytotoksyczności, a zarazem zdolności stabilizacji choroby nowotworowej [5], co potwierdza konieczność dalszych badań nad zastosowaniem inhibitorów metaloproteinaz w leczeniu raka trzustki.

PODSUMOWANIE

Zaburzenie równowagi pomiędzy metaloproteinazami a ich inhibitorami jest związane z rozwojem wielu typów nowotworów, także raka trzustki. MMPs są zdolne do degradacji kolagenu typu IV, przyczyną czego jest stymulacja angiogenezy oraz naciekanie sąsiadujących tkanek i tworzenie przerzutów odległych. Wykazano podwyższoną ekspre-

sję lub/i aktywność MMPs w wielu nowotworach złośliwych, które korelowały ze stadiem zaawansowania, inwazyjnością i zdolnością dawania przerzutów odległych. Dotychczasowe badania potwierdzają rolę metaloproteinaz i ich inhibitorów w raku trzustki, wskazując na ich znaczenie w diagnostyce tego nowotworu. Wykazano, iż MMPs i TIMPs mogą być niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi guzów trzustki, związanymi z czasem przeżycia pacjentów. Podwyższona ekspresja i aktywność MMPs zarówno w tkankach jak i krwi pacjentów z rakiem trzustki może mieć potencjalne znaczenie jako marker inwazyjności i ryzyka tworzenia się przerzutów odległych, szczególnie do wątroby. Niewiele jest prac badających stężenie MMPs w warunkach *in vivo*, jednak dotychczasowe doniesienia o możliwości hamowania aktywności MMP przez syntetyczne inhibitory, stwarzają nadzieję na wdrażanie nowych strategii terapeutycznych w leczeniu pacjentów z rakiem trzustki.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Blavier L., Henriot P., Imren S., Declercq Y.A.: Tissue inhibitors of matrix metalloproteinases in cancer. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1999; 878: 108–119
- [2] Bloomston M., Shafii A., Zervos E.E., Rosemurgy A.S.: TIMP-1 overexpression in pancreatic cancer attenuates tumor growth, decreases implantation and metastasis, and inhibits angiogenesis. *J. Surg. Res.*, 2002; 102: 39–44
- [3] Egeblad M., Werb Z.: New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat. Rev. Cancer*, 2002; 2: 161–174
- [4] Ellenrieder V., Alber B., Lacher U., Hendler S.F., Menke A., Boeck W., Wagner M., Wilda M., Friess H., Buchler M., Adler G., Gress T.M.: Role of MT-MMPs and MMP-2 in pancreatic cancer progression. *Int. J. Cancer*, 2000; 85: 14–20
- [5] Evans J.D., Stark A., Johnson C.D., Daniel F., Carmichael J., Buckels J., Imrie C.W., Brown P., Neoptolemos J.P.: A phase II trial of marimastat in advanced pancreatic cancer. *Br. J. Cancer*, 2001; 85: 1865–1870
- [6] Gabryelewicz A.: Choroby nowotworowe przewodu pokarmowego. *Gastroenterologia w praktyce*, red.: A. Gabryelewicz, PZWL, Warszawa 2002, 251–297
- [7] Guo Y., Li X.N., Li S.Y., Zong Z.H., Wang X.R., Yu B.Z.: Zymographic analysis of MMPs in human cerebrospinal fluid with brain tumor. *Zhongguo Yike Daxue Xuebao*, 2000; 29: 10–12
- [8] Gurevich L.E.: Role of matrix metalloproteinases 2 and 9 in determination of invasive potential of pancreatic tumors. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2003; 136: 494–498
- [9] Haq M., Shaehi A.E., Zervos E.E., Rosemurgy A.S.: *In vitro* and *in vivo* matrix metalloproteinase production by pancreatic cancer cells and by distant organs. *Int. J. Surg. Investig.*, 2000; 1: 459–465
- [10] Harvey S.R., Hurd T.C., Markus G., Martinick M.I., Penetrante R.M., Tan D., Venkataraman P., DeSouza N., Sait S.N., Driscoll D.L., Gibbs J.F.: Evaluation of urinary plasminogen activator, its receptor, matrix metalloproteinase-9, and von Willebrand factor in pancreatic cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2003; 9: 4935–4943
- [11] Iki K., Takeo T., Kubozoe T., Aoki S., Hayashi J., Tsunoda T.: Detection of serum MMPs in tumor-bearing hamsters. *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.*, 2002; 9: 478–484
- [12] Ito T., Ito M., Shiozawa J., Naito S., Kanematsu T., Sekine I.: Expression of the MMP-1 in human pancreatic carcinoma: relationship with prognostic factor. *Mod. Pathol.*, 1999; 12: 669–674
- [13] Jinga D.C., Blidaru A., Condrea I., Ardeleanu C., Dragomir C., Szegli G., Stefanescu M., Matache C.: MMP-9 and MMP-2 gelatinases and TIMP-1 and TIMP-2 inhibitors in breast cancer: correlations with prognostic factors. *J. Cell. Mol. Med.*, 2006; 10: 499–510
- [14] Jones L.E., Humphreys M.J., Campbell F., Neoptolemos J.P., Boyd M.T.: Comprehensive analysis of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor expression in pancreatic cancer: increased expression of matrix metalloproteinase-7 predicts poor survival. *Clin. Cancer Res.*, 2004; 10: 2832–2845
- [15] Kołomecki K.: Hamowanie funkcji metaloproteinaz – możliwości zastosowania klinicznego. *Onkol. Pol.*, 2000; 3: 163–167
- [16] Kotulska-Wolwender K., Larysz-Brysz M., Fus Z., Korczyńska I., Górka D., Lewin-Kowalik J.: Metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej – perspektywy ich wykorzystania w medycynie. *Wiad. Lek.*, 2002; 55: 463–471
- [17] Laffleur M.A., Handsley M.M., Edwards D.R.: Metalloproteinases and their inhibitors in angiogenesis. *Expert. Rev. Mol. Med.*, 2003; 5: 1–39
- [18] Lambert E., Dasse E., Haye B., Petitfrere E.: TIMPs as multifacial proteins. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2004; 49: 187–198
- [19] Leppert D., Lindberg R.L., Kappos L., Leib S.L.: Matrix metalloproteinases: multifunctional effectors of inflammation in multiple sclerosis and bacterial meningitis. *Brain Res. Brain Res. Rev.*, 2001; 36: 249–257
- [20] Li Y.Y., McTiernan C.F., Feldman A.M.: Interplay of matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and their regulators in cardiac matrix remodeling. *Cardiovasc. Res.*, 2000; 46: 214–224
- [21] Lowenfels A.B., Maisonneuve P.: Epidemiology and risk factors for pancreatic cancer. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, 2006; 20: 197–209
- [22] Moilanen M., Pirila E., Grenman R., Sorsa T., Salo T.: Expression and regulation of collagenase-2 (MMP-8) in head and neck squamous cell carcinomas. *J. Pathol.*, 2002; 197: 72–81
- [23] Murray G.I., Duncan M.E., Arbuckle E., Melvin W.T., Fothergill J.E.: Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gastric cancer. *Gut*, 1998; 43: 791–797
- [24] Murray G.I., Duncan M.E., O'Neil P., McKay J.A., Melvin W.T., Fothergill J.E.: Matrix metalloproteinase-1 is associated with poor prognosis in oesophageal cancer. *J. Pathol.*, 1998; 185: 256–261
- [25] Murray G.I., Duncan M.E., O'Neil P., Melvin W.T., Fothergill J.E.: Matrix metalloproteinase-1 is associated with poor prognosis in colorectal cancer. *Nat. Med.*, 1996; 2: 461–462
- [26] Nabeshima K., Inoue T., Shimao Y., Sameshima T.: Matrix metalloproteinases in tumor invasion: role for cell migration. *Pathol. Int.*, 2002; 52: 255–264
- [27] Nagakawa Y., Aoki T., Kasuya K., Tsuchida A., Koyanagi Y.: Histologic features of venous invasion, expression of vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9, and the relation with liver metastasis in pancreatic cancer. *Pancreas*, 2002; 24: 169–178
- [28] Nagase H., Woessner J.F.Jr.: Matrix metalloproteinases. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 21491–21494
- [29] Nikkila J., Vihinen P., Vuoristo M.S., Kellokumpu-Lehtinen P., Kahari V.M., Pyrhonen S.: High serum levels of matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase-1 are associated with rapid progression in patients with metastatic melanoma. *Clin. Cancer Res.*, 2005; 11: 5158–5166
- [30] Ottaviano A.J., Sun L., Ananthanarayanan V., Munshi H.G.: Extracellular matrix-mediated membrane-type 1 matrix metalloproteinase expression in pancreatic ductal cells is regulated by transforming growth factor- β 1. *Cancer Res.*, 2006; 66: 7032–7040



- [31] Palosaari H. Matrix metalloproteinases (MMPs) and their specific tissue inhibitors (TIMPs) in mature human odontoblasts and pulp tissue. The regulation of expression of fibrillar collagens, MMPs and TIMPs by growth factors, transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and bone morphogenetic protein-2 (BMP-2). University of Oulu, Oulu Finland 2003
- [32] Patten L.C., Berger D.H.: Role of proteases in pancreatic carcinoma. *World J. Surg.*, 2005; 29: 258–263
- [33] Stadlmann S., Pollheimer J., Moser P.L., Raggi A., Amberger A., Margreiter R., Offner F.A., Mikuz G., Dirnhofner S., Moch H.: Cytokine-regulated expression of collagenase-2 (MMP-8) is involved in the progression of ovarian cancer. *Eur. J. Cancer*, 2003; 39: 2499–2505
- [34] Śliwowska I., Kopczyński Z.: Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej – charakterystyka biochemiczna i kliniczna wartość oznaczenia u chorych na raka piersi. *Współ. Onkol.*, 2005; 8: 327–335
- [35] Torii A., Kodera Y., Uesaka K., Hirai T., Yasui K., Morimoto T., Yamamura Y., Kato T., Hayakawa T., Fujimoto N., Kito T.: Plasma concentration of matrix metalloproteinase 9 in gastric cancer. *Br. J. Surg.*, 1997; 84: 133–136
- [36] Tu F.F., Goldenberg R.L., Tamura T., Drews M., Zucker S.J., Voss H.F.: Prenatal plasma matrix metalloproteinase-9 levels to predict spontaneous preterm birth. *Obstet. Gynecol.*, 1998; 92: 446–449
- [37] Waas E.T., Lomme R.M., DeGroot J., Wobbes T., Hendriks T.: Tissue levels of active matrix metalloproteinase-2 and -9 in colorectal cancer. *Br. J. Cancer*, 2002; 86: 1876–1883
- [38] Wojtowicz-Praga S.M., Dickson R.B., Hawkins M.J.: Matrix metalloproteinase inhibitors. *Invest. New Drugs*, 1997; 15: 61–75
- [39] Yamamoto H., Itoh F., Iku S., Adachi Y., Fukushima H., Sasaki S., Mukaiya M., Hirata K., Imai K.: Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in human pancreatic adenocarcinomas: clinicopathologic and prognostic significance of matrilysin expression. *J. Clin. Oncol.*, 2001; 19: 1118–1127
- [40] Yang X., Staren E.D., Howard J.M., Iwamura T., Bartsch J.E., Appert H.E.: Invasiveness and MMP expression in pancreatic carcinoma. *J. Surg. Res.*, 2001; 98: 33–39
- [41] Ylisirio S., Hoyhtya M., Turpeenniemi-Hujanen T.: Serum matrix metalloproteinases-2, -9 and tissue inhibitors of metalloproteinases-1, -2 in lung cancer-TIMP-1 as prognostic marker. *Anticancer Res.*, 2000; 20: 1311–1316
- [42] Yokoyama M., Ochi K., Ichimura M., Mizushima T., Shinji T., Koide N., Tsurumi T., Hasuoka H., Harada M.: Matrix metalloproteinase-2 in pancreatic juice for diagnosis of pancreatic cancer. *Pancreas*, 2002; 24: 344–347
- [43] Yong V.W., Power C., Forsyth P., Edwards D.R.: Metalloproteinases in biology and pathology of the nervous system. *Nat. Rev. Neurosci.*, 2001; 2: 502–511
- [44] Zhang Q., Chen L.B., Zang J., Chu X.Y.: Detection of matrix metalloproteinases in urine of breast cancer patients with zymography. *Nanjing Daxue Xuebao*, 2002; 38: 192–195
- [45] Zucker S., Hymowitz M., Conner C., Zarrabi H.M., Hurewitz A.N., Matrisian L., Boyd D., Nicolson G., Montana S.: Measurement of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in blood and tissues. Clinical and experimental applications. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1999; 878: 212–227