

基质金属蛋白酶及其抑制剂在肿瘤发展和治疗中的作用

李莉, 刘少扬, 江大琼

关键词: 基质金属蛋白酶; 肿瘤; 肿瘤治疗

中图分类号: R730.231; R730.59

文献标识码: A

文章编号: 1000-8578(2004)02-0123-03

0 引言

基质金属蛋白酶(MMP)是锌依赖性的内切酶超家族,它几乎能降解细胞外基质的所有成分,其与肿瘤的浸润转移密切相关,已成为目前研究的热点。随着研究的深入,又发现MMP家族在肿瘤发展中的许多新功能,如调节生长、调节凋亡、促进血管形成等。使用其抑制剂治疗肿瘤亦成为肿瘤研究的新方向。

1 MMP 简介

1.1 MMP 的分类

现一般将MMP分为四组:第一组为基质裂解蛋白类,包括基质裂解蛋白1(MMP-3),基质裂解蛋白2(MMP-10),基质裂解蛋白3(MMP-11)和基质裂解素(MMP-7);第二组为胶原酶类,包括间质胶原酶(MMP-1),中性粒细胞胶原酶(MMP-8)和胶原酶-3(MMP-13);第三组为明胶酶类,包括明胶酶A(MMP-2)和明胶酶B(MMP-9);第四组为膜型基质金属蛋白酶类,包括膜型基质金属蛋白酶(MMP-14),膜型基质金属蛋白酶(MMP-15),膜型基质金属蛋白酶(MMP-16)和膜型基质金属蛋白酶(MMP-17)。

1.2 MMP 的调节

MMP基因表达调节在多个水平上进行,包括生长因子、炎性细胞因子和癌基因对于MMP转录水平调节;mRNA稳定性的转录后水平调节;无活性前体到活性蛋白转变的翻译后调节;以及组织中内源性的MMP活性抑制剂,即基质金属蛋白酶组织抑制剂(TIMP)等的调节。

2 MMP 在肿瘤发展中的作用

在肿瘤发展过程中细胞有六个基本变化:产生自主生长信号、对生长抑制信号不敏感、逃避凋亡、

无限扩增、稳定的血管生成、组织浸润和转移^[1]。早期研究认为MMP仅在浸润和转移中发挥作用,现发现其参与了其中多个步骤。

2.1 MMP 与生长

Bergers^[2]通过小鼠实验发现:与野生型小鼠相比,MMP-9缺乏小鼠其癌细胞扩增明显下降,这表明MMP能产生生长启动信号。目前所知,MMP可通过三种途径启动癌细胞增殖。第一,MMP可使某些与细胞结合的生长因子前体释放出来,如TGF- β 。第二,某些肽类生长因子被细胞外基质蛋白所分隔,一旦MMP将这些蛋白降解,这些生长因子就会产生生物学活性,如胰岛素样生长因子相关蛋白被MMP降解,胰岛素样生长因子就被激活,发挥其促生长作用。第三,MMP可以通过作用于细胞外基质成分,如整合素,间接调节增殖信号。而且,MMP还可以通过活化TGF- β ^[3]或产生凋亡分子前体,如FAS配体,来反向调节肿瘤细胞生长^[4]。

2.2 MMP 与凋亡

MMP既有促凋亡作用又有抗凋亡作用。MMP-3,MMP-7,MMP-9,MMP-11都可调节凋亡。Alexander等^[5]发现当MMP-3在乳房上皮内高表达可诱导凋亡。其机理可能是降解了层粘蛋白。MMP-7可释放FAS配体结合死亡受体FAS,FAS配体根据其所处系统的不同,或诱导邻近细胞的凋亡,或抑制肿瘤细胞的凋亡^[4]。另外,MMP-7也可促进肝素结合表皮生长因子前体转化为肝素结合表皮生长因子,而后者可通过刺激酪氨酸激酶受体来提高细胞生存时间。MMP-11也可抑制癌细胞的凋亡^[6]:过表达的MMP-11可降低肿瘤细胞系自发凋亡,其机制可能是活化了一种存活因子——胰岛素样生长因子。虽然MMP-9和MMP-11都降低了癌细胞的凋亡,但有资料表明,在生长发育过程中它们也可促进凋亡。

2.3 MMP 与血管生成

动物实验表明不论是人工合成的还是内源性的MMP抑制剂都能抑制肿瘤新生血管的形成。由此间接证明MMP是重要的血管生成正性调节剂。

收稿日期:2002-11-26;修回日期:2003-02-17

作者单位:430071 武汉大学中南医院妇瘤科

MMP-2, MMP-9, MMP-14 都能直接调节血管生成。其机制可能是 MMP 降解细胞外基质, 使内皮细胞进入肿瘤间质。在鸡绒毛膜尿囊膜模型中, MMP-2 低表达的肿瘤血管生成下降。其机制为 MMP-2 降解型胶原, 使其与整合素 $\alpha_3\beta_1$ 结合位点得以暴露。用抗体封闭此结合位点可降低内皮细胞的转移、体外血管的生成和肿瘤生长^[7]。MMP-9 表现出明显的促血管形成作用, 虽然目前对其机制还不甚清楚, 但有资料表明可能与激活 VEGF 有关^[2]。MMP-14 可降解新生血管周围的纤维蛋白基质, 促进内皮细胞进一步进入肿瘤组织。

2.4 MMP 与浸润转移

在转移过程中癌细胞必须穿过几道细胞外基质屏障。首先, 癌细胞必须穿过上皮基底膜浸润周围间质, 然后进入血管或淋巴管, 最后穿出血管或淋巴管, 在新的位置形成转移灶。

在浸润过程中癌细胞必须摆脱邻近细胞和周围间质。MMP-2 和 MMP-14 可降解层粘蛋白, 使其隐蔽位点暴露, 启动细胞死亡。MMP-14 可裂解 CD44, 使其细胞外区暴露, 促进 MMP-9 与 CD44 的结合, 定位于细胞表面。MMP-9 必须与 CD44 结合于细胞表面才能发挥其促进浸润作用。在调节浸润中发挥作用的是循环中和定位了的 MMP 活性, 而不是 MMP 持续高活性状态^[8]。

MMP 也参与了转移过程的晚期事件, 如癌细胞进入血管并存活。实验发现, MMP-9 可促进肿瘤组织进入血管或淋巴管, 而不明显促进其穿出血管或淋巴管。但抑制了 MMP-9 表达的实验组与对照组相比, 转移灶生长较缓慢, 病灶较对照组小 40%。由此可见, 转移灶的增殖与 MMP 的活性相关^[8]。

MMP 促进肿瘤转移的作用有组织特异性。MMP-1 抑制剂 TIMP-1 高表达的小鼠其肝转移和脑转移都较对照组低, 但肺转移无明显变化^[9-11]。

2.5 MMP 与肿瘤免疫应答

免疫系统可识别并攻击癌细胞。但癌细胞可通过多种途径避免免疫监视, MMP 就是其中一种途径。肿瘤炎症浸润包括细胞毒性 T 细胞、自然杀伤细胞、中性粒细胞、巨噬细胞等。IL-2R 可调节淋巴细胞的增殖, MMP 可裂解 IL-2R, 从而抑制 T 细胞的增殖^[12]。MMP 还可激活 TGF- β , 后者可明显抑制 T 细胞对肿瘤的免疫应答^[13]。MMP-11 可抑制中性粒细胞和巨噬细胞的聚集。MMP 还可作用于趋化因子, 如 CXCL8、CXCL7 等, 上调或下调白细胞的生成^[14]。

3 MMP 抑制剂与肿瘤治疗

不论是抑制 MMP 合成, 还是抑制 MMP 与其他蛋白间相互作用, 或者直接抑制 MMP 活性, 都可以抑制 MMP 的促瘤作用, 以达到治疗肿瘤的目的。

3.1 抑制 MMP 合成

抑制 MMP 合成有直接和间接两种途径。反义 mRNA 或寡核苷酸转染的细胞可直接抑制 MMP 合成。Yonemura^[15] 采用此方法在大鼠模型中下调了 MMP-9、MMP-7 的表达, 从而减小肿瘤范围并抑制了转移。此技术能否应用于临床已成为目前讨论的焦点。也可采用间接方法阻断 MMP 转录的信息传递途径, 以达到抑制 MMP 合成的目的。目前有几种阻断酪氨酸激酶受体信息传递途径的药物已进入临床实验阶段。

3.2 抑制 MMP 与其他蛋白间相互作用

阻断 MMP 与其他蛋白间相互作用同样可以抑制 MMP 作用。Silletti^[16] 成功地用一种有机化合物在动物实验中抑制了 MMP-2 与整合素 $\alpha_3\beta_1$ 结合, 从而抑制了 MMP-2 作用。虽然此方法目前还未得到临床验证, 但它很可能成为一种既抑制了 MMP-2 的促瘤作用, 又保留了其潜在的抑瘤作用的方法, 而且此方法在动物实验中已取得肯定效果。

3.3 抑制 MMP 活性

抑制 MMP 最直接的方法就是抑制其酶活性。组织抑制剂 TIMP-2、TIMP-4 在实验模型中都表现出较高功效^[17], 但 TIMPS 可能也有与 MMP 无关的促进肿瘤发展的生物活性, 如 TIMP-1 和 TIMP-2 都可抑制肿瘤细胞凋亡。为了解决这个问题, 现已人工合成三类 MMP 抑制剂: 胶原拟肽类物质、胶原非拟肽类物质、四环素类衍生物。另一类已应用于临床实验的新 MMP 抑制剂为微肽, 此物质在动物实验中表现出抑制 MMP-2、MMP-9 的明确效果^[18]。

拟肽类 MMP 抑制剂主要是竞争 MMP 与底物的结合位点, 包括 Batimastat 和 Marimastat。Batimastat 现已不用于治疗人类肿瘤的实验。Marimastat 已进入三期临床实验。遗憾的是其实验结果并不理想。用 Marimastat 治疗晚期胰腺癌的实验中, 使用各种剂量 Marimastat 的治疗组生存率并不比用传统化疗的对照组高, 但大剂量的 Marimastat 与传统疗法同样有效^[19]。

另一个治疗晚期胃癌的临床实验中, 在预定时间内 Marimastat 没有提高生存率, 但经过提前化疗的病人组其生存率明显高于未提前化疗的对照组。

非拟肽类 MMP 抑制剂是根据 MMP 活性位点合成的, 主要包括 BAY12-9566、Drinomastat/

AG3340、BMS275291 和 CGS27023A/MMI270。BAY12-9566 在临床实验显示了较小的副作用,但因实验组与对照组相比生存率明显降低,不得不停止实验^[20]。

四环素类衍生物既可抑制 MMP 活性又可抑制其合成。没有抗菌活性的四环素同形物已被应用于治疗癌症。CoF3 治疗 Kaposi's 肉瘤和晚期脑肿瘤已进入二期临床实验。

3.4 MMP 抑制剂实验存在的问题

目前 MMP 抑制剂临床实验效果多不理想,这在很大程度上与实验设计有关。首先,现在大多数 MMP 抑制剂都是与细胞毒药物比较,且多用于晚期癌症患者。而 MMP 本身就是一种细胞毒物质,与细胞毒药物比较疗效当然无明显提高。而且 MMP 抑制剂主要抑制肿瘤新生血管生成,对于已有血管生成的晚期肿瘤患者,其效果当然就不理想。第二,目前的实验多采用最大耐受量或最小剂量的 MMP 抑制剂。用最大耐受量 MMP 抑制剂,往往失去了对 MMP 的选择性。而某些 MMP 可能具有抑癌作用。相反,另一些实验因为考虑到副作用而采用了小剂量,又起不到抑制作用。所以,虽然目前 MMP 抑制剂实验效果并不理想,但不应放弃这种治疗手段,而应改进实验方法。相信随着研究的深入,MMP 在肿瘤中的作用将得到新的认识,其抑制剂在肿瘤治疗中也必会取得新的突破。

参考文献:

[1] Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer[J]. Cell, 2000, 100 (1) : 57-70.

[2] Bergers G, Brekken R, McMahon G, et al. Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis[J]. Nature Cell Biol, 2000, 2 (10) : 737-744.

[3] Derancinck, Akhurst RJ, Balmain A. TGF- β signaling in tumor suppression and cancer progression[J]. Nature Genet, 2001, 29 (2) : 117-129.

[4] Mitsiades N, Yu WH, Poulaki V, et al. Matrix metalloproteinase-7-mediated cleavage of Fas ligand protects tumor cells from chemotherapeutic drug cytotoxicity[J]. Cancer Res, 2001, 61 (2) : 577-581.

[5] Alexander CM, Howard EW, Bissell MJ, et al. Rescue of mammary epithelial cell apoptosis and induction of apoptosis by tissue inhibitor of metalloproteinase-1 transgene[J]. J Cell Biol, 1996, 135 (6) : 1669-1677.

[6] Wu E, Mari BP, Wang F, et al. Stromal cell apoptosis in a murine model of tumor cell apoptosis[J]. J Cell Biochem, 2001, 82 (4) : 549-555.

[7] Fan G, Shin GY, Yan L, et al. Matrix metalloproteinase-2 is required for switch to the angiogenic phenotype in a murine model[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97 (8) : 3884-3889.

[8] Kajita M, Itoh Y, Chiba T, et al. Membrane-type 1 matrix metalloproteinase cleaves CD44 and promotes cell migration[J]. J Cell Biol, 2001, 153 (5) : 893-940.

[9] Krieger A, Fata JE, Khokha R. Altered tumor growth and metastasis of T-cell lymphoma in Timp-1 transgenic mice[J]. Blood, 1997, 90 (5) : 1993-2000.

[10] Krieger A, Martin DC, Fata JE, et al. Host TIMP-1 overexpression confers resistance to experimental brain metastasis of fibrosarcoma cell line[J]. Oncogene, 1998, 16 (18) : 2419-2423.

[11] Soloway PD, Alexander C, Werb Z, et al. Targeted mutation of TIMP-1 reveals that lung tumor invasion is influenced by TIMP-1 genotype of the tumor but not by that of the host[J]. Oncogene, 1996, 13 (11) : 2307-2314.

[12] Sheu BC, Hsu SM, Ho HM, et al. A novel role of membrane-type 1 metalloproteinase in cancer-mediated immunosuppression[J]. Cancer Res, 2001, 61 (1) : 237-242.

[13] Gorelik L, Flavell RA. Immune-mediated eradication of tumors through the blockade of transforming growth factor- β signaling in T cells[J]. Nature Med, 2001, 7 (10) : 1118-1122.

[14] Müller A, Homey B, Soto H, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis[J]. Nature, 2001, 410 (3) : 50-56.

[15] Yonemura Y, Endo Y, Fujita H, et al. Inhibition of peritoneal dissemination in human gastric cancer by MMP-7-specific antisense oligonucleotide[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2001, 20 (2) : 205-212.

[16] Silletti S, Kessler T, Goldberg J, et al. Disruption of matrix metalloproteinase 2 binding to integrin α 3 β 1 or α 6 β 1 inhibits angiogenesis and tumor growth in vivo[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 98 (1) : 119-124.

[17] Celiker MY, Wang M, Liu X, et al. Inhibition of Wilms' tumor growth by intramuscular administration of tissue inhibitor of metalloproteinase-4 plasmid DNA[J]. Oncogene, 2001, 20 (32) : 4337-4343.

[18] Koivunen E, Arap A, Valtanen H, et al. Tumor targeting with selective gelatinase inhibitor[J]. Nature Biotechnol, 1999, 17 (8) : 768-774.

[19] Bramhall SR, Rosemurgy A, Brown PD, et al. A Marimastat first-line therapy for patients with unresectable pancreatic cancer: a randomized trial[J]. J Clin Oncol, 2001, 19 (15) : 3447-3455.

[20] Hirte H, Goel R, Chiba T, et al. A phase I dose escalation study of the matrix metalloproteinase inhibitor BAY 12-9566 administered orally in patients with advanced solid tumor[J]. Ann Oncol, 2000, 11 (12) : 1579-1584.

(周永红校对)