

## 以MMPs为靶点的抗肿瘤药物研究

贾玉杰, 崔慧斐\*

(山东大学药学院生化与生物技术药物研究所, 济南 250012)

**摘要:** 恶性肿瘤致死率居高不下的原因与其恶性侵袭和转移特性密切相关。基质金属蛋白酶MMPs可降解细胞基底膜和细胞外基质, 在肿瘤侵袭和转移过程中发挥着重要的作用, 因此以MMPs为靶点的抗肿瘤侵袭和转移药物现已成为研究热点之一。本文对MMPs结构功能及目前以MMPs为靶点的抑制剂作为抗肿瘤药物的研究做了综述。

**关键词:** 肿瘤侵袭与转移; 基质金属蛋白酶; 基质金属蛋白酶抑制剂

## Study of anti-tumor drugs targeting MMPs

JIA Yujie, CUI Huifei\*

(Institute of Biochemical and Biotechnological Drugs, School of Pharmaceutical Sciences, Ji'nan 250012, China)

**Abstract:** The high mortality rate of malignant tumor is related to its characteristics of invasion and metastasis. Matrix metalloproteinases (MMPs) play key roles in tumor invasion and metastasis because of its ability to degrade basement membrane (BM) and extracellular matrix (ECM). Therefore, anti-tumor drugs targeting MMPs have become a research hotspot. In this review, the structures and functions of the MMPs and their inhibitors were summarized.

**Key Words:** invasion and metastasis; matrix metalloproteinases; MMP inhibitor

癌症已经成为中国人群死亡的首要原因和主要的公共健康问题。以2015年为例, 中国新发浸润性肿瘤429.2万例, 死亡病例281.4万例, 相当于每天约7500人死于癌症<sup>[1]</sup>。肿瘤致死率居高不下的一个重要原因是其恶性侵袭和转移特性。肿瘤的侵袭是指恶性肿瘤从原发瘤或继发瘤向邻近的宿主组织侵犯或占领的过程; 转移是指肿瘤细胞从原发部位转移到远处器官并形成新的转移灶。侵袭和转移是密不可分的复杂多步骤过程。正常情况下, 细胞和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)共同组成了高度有序的组织结构。肿瘤细胞可降解细胞基底膜(basement membrane, BM)和ECM, 即侵袭, 随后发生转移。侵袭和转移的步

骤包括: (1)肿瘤细胞粘附ECM和BM, 侵袭其周围基质; (2)肿瘤细胞进入人体循环系统; (3)肿瘤细胞粘附内皮细胞, 向血管外迁移, 进行血源性转移; (4)肿瘤细胞增殖, 新生血管生成, 新的转移灶形成<sup>[2]</sup>。在此过程中, ECM和BM的降解是肿瘤转移的重要标志之一。BM和ECM是机体的重要屏障, 主要成分是IV型胶原、层粘连蛋白和硫酸乙酰肝素蛋白聚糖(heparan sulfate proteoglycan, HSPG)等。肿瘤侵袭转移过程中会释放多种蛋白水解酶, 如基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)、乙酰肝素酶(heparinase, HPA)、纤溶酶等。其中, MMPs在ECM和BM降解过程中发挥重要作用, 近年来已成为抗肿瘤侵袭和转移的重

收稿日期: 2017-02-23

基金项目: 山东省重大专项课题(2015ZDJS04001; 2015ZDJS04002); 山东省重点研发计划项目(2015GSF118042)

\*通信作者: E-mail: cuihuifei@sdu.edu.cn

要靶点。

## 1 MMPs简介

### 1.1 MMPs的结构和生物学功能简介

MMPs是一类依赖于 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 的内肽酶，据其结构可分为20多种。已有研究表明，MMPs可以降解ECM和BM的多种成分，在胚胎发育、炎症、血管生成、免疫、肿瘤侵袭和转移中均发挥重要作用<sup>[3-4]</sup>。结构上，MMPs家族均存在三个保守序列，分别为N端前肽区、催化区(有高度保守的锌结合片段)和C端血红素结合蛋白样结构域，在N端前肽区存在半胱氨酸序列，C端有结合于催化区的

柔性铰链，其结构示意图如图1所示<sup>[5]</sup>。

除MMPs家族所共有的三个保守序列外，大多数MMPs还具有其他特殊序列，这些结构域对底物识别及抑制剂结合具有重要意义。图2表示了20种MMPs所特有的结构序列<sup>[5]</sup>。

根据其结构、作用底物和所在细胞部位的不同，将MMPs家族分为了5个不同的亚型，分别是胶原酶(collagenases)、明胶酶(gelatinases)、基质溶解素(stromelysins)、膜型MMPs(membrane type MMPs, MT-MMPs)及其他MMPs。其分类及作用底物具体如表1所示。

正常情况下，MMPs在组织中表达较低，但研

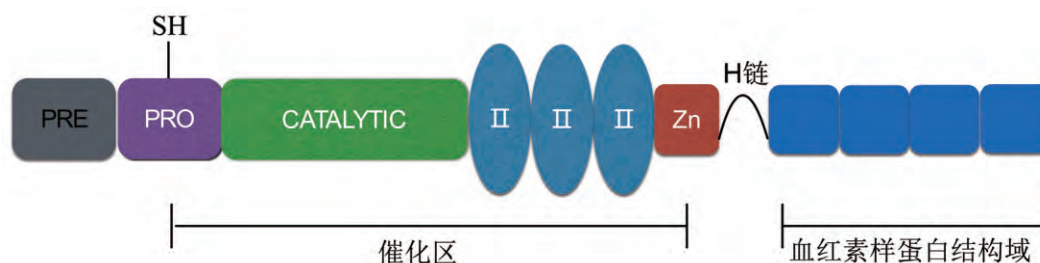


图1 MMPs结构示意图

表1 MMPs家族分类

MMPs分类	MMPs编号	别名	分子量(酶原型/激活型)	水解底物
胶原酶	MMP-1	胶原酶-1	57/48	I、II、III、VII、X型胶原，明胶
	MMP-8	胶原酶-2	85/65	I、II、III型胶原明胶
	MMP-13	胶原酶-3	60/48	I、II、III型胶原
	MMP-18	胶原酶-4	55/42	--
明胶酶	MMP-2	明胶酶A	72/66	I、II、III、IV、V、X型胶原，明胶
	MMP-9	明胶酶B	92/84	X型胶原，明胶
基质溶解素	MMP-3	基质溶解素-1	60/50	III、IV、V型胶原，明胶
	MMP-10	基质溶解素-2	53/47	粘连蛋白，III、IV型胶原
	MMP-11	基质溶解素-3	65/45	粘连蛋白，层粘连蛋白
膜型MMPs	MMP-14	膜型1-MMP	63/54	MMP-2酶原型
	MMP-15	膜型2-MMP	72/61	MMP-2酶原型
	MMP-16	膜型3-MMP	64/55	MMP-2酶原型
	MMP-17	膜型4-MMP	70/54	--
其他MMPs	MMP-4	端肽酶	--	L型胶原，粘连蛋白
	MMP-7	基质水解酶	28/21	粘连蛋白，层粘连蛋白，明胶
	MMP-6	酸性金属蛋白酶	--	软骨，蛋白聚糖
	MMP-12	巨噬细胞弹性蛋白酶	52/43	IV型胶原，粘连蛋白，弹性蛋白

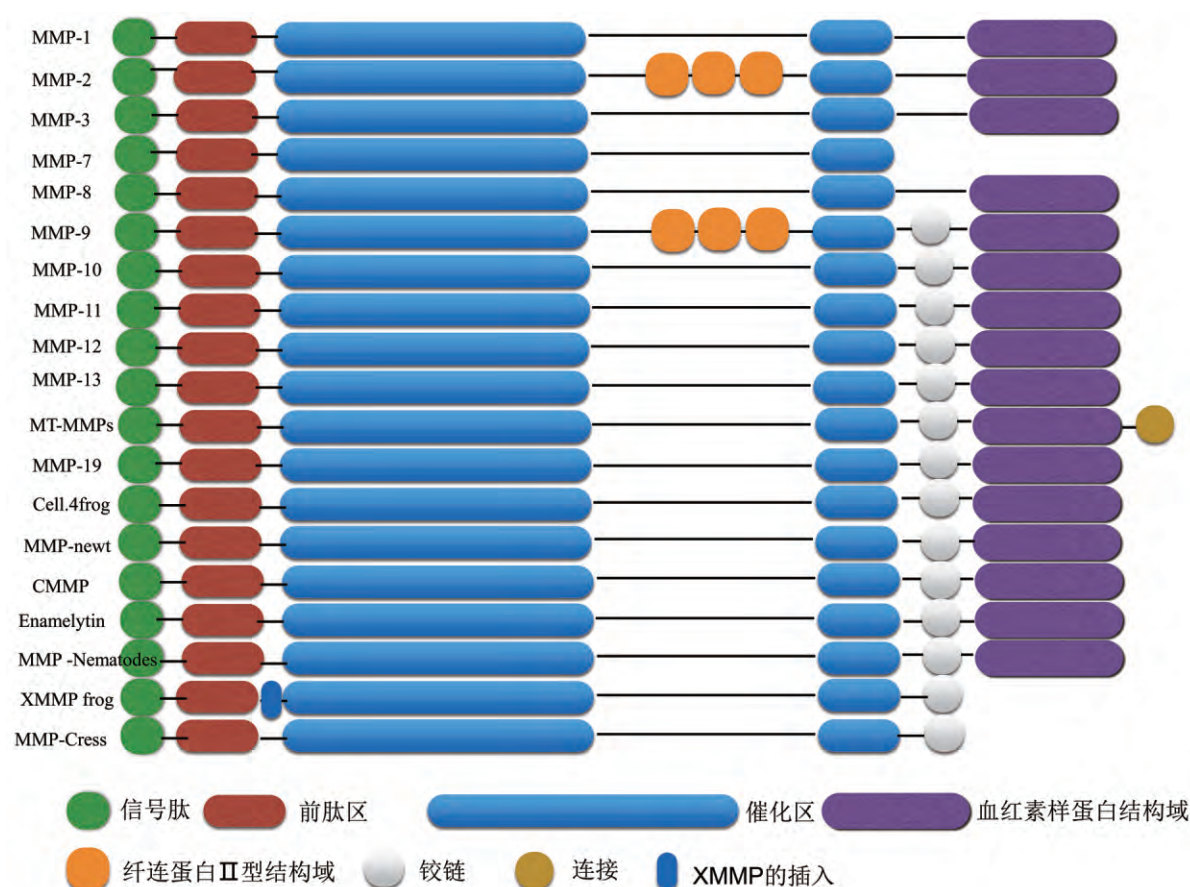


图2 MMPs家族结构示意图

研究发现, MMPs几乎在所有的肿瘤细胞中都表达上调, 并在降解BM和ECM、促进肿瘤侵袭和转移过程中发挥着重要作用<sup>[6]</sup>。ECM和BM主要成分为多种胶原蛋白, 此外还含有层粘蛋白\纤连蛋白\玻璃粘连蛋白\蛋白聚糖等。其中, 胶原蛋白的主要成分是IV型胶原, 而MMP-2、MMP-9可切割IV型胶原, 使原本隐藏在基底膜的相关位点暴露出来, 如MMP-2可通过降解层粘蛋白-5(Ln-5), 使原本隐藏的Ln-5结合位点暴露, 从而促进下一阶段癌细胞迁移<sup>[7-8]</sup>。同时, MMPs还可以通过降解ECM释放或激活多种生长因子, 如转化生长因子- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ )、TGF- $\beta$ 、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、胰岛素样生长因子(IGF)、成纤维细胞生长因子受体-1(FGFR-1)等<sup>[9-11]</sup>, 为肿瘤细胞穿过BM创造有利条件, 而基质的降解是肿瘤侵袭和转移的重要步骤。因此, MMPs与肿瘤的侵袭和转移密切相关。

除此之外, MMPs还可以增强肿瘤细胞与宿主细胞间的粘附, 降解毛细血管内皮下BM, 促进肿瘤新生血管生成等<sup>[12]</sup>, 进一步为肿瘤的侵袭和转移提供有利条件。总之, MMPs在原发和继发性肿瘤的生长、转移及癌组织的血管生成过程中都起到了十分关键的作用。

## 1.2 MMPs的表达与调控

MMPs在正常组织中表达一般较低, 其分泌水平受多种因素影响。总的来讲, 其表达与调控主要从三方面进行: 基因表达调控、酶原活化过程的调控和MMPs生理抑制物的调节。

MMPs基因表达转录调控由转录因子介导。每种MMPs基因的启动子内包含多种转录因子结合位点, 如激活蛋白-1(AP-1)位点、Ets转录因子PEA3、核转录因子NF- $\kappa$ B、信号转导和转录激活因子(STAT)家族等<sup>[13]</sup>。许多因素, 如生长因子、细胞因子、激素或药物等, 可诱导或抑制转录因



子的表达和活化,从而启动或关闭 MMPs的基因表达,调控MMPs的表达。

MMPs以无活性酶原形成分泌,只有被活化后才能降解ECM,因此MMPs的活化过程也是MMPs发挥生理功能的重要调控过程。目前普遍认可的MMPs活化途径是通过纤溶酶原激活剂(plasminogen activator, PA)启动的瀑布式酶联激活反应。在活化过程中,MMPs的前肽区被打开,其中的半胱氨酸序列与锌离子分开,从而暴露出锌离子活性中心,使MMPs活化。

组织金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMPs)是机体内存在的MMPs天然特异性抑制剂。目前在人体内共发现了四种TIMPs(TIMP-1~4),作为MMPs特异性抑制剂,4种TIMP都能以非共价键的形式与MMPs催化区 $Zn^{2+}$ 结合位点牢固结合,从而起到抑制MMPs降解BM和ECM的作用。因此,MMP/TIMP的平衡也是影响体内MMPs活性的重要因素之一<sup>[14]</sup>。

## 2 MMPs抑制剂研究

由于在肿瘤侵袭和转移中发挥重要作用,近几年MMPs抑制剂的研究成为抗肿瘤研究的热点之一。目前,MMPs抑制剂主要分为以下几类。

### 2.1 天然抑制剂

#### 2.1.1 TIMPs

前已提及,TIMPs是MMPs的天然抑制剂。TIMPs是多基因家族编码蛋白,主要由成纤维细胞、角质细胞、单核巨噬细胞、内皮细胞等产生,并广泛分布于组织和体液中。目前,在人体内共发现了4种TIMPs(TIMP-1~4),4种TIMPs结构上均有12个保守的半胱氨酸残基,可形成6个环状结构,其在氨基酸序列的一级结构上有30%~40%的同源性。其中,TIMP-1、TIMP-2、TIMP-4以可溶性小相对分子质量多肽的形式分泌;而小相对分子质量多肽TIMP-3以不溶性形式分泌,且与分泌细胞和基质组分间的相互作用机制有关<sup>[15-17]</sup>。

TIMP-1是由184个氨基酸残基和6个分子间二硫键组成的糖蛋白,它主要抑制MT-MMP、MMP-19的活性<sup>[18]</sup>。此外,TIMP-1还可以与活化或非活化状态的MMP-9结合,抑制其水解活性,同时也阻断MMP-9对MMP-3的激活作用。TIMP-1还具有转

录抑制作用,可抑制MMPs基因的转录<sup>[19]</sup>。TIMP-2是由194个氨基酸残基组成的蛋白质,与MMP-2有很高的亲合性<sup>[20]</sup>。TIMP-2对MMPs家族所有成员几乎都有抑制作用,同时还可抑制MMP-2,MMP-9等对IV型胶原的水解<sup>[21]</sup>。TIMP-3最初是从SV-40转化鸡胚成纤维细胞中分离得到,它只存在于ECM中,并对ECM组分有极强的亲和力,可阻碍转化的成纤维母细胞对ECM的粘附作用<sup>[22]</sup>;TIMP-4由224个氨基酸残基组成,其分泌水平在人体脏器差异较大,以心脏最为丰富。所有TIMPs都能以非共价键的形式与MMPs催化区 $Zn^{2+}$ 结合位点紧密结合,从而起到抑制MMPs降解BM和ECM的作用,因此对抑制肿瘤细胞的侵袭转移有重要作用。此外,还有研究表明TIMPs能阻止或延缓MMPs的激活过程。

#### 2.1.2 其他天然抑制剂

除TIMPs之外,还存在其他天然的MMPs抑制剂,如目前,Endostatin及Angiostatin已完成临床I期和II期试验<sup>[23-26]</sup>,目前主要作为辅助用药与其他化疗药物联合应用,如重组Endostatin与亚叶酸钙/5-氟尿嘧啶/奥沙利铂(leucovorin calcium/5-fluorouracil/oxaliplatin, FOLFOX4)联合应用于晚期结肠癌<sup>[27]</sup>,Angiostatin与贝伐单抗联合应用于神经胶质瘤<sup>[28]</sup>。Endostatin是一种内皮细胞增殖及血管生成抑制剂,从小鼠血管内皮瘤EOMA细胞株中分离获得,结构与X、VIII型胶原的羧基端具有同源性,可与MMPs的活性中心结合,达到抑制MMPs活性的作用<sup>[29]</sup>。Endostatin能够调节内皮细胞中的基因表达,通过下调促血管形成基因(如bFGF、VEGF等)表达,上调抗血管形成基因(如HIF-1AN、thrombospondin-1等)表达双向调节肿瘤引起的病理性血管新生;同时,Endostatin还可下调促血管形成信号传递途径,发挥广泛的抗血管生成作用。但Endostatin应用有其局限性,它在体外不稳定,在体内的半衰期短,需长期、大剂量用药,价格昂贵,这些缺点使其在临床应用受到了局限。

Angiostatin也是一种内皮细胞增殖抑制剂,从血纤维蛋白溶酶原中提取得到<sup>[30]</sup>。Angiostatin用来治疗血管原性疾病,抑制肿瘤血管生成,靶细胞主要是肿瘤的血管内皮细胞,靶向性较强,因

此毒副作用较低。研究表明, Angiostatin在体外可特异性地抑制血管内皮细胞的增生、迁移和新生血管形成过程<sup>[31]</sup>。目前也已经有多项研究考察了天然及重组Angiostatin对多种肿瘤如结肠癌、乳腺癌、黑色素瘤等的抑制作用, 细胞及动物实验结果均表明Angiostatin显著抑制原发瘤生长, 抑制转移灶形成和发展<sup>[32]</sup>。但Angiostatin治疗周期长, 停药后复发率高, 并且不能使肿瘤完全消退, 因此在临床上应用也受到限制。

Neovastat(AE-941)也是一类MMPs的天然抑制剂, 从鲨鱼软骨中提取获得, 并可被人体口服吸收。Neovastat主要通过调控VEGF介导的信号转导通路抑制肿瘤血管增生, 通过抑制MMP-2、MMP-9、MMP-12、MMP-13的活性, 起到多重抗血管生成作用<sup>[33]</sup>。Neovastat在动物模型中表现出明显的抗肿瘤和抗转移作用, 且副作用少, 适于长期用药。目前, Neovastat已在非小细胞肺癌患者身上完成III期临床试验, 但效果并不理想<sup>[34]</sup>。

## 2.2 肽类MMPs抑制剂

TIMPs和其他MMPs天然抑制剂作为大分子蛋白质, 存在着易降解、口服吸收不良、产量低等问题, 限制了其临床应用, 而人工合成小分子化合物不存在以上问题, 因此临床应用前景十分广阔, 成为研究的热门领域之一。目前已有多种人工合成的MMPs抑制剂, 其中, 肽类MMPs取得了较大进展。肽类MMPs抑制剂是一类与MMPs作用底物肽链相似的化合物, 该化合物可以立体专一的形式与MMPs活性位点结合, 并与活性位点中的 $Zn^{2+}$ 螯合, 从而起到抑制MMPs活性的作用。目前主要有3种肽类MMPs抑制剂成功合成, 其结构均为异羟酸盐类衍生物, 包括Batimastat(BB-94)、Marimastat和Salimastat。异羟酸盐类衍生物作为纤维胶原蛋白的结构类似物, 可以通过与催化位点处的 $Zn^{2+}$ 结合, 显著抑制多种MMPs活性。

### 2.2.1 Batimastat(BB-94)

Batimastat(BB-94)是一种异羟酸盐衍生物, 是最早合成并应用于临床试验的第一代MMPs抑制剂, 相对分子质量为474<sup>[35]</sup>。Batimastat与MMPs作用底物的肽链结构相似, 能显著抑制多种MMPs(如MMP-1、-2、-7和-9)的活性。Batimastat还可以通过抑制肿瘤细胞高表达MMPs抑制肿瘤侵

袭性生长和新生血管生成, 因此, 它既可以抑制新生肿瘤转移灶形成, 又能抑制原位实体瘤的生长。目前, Batimastat已经作为抑制结肠癌的辅助药进入到III期临床试验阶段, 但因实验过程中发现其口服生物利用率低而被叫停。

### 2.2.2 Marimastat

Marimastat是将Batimastat进一步改造, 通过将Batimastat中大的环状结构替换为小的叔丁基和羟基, 保护其三肽结构, 同时也降低了对肽酶的敏感性, 增加了氢键数目和水溶性, 从而提高了其口服生物利用度。Marimastat是最早进入临床II期试验的口服类MMPs抑制剂<sup>[36]</sup>, 属于第二代MMPs抑制剂。Marimastat结构类似于胶原分子的起始片段, 因此能可逆性的与MMPs中含 $Zn^{2+}$ 的活性区域结合, 从而抑制其活性。研究显示, Marimastat抗肿瘤活性要明显高于其他MMPs抑制剂, 它能有效减少肿瘤转移数目及大小, 并造成原发癌中心坏死, 显著减少肿瘤生长与局部浸润, 此外, 它还具有抗肿瘤血管生成等作用<sup>[37]</sup>。Marimastat在I期临床试验中对晚期胃癌患者表现出良好的效果, 然而当其应用于胰腺癌和结肠癌患者时, 并未表现出明显作用, 提示其可能只在胃肠道癌症中有作用。除此之外, 高剂量的Marimastat还易引发严重的关节炎等副作用<sup>[38]</sup>, 后来因发现在III期临床实验中对乳腺癌、肺癌患者无明显作用终止了其临床研究<sup>[39]</sup>。

## 2.3 非肽类MMPs抑制剂

肽类MMPs抑制剂一般水溶性较差、选择性较低, 为了克服这一缺点, 通过基于MMPs活性位点的3D-X射线晶体构型技术, 进一步合成了一系列非肽类MMPs抑制剂。此类抑制剂作用特异性更高, 口服吸收度更好, 主要有AG3340、BAY12-9566、CGS27023A等。

### 2.3.1 AG3340

AG3340属于第三代合成的MMPs抑制剂, 是一类人工合成的小分子非肽类化合物, 其结构类似于胶原蛋白片段, 可选择性抑制MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-13和MMP-14的基因转录以及酶的活性<sup>[40]</sup>。AG3340腹腔注射或口服均表现出广泛的抗肿瘤活性。研究表明, 它对前列腺癌、结肠癌、乳腺癌和非小细胞肺癌等异种移植肿瘤模

型均表现出抑制作用<sup>[41-42]</sup>。AG3340作用机制可能与其抑制肿瘤细胞增殖、肿瘤转移、新生血管生成以及诱导肿瘤细胞凋亡有关。AG3340在I、II期临床试验表现出良好的疗效,但III期临床试验中对非小细胞肺癌(NSCLC)未表现出明显效果。

### 2.3.2 BAY12-9566

BAY12-9566是一类可口服吸收的联苯类化合物,可抑制MMP-2、MMP-3、MMP-9、MMP-13和MMP-14<sup>[43]</sup>,其主要通过抑制MMPs对ECM的降解、抗血管生成而被应用于胰腺癌。在III期临床研究中,当BAY12-9566与吉西他滨联合应用时表现出一定的治疗作用<sup>[44]</sup>。

### 2.4 四环素类MMPs抑制剂

研究表明,经化学修饰后的四环素类衍生物不仅可以抑制MMPs的活性,还可以进一步抑制MMPs的蛋白质表达水平,这种作用主要是通过阻断MMPs基因转录过程完成的。修饰后的四环素类无抗生素活性,主要通过结合MMPs活性中心的 $Zn^{2+}$ 抑制其活性。目前,该类抑制剂主要包括COL-3、二甲胺四环素、多西环素等。与传统四环素相比,经化学修饰后的四环素细胞毒性更低,其中,COL-3可以竞争性抑制MMP-1、MMP-2、MMP-8、MMP-9和MMP-13,对许多肿瘤细胞都具有抗血管生成活性<sup>[45]</sup>。目前已完成COL-3对晚期软组织肉瘤、晚期胶质瘤的临床II期研究,尽管临床前研究中有良好效果,但COL-3在临床实验中未表现明显的抗肿瘤作用,因此终止了进一步研究<sup>[46-47]</sup>。

### 2.5 双膦酸盐类(BP)MMPs抑制剂

双膦酸盐类(BP)主要应用于骨代谢障碍,是一类用来预防骨量流失和骨质疏松的药物。它通过提高破骨细胞的凋亡、抑制骨消化过程治疗骨质疏松、骨转移、多发性骨髓瘤、原发性甲状腺功能亢进、成骨不全、骨脆症等症状。近来研究发现,BP类可以通过抑制MMPs酶活性和抑制MT-MMP以及mRNA的表达,从而对MMPs产生多种抑制效果<sup>[48]</sup>。

### 2.6 多糖类

多糖类参与机体的各种生命活动,具有广泛的生理学活性。近年来,多糖的抗肿瘤活性引起人们的重视。与传统的抗肿瘤药物相比,糖类药物安全性高、不易耐药、毒副作用相对较小,因

此多糖类也成为研究抗肿瘤药物的热点之一。

多个研究表明,多种糖类具有抗肿瘤侵袭及转移作用。如云芝多糖可以抑制C57BL/6小鼠体内B16黑色素瘤的人工及自发肺转移,并表现出浓度依赖性<sup>[49]</sup>;香菇多糖与IL-2联用可抑制纤维肉瘤的转移;鲨鱼软骨多糖可抑制C57BL/6小鼠黑色素瘤的血源性转移<sup>[50]</sup>;由肝素化学修饰而来的M402作用于肿瘤侵袭和转移的多个靶点,目前正处于治疗胰腺癌的II期临床试验阶段<sup>[51-52]</sup>。进一步研究发现,糖类抗肿瘤侵袭转移的作用主要是通过影响肿瘤细胞相关基质降解酶尤其是MMPs的表达和活性来实现的<sup>[53]</sup>。含岩藻糖结构单元的寡糖可对人皮肤成纤维细胞的MMP-2、MMP-9产生抑制作用,同时还可抑制透明质酸上调MMPs活性的作用<sup>[54]</sup>;硫酸化多糖可减少腹主动脉瘤成纤维细胞中MMP-2的高表达;多硫酸化的糖胺聚糖在体外可通过下调MMP-1、-3的表达来降低胶原酶活性<sup>[55]</sup>;罗勒多糖可下调人乳腺癌细胞的MMP/TIMP值,发挥明显的抗肿瘤转移活性<sup>[56]</sup>;氨基葡萄糖GlcN在较高剂量时可以抑制MMP-13的表达<sup>[57]</sup>;肝素衍生物SST0001能浓度依赖性地抑制MMP-1、-2、-3和-9的活性<sup>[58-59]</sup>。因此,以MMPs为靶点的多糖类药物也已日渐成为新型抗肿瘤药物的热点。

## 3 展望与挑战

MMPs已被证实在肿瘤发展过程中发挥着重要而又复杂的作用。尽管目前已有多种以MMPs为靶点的药物在细胞和动物实验中表现出良好的抗肿瘤活性,但在临床试验中疗效仍不理想,这可能与肿瘤类型、肿瘤发展阶段不同有关,也可能与抑制剂特异性不强有关。今后研究一方面应注重MMP抑制剂与其他化疗药物的联合应用,另一方面应提高抑制剂对MMPs的靶向性和特异性。

综上所述,以MMPs为靶点的抗肿瘤药物现已成为抗肿瘤转移和侵袭的研究热点之一,随着对MMPs功能及活性的进一步研究,高活性、高生物利用度及高耐受性的MMPs抑制剂有望成为一类非常有前景的抗肿瘤药物。

## 参考文献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015.



- CA Cancer J Clin, 2015, 65(1): 5-29
- [2] Sahai E. Illuminating the metastatic process. *Nat Rev Clin Oncol*, 2007, 7(10): 737-749
  - [3] Malesud CJ. Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: an overview. *Front Biosci*, 2005, 11: 1696-1701
  - [4] Beaudoux JL, Giral P, Bruckert E, et al. Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med*, 2004, 42(2): 121-131
  - [5] Chaudhary AK, Singh M, Bharti AC, et al. Genetic polymorphisms of matrix metalloproteinases and their inhibitors in potentially malignant and malignant lesions of the head and neck. *J Biomed Sci*, 2010, 17(1): 10
  - [6] Gialeli C, Theocharis AD, Karamanos NK. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. *FEBS J*, 2011, 278(1): 16-27
  - [7] Nguyen M, Arkell J, Jackson CJ. Human endothelial gelatinases and angiogenesis. *Int J Biochem Cell Biol*, 2001, 33(10): 960-970
  - [8] Seftor REB, Seftor EA, Koshikawa N, et al. Cooperative interactions of laminin 5  $\gamma$ 2 chain, matrix metalloproteinase-2, and membrane type-1-matrix/metalloproteinase are required for mimicry of embryonic vasculogenesis by aggressive melanoma. *Cancer Res*, 2001, 61(17): 6322-6327
  - [9] Karsdal MA, Larsen L, Engsig MT, et al. Matrix metalloproteinase-dependent activation of latent transforming growth factor- $\beta$  controls the conversion of osteoblasts into osteocytes by blocking osteoblast apoptosis. *J Biol Chem*, 2002, 277(46): 44061-44067
  - [10] Dallas SL, Rosser JL, Mundy GR, et al. Proteolysis of latent transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )-binding protein-1 by osteoclasts: A cellular mechanism for release of TGF- $\beta$  from bone matrix. *J Biol Chem*, 2002, 277(24): 21352-21360
  - [11] Zhao D, Lu Y, Yang C, et al. Activation of FGF receptor signaling promotes invasion of non-small-cell lung cancer. *Tumour Biol*, 2015, 36(5): 3637-3642
  - [12] Gialeli C, Theocharis AD, Karamanos NK. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. *FEBS J*, 2011, 278(1): 16-27
  - [13] Chaudhary AK, Pandya S, Ghosh K, et al. Matrix metalloproteinase and its drug targets therapy in solid and hematological malignancies: an overview. *Mutat Res*, 2013, 753(1): 7-23
  - [14] Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*, 2010, 141(1): 52-67
  - [15] Brew K, Nagase H. The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): an ancient family with structural and functional diversity. *Biochim Biophys Acta* 2010, 1803(1): 55-71
  - [16] Daja MM, Niu X, Zhao Z, et al. Characterization of expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in prostate cancer cell lines. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2003, 6(1): 15-26
  - [17] Khokha R, Murthy A, Weiss A. Metalloproteinases and their natural inhibitors in inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(9): 649-665
  - [18] Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res*, 2006, 69(3): 562-573
  - [19] Lu H, Cao X, Zhang H, et al. Imbalance between MMP-2, 9 and TIMP-1 promote the invasion and metastasis of renal cell carcinoma via SKP2 signaling pathways. *Tumour Biol*, 2014, 35(10): 9807-9813
  - [20] Warinrak C, Wu JT, Hsu WL, et al. Expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-9) and their Inhibitors (TIMP-1, TIMP-2) in canine testis, epididymis and semen. *Reprod Domest Anim*, 2015, 50(1): 48-57
  - [21] Ozden F, Saygin C, Uzunaslan D, et al. Expression of MMP-1, MMP-9 and TIMP-2 in prostate carcinoma and their influence on prognosis and survival. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2013, 139(8): 1373-1382
  - [22] Woessner JF. That imipish TIMP: the tissue inhibitor of metalloproteinases-3. *J Clin Invest*, 2001, 108(6): 799-800
  - [23] Eder Jr JP, Supko JG, Clark JW, et al. Phase I clinical trial of recombinant human endostatin administered as a short intravenous infusion repeated daily. *J Clin Invest*, 2002, 20(18): 3772-3784
  - [24] Kulke M, Bergsland E, Ryan DP, et al. A phase II, open-label, safety, pharmacokinetic, and efficacy study of recombinant human endostatin in patients with advanced neuroendocrine tumors. *Proc Am Soc Clin Oncol*, 2003, 22: 239
  - [25] Herbst RS, Hess KR, Tran HT, et al. Phase I study of recombinant human endostatin in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol*, 2002, 20(18): 3792-3803
  - [26] Kulke MH, Bergsland EK, Ryan DP, et al. Phase II study of recombinant human endostatin in patients with advanced neuroendocrine tumors. *J Clin Oncol*, 2006, 24(22): 3555-3561
  - [27] Li BL, Hu XL, Zhao XH, et al. Endostar combined with irinotecan/calcium folinate/5-fluorouracil (FOLFIRI) for treating advanced colorectal cancer: A clinical study. *J Chemother*, 2015, 27(5): 301-306
  - [28] Zhang W, Fulci G, Buhrman JS, et al. Bevacizumab with angiostatin-armed oHSV increases antiangiogenesis and

- decreases bevacizumab-induced invasion in U87 glioma. *Mol Ther*, 2012, 20(1): 37-45
- [29] Folkman J. Antiangiogenesis in cancer therapy—endostatin and its mechanisms of action. *Exp Cell Res*, 2006, 312(5): 594-607
- [30] Scappaticci FA, Smith R, Pathak A, et al. Combination angiostatin and endostatin gene transfer induces synergistic antiangiogenic activity in vitro and antitumor efficacy in leukemia and solid tumors in mice. *Mol Ther*, 2001, 3(2): 186-196
- [31] Yang H, Xu Z, Iuvone PM, et al. Angiostatin decreases cell migration and vascular endothelium growth factor (VEGF) to pigment epithelium derived factor (PEDF) RNA ratio in vitro and in a murine ocular melanoma model. *Mol Vis*, 2006, 12(5): 511-517
- [32] Nestler G, Schulz HU, Tautenhahn J, et al. Effects of the angiogenesis inhibitor angiostatin on the growth of CC531 colon carcinoma cells in vitro and in a laparoscopic animal model of peritoneal carcinomatosis. *Int J Colorectal Dis*, 2006, 21(4): 314
- [33] Boivin D, Gendron S, Beaulieu É, et al. The antiangiogenic agent Neovastat (AE-941) induces endothelial cell apoptosis 1 supported by Æterna Laboratories, Québec City, Québec, Canada. 1. *Mol Cancer Ther*, 2002, 1(10): 795-802
- [34] Lu C, Lee JJ, Komaki R, et al. chemoradiotherapy with or without Ae-941 in stage iii non-small cell lung cancer: A randomized phase iii trial. *J Natl Cancer Inst*, 2010, 102 (12): 859-865
- [35] Macaulay VM, O'Byrne KJ, Saunders MP, et al. Phase I study of intrapleural batimastat (BB-94), a matrix metalloproteinase inhibitor, in the treatment of malignant pleural effusions. *Clin Cancer Res*, 1999, 5(3): 513-520
- [36] Thomas AL, Steward WP. Marimastat: the clinical development of a matrix metalloproteinase inhibitor. *Expert Opin Investig Drugs*, 2000, 9(12): 2913-2922
- [37] Sparano JA, Bernardo P, Stephenson P, et al. Randomized phase III trial of marimastat versus placebo in patients with metastatic breast cancer who have responding or stable disease after first-line chemotherapy: Eastern Cooperative Oncology Group trial E2196. *J Clin Oncol*, 2004, 22(23): 4683-4690
- [38] Tierney GM, Griffin NR, Stuart RC, et al. A pilot study of the safety and effects of the matrix metalloproteinase inhibitor marimastat in gastric cancer. *Eur J Cancer*, 1999, 35(4): 563-568
- [39] Peterson JT. Matrix metalloproteinase inhibitor development and the remodeling of drug discovery. *Heart Fail Rev*, 2004, 9(1): 63-79
- [40] Garcia CR, Bartsch DU, Rivero ME, et al. Efficacy of Prinomastat (AG3340), a matrix metalloprotease inhibitor, in treatment of retinal neovascularization. *Curr Eye Res*, 2002, 24(1): 33-38
- [41] Shalinsky DR, Brekken J, Zou H, et al. Broad antitumor and antiangiogenic activities of AG3340, a potent and selective MMP inhibitor undergoing advanced oncology clinical trials. *Ann N Y Acad Sc*, 1999, 878(1): 236-270
- [42] Shalinsky DR, Brekken J, Zou H, et al. Marked antiangiogenic and antitumor efficacy of AG3340 in chemoresistant human non-small cell lung cancer tumors: single agent and combination chemotherapy studies. *Clin Cancer Res*, 1999, 5(7): 1905-1917
- [43] Rowinsky EK, Humphrey R, Hammond LA, et al. Phase I and pharmacologic study of the specific matrix metalloproteinase inhibitor BAY 12-9566 on a protracted oral daily dosing schedule in patients with solid malignancies. *J Clin Oncol*, 2000, 18(1): 178-186
- [44] Moore MJ, Hamm J, Dancey J, et al. Comparison of gemcitabine versus the matrix metalloproteinase inhibitor BAY 12-9566 in patients with advanced or metastatic adenocarcinoma of the pancreas: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol*, 2003, 21(17): 3296-3302
- [45] Rowinsky E, Eckhardt S, Rizzo J, et al. Protracted daily treatment with Col-3, and oral tetracycline analog, matrix metalloproteinase (MMP) inhibitor, is feasible: a phase I pharmacokinetic and biological study. *Proc Am Soc Clin Oncol*, 2000, 19: 180a
- [46] Chu Q SC, Forouzes B, Syed S, et al. A phase II and pharmacological study of the matrix metalloproteinase inhibitor (MMPI) COL-3 in patients with advanced soft tissue sarcomas. *Invest New Drugs*, 2007, 25(4): 359
- [47] Rudek MA, New P, Mikkelsen T, et al. Phase I and pharmacokinetic study of COL-3 in patients with recurrent high-grade gliomas. *J Neurooncol*, 2011, 105(2): 375-381
- [48] Hamma-Kourbali Y, Di Benedetto M, Ledoux D, et al. A novel non-containing-nitrogen bisphosphonate inhibits both *in vitro* and *in vivo* angiogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 310(3): 816-823.
- [49] 刘燕, 林瑞超, 李波. 云芝多糖抗肿瘤作用研究进展. *中成药*, 2001, 23(10): 755-757
- [50] Anselmi C, Centini M, Rossi C, et al. New microencapsulated sunscreens: technology and comparative evaluation. *Int J Pharm*, 2002, 242(1): 207-211
- [51] Zhou H, Roy S, Cochran E, et al. M402, a novel heparan sulfate mimetic, targets multiple pathways implicated in tumor progression and metastasis. *PloS One*, 2011, 6(6): e21106
- [52] Schultes BC, Chu CL, Long A, et al. The effect and



- mechanism of M402 on gemcitabine uptake into pancreatic tumors. *Gastrointestinal Cancers Symposium*, 2014, 32(3): 215-215
- [53] Zhang H, Morisaki T, Matsunaga H, et al. Protein-bound polysaccharide PSK inhibits tumor invasiveness by down-regulation of TGF- $\beta$ 1 and MMPs. *Clin Exp Metastasis*, 2000, 18(4): 345-351
- [54] Péterszegi G, Isnard N, Robert AM, et al. Studies on skin aging. Preparation and properties of fucose-rich oligo-and polysaccharides. Effect on fibroblast proliferation and survival. *Biomed Pharmacother*, 2003, 57(5): 187-194
- [55] Sadowski T, Steinmeyer J. Effects of polysulfated glycosaminoglycan and triamcinolone acetonid on the production of proteinases and their inhibitors by IL-1 treated articular chondrocytes. *Biochem Pharmacol*, 2002, 64(2): 217-227
- [56] 郭文菁, 曲迅, 张彬彬, 等. 低氧环境下罗勒多糖对乳腺癌细胞 TIMPs mRNA 表达的影响. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2006, 13(4): 257-260
- [57] Derfoul A, Miyoshi AD, Freeman DE, et al. Glucosamine promotes chondrogenic phenotype in both chondrocytes and mesenchymal stem cells and inhibits MMP-13 expression and matrix degradation. *Osteoarthritis Cartilage*, 2007, 15(6): 646-655
- [58] Grzela T, Brawura-Biskupski-Samaha R, Jelenska MM, et al. Low molecular weight heparin treatment decreases MMP-9 plasma activity in patients with abdominal aortic aneurysm. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2008, 35(2): 159-161
- [59] Pala D, Rivara S, Mor M, et al. Kinetic analysis and molecular modelling of the inhibition mechanism of roneparstat (SST0001) on human heparanase. *Glycobiology*, 2016; 26 (6): 640-654