

# Метилирование генов матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов в норме и при раке молочной железы

Симонова О.А.<sup>1</sup>, Кузнецова Е.Б.<sup>1,2</sup>, Танас А.С.<sup>1,3</sup>, Руденко В.В.<sup>1</sup>, Поддубская Е.В.<sup>4</sup>,  
Кекеева Т.В.<sup>1</sup>, Керимов Р.А.<sup>4</sup>, Троценко И.Д.<sup>5</sup>, Пашченко М.С.<sup>1</sup>, Алексеева Е.А.<sup>1,2</sup>,  
Залетаев Д.В.<sup>1,2,3</sup>, Стрельников В.В.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Медико-генетический научный центр»,  
Москва, 115478, ул. Москворечье, д.1, e-mail: simonova\_o.a@mail.ru

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Министерства здравоохранения  
Российской Федерации, Москва, 119991, ул. Трубецкая, д.8, стр.2, e-mail: kuznetsova.k@bk.ru

<sup>3</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Министерства здравоохранения  
Российской Федерации, Москва, 117997, ул. Островитянова, д.1, e-mail: vstrel@list.ru

<sup>4</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, 115478, Каширское ш., д.24, e-mail: podd-elena@yandex.ru

<sup>5</sup> Российский университет дружбы народов Министерства образования и науки Российской Федерации,  
Москва, 117198, ул. Миклухо-Маклая, д.6, e-mail: trotsenkoivan@mail.ru

Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы вносят значительный вклад в регуляцию межклеточных взаимодействий и, как следствие, в поддержание структуры ткани и ее надлежащего функционирования. В работе изучено метилирование промоторных областей 11 генов матриксных металлопротеиназ (*MMP2*, *MMP11*, *MMP14*, *MMP15*, *MMP16*, *MMP17*, *MMP21*, *MMP23B*, *MMP24*, *MMP25*, *MMP28*), а также 4 генов ингибиторов матриксных металлопротеиназ (*TIMP1*, *TIMP2*, *TIMP3*, *TIMP4*). Коллективно представители этих семейств участвуют в регуляции деградации белков матрикса, сигнальной трансдукции, процессов адгезии и миграции, клеточной дифференцировки, ангиогенеза и апоптоза. Частоты аномального метилирования промоторных областей генов *MMP2*, *MMP23B*, *MMP24*, *MMP25*, *MMP28* при раке молочной железы составили 7,7%, 17%, 11,9%, 15,4% и 4,9% соответственно. Установлено, что промоторные регионы генов *TIMP1*, *TIMP4*, *MMP14* *MMP21* конститутивно метилированы в тканях молочной железы.

**Ключевые слова:** внеклеточный матрикс, матриксные металлопротеиназы, ингибиторы матриксных металлопротеиназ, метилирование ДНК.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## DNA methylation of genes encoding matrix metalloproteinases and their inhibitors in normal and cancerous breast tissues

Simonova O.A.<sup>1</sup>, Kuznetsova E.B.<sup>1,2</sup>, Tanas A.S.<sup>1,3</sup>, Rudenko V.V.<sup>1</sup>, Poddubskaya E.V.<sup>4</sup>,  
Kekeeva T.V.<sup>1</sup>, Kerimov R.A.<sup>4</sup>, Trotsenko I.D.<sup>5</sup>, Pashchenko M.S.<sup>1</sup>, Alekseeva E.A.<sup>1,2</sup>,  
Zaletayev D.V.<sup>1,2,3</sup>, Strelnikov V.V.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russian Federation, 115478, Moskvorechye St, 1, e-mail: vstrel@list.ru

<sup>2</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation, 119991, Trubetskaya St, 8,  
e-mail: kuznetsova.k@bk.ru

<sup>3</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation, 117997, Ostrovityanova St, 1,  
e-mail: zalnem@mail.ru

<sup>4</sup> N.N. Blockin Russian Research Center for Oncology, Moscow, Russian Federation, 115478, Kashirskoe highway, 24,  
e-mail: podd-elena@yandex.ru

<sup>5</sup> Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation, 117198, Miklukho-Maklaya str. 6, e-mail: trotsenkoivan@mail.ru

Matrix metalloproteinases and their inhibitors contribute to the regulation of cell-cell interactions and maintain tissue structure and function. We have analyzed DNA methylation at the promoter regions of 11 matrix metalloproteinases genes (*MMP2*, *MMP11*, *MMP14*, *MMP15*, *MMP16*, *MMP17*, *MMP21*, *MMP23B*, *MMP24*, *MMP25*, *MMP28*), and 4 inhibitors of matrix metalloproteinases genes (*TIMP1*, *TIMP2*, *TIMP3*, *TIMP4*). Collectively members of these families take part in regulation of matrix proteins degradation, signal transduction, adhesion, migration, cell differentiation, apoptosis and angiogenesis. Abnormal methylation frequencies at the promoter regions of genes *MMP2*, *MMP23B*, *MMP24*, *MMP25*, *MMP28* in breast cancer accounted for 7,7%, 17%, 11,9%, 15,4% and 4,9% respectively. Promoter regions of genes *TIMP1*, *TIMP4*, *MMP14* *MMP21* were constitutively methylated in breast tissue.

**Key words:** extracellular matrix, matrix metalloproteinases, inhibitors of matrix metalloproteinases, DNA methylation.

### Введение

Матриксные металлопротеиназы (ММП) — обширная группа внеклеточных протеиназ, способных специфически гидролизовать белки внеклеточного матрикса. Они принимают участие в таких процессах как развитие и ремоделирование внеклеточного матрикса, адгезия, миграция, дифференцировка и пролиферация клеток, репарация тканей, ангиогенез и эмбриогенез. ММП ингибируются группой тканевых ингибиторов металлопротеиназ (ТИМП). На сегодняшний день описано 4 представителя данного семейства: TIMP1, TIMP2, TIMP3, TIMP4 [1].

Роль ММП и ТИМП в развитии и функционировании тканей активно изучается и дополняется новыми данными. На сегодняшний день установлено вовлечение данного семейства в развитие ревматоидного артрита, остеоартрита, пародонтита, аутоиммунных поражений кожи и нестабильности атеросклеротических бляшек. Отдельного внимания заслуживает информация о вовлечении ММП в развитие онкологической патологии. Они способны моделировать микроокружение опухоли за счет деградации экстрацеллюлярного матрикса и влиять на сигнальную трансдукцию путем взаимодействия с факторами роста. ММП способны участвовать в процессах инвазии и ангиогенеза, а также в формировании преметастатической опухолевой ниши и противоопухолевого иммунитета. Изменение уровней экспрессии представителей ММП и ТИМП было описано при опухолях различного типа, в том числе и раке молочной железы (РМЖ) [2].

Вклад ММП и ТИМП в развитие онкологической патологии представляется чрезвычайно интригующим. В настоящей работе был определен характер метилирования промоторных областей генов обоих семейств с целью описания механизмов их эпигенетической регуляции в норме, а также выявления новых маркеров метилирования при РМЖ.

### Материалы и методы

**Клинический материал.** Проанализировано 183 образца РМЖ, 183 парных им образца прилежащей морфологически неизменной ткани, шесть клеточных линий РМЖ (ZR-75-1, HBL-100, HS 578 T, BT-474, T-47D, MCF7) и шесть аутопсийных образцов нормальной МЖ. Образцы биологического материала предоставлены ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н.Блохина», ФГУ МНИОИ им. П.А. Герцена, ФГБУ МРНЦ Минздрава РФ, ФГБУ «РНЦРР» Минздрава РФ.

Медиана возраста женщин, больных РМЖ, и ее стандартное отклонение составили  $57 \pm 11,56$  года.

Информация о гистологическом типе была доступна для 176 образцов: 75,5% (133/176) представляли протоковый РМЖ, 12% (21/176) — дольковый, 8% (14/176) — смешанный. Микропапиллярная карцинома, слизистый, медуллярный, метапластический и низкодиффе-

ренцированный типы РМЖ были представлены единичными случаями.

Данные о стадии заболевания и TNM-классификации были доступны для 178 пациентов. Согласно TNM-классификации, выборка была разделена на подгруппы в зависимости от размера первичной опухоли (T1 — 20,2% (36/178), T2 — 68,5% (122/178), T3 — 5,6% (10/178), T4 — 5,6% (10/178)), состояния регионарных лимфатических узлов (N0 — 46,6% (83/178), N1 — 44,4% (79/178), N2 — 8,4% (15/178), N3 — 0,6% (1/178)), наличия отдаленных метастазов (M0 — 97,8% (174/178), M1 — 2,2% (4/178)). Информация о состоянии рецепторов эстрогенов и прогестеронов была доступна для 99 образцов, об экспрессии онкобелка Her2/neu — для 138 пациентов.

**Выделение ДНК и метилчувствительная ПЦР (МЧ-ПЦР).** Геномную ДНК выделяли с использованием стандартного метода фенол-хлороформной экстракции. Гидролиз ДНК проводили в смеси 1,5 мкг геномной ДНК, 10 ед. акт. фермента HpaII, 2 мкл буфера SEBufferY (x10) («СибЭнзим», Новосибирск). Объем смеси доводили до 20 мкл деионизированной водой и инкубировали в течение 16 ч при температуре 37°C. Для каждого исследуемого локуса была разработана схема МЧ-ПЦР с тремя парами праймеров: один фрагмент принадлежал исследуемому гену, второй служил положительным контролем ПЦР (конститутивно метилированный участок гена *CUX1*), третий — контролем полноты гидролиза ДНК (конститутивно неметилированный участок гена *SNRK*). ПЦР проводили в смеси следующего состава: 0,1 мкг ДНК, 0,05 мкМ каждого олигопраймера, 200 мкМ каждого dNTP, 2,5 мкл десятикратного буфера для ПЦР («СибЭнзим», Новосибирск), деионизированной воды до 25 мкл. Оптимальное содержание  $MgCl_2$  в ПЦР-смеси определяли экспериментальным путем для каждой пары праймеров. Реакционную смесь прогревали при 95°C в течение 5 мин и проводили 33 цикла ПЦР в следующем режиме: 95°C — 40 с, T°отж. (табл. 1) — 40 с, 72°C — 40 с. Последнюю элонгацию проводили при 72°C в течение 10 мин. Нуклеотидные последовательности праймеров, температуры отжига, концентрации  $MgCl_2$  и размеры продуктов ПЦР приведены в табл. 1. Продукты МЧ-ПЦР разделяли в 8%-ном полиакриламидном геле и окрашивали нитратом серебра.

### Результаты

На основании результатов анализа метилирования промоторных областей генов ММП и ТИМП методом МЧ-ПЦР оказалось возможным выделить три категории генов: аномально метилированные при РМЖ (*MMP2*, *MMP23B*, *MMP24*, *MMP25*, *MMP28*) (табл. 2); гены, промоторные области которых не подвергаются аномальному метилированию при РМЖ (*TIMP2*, *TIMP3*, *MMP11*, *MMP15*, *MMP16*, *MMP17*) и гены, конститутивно метилированные в ткани молочной железы (*TIMP1*, *TIMP4*, *MMP14*, *MMP21*).

Таблица 1

## Условия ПЦР и структура праймеров для анализа метилирования генов семейств ММП и ТИМП

| Название гена | Нуклеотидная последовательность праймеров 5' — 3'    | Условия ПЦР |                      | Число HpaII-сайтов | Размер продукта (п.н.) |
|---------------|------------------------------------------------------|-------------|----------------------|--------------------|------------------------|
|               |                                                      | Т° отж.     | MgCl <sub>2</sub> мМ |                    |                        |
| <i>MMP2</i>   | F: TACAAAGGGATTGCCAGGAC<br>R: CATTAGCGCCTCCATCGTAG   | 63          | 2                    | 3                  | 239                    |
| <i>MMP11</i>  | F: GTACCCTCCCCGTTACCTC<br>R: GCCGCCCTTATAGCTTCC      | 63          | 2                    | 2                  | 120                    |
| <i>MMP14</i>  | F: GCCGACAGCGGTCTAGGAAT<br>R: CAGGGGGAGCAGGAGACAAC   | 64          | 2                    | 3                  | 180                    |
| <i>MMP15</i>  | F: CTCCTCGGGCTTGGAATTT<br>R: CCAGCTCGGAACACTGCAC     | 63          | 2                    | 4                  | 155                    |
| <i>MMP16</i>  | F: CGAGAGGCAGCGGCGAAG<br>R: CGGAACCGCCGGTGAACCTTA    | 67          | 2                    | 3                  | 100                    |
| <i>MMP17</i>  | F: CCGGCCTCGTTAGCATACAT<br>R: CCCTCCGCTTCGCGTTCC     | 64          | 2                    | 3                  | 125                    |
| <i>MMP21</i>  | F: GCCACTCCTCCCTCTCAGC<br>R: CCACCCAGCCCGAGAGTC      | 63          | 2                    | 2                  | 250                    |
| <i>MMP23B</i> | F: ACCACACCGGGCTGTAACC<br>R: AGGAGGCACAGGGCGACCA     | 64          | 2                    | 5                  | 220                    |
| <i>MMP24</i>  | F: CAGAGCCGCTCCTCAGTCTC<br>R: AGGAGGGGGAAGAGGCTAAA   | 63          | 2                    | 2                  | 174                    |
| <i>MMP25</i>  | F: CTCCCGCGCCCTCTCAAC<br>R: GAAGTGCGCGGTGGAGTC       | 63          | 2                    | 2                  | 101                    |
| <i>MMP28</i>  | F: CGTGCCTGTGTGGTTCCAG<br>R: CCTGTCAGAACTCGGCAGTC    | 63          | 2                    | 2                  | 150                    |
| <i>TIMP1</i>  | F: TGAGTCATAGGGAGCTTGGGGG<br>R: CGGGCCGACGAAAGGAGAT  | 67          | 2                    | 2                  | 223                    |
| <i>TIMP2</i>  | F: AAGCAGCGTCGCCAGCAG<br>R: CCCCCGAGACAAAGAGGAGA     | 64          | 1.6                  | 3                  | 246                    |
| <i>TIMP3</i>  | F: CCCTCACCTGTGGAAGCGGT<br>R: CAGACCAATGGCAGAGCCGCA  | 67          | 2                    | 4                  | 318                    |
| <i>TIMP4</i>  | F: ACCCCCTGCTGTGGACCTC<br>R: CAAGCTGGGTGCTGTTGCTG    | 67          | 2                    | 2                  | 150                    |
| <i>CUX1</i>   | F: GCCCCCGAGGACGCCGCTACC<br>R: AGGCGGTCCAGGGGTCCAGGC | 63-67       | 1,6-2                | 6                  | 565                    |
| <i>SNRK</i>   | F: GCTGGGTGCGGGGTTTCGGCG<br>R: CGGAGGCTACTGAGGCGGCGG | 63-67       | 1,6-2                | 3                  | 165                    |

Таблица 2

## Гены ММП, подвергающиеся дифференциальному метилированию при РМЖ

|               | Метилирование в образцах опухолевой ткани молочной железы (%) | Метилирование в нормальной ткани молочной железы (%) | Наличие (+) / отсутствие (-) метилирования в клеточных линиях РМЖ |      |      |        |         |          |
|---------------|---------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|------|------|--------|---------|----------|
|               |                                                               |                                                      | ZR-75-1                                                           | MCF7 | T47D | BT-474 | HBL-100 | HS 578 T |
| <i>MMP2</i>   | 7,7 (14/183)                                                  | 0                                                    | +                                                                 | +    | +    | —      | —       | —        |
| <i>MMP23B</i> | 17 (31/182)                                                   | 0                                                    | +                                                                 | +    | +    | —      | +       | +        |
| <i>MMP24</i>  | 11,9 (20/168)                                                 | 0                                                    | —                                                                 | —    | —    | +      | +       | —        |
| <i>MMP25</i>  | 15,4 (28/182)                                                 | 0                                                    | —                                                                 | +    | +    | —      | +       | —        |
| <i>MMP28</i>  | 4,9 (9/183)                                                   | 0                                                    | +                                                                 | +    | +    | +      | +       | —        |

С использованием теста Фишера нами был выявлен ряд достоверных ассоциаций метилированного состояния промоторных областей отдельных генов ММП с клинико-морфологическими характеристиками опухолей, однако введение поправки на множественные сравнения нивелировало различия.

С использованием результатов анализа состояния метилирования всех исследованных генов был проведен многомерный анализ соответствий. Наиболее интересные данные были получены при анализе ассоциаций метилированного состояния ряда генов с экспрессией онкобелка HER2 (рис. 1). Возможна ассоциация неметилированного состояния промоторных областей генов *MMP2*, *MMP23B*, *MMP24*, *MMP25*, *MMP28* с отсутствием экспрессии HER2. Кроме того, метилированный статус промотора *MMP23B* может быть ассоциирован с повышенной экспрессией (3+) онкобелка HER2 (рис. 1).

С целью систематизации полученных данных о статусе метилирования генов *MMP2*, *MMP23B*, *MMP25*, *MMP28* был предпринят кластерный анализ (рис. 2). Кроме результатов настоящего исследования, в анализ были включены результаты широкогеномного анализа метилирования ДНК, проведенного на 100 образцах из той же выборки методом *XmaI*-RRBS [3-5]. Результаты кластерного анализа не позволяют проследить четких ассоциаций состояния метилирования исследованных генов с клинико-морфологическими свойствами опухолей, однако говорят о совместности метилирования избранных генов металлопротеиназ в двух группах образцов (левые и правые кластеры на рис. 2).

Сопоставление с глобально умеренно метилированным и гиперметилированным подтипами РМЖ позволяет предположить, что аномальное метилирование *MMP28* и *MMP25* может отражать принадлежность опухоли к гиперметилированному подтипу, в то время как для *MMP2* и *MMP23B* уместна гипотеза о характере аномального метилирования, независимом от принадлежности опухоли к глобальному метилотипу.

### Обсуждение результатов

Высокая частота аномального метилирования при РМЖ (17%) зафиксирована в настоящем исследовании для промоторного региона *MMP23B*. Информация о роли *MMP23B* при РМЖ является достаточно скудной. На клеточной линии РМЖ было установлено, что *MMP23B* способствует инвазии опухолевых клеток [2]. В другом исследовании указывалось на снижение экспрессии *MMP23B* при РМЖ и возможность его аномального метилирования [6]. Согласно результатам проекта ENCODE, участок промотора *MMP23B*, изученный нами, неметилирован в ткани нормальной молочной железы и подвергается метилированию в клеточных линиях РМЖ MCF-7 и T-47D, что подтверждает полученные нами данные.

Метилирование промоторной области *MMP24* было выявлено нами в 11,9% образцов РМЖ. О функции *MMP24* известно достаточно мало, многие исследования посвящены изучению данного белка в нервной системе и вкладу в развитие болезни Альцгеймера. О вовлечении данной металлопротеиназы в развитие РМЖ известно мало: была описана гиперэкспрессия *MMP24* при данном типе патологии [7]. При изучении клеточной линии рака яичников SKOV (3) было установлено, что *MMP24* может способствовать инвазии опухолевых клеток [8].

Частота метилирования промоторной области *MMP25* в образцах первичных опухолей РМЖ в настоящем исследовании составила 15,4%. Повышенные уров-

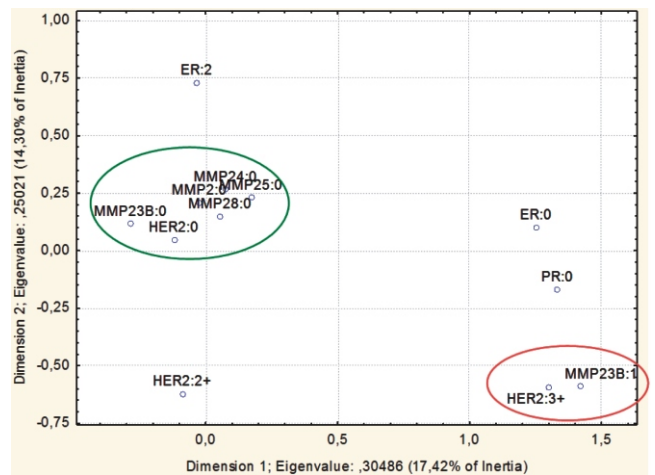


Рис. 1. Результаты многомерного анализа соответствий. Ассоциация неметилированного состояния промоторов генов *MMP2*, *MMP23B*, *MMP24*, *MMP25*, *MMP28* с отсутствием экспрессии HER2 (выделено зеленым). Красным отмечена ассоциация метилированного статуса *MMP23B* с уровнем экспрессии HER2 = 3+.

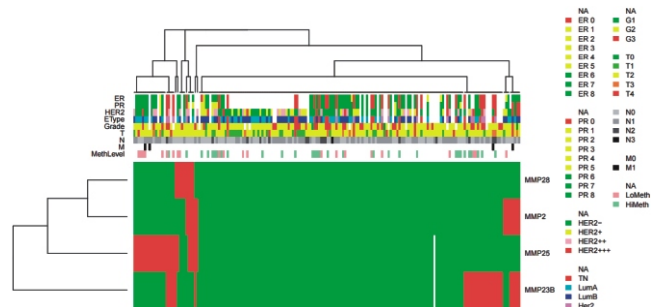


Рис. 2. Иерархическая кластеризация 197 исследованных образцов РМЖ (отложены по абсциссе) по результатам анализа метилирования 4 наиболее информативных генов (отложены по ординате). LoMeth, HiMeth — умеренно метилированный и гиперметилированный подтипы РМЖ в широкогеномном исследовании метилирования ДНК, проведенном на 100 образцах той же выборки. Цветом отмечены уровни экспрессии эстрогеновых (ER) и прогестероновых (PR) рецепторов, а также онкобелка HER2. Приведена информация о степени злокачественности опухоли (G), ее размерах (T), наличии регионарных (N) и отдаленных (M) метастазов, а также указаны молекулярные подтипы РМЖ (TN — трижды негативный, LumA- люминальный A, LumB- люминальный B, Her2- HER2-положительный).

ни мРНК *MMP25* были выявлены в астроцитомах и глиообластомах [9], раке прямой кишки и простаты [10]. Функциональные исследования, проведенные с использованием клеточных линий рака прямой кишки (НСТ-116 и НТ-29), гиперэкспрессирующих *MMP25*, показали, что повышенная экспрессия данного белка коррелирует с усилением роста опухоли после подкожной прививки мышам. При этом отдаленных метастазов в легкие или почки выявлено не было [11].

В нашей работе рассмотрение ассоциаций статуса метилирования генов *MMP2*, *MMP23B*, *MMP24*, *MMP25* и *MMP28* с клинко-морфологическими характеристиками опухолей не показало убедительных результатов. Изучение клинко-генетических корреляций с включением данных о статусе метилирования всех указанных генов предоставило больший объем информации. Наиболее интересна полученная ассоциация неметилированного состояния генов *MMP2*, *MMP23B*, *MMP24*, *MMP25* и *MMP28* с отсутствием экспрессии онкобелка HER2. Согласно результатам кластерного анализа, метилированный статус *MMP25* и *MMP28* может быть ассоциирован с гиперметилированным подтипом РМЖ. Возможно, эпигенетическое поведение этих генов ММП в целом повторяет поведение промоторов множеств различных генов, разделяющих образцы РМЖ на два основных эпигенетических подтипа — гиперметилированный и умеренно метилированный. В то же время для *MMP2* и *MMP23B* прослеживается тенденция к независимости эпигенетического поведения от принадлежности опухоли к глобальному метилотипу.

#### Список литературы

1. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res*. 2003 May 2; 92(8):827-839.
2. Shuman Moss L.A, Jensen-Taubman S., Stetler-Stevenson W.G. Matrix Metalloproteinases. Changing Roles in Tumor Progression and Metastasis. *Am J Pathol*. 2012 Dec; 181(6): 1895-1899.
3. Стрельников В.В., Танас А.С., Руденко В.В., Кузнецова Е.Б., Залетаев Д.В. Геномный анализ метилирования ДНК с использованием секвенирования нового поколения // Медицинская генетика. 2014; 13(3): 32-37.
4. Танас А.С., Кузнецова Е.Б., Борисова М.Э., Руденко В.В., Залетаев Д.В., Стрельников В.В. Дизайн метода бисульфитного секвенирования ограниченных наборов геномных локусов (RRBS) для анализа метилирования CpG-островков человека в больших выборках // Молекулярная биология. 2015; 49(4): 689-699.
5. Tanas A.S., Borisova M.E., Kuznetsova E.B., Rudenko V.V., Karandasheva K.O., Nemtsova M.V., Izhevskaya V.L., Simonova O.A., Larin S.S., Zaletaev D.V., Strelnikov V.V. Rapid and Affordable Genome-Wide Bisulfite DNA Sequencing by XmaI-reduced Representation Bisulfite Sequencing // *Epigenomics*. 2017; 9(6): 833-847.
6. Hegedus L., Cho H., Xie X., Eliceiri G.L. Additional MDA-MB-231 breast cancer cell matrix metalloproteinases promote invasiveness. *J Cell Physiol*. 2008 Aug; 216(2):480-485.
7. Benson C.S., Babu S.D., Radhakrishna S. et al. Expression of matrix metalloproteinases in human breast cancer tissues. *Dis Markers*. 2013;34(6):395-405.
8. Luo Y.P., Zhong M., Wang L.P. et al. Inhibitory effects of RNA interference on MMP-24 expression and invasiveness of ovarian cancer SKOV(3) cells. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2009 Apr; 29(4):781-784.
9. Velasco G., Cal S., Merlos-Suarez A. et al. Human MT6-matrix metalloproteinase: identification, progelatinase A activation, and expression in brain tumors. *Cancer Res*. 2000 Feb 15; 60(4):877-82.
10. Riddick A., Shukla C., Pennington C. et al. Identification of degradome components associated with prostate cancer progression by expression analysis of human prostatic tissues. *Br J Cancer*. 2005 Jun 20; 92(12): 2171-2180.
11. Sohail A., Sun Q., Zhao H., Bernardo M.M. et al. MT4-(MMP17) and MT6-MMP (MMP25), A unique set of membrane-anchored matrix metalloproteinases: properties and expression in cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2008 Jun; 27(2):289-302.