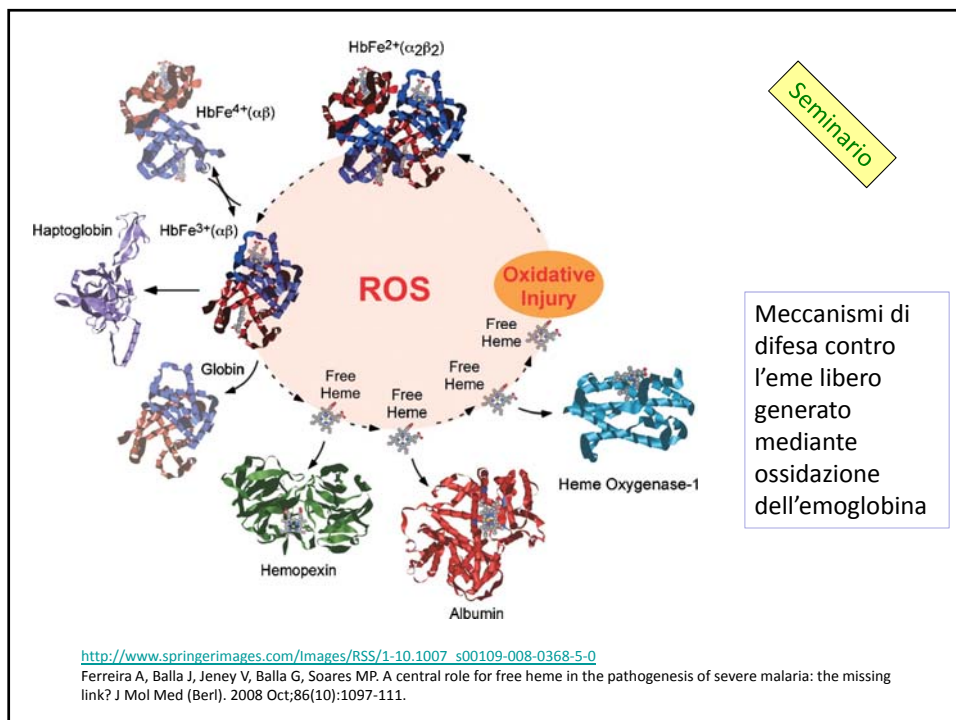
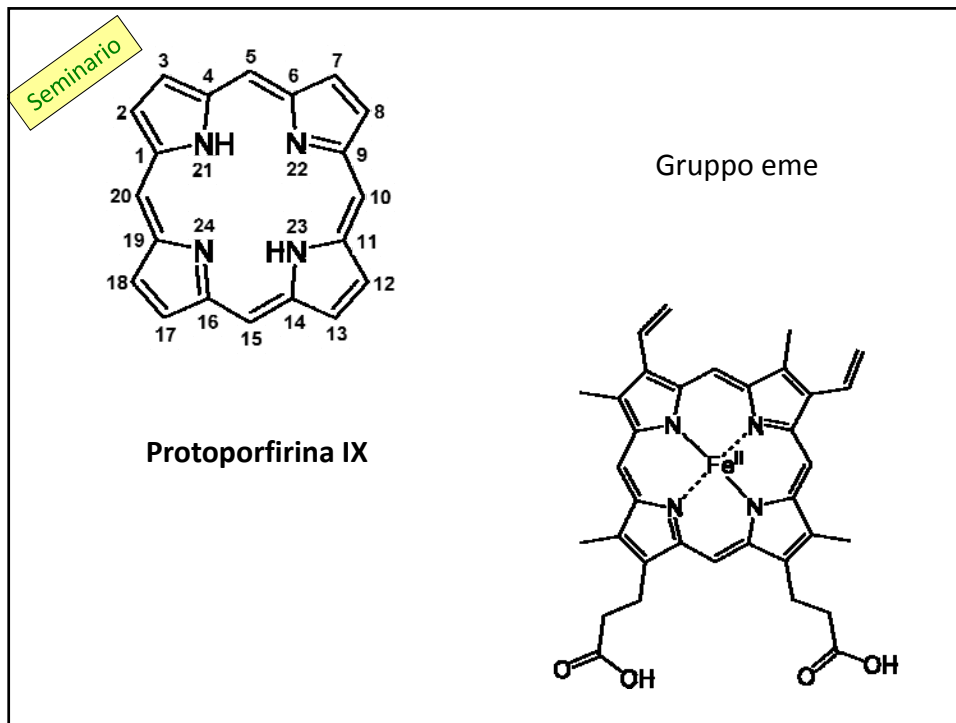


Seminario

Emopexina

- ✚ Proteina serica che fa parte della frazione beta-globulinica e che ha come funzione il **legame con il gruppo eme e con le porfirine**.
- ✚ E' la proteina nota con maggiore affinità per l'eme.
- ✚ La sua funzione di "scavenger" (detossificante) per l'eme rilasciato o perso durante il turnover di eme-proteine come l'emoglobina protegge l'organismo dallo stress ossidativo che l'eme libero può provocare.
- ✚ Inoltre, l'emopexina rilascia il suo ligando per l'internalizzazione mediante interazione con un recettore specifico situato sulla superficie degli epatociti. Questa funzione serve per preservare il ferro nell'organismo.



Seminario

Classificazione funzionale delle MMPs: 3 - Stromalisine

- ✚ La MMP-3, MMP-10 e MMP11 sono chiamate rispettivamente stromalisine 1, 2 e 3.
- ✚ Hanno la stessa disposizione di domini delle collagenasi, ma non sono in grado di scindere i collagene interstiziali.
- ✚ La MMP-3 e MMP-10 hanno struttura e specificità di substrati simili, la MMP-11 (stromalisina-3) è solo correlata distantemente.
- ✚ La MMP-3 e MMP-10 **digeriscono un gran numero di molecole della MEC** e partecipano all'attivazione delle proMMPs, ma la MMP-11 ha un'attività contro le molecole della MEC molto bassa.
- ✚ Un'altra differenza è che sia la MMP-3 che **la MMP-10 sono secrete dalle cellule in forma inattiva**, mentre **la MMP-11 è attivata intracellularmente dalla furina e secreta dalla cellula già come enzima attivo**.
- ✚ Gene MMP—11: cromosoma 22; MMP-3 e MMP-11 mappano nel cromosoma 11 (insieme a MMP-1, -7, -8, -12, -20, -26 e -27)

Murphy G, Nagase H. *Progress in matrix metalloproteinase research*. Mol Aspects Med. 2008 Oct;29(5):290-308.

Seminario

Classificazione funzionale delle MMPs: 4 - Matrilisine

- ✚ Appartengono a questa categoria la MMP-7 e MMP-26.
- ✚ La loro caratteristica strutturale è che **mancano di dominio emopexina**.
- ✚ La MMP-7 è sintetizzata dalle cellule epiteliali e secreta dal dominio apicale.
- ✚ Nell'intestino funziona intracellularmente per processare procriptidine [precursori di battericidi prodotti dalle cellule di Paneth del topo] dando la forma battericida.
- ✚ La MMP-7 degrada componenti della MEC, ma è anche in grado di degradare molecole della superficie cellulare quali il Fas-ligand, pro-TNF- α , sindecano-1, e E-caderina, generando forme solubili, fungendo così come una «shedde» (enzima che porta all'esfoliazione di molecole).
- ✚ La MMP-26 è espressa da cellule normali come quelle dell'endometrio e in alcuni carcinomi e digerisce diverse molecole della MEC.

Murphy G, Nagase H. *Progress in matrix metalloproteinase research*. Mol Aspects Med. 2008 Oct;29(5):290-308.

Classificazione funzionale delle MMPs: 5 - MMPs legate alle membrane (MT-MMPs)

- ✚ Vi sono due tipi di MT-MMPs che includono quattro proteine transmembrana di tipo I (MMP-14, -15, -16 e -24) e due proteine ancorate da ancore di glicosilfosfatidilinositolo (GPI).
- ✚ Hanno una sequenza di riconoscimento RX[R/K]R proproteina convertasi tipo furina nel C-terminale del pro-peptide. Perciò sono attivate intracellularmente ed è probabile che gli enzimi attivi siano espressi sulla superficie cellulare.
- ✚ Tutte le Mt-MMPs, tranne MT4-MMP (MMP-17) possono attivare il proMMP-2.
- ✚ La MT1-MMP (MMP-14) può attivare la proMMP-13 sullamsuperficie cellulare.
- ✚ Tuttavia, la MT1-MMP stessa ha attività collagenolitica contro i collagene di tipo I, II e III.

Murphy G, Nagase H. *Progress in matrix metalloproteinase research*. Mol Aspects Med. 2008 Oct;29(5):290-308.

Seminario

Classificazione funzionale delle MMPs: 6 - Altre MMPs - a

- ✚ Ci sono sette matrixine non catalogate nei sotto-gruppi precedenti. Fra di esse le MMP-12, MMP-20 e MMP-27 hanno un'organizzazione a domini e localizzazione cromosomiale simili a quelle delle stromalisine. Si pensa che sia appropriato includerle tra le stromalisine.
- ✚ La **metalloelastasi** (MMP-12) è stata all'origine identificata nei **macrofagi**, ma si trova anche nei condrociti ipertrofici e negli osteoclasti. **Degrada l'elastina e diverse altre molecole della MEC ed è essenziale per la migrazione dei macrofagi.**
- ✚ La MMP-19 è un potente **enzima in grado di degradare la membrana basale**, ma digerisce anche altre molecole della MEC. E' ampiamente espresso nei tessuti umani e si pensa giochi un ruolo nel rimodellamento tissutale, guarigione delle ferite e migrazione di cellule epiteliali, mediante scissione della catena $\gamma 2$ della laminina 5.

Murphy G, Nagase H. *Progress in matrix metalloproteinase research*. Mol Aspects Med. 2008 Oct;29(5):290-308.

Seminario

MMP-12

Durante l'infezione la metalloelastasi MMP12 è abbondantemente espressa dai **macrofagi alveolari**, un sotto-insieme di macrofagi tissutali che serve da prima linea di protezione contro i patogeni inalati.

(A) I macrofagi alveolari risiedono nell'interfaccia aria-tessuto dell'alveolo.

(B) Dopo incontro con batteri nell'alveolo, i macrofagi fagocitano efficacemente il patogeno. E' stato proposto che la MMP-12 sia reclutata al fagolisosoma per distruggere i batteri. E' illustrata la struttura a domini minimale della MMP12. SP: peptide segnale. Pro: pro-dominio.

<http://jmcb.oxfordjournals.org/content/early/2009/08/13/jmcb.mjp015/F1.expansion>

Seminario

Proprietà pro-infiammatorie della metalloproteinasi della matrice MMP-12

* Proteolytic activation of proMMP-12 in MMP-12
 * Proteolytic inactivation of TIMP1 which induces an increase in MMP-12 activity

* Increase in E-selectin levels, a marker of endothelial activation
 * Release of chemotactic cytokines for neutrophils: IL-8 or KC

http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0074-02762005000900028&script=sci_arttext

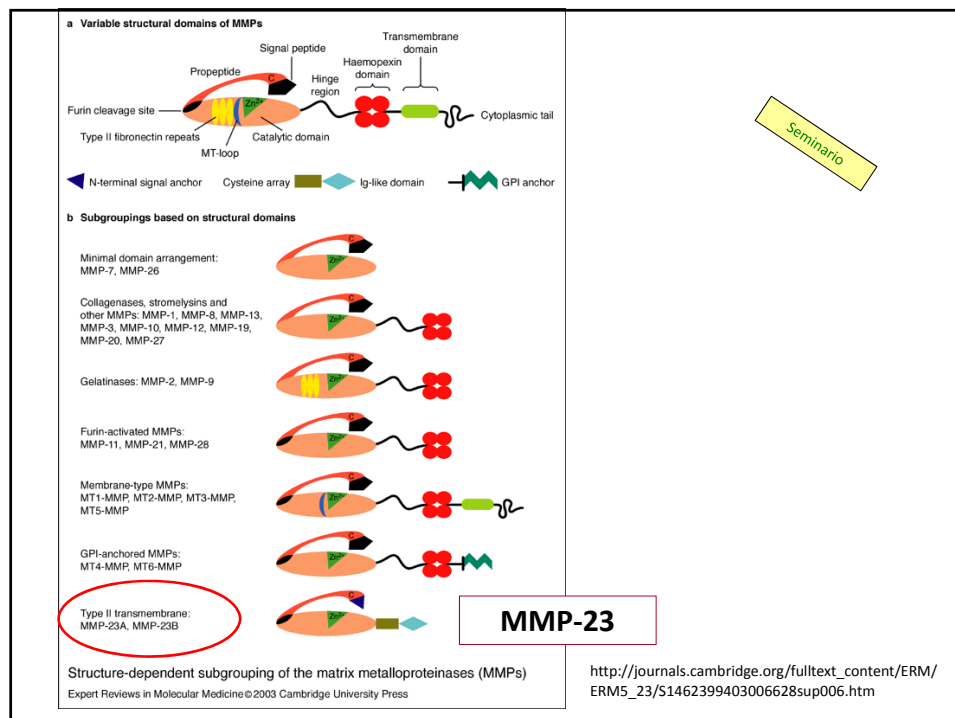
Seminario

Classificazione funzionale delle MMPs:

6 - Altre MMPs - b

- La «enamelysin» (smaltolisina) (MMP-20) è una MMP specifica dei denti che viene espressa nello smalto di nuova formazione dei denti e digiisce la amelogenina.
- La MMP-21 è espressa da diversi tessuti fetali e adulti. Si trova in carcinomi a cellule basali e squamose e in macrofagi in lesioni granulomatose della pelle e in fibroblasti nei dermatofibromi. Non esiste informazione sulla sua azione sui componenti della MEC, anche se non ha attività gelatinolitica.
- La **MMP-23** è particolare fra i membri delle matrixine in quanto **manca del motivo a interruttore di cisteina nel propeptide** e del **dominio emopexina**. L'ultimo è sostituito da **domini tipo immunoglobulina ricchi in cisteina**. E' una proteina di membrana di tipo II con un dominio transmembrana nel N-terminale, tale che **l'enzima è solubilizzato quando il propeptide ancorato alla membrana è scisso da una preproteina convertasi**. E' espresso soprattutto nell'ovaio, testicolo e prostata, il che suggerisce un ruolo specializzato nel sistema riproduttivo.

Murphy G, Nagase H. *Progress in matrix metalloproteinase research*. Mol Aspects Med. 2008 Oct;29(5):290-308.



Seminario

Classificazione funzionale delle MMPs:

6 - Altre MMPs - c

- ✚ La MMP-27 è stata clonata per la prima volta in fibroblasti di embrione di pollo. Nel pollo digerisce la gelatina e la caseina e provoca l'autolisi dell'enzima, ma si sa poco sulla sua attività nei mammiferi. E' espressa nei linfociti B e i suoi livelli aumentano quando trattati con anticorpi anti-(IgC/IgM) in coltura.
- ✚ L'epilisina (MMP-28) è stata clonata per prima nei cheratinociti e testicolo umani ed è espressa da molti tessuti quali il polmone, placenta, cuore, tratto gastroenterico e testicolo. E' espresso dai cheratinociti basali della pelle e si pensa funzioni nel riparo delle ferite. E' inoltre elevato nella cartilagine di pazienti con osteoartrite e artrite reumatoide. La sovraespressione di MMP-28 ricombinante in cellule di adenocarcinoma del polmone induce la transizione epitelio-mesenchimale irreversibile, accompagnata da perdita di E-caderina dalla superficie cellulare, processamento del complesso latente di TGF- β con aumentati livelli di TGF- β insieme a sovra-regolazione di MT1-MMP, MMP-9 e attività invasiva del collagene.

Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research. Mol Aspects Med. 2008 Oct;29(5):290-308.

Seminario

Transforming growth factors- TGFs

- ✚ Descrive due classi di fattori di crescita polipeptidici: **TGF α** e **TGF β** .
- ✚ Il nome "Transforming Growth Factor" è alquanto arbitrario, poichè le due classi di TGFs **non sono strutturalmente o geneticamente correlate una all'altra**, e agiscono mediante meccanismi recettoriali differenti. Inoltre, **non sempre inducono la trasformazione cellulare**, e **non sono gli unici fattori di crescita che inducono trasformazione cellulare**.
- ✚ **Tipi**
 - Il **TGF α** è sovraregolato in alcuni tumori umani. E' prodotto dai macrofagi, cellule del cervello e dai cheratinociti e induce lo sviluppo dell'epitelio.
 - Il **TGF β** esiste in tre noti sottotipi nell'uomo, TGF β 1, TGF β 2, e TGF β 3. Questi sono sovraregolati nella sindrome di marfan e in alcuni tumori umani, e giocano ruoli cruciali nella rigenerazione tissutale, differenziamento cellulare e sviluppo embrionale. Si presume che delle isoforme del "transforming growth factor-beta" (TGF- β 1) siano coinvolte nella patogenesi della pre-eclampsia. I recettori per il **TGF β** sono serina/treonina chinasi a singolo passo.

http://en.wikipedia.org/wiki/Transforming_growth_factor

Seminario

SERINA PROTEASI INTRACELLULARI DI TIPO FURINA

Famiglia di proteinasi intracellulari, che include la furina, localizzate nella rete trans del Golgi dove svolgono un ruolo importante nel processamento intracellulare delle proteine di secrezione.

“SCAVENGER RECEPTORS”, (recettori di smaltimento)

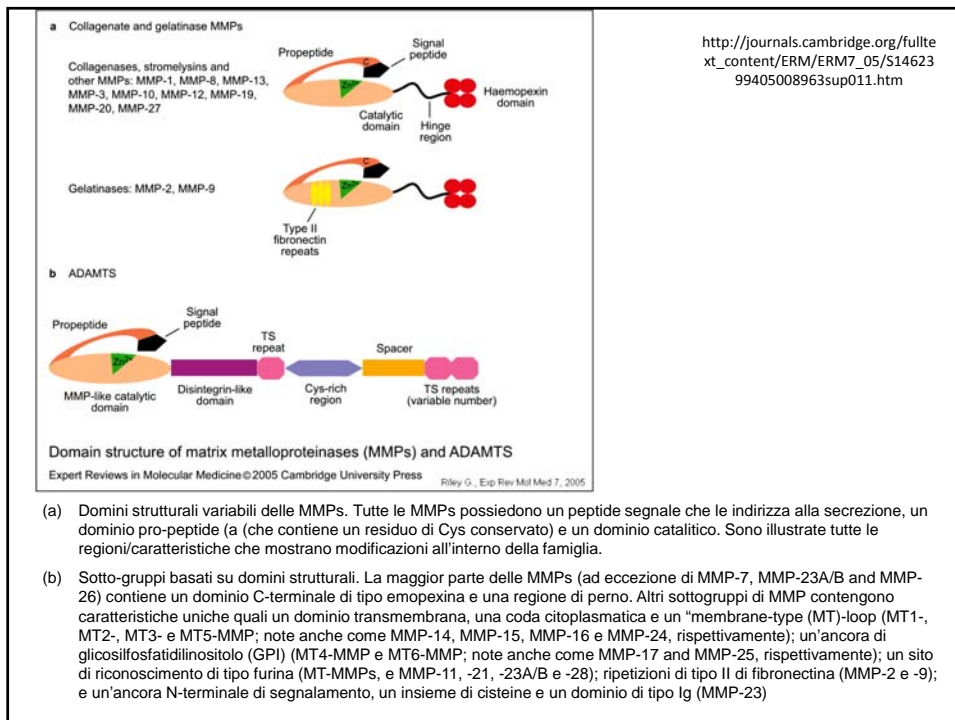
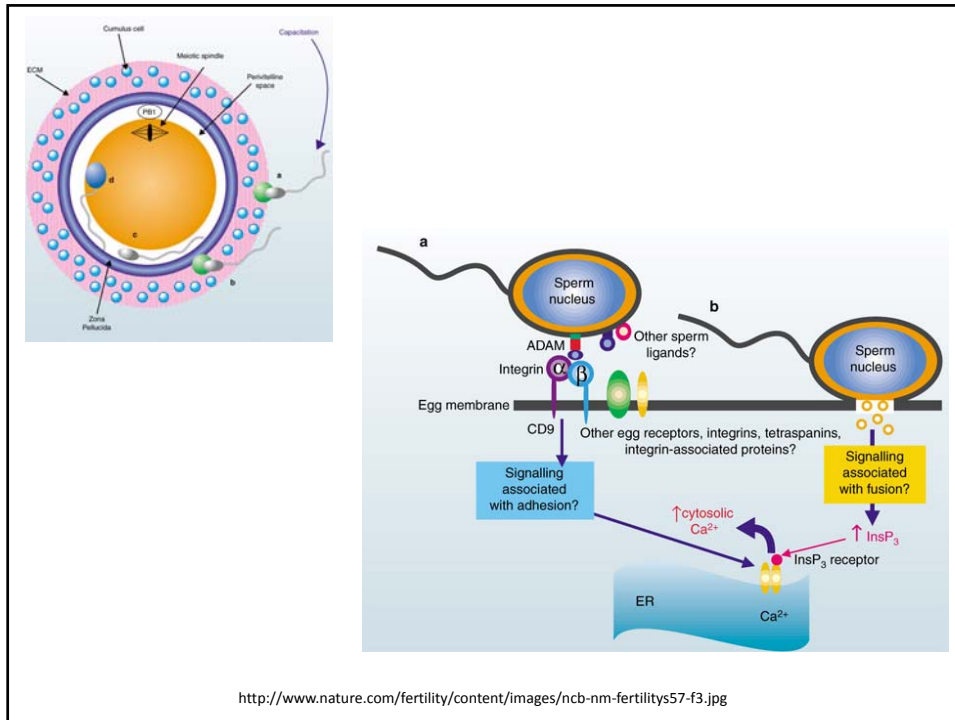
Un'ampia classe di recettori che “scavenge” (smaltisce) i detriti cellulari: i ligandi sono endocitati e in seguito degradati. I recettori “scavenger” hanno anche altre attività quali l'adesione

ADAMs - 2

La proteina fertilina sulla membrana plasmatica dello spermatozoo.

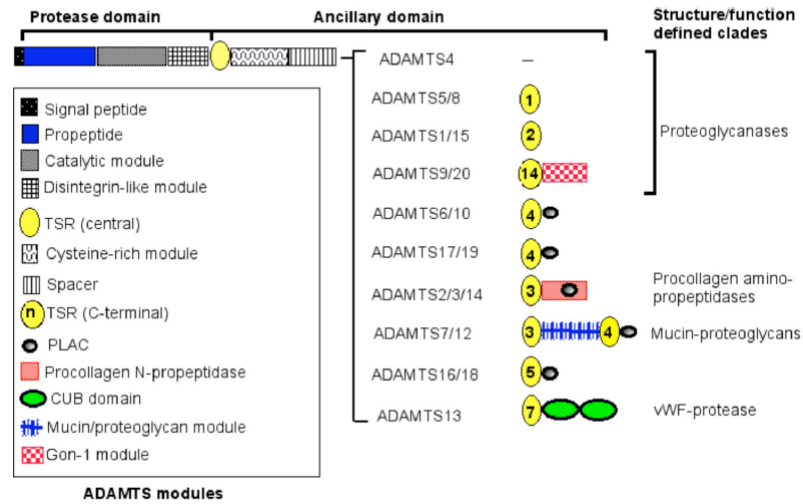
- ✦ Le subunità α e β che sono entrambe glicosilate (non evidenziato), sono associate in modo non covalente.
- ✦ Entrambe le subunità appartengono alla famiglia ADAM di proteine, che include proteine che si pensa funzionino sia nell'adesione cellulare che nell'elaborazione proteolitica di altre proteine transmembrana (ad es. la Notch).
- ✦ Il dominio proteolitico che è normalmente presente all'estremità N-terminale di queste proteine viene rimosso dalla proteina fertilina durante la maturazione dello spermatozoo.

Figure 20-33. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



- (a) Domini strutturali variabili delle MMPs. Tutte le MMPs possiedono un peptide segnale che le indirizza alla secrezione, un dominio pro-peptide (a che contiene un residuo di Cys conservato) e un dominio catalitico. Sono illustrate tutte le regioni/caratteristiche che mostrano modificazioni all'interno della famiglia.
- (b) Sotto-gruppi basati su domini strutturali. La maggior parte delle MMPs (ad eccezione di MMP-7, MMP-23A/B and MMP-26) contiene un dominio C-terminale di tipo emopexina e una regione di perno. Altri sottogruppi di MMP contengono caratteristiche uniche quali un dominio transmembrana, una coda citoplasmatica e un "membrane-type (MT)-loop (MT1-, MT2-, MT3- e MT5-MMP; note anche come MMP-14, MMP-15, MMP-16 e MMP-24, rispettivamente); un'ancora di glicosilfosfatidilinositolo (GPI) (MT4-MMP e MT6-MMP; note anche come MMP-17 and MMP-25, rispettivamente); un sito di riconoscimento di tipo furina (MT-MMPs, e MMP-11, -21, -23A/B e -28); ripetizioni di tipo II di fibronectina (MMP-2 e -9); e un'ancora N-terminale di segnalamento, un insieme di cisteine e un dominio di tipo Ig (MMP-23)

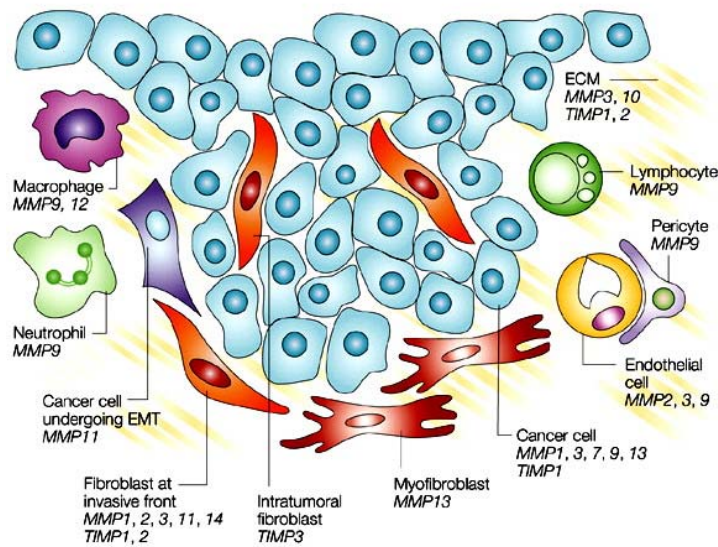
MINIREVIEW: ADAMTS Superfamily



Apte SS. A disintegrin-like and metalloprotease (repolysin-type) with thrombospondin type 1 motif (ADAMTS) superfamily: functions and mechanisms. J Biol Chem. 2009 Nov 13;284(46):31493-7.

Sem

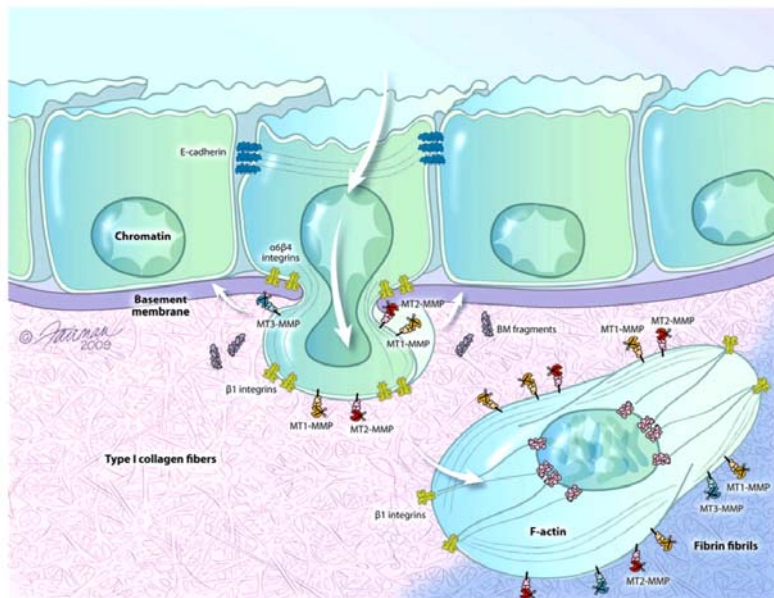
Degradazione della matrice nei tumori



Navigating ECM Barriers at the Invasive Front: The Cancer Cell–Stroma Interface

Rowe RG, Weiss SJ.
Annu Rev Cell Dev Biol. 25:567-595,
2009.

- Un evento di fondamentale importanza nella progressione tumorale è la **capacità della cellula neoplastica di mobilitare il macchinario necessario per fare delle breccie nelle circostanti barriere di MEC** mentre **orchestra una risposta stromale nell'ospite che alla fine sostiene i processi invasivo e metastatico**.
- Con più di 500 enzimi proteolitici identificati nel genoma umano, sono stati postulati reti di interconnessione fra processi proteasi-dipendenti e proteasi-indipendenti che guidano i programmi di invasione tumorale, mediante schemi di scoraggiante complessità.
- Un sempre maggiore numero di evidenze sperimentali tuttavia sta emergendo a favore di un **modello unificato** in cui un piccolo gruppo di enzimi ancorati alla membrana ("membrane-type metalloproteinases, **MT-MMPs**) gioca un ruolo predominante nella regolazione del traffico non solo delle cellule tumorali ma anche di quelle stromali attraverso le barriere della MEC assemblate dal tessuto dell'ospite in vivo.
- Capire i meccanismi alla base della regolazione e della funzione di questi metalloenzimi mentre le popolazioni dell'ospite attraversano la matrice extracellulare dinamica assemblata durante gli stadi neoplastici dovrebbe fornire teorie nuove e testabili sull'invasione e metastatizzazione tumorale.

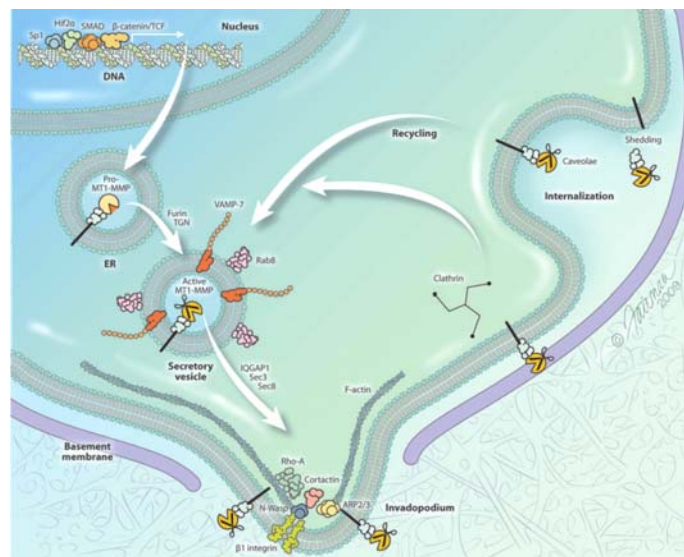


Rowe RG, Weiss SJ. Navigating ECM barriers at the invasive front: the cancer cell-stroma interface. Annu Rev Cell Dev Biol. 25:567-595, 2009.
Rowe RG, Weiss SJ. Navigating ECM barriers at the invasive front: the cancer cell-stroma interface. Annu Rev Cell Dev Biol. 25:567-595, 2009.

Didascalica figura precedente

- The 2-dimensional (2-D)-to-3-dimensional (3-D) transition. A differentiated epithelial cell normally exists atop the 2-D extracellular matrix (ECM) of the basement membrane (BM). During carcinoma progression, a malignant epithelial cell punctures the BM via the action of membrane-type 1,2,3 matrix metalloproteinases (MT1,2,3-MMPs) and transmigrates into the 3-D environment of the interstitial ECM. BM degradation products with biological activity signal to the invading cell and host stroma to modulate cell function. Within the 3-D ECM, collagen fibrils are remodeled by MT1-MMP and MT2-MMP and fibrin fibrils via MT1,2,3-MMPs. This 2-D to 3-D transition process is accompanied by disruption of cell:cell adhesion complexes (including adherens junctions containing E-cadherin), loss of cell polarity, protease activation, cytoskeletal and nuclear remodeling, and integrin switching. Collectively, these phenotypic changes result in the malignant epithelium assuming a nonpolar, mesenchymal-like phenotype for growth, migration, and survival within the 3-D interstitial ECM. Illustration by Jennifer Fairman (2009).

Rowe RG, Weiss SJ. Navigating ECM barriers at the invasive front: the cancer cell-stroma interface. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 25:567-595, 2009.



Rowe RG, Weiss SJ. Navigating ECM barriers at the invasive front: the cancer cell-stroma interface. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 25:567-595, 2009.

Didascalía figura precedente

- Regulation of membrane-type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP) expression, processing, traffic, and activity at the cell surface. Triggered by a variety of signaling cascades, Pol II transcription at the MMP14 gene and subsequent translation in the endoplasmic reticulum (ER) generate proMT1-MMP. ProMT1-MMP is proteolytically activated by proprotein convertases, such as furin, within the trans-Golgi network (TGN). MT1-MMP traffic to the cell surface is tightly regulated such that the active enzyme is delivered to focal zones of pericellular proteolysis that support 3-D growth and invasion. Vesicles containing active MT1-MMP are coated with VSV-G/Rab8 and trafficked via the exocyst complex to cortactin-rich invadopodia in which membrane fusion is mediated by VAMP-7. MT1-MMP activity at invadopodia coordinates cytoskeletal dynamics, adhesion, and proteolysis into a concerted invasion process. MT1-MMP cell surface activity is abrogated via mechanisms including endocytosis and shedding. Illustration by Jennifer Fairman (2009).

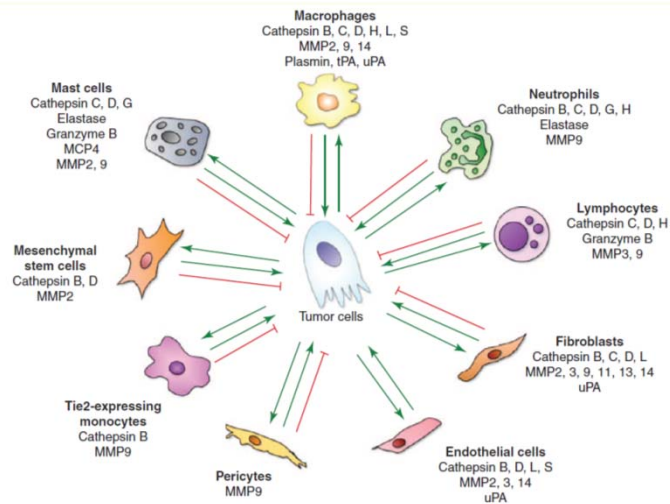
Rowe RG, Weiss SJ. Navigating ECM barriers at the invasive front: the cancer cell-stroma interface. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 25:567-595, 2009.

Proteolytic networks in cancer

Steven D. Mason and Johanna A. Joyce *Trends in Cell Biology* April 2011, Vol. 21, No. 4

Proteases are important for multiple processes during malignant progression, including tumor angiogenesis, invasion and metastasis. Recent evidence reveals that tumor-promoting proteases function as part of an extensive multidirectional network of proteolytic interactions, in contrast to the unidirectional caspase cascade. These networks involve different constituents of the tumor microenvironment and key proteases, such as cathepsin B, urokinase-type plasminogen activator and several matrix metalloproteinases, occupy central nodes for amplifying proteolytic signals passing through the network. The proteolytic network interacts with other important signaling pathways in tumor biology, involving chemokines, cytokines, and kinases. Viewing these proteolytic interactions as a system of activating and inhibiting reactions provides insight into tumor biology and reveals relevant pharmaceutical targets. This review examines recent advances in understanding proteases in cancer and summarizes how the network of activity is co-opted to promote tumor progression.

Contributo alla proteolisi delle varie cellule stromali dei tumori



Mason SD, Joyce JA. Proteolytic networks in cancer. Trends Cell Biol. 2011 Apr;21(4):228-37.

MATRIX METALLOPROTEINASES AS MODULATORS OF INFLAMMATION AND INNATE IMMUNITY

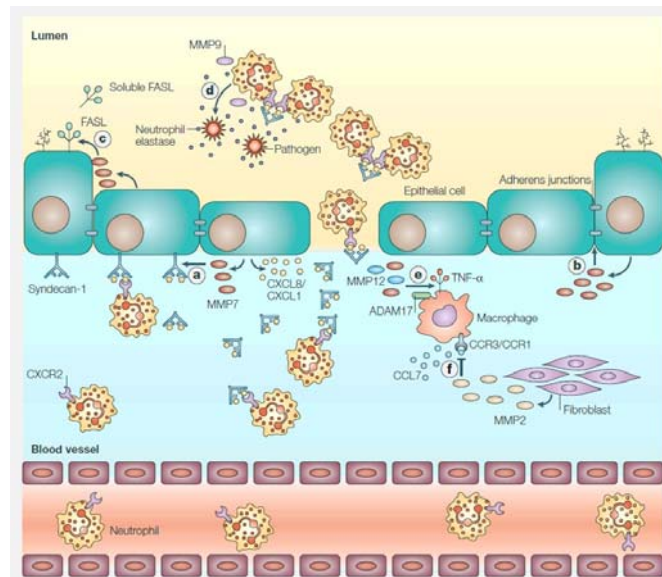
William C. Parks^{*‡}, Carole L. Wilson[§] and Yolanda S. López-Boado^{||}

As their name implies, matrix metalloproteinases are thought to be responsible for the turnover and degradation of the extracellular matrix. However, matrix degradation is neither the sole nor the main function of these proteinases. Indeed, as we discuss here, recent findings indicate that matrix metalloproteinases act on pro-inflammatory cytokines, chemokines and other proteins to regulate varied aspects of inflammation and immunity.

NATURE REVIEWS | IMMUNOLOGY

VOLUME 4 | AUGUST 2004 | 617

MMPs nell'inflamazione in risposta al danno tissutale



Parks WC, Wilson CL, López-Boado YS. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. Nat Rev Immunol. 2004 Aug;4(8):617-29.

Metalloproteinases and their natural inhibitors in inflammation and immunity

Rama Khokha, Aditya Murthy* and Ashley Weiss*

Abstract | Over the past 50 years, steady growth in the field of metalloproteinase biology has shown that the degradation of extracellular matrix components represents only a fraction of the functions performed by these enzymes and has highlighted their fundamental roles in immunity. Metalloproteinases regulate aspects of immune cell development, effector function, migration and ligand-receptor interactions. They carry out ectodomain shedding of cytokines and their cognate receptors. Together with their endogenous inhibitors TIMPs (tissue inhibitor of metalloproteinases), these enzymes regulate signalling downstream of the tumour necrosis factor receptor and the interleukin-6 receptor, as well as that downstream of the epidermal growth factor receptor and Notch, which are all pertinent for inflammatory responses. This Review discusses the metalloproteinase family as a crucial component in immune cell development and function.

NATURE REVIEWS | IMMUNOLOGY

VOLUME 13 | SEPTEMBER 2013 | 649

