

Yaşa Bağlı Maküla Dejenerasyonunda Matriks Metalloproteinazlar ve Matriks Metalloproteinaz İnhibitörlerinin Rolü

THE ROLE OF THE MATRIX METALLOPROTEINASES AND TISSUE INHIBITORS OF METALLOPROTEINASES IN AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION

Dr. Turgut YILMAZ,^a Dr. Mete GÜLER^a

^aGöz Hastalıkları AD, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, ELAZIĞ

Özet

Yaşa bağlı maküla dejenerasyonu (YBMD), gelişmiş ülkelerde 60 yaşın üstünde en önemli görme kaybı nedenlerinden biridir. Hastalık genellikle iki tipe ayrılır. Kuru ya da eksudatif olmayan tipi hastaların yaklaşık %85'ini oluşturur ve druzen birikimi ve/veya retina pigment epitelinin hipo/hiperpigmentasyonu gibi düzensizlikler ile karakterizedir. Hastaların yaklaşık %15'ini oluşturan yaş veya eksudatif tipi ise hastalığın daha ileri bir formudur ve koroid neovaskülarizasyonu ve/veya seröz retina dekolmanı ile karakterizedir. Eksudatif form YBMD'ye bağlı oluşan ağır görme kayıplarının yaklaşık %80-90'ından sorumludur. Matriks metalloproteinazlar (MMP) salgılanmış veya membrana bağlı şekilde bulunan, yapılarında çinko olan bir endopeptidaz ailesidir. Enzimler başlangıçta amino terminallerinin proteolitik parçalanmasıyla aktif hale gelen inaktif proenzimler olarak bulunurlar. Matriks metalloproteinazların aktiviteleri matriks metalloproteinaz inhibitörleri (TIMP) ile sıkı bir şekilde kontrol edilir. Matriks metalloproteinazlar ve TIMP'lerin arasındaki denge ekstraselüler matriksin bütünlüğünü düzenler ve birçok fizyolojik olayda anahtar rol oynar (embriyonik gelişme, bağ dokusu şekillenmesi, yara iyileşmesi ve anjiyogenez). Yaşa bağlı maküla dejenerasyonunun sebebi şimdilik tam anlaşılmamıştır ve tedavi seçeneklerinin artmasına karşın tedavisi henüz sınırlıdır. Çalışmalar, MMP ve TIMP'ler arasındaki dengesizliğin YBMD patogenezinde rol oynayabileceğini ve seçici MMP inhibisyonunun YBMD tedavisinde yeni bir seçenek olabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Matriks metalloproteinazlar; matriks metalloproteinaz inhibitörleri; maküla dejenerasyonu.

Abstract

Age-related macular degeneration (AMD) is the leading cause of blindness in developed countries over the age of 60. The disease is generally divided in two types. The dry or non-exudative type of disease makes up about 85% of the cases and is characterized by drusen accumulation and/or retinal pigment epithelial (RPE) irregularities that include hyperpigmentation or hypopigmentary changes. Wet or exudative type is an advanced form of AMD that makes up about 15% of cases and is characterized by choroidal neovascularization (CNV) and/or serous RPE detachments. This form of the disease accounts for about 80-90% of the blindness observed in patients with AMD. The matrix metalloproteinases (MMPs) are a family of zinc-dependent endopeptidases that exist in both secreted and membrane bound forms. The enzymes are initially expressed as inactive pro-enzymes becoming activated by proteolytic cleavage of their amino termini. The activity of MMPs is tightly regulated by the tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs). The balance between MMPs and TIMPs regulates the integrity of the extracellular matrix and thus plays a key role in several physiological processes (embryonic development, connective tissue remodeling, wound healing, and angiogenesis). The cause of AMD is still poorly understood, and available treatment options, although increasing, are still limited. Studies suggest that an imbalance of MMPs and their inhibitors may be involved in pathogenesis of AMD and selective MMP inhibition may be a novel way to treat patients with CNV.

Key Words: Matrix metalloproteinases; tissue inhibitor of metalloproteinases; macular degeneration

Türkiye Klinikleri J Ophthalmol 2007, 16:122-126

Yaşa bağlı maküla dejenerasyonu (YBMD) gelişmiş ülkelerde 60 yaş üzerindeki görme kaybının en önemli nedenlerinden

biridir. Hastalık genellikle iki tipe ayrılır. Hastalığın kuru (eksudatif olmayan) tipi tüm hastaların %85'ine karşılık gelmesine rağmen daha ciddi olan yaş (eksudatif) tipi ağır görme kayıplarının yaklaşık %80-90'ından sorumludur.¹

Yoğun araştırmalara rağmen YBMD'deki gerçek moleküler etiopatogenez tam olarak açıklanamamıştır. Yaşa bağlı maküla dejenerasyonu retina pigment epiteli (RPE), koryokapillaris, dış

Geliş Tarihi/Received: 22.11.2006 Kabul Tarihi/Accepted: 20.02.2007

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Turgut YILMAZ
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Göz Hastalıkları AD, ELAZIĞ
tyilmaz23@yahoo.com

Copyright © 2007 by Türkiye Klinikleri

retinadaki hücresele ve Bruch membranındaki (BM) yapısal değişikliklerle karakterizedir. Kuru YBMD'de koryokapillaris, RPE, dış retina atrofisi; RPE'nin hipo/hiperpigmentasyonu ve/veya druzen birikimi gibi düzensizlikler mevcuttur. Eksudatif tipi ise koroid neovaskülarizasyonu (KNV) ve/veya seröz retina dekolmanı ile karakterizedir. Bruch membranında yaygın kalınlaşma, bazal laminer ve bazal liner depositleri ile druzen birikimi; iç ve dış kollajen tabakalarında kollajende çapraz bağlanma; elastin tabakasında kalsifikasyon ve parçalanma gibi değişiklikler söz konusudur.² Koryokapillaris BM'ı ve arterlerin duvarları benzer ekstraselüler matrikse (ECM) sahiptirler. Yaşlanmaya bağlı olarak BM ve damarların duvarlarında ortaya çıkan değişiklikler benzer özellikler gösterir.³

Daha önce mevcut olan damarlardan yenilerinin gelişimi anjiyogenez olarak adlandırılmaktadır. Fizyolojik anjiyogenez, menstrüel döngü ve yara iyileşmesi gibi olaylarda önemli rol oynar. Son yıllarda tıbbın hemen tüm alanlarında patolojik anjiyogenezin mevcut olduğu tespit edilmiştir. Oftalmolojide de eksudatif YBMD, diyabetik retinopati ve prematüre retinopatisi gibi birçok retina patolojisinde patolojik anjiyogenez mevcuttur.⁴ Eksudatif YBMD'de izlenen KNV koroidden kaynaklanarak Bruch membranını deler ve özellikle maküla bölgesinde subretinal olarak yerleşir. Birçok farklı basamağı olan anjiyogenezin çeşitli anjiyogenik faktörler ve proteolitik enzimler tarafından yürütüldüğü belirtilmektedir.

Proteolitik enzimlerin KNV'deki rolü hakkında az sayıda çalışma olmasına karşın proteolitik enzim ailesinin üyelerinden olan matriks metalloproteinazların (MMP) önemli rollerinin olduğu bildirilmektedir.⁵

Matriks Metalloproteinazlar

Matriks metalloproteinaz yapılarında çinkonun olduğu ve aktif bölgelerinde korunmuş aminoasit dizisi içeren bir grup enzimdir. Bunlar başlangıçta aktif olmayan pro-enzim şeklinde salınırlar ve amino terminallerindeki çinko-sistein bağının ayrılmasıyla aktifleştirilirler. Matriks metalloproteinazların embriyonik gelişme, yara iyileşmesi,

bağ dokusunun şekillenmesi, anjiyogenez gibi birçok fizyolojik olayda rolleri vardır. Bu enzimler ve inhibitörleri ekstraselüler matriksin dinamik dengesinin devamında gereklidirler. Ancak bunların romatoid artrit, tümör invazyonu, metastazı ve anjiyogenezinde de rolleri vardır.⁶ Matriks metalloproteinaz yapıları ve/veya substrat özgüllüklerine göre aşağıdaki gibi sınıflandırılırlar.⁷

Kollajenazlar: Matriks metalloproteinaz-1, MMP-8, MMP-18 bu gruptadır. Tip I, II, III kollajen ve diğer fibriller kollajenleri parçalama özellikleri vardır.⁷

Jelatinazlar: Jelatinaz A (MMP-2) ve Jelatinaz B (MMP-9) bu gruba aittir. Tip IV, V, VII, X kollajeni, jelatin, fibronektin ve lamininleri parçalayabilirler.⁸

Stromelizinler: Stromelizin 1 (MMP-3) ve stromelizin 2 (MMP-10) benzer substrat özelliklerine sahiptir. Ekstraselüler matriks bileşenlerinden proteoglikanları, fibronektin, laminini parçalayabilirler.⁹

Matrilizinler: Matrilizin 1 (MMP-7) ile matrilizin 2 (MMP-26) bu gruptadır ve bunlara endometazlar da denir. Matriks metalloproteinaz-7, ECM bileşenlerinin yanında pro- α -defensin, Fasligand, pro-tümör nekrozis faktör ve E-kaderinin işlenmesinde de rol alır. Matriks metalloproteinaz-26 çeşitli ECM bileşenlerini parçalayabilir.⁷

Membran tipi MMP'ler: Altı tane membran tipi matriks metalloproteinaz (MT-MMP) vardır. Dört tanesi tip I trans membran proteinleri (MMP-14, MMP-15, MMP-16 ve MMP-24) ve 2 tanesi ise glikozilfosfotidilinozitol bağlı proteinler (MMP-17 ve MMP-25)'dir. Tip I MT-MMP'ler tip I, II, III kollajenleri parçalayabilirler. Membran tipi matriks metalloproteinazların jelatin, fibronektin ve birçok ECM bileşenini parçalama özellikleri vardır.^{7,10}

Yukarıdaki kategorilerde sınıflandırılmayan MMP'ler de mevcuttur. Metalloelastaz (MMP-12) makrofajlarda kodlanır. Esas görevi makrofajların göçünü sağlamaktır.¹¹ Elastinin yanında birçok proteinin parçalanmasında da görevlidir.⁷ Matriks metalloproteinaz-19 romatoid artritli hastalarda tespit edilmiştir.¹² Enamelizin (MMP-20) amelogenini sindirir ve yeni oluşan dişin minesini-

de bulunur.¹³ Matriks metalloproteinaz-22'nin fonksiyonu bilinmemektedir.⁷ Matriks metalloproteinaz-23 özellikle üreme organlarında bulunur.¹⁴ Matriks metalloproteinaz-28 (epilizin) keratinositlerde bulunur ve yara onarımında fonksiyonu olduğu düşünülmektedir.^{7,15}

Endojen MMP İnhibitörleri (TIMP)

Matriks metalloproteinazların aktiviteleri TIMP'ler tarafından sıkıca düzenlenir. Endojen MMP inhibitörü-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4 olmak üzere dört tip TIMP belirlenmiştir. Bunların düzeyleri transkripsiyon aşamasında ayarlanır. Bu düzenleme biçimi TIMP'lerin birbirlerinin yerine geçebilen moleküller olmaktan çok ECM düzenlenmesinde özel fizyolojik rollerinin olduğu izlenimini vermektedir.⁶ Endojen MMP inhibitörleri tüm MMP'lerin aktivitesini engelleyebilirler. Ancak TIMP-1, MT1-MMP'ı etkileyememektedir.¹⁶

Matriks Metalloproteinazların Anjiyogenezdeki Rollerini

Anjiyogenez birçok basamağı içermektedir. Bunlar sırası ile damar endotel hücrelerinin üzerinde anjiyogenik büyüme faktör reseptörlerinin gelişmesi, endotel bazal membranının proteolitik yıkılması, endotel hücrelerinin çoğalması ve göçmesi, çevredeki hücre dışı matriksin bozulması, perisit gibi ihtiyaç duyulan hücrelerin toplanması ve yeni arterio-venöz bağlantıların sağlanmasıdır.⁴

Fizyolojik anjiyogenezde MMP'ler, anjiyogenez inhibitörleri ve TIMP'ler arasında sıkı bir kontrol söz konusudur. Matriks metalloproteinazlar ECM bileşenlerini bozarak, göç eden endotel hücreleri için gerekli olan yolu açarlar.¹⁷ Matriks metalloproteinazlar endotel hücre göçü ve tüp oluşumu için gereklidirler.¹⁸ Matriks metalloproteinazlar hücreler arasındaki yapışıklıkları kırabilirler.¹⁹ Anjiyogenezde gerekli olan MMP'ler enflamatuar hücrelerden ve endotel hücrelerinin kendilerinden kaynaklanabilirler. Anjiyogenik faktörler endotel hücrelerinde MMP'lerin salınmasını ve fonksiyonlarını arttırabilirler. Matriks metalloproteinaz-2, MMP-9, MT1-MMP'i içeren membran vezikülleri endotel hücrelerinde bulunabilir ve bu hücrelerin bFGF veya VEGF ile uyarılmaları vezi-

küllerin boşalmasıyla sonuçlanır.²⁰ Matriks metalloproteinazlar stroma hücrelerinden de kaynaklanabilirler.¹⁷ Anjiyogenik faktörlerin endotel ve stroma hücrelerinden MMP'lerin salınımını arttırmalarının yanında MMP'ler de anjiyogenik faktörlerin biyoaktivitelerini arttırabilir. Ekstraselüler matriksin parçalanması VEGF, bFGF ve TGF- β gibi anjiyogenik faktörlerin salınımına neden olur.²¹ Ancak MMP-2'nin FGF'nin anjiyogenik aktivitesini engellediği de bulunmuştur.²²

Matriks Metalloproteinaz İnhibitörlerinin Anjiyogenezdeki Rollerini

Yapılan çalışmalarda TIMP'lerin antianjiyogenik aktivitelerinin olduğu tespit edilmiştir. Endojen MMP inhibitörü-1 ve TIMP-2'nin eritrositleri harekete geçirme ve hücre büyümesini uyarma etkileri yanında antianjiyogenik aktiviteleri de tespit edilmiştir.⁷ Endojen MMP inhibitörü-3'ün ise proapoptik ve antianjiyogenik aktivitesi bulunmuştur.⁷ Endojen MMP inhibitörü-1 bazal ve VEGF'in indüklediği endotel hücre göçünü engellemektedir.¹⁷ Endojen MMP inhibitörü-2, FGF'nin indüklediği endotel hücre çoğalmasına, TIMP-3 uyarılmış endotel hücrelerinin çoğalmasına ve göçüne, TIMP-4 ise endotel tüpü oluşumuna engel olur.²³ Kanserdeki anjiyogenezin bir bölümünde görev alan Cathepsin B'nin TIMP-1 ve TIMP-2'yi inaktif edip anjiyogenez uyardığı bulunmuştur.²⁴ Ancak yüksek düzeydeki TIMP-1'in meme kanserinde ve retinada VEGF'in indüklediği neovaskülarizasyonu arttırdığını bildiren çalışmalar da vardır.²³ Endojen MMP inhibitörü-2'nin antianjiyogenik aktivitesinin bir kısmı MMP'leri engelleyici etkisiyle direkt ilişkili gibi görünmemektedir. Zira MMP aktivitesini engelleyici etkisi bulunmayan mutant TIMP-2'nin de VEGF'in uyardığı endotel hücre göçünü baskıladığı bulunmuştur.²⁵

Yaşla Bağlı Maküla Dejenerasyonunda MMP ve TIMP'lerin Rolü

Matriks metalloproteinazların YBMD'deki rolleri hakkında son yıllarda yapılan çalışmalar dikkat çekicidir.

Steen²⁶ ve ark., cerrahi olarak alınan koroid neovasküler membranlarını (KNVM) inceledikle-

rinde tüm örneklerde MMP-2 ve MMP-9'u tespit etmişlerdir. Çoğu KNVM'de TIMP-1, TIMP-3 ve örneklerin yaklaşık yarısında TIMP-2 mRNA'sının mevcut olduğunu görmüşlerdir. Vaskülarize membran stromasında MMP-2, TIMP-1 ve TIMP-2 mRNA üretiminin nispeten benzer düzeyde olduğunu bulmuşlardır. Matriks metalloproteinaz-9'u KNVM'nin kenarına yakın bölgelerde tespit etmişlerdir. Endojen MMP inhibitörü-3 mRNA'sının ise güçlü biçimde RPE katında salgılandığını bulmuşlar, ancak MMP-1 ve MMP-3 varlığını tespit edememişlerdir. Sonuç olarak MMP-2 ve MMP-9'un KNVM'nin ilerlemesinde birlikte rol oynayabileceklerini belirtmişlerdir. Ancak aynı araştırmacılar, KNVM ile ilgili deneysel başka bir çalışmalarında MMP-2'yi tespit ederlerken, MMP-9 varlığına rastlamamışlardır.⁵

Lambert²⁷ ve ark., MMP-2 ve MMP-9 salgılanmasının engellendiği mutant farelerde argon lazer ile yapılan deneysel KNVM'nin ilerlemesinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde azaldığını bulmuşlardır. Aynı çalışmada adenoviral vektörlerle endojen TIMP-1 veya TIMP-2 düzeyinin artırıldığı ve sentetik jelatinaz selektif MMP inhibitörü (Ro26-2853) ile günlük tedavi edilen gruplarda mevcut patolojinin anlamlı ölçüde azaldığını görmüşlerdir. Sonuçta MMP-2 ve MMP-9'un KNVM oluşumunda birlikte rol aldığını belirtmişlerdir. Benzer deneysel çalışmalarda MMP-2 ve MMP-9 mutant farelerde KNVM gelişimi kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az bulunmuştur.^{28,29} Kadosono³⁰ ve ark., cerrahi ile çıkardıkları tüm KNMV'lerde MMP-7'nin bulunduğunu göstermişlerdir. Plantner³¹ ve ark., YBMD'li hastalarda RPE ile ilişkili interfotoreseptör matrikste (IPM) MMP-2'yi normal bireylere göre yüksek düzeyde saptamışlardır. Plantner⁶ ve ark., başka bir çalışmalarında RPE-IPM'de ve vitreusta MMP-1, -2, -3, -9'u bulmuşken MMP-7 ve 12'yi saptayamamışlardır. Aynı çalışmada IPM ve vitreusta TIMP-1, -2, -3 de tespit edilmiştir. Leu³² ve ark., kültüre RPE hücrelerinde bilinen MMP'lerden en az 10 tanesini (MMP -1, -3, -7, -8, -9, -10, -12, -13, -14, -15) ve TIMP'lerden üçünü (TIMP-1, -2, -3) tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada druzende TIMP-3 düzeyini yüksek saptamışlar ve bu alanların proteolize di-

rençli soğuk noktalar olabileceklerini belirtmişlerdir. Matriks metalloproteinaz aktivitesinin baskılanmasının druzenin proteolitik parçalanmasını yavaşlatabileceğini iddia etmişlerdir.

Sorsby'nin Fundus Distrofisi (SFD) eksudatif YBMD'ye benzer klinik özellikler taşımaktadır. Bir çalışmada SFD'de TIMP-3 aktivitesinin azaldığı ve MMP-2 aktivitesinin arttığı bulunmuştur.³³ Sorsby'nin Fundus Distrofisi ile ilgili başka bir çalışmada mutant TIMP-3 aktivitesinin normalden az olduğu saptanmıştır.³⁴ Jeow³⁵ ve ark., SFD'de mutant TIMP-3'ün BM'nin fonksiyonlarını engellediğini ve hücreler arası yapışmayı etkilediğini öne sürmüşlerdir. Bu durumun ise druzen, BM'ı değişiklikleri, KNVM'nin oluşumunda rol oynayabileceğini belirtmişlerdir.

Matriks metalloproteinaz ve TIMP'lerin YBMD'deki rolleri ile ilgili çalışmalar şu an için sınırlı sayıdadır. Bu çalışmalar YBMD'de MMP ve TIMP'lerin rollerinin önemini vurgulamaktadır. Matriks metalloproteinaz ve TIMP'lerin fizyolojik rollerinin olduğu da göz önünde bulundurularak MMP'lerin seçici inhibisyonu, YBMD'de anti VEGF terapilerinin yanında gelecekte alternatif bir tedavi seçeneği olabilir.

KAYNAKLAR

1. Ambati J, Ambati BK, Yoo SH, Ianchulev S, Adamis AP. Age-related macular degeneration: Etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Surv Ophthalmol* 2003;48:257-93.
2. Cai H, Del Priore LV. Bruch membran aging alters the gene expression profile of human retinal pigment epithelium. *Curr Eye Res* 2006;31:181-9
3. Sivaprasad S, Bailey TA, Chong VNH. Bruch's membran and the vascular intima: is there a common basis for age related changes and disease? *Clin Experiment Ophthalmol* 2005;33:518-23.
4. Drixler TA, Voest EE, von Vroonhoven TM, Rinkes IH. Angiogenesis and surgery: from mice to man. *Eur J Surg* 2000;166:435-46.
5. Kvant A, Shen WY, Sarman S, Seregard S, Steen B, Rakoczy E. Matrix metalloproteinase expression in experimental choroidal neovascularization. *Curr Eye Res* 2000;21:684-90.
6. Plantner JJ, Smine A, Quin TA. Matrix metalloproteinases and matrix metalloproteinase inhibitors in human interfotoreceptor matrix and vitreous. *Curr Eye Res* 1998;17:132-40.
7. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: Structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003;92:827-39.

8. Allan JA, Docherty AJ, Barker PJ, Huskinson NS, Reynolds JJ, Murphy G. Binding of gelatinases A and B to type-I collagen and other matrix components. *Biochem J* 1995;309:299-306.
9. Stamenkovic I. Extracellular matrix remodeling: The role of matrix metalloproteinases. *J Pathol* 2003;200:448-64.
10. Ohuchi E, Imai K, Fujii Y, Sato H, Seiki M, Okada Y. Membrane type 1 matrix metalloproteinase digests interstitial collagens and other extracellular matrix molecules. *J Biol Chem* 1997;272:2446-51.
11. Shipley JM, Wesselschmidt RL, Kobayashi DK, Ley TJ, Shapiro SD. Metalloelastase is required for macrophage-mediated proteolysis and matrix invasion in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:3942-6.
12. Kolb C, Mauch S, Peter HH, Krawinkel U, Sedlacek R. The matrix metalloproteinase RASI-1 is expressed in synovial blood vessels of a rheumatoid arthritis patient. *Immunol Lett* 1997;57:83-4.
13. Li W, Gibson CW, Abrams WR, Andrews DW, DenBesten PK. Reduced hydrolysis amelogenin may result in X-linked amelogenesis imperfecta. *Matrix Biol* 2001;19:755-60.
14. Velasco G, Pendas AM, Fueyo A, Knäuper V, Murphy G, López-Otín C. Cloning and characterization of human MMP-23, a new matrix metalloproteinase predominantly expressed in reproductive tissues and lacking conserved domains in other family members. *J Biol Chem* 1999;274:4570-6.
15. Saarialho-Kere U, Kerkela E, Jahkola T, Suomela S, Keski-Oja J, Lohi J. Epilysin (MMP-28) expression is associated with cell proliferation during epithelial repair. *J Invest Dermatol* 2002;119:14-21.
16. Will H, Atkinson SJ, Butler GS, Smith B, Murphy G. The soluble catalytic domain of membrane type-1 matrix metalloproteinase cleaves the propeptide of progelatinase A and initiates autolytic activation by TIMP-2 and TIMP-3. *J Bio Chem* 1996;271:17119-23.
17. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med* 2005;9:267-85.
18. Nguyen M, Arkell J, Jackson CJ. Human endothelial gelatinases and angiogenesis. *Int J Biochem Cell Biol* 2001;33:960-70.
19. Herren B, Levkau B, Raines EW, Ross R. Cleavage of β -catenin and plakoglobin and shedding of VE-cadherin during endothelial apoptosis: Evidence for a role for caspases and metalloproteinases. *Molec Biol Cell* 1998;9:1589-601.
20. Taraboletti G, D'Ascenzo S, Borsotti P, Giavazzi R, Pavan A, Dolo V. Shedding of the matrix metalloproteinases MMP-2, MMP-9, and MT1-MMP as membrane vesicle-associated components by endothelial cells. *Am J Pathol* 2002;160:673-80.
21. Kalluri R. Basement membranes: Structure, assembly and role in tumor angiogenesis. *Nat Rev Cancer* 2003;3:422-33.
22. Levi E, Friedman R, Miao H-Q, Ma Y-C, Yayon A, Vlodavsky I. Matrix metalloproteinase-2 releases active soluble ectodomain of fibroblast growth factor receptor 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:7069-74.
23. Jiang Y, Goldberg ID, Shi YE. Complex roles of tissue inhibitors of metalloproteinases in cancer. *Oncogene* 2002;21:2245-52.
24. Kostaulas G, Lang A, Nagase H, Baici A. Stimulation of angiogenesis through cathepsin B inactivation of the tissue inhibitors of matrix metalloproteinases. *FEBS Letters* 1999;455:286-90.
25. Oh J, Seo DW, Diaz T, et al. Tissue inhibitors of matrix metalloproteinase-2 inhibits endothelial cell migration through increased expression of RCEK. *Cancer Res* 2004;64:9062-9.
26. Steen B, Sejersen S, Berglin L, Seregard S, Kvanta A. Matrix metalloproteinases and metalloproteinase inhibitors in choroidal neovascular membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:2194-200.
27. Lambert V, Wielockx B, Munaut C, et al. MMP-2 and MMP-9 synergize in promoting choroidal neovascularization. *FASEB J* 2003;17:2290-2.
28. Berglin L, Sarman S, van der Ploeg I, et al. Reduced choroidal neovascular membrane formation in matrix metalloproteinase-2 deficient mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:403-8.
29. Lambert V, Munaut C, Jost M, et al. Matrix metalloproteinase-9 contributes to choroidal neovascularization. *Am J Pathol* 2002;161:1247-53.
30. Kodasano K, Yazama F, Itoh N, Sawada H, Ohno S. Expression of matrix metalloproteinase-7 in choroidal neovascular membranes in age related macular degeneration. *Am J Ophthalmol* 1999;128:382-4.
31. Plantner JJ, Jiang C, Smine A. Increase in interphotoreceptor matrix gelatinase A (MMP-2) associated with age-related macular degeneration. *Exp Eye Res* 1998;67:637-45.
32. Leu ST, Batni S, Radeke MJ, Johnson LV, Anderson DH, Clegg DO. Drusen are cold spots for proteolysis: Expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitor proteins in age related macular degeneration. *Exp Eye Res* 2002;74:141-54.
33. Qi JH, Ebrahim Q, Yeow K, Edwards DR, Fox PL, Anand-Apte B. Expression of Sorsby's fundus dystrophy mutations in human retinal pigment epithelial cells reduces matrix metalloproteinase inhibition and may promote angiogenesis. *J Biol Chem* 2002;277:13394-400.
34. Langton KP, Barker MD, Norman MK. Localization of the functional domains of human tissue inhibitor of metalloproteinases-3 and the effects of a Sorsby's fundus dystrophy mutation. *J Biol Chem* 1998;273:16778-81.
35. Yeow KM, Kishnani NS, Hutton M, Hawkes SP, Murphy G, Edwards DR. Sorsby's fundus dystrophy tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP-3) mutants have unimpaired matrix metalloproteinase inhibitory activities, but affect cell adhesion to the extracellular matrix. *Matrix Biol* 2002;21:75-88.