





Ekstraselüler Matriksin Yapısal ve Fonksiyonel Özellikleri

Structural and Functional Properties of the Extracellular Matrix

 Rasime Sevgi CENAN,^a
 Ekin ERGİN,^a
 Yahya EKİCİ,^b
 Fatma Belgin ATAÇ^a

^aTıbbi Biyoloji AD,
^bGenel Cerrahi AD,
 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi,
 Ankara, TÜRKİYE

Received: 22.03.2018
 Received in revised form: 17.07.2018
 Accepted: 04.09.2018
 Available online: 28.11.2018

Correspondence:
 Rasime Sevgi CENAN
 Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi,
 Tıbbi Biyoloji AD, Ankara,
 TÜRKİYE/TURKEY
 sevgicenan@gmail.com

ÖZET Ekstraselüler matriks (ECM) temel olarak hücrelere fiziksel destek sağlayan ve dokuların sınırlarını belirleyen yapı şeklinde tanımlanabilmektedir. Hücrelere destek ortamını sağlayan bu yapıya daha detaylı olarak bakıldığında ise hücrenin farklılaşması, morfolojisi, proliferasyonu, göçü gibi fonksiyonların gerçekleşmesi için gerekli bir ortamın varlığı görülmektedir. Ayrıca, bu ortam içerdiği büyüme faktörleri ile bir depo görevi görmektedir. Hücreler arası matrikste bulunan ana biyomolekülleri proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar ve kollajenler şeklinde ifade edebilmektedir. Bu yapıardan bazıları hücreler arası matrikste bulunmalarının yanı sıra hücre yüzey reseptörü olarak görev almaktadırlar. Bu durum hücre-matriks etkileşimi olarak düşünüldüğünde sinyal iletiminde oldukça önemli bir yere sahiptir. Bu sayede hücre içi ve hücre dışı ortam arasında ilişki kurulmuş olmaktadır. Hücrelerin uygun şekilde yerleşim göstermeleri ve doku gelişim sürecine paralel olarak bu yerleşimi devam ettirmeleri iyi organize olmuş ECM yapısı ile yakından ilişkilidir. Bu ilişkinin önemini özellikle klinik sonuçları olan kas-iskelet sistemi hastalıklarında ve doku mühendisliği uygulamalarının temeli olan iskele yapılarının sentez sürecinde görülmektedir. Özellikle doğal kaynaklı biyomalzemelerin kullanıldığı alanlarda ECM organizasyonu önem kazanmaktadır. Ayrıca, üç boyutlu hücre kültürü çalışmalarında da ECM organizasyonunun ön planda olduğu görülmektedir. ECM yapısının çalışmalarda görülen bu çok yönlü özellikleri fizyolojik koşullarda ECM'nin organizasyonu ile ilgilidir. ECM'nin hem hastalıklarda hem de normal fizyolojik koşullarda organizasyonunun anlaşılması oldukça önemlidir. Hazırlanan bu çalışmada, ECM yapısının moleküler özellikleri ve ECM ile ilgili hastalıklar ortaya konmakla birlikte, son yıllarda özellikle yenileyici tıp yaklaşımı başlığı altında yapılan ve hücre-ECM etkileşiminin ön planda tutulduğu yaklaşımların açıklanması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ekstraselüler matriks; hücre-matriks etkileşimi; doku mühendisliği; yenileyici tıp

ABSTRACT The extracellular matrix (ECM) is basically defined as the structure that provides physical support to the cells and determines the boundaries of the tissues. This structure, which provides the supportive environment for the cells, can be seen in more detail, and we can see the existence of an environment for the differentiation of cells, morphology, proliferation and migration. This environment also serves as a repository with the growth factors which it contains. The main biomolecules found in the intercellular matrix can be defined as proteoglycans, glycosaminoglycans and collagen. Some of these structures serve as cell surface receptors as well as the presence of intercellular matrix. This situation is very important for signal transmission when it is considered as cell-matrix interaction. In this regard, a relationship is established between intracellular and extracellular environment. The proper placement of cells and their resumption in parallel with the tissue development process are closely related to well-organized ECM structure. We see the importance of this relationship especially in the musculoskeletal system diseases, which have clinical consequences, and in the synthesis process of scaffold structures based on tissue engineering applications. Especially in the areas where natural biomaterials are used, the ECM organization gains importance. It is also apparent that the ECM organization is forefront in three-dimensional cell culture studies. These versatile features of the ECM structure seen in the work are related to the organization of the ECM in physiological conditions. Understanding of the organization of ECM in both diseases and normal physiological conditions is very important. In this review, the biochemical and physical basis properties of the ECM structure and related ECM diseases will be revealed. Also, in recent years, approaches to cell-ECM interaction, which have been carried out under the heading of particularly regenerative medicine will be explained.

Keywords: Extracellular matrix; cell-matrix interaction; tissue engineering; regenerative medicine

Ekstraselüler matriks [extracellular matrix (ECM)]; substrat tutunması, sinyal mekanizmalarının işlenmesi için gerekli ortamın kurulması ve hücrelere fizyolojik bariyer sağlayan bir ortam olup; hücrelerin dışsal sinyallerle etkileşim kurup göç etme, proliferasyon, farklılaşma, sağkalım gibi özelliklerini yönetmektedir.

ECM üç boyutlu şekilde ve hücreler olarak bulunan bir makromolekül ağıdır. ECM yapısında ağ yapısının oluşması için birçok biyomolekül ve hücre adezyon reseptörü birlikte görev almaktadır. Böylece doku ve organların yapısal ve fonksiyonel özelliklerine, organizasyonlarına katkı sağlanmaktadır. Hücrelerin hepsi ECM üretimi için gerekli yapıları sentezlemektedir. Dolayısıyla ECM'nin üretimi ve hücre tipi arasında dinamik bir etkileşim oluşabilmektedir.¹⁻³

ECM bileşeni olarak başta fibriller yapılar olmak üzere çok sayıda molekül tanımlanmıştır. Ayrıca, fonksiyonel özelliklerin de ortaya konması ile ECM'nin dinamik yapısı açıklanmıştır. Bu noktada sadece ECM'nin kendi dinamik yapısı değil hücrenin kendi dinamikleri de ECM'den gelen sinyallerle düzenlenebilmektedir. Böylece ECM'nin normal ve patolojik süreçlerdeki işlevinin açıklanmasına odaklanılmıştır ve çalışmalar her iki koşulun anlaşılmasına ve ortaya konması hususunda yoğunlaşmıştır.⁴

ECM içerisinde bulunan moleküller birçok şekilde sınıflandırılrsa da genel anlamda yapısal olarak bulunan kollajen, elastin, proteoglikan gibi moleküller ve daha özelleşmiş yapılar olarak da integrin, fibronektin gibi yapılar yer almaktadır.

■ EKSTRASELÜLER MATRİKS BİLEŞENLERİ

Kollajenler, proteoglikanlar ve glikoproteinler ECM'de bulunan moleküller olup; hücre adezyonu ve doku gelişiminde bir çerçeve çizmektedir.⁵ Epitel hücrelerin yerleşim gösterdiği ECM yapısı incelendiğinde, yapısal ve içerik olarak bazal lamina ve bağ doku olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Bazal lamina kollajen Tip IV, laminin, nidojen 1 ve nidojen 2, perlekan gibi proteoglikan yapılarından oluşmakta ve tüm doku ve organlar bazal mebrana tutunarak organize olmaktadır.^{2,5}

Bazal lamina, 1840 yılında ilk kez tanımlandıktan sonra hemen hemen bütün dokularda varlığı ortaya konan ECM bileşendir.⁶ Yapısında bulunan Tip IV kollajen, fibril yapıda olmayan polimer özelliği göstermektedir. Laminin ve fibronektin, adeziv glikoprotein özelliği göstermektedir. Entaktin ve perlakan, proteoglikan özelliğindedir.^{5,7} Proteoglikanlar, proteinlere kovalent olarak bağlanabilen glikozaminoglikanlardır.

Laminin α , β , γ zincirlerinden oluşan heterotrimer olup; bazal laminanın ana bileşenidir. Laminin için 12 izoform tanımlanmıştır ve sahip oldukları farklı domainler ile hücrelerde etkileşimde farklılık göstermektedirler. Laminin özellikle embriyonik gelişim ve organogenez aşamalarında önemlidir.^{5,7} Laminin glikoprotein dokuda epitel hücrelerin tutunmasına olanak sağlamakta ve ilişkide olduğu Tip IV kollajen ile bazal lamina yapısının stabil olmasını sağlamaktadır.²

Fibronektin, hücre adezyonunda ve göçünde rol oynayan glikoprotein yapıda bulunan ECM bileşenidir. Fibronektin monomerleri yapısında I, II, III olmak üzere üç tekrar domaini içermektedir. Fibronektinler; fibrin, heparin, kollajen, integrin diğer ECM yapıları ile bağlanma birimlerine sahiptirler.^{5,7}

Kollajen, gly-X-Y tekrarları içeren üçlü sarmal α heliks zincirlerinden oluşmaktadır. Kollajen ailesi yüksek oranda çeşitlilik göstermekte ve klasik fibriller yapıda düzenlenenler, amorf yapıda olanlar ve transmembran kollajenler şeklinde bulunmaktadır. Buna bağlı olarak fibriller ve fibriller olmayan formları ECM'nin yapısal özelliklerini belirlemektedir.^{5,7} Kollajen proteinleri öncü olarak prokolajen şeklinde sentezlenmekte ve kollajene çevrilerek yapısal işlev göstermektedir. Yeni sentezlenen prokolajen endoplazmik retikülüm (ER) yüzeyinde bulunan ribozomlar da sentezlenmekte ve büyüyen zincir ER sisternalarına girmekte ve sentez burada tamamlanmaktadır. Kollajen üçlü heliks yapısında prolin ve lizin hidroksilasyonu gibi posttranslasyonel modifikasyonlar önemli olup, bunlar ER'de sentez sırasında gerçekleştirilmektedir. Prolin hidroksilasyonu 4-hidroksiprolin şeklinde olmakta ve üçlü heliks yapıyı stabil

tutmaktadır. Lizin hidroksilasyonu ise kollajen molekülleri ve polimerleri arasında çapraz bağlanmayı sağlamaktadır. Bu çapraz bağlar kollajen organizasyonu ve doku/organlara belirli bir mekaniksel dayanıklılık kazandırmak için oldukça önemlidir.⁵

Proteoglikanlar, glikozaminoglikanlar (GAG) ın bir kor protein yapısına bağlanarak meydana getirdiği yapılardır. GAG molekülleri tekrarlayan disakkarit birimlerinden oluşan doğrusal anyonik polisakkaritlerdir.⁷ GAG zincirleri taşıdıkları negatif yük özellikleri ile kıkırdak dokuda su tutma kapasitesine bağlı desteğin oluşmasında önemlidir.⁵ Bu sayede proteoglikanlar hidrojel şeklinde bulunup dokuya mekaniksel dayanıklılık kazandırmaktadırlar. Proteoglikanlar hücre içi bölgelerde ve ECM'de bulunmaktadır. Bunlar GAG zincirleri veya kor proteinleri aracılığı ile birçok büyüme faktörü, sitokin ile ilişki kurmaktadır. Bu açıdan ECM organizasyonu ve hücrelerin aktivitesini düzenlemede etkin rol oynamaktadırlar.² Proteoglikanlar, içerdikleri GAG zincirleri ve kor proteini yapısı esas alınarak üç sınıfa ayrılmıştır. Bunlar zengin küçük lösinler, modüler proteoglikanlar ve hücre yüzey proteoglikanları, yani membran proteoglikanları şeklindedir.³ Zengin küçük lösinler kollajen ağın oluşmasına yardımcı olmaktadır. Membran proteoglikanları heparan sülfat ve keratan sülfat bulundurma eğilimi göstermektedirler. Bu yapılar büyüme faktörlerini bağlamaktadırlar. Bu yüzey etkileşimleri sayesinde adezyon, göç etme, proliferasyon, farklılaşma gibi sinyaller düzenlenmektedir.⁵

GAG yapıları hiyalüronik asit, keratan sülfat, kondroitin sülfat/dermatan sülfat ve heparan sülfat olarak dört grupta incelenmektedir. Hiyalüronik asit, sülfat içermeyen ve kor protein yapıları ile kovalent bağ kurmaksızın bulunan doğrusal GAG zincirleri olarak ifade edilmektedir.⁷ Hiyalüronik asit su tutma kapasitesi ile dokuya fizikokimyasal olarak yapısal ve fonksiyonel bir özellik kazandırmakta ve bunun yanı sıra hücre proliferasyonu, göçü ve doku tamirinde rol almaktadır.⁸ Hiyalüronik asit moleküllerinin dokuda bulunması bu yapıyı yıkan ve sentezleyen enzimlerin aktivitesi ile ilişkilidir. Memelilerde üç hiyalüronan sentaz izoformu olup, bunların temel görevi farklı büyük-

lükte olan hiyalüronik asit moleküllerinin sentezini gerçekleştirmektir. Diğer yandan hiyalüronidazlar, hiyalüronik asit moleküllerini düşük molekül ağırlıklı parçalara ayırmaktadırlar.²

Proteoglikanlar ve GAG'ler normal fizyolojik koşullarda ve çeşitli hastalıkların gelişiminde rol oynamaktadır. Çünkü bu iki ECM bileşeninin sentezi ve yıkımı, ECM'nin yeniden modellenme süreci ile yakından ilişkilidir.² Son yıllarda yapılan çalışmalarda, proteoglikanların ve GAG'lerin sentezinde epigenetik modifikasyonların da rolü olduğu rapor edilmiştir.^{9,10}

Hücrelerin ECM sinyallerini alıp hücre içi iskelet yapısına iletmesinde integrin molekülleri, sindekan ve diğer reseptörler rol almaktadır.⁶

İntegrinler, ECM'ye hücre tutunmasını mümkün kılan heterodimerik reseptör molekülleridir. Bu yapılar kurdukları hücre içi ve dışı etkileşimler ile mekanik sinyal devamlılığını sağlamaktadırlar. İntegrinler için ligand yapıları kollajen, laminin, fibronektin olarak ifade edilebilmektedir. Bu ligandlar ve integrin etkileşimi sayesinde hücre sağkalımı, hücre göçü, proliferasyon gibi süreçler düzenlenmektedir.⁵

■ EKSTRASELÜLER MATRİKS YAPISI VE YENİLEYİCİ TIP YAKLAŞIMI

ECM, hücre tutunması ve hücrelerin etkileşimi için doku bütünlüğünü sağlayan bir iskele olup; tüm doku ve organlarda bulunan dinamik bir mikroçevredir. ECM yapısına bakıldığında, hücrelerin salgıladığı bir ortam ve buna bağlı olarak büyüme faktörleri gibi uyarınları barındıran bir ortam görülmektedir.¹¹ Hasarlı doku ve/veya organın yerini almasını istediğimiz ve doku mühendisliği yaklaşımları kullanılarak elde edilecek doğal kaynaklı biyomalzemeler için ECM kullanılarak elde edilen iskele yapıları yenileyici tıp yaklaşımında önem kazanmaktadır. Buna örnek olarak; biyolojik iskele şeklinde yaygın olarak kullanılan ince bağırsak mukozası verilebilmektedir. İnce bağırsak mukozası birçok özelliği ile hücre ve matris etkileşimini ve yeniden modellenmeyi destekleyen bir yapı olarak deselülerizasyon çalışmalarında kullanılmaktadır.^{11,12}

Doku mühendisliği üç temel faktörü kullanarak fonksiyonel doku ve/veya organı oluşturmayı hedeflemektedir. Söz konusu faktörler: hedeflenen yapıya uygun olacak şekilde belirlenen iskeleye hücrelerin tek başına ekilmesi, büyüme faktörü yapısının iskele ile kullanılması, biyomateryallerin bu yapılarla kombine şekilde kullanılmasıdır.^{13,14} Doku mühendisliği yaklaşımında bu faktörlerin bir araya geldiği süreçler yukarıdan aşağı (top-down) veya aşağıdan yukarı (bottom-up) yaklaşımlar şeklinde ifade edilmektedir. Yukarıdan aşağı yaklaşımda, hücreler seyrek ve homojen olarak biyomalzemeye ekilmekte ve biyolojik geometriye uygun yapılar elde edilmektedir. Aşağıdan yukarı yaklaşımda ise, modüler hücre ve biyomalzeme yapıları kullanılarak makro dokular oluşturulmaktadır. Yukarıdan aşağı yaklaşımda elektroegirme oldukça yaygın olarak çalışılmaktadır. Günümüzde her iki yaklaşımda da hücre dağılımı, uygun ECM oluşturmak konusunda yetersiz kalmaktadır. Buna bağlı olarak aşağıdan yukarı yaklaşım temeline uygun olarak üç boyutlu yapıların ortaya konması hedeflenmektedir.¹⁴ Organoidler ve hidrojeller üç boyutlu kültür ortamlarına örnek olarak verilebilmektedir.^{15,16}

ECM kollajen, glikoprotein, GAGs, proteoglikan, adezyon molekülleri, büyüme faktörleri, kemokin ve sitokinlerden oluşması nedeni ile bir protein ve büyüme faktörü deposudur. Bu bileşenlerin hepsi dokunun yeniden modellenmesinde veya gelişim süreçlerinde önemlidir.¹⁷ ECM yapısında bulundurduğu hücreler tarafından salgılanan bir yapı olup, böylece hücrelere biyofiziksel ve biyokimyasal destek ortamı sağlamak ve içerdiği biyoaktif moleküller ile hücre proliferasyonu, göçü ve benzeri süreçleri yönetmektedir. Doku mühendisliği çalışmaları iskele olarak tanımlanan doğal veya sentetik kaynaklı ECM yapıları ile hedeflenen doku veya organ için uygun mikroçevre oluşturmayı hedeflemektedir.¹⁸

ECM'yi yeniden oluşturmak üzere planlanan doku mühendisliği çalışmaları, doğal kökenli ECM bileşenleri veya sentetik polimerler kullanılarak gerçekleştirilmektedir.¹⁶

ECM içeriğinde bulunan kolajen, elastin gibi yapıların kullanıldığı doku mühendisliği çalışmaları doğal kaynaklı ECM yapılarından faydalanmış

olmaktadır. Ayrıca, fibronektin arjinin-glisin-aspartat (RGD) alt üniteleri ile vücutta bulunmaktadır ve bu yapı birçok hücre tipi için adezyonda önemlidir.¹⁶ RGD motifi yapay peptit çalışmalarında ve yapay peptit ile yapılan modifikasyonlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Peptit hidrojel yapıları da son yıllarda yenileyici tıp yaklaşımında kullanılan yapılardır. Yapay peptitler kullanılarak ECM ortamında oluşan sinyal yolları taklit edilebilmekte veya desteklenebilmekte ve böylece dokunun iyileşme, yeniden modellenme süreçlerine katkı sağlanmaktadır. Bu biyoaktif yapılar aracılığıyla hem hücresel yanıtlar hem de mekanobiyolojik yanıtlar düzenlenebilmektedir.^{19,20}

Hücrelerin davranışlarını düzenlemeleri geniş anlamda dış çevrenin mekanik özellikleri ile ilgilidir. Bu noktada hücrelerin hem çevreleriyle hem de birbirleriyle olan ilişkileri ön plana çıkmaktadır. Bu ilişki sayesinde mekanotransdüksiyon hücre davranışını kontrol etmektedir.²¹ Mekanotransdüksiyon, mekanik güçlerin biyokimyasal sinyallere dönüşmesidir. Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar mekanobiyoloji hakkında olan bilgileri artırmaktadır. Böylece mekanik uyarıların hücre davranışına, doku homeostazına nasıl etki ettiği anlaşılmaktadır.

ECM, hücre mikroçevresinde hücrelere sadece yapısal destek sağlayan bir yapı olmasına ek olarak; üç boyutlu biyokimyasal ve biyofiziksel unsurları da sağlamaktadır. Böylece hücre davranışlarını oluşturan ve düzenleyen bir etken olarak görülmektedir. Bu özelliği üç boyutlu yapılar olarak fonksiyonel ve biyomimetik materyallerin ortaya konmasını sağlamaktadır. Materyallerin tasarlanma süreci, hücre davranışlarını düzenlemesi ve doku rejenerasyonunu da düzenlemektedir.²²

Kök hücreler ve buldukları mikroçevre mekanik uyaranlar aracılığı ile sürekli iletişim halindedir. Bu iletişim, hücrenin akıbetini ve davranışını düzenlemekle beraber gelişimsel sürece de etki etmektedir. Pluripotent kök hücrelerin fiziksel çevresi bu hücrelerin hem kendi kendilerini yenilemelerini hem de farklılaşmalarını etkilemektedir. İn vitro olarak kök hücrelerin buldukları mikroçevreyi taklit eden sentetik veya doğal kaynaklı biyomateryal yapıların varlığı biyokimyasal ve bi-

yofiziksel özellikleri ortaya koymaktadır. Böylece kök hücre farklılaşması ve fonksiyonu için gerekli olan matris sıkılığı gibi etmenler ortaya konmaktadır. Matris sıkılığı, topografi geometri, dış kuvvetlerin uygulanması hücre davranışını ve doku organizasyonunu düzenlenmektedir. Kök hücre mekanobiyolojisinin bu şekilde yapay nişler oluşturmak için kullanılması rejeneratif yaklaşımlar için kök hücre kullanımını destekleyici yöndedir.^{21,23,24}

Doku mühendisliği araştırmalarında ECM kullanımına yönelik olarak kimyasal, fiziksel veya enzimatik yöntemlerin ayrı ayrı veya birlikte kullanıldığı deselülerizasyon çalışmaları ön plandadır. Deselülerize ECM yapıları uygun iskele yapıları olarak doku mühendisliği kullanımında önerilse de mekanik açıdan zayıf yönleri bulunmaktadır. Bu yüzden mekanik olarak deselülerize ECM ve sentetik polimerlerin bir arada kullanıldığı hibrid iskele yapıları son yıllarda çalışmalarda ön plana çıkmaktadır.²¹

Deselülerizasyon yaygın olarak doğal ECM yapısına en yakın iskele yapısının elde edilmesini hedefleyen bir yaklaşımdır. Bu süreçte çeşitli kimyasal, enzimatik, fiziksel yöntemlerden biri veya birkaçının birlikte kullanılması ile doğal iskele yapısı elde edilmektedir. Sonrasında ise bu iskelenin gerek in vitro veya in vivo koşullarda yeniden hücrelendirilmesi sağlanarak hasarlı doku ve/veya organın yenilenmesi hedeflenmektedir. Burada en iyi şekilde ECM ve hücre etkileşiminin sağlanabilmesine yönelik olarak deselülerizasyon süreci uygun olarak planlanmaktadır.²⁵

Güncel bir yaklaşım olarak hücre kültüründen ECM yapısını elde etmek için fibroblast hücre kültürü yapılmıştır. Bu yaklaşımda farklı olan nokta tam bir organ ya da doku deselülerizasyonunun değil; hücre kültürünün deselülerizasyonunun yapılmasıdır. Hücre kültürü ortamı deselülerize edildikten sonra, kök hücrelerin ekimi gerçekleştirilmiş ve yapının kök hücre farklılaşması ve proliferasyonu için uygun olduğu gösterilmiştir.²²

Sentetik polimerler ise ECM yapısına en yakın şekilde dizayn edilen, ECM ile yapısal bütünlük sağlamaya yönelik olarak oluşturulan başta hidro-

jeller olmak üzere kullanılan biyomalzeme yapılarıdır. Hidrojeller; hücre tutunmasını kontrol eden, moleküler yanıtları, yapısal bütünlüğü, biyobozunmayı ve biyouyumluluğu kontrol eden yapılarıdır. Uygun bir hidrojel yapısı doğal ECM yapısını taklit etmeli, hücre tutunmasına ve göçüne izin vermelidir. Ayrıca besin ve "atık" ürünlerin difüzyonunu mümkün kılmasına ek olarak, hücre davranışını etkileyen mekanik ve biyolojik etkileri de ortaya koymalıdır. Hidrojel yapıları üç boyutlu ortamları hücre kültüründe sağlamaktadırlar. Bu yapılar hücre tutunması, hücre-matris etkileşimi daha iyi bir düzeyde olsun diye büyüme faktörleri, adezyon ligandları ile yapılandırılarak istenilen hücre tipinin sağkalımı da artırılmaktadır.¹⁶

■ EKSTRASELÜER MATRİKSİN DÜZENLENMESİ VE KLİNİK YANSIMASI

ECM bileşenleri epitel hücreleriyle etkileşim hâlinindedir. İntegrin gibi hücre adezyon reseptörlerinin ligandı, adezyon, migrasyon, proliferasyon, apoptoz, farklılaşma gibi işlevleri düzenleyen sinyalleri iletmektedirler. ECM ayrıca; epidermal büyüme faktörü (EBF), fibroblast büyüme faktörü gibi büyüme faktörlerinin, Wnt, transforme edici büyüme faktör beta [transforme growth factor-beta (TGF- β)] ve amfiregülin gibi diğer birtakım sinyal moleküllerinin lokal salınımı ve sekestrasyonunda da görev almaktadır. ECM'den salınan bileşenler hem ECM mimari yapısını hem de hücre davranışını belirlemektedir.^{26,27}

ECM sentez, yıkımı, yeniden bir araya gelme ve kimyasal modifikasyonlar ile sürekli yıkılıp yeniden yapılmakta ve organize olmaktadır. Bu süreçler, doku zedelenmesine yanıt olarak homeostazi sağlamak için sürekli denetlenmektedir. ECM yeniden düzenlenmesi sırasında ortaya çıkan hatalar pek çok patolojik durumla ilişkili olduğu gibi, ayrıca bazı hastalıklarda patolojik sürecin kötüleşmesine de yol açabilmektedir. Örneğin; fibröz ve kanserde anormal ECM depozisyonu izlenmesine ek olarak, artan ECM degradasyonu ile osteoartrit ilişkisi de bildirilmiştir.^{3,28}

Bu bölümde, ECM'nin doku homeostazi mekanizmaları ve bu mekanizmalardaki sapmaların ve ECM yapısındaki bozuklukların hastalıklara nasıl

yol açtığı gözden geçirilerek, ECM yeniden düzenlenmesinde oluşan bozuklukların bazı hastalıkların patolojisindeki rolüne değinilecektir.

EKSTRASELÜLER MATRİKSİN PROTEAZLAR TARAFINDAN YIKILMASI

ECM bileşenlerinin yıkılması ve yeniden düzenlenmesi, yapı ve işlevlerin düzenlenmesine ek olarak biyolojik olarak aktif bazı moleküllerin açığa çıkması ile sonuçlanmaktadır. Endopeptidazlar ECM'nin yıkımından sorumludur. ECM bileşenlerinin endopeptidazlar tarafından yıkımı sonrasında ortaya çıkan ürünler de önceki molekülden farklı işlevlere sahip olabilmektedir. ECM bileşenlerinin yıkımında değişik proteaz aileleri rol almaktadır.²⁸

EKSTRASELÜLER MATRİKSİN YIKIMINDAN SORUMLU PROTEİNAZ AİLELERİ

1. Matriks Metalloproteinazları

Matriks metalloproteinazları (MMP) ECM yıkımındaki ana enzim ailesidir. Normal koşullarda aktiviteyi düşüktür, ancak onarım ve yeniden düzenlenme süreçlerinde, hastalıklı ya da iltihaplı dokuda düzeyleri artmaktadır. MMP'ler çözünebilir ya da hücre membranına bağlı proteazlar şeklinde sentezlenebilmektedir. Geniş bir substrat özgünlüğü ile ECM yıkımında rol almaktadırlar.²⁸

MMP ilk kez bir kollajen yeniden düzenlenme çalışması sırasında tanımlanmıştır. Günümüze kadar 23 MMP alt tipi tanımlanmıştır. Pek çok MMP; zimojen formunda sentezlenip, hücre dışı boşlukta aktif forma geçmektedir. MMP'lerin aktive olması, proteolitik yıkım ile (proteazlar veya diğer MMP'ler) veya tiol grubunun oksidasyona uğratılarak modifiye edilmesi ile sağlanmaktadır. MMP'ler, tüm ECM bileşenlerinin yıkılmasını sağlayabilmektedir. MMP'lerin proteolitik aktivitesinin organogenez ve morfogenezde önemli rolleri bulunmaktadır.²⁹

2. Adamalisinler

Adamalisin protein ailesinde ADAM ve ADAMT (Trombospondin motifine sahip ADAM proteinleri) yer almaktadır. Günümüzde insanda tanımlanan 22 ADAM geninden sadece 12'sinin aktif proteinaz kodladığı gösterilmiştir. ADAM proteaz ailesi, hücre

membranına komşu yerleşimli transmembran proteinlerinin ektodomainlerini ayırabilme özelliğine sahiptir. Bu kesme ve ayırma işlemi sonrasında sitokinler, büyüme faktörleri, reseptör ve adezyon moleküllerinin tüm ektodomainleri serbestlenmiş olmaktadır. ADAMT ailesine ait proteinazlar ise karboksil uçlarında trombospondin Tip-I'e benzer tekrarlar içeren enzimlerdir. Agrekanazlar (ADAMTS1, ADAMTS4, ADAMTS5, ADAMTS8, ADAMTS9, ADAMTS15 ve ADA-MTS20) proteoglikanları yıkmaktadır. ADAMTS2, ADA-MTS3 ve ADAMTS14 prokollajeni işlemekte ve dokuya özgü olarak ECM'ye normal kollajen fibrillerini yerleştirmektedir. ADAMTS13 von Willebrand faktörün ayrılmasını sağlayarak koagülasyondaki görevine ek olarak trombotik trombositopenik purpura oluşumunda da rol almaktadır.³⁰

3. Meprinler

Meprinler, astacin ailesinin üyesi olup, alfa ve beta alt ünitelerinden oluşmaktadır.³¹ Alfa ve beta üniteleri disülfid bağları ile bir arada tutulan heterokompleksler oluşturmaktadır. Meprin alfa biosentezi sırasında transmembran alt ünitesini kaybetmekte ve bu şekilde salınmakta, meprin beta ise daha sıklıkla hücre yüzeyinde ekprese olmakta ve hücre zarından ADAM10 tarafından kesilerek salınmaktadır.³² Meprinler kollajen IV, nidogen ve fibronektin gibi ECM proteinlerinin kesiminde işlevseldir. Ek olarak matür kollajen oluşumunda da görev almaktadırlar, bu şekilde derinin tensil kuvvetinin oluşturulmasında görevlidirler. Meprinlerin ayrıca, diğer MMP'leri aktive etmek suretiyle ECM'nin düzenlenmesinde dolaylı rolü de bulunmaktadır. Meprinlerin rolü henüz diğer MMP'ler kadar net ortaya konamamıştır.³³

4. Metalloproteinaz İnhibitörleri

ECM'nin proteolizi, fazla veya yetersiz degradasyonu önlemek için sıkı bir denetim altında tutulmaktadır. ECM proteinazlarının endojen inhibitörlerinin aktivitesi bu nedenle doku bütünlüğü açısından önemlidir. MMP'lerin doku inhibitörleri [tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP)] ailesinin üyesi olan dört protein TIMP 1-TIMP4 olarak adlandırılmaktadır.

Metalloproteinaz inhibitörleri, MMP, ADAM ve ADAMTS ailesindeki proteinazları geri dönüşümlü olarak inhibe etmektedir. Dokudaki MMP miktarının TIMP'ye oranı, genel proteolitik aktivitenin bir göstergesidir. TIMP-3 ECM'den salınır iken, diğer TIMP proteinleri in vivo çözünür hâlde bulunmaktadır. TIMP-3, ADAM ve ADAMTS'nin ana inhibitörüdür.³⁴

EKTRASELLÜER MATRİKSİN DÜZENLENMESİNDE ÖNEMLİ DİĞER ENZİMLER

Serin proteazlar, pek çok ECM proteinini hedef alabilmektedir. Ürokinaz ve doku plazminojen aktivatörü de fibrin, fibronektin ve laminin yıkımında rol almaktadır.³⁵ Ayrıca, nötrofillerce salınan serin proteaz elastaz da fibronektin ve elastin yıkımını tetiklemektedir.³⁶ Epitel hücrelerinde eksprese olan membrana bağlı serin proteaz matriptaz, intestinal bariyerin devamlılığının sağlanmasında önemlidir.³⁷

Ek olarak, katepsinler hem hücre dışında hem de hücre içinde, lizozomlarda bulunabilmektedir. Salınan katepsinler ECM proteinlerinin yıkılmasını sağlayabilmektedir. Pek çok hücre, ECM bileşenlerini endositozla alabilmekte ve yıkım ise lizozomlarda bulunan katepsin ailesi üyesi olan Cys, Ser ve Asp katepsinlerce gerçekleştirilmektedir.^{38,39}

Son olarak, heparanazlar ve sülfatazlar ECM'nin proteoglikanlarının yapısını değiştirebilmektedir.³⁰ Heparanaz bir endoglukuronidazdır ve heparan sülfatın klivajından sorumludur. Bunun sonucunda hem ECM'nin yapısında değişiklik olmakta hem de biyoaktif fragmanlar ve sitokinler salınmaktadır. Sülfataz 1-2, heparan sülfattan 6-0-sülfat rezidülerini ayırmakta ve heparan sülfatın pek çok sitokin ve büyüme faktörlerine "fibroblast büyüme faktörü-1 ve vasküler endotelial büyüme faktörü [vascular endothelial growth factor (VEGF-1) gibi] bağlanmasını düzenlemektedir.⁴⁰

İNTESTİNAL GELİŞİMDE EKTRASELLÜER MATRİKSİN DİNAMİKLERİNİN ROLÜ

Memelilerde intestinal gelişimde ECM yeniden modellenmesi etkisi ilk önce villus kript aksın boyunca ECM proteinlerinin yerleşimi ve düzeylerindeki değişikliklerinin ortaya konması ile

tanımlanmıştır.⁴¹ Sıçan barsağında gelişen villusun üst kısımlarında fibronektin ve prokollajen III'ün olmaması, kript gelişimi sırasında bazal membran proteinlerinin villusun bazal kısmında toplanması buna örnek olarak verilebilmektedir.⁴² İntestinal morfogenez sırasında, mezenkimde kollajen IV mRNA sentezinin fazla olması, bu tip kollajenin barsak gelişimindeki önemli rolünün belirticidir.⁴³

Lamininler barsak morfogenezi ve farklılaşma sırasında hücre-ECM etkileşiminde önemli rol oynamaktadırlar.⁴⁴ Sıçan ince barsak bazal membranında laminin 511 α 5 zincirinin yokluğunda, kompensasyon amacıyla laminin 111 ve 411 depositleri olduğu gösterilmiştir ve bu da ince barsak hücrelerinin yüksek proliferasyon düzeyine sahip kolon mukozası benzeri bir yapıya farklılaşması ile sonuçlanmıştır. Bu da ECM yeniden modellenmesinin barsak gelişimdeki önemini göstermektedir.⁴⁵

Barsak gelişiminde integrinlerin ekspresyonu değişkenlik göstermektedir. İn vitro çalışmalar ile barsak epitel hücrelerinin RGD bağımlı integrinleri eksprese ettiği gösterilmiştir. RGD bağımlı integrinler, fibronektin gibi pek çok ECM bileşeninde bulunan RGD motifini tanımakta, bu proteinlere bağlanarak akıbetlerini belirlemektedirler.⁴⁶ İnsan intestinal kript hücrelerinde, integrinin EGM ile etkileşimi hücre adezyonu, migrasyonu ve proliferasyonunda rol oynamaktadır. İntestinal kript hücreleri, intestinal epitel kök hücreleri ile ortak özelliklere sahiptir. İntegrinlerin intestinal kript epitel hücreleri üzerindeki bu etkisinin sadece kriplere sınırlı olup olmadığı bilinmemektedir. Zira, LGR-5 eksprese eden intestinal kök hücreler bağırsak boyunca pek çok bölgede bulunabilmektedir. Bunu aydınlatmak için daha fazla in vivo ve ex vivo çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.⁴⁷

HASTALIKLARDA BOZULMUŞ EKTRASELLÜER MATRİKSİN YENİDEN DÜZENLENMESİ

ECM'nin doku homeostazındaki hayati önemi bilinmektedir. ECM bileşenlerinin düzenlenmesindeki bozukluklar hastalıklara yol açabilmektedir. ECM yapısını, bileşenlerini ve mimarisini düzenleyen genlerdeki mutasyonlar fenotipe yansımaktadır. Buna örnek olarak; *COL1A1* gen

mutasyonunun yol açtığı kemik gelişim bozukluğu verilebilmektedir. Ek olarak, ECM düzenlenmesindeki bozukluklar osteoartrit, fibröz, kanser gibi durumlarla da ilişkilendirilmektedir.⁴⁸

KANSERDE EKSTRASELÜLER MATRİKSİN ROLÜ

ECM, dokulardaki hücre gelişmesi ve apoptozu düzenlemek ve doku mimarisini korumak için hayati önem taşıyan sinyaller üretmektedir. Malign tümörlerin progresyonunun bu bağlamda sınırlayıcı etkileri mevcuttur.⁴⁸ Bunun aksine etkileri de olabilmektedir. Örneğin; kollajen IV fazla ekspresyonu ile hücre sağkalımı artmakta, özellikle akciğer kanserlerinde bu durum tümör kitlesinin büyümesiyle sonuçlanmaktadır.⁴⁹

Meme kanserlerinde ECM bileşenlerinin ifadenin miktarları bir sınıflandırmaya imkan tanımakta, prognoz hakkında da fikir vermektedir. Tümör dokusunda proteaz inhibitörlerinin fazla ekspresyonu iyi prognozla ilişkili iken, yüksek MMP düzeyleri kötü prognoz ve yüksek rekürrens oranları ile ilişkilendirilmektedir.⁵⁰ Yüksek MMP1 ekspresyonu atipik duktal hiperplaziyi benign ve premalign olmak üzere sınıflandırmaya imkân sağlayarak, kanser gelişme riski hakkında da fikir vermektedir.⁵¹ Ek olarak, yapılan yeni çalışmalar, ECM'nin metastatik nişte metastatik tümör büyümesindeki önemine de işaret etmektedir. Metastatik niş, metastatik tümör hücrelerinin yerleşmesi için uygun ortamı sağlayan ECM bileşenleri ve enzimlerinden oluşmaktadır. Bu yapı, serbest hâlde dolaşan metastatik tümör hücrelerinin yerleşmesi, çoğalması ve kolonize olması için gerekmektedir. ECM'nin rolü, tümörlerin uzak organ metastazının erken aşamasındadır. Fibronektin ve diğer ECM bileşenleri metastatik nişi desteklemektedir.⁵²

Periostin kemik ve diş gelişiminde önemli bir ECM bileşenidir. Periostinin metastatik kolonizasyonda rolü olduğu, bunu da WNT sinyalini kanser kök hücrelerinde artırarak gerçekleştirdiği gösterilmiştir.⁵³

BÜYÜME FAKTÖRLERİNİN ANORMAL SALINMASIYLA İLİŞKİLİ PATOLOJİLER

ECM, büyüme faktörleri ve biyoaktif moleküller için geniş bir rezerv oluşturmakta ve bu moleküller mat-

riks metalloproteinaz aracılı yıkım sırasında açığa çıkmaktadır. Bu duruma bir örnek olarak; pankreas nöroendokrin tümörlerinde ECM'de artmış VEGF miktarı verilebilmektedir. Artmış anjiyogenez aktivitesi ile MMP9 aktive olmakta, buna bağlı olarak da ECM'den VEGF salınması gerçekleşmektedir.⁵⁴

Osteogenezis imperfektada görülen hasarlı kollajen üretimi, dekorine bağlanmanın azalmasıyla sonuçlanmaktadır. Dekorin TGF- β 'nin aktivitesini düzenlemektedir ve bu duruma bağlı TGF- β sinyali aşırı aktivasyonu gerçekleşmektedir. Artmış TGF- β sinyali mekanizması deneysel osteogenezis Imperfektta oluşturmak için hayvan modellerinde kullanılmaktadır. TGF- β 'ye özgü antikorlar ile fare kemik fenotipinde kısmi düzelme sağlanmıştır. Bu çalışmalar, ECM'den salınan büyüme faktörlerinin çeşitli hastalıklar üzerindeki dolaylı etkisini gözler önüne sermiştir.⁵⁵

KANSER BİYOBELİRTECİ OLARAK MATRİKS METALLOPROTEİNAZLAR

Bilindiği gibi MMP'lerin aktiviteleri, gelişimin erken evrelerinde, ECM yeniden düzenlenmesi sırasında gözlenmektedir. Sağlıklı erişkin bir bireyde, MMP'lerin dokuların yenilenmesi sırasında aktif olduğu bildirilmiştir. Bu durumlar arasında fizyolojik anjiyogenez ve yara iyileşmesi sayılabilmektedir. Ancak, aberan MMP aktivitesi osteoartrit, miyokard infarktüsü gibi tablolarda da izlenebilmektedir.⁵⁶

MMP fizyolojik ve patolojik durumlarda farklı oranlarda sentezlenmektedir. Bu durumları nedeni ile, hem tanı ve prognozda bir biyobelirteç olabilmekte hem de rekürrens ve metastaz hızı konu-

TABLO 1: Klinik araştırmalarda belli kanser türlerinde üzerinde çalışılan matriks metalloproteinazlara örnekler.

Matriks metalloproteaz	Kanser türü
MMP-2, MMP-9	Fibrosarkom ^{58,59}
MMP-9	Meme kanseri ^{60,61}
MMP-2, MMP-9	Meme kanseri ^{62,63}
MMP-2, MMP-9	Osteosarkom ⁶⁴
MMP-2, MMP-9	Pankreas kanseri ⁶⁵
MMP-9	Renal karsinom ⁶⁶
MMP-9	Mide kanseri ⁶⁷
MMP-2, MMP-9	Kolon kanseri ⁶⁸

sunda bilgi verebilmektedirler. Aynı zamanda kanser tedavisine yanıtı da gösterebilmektedir. MMP-2 ve MMP-9 çeşitli kanserlerde bozulduğu en çok gösterilmiş proteazlardır ve biyobelirteç olarak öne çıkmaktadırlar.^{56,57}

Kanser türlerinde bozukluk saptanan MMP'lere bazı örnekler Tablo 1'de görülmektedir. Bu MMP türleri sık görülen bazı kanser türlerinde biyobelirteç olarak umut vadetmektedirler.

MMP'ler tümör dokusundan, stromadan veya dolaşımdaki kanser hücrelerinden kaynaklanabileceği gibi, birbirleri ile olan ilişkileri de MMP ifadenmesini değiştirebilmektedir. Araştırmacıların MMP'lerin kanserdeki rolünü ortaya koyabilmek için tümör mikroçevresini taklit edebilecek çalışmalar tasarlamaları gerekmektedir.

MMP'ler klinikte belli kanser alt tiplerini ayırt etmek için, hastalığın seyri konusunda fikir edinmek için, tedaviye yanıtı değerlendirmede ve kemoterapi sonuçlarını ön görmede kullanılmaktadır.^{56,57}

TEDAVİ STRATEJİLERİ VE HEDEFLER

Yapılan çalışmalar ile MMP'lerin organizmada çok sayıda farklı rolü olduğu gösterilmiş ve bu da MMP hedefli tedavilerin geliştirilmesine olan ilgiyi artırmıştır. MMP hedefli tedaviler temel olarak üç ana başlıkta toplanmaktadır. Bunlardan biri MMP'lerin transkripsiyon veya translasyon aşamasında baskılanmasıdır. Diğer mekanizmalar ise MMP aktivitesinin baskılanmasını veya düzenlenmesini içermektedir.

MMP hedefli tedaviler geliştirilirken ilk önce küçük MMP inhibitör molekülleri geliştirilmiş, ancak bu moleküller ne yazık ki beklenen sonuçları vermemiştir. Tümör üzerine sitoredüktif etkisi

beklenenden az olmuştur. Çünkü MMP ailesinin selektif inhibisyonu sağlanamamıştır. Bu nedenle dokulara toksik etkisi az olan daha etkin tedavi arayışları sürmektedir.

SONUÇ

MMP ailesinin her bir üyesinin rollerinin net bir şekilde ortaya konması ile MMP'lerin tümör mikroçevresindeki etkileri daha net anlaşılacaktır. Böylece MMP üzerinden özgün tedavi yaklaşımları geliştirilebilecektir. Bu nedenlerle, kanser araştırmalarında MMP hedefli tedaviler umut vadetmektedir.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Rasime Sevgi Canan, Ekin Ergin; **Tasarım:** Rasime Sevgi Canan, Ekin Ergin; **Denetleme/Danışmanlık:** Yahya Ekici, F. Belgin Ataç; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Rasime Sevgi Canan, Ekin Ergin; **Analiz ve/veya Yorum:** Rasime Sevgi Canan, Ekin Ergin; **Kaynak Taraması:** Rasime Sevgi Canan, Ekin Ergin; **Makalenin Yazımı:** Rasime Sevgi Canan, Ekin Ergin; **Eleştirel İnceleme:** Yahya Ekici, F. Belgin Ataç; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Rasime Sevgi Canan, Ekin Ergin; **Malzemeler:** Rasime Sevgi Canan, Ekin Ergin.

KAYNAKLAR

1. Piez KA. History of extracellular matrix: a personal view. *Matrix Biol* 1997;16(3):85-92.
2. Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, Karamanos NK. Extracellular matrix structure. *Adv Drug Deliv Rev* 2016;(97):4-27.
3. Frantz C, Stewart KM, Weaver VM. The extracellular matrix at a glance. *J Cell Sci* 2010;123(Pt 24):4195-200.
4. Naba A, Clauser KR, Ding H, Whittaker CA, Carr SA, Hynes RO. The extracellular matrix: tools and insights for the "omics" era. *Matrix Biol* 2016;(49):10-24.
5. Tanzer ML. Current concepts of extracellular matrix. *J Orthop Sci* 2006;11(3):326-31.
6. Yurchenco PD. Basement membranes: cell scaffoldings and signaling platforms. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011;3(2):a004911.
7. Yue B. Biology of the extracellular matrix: an overview. *J Glaucoma* 2015;23(8 Suppl 1): S20-3.
8. Çakır O, Kazancıoğlu HO, Ak G. [Hyaluronic Acid in Dentistry]. *İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi* 2011;45(1):37-41.
9. Lelièvre SA. Contributions of extracellular matrix signaling and tissue architecture to nuclear mechanisms and spatial organization of gene expression control. *Biochim Biophys Acta* 2009;1790(9):925-35.

10. Vignetti D, Viola M, Karousou E, Deleonibus S, Karamanou K, De Luca G, et al. Epigenetics in extracellular matrix remodeling and hyaluronan metabolism. *FEBS J* 2014;281(22):4980-92.
11. Badylak SF. The extracellular matrix as a biologic scaffold material. *Biomaterials* 2007;28(25):3587-93.
12. Crapo PM, Gilbert TW, Badylak SF. An overview of tissue and whole organ decellularization processes. *Biomaterials* 2011;32(12):3233-43.
13. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993; 260(5110):920-6.
14. Mandrycky C, Wang Z, Kim K, Kim DH. 3D bioprinting for engineering complex tissues. *Biotechnol Adv* 2016;34(4):422-34.
15. Schneeberger K, Spee B, Costa P, Sachs N, Clevers H, Malda J. Converging biofabrication and organoid technologies: the next frontier in hepatic and intestinal tissue engineering? *Biofabrication* 2017;9(1):013001.
16. Naahidi S, Jafari M, Logan M, Wang Y, Yuan Y, Bae H, et al. Biocompatibility of hydrogel-based scaffolds for tissue engineering applications. *Biotechnol Adv* 2017;35(5):530-44.
17. Swinehart IT, Badylak SF. Extracellular matrix bioscaffolds in tissue remodeling and morphogenesis. *Dev Dyn* 2016;245(3): 351-60.
18. Yi S, Ding F, Gong L, Gu X. Extracellular matrix scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. *Curr Stem Cell Res Ther* 2017;12(3):233-46.
19. Rubert Pérez CM, Stephanopoulos N, Sur S, Lee SS, Newcomb C, Stupp SI. The powerful functions of peptide-based bioactive matrices for regenerative medicine. *Ann Biomed Eng* 2015;43(3):501-14.
20. Koutsopoulos S. Self-assembling peptide nanofiber hydrogels in tissue engineering and regenerative medicine: progress, design guidelines, and applications. *J Biomed Mater Res A* 2016;104(4):1002-16.
21. Ladoux B, Mège RM. Mechanobiology of collective cell behaviours. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017;18(12):743-57.
22. Huang G, Li F, Zhao X, Ma Y, Li Y, Lin M, et al. Functional and biomimetic materials for engineering of the three-dimensional cell microenvironment. *Chem Rev* 2017; 117(20):12764-850.
23. Vining KH, Mooney DJ. Mechanical forces direct stem cell behaviour in development and regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2017;18(12):728-42.
24. Naroeni A, Shalihat Q, Meilany S. In vitro enhancement of extracellular matrix formation as natural bioscaffold for stem cell culture. *AIP Conference Proceedings* 2017;1817(1).
25. Elmashady HH, Kraemer BA, Patel PH, Sell SA, Garg K. Decellularized extracellular matrices for tissue engineering applications. *Electrospinning* 2017;(1):87-99.
26. Hynes RO. The extracellular matrix: not just pretty fibrils. *Science* 2009;326(5957):1216-9.
27. Zhen G, Cao X. Targeting TGF β signaling in subchondral bone and articular cartilage homeostasis. *Trends Pharmacol Sci* 2014;35(5):227-36.
28. Rozario T, DeSimone DW. The extracellular matrix in development and morphogenesis: a dynamic view. *Dev Biol* 2010;341(1):126-40.
29. Lu P, Takai K, Weaver VM, Werb Z. Extracellular matrix degradation and remodeling in development and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011;3(12):005058.
30. Murphy G. The ADAMs: signalling scissors in the tumour microenvironment. *Nat Rev Cancer* 2008;8(12):929-41.
31. Bond JS, Rojas K, Overhauser J, Zoghbi HY, Jiang W. The structural genes, MEP1A and MEP1B, for the alpha and beta subunits of the metalloendopeptidase meprin map to human chromosomes 6p and 18q, respectively. *Genomics* 1995;25(1):300-3.
32. Herzog C, Haun RS, Ludwig A, Shah SV, Kaushal GP. ADAM10 is the major sheddase responsible for the release of membrane-associated meprin A. *J Biol Chem* 2014;289(19): 13308-22.
33. Broder C, Arnold P, Vadon-Le Goff S, Konerding MA, Bahr K, Müller S, et al. Metalloproteases meprin α and meprin β are C- and N-procollagen proteinases important for collagen assembly and tensile strength. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110(35):14219-24.
34. Khokha R, Murthy A, Weiss A. Metalloproteinases and their natural inhibitors in inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 2013;13(9):649-65.
35. Smith HW, Marshall CJ. Regulation of cell signalling by uPAR. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010;11(1):23-36.
36. Bonnefoy A, Legrand C. Proteolysis of subendothelial adhesive glycoproteins (fibronectin, thrombospondin, and von Willebrand factor) by plasmin, leukocyte cathepsin G, and elastase. *Thromb Res* 2000;98(4):323-32.
37. Giuffrida P, Biancheri P, MacDonald TT. Proteases and small intestinal barrier function in health and disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2014;30(2):147-53.
38. Mohamed MM, Sloane BF. Cysteine cathepsins: multifunctional enzymes in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006;6(10):764-75.
39. Fonović M, Turk B. Cysteine cathepsins and extracellular matrix degradation. *Biochim Biophys Acta* 2014;1840(8):2560-70.
40. Uchimura K, Morimoto-Tomita M, Bistrup A, Li J, Lyon M, Gallagher J, et al. HSulf-2, an extracellular endoglucosaminase-6-sulfatase, selectively mobilizes heparin-bound growth factors and chemokines: effects on VEGF, FGF-1, and SDF-1. *BMC Biochem* 2006;7:2.
41. Simon-Assmann P, Keding M, De Arcangelis A, Rousseau V, Simo P. Extracellular matrix components in intestinal development. *Experientia* 1995;51(9-10):883-900.
42. Simon-Assmann P, Keding M, Haffen K. Immunocytochemical localization of extracellular-matrix proteins in relation to rat intestinal morphogenesis. *Differentiation* 1986;32(1):59-66.
43. Simon-Assmann P, Bouziges F, Freund JN, Perrin-Schmitt F, Keding M. Type IV collagen mRNA accumulates in the mesenchymal compartment at early stages of murine developing intestine. *J Cell Biol* 1990;110(3):849-57.
44. Simon-Assmann P, Lefebvre O, Bellissent-Waydelich A, Olsen J, Oriant-Rousseau V, De Arcangelis A. The laminins: role in intestinal morphogenesis and differentiation. *Ann N Y Acad Sci* 1998;859:46-64.
45. Mahoney ZX, Stappenbeck TS, Miner JH. Laminin alpha 5 influences the architecture of the mouse small intestine mucosa. *J Cell Sci* 2008;121(Pt 15):2493-502.
46. Beaulieu JF. Integrins and human intestinal cell functions. *Front Biosci* 1999;4:D310-21.
47. Groulx JF, Gagné D, Benoit YD, Martel D, Basora N, Beaulieu JF. Collagen VI is a basement membrane component that regulates epithelial cell-fibronectin interactions. *Matrix Biol* 2011;30(3):195-206.
48. Zhang ZL, Zhang H, Ke YH, Yue H, Xiao WJ, Yu JB, et al. The identification of novel mutations in COL1A1, COL1A2, and LEPRE1 genes in Chinese patients with osteogenesis imperfecta. *J Bone Miner Metab* 2012;30(1): 69-77.
49. Bissell MJ, Hines WC. Why don't we get more cancer? A proposed role of the microenvironment in restraining cancer progression. *Nat Med* 2011;17(3):320-9.
50. Burnier JV, Wang N, Michel RP, Hassanain M, Li S, Lu Y, et al. Type IV collagen-initiated signals provide survival and growth cues required for liver metastasis. *Oncogene* 2011;30(35):3766-83.
51. Bergamaschi A, Tagliabue E, Sorlie T, Naume B, Triulzi T, Orlandi R, et al. Extracellular matrix signature identifies breast cancer subgroups with different clinical outcome. *J Pathol* 2008;214(3):357-67.
52. Poola I, DeWitty RL, Marshalleck JJ, Bhatnagar R, Abraham J, Lefall LD, et al. Identification of MMP-1 as a putative breast cancer predictive marker by global gene expression analysis. *Nat Med* 2005;11(5):481-3.
53. Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, Bramley AH, Vincent L, Costa C, et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature* 2005;438(7069):820-7.
54. Malanchi I, Santamaria-Martinez A, Susanto E, Peng H, Lehr HA, Delaloye JF, et al. Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization. *Nature* 2011;481(7379):85-9.
55. Ferrara N. Binding to the extracellular matrix and proteolytic processing: two key mechanisms regulating vascular endothelial growth factor action. *Mol Biol Cell* 2010;21(5):687-90.
56. Hadler-Olsen E, Fadnes B, Sylte I, Uhlin-Hansen L, Winberg JO. Regulation of matrix metalloproteinase activity in health and disease. *FEBS J* 2011;278(1):28-45.
57. Alaseem A, Alhazzani K, Dondapati P, Alobod T, Bishayee A, Rathinavelu A. Matrix metalloproteinases: a challenging paradigm of cancer management. *Semin Cancer Biol* 2017;(17):1044-579.
58. Sun C, Wang Z, Zheng Q, Zhang H. Salidroside inhibits migration and invasion of human fibrosarcoma HT1080 cells. *Phytomedicine* 2012;19(3-4):355-63.
59. Kim A, Yim NH, Im M, Jung YP, Kim T, Ma JY. Suppression of the invasive potential of highly malignant tumor cells by KIOM-C, a novel herbal medicine, via inhibition of NF- κ B activation and MMP-9 expression. *Oncol Rep* 2014;31(1):287-97.
60. Hamdoun S, Efferth T. Ginkgolic acids inhibit migration in breast cancer cells by inhibition of NEMO sumoylation and NF- κ B activity. *Oncotarget* 2017;8(21):35103-15.
61. Baek SH, Ko JH, Lee JH, Kim C, Lee H, Nam D, et al. Ginkgolic acid inhibits invasion and migration and TGF- β -induced EMT of lung cancer cells through PI3 K/Akt/mTOR inactivation. *J Cell Physiol* 2017;232(2):346-54.
62. Sinha S, Khan S, Shukla S, Lakra AD, Kumar S, Das G, et al. Cucurbitacin B inhibits breast cancer metastasis and angiogenesis through VEGF-mediated suppression of FAK/MMP-9 signaling axis. *Int J Biochem Cell Biol* 2016;77(Pt A):41-56.
63. Pei S, Yang X, Wang H, Zhang H, Zhou B, Zhang D, et al. Plantamajoside, a potential anti-tumor herbal medicine inhibits breast cancer growth and pulmonary metastasis by decreasing the activity of matrix metalloproteinase-9 and -2. *BMC Cancer* 2015;15:965.
64. Liao CL, Lin JH, Lien JC, Hsu SC, Chueh FS, Yu CC, et al. The crude extract of Corni Fructus inhibits the migration and invasion of U-2 OS human osteosarcoma cells through the inhibition of matrix metalloproteinase-2/9 by MAPK signaling. *Environ Toxicol* 2015;30(1): 53-63.
65. Cao L, Liu J, Zhang L, Xiao X, Li W. Curcumin inhibits H2O2-induced invasion and migration of human pancreatic cancer via suppression of the ERK/NF- κ B pathway. *Oncol Rep* 2016;36(4):2245-51.
66. Chen S, Liu W, Wang K, Fan Y, Chen J, Ma J, et al. Tetrandrine inhibits migration and invasion of human renal cell carcinoma by regulating Akt/NF- κ B/MMP-9 signaling. *PLoS One* 2017;12(3):e0173725.
67. Chen Z, He T, Zhao K, Xing C. Anti-metastatic activity of fangchinoline in human gastric cancer AGS cells. *Oncol Lett* 2017;13(2):655-60.
68. Deng W, Sui H, Wang Q, He N, Duan C, Han L, et al. A Chinese herbal formula, Yi-Qi-Fu-Sheng, inhibits migration/invasion of colorectal cancer by down-regulating MMP-2/9 via inhibiting the activation of ERK/MAPK signaling pathways. *BMC Complement Altern Med* 2013;13:65.