

Metaloproteiny w patogenezie zapalnych układowych chorób reumatycznych

Metalloproteinases in the pathogenesis of systemic inflammatory rheumatic diseases

Anna Olewicz-Gawlik¹, Paweł Hrycaj¹, Jan K. Łącki^{1,2}

¹Klinika Reumatologii i Immunologii Klinicznej, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, kierownik Kliniki prof. dr hab. med. Jan K. Łącki

²Zakład Biochemii, Instytut Reumatologii im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher w Warszawie, kierownik Zakładu, dyrektor Instytutu prof. dr hab. med. Sławomir Maśliński

Słowa kluczowe: metaloproteiny, choroby reumatyczne, zapalenie.

Key words: metalloproteinases, rheumatic diseases, inflammation.

Streszczenie

Metaloproteiny (MMPs) to rodzina enzymów hydrolizujących składniki macierzy zewnątrzkomórkowej. Enzymy te odgrywają istotną rolę w wielu procesach zarówno fizjologicznych, takich jak embriogeneza, gojenie ran, angiogeneza, jak i patologicznych. Do drugiej z wymienionych grup należą choroby reumatyczne. Rosnąca liczba doniesień na temat roli metaloproteinaz w zapalnych chorobach układowych wskazuje nie tylko kierunki nowych badań nad patogenezą tych jednostek, ale również otwiera nowe możliwości ich terapii.

W ostatnim czasie w reumatologii dokonano znacznego postępu. Potrafimy skuteczniej rozpoznawać, monitorować i leczyć choroby reumatyczne. Dzięki wysiłkom badaczy molekularne mechanizmy tych chorób przestają być tajemnicą. Zainteresowanie naukowców ogniskuje się obecnie na kilkunastu grupach cząsteczek, związanych z rozwojem układowych chorób reumatycznych. Jedną z nich stanowią metaloproteiny (MMPs).

MMPs stanowią rodzinę zależnych od wapnia, zawierających cynk endoproteinaz aktywnych w neutralnym pH [1]. Znanych jest ponad 20 MMPs, należących do 4 kategorii: żelatynazy (MMP-2, -9), stromelizyny

Summary

Metalloproteinases (MMPs) are a family of enzymes that hydrolyze components of the extracellular matrix. These proteinases play a key role in the majority of biological processes, both physiological, such as embryogenesis, wound healing, angiogenesis, and pathological, like for example rheumatic diseases. The increasing number of evidence concerning the role of metalloproteinases in inflammatory rheumatic diseases shows not only the direction of future researches, but also gives new targets for the therapies of these so far incurable diseases.

(MMP-3, -10, -11), kolagenazy (MMP-1, -8, -13) oraz enzymy związane z błoną komórkową (MMP-14, -15, -16, -17, -24, -25). Łącznie MMPs trawią wszystkie składniki macierzy zewnątrzkomórkowej. Nie jest to jednak ich jedyna rola. Do substratów MMPs należą cytokiny, czynniki wzrostu, białka ostrej fazy, proenzymy oraz białka biorące udział w przekazywaniu sygnałów i apoptozie, dzięki czemu MMPs uczestniczą w odpowiedzi zapalnej, proliferacji, apoptozie i migracji komórek (ryc. 1).

To, co wiemy dzisiaj, to zaledwie *wierzchołek góry lodowej*, niepoznanej jeszcze wiedzy o roli MMPs w procesach fizjologicznych i patologicznych, takich

Adres do korespondencji:

lek. Anna Olewicz-Gawlik, Klinika Reumatologii i Immunologii Klinicznej, Akademia Medyczna im. K. Marcinkowskiego, ul. Winogrody 144, 61-626 Poznań

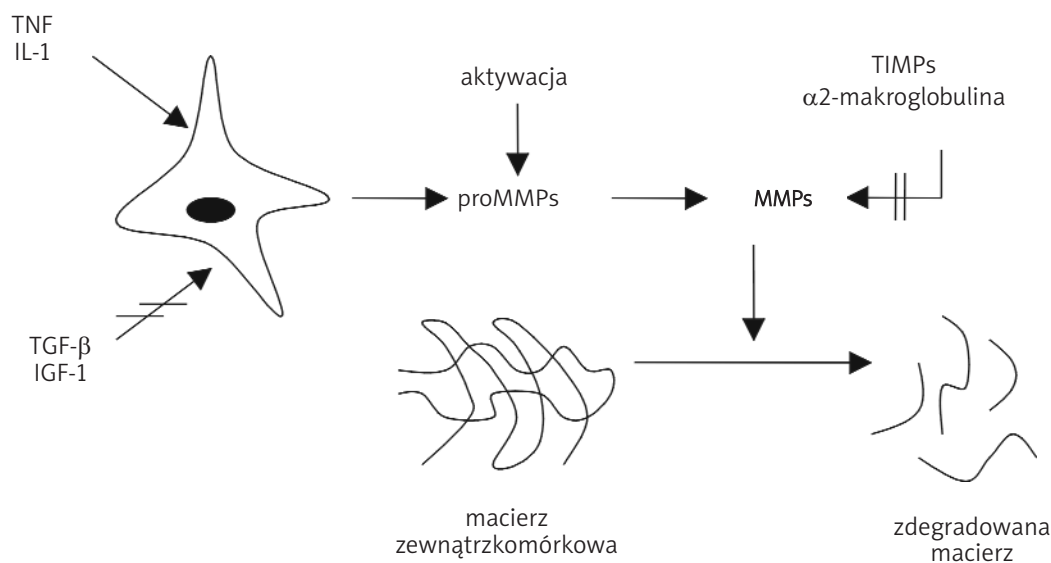
Praca wpłynęła: 29.08.2005 r.

jak nowotworzenie i zapalenie. Skomplikowane relacje pomiędzy MMPs a innymi biologicznie czynnymi cząstkami w zapalnych układowych chorobach tkanki łącznej są od wielu lat przedmiotem badań. Najlepiej poznano je w przypadku reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS).

Metaloproteiny w reumatoidalnym zapaleniu stawów

W RZS badano zarówno ekspresję MMPs w błonie maziowej zajętych chorobą stawów, jak i ich stężenie w płynie stawowym i surowicy pacjentów. Z dostępnej znacznej liczby publikacji kilka zasługuje na szczególną uwagę. Konttinen i wsp. [2] przeanalizowali ekspresję MMPs od MMP-1 do MMP-20 w błonie maziowej chorych na RZS i osób po urazowym uszkodzeniu stawów. Celem pracy było porównanie wzorców ekspresji MMPs u chorych z zapalnym i niezapalnym uszkodzeniem sta-

wu. Chorzy na RZS charakteryzowali się zmiernie wyższą ekspresją MMP-1, -9, -14 (MT1-MMP), a ekspresję MMP-13 i -15 (MT2-MMP) wykazano wyłącznie u chorych na RZS. Inni badacze opisali związek między stężeniem MMP-1 w płynie stawowym a nasileniem procesu zapalnego w błonie maziowej [3] oraz między aktywnością MMP-2 w płynie stawowym a obecnością nadżerek [4]. W grupie chorych na RZS odpowiadających na stosowaną terapię zaobserwowano obniżenie ekspresji MMP-1 i -3 w synowium oraz stosunku MMP-1/tkankowy inhibitor metaloproteinaz (TIMP) -1, MMP-3/TIMP-1 i MMP-3/TIMP-2 [5]. Opisano także wzrost stężeń MMP-1, -2, -3, -8, -9 w płynie stawowym stawów objętych zapaleniem [6]. Kliniczne znaczenie może mieć fakt, że stężenia MMP-8 i -9 wykazały tendencję wzrostową wraz z progresją choroby, natomiast stężenia MMP-1 i -3, wysokie na początku RZS, mały w zaawansowanym stadium [6].



Ryc. 1. Schemat regulacji działania metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (MMPs). Produkcja i wydzielanie proMMPs regulowane są m.in. przez cytokiny, hormony, czynniki wzrostu. Nieaktywne formy enzymów są następnie aktywowane przez inne MMPs i plazminę, powodując degradację macierzy zewnątrzkomórkowej. Aktywność MMPs jest hamowana przez tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMPs) i α2-makroglobulinę. TNF – czynnik martwicy guza, IL-1 – interleukina 1, TGF-β – transformujący czynnik wzrostu, IGF-1 – insulinopodobny czynnik wzrostu 1.

Fig. 1. The regulation of matrix metalloproteinases (MMPs). The production and secretion of proMMPs is controlled by a variety of biologically active agents, for example cytokines, hormones and growth factors. Latent forms of enzymes are then activated by another MMPs and plasmin leading in a consequence to the degradation of extracellular matrix. The activity of MMPs is blocked by tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) and α2-macroglobulin. TNF – tumor necrosis factor, IL-1 – interleukin 1, TGF-β – transforming growth factor β, IGF-1 – insulin-like growth factor.

Również oznaczanie surowiczych stężeń wybranych MMPs może mieć wartość praktyczną. Wysokie stężenie MMP-3 na początku choroby skojarzono ze znaczną destrukcją stawów i przyspieszoną progresją choroby, i to jako niezależny czynnik ryzyka obok predyspozycji genetycznej (*shared epitopes w locus DRB1*), czynnika reumatoidalnego i stężenia białka C-reaktywnego (CRP) [7]. Co więcej, spadkowi aktywności choroby towarzyszyło obniżenie stężeń MMP-8 i -9 [7], a stężenie MMP-8 korelowało z markerami zapalenia [8]. Wykazano także zależność między wysokim stężeniem MMP-1 a rozwojem nadżerek stawowych [9] oraz związek stężenia MMP-3 z CRP i aktywnością zapalenia błony maziowej [10]. O stopniu skomplikowania regulacji MMPs i ich funkcji świadczą wyniki Sharifa i wsp. Badacze zaobserwowali podwojenie stężenia MMP-3 w surowicy chorych na RZS leczonych prednizolonem w dawce 7,5 mg/dobę, podczas gdy kliniczne i biologiczne wskaźniki aktywności RZS uległy obniżeniu [11].

Rola metaloproteinaz w patogenezie twardziny układowej

Proces włóknienia odgrywa istotną rolę w patomechanizmie twardziny układowej. W związku z tym wydaje się oczywiste, że obecne w tej chorobie zaburzenia homeostazy tkanki łącznej mogą być związane z nieprawidłowościami w układzie MMPs/TIMP. Wykazano wyższe średnie stężenie TIMP-1 u chorych z chorobą uogólnioną niż u osób z ograniczoną postacią twardziny, toczniem układowym i RZS [12]. W grupie chorych z wysokim surowiczym stężeniem TIMP-1 częściej obserwowano włóknienie płuc i przeciwciała przeciw topoisomerazie 1 oraz odwrotnie proporcjonalną zależność między stężeniem TIMP-1 i pojemnością dyfuzyjną płuc dla tlenu węgla (DLCO) [12], choć wyniki dotyczące profilu zmian narządowych u chorych z podwyższonym TIMP-1 nie są jednoznaczne [13]. Co ciekawe, stężenia TIMP-1 i MMP-1 korelowały z czasem trwania choroby, a u chorych z postacią uogólnioną twardziny trwającą dłużej niż 4 lata nastąpił znamienny spadek stężenia TIMP-1 w porównaniu z wczesną fazą choroby (czas trwania krótszy niż 2 lata) [13]. Fakt ten może odzwierciedlać progresywny charakter choroby w początkowym okresie jej trwania.

Dane dotyczące roli TIMP-2 w patogenezie twardziny układowej są kontrowersyjne. Yazawa i wsp. wykazali podwyższone stężenie TIMP-2 w surowicy chorych i związek między stężeniem TIMP-2 a stopniem zajęcia skóry, DLCO i przyspieszonym OB [14]. Wyników tych nie potwierdzili jednak inni [13]. Opisano także wzrost ekspresji mRNA dla TIMP-3 w fibroblastach uzyskanych od chorych na twardzinę [15].

Sato i wsp. [16] w badaniach nad patogenezą twardziny układowej zwrócili uwagę na odmienny aspekt problemu. Wykazali związek akumulacji włókien kolagenowych w skórze chorych z podwyższonym stężeniem przeciwciał przeciwko MMP-1 w surowicy, prawdopodobnie istotnym składnikiem układowej odpowiedzi autoimmunologicznej w sklerodermii. Co więcej, najwyższe stężenia przeciwciał występowały u osób z uogólnioną postacią choroby i istotnie korelowały ze stopniem zajęcia skóry, płuc i naczyń nerkowych. Podobne wyniki otrzymano dla przeciwciała anty-MMP-3, także obecnego w zwiększonym stężeniu w surowicy chorych [17]. Nishijama i wsp. wykazali przydatność oznaczania tego przeciwciała jako surowiczego markera aktywności twardziny [17].

Interesujące wyniki przedstawili Kikuchi i wsp. [18]. Wykazali, że surowicza aktywność MMP-9 jest odwrotnie proporcjonalna do oceny grubości skóry wg zmodyfikowanej skali Rodnana [19] i w uogólnionej postaci choroby może być użytecznym parametrem odzwierciedlającym stopień zajęcia skóry. Dane na temat roli MMP-9 w twardzinie nie są jednak jednoznaczne [20]. Wzrost stężenia MMP-3 może świadczyć natomiast o nakładaniu się RZS i twardziny [21], a nadprodukcja MMP-12 może odpowiadać za zaburzoną w twardzinie angiogenezę [22].

Wyniki badań wskazują także, że ekspresja genów cząsteczek biorących udział w procesie włóknienia w twardzinie układowej jest w dynamiczny sposób modulowana. We wczesnym okresie choroby (do roku) zaobserwowano wzmożoną ekspresję genów dla prokolagenu I i III, dekoryny, MMP-1, -3, TIMP-1 i aktywatorów plazminogenu [23]. Pomiędzy 2. i 4. rokiem choroby zmniejszeniu uległa ekspresja genów dla dekoryny, MMP-1, 2 i -3, a utrzymywała się wzmożona ekspresja mRNA dla TIMP-1 i prokolagenu 1. Co więcej, nie wykazano różnic w ekspresji genów badanych białek pomiędzy grupą kontrolną a chorymi w późnym stadium choroby (czas trwania ponad 6 lat).

Z przedstawionych danych wynika, że proces włóknienia w twardzinie układowej może mieć przyczynę nie tylko we wroście stężenia inhibitorów MMPs, ale także w odpowiedzi autoimmunologicznej, wyrażającej się obecnością przeciwciał anty-MMPs, co w konsekwencji powoduje spadek obrotu macierzy zewnątrzkomórkowej tkanki łącznej i nadmierną akumulację włókien kolagenowych w skórze i narządach wewnętrznych chorych.

Rola metaloproteinaz w układowych zapaleniach naczyń

Ukazało się stosunkowo niewiele prac, dotyczących roli MMPs w innych niż opisane wyżej układowych cho-

robach tkanki łącznej. Wydaje się, że cechą wspólną pewnych jednostek z tej grupy jest wzmożona ekspresja MMP-9. Fakt ten obserwowano m.in. w kilku postaciach układowych zapaleń naczyń, np. w olbrzymiomórkowym zapaleniu tętnic. Wzrostowi surowiczego stężenia i aktywności MMP-9 w tej chorobie towarzyszył wzrost ekspresji mRNA dla MMP-9 w warstwie środkowej ściany naczyniowej [24].

Innym zapaleniem naczyń, w którego patogenezie podkreśla się rolę zaburzeń regulacji MMPs, jest choroba Kawasaki. Opisano podwyższenie ekspresji MMP-9 i -2 w ścianach naczyń chorych, przy braku kompensacji ze strony TIMP-1, a rozmieszczenie obu MMPs w poszczególnych kompartmentach naczyniowych było różne [25]. Co ciekawe, ekspresja MMP-9 była wzmożona nawet w nieobecności zmian zapalnych. Wydaje się możliwe uczestnictwo MMP-2 w procesie proliferacji błony wewnętrznej i angiogenezie, a MMP-9 w formowaniu się tętniaków naczyń wieńcowych. Inna grupa badaczy zaobserwowała znacznie wyższe surowicze stężenia MMP-1, -2, -3, -9 i TIMP-1, -2 u chorych na chorobę Kawasaki w porównaniu z grupą osób zdrowych [26]. Stężenie MMP-9 najwyższe w przypadku obecności zmian w tętnicach wieńcowych ulegało obniżeniu po dożylnym podaniu immunoglobulin, a zajęciu tętnic wieńcowych towarzyszył istotnie podwyższony stosunek MMP-9/TIMP-2 i MMP-3/TIMP-1.

Ciekawe wyniki zaprezentowali Bjerke i wsp. [27]. Opisali istotny wzrost ekspresji MMP-1, -2, -12, -14 w leukocytach krwi obwodowej chorych na ziarniniaka Wegenera w okresie remisji, w porównaniu z grupą kontrolną. Osoby z aktywną chorobą wyróżniał znaczny, selektywny wzrost ekspresji MMP-2 i -8. W pracy wykazano także istotnie wyższe stężenia MMP-2, -3 i TIMP-1 oraz korelację stężeń MMP-8 i TIMP-1 z CRP w surowicy chorych. Aktywność MMPs w grupie chorych była znamienne większa niż u osób zdrowych.

Dane literaturowe wskazują na znaczenie osoczowych stężeń MMP-2 w rozpoznaniu, a MMP-3 i -9 w monitorowaniu aktywności zapalenia tętnic typu Takayasu [28].

Rola metaloproteinaz w innych zapalnych chorobach tkanki łącznej

Toczeń układowy nie jest wyjątkiem pod względem zaburzeń w układzie MMPs wśród układowych chorób tkanki łącznej. W interesującej pracy Trysberg i wsp. wykazali, obok podwyższonego stężenia MMP-9 w płynie mózgowo-rdzeniowym chorych z zajęciem układu nerwowego, korelację pomiędzy stężeniami MMP-9 i produktów degradacji neuronów oraz komórek glejowych [29]. W innej publikacji opisano podwyższoną ekspresję i aktywność MMP-9 w leukocytach krwi ob-

wodowej chorych, nie zrównoważoną przez podwyższenie stężenia TIMP-1 [30]. Za rolę MMP-9 w patogenezie tocznia układowego przemawiają również obserwacje Faber-Elmann i wsp. [31]. Wykazali oni zależność między surowiczym stężeniem MMP-9 a obecnością zmian skórnych o charakterze rumienia krążkowego, objawu Raynauda, zapaleniem płuc, owrzodzeniami błony śluzowej jamy ustnej i obecnością przeciwciał antyfosfolipidowych. Zapalenie stawów, nadwrażliwość na światło i zaburzenia hematologiczne występowały rzadziej u chorych z podwyższoną aktywnością MMP-9, podczas gdy objaw Raynauda i niskie stężenia białek układu dopełniacza C3 i C4 – częściej. Co ciekawe, stężenie krążącej MMP-9 było odwrotnie proporcjonalne do surowiczego poziomu przeciwciał przeciw natywnemu DNA, które to odkrycie może być przydatne dla potrzeb monitorowania aktywności choroby [32].

Wzrost ekspresji MMP-1, -2 i -9 zaobserwowano w zapaleniu wielomięśniowym, skórno-mięśniowym i wtętotowym zapaleniu mięśni [33].

Kilka interesujących doniesień na temat roli MMPs dotyczy pierwotnego zespołu Sjögrena. Perez i wsp. wykazali pozytywną zależność między ekspresją i aktywnością MMP-9 oraz ekspresją MMP-3 a ciężkością i aktywnością choroby, w tym ze strukturalnymi i funkcjonalnymi zmianami wargowych gruczołów ślinowych [34]. Co istotne, zwiększenie aktywności wymienionych MMPs wynikało głównie z syntezy w komórkach nabłonka wydzielniczego, natomiast w małym stopniu z produkcji przez komórki nacieku zapalnego. Hulkkonen i wsp. [35] opisali natomiast istotnie mniejsze osoczowe stężenie MMP-9 u chorych z zespołem Sjögrena z płamicą, dodatnim czynnikiem reumatoidalnym i przeciwciałami anty-SS-A niż u chorych bez tych cech, a podwyższone stężenie MMP-9 korelowało z dodatnim testem Schirmera i obecnością *keratoconjunctivitis sicca*. Za znaczeniem układu MMPs/TIMPów i proteolizy w destrukcji tkanki gruczołów i przewodów ślinowych przemawia wzrost stężenia i aktywności MMP-9 oraz wysoki stosunek MMP-9/TIMP-1 w ślinie pacjentów z pierwotnym zespołem Sjögrena [36]. Podwyższone stężenie MMP-9 wykazano też w łzach i moczu chorych, co może mieć pewne znaczenie praktyczne [37, 38].

Podsumowanie

Przytoczone wyniki badań jednoznacznie wskazują na ważne znaczenie układu MMPs/TIMPów w patogenezie zapalnych układowych chorób reumatycznych. Czyni to MMPs i ich inhibitory dobrym punktem uchwytu dla potencjalnych terapii. Dane pochodzące z badań na modelach zwierzęcych zapaleń stawów są obiecujące [39, 40]. Niestety, zastosowanie inhibitorów MMPs u ludzi napotyka na wiele ograniczeń. Szeroki zakres

Tabela I. Zestawienie metaloproteinaz odgrywających rolę w patogenezie chorób reumatycznych
Table I. The list of matrix metalloproteinases playing role in the pathogenesis of rheumatic diseases

Metaloproteinazy	Choroby reumatyczne
MMP-1	reumatoidalne zapalenie stawów, twardzina układowa, choroba Kawasaki, ziarniniak Wegenera, miopatie zapalne
MMP-2	reumatoidalne zapalenie stawów, choroba Kawasaki, zapalenie tętnic Takayashu, ziarniniak Wegenera, miopatie zapalne
MMP-3	reumatoidalne zapalenie stawów, twardzina układowa, choroba Kawasaki, zapalenie tętnic Takayashu, ziarniniak Wegenera, toczeń układowy, zespół Sjögrena
MMP-8	reumatoidalne zapalenie stawów, ziarniniak Wegenera
MMP-9	reumatoidalne zapalenie stawów, twardzina układowa, choroba Kawasaki, zapalenie tętnic Takayashu, olbrzymiokomórkowe zapalenie tętnic, toczeń układowy, miopatie zapalne, zespół Sjögrena
MMP-12	reumatoidalne zapalenie stawów, twardzina układowa, ziarniniak Wegenera
MMP-13	reumatoidalne zapalenie stawów
MMP-14 (MT1-MMP)	ziarniniak Wegenera
MMP-15 (MT2-MMP)	reumatoidalne zapalenie stawów

działania dotychczas stosowanych związków skutkowało hamowaniem fizjologicznej aktywności MMPs i poważnymi objawami niepożądanymi [41]. Wysiłki badaczy skoncentrowały się zatem na poszukiwaniu selektywnych inhibitorów MMPs, wpływaniu na szlaki przekazywania sygnałów oraz hamowaniu ekspresji genów dla MMPs. Co ciekawe, leki należące do tej ostatniej grupy są już od dawna używane w praktyce klinicznej. Przykładem są szeroko stosowane w reumatologii glikokortykosteroidy, choć trudno mówić w tym przypadku o selektywności działania. Do obniżenia ekspresji MMPs prowadzi także terapia lekami biologicznymi [42]. Biorąc pod uwagę ciągły rozwój medycyny molekularnej i biotechnologii, dotychczasowe trudności związane z poszukiwaniem skutecznych i bezpiecznych terapii chorób reumatycznych wydają się zbliżać do końca, choć optymizm związany ze skutecznością niektórych preparatów w układach eksperymentalnych już nieraz okazał się przedwczesny. Selektywne inhibitory MMPs prawdziwą wartość wykażą dopiero po skutecznych próbach ich klinicznego zastosowania. Pozostaje życzyć pacjentom, lekarzom i badaczom, aby nastąpiło to jak najszybciej (tab. I).

Piśmiennictwo

- Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274: 21491-4.
- Konttinen YT, Ainola M, Valleala J, et al. Analysis of 16 different matrix metalloproteinases (MMP-1 to MMP-20) in the syno-

vial membrane: different profiles in trauma and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1999; 58: 691-7.

- Maeda S, Sawai T, Uzuki M, et al. Determination of interstitial collagenase (MMP-1) in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1995; 54: 970-5.
- Goldbach-Mansky R, Lee JM, Hoxworth JM, et al. Active synovial matrix metalloproteinase-2 is associated with radiographic erosions in patients with early synovitis. *Arthritis Res* 2000; 2: 145-53.
- Katirb A, Smith MD, Ahern MJ, et al. Reduced chemokine and matrix metalloproteinase expression in patients with rheumatoid arthritis achieving remission. *J Rheumatol* 2003; 30: 10-21.
- Yoshihara Y, Nakamura H, Obata K, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 455-61.
- Tchetverikov I, Lard LR, DeGroot J, et al. Matrix metalloproteinases-3, -8, -9 as markers of disease activity and joint damage progression in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 1094-9.
- Kulich WC, Klein G. Correlation among macrophage inflammatory protein 1alpha levels, matrix metalloproteinase 8 levels, and systemic inflammation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2940-1.
- Cunnane G, Fitzgerald O, Beeton C, et al. Early joint erosions and serum levels of matrix metalloproteinase 1, matrix metalloproteinase 3, and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2263-74.
- Ribbens C, Martin y Porras M, Franchimont N, et al. Increased matrix metalloproteinase-3 serum levels in rheumatic diseases: relationship with synovitis and steroid treatment. *Ann Rheum Dis* 2002; 61: 161-6.

11. Sharif M, Salisbury C, Taylor DJ, et al. Changes in biochemical markers of joint tissue metabolism in a randomized controlled trial of glucocorticoid in early rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1203-9.
12. Kikuchi K, Kubo M, Sato S, et al. Serum tissue inhibitor of metalloproteinases in patients with systemic sclerosis. *J Am Acad Dermatol* 1995; 33: 973-8.
13. Young-Min SA, Beeton C, Laughton R, et al. Serum TIMP-1, TIMP-2, and MMP-1 in patients with systemic sclerosis, primary Raynaud's phenomenon, and in normal controls. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 846-51.
14. Yazawa N, Kikuchi K, Ihn H, et al. Serum levels of tissue inhibitor of metalloproteinases 2 in patients with systemic sclerosis. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42: 70-5.
15. Mattila L, Airola K, Ahonen M, et al. Activation of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP-3) mRNA expression in scleroderma skin fibroblasts. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 416-21.
16. Sato S, Hayakawa I, Hasegawa M, et al. Function blocking autoantibodies against matrix metalloproteinase-1 in patients with systemic sclerosis. *J Invest Dermatol* 2003; 120: 542-7.
17. Nishijima C, Hayakawa I, Matsushita T, et al. Autoantibody against matrix metalloproteinase-3 in patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 2004; 138: 357-63.
18. Kikuchi K, Kubo M, Hoashi T, et al. Decreased MMP-9 activity in the serum of patients with diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Clin Exp Dermatol* 2002; 27: 301-5.
19. Clements P, Lachenbruch P, Siebold J, et al. Inter and intraobserver variability of total skin thickness score (modified Rodnan TSS) in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 1995; 22: 1281-5.
20. Kim WU, Min SY, Cho ML, et al. Elevated matrix metalloproteinase-9 in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther* 2005; 7: R71-R79.
21. Jinnin M, Ihn H, Asano Y, et al. Serum matrix metalloproteinase-3 in systemic sclerosis. *Arch Dermatol Res* 2004; 296: 25-9.
22. D'Alessio S, Fibbi G, Cinelli M, et al. Matrix metalloproteinase 12-dependent cleavage of urokinase receptor in systemic sclerosis microvascular endothelial cells results in impaired angiogenesis. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 3275-85.
23. Kuroda K, Shinkai H. Gene expression of types I and III collagen, decorin, matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in skin fibroblasts from patients with systemic sclerosis. *Arch Dermatol Res* 1997; 289: 567-72.
24. Sorbi D, French DL, Nuovo GJ, et al. Elevated levels of 92-kd type IV collagenase (matrix metalloproteinase 9) in giant cell arteritis. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1747-53.
25. Gavin PJ, Crawford SE, Shulman ST, et al. Systemic arterial expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in acute Kawasaki Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 576-81.
26. Senzaki H, Masutani S, Kobayashi J, et al. Circulating matrix metalloproteinases and their inhibitors in patients with Kawasaki Disease. *Circulation* 2001; 104: 860-3.
27. Bjerkeli V, Halvorsen B, Damas JK, et al. Expression of matrix metalloproteinases in patients with Wegener's granulomatosis. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1659-63.
28. Matsuyama A, Sakai N, Ishigami M, et al. Matrix metalloproteinases as novel disease markers in Takayasu arteritis. *Circulation* 2003; 108: 1469-73.
29. Trysberg E, Blennow K, Zachrisson O, et al. Intrathecal levels of matrix metalloproteinases in systemic lupus erythematosus with central nervous system engagement. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: R551-R556.
30. Matache C, Stefanescu M, Dragomir C, et al. Matrix metalloproteinase-9 and its natural inhibitor TIMP-1 expressed or secreted by peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun* 2003; 20: 323-31.
31. Faber-Elmann A, Sthoeger Z, Tcherniack A, et al. Activity of matrix metalloproteinase -9 is elevated in sera of patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 2002; 127: 393-8.
32. Makowski GS, Ramsby ML. Concentrations of circulating matrix metalloproteinase 9 inversely correlate with autoimmune antibodies to double stranded DNA: implications for monitoring disease activity in systemic lupus erythematosus. *Mol Pathol* 2003; 56: 244-7.
33. Kieseier BC, Schneider C, Clements JM, et al. Expression of specific matrix metalloproteinases in inflammatory myopathies. *Brain* 2001; 124: 341-51.
34. Perez P, Goicovich E, Allende C, et al. Differential expression of matrix metalloproteinases in labial salivary glands of patients with primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 2807-17.
35. Hulkkonen J, Pertovaara M, Antonen J, et al. Matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) gene polymorphism and MMP-9 plasma levels in primary Sjögren's syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43: 1476-9.
36. Asatsuma M, Ito S, Watanabe M, et al. Increase in the ratio of matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in saliva from patients with primary Sjögren's syndrome. *Clin Chim Acta* 2004; 345: 99-104.
37. Solomon A, Dursun D, Liu Z, et al. Pro- and anti-inflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 2283-92.
38. Pertovaara M, Hulkkonen J, Hurme M, et al. Urinary matrix metalloproteinase-9 and interleukin-6 and renal manifestations of primary Sjögren syndrome. *Rheumatology* 2004; 43: 807-8.
39. Conway JG, Wakefield JA, Brown RH, et al. Inhibition of cartilage and bone destruction in adjuvant arthritis in the rat by a matrix metalloproteinase inhibitor. *J Exp Med* 1995; 182: 449-57.
40. Brewster M, Lewis EJ, Wilson KL, et al. Ro 32-3555, an orally active collagenase selective inhibitor, prevents structural damage in the STR/ORT mouse model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 1639-44.
41. Brown PD. Ongoing trials with matrix metalloproteinase inhibitors. *Expert Opin Investig Drugs* 2000; 9: 2167-77.
42. Klimiuk PA, Sierakowski S, Domyslawska I, et al. Effect of repeated infliximab therapy on serum matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2004; 31: 238-42.