

Н.Ю. Лук'янова,
О.М. Мушій,
Т.В. Задворний,
Т.В. Борікун,
А.О. Павлова,
Л.М. Кунська,
В.Ф. Чехун

Інститут експериментальної
патології, онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України,
Київ, Україна

Ключові слова: рак молочної
залози, колагенази, MMP1,
MMP8, MMP13, miRNAs,
фактори транскрипції,
експресія генів, метилування,
прогресія злоякісних
новоутворень.

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2024.01.022>

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ КОЛАГЕНАЗ У ТКАНИНІ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ: АНАЛІЗ ВІДКРИТИХ БАЗ ДАНИХ

Рак молочної залози (РМЗ) є найпоширенішим онкологічним захворюванням серед жінок як в Україні, так і у світі. Встановлено, що ремоделювання позаклітинного матриксу відіграє вирішальну роль у пухлинній прогресії. Колагенази є одними із основних драйверів цього процесу, забезпечуючи деградацію колагену і безпосередньо впливаючи на процеси інвазії та метастазування неопластичних клітин. **Мета:** дослідження *in silico* особливостей експресії генів колагеназ та їх регуляторних факторів у тканині РМЗ, як можливих драйверів пухлинного росту. **Об'єкт і методи:** порівняння показників експресії генів колагеназ у нормальній та злоякісно-трансформованій тканині молочної залози проводили за допомогою ресурсів GEPIA, UALCAN та TNMplot. Рівні метилування промоторів генів колагеназ встановлено за допомогою бази даних UALCAN. Ідентифікацію мікроРНК та факторів транскрипції, які беруть участь у регуляції експресії колагеназ проводили на основі інформації розміщеної на платформі miRNet v2.0 з використанням баз даних TarBase v.8.0 та JASPAR. Дослідження рівня мікроРНК проводили із використанням онлайн-ресурсу miR-TV. **Результати:** встановлено, що тканина РМЗ характеризується достовірно вищими показниками експресії MMP1, MMP8 і MMP13 на рівні мРНК порівняно із нормальною тканиною молочної залози. Продемонстровано, що рівні метилування промоторів MMP1 і MMP13 в пухлинних клітинах були значно нижчими порівняно з нетрансформованими клітинами молочної залози. За допомогою баз даних TarBase v.8.0 та JASPAR ідентифіковано фактори транскрипції, а також мікроРНК, що залучені в регуляцію експресії MMP1, MMP8, та MMP13. Аналіз показників експресії мікроРНК, які беруть участь у регуляції експресії колагеназ, показав, що рівні miR-155-5p, miR-200b-3p і miR-210-5p у тканині РМЗ були у 2,26 ($p=2,2e^{-16}$), 2,95 ($p=2,2e^{-16}$) та у 5,90 ($p=2,2e^{-16}$) разів вище порівняно з нетрансформованою тканиною молочної залози, відповідно. Показано, що тканина РМЗ порівняно з тканиною здорових донорів характеризувалася значно нижчими рівнями експресії miR-100-5p, miR-127-3p і miR-539-5p у відповідно 4,19 ($p=2,2e^{-16}$), 2,05 ($p=3,9e^{-12}$) і 1,70 ($p=2,5e^{-5}$) разів. **Висновок:** отримані результати вказують на участь колагеназ у виникненні та прогресії злоякісних новоутворень та свідчать про необхідність проведення подальших досліджень їх ролі у формуванні агресивного потенціалу РМЗ.

Сьогодні рак молочної залози (РМЗ) залишається одним із найбільш поширених онкологічних захворювань серед жіночого населення. За даними Національного канцер реєстру [1], станом на 2022 р. в Україні під наглядом спеціалістів-онкологів перебувало понад 160 тис. хворих із верифікованим РМЗ. Щороку кількість нових діагностованих випадків злоякісних новоутворень молочної залози зростає в середньому на 8%. Окрім класичних та відомих на сьогодні факторів ризику розвитку РМЗ (серед яких генетична схильність, особливості харчування, спосіб життя та шкідливі звички, гормональний дисбаланс та порушення функцій

нування статевих систем), все частіше науковці та клініцисти починають звертати увагу на ключову роль стресових розладів, спричинених військовою агресією [2, 3]. Наведене свідчить, що актуальною задачею є оптимізація уже існуючих, а також імплементація нових, методів діагностики та прогнозування перебігу РМЗ з урахуванням реалій сьогодення.

Згідно нинішніх уявлень, злоякісне новоутворення прийнято розглядати як комплексну, складну систему, що складається із клітинного та стромального компонентів, а також гуморальних факторів різної хімічної природи, які забезпечують

комунікацію між усіма її елементами [4]. Основою стромального компоненту є фібрилярні білки, зокрема колаген, які відіграють роль структурної матриці, а також безпосередньо задіяні в процесах клітинного сигналіngu та метаболізму. Ключовими регуляторними елементами, що беруть участь у процесах деградації та ремоделювання колагену є матриксні металопротеїнази (ММР) — мультидоменні цинк-залежні ендopeптидази, задіяні у протеолізі поліпептидів. Усі ММР залежно від субстратної специфічності прийнято розділяти на колагенази (I, II та III типу, або ММР-1, ММР-8 та ММР-13, відповідно), які здійснюють гідролітичне розщеплення колагену; желатинази (желатиназа А та В, або ММР-2 та ММР-9), що спеціалізуються на гідролізі денатурованих молекул колагену; а також мінорні групи ММР, серед яких матрилізину, стромелізину, мембранні ММР та ін. [5].

Колагенази відповідають за перебудову стромального компоненту шляхом безпосереднього розрізання волокон колагену, забезпечуючи таким чином ремоделювання строми новоутворень в ході розвитку та прогресування РМЗ [6]. З огляду на участь колагеназ у руйнуванні позаклітинного матриксу, інвазії та метастазуванні, їх розглядають як перспективні прогностичні маркери РМЗ, а також можливі мішені для таргетної терапії [7, 8]. Проте дані досліджень останніх років свідчать, що ММР можуть також інгібувати ріст злоякісних новоутворень [9].

Наведене свідчить про відсутність єдиної точки зору щодо ролі колагеназ у виникненні та прогресії РМЗ, а також їх прогностичного та /або предиктивного значення. Відповідно, метою роботи було дослідження *in silico* особливостей експресії генів колагеназ та їх регуляторних факторів у тканині РМЗ, як можливих драйверів пухлинного росту.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Аналіз рівнів експресії генів колагеназ у нормальній та злоякісно-трансформованій тканині молочної залози проведено за допомогою онлайн-ресурсів GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>), The University of Alabama at Birmingham CANcer data analysis Portal — UALCAN (<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>) та TNMplot (<https://tnmplot.com/analysis/>).

GEPIA — це інтерактивний веб-сервер для аналізу показників експресії генів, отриманих при секвенуванні 9736 зразків злоякісних новоутворень і 8587 зразків немалігнізованої тканини у проектах TCGA і GTEx [10]. UALCAN — онлайн база даних, що містить інформацію про рівні експресії генів, мікроРНК, довгих некодуючих РНК, метилювання промоторних ділянок генів у тканині 33 типів новоутворень [11]. TNMplot — ресурс, що дозволяє проводити диференційний аналіз експресії генів у нормальній та злоякісно-транс-

формованій тканині (тканині первинних новоутворень та метастазів) [12].

Ідентифікація мікроРНК, залучених в регуляцію експресії генів колагеназ проводилась на основі аналізу інформації розміщеної в TarBase v.8.0 (<http://www.microrna.gr/tarbase>) — бази даних, яка містить відомості щодо експериментально встановлених мішеней мікроРНК у 18 видів організмів, у тому числі і в *Homo sapiens* [13].

Визначення факторів транскрипції, що залучені в регуляцію експресії колагеназ проведено на платформі miRNet v2.0 із використанням бази даних JASPAR (<https://jaspar.genereg.net/>). JASPAR це відкрита база даних, яка містить інформацію про зв'язування факторів транскрипції для шести таксономічних груп [14].

Аналіз рівнів мікроРНК в немалігнізованій та злоякісно-трансформованій тканині молочної залози проведено на основі інформації представленої на ресурсі miR-TV (<http://mirtv.ibms.sinica.edu.tw/index.php>). miR-TV — це онлайн інструмент, що об'єднує інформацію про рівні мікроРНК, їх можливі мішені із таких баз даних як TCGA, miRDB, targetScan та miRanda [15].

Для дослідження генетичних варіацій генів колагеназ було використано портал cBio (<http://cbioportal.org>). cBio — це ресурс із відкритим доступом для інтерактивного дослідження багатовимірних геномних наборів даних отриманих при дослідженні зразків тканини новоутворень різних локалізацій. Наразі портал надає доступ до даних понад 5000 зразків пухлин із 20 локалізацій [16].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Згідно результатів біоінформативного аналізу проведеного на онлайн-платформі GEPIA (рис. 1А) підвищення рівнів мРНК *MMP1* та мРНК *MMP13* у 22 та 27 ($p < 0,05$) разів відповідно, зафіксовано у тканині РМЗ порівняно із немалігнізованою тканиною молочної залози. Ці результати підтверджуються і інформацією, отриманою при дослідженні із використанням іншого онлайн-інструменту — UALCAN (рис. 1Б). Варто зауважити, що згідно з інформацією розміщеною на ресурсі GEPIA не виявлено достовірної різниці у показниках експресії *MMP8* у нормальній та злоякісно-трансформованій тканині молочної залози (див. рис. 1А). На противагу цьому, згідно бази даних UALCAN тканина РМЗ характеризувалась збільшенням у 2 ($p = 1,93e^{-5}$) рази рівнів мРНК *MMP8* (див. рис. 1Б).

Згідно результатів, представлених у базі даних TNMplot (рис. 1В) тканина місцево поширеного РМЗ характеризувалась в 7,28 ($p = 2,15e^{-61}$) і 6,15 ($p = 1,94e^{-51}$) рази вищими показниками мРНК *MMP1* та *MMP13*, а також у 1,27 ($p = 1,24e^{-2}$) рази більшим рівнем мРНК *MMP8* у порівнянні із немалігнізованою тканиною молочної залози.

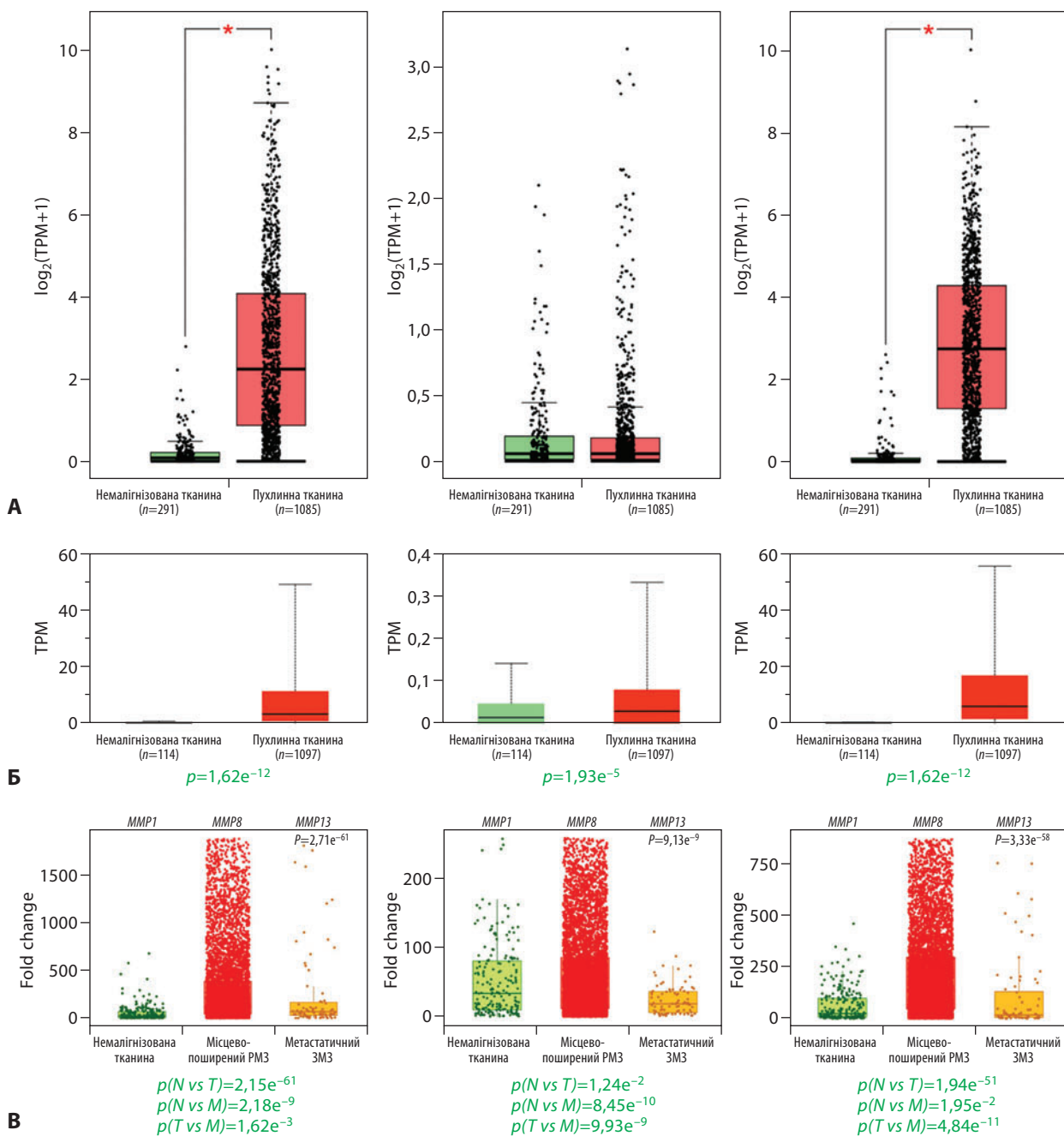


Рис. 1. Рівні мРНК колагеназ у нормальній та злоякісно-трансформованій тканині молочної залози: А — дані ресурсу GEPIA; Б — дані ресурсу UALCAN В — дані ресурсу TNMplot

Примітка: TPM (transcripts per million) — метод нормалізації для RNA-seq досліджень, що слід читати як “N копій мРНК окремого гену на кожні 1 000 000 молекул РНК у зразку RNA-seq”; Fold change — значення, що описує експресію досліджуваного гена порівняно із значеннями експресії стандартизованого еталонного гену; * $p < 0,05$.

Зауважимо, що рівні експресії усіх трьох генів були значно меншими у тканині РМЗ пацієнтів із віддаленими метастазами у порівнянні як з нормальною тканиною молочної залози, так і з пухлинами молочної залози без метастазів. Зокрема, значення експресії *MMP1*, *MMP8* та *MMP13* у тканині метастатичного РМЗ були у 2,31 ($p=1,62e^{-3}$), 6,8 ($p=4,84e^{-11}$) та 2,1 ($p=9,93e^{-9}$) рази нижчі порівняно із аналогічними показниками у тканині місцево-поширеного РМЗ.

Важлива роль у процесах виникнення та прогресії злоякісних новоутворень відводиться порушенням епігенетичної регуляції експресії генів, зокрема метилуванню їх промоторних ділянок, а також зміні співвідношення мікроРНК. Нами було проаналізовано рівні метилування промоторів *MMP1* та *MMP13* на основі даних представлених на онлайн-ресурсі UALCAN (рис. 2). Встановлено, що рівні метилування промоторів цих колагеназ у тканині РМЗ були достовірно меншими порівня-

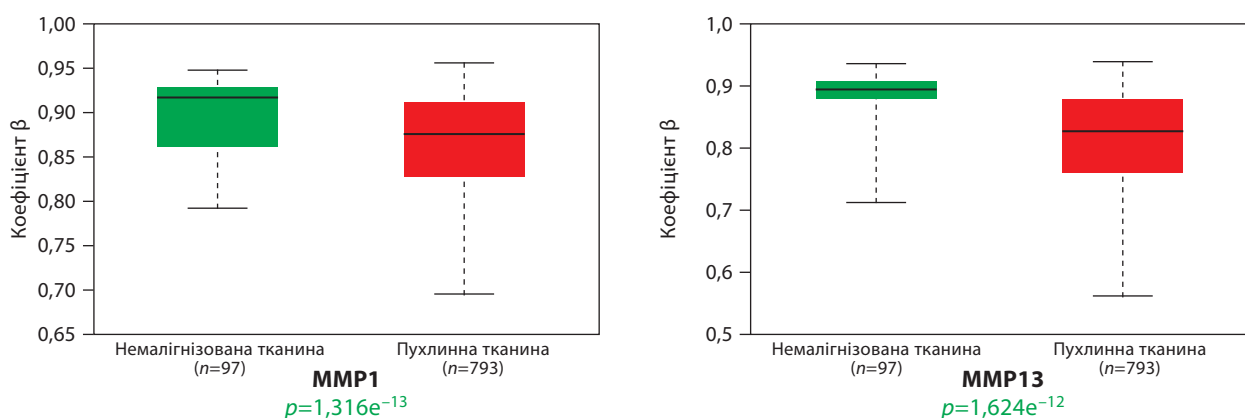


Рис. 2. Рівні метилювання промоторів генів колагеназ у нормальній та злоякісно-трансформованій тканині молочної залози

Примітка: значення коефіцієнта β свідчать про рівні метилювання промоторів досліджуваних генів та коливаються від 0 (неметилюваний) до 1 (повністю метилюваний). Гіперметилюванням вважається ген із значенням коефіцієнта β в діапазоні 0,7–0,5 в той час як гіпометилюванням — при значеннях коефіцієнта β в межах від 0,3–0,25.

но із нетрансформованою тканиною. Зазначимо, що інформація стосовно показників метилювання промотора *MMP8* у базі даних UALCAN була відсутня.

Для ідентифікації мікроРНК та факторів транскрипції, залучених в регуляцію експресії *MMP1*, *MMP8* та *MMP13*, нами проведено біоінформатичний аналіз із використанням бази даних TarBase v.8.0 та JASPAR (рис. 3). Встановлено, що в регуляцію експресії *MMP1* безпосередньо залучено 37 мікроРНК та 5 факторів транскрипції — FOXA1, STAT3, IRF2, GATA2 та FOXC1. В той час як ре-

гуляція експресії *MMP8* здійснюється за участю 3 мікроРНК та 4 факторів транскрипції (ZNF354C, CREB1, PRRX2, YY1), а експресія ж *MMP13* знаходиться під контролем 22 мікроРНК та 9 факторів транскрипції (FOXC1, YY1, JUN, PDX1, SRF, MEF2A, SRF, JUND та NFYA).

Згідно з результатами подальшого аналізу проведеного за допомогою miRNet v2.0 з'ясовано, що з виникненням та розвитком новоутворень молочної залози порушення експресії 14 мікроРНК. На основі отриманих результатів нами сформовано панель із 9 мікроРНК, які беруть участь у регуляції

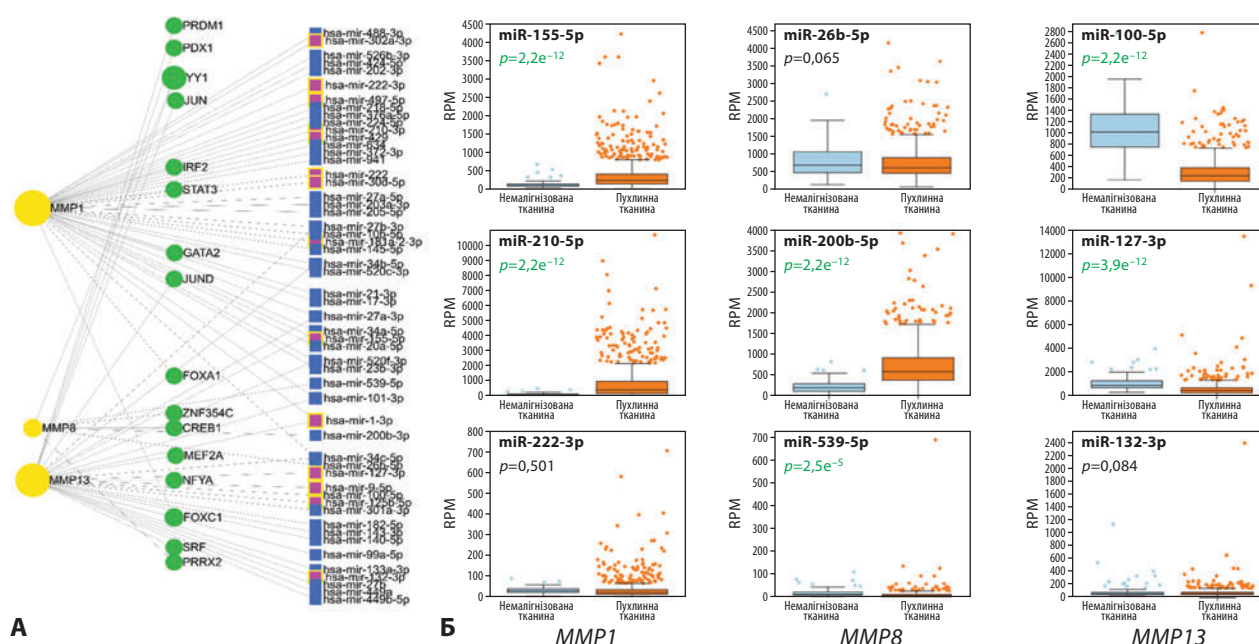


Рис. 3. А — мережа взаємодій мікроРНК, що залучені в регуляцію експресії колагеназ I, II та III типу. Жовтим колом позначено цільовий ген, зеленими — фактори транскрипції, квадратами — мікроРНК, що беруть участь в регуляції генів-мішеней (рожевим кольором виділено гени, залучені у розвиток та прогресію злоякісних новоутворень молочної залози). Б — рівні мікроРНК, що залучені в регуляцію експресії колагеназ, у нормальній та злоякісно-трансформованій тканині молочної залози

Примітка: RPM (reads per million) — метод нормалізації для RNA-seq досліджень, що слід читати як “N копій мРНК окремого гену на кожні 1 000 000 молекул РНК у зразку RNA-seq”.

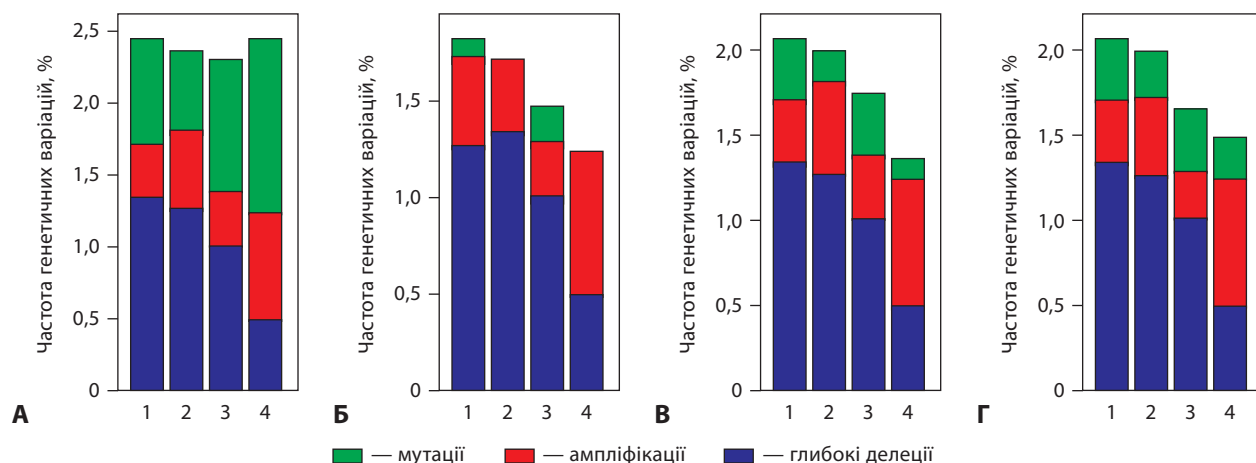
експресії колагеназ (*MMP1* — miR-155-5p, miR-210-5p та miR-222-3p; *MMP8* — miR-26b-5p, miR-200b-3p та miR-539-5p; *MMP13* — miR-100-5p, miR-127-3p та miR-132-3p) та проаналізовано їх рівні в немалігнізованих та злоякісно-трансформованих клітинах молочної залози за допомогою ресурсу miR-TV. Встановлено, що рівні miR-155-5p та miR-210-5p у тканині PM3 були в 2,26 ($p=2,2e^{-16}$) та 5,90 ($p=2,2e^{-16}$) рази вищими порівняно із нормальною тканиною молочної залози. Достовірної різниці показників експресії miR-222-3p у тканині PM3 по відношенню до немалігнізованої тканини молочної залози не виявлено. Що стосується рівнів мікроРНК, залучених в регуляцію *MMP8*, то показники miR-200b-3p були у 2,95 ($p=2,2e^{-16}$) разів більшими, а miR-539-5p в 1,70 ($p=2,5e^{-5}$), навпаки, достовірно меншими у тканині PM3 порівняно з умовно нормальною тканиною. Достовірної різниці у показниках експресії miR-26b-5p не виявлено. Достовірне зниження показників експресії miR-100-5p та miR-127-3p (відповідно у 4,19 ($p=2,2e^{-16}$) та 2,05 ($p=3,9e^{-12}$) рази) зафіксовано у тканині PM3 порівняно із немалігнізованою тканиною.

За допомогою бази даних cBioPortal у 3835 випадках PM3, отриманих з чотирьох досліджень (818 випадків з TCGA, Cell 2015; 1108 випадків з TCGA, Firehose Legacy; 1084 випадків з TCGA, PanCancer Atlas; і 825 випадків з TCGA, Nature 2012), нами також було проаналізовано можливі генетичні варіації (ампліфікації, делеції та мутації) генів колагеназ. Як видно з даних, наведених на *рис. 4*, більшість генетичних варіацій генів колагеназ відносились до глибоких делецій — до 1,35%, хоча у зразках пацієнтів із дослідження TCGA, Nature 2012 переважали ампліфікації, частота яких становила 0,75%. При цьому, частота мутацій варіювала 0,37 до 0,92%. Зауважимо, що мутації гену колаген-

нази I типу фіксувались дуже рідко — 0,09–0,18%, а у дослідженнях Breast Invasive Carcinoma (TCGA, Firehose Legacy) та Breast Invasive Carcinoma (TCGA, Nature 2012) взагалі не визначались.

Таким чином, результати біоінформатичного дослідження свідчать, що розвиток злоякісних новоутворень молочної залози супроводжується зростанням показників експресії мРНК колагеназ I та III у пухлинній тканині та співпадають з даними [8], щодо прогностичного та предиктивного значення *MMP1* при PM3. Варто також зазначити, що у кількох дослідженнях було продемонстровано значно вищі рівні експресії *MMP-1* та *MMP-13* у тканині PM3 порівняно з немалігнізованою тканиною [17–19]. Окрім того, достовірно вищі рівні експресії *MMP-13* було ідентифіковано у тканині PM3 порівняно із доброякісними новоутвореннями молочної залози [20]. У дослідженні [21] низький рівень *MMP-1* виявлено у плазмі крові умовно здорових донорів у порівнянні із аналогічним у пацієнтів з PM3, тоді як достовірної різниці у показниках *MMP-8* не встановлено. Що стосується *MMP-13*, то у плазмі крові ця колагеназа не детектувалася. Вважається, що колагенази *MMP-1* і *MMP-13* задіяні у стимуляції пухлинного росту новоутворень шляхом вивільнення та/або активації попередників таких сигнальних молекул як рго-TGF α , інших EGF-подібних лігандів, а також TGF- β з екстрацелюлярного матриксу або поверхні клітин, які їх експресують [22]. Колагенази I та III типу також задіяні у процесах метастазування та ангіогенезу за рахунок деградації позаклітинного матриксу [23].

Результати, представлені рядом дослідників, вказують на участь *MMP-1* у регуляції процесів апоптозу та чутливості до медикаментозної терапії. Наведені дані свідчать про те, що колагенази I



1 — інвазивна аденокарцинома молочної залози (TCGA, Cell 2015); 2 — інвазивна аденокарцинома молочної залози (TCGA, Firehose Legacy); 3 — інвазивна аденокарцинома молочної залози (TCGA, PanCancer Atlas); 4 — інвазивна аденокарцинома молочної залози (TCGA, Nature 2012)

Рис. 4. Генетичні варіації генів колагеназ у тканині PM3 (згідно з cBioPortal): А — узагальнені результати; Б — генетичні варіації *MMP1*; В — генетичні варіації *MMP8*; Г — генетичні варіації *MMP13*

та III типу володіють вираженими протуморогенними властивостями та беруть участь у розвитку РМЗ [24, 25].

У той же час, результати нашого дослідження не дають однозначної відповіді на роль колагенази II типу у розвитку РМЗ, яка згідно даних літератури володіє як про- так і протитуморогенними властивостями. За даними [9, 26] MMP-8 здатна інгібувати інвазію та проліферацію клітин РМЗ знижуючи, таким чином, метастатичний потенціал новоутворень. Існують також повідомлення, що підтверджують протуморогенні властивості MMP-8 у тканині новоутворень молочної залози високого ступеня злоякісності, що свідчить про різноспрямованість впливів цієї протеази на процеси прогресування новоутворень [26].

Беззаперечним є той факт, що зміни профілю експресії колагеназ, що спостерігається у злоякісно трансформованих клітинах, зумовлені порушенням її багаторівневої регуляції, яка включає активацію зимогену, компартменталізацію, ендогенні тканинні інгібітори металопротеїназ (TIMP) і мікроРНК [27]. Результати нашого дослідження свідчать про існування регуляторної мережі, яка включає більше 50 мікроРНК та 16 транскрипційних факторів, задіяних у безпосередній регуляції експресії *MMP1*, *MMP8* та *MMP13*, що також підтверджується даними літератури [27–29]. В той же час, існує необхідність більш глибоких досліджень у контексті взаємодії MMP/мікроРНК, оскільки, незважаючи на значний інтерес науковців, їх ефекти на процеси канцерогенезу залишаються остаточно не охарактеризованими.

ЗАКЛЮЧЕННЯ

Отримані нами результати свідчать про виражені протуморогенні властивості колагеназ I та III типу. Перспективність подальших досліджень також обумовлюється відсутністю єдиного погляду на роль *MMP8* у процесах виникнення та прогресії РМЗ. Усе вище зазначене вказує на необхідність проведення подальших досліджень, які дозволять з'ясувати роль колагеназ у розвитку РМЗ, а також встановлять їх прогностичне та предиктивне значення.

Робота виконана в рамках НДР “Стрес-індуковані фактори пухлинного мікрооточення як драйвери ризику прогресії раку молочної залози” (№ держреєстрації 0124U000078) та “Особливості експресії та статус метилювання генів ремоделювання стромального мікрооточення у тканині раку молочної залози” (№ держреєстрації 0123U102991).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Fedorenko Z, Soumkina O, Gorokh Ye, *et al.* Cancer in Ukraine 2021 – 2022: Incidence, mortality, prevalence and other relevant statistics. Bulletin of the National Cancer Registry of Ukraine 2023; **24**. 145 p.
2. Dai S, Mo Y, Wang Y, *et al.* Chronic stress promotes cancer development. Front Oncol 2020; **10**: 1492. doi: 10.3389/fonc.2020.01492.
3. Chiriac VF, Baban A, Dumitrascu DL. Psychological stress and breast cancer incidence: a systematic review. Clujul Med 2018; **91** (1): 18–26. doi: 10.15386/cjmed-924.
4. Anderson NM, Simon MC. The tumor microenvironment. Curr Biol 2020; **30** (16): R921–R925. doi:10.1016/j.cub.2020.06.081.
5. Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, *et al.* The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases. Int J Mol Sci 2020; **21** (24): 9739. doi: 10.3390/ijms21249739.
6. Radisky ES, Radisky DC. Matrix metalloproteinases as breast cancer drivers and therapeutic targets. Front Biosci (Landmark Ed) 2015; **20** (7): 1144–63. doi: 10.2741/4364.
7. Hammash D, Mahfood M, Khoder G, *et al.* miR-623 Targets Metalloproteinase-1 and attenuates extravasation of brain metastatic triple-negative breast cancer cells. Breast Cancer (Dove Med Press) 2022; **14**: 187–98. doi: 10.2147/BCTT.S372083.
8. Xi C, Song Z, Cui Q, *et al.* Elevated MMP1 expression in carcinoma-associated fibroblasts of breast cancer contributes to tumor progression and unfavorable prognosis. Ann Clin Lab Sci 2024; **54** (1): 66–75.
9. Soria-Valles C, Gutiérrez-Fernández A, Guiu M, *et al.* The anti-metastatic activity of collagenase-2 in breast cancer cells is mediated by a signaling pathway involving decorin and miR-21. Oncogene 2014; **33**: 3054–63. doi: 10.1038/onc.2013.267.
10. Tang Z, Li C, Kang B, *et al.* GEPIA: a web server for cancer and normal gene expression profiling and interactive analyses. Nucleic Acids Res 2017; **45** (W1): W98–W102. doi: 10.1093/nar/gkx247.
11. Chandrashekar DS, Bashel B, Balasubramanya S, *et al.* UALCAN: a portal for facilitating tumor subgroup gene expression and survival analyses. Neoplasia (New York) 2017; **19** (8): 649–58. doi: 10.1016/j.neo.2017.05.002.
12. Bartha Á, Györfi B. TNMplot.com: a web tool for the comparison of gene expression in normal, tumor and metastatic tissues. Int J Mol Sci 2021; **22** (5): 2622. doi: 10.3390/ijms22052622.
13. Karagkouni D, Paraskevopoulou MD, Chatzopoulos S, *et al.* DIANA-TarBase v8: a decade-long collection of experimentally supported miRNA-gene interactions. Nucleic Acids Res 2018; **46** (D1): D239–D245. doi: 10.1093/nar/gkx1141.
14. Castro-Mondragon JA, Riudavets-Puig R, Rauluseviciute I, *et al.* JASPAR 2022: the 9th release of the open-access database of transcription factor binding profiles Nucleic Acids Res 2022; **50** (D1): D165–D173. doi: 10.1093/nar/gkab1113.
15. Pan CY, Lin WC. miR-TV: an interactive microRNA Target Viewer for microRNA and target gene expression interrogation for human cancer studies. Database 2020; **2020**, baz148. doi: 10.1093/database/baz148.
16. Cerami E, Gao J, Dogrusoz U, *et al.* The cBio cancer genomics portal: an open platform for exploring multidimensional cancer genomics data [published correction appears in Cancer Discov. 2012 Oct; **2** (10): 960]. Cancer Discov 2012; **2** (5): 401–4. doi: 10.1158/2159-8290.CD-12-0095.
17. Wang J, Ye C, Lu D, *et al.* Matrix metalloproteinase-1 expression in breast carcinoma: a marker for unfavorable prognosis. Oncotarget 2017; **8** (53): 91379–390. doi: 10.18632/oncotarget.20557.
18. Xuan J, Zhang Y, Zhang X, Hu F. Matrix metalloproteinase-1 expression in breast cancer and cancer-adjacent tissues by immunohistochemical staining. Biomed Rep 2015; **3**: 395–7. doi: 10.3892/br.2015.420.
19. Kotepui M, Punsawad C, Chupeerach C, *et al.* Differential expression of matrix metalloproteinase-13 in association with invasion of breast cancer. Contemp Oncol (Pozn) 2016; **20** (3): 225–8. doi: 10.5114/wo.2016.61565.

20. Ameli F, Ghafourina Nassab F, *et al.* Tumor-derived matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) expression in benign and malignant breast lesions. *Asian Pac J Cancer Prev* 2021; **22** (8): 2603–9. doi: 10.31557/APJCP.2021.22.8.2603.
21. Decock J, Hendrickx W, Vanleeuw U, *et al.* Plasma MMP1 and MMP8 expression in breast cancer: protective role of MMP8 against lymph node metastasis. *BMC Cancer* 2008; **8**: 77. doi: 10.1186/1471-2407-8-77.
22. Li S, Pritchard DM, Yu L-G. Regulation and function of matrix Metalloproteinase-13 in cancer progression and metastasis. *Cancers* 2022; **14** (13): 3263. doi: 10.3390/cancers14133263.
23. Roy R, Louis G, Loughlin KR, *et al.* Tumor-specific urinary matrix metalloproteinase fingerprinting: Identification of high molecular weight urinary matrix metalloproteinase species. *Clin Cancer Res* 2008; **14**: 6610–617. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1136.
24. Wang QM, Lv L, Tang Y, *et al.* MMP-1 is overexpressed in triple-negative breast cancer tissues and the knockdown of MMP-1 expression inhibits tumor cell malignant behaviors *in vitro*. *Oncol Lett* 2019; **17** (2): 1732–40. doi: 10.3892/ol.2018.9779.
25. Shen C-J, Kuo Y-L, Chen C-C, *et al.* MMP1 expression is activated by Slug and enhances multi-drug resistance (MDR) in breast cancer. *PLoS ONE* 2017; **12** (3): e0174487. doi: 10.1371/journal.pone.0174487.
26. Decock J, Hendrickx W, Thirkettle S, *et al.* Pleiotropic functions of the tumor- and metastasis-suppressing matrix metalloproteinase-8 in mammary cancer in MMTV-PyMT transgenic mice. *Breast Cancer Res* 2015; **17**: 38. doi: 10.1186/s13058-015-0545-8.
27. Javadian M, Gharibi T, Shekari N, *et al.* The role of microRNAs regulating the expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in breast cancer development, progression, and metastasis. *J Cell Physiol* 2019; **234**: 5399–412. doi: 10.1002/jcp.27445.
28. Tsareva SA, Moriggi R, Corvinus FM, *et al.* Signal transducer and activator of transcription 3 activation promotes invasive growth of colon carcinomas through matrix metalloproteinase induction. *Neoplasia* 2007; **9**: 279–91. doi: 10.1593/neo.06820.
29. Milde-Langosch K, Roder H, Andritzky B, *et al.* The role of the AP-1 transcription factors c-Fos, FosB, Fra-1 and Fra-2 in the invasion process of mammary carcinomas. *Breast Cancer Res Treat* 2004; **86**: 139–52. doi: 10.1023/B:BREA.0000032982.49024.71.

FEATURES OF COLLAGENASE GENE EXPRESSION IN BREAST CANCER TISSUE: AN OPEN DATABASES ANALYSIS

N. Lukianova, O. Mushii, T. Zadvornyi, T. Borikun, A. Pavlova, L. Kunska, V. Chekhun

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. Breast cancer (BCa) is the most common cancer among women both in Ukraine and in the world. Extracellular matrix remodeling has been shown to play a crucial role in tumor progression. Collagenases are one of the main drivers of this process, providing collagen degradation and directly affecting the invasion and metastasis of neoplastic cells. **Aim:** to study the features of collagenase gene expression and their regulatory factors in BC tissue as possible drivers of tumor growth. **Objects and methods:** a comparison of collagenase gene expression levels in normal and malignant breast tissue was performed using the GEPIA, UALCAN, and TNMplot resources. The methylation levels of collagenase gene promoters were determined using the UALCAN database. The identification of microRNAs and transcription factors involved in the regulation of collagenase expression was performed based on the information provided on the miRNet v2.0 platform using the TarBase v.8.0 and JASPAR databases. The miRNA level study was performed using the miR-TV online resource. **Results:** it was found that BCa tissue is characterized by significantly higher MMP1, MMP8, and MMP13 mRNA expression levels compared to normal breast tissue. It was demonstrated that the

methylation levels of MMP1 and MMP13 promoters in tumor cells were significantly lower compared to non-transformed breast cells. Using the TarBase v.8.0 and JASPAR databases, transcription factors and miRNAs involved in the regulation of MMP1, MMP8, and MMP13 expression were identified. Analysis of the expression levels of miRNAs involved in the regulation of collagenase expression showed that the levels of miR-155-5p, miR-200b-3p, and miR-210-5p in BCa tissue were 2.26 ($p=2.2e^{-16}$), 2.95 ($p=2.2e^{-16}$), and 5.90 ($p=2.2e^{-16}$) times higher, respectively, compared to non-transformed breast tissue. It was shown that BC tissues compared to healthy donor tissues were characterized by significantly lower expression levels of miR-100-5p, miR-127-3p, and miR-539-5p by 4.19 ($p=2.2e^{-16}$), 2.05 ($p=3.9e^{-12}$), and 1.70 ($p=2.5e^{-5}$), respectively. **Conclusions:** the obtained results indicate the involvement of collagenases in the development and progression of malignant tumors and indicate the need for further research on their role in the formation of the aggressive potential of BC.

Keywords: breast cancer, collagenases, MMP1, MMP8, MMP13, miRNAs, transcription factors, gene expression, methylation, tumor progression.

Адреса для листування:

Мушій О.М.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології
ім. Р.Є. Кавецького НАН України
E-mail: sashamushy1@gmail.com

Одержано: 05.04.2024