

Relaksyna – hormon ciążyowy zaangażowany w proces nowotworzenia

Relaxin 2 – a pregnancy hormone involved in the process of carcinogenesis

Domińska Kamila

Zakład Endokrynologii Porównawczej, Katedra Medycyny Molekularnej i Biotechnologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

Streszczenie

Relaksyna 2 jest polipeptydem o budowie podobnej do insuliny i insulino-podobnych czynników wzrostu (IGFs). Hormon ten nie wchodzi jednak w interakcje z receptorami insulinowymi, przez co wykazuje zdecydowanie odmienne właściwości biologiczne.

Relaksyna 2 powoduje aktywację receptorów: LGR7 i LGR8. Receptory te należą do siedmiodomenowych receptorów transbłonowych, sprzężonych z białkiem G, zawierających powtórzenia bogate w leucynę (LRR). Funkcja relaksyny 2 kojarzona jest przede wszystkim z żeńskim układem rozrodczym, zwłaszcza w czasie ciąży. Jednak ostatnie badania wykazały, że ten polipeptyd jest także zaangażowany w proliferację i różnicowanie komórek. Ponadto odnotowano, że peptydy z rodziny czynników relaksynopodobnych, wpływają na inwazyjność oraz angiogenezę nowotworów żeńskiego i męskiego układu rozrodczego.

Niniejszy artykuł poglądowy przedstawia wiele interesujących informacji na temat struktury oraz funkcji relaksyny 2 i jej receptorów. Dostarcza również wielu dowodów na udział tego peptydu w procesie nowotworzenia.

Słowa kluczowe: **relaksyna 2 / nowotworzenie / LGR7 / LGR8 /**

Abstract

Relaxin 2 is a polypeptide hormone structurally related to insulin and insulin-like growth factors (IGFs). However, it does not interact with insulin receptors and has a decidedly different biological properties. Relaxin 2 activates LGR 7 and LGR 8 relaxin receptors, that belong to the leucine-rich repeat-containing (LRR), G protein-coupled receptors. The characteristic functions of relaxin are associated with female reproductive system, especially during pregnancy. However, recent studies have shown that polypeptides with relaxin-like factor family (RLF) are involved in cell proliferation and differentiation, as well as invasion and angiogenesis of female and male reproductive cancers.

This review provides information on the structure and function of relaxin and its receptors. Furthermore, we present evidence of the involvement of these elements in the process of cancerogenesis.

Key words: **relaxin 2 / carcinogenesis / LGR7 / LGR8 /**

Adres do korespondencji:

Domińska Kamila
Zakład Endokrynologii Porównawczej, Katedra Medycyny Molekularnej i Biotechnologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi
ul. Żeligowskiego 7/9, 90-752 Łódź, Polska
tel./fax: +48 (42)6790826
e-mail: kamila.dominska@umed.lodz.pl

Otrzymano: 31.05.2012
Zaakceptowano do druku: 15.01.2013

Domińska K. *Relaksyna – hormon ciążowy zaangażowany w proces nowotworzenia.*

Wprowadzenie

Relaksyna 2 została po raz pierwszy odkryta w 1926 roku, jako czynnik rozluźniający więzadło łonowe i ułatwiający poród [1]. Uznawana jest, obok estrogenu i progesteronu, jako jeden z trzech najważniejszych hormonów ciążowych. Do niedawna ten polipeptydowy hormon kojarzony był wyłącznie z funkcjonowaniem żeńskiego systemu rozrodczego. Tymczasem, od początku lat osiemdziesiątych, zaczęto dostrzegać jego plejotropowy charakter [2, 3]. Oznacza to, że relaksyna 2 posiada wielokierunkowe działanie na tkanki reprodukcyjne jak i inne. Ponadto może oddziaływać zarówno drogą endokrynną, parakrynną jak i autokrynną.

Tkankowa lokalizacja genów dla relaksyn

U ludzi i wyższych naczelnych opisano trzy oddzielne geny dla relaksyn: RNL1, RNL2, RNL3. RNL2 koduje relaksynę 2, czyli główny hormon relaksynowy krążący we krwi. Dotychczas obecność mRNA dla relaksyny 2 stwierdzono w żeńskim (jajniki, macica) i męskim układzie rozrodczym (jądra, gruczoł krokowy), ale także w innych narządach i tkankach np. mózgu, układzie sercowo-naczyniowym, skórze, płucach, wątrobie czy nerkach. RNL1 kodujący relaksynę 1, został dostrzeżony w kilku reprodukcyjnych tkankach np. błonie dziewiczej, łożysku i gruczole krokowym. Natomiast gen RNL3 ulega ekspresji głównie w mózgu (zwłaszcza w regionach odpowiedzialnych za wydzielanie podwzgórzowo-przysadkowe i odpowiedź stresową) a także w leukocytach, śledzionie, węzłach chłonnych, jądrach [2-7].

Relaksyna 2, czyli bliski krewny insuliny

Relaksyna 2 to hormon polipeptydowy należący do niewielkiej rodziny czynników relaksynopodobnych (RLF; ang. *relaxin-like factor family*). Obecnie rodzina ta obejmuje siedmiu przedstawicieli: relaksynę 1 (RLN1), relaksynę 2 (RLN2), relaksynę 3 (RLN3) oraz peptydy insulinopodobne (INSL3, INSL4, INSL5, INSL6). Rodzina ta najprawdopodobniej rozwinęła się z insuliny na wczesnym etapie rozwoju kręgowców. RLF, jako członkowie pokażnej nadrodziny insuliny (ang. *insulin superfamily*) charakteryzują się wysokim strukturalnym, aczkolwiek niskim sekwencyjnym, podobieństwem do insuliny i insulino-podobnego czynnika wzrostu (ang. *insulin-like growth factor – IGF*) [2-10].

Relaksyna 2 syntetyzowana jest w postaci preprohormonu (21 kDa) składającego się z sekwencji sygnałowej oraz trzech domen B-C-A. (Rycina 1A).

Sekwencja liderowa kieruje preprohormon do retikulum endoplazmatycznego, gdzie podlega on obróbce potranslacyjnej. Po odszczepieniu peptydu sygnałowego powstaje prohormon (18,4 kDa). (Rycina 1B).

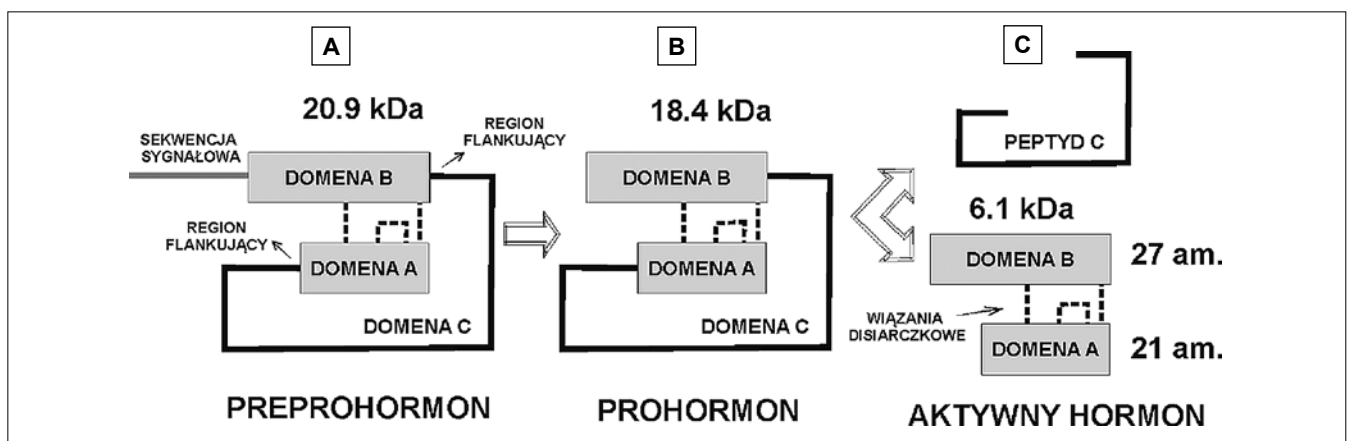
Łańcuch C ułatwia zmiany konformacyjne białka niezbędne do wytworzenia trzech mostków disiarczkowych (jeden wewnątrzłańcuchowy i dwa międzyłańcuchowe). Homologia sekwencyjna relaksyn, wśród blisko spokrewnionych gatunków jest stosunkowo niska (30-60%). Niemniej jednak podobna lokalizacja wiązań disiarczkowych i położenie cystein warunkuje analogiczną strukturę trzeciorzędową różnych form relaksyn. Prohormon relaksynowy B-C-A ulega następnie procesowi rozszczepienia, w wyniku którego powstaje dojrzały, aktywny heterodimer A-B (6kDa). (Rycina 1C).

Obecnie wiadomo, że peptyd C nie zawsze usuwany jest w całości albowiem w cząsteczce mogą pozostać tzw. regiony flankujące. W powstałym heterodimerze, domena A (21 am.) jest odpowiedzialna za utrzymanie prawidłowej, trójwymiarowej struktury domeny B (27 am.). Domena B, posiadająca specyficzny motyw wiążący (Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val), odpowiada za interakcje z receptorami relaksynowymi. Warto podkreślić, że relaksyna 2 w postaci funkcjonalnego białka nie oddziałuje z receptorami insulinowymi i wykazuje odmienne właściwości biologiczne [2-11].

Budowa i funkcje receptorów relaksynowych

Dotychczas poznane receptory dla relaksyn należą do rodziny LGR (ang. *leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor*) i są strukturalnie podobne do receptorów dla gonadotropiny (ang. *follicle-stimulating hormone – FSH* i ang. *lutinizing hormone LH*) oraz TSH (ang. *thyroid stimulating hormone*). Posiadają one dużą domenę zewnątrzkomórkową zawierającą charakterystyczne powtórzenia aminokwasów bogatych w leucynę (ang. *multiple leucine rich repeats – LPR*). Dziesięć LRRs na końcu N uzupełnia LDL-a (ang. *low-density lipoprotein class A*). Domena hydrofobowa składa się z siedmiu pętli transbłonowych (7TMD; ang. *seven transmembrane domain*) charakterystycznych dla receptorów związanych z białkami G (ang. *G protein-coupled receptors – GPCR*) [3-11]. (Rycina 2).

Silne powinowactwo do relaksyny 1 i relaksyny 2 wykazują receptory LGR7 (RXFP1) i LGR8 (RXFP2). Ponadto ligandem dla LGR7 jest również relaksyna 3 a dla LGR8 peptyd INSL-3. (Rycina 3).



Rycina 1. Przemiany relaksyny od form prekursorowych do aktywnego biologicznego wariantu tego polipeptydu.

Obydwa wyżej wymienione receptory relaksynowe, mają zdolność aktywacji cyklazy adenylanowej. Powoduje to wzrostu śródkomórkowego poziomu cAMP i pobudzenie ścieżki sygnałowej dla rodziny kinazy białkowej A (PKA; ang. *protein kinase A*) oraz wpływa na produkcję tlenu azotu [3-11].

Relaksyna 2 w procesie nowotworzenia

Niedawno zaobserwowano, że relaksyna 2 może odgrywać istotną rolę w procesie nowotworzenia. Udowodniono, że hormon ten wpływa na proliferację i różnicowanie komórek jak również, jest zaangażowany w przebudowę i regenerację tkanek oraz proces tworzenia nowych naczyń krwionośnych [5-8, 12, 13]. (Rycina 4).

Wpływ relaksyny 2 na proliferację komórek

Rozwój nowotworu nieodwrotnie związany jest z zaburzeniami w cyklu komórkowym. Brak równowagi między komórkową proliferacją i apoptozą, jak również zmiany w morfologii komórek i ich różnicowaniu, to podstawowe procesy zaangażowane w nowotworzenie.

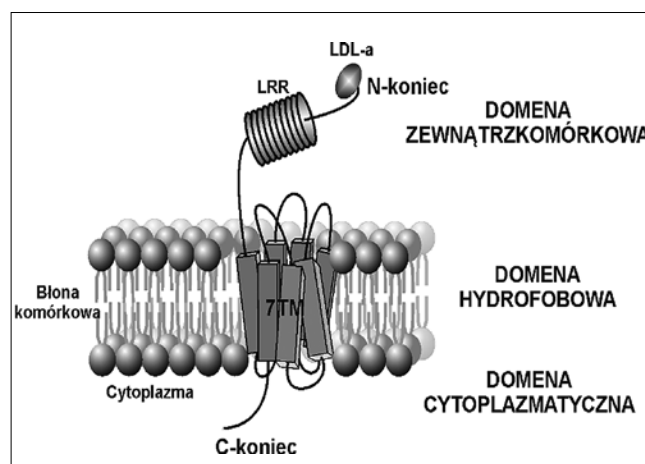
Zhang i wsp. [14] odnotowali, że relaksyna 2 wpływa na proliferację ludzkich komórek endometrium (NHE), ostrej białaczki szpikowej (THP-1), mięśni aorty płucnej poprzez aktywację kinaz MAP (ang. *mitogen-activated protein kinase*) w tym kinaz MEK (ang. *mitogen extracellular kinase*) należących do kluczowych mediatorów kancerogenezy. Ponadto stwierdzono aktywację czynnika transkrypcyjnego CREB (ang. *cyclic-AMP response element*), którego fosforylacja odpowiada za późne efekty działania receptorów związanych z cyklazą adenylanową. W tym przypadku, w przeciwieństwie do insuliny i IGF-1, nie odnotowano aktywacji szlaku sygnalizacyjnego PI3/Akt czy kinazy JNK (ang. *Jun N-terminal kinase*) w komórkach endometrium [14].

Potwierdzono, że relaksyna 2 powoduje wzrost wewnątrzkomórkowego poziomu tlenu azotu (NO) poprzez wpływ na ekspresję i/lub aktywność NOS (ang. *nitrous oxide systems*) [15].

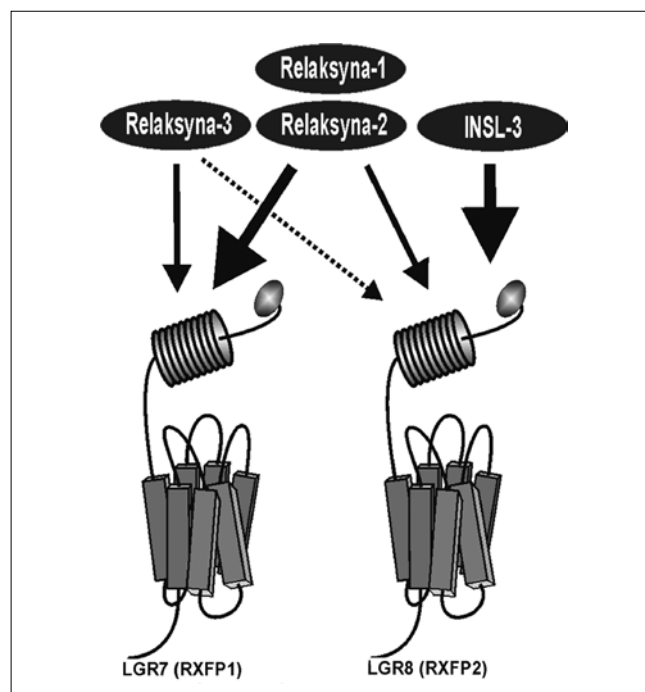
Działanie tlenu azotu jest zależne od typu komórek i narządów. Z jednej strony relaksyna może wykazywać działanie prokancerogenne albowiem tlenek azotu posiada zdolności indukowania mutacji (np. pojedynczych pęknięć nici), prowadzi do zaburzenia czynności enzymów odpowiedzialnych za naprawę DNA (np. glikozydaz, ligaz) oraz hamuje proces apoptozy (np. przez szlaki zależne od cGMP, cAMP czy kaspazy).

Z drugiej strony udowodniono, antyproliferacyjne działanie NO wynikające m.in. z hamowania aktywności kinaz MAPK, reduktazy rybonukleotydowej, kinazy zależnej od cyklin Cdk2 i transkrypcji genu cykliny A a także aktywacji białka p21CIP1/WAF1. Relaksyna 2 może także pośredniczyć w hamowaniu wzrostu guza poprzez aktywację ścieżek NO związanych z hamowaniem syntezy DNA, komórkowego oddychania i aktywności cytochromu P-450 [2, 5-7, 15].

Bani i wsp. [16, 17] postulują, że cytostaticzne działanie relaksyny na komórki raka sutka (MCF-7) najprawdopodobniej wynika z pobudzenia wewnątrzkomórkowej produkcji NO. Zaobserwowano, że relaksyna 2 działa na rzecz różnicowania komórek guza piersi w kierunku komórek: przypodstawnych i nabłonkowych. Różnicowanie komórek MCF-7 było powiązane z podwyższoną ekspresją cząsteczek adhezyjnych np. kadheryn [16, 17].



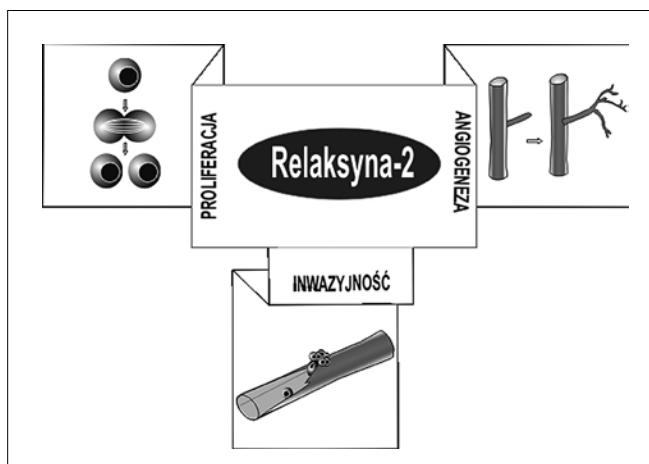
Rycina 2. Schematyczna budowa receptora relaksynowego (LGR7 i/lub LGR8).



Rycina 3. Powinowactwo wybranych czynników relaksynopodobnych (RLN1, RLN2, RLN3 i INSL3) do receptora LGR7 i LGR8.

Tymczasem Suzuki i wsp. [18] odnotowali, że relaksyna 2 hamuje apoptozę komórek mięśniaków poprzez obniżenie poziomu ekspresji kaspazy 3. Kaspaza 3 uważana jest za najważniejszą kaspazę wykonawczą, egzekutorową apoptozy. Posiada bowiem zdolność hydrolizowania proteolitycznego innych kaspaz w tym kaspazy 6 i 7. Odpowiada więc za kondensację chromatyny, degradację DNA oraz rozkład wielu substratów polipeptydowych w komórce [19]. Zespół badawczy z Japonii stwierdził ponadto, że relaksyna 2 pobudza proliferację komórek mięśniaków przy jednoczesnym braku wpływu na prawidłowe komórki mięśniówki macicy [18].

Wpływ peptydów relaksynowych i ich receptorów na proliferację i apoptozę został odnotowany w wielu różnych tkankach, np. nabłonku szyjki macicy i pochwy [20, 21], komórkach prawidłowych i nowotworowych gruczołu sutkowego [21-24] oraz

Domińska K. *Relaksyna – hormon ciążyowy zaangażowany w proces nowotworzenia.*

Rycina 4. Drogi zaangażowania relaksyny 2 w proces nowotworzenia.

krokowego [25-27] czy komórkach endometrium [28].

Z powyższych badań wynika, że wpływ relaksyny 2 na przeżywalność i podziały komórkowe jest zarówno dawkowo- jak i tkankowo-zależny.

Wpływ relaksyny 2 na inwazyjność komórek

Rozprzestrzenianie się komórek nowotworowych w organizmie obejmuje zdolność ich migracji (ang. *migration*) w obrębie otaczających komórek a także penetracji ścian naczyń krwionośnych i limfatycznych (ang. *intravasation*) oraz przemieszczania się i przenikania do odległych tkanek czy narządów (ang. *extravasation*) gdzie tworzą ogniska wtórne. Potencjał przerzutowy komórek jest ściśle związany ze zdolnością degradowania błony podstawnej naczyń i składników macierzy pozakomórkowej (ECM; ang. *extracellular matrix*). Złożona m.in. z kolagenu, lamininy czy fibronektyny macierz, jest mechaniczną barierą między nabłonkiem oraz śródbłonkiem naczyń a otaczającymi tkankami [29, 30].

Fizjologiczna i patologiczna migracja komórek nieodzwonnie łączy się ze ścieżką sygnalizacyjną związaną z metaloproteinazami (MMP) i ich inhibitorami (TIMP). Relaksyna 2 odgrywa ważną rolę w *remodelingu* macierzy zewnątrzkomórkowej wielu tkanek reprodukcyjnych. Stymuluje przebudowę tkanki łącznej poprzez hamowanie syntezy kolagenu i wzrost ekspresji i aktywacji MMPs [31-34]. Metaloproteinazy, główne enzymy zdolne do degradacji błony podstawnej i składników macierzy pozakomórkowej, uwalniane są w postaci nieaktywnego proenzymu. Aktywacja MMPs obejmuje: odszczepienie cysteiny z fragmentu enzymu, zmiany konformacji, odcięcie N-końcowego odcinka tak, aby odsłonić miejsce aktywne z atomem cynku [29]. Wpływ relaksyny 2 na MMP/TIMP system jest tkankowo-komórkowo zależny [31-35].

Powszechnie wiadomo, że metaloproteinazy wykazują cechy markerów przerzutowania, ich profil ekspresji zmienia się w zależności od poziomu agresywności nowotworu. Tymczasem odnotowano, że także ekspresja relaksyny 2 oraz/lub LGR7 zdaje się korelować z progresją np. raka endometrium [28, 36] czy gruczołu krokowego [25, 27, 37].

Wyniki badań pokazują, że stężenie relaksyny 2 w surowicy jest istotnie wyższe u pacjentów z zaawansowaną postacią raka

piersi niż w przypadkach z wcześniej wykrytą postacią choroby [38]. Podobnie wyższy poziom tego polipeptydu stwierdzono u pacjentów z przerzutującym rakiem prostaty, w porównaniu z nowotworem nieinwazyjnym tego gruczołu [37].

W zaawansowanych nowotworach piersi i stercza a także nerek czy płuc najczęściej obserwowanymi przerzutami są przerzuty do kości. Podstawowe znaczenie dla inwazji i wzrostu przerzutu w kości ma równowaga pomiędzy działaniem osteoklastów i osteoblastów. Bezpośrednia degradacja tkanki kostnej przez naciekające komórki nowotworowe ma tutaj raczej znaczenie marginalne [39]. Ferlin i wsp. przedstawili wyniki potwierdzające stymulujący wpływ relaksyny 2 na różnicowanie, przeżywalność i aktywację osteoklastów [40]. Najprawdopodobniej dochodzi do dodatniego sprzężenia zwrotnego między komórkami nowotworowymi a osteoklastami, komórki nowotworowe poprzez np. relaksynę 2 stymulują działanie komórek kościogubnych, które z kolei wytwarzają czynniki wzrostu stymulujące rozrost guza [39-41].

Wpływ relaksyny 2 na powstawanie nowych naczyń krwionośnych

Wzrost guza, w większości przypadków, związany jest z rozwojem nowych naczyń krwionośnych, umożliwiających dostarczenie niezbędnych składników odżywczych, czynników wzrostu i tlenu. W chorobach nowotworowych nowe naczynia włosowate mogą powstawać na drodze angiogenezy, ale także waskulogenezy. Waskulogeneza to powstawanie naczyń *de novo* z komórek macierzystych pochodzących głównie ze szpiku kostnego (ang. *endothelial progenitor cells*), podczas gdy angiogeneza to powstawanie nowych naczyń na bazie już istniejących kapilar [29, 42].

Niewątpliwie najlepiej udokumentowany jest wpływ relaksyny 2 na układ krwionośny u kobiet ciężarnych. Hormon ten powoduje rozluźnienie ścian naczyń przez pobudzenie produkcji tlenu azotu w komórkach śródbłonka. W wyniku tego procesu dochodzi do zwiększenia średnicy naczyń i spadku ciśnienia tętniczego krwi. Ostatnie badania donoszą, że relaksyna ma zdolność indukowania także waskulo- i angiogenezy w procesie nowotworzenia [5, 12, 43].

Segal i wsp. [44] odnotowali wpływ relaksyny 2 na biologię komórek progenitorowych śródbłonka pochodzących ze szpiku kostnego. Peptyd ten mobilizuje BMDEC (ang. *bone-marrow derived endothelial cells*) ze szpiku kostnego do krwi obwodowej, stymuluje migrację komórek oraz ich dojrzewanie. Relaksyna 2 działa więc jak chemoatraktant i modulator dla śródbłonkowych komórek macierzystych, w efekcie zwiększając ich efektywność w budowywania do nowo powstających struktur naczyniowych. Naukowcy przy zastosowaniu L-NAME, silnego inhibitora NOS stwierdzili, że działanie to jest zależne od aktywności syntetazy tlenu azotu. Korzystając w badaniach z B-R13/17K H2 (antagonisty LGR7) stwierdzili ponadto, że w procesie tym pośredniczy receptor LGR7 bez udziału LGR8 [44].

Angiogeneza zależy od równowagi między cząsteczkami nasilającymi tworzenie nowych naczyń (proangiogenne) a tymi, które hamują ten proces (antyangiogenne). Spośród czynników, którym przypisuje się istotną rolę w indukowaniu tego procesu można wymienić: naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (ang. *vascular endothelial growth factor* – VEGF), czynnik wzrostu fibroblastów (ang. *fibroblast growth factor* – FGF), czynnik

martwicy nowotworu alfa (ang. *tumor necrosis factor- α* – TNF- α) transformujący czynnik wzrostu beta (ang. *transforming growth factor- β* – TGF- β) czy czynnik wzrostu pochodzenia płytkowego (ang. *platelet-derived growth factor* – PDGF). Ponadto istotne znaczenie w procesie indukcji angiogenezy ma zjawisko hipoksji. Jednym z najważniejszych białek odpowiedzialnych za odpowiedź komórki na brak tlenu jest tzw. czynnik indukowany przez hipoksję (ang. *hypoxia inducible factor-1* – HIF1) [29, 43, 44].

Obecnie wiadomo, że relaksyna 2 wzmacnia ekspresję VEGF w komórkach nabłonkowych endometrium oraz VEGF i bFGF w komórkach THP-1 (ludzka linia komórek białaczki) [36]. Goldsmith i wsp. odnotowali, że relaksyna 2 przyczynia się do wzrostu liczby tętniczek w endometrium i odpowiada za utrzymanie integralności tkanki oraz utrzymanie ciąży we wczesnym etapie [45].

Najprawdopodobniej ogólnoustrojowy jak i tkankowy poziom relaksyny 2 wpływa na formowanie się naczyń krwionośnych poprzez VEGF i NO [5, 12]. Obecnie brak jest jednak badań bezpośrednio potwierdzających wpływ tego polipeptydu na ekspresję HIF-1, niemniej jednak przesłanki takie wysunął zespół badaczy z Baltimore [36] w pracy analizującej regulację transkrypcji VEGF w endometrium przez estrogeny i właśnie relaksynę.

Podsumowanie

Zgodnie z obecnym stanem wiedzy wydaje się, że manipulowanie układem czynników relaksynopodobnych może być rozpatrywane, jako ewentualna terapia antynowotworowa.

Istnieją także przesłanki o możliwości wykorzystania relaksyny 2 czy receptora LGR7, jako markerów przerzutowania. Intensywne badania w tym zakresie nadal trwają. Miejmy nadzieję, że w niedługim czasie pojawią się także prace, potwierdzające powyższe hipotezy na podstawie badań *in vivo* oraz klinicznych.

Praca została sfinansowana z grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego nr NN403 2081 39 oraz grantu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr 503/0-078-04/503-01

This work was supported by Ministry of Science and Higher Education Grant: NN403 2081 39 and grant from the Medical University of Lodz Contract Grant: 503/0-078-04/503-01

Piśmiennictwo

- Frederick L. Hisaw. Experimental relaxation of the pubic ligament of the guinea pig. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1926, 23, 661-663.
- Bani D. Relaxin: a pleiotropic hormone. *Gen Pharmacol*. 1997, 28, 13-22.
- Dschietzig T, Bartsch C, Baumann G, Stangl K. Relaxin-a pleiotropic hormone and its emerging role for experimental and clinical therapeutics. *Pharmacol Ther*. 2006, 112, 38-56.
- Chan L, Hossain M, Samuel C, [et al.]. The relaxin peptide family--structure, function and clinical applications. *Protein Pept Lett*. 2011, 18, 220-229.
- Willcox J, Summerlee A. RLN2 and its role in cancer. RLN2 and its role in cancer. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*. July 2009 (<http://AtlasGeneticsOncology.org/Deep/RLN2inCancerID20079.html>)
- Ivell R, Einspanier A. Relaxin peptides are new global players. *Trends Endocrinol Metab*. 2002, 13, 343-348.
- Van Der Westhuizen E, Summers R, Halls M, [et al.]. Relaxin receptors – new drug targets for multiple disease states. *Curr Drug Targets*. 2007, 8, 91-104.
- van der Westhuizen E, Halls M, Samuel C, [et al.]. Relaxin family peptide receptors—from orphans to therapeutic targets. *Drug Discov Today*. 2008, 13, 640-651.
- Schwabe C, Büllsbach E. Relaxin, the relaxin-like factor and their receptors. *Adv Exp Med Biol*. 2007, 612, 14-25.
- Kong R, Shilling P, Lobb D, [et al.]. Membrane receptors: structure and function of the relaxin family peptide receptors. *Mol Cell Endocrinol*. 2010, 320, 1-15.
- Ivell R, Kotula-Balak M, Glynn D, [et al.]. Relaxin family peptides in the male reproductive system—a critical appraisal. *Mol Hum Reprod*. 2011, 17, 71-84.
- Silvertown J, Summerlee A, Klonisch T. Relaxin-like peptides in cancer. *Int J Cancer*. 2003, 107, 513-519.
- Klonisch T, Bialek J, Radestock Y, [et al.]. Relaxin-like ligand-receptor systems are autocrine/paracrine effectors in tumor cells and modulate cancer progression and tissue invasiveness. *Adv Exp Med Biol*. 2007, 612, 104-118.
- Zhang Q, Liu S, Erikson M, [et al.]. Relaxin activates the MAP kinase pathway in human endometrial stromal cells. *J Cell Biochem*. 2002, 85, 536-544.
- Baccari M, Bani D. Relaxin and nitric oxide signalling. *Curr Protein Pept Sci*. 2008, 9, 638-645.
- Bani D, Masini E, Bello M, [et al.]. Relaxin activates the L-arginine-nitric oxide pathway in human breast cancer cells. *Cancer Res*. 1995, 55, 5272-5275.
- Bani D, Flagiello D, Poupon M, [et al.]. Relaxin promotes differentiation of human breast cancer cells MCF-7 transplanted into nude mice. *Virchows Arch*. 1999, 435, 509-519.
- Suzuki K, Nakabayashi K, Yamada A, [et al.]. Recombinant H2 relaxin inhibits apoptosis and induces cell proliferation in cultured leiomyoma cells without affecting those in cultured normal myometrial cells. *Fertil Steril*. 2012, 97, 734-741.
- Korzeniwska-Dyl I. Kaspazy—struktura i funkcja. *Pol Merk Lek*. 2007, 138, 403-407.
- Yao L, Agoulnik A, Cooke P, [et al.]. Relaxin acts on stromal cells to promote epithelial and stromal proliferation and inhibit apoptosis in the mouse cervix and vagina. *Endocrinology*. 2008, 149, 2072-2079.
- Yao L, Cooke P, Meling D, [et al.]. The effect of relaxin on cell proliferation in mouse cervix requires estrogen receptor α binding to estrogen response elements in stromal cells. *Endocrinology*. 2010, 151, 2811-2818.
- Bigazzi M, Brandi M, Bani G, Sacchi T. Relaxin influences the growth of MCF-7 breast cancer cells. Mitogenic and antimitogenic action depends on peptide concentration. *Cancer*. 1992, 70, 639-643.
- Hombach-Klonisch S, Buchmann J, Sarun S, [et al.]. Relaxin-like factor (RLF) is differentially expressed in the normal and neoplastic human mammary gland. *Cancer*. 2000, 89, 2161-2168.
- Radestock Y, Hoang-Vu C, Hombach-Klonisch S. Relaxin reduces xenograft tumour growth of human MDA-MB-231 breast cancer cells. *Breast Cancer Res*. 2008, 10, R71.
- Feng S, Agoulnik I, Bogatcheva N, [et al.]. Relaxin promotes prostate cancer progression. *Clin Cancer Res*. 2007, 13, 1695-1702.
- Vinall R, Mahaffey C, Davis R, [et al.]. Dual blockade of PKA and NF- κ B inhibits H2 relaxin-mediated castrate-resistant growth of prostate cancer sublines and induces apoptosis. *Horm Cancer*. 2011, 2, 224-238.
- Feng S, Agoulnik I, Li Z, [et al.]. Relaxin/RXFP1 signaling in prostate cancer progression. *Ann NY Acad Sci*. 2009, 1160, 379-380.
- Kamat A, Feng S, Agoulnik I, [et al.]. The role of relaxin in endometrial cancer. *Cancer Biol Ther*. 2006, 5, 71-77.
- Sacewicz I, Wiktorska M, Wysocki T, Niewiarowska J. Mechanisms of cancer angiogenesis. *Postepy Hig Med Dosw*. 2009, 63, 159-168.
- Spano D, Heck C, De Antonellis P, [et al.]. Molecular networks that regulate cancer metastasis. *Semin Cancer Biol*. 2012, 33, 234-249.
- Bialek J, Kunanuvat U, Hombach-Klonisch S, [et al.]. Relaxin enhances the collagenolytic activity and in vitro invasiveness by upregulating matrix metalloproteinases in human thyroid carcinoma cells. *Mol Cancer Res*. 2011, 9, 673-687.
- Klonisch T, Bialek J, Radestock Y, [et al.]. Relaxin-like ligand-receptor systems are autocrine/paracrine effectors in tumor cells and modulate cancer progression and tissue invasiveness. *Adv Exp Med Biol*. 2007, 612, 104-118.
- Ho TY, Yan W, Bagnell CA. Relaxin-induced matrix metalloproteinase-9 expression is associated with activation of the NF- κ B pathway in human THP-1 cells. *J Leukoc Biol*. 2007;81:1303-310.
- Binder C, Hagemann T, Husen B, [et al.]. Relaxin enhances in-vitro invasiveness of breast cancer cell lines by up-regulation of matrix metalloproteinases. *Mol Hum Reprod*. 2002, 8, 789-796.
- Lenhart J, Ryan P, Ohleth K, [et al.]. Relaxin increases secretion of tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 and -2 during uterine and cervical growth and remodeling in the pig. *Endocrinology*. 2002, 143, 91-98.
- Koos R, Kazi A, Roberson M, Jones J. New insight into the transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor expression in the endometrium by estrogen and relaxin. *Ann N Y Acad Sci*. 2005, 1041, 233-247.
- Silvertown J, Ng J, Sato T, [et al.]. H2 relaxin overexpression increases in vivo prostate xenograft tumor growth and angiogenesis. *Int J Cancer*. 2006, 118, 62-73.
- Binder C, Simon A, Binder L, [et al.]. Elevated concentrations of serum relaxin are associated with metastatic disease in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2004, 87, 157-166.
- Szczylik C, Pawlak W. Mechanizmy rozwoju przerzutów nowotworowych do kości - cel dla nowoczesnego leczenia. *Współcz Onkol*. 2002, 10, 644-652.
- Ferlin A, Pepe A, Faccioli A, [et al.]. Relaxin stimulates osteoclast differentiation and activation. *Bone*. 2010, 46, 504-513.
- Wang A, Karumanchi S. Relaxin' with endothelial progenitor cells. *Blood*. 2012, 119, 326-327.
- Swidzińska E, Naumnik W, Chyczewska E. Angiogenesis in neoangiogenesis – the role in lung cancer and Rother tumors. *Pneumonol Alergol Pol*. 2006, 74, 414-420.
- Nistri S, Bigazzi M, Bani D. Relaxin as a cardiovascular hormone: physiology, pathophysiology and therapeutic promises. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2007, 5, 101-108.
- Segal M, Sautina L, Li S, [et al.]. Relaxin increases human endothelial progenitor cell NO and migration and vasculogenesis in mice. *Blood*. 2012, 119, 629-636.
- Goldsmith L, Weiss G. Relaxin in human pregnancy. *Ann N Y Acad Sci*. 2009, 1160, 130-135.