DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.22.039
第26卷第22期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 22
2004年11月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Nov. 2004 

文章编号:1000-5404(2004)22-2077-02

综述

# PARs受体家族与血管内皮屏障功能调节

# PARs receptor family and vascular permeability modulation

王 震 综述,陶国才 审校 (第三军医大学西南医院麻醉科,重庆 400038)

凝血酶是由肝脏合成,主要以酶原形式存在于血液中的一类丝氨酸蛋白酶,能够激活血小板、促进凝血,早期的研究主要侧重于凝血酶和血栓性疾病关系。随着凝血酶受体(PAR1)及PARs受体家族的发现和克隆,研究重点也转为凝血酶及PARs受体家族的功能研究,这已大大超出了凝血/纤溶的范畴。凝血酶的诸多作用不仅包含凝块的形成,还包含了对多种已知细胞在血管损伤导致的系统性反应中所起的多种效应。凝血酶的靶细胞不仅包含血小板、内皮细胞和平滑肌细胞,还包括了多形核白细胞、粒细胞、神经元和神经胶质细胞等。对多种细胞的激活促进了对血管损伤的协同反应,这包含血小板聚集、白细胞游出、血管再生,甚至还包含某种有限的免疫反应[1]。现就PARs受体家族在血管通透性调节方面的研究作一综述。

## 1 PARs受体家族简介

PARs属于G蛋白耦联受体超家族,有7个疏水的螺旋状跨膜区域,形成3个胞外环状结构和3个胞内环状结构,还有1个胞内C-端和胞外N-端。目前发现的PARs成员共有4个,分别为PAR1、PAR2、PAR3和PAR4,其中PAR1,PAR3和PAR4都是凝血酶受体,而PAR2为胰酶受体,因此原来仅仅把PAR1称为凝血酶受体的说法已不准确。以PAR1为例,N-端在第1个穿膜区之前大约有100个氨基酸,其中紧靠41位精氨酸的N-端序列,与凝血酶识别切割位点有关;其与水蛭素的氨基端具有同源性的第53~64位氨基酸序列,能与凝血酶的纤维蛋白原结合位点结合。凝血酶与PAR1的上述2个序列相互作用(先识别后结合),在第41位精氨酸与42位丝氨酸之间通过蛋白水解作用使PAR1裂解,暴露出一个以SFLLR为起始序列(第42~55氨基酸序列)的新的氨基端肽链,该肽链作为栓系配体与自身胞外第2个环状结构上的结合位点结合,从而激活PAR1受体产生跨膜信号传递。所有亚型的PARs皆需要经过蛋白酶的水解切割激活后才能产生细胞内的信号传导。在目前已知的4种PARs中,PAR1、PAR3和PAR4主要由凝血酶水解激活,PAR2则由胰蛋白酶、纤溶酶、凝血因子Ⅶa和Ⅹa等激活[2],其中又以PAR1受体的作用最为主要。

## 2 PARs家族成员对血管通透性的影响

在研究血栓性疾病的同时,人们就逐渐发现凝血酶有着广泛的生理作用。国内学者研究报道[3],体外培养的单层人脐静脉内皮细胞经凝血酶处理后会出现细胞收缩,细胞层通透性增高,而这种影响总是与凝血酶受体-PAR1相联系。而PAR2受体的广泛作用,也随着近年来对其在炎症形成中的作用的关注而获得了许多新的认识[4]。

### 2.1 PAR1对血管通透性的影响

PAR1受体是最早被发现和克隆的,体内主要由凝血酶裂解激活。多位学者的研究结果显示,用凝血酶刺激内皮细胞,无论是在体内还是体外培养的细胞模型,都可以观察到内皮屏障通透性增高。这种作用一般维持较短时间,可以自行恢复。如果内皮细胞经水蛭素或者水蛭素衍生物预处理后,凝血酶不能引起内皮屏障的通透性发生改变。水蛭素及其衍生物也可以逆转受凝血酶刺激后的内皮屏障通透性增高[3]。

而PAR1受体除了介导凝血酶直接作用于内皮细胞,使内皮屏障发生改变之外,还能激活一系列炎症细胞,共同促进对内皮屏障的损害。这种促进作用,一方面表现为促进内皮细胞、白细胞的粘附分子ICAM-1、VCAM-1、P-选择素、E-选择素[5]表达,使激活的炎症细胞更容易在内皮表面翻滚,损伤内皮屏障并移行;另一方面,也能促进TF、IL-1、TNF-α等炎性介质释放[6]。

### 2.2 PAR2对血管通透性的影响

到目前为止,尚少见报道说明PAR2对内皮细胞有直接作用。但是,由于PAR2同样分布广泛,尤其是炎症细胞如肥大细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞上面,能起着与PAR1受体协同的作用,促进炎症细胞脱颗粒,释放各种细胞因子及炎症介质,促进对内皮细胞的损伤。反肉桂酰-亮-异亮-甘-精-亮-鸟酰胺(tc-LIGRLO),一种PAR2激动剂,刺激肥大细胞后,可以引起纤溶酶(Tryptase)的高效释放。在人类,组胺、纤溶酶、类糜蛋白酶、肝素等是肥大细胞产生的主要分泌性介质,其中以纤溶酶的含量为最大,约占肥大细胞分泌颗粒中蛋白质总量的一半。组胺是一种可引起血管通透性改变的炎性介质。近年来,已有研究证实纤溶酶具有增加血管通透性、诱导炎性细胞浸润、刺激上皮细胞增生并释放Ⅱ-8等功能。这提示PAR2受体可能是以促进炎症细胞(肥大细胞、中性粒细胞等)激活、脱颗粒、释放炎性介质等方式来促进血管通透性增高的。

有学者在对人HUVEC的研究中发现,尽管其也有PAR3受体的表达,但现在还缺乏研究证明PAR3在凝血酶引起的内皮屏障损伤作用中有何意义。而PAR4则未见于人HUVEC表达[7]。目前,PAR4的作用尚不清楚。

### 2.3 PARs受体家族的相互作用

大部分细胞表面受体,其失活和再致敏的过程都是基本一

作者简介:王 震(1976-),男,重庆市綦江县人,硕士研究生,医师,主要从事全麻机制方面的研究。电话:(023)68754197
通信作者:陶国才,电话:(023)68754179
收稿日期:2004-06-20;修回日期:2004-10-05

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

致的。当被配体激活之后，受体会引发相应的细胞内信号传导过程，该过程迅速被受体磷酸化终止，然后受体被内吞入胞，去磷酸化，与配体解离，再重新循环至细胞表面等待下一次激活。当PARs激活后，与其它受体相似，也会被迅速磷酸化并内吞入胞，绝大部分激活后的PARs将被溶酶体消化降解，而不是再循环利用[8]，并非所有的PARs在激活后都进入溶酶体，仍有部分PARs在激活后被循环至细胞表面，这些残缺的受体只能被相应的激动肽激活，而近年来认识到，PAR1受体暴露出的栓系配体可以激活PAR2受体，引起相应的细胞效应[9]，PARs受体间还存在着复杂的生理作用。

## 3 PARs家族成员的信号传导

就目前研究结果而言，无论是对内皮细胞的直接影响还是间接影响，PARs的信号主要都是影响了细胞骨架的运动，进而产生细胞间连接的破坏，细胞脱颗粒等作用的。据文献[11]报道PARs受体家族调节内皮细胞屏障通透性改变的信号传导可能有如下方式：①$Ca^{2+}$流动。在凝血酶的作用下，可引起内皮细胞胞内钙的释放及胞外钙流动，使胞内[$Ca^{2+}$]i浓度增高，进一步使$Ca^{2+}$依赖的MLCK活化致MLC磷酸化，使肌动蛋白收缩并作用于紧密连接，最后导致旁细胞通透性升高[11]。关景霞等[12]在研究凝血酶及PAR1激动肽对体外培养的人脑微血管内皮细胞的作用时就观察到细胞内的$Ca^{2+}$可呈剂量依赖性的升高。②Rho/Rha小GTPase家族介导。以PAR1和PAR2的激动肽分别刺激离体培养的单层人脐静脉内皮细胞都可以观察到胞吐作用增加，但只有PAR1的激动肽可以引起单层细胞的通透性增加，而且这些作用都能被Rho抑制剂TcdB、Y-27632所抑制[10]。该过程涉及的有RhoA、Rac1、cdc42分子，并最终导致actin细胞骨架重排，细胞变圆，细胞连接破坏。但也存在矛盾的报道，有人认为cdc42分子没有参与PAR受体的信号传递[13]。而RhoA、Rac1、cdc42分子是目前为止研究最多的RhoGTP酶家族成员。RhoGTP酶可对actin细胞骨架发挥重要的调节作用。此三者诱导的细胞骨架改变均与以整合素为基础的黏附复合体有关。③酪氨酸激酶通路。经酪氨酸激酶抑制物预处理的人脐静脉内皮细胞不会因凝血酶刺激而引起通透性增高。④PKC是参与细胞信号传导的一组重要蛋白质。目前在哺乳动物中至少发现10种亚型，均具有不同的底物特异性。研究表明，α-凝血酶诱导内皮通透性增高时，[$Ca^{2+}$]i升高，PKC激活，阻断$Ca^{2+}$内流，则PKC激活和内皮通透性增高受到抑制[14]。参与内皮屏障功能调节的PKC亚型尚不完全清楚，但已知由$Ca^{2+}$激活的PKC主要是PKC-α和PKC-β。凝血酶和过氧化氢诱导的内皮通透性增高由$Ca^{2+}$激活的PKC介导；缓激肽诱导的内皮通透性增高由DAG激活的PKC介导。表明内皮通透性调节的信号传导随激动剂不同而有差异。EC中PKC激活分为两个时相，第1时相快速、短暂，主要由DAG和$Ca^{2+}$快速增加引起；第2时相出现较晚，持续约1 h，可能仅由DAG引起。介导第2时相的DAG来源于PLC和磷脂酶D(PLD)水解磷脂酰胆碱。这些结果也说明，PARs受体的信号传递牵涉了复杂的胞内网络。

总之，内皮屏障功能的调节机制是非常复杂的，由PARs受体家族介导的影响只是其中一部分而已。随着对PARs家族研究逐渐深入，人们对凝血酶、胰蛋白酶、纤溶酶等丝氨酸水解酶在内皮屏障损伤中的作用机制获得了更清楚的认识，对其在组织器官水肿、炎症、脑损伤、急性肺损伤[15]中的影响也日益重视。为临床防治的研究，提供了一个有价值的探索方向。

关键词：蛋白酶激活受体；血管内皮屏障；凝血酶
中图法分类号：R392.11 文献标识码：A

## 参考文献：

[1] Gingrich M B, Traynelis S F. Serine proteases and brain damage-is there a link[J]? Trends Neurosci, 2000, 23(9): 399-407.
[2] Bono F, Schaeffer P, Herault J P, *et al*. Factor Xa activates endothelial cells by a receptor cascade between EPR-1 and PAR2[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20(11): E107-112.
[3] 吴大正，樊 懿，韩志芬，等. 水蛭素对凝血酶造成的血管内皮细胞单层通透性增高的抑制作用[J]. 上海中医药杂志，2002，(8)：43-45.
[4] Miike S, McWilliam A S, Kita H. Trypsin induces activation and inflammatory mediator release from human eosinophils through protease-activated receptor-2[J]. J Immunol, 2001, 167(11): 6615-6622.
[5] Kubes P, Payne D, Woodman R C. Molecular mechanisms of leukocyte recruitment in postischemic liver microcirculation[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2002, 283(1): G139-147.
[6] Naldini A, Carney D H, Pucci A, *et al*. Thrombin regulates the expression of proangiogenic cytokines *via* proteolytic activation of protease-activated receptor-1[J]. Gen Pharmacol, 2000, 35(5): 255-259.
[7] O'Brien P J, Prevost N, Molino M, *et al*. Thrombin responses in human endothelial cells. Contributions from receptors other than PAR1 include the transactivation of PAR2 by thrombin-cleaved PAR1[J]. J Biol Chem, 2000, 275(18): 13502-13509.
[8] Trejo J, Hammes S R, Coughlin S R. Termination of signaling by protease activated receptor-1 is linked to lysosomal sorting[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(23): 13698-13702.
[9] Kawabata A, Saifeddine M, Al Ani B, *et al*. Evaluation of proteinase-activated receptor-1 (PAR1) agonists and antagonists using a cultured cell receptor desensitization assay: activation of PAR2 by PAR1-targeted ligands[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1999, 288(1): 358-370.
[10] Klarenbach S W, Chipiuk A, Nelson R C, *et al*. Differential actions of PAR2 and PAR1 in stimulating human endothelial cell exocytosis and permeability: the role of Rho-GTPases[J]. Circ Res, 2003, 92(3): 272-278.
[11] Dye J F, Leach L, Clark P, *et al*. Cyclic AMP and acidic fibroblast growth factor have opposing effects on tight and adherens junctions in microvascular endothelial cells *in vitro*[J]. Microvasc Res, 2001, 62(2): 94-113.
[12] 关景霞，孙圣刚，曹学兵，等. 凝血酶对体外培养脑微血管内皮细胞的影响[J]. 中国神经科学杂志，2003，19(4)：260-263.
[13] Wojciak Stothard B, Potempa S, Eichholtz T, *et al*. Rho and Rac but not Cdc42 regulate endothelial cell permeability[J]. J Cell Sci, 2001, 114(Pt 7): 1343-1355.
[14] Siflinger Birnboim A, Johnson A. Protein kinase C modulates pulmonary endothelial permeability: a paradigm for acute lung injury[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2003, 284(3): L435-L451.
[15] Howell D C, Laurent G J, Chambers R C. Role of thrombin and its major cellular receptor, protease-activated receptor-1, in pulmonary fibrosis[J]. Biochem Soc Trans, 2001, 30(2): 211-216.

（编辑 栾 嘉）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net