

- ma-A review[J]. Middle East J Dig Dis, 2012, 4: 111-124.
- [2] Chang TC, Wentzel EA, Kent OA, et al. Transactivation of mir-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis[J]. Mol Cell, 2007, 26(5): 745-752.
- [3] Chunni ZH. Expression profile of microRNAs in serum; a fingerprint for esophageal squamous cell carcinoma[J]. Clin Chem, 2010, 56(12): 1871-1879.
- [4] Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6(4): 259-269.
- [5] Jackson RJ, Standart N. How do microRNAs regulate gene expression[J]. Sci Stke, 2007, 367: re1.
- [6] HOW. OncomiRs; the discovery and progress of microRNAs in cancers[J]. Mol Cancer, 2007, 6: 60.
- [7] Manikandan J, Aarthi JJ, Kumar SD, et al. Oncomirs; The potential role of noncoding microRNAs in understanding cancer[J]. Bioinformation, 2008, 2(8): 330-334.
- [8] Feber A, Xi L, Luketich JD, et al. MicroRNA expression profiles of esophageal cancer[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2008, 135: 255-260.
- [9] Kan T, Sato F, Ito T, et al. The mir-106b-25 polycistron, activated by genomic amplification, functions as an oncogene by suppressing p21 and Bim[J]. Gastroenterology, 2009, 136: 1689-1700.
- [10] Kan T, Meltzer SJ. MicroRNAs in Barrett's esophagus and esophageal adenocarcinoma[J]. Curr Opin Pharmacol, 2009, 9: 727-732.
- [11] Hiyoshi Y, Kamohara H, Karashima R, et al. MicroRNA-21 regulates the proliferation and invasion in esophageal squamous[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(6): 1915-1922.
- [12] 蔡惠. hsa-mir-126 和 hsa-mir-518b 在食管鳞癌中的表达[J]. 南方医科大学学报, 2011, 31(1): 23-27.
- [13] 李高峰, 李桂生. mir-9 前体分子抑制食管癌细胞株 TE6 中 NF- κ B1 的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 177-179.
- [14] 叶显坪, 刘真真. mir-129 的表达与食管鳞癌发生发展的关系[J]. 医药论坛杂志, 2011, 32(10): 18-21.
- [15] Eur J, Intern Duffym J. Role of tumormarkers in patients with solid cancers; A critical review[J]. Eur J Intern Med, 2007, 18(3): 175-184.
- [16] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood based markers for cancer detection[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(30): 10513-10518.
- [17] Gilad S, Meiri E, Yegorov Y, et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers[J]. PLoS One, 2008, 3(9): 3148-3151.
- [18] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum; a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. Cell Res, 2008, 18(10): 997-1006.
- [19] Zhang CN, Wang C, Chen X, et al. Expression profile of microRNAs in serum; A fingerprint for esophageal squamous cell carcinoma[J]. Clin Chem, 2010, 56(12): 1871-1879.
- [20] Hausler SF, Keller A, Chandran PA, et al. Whole blood-derived miRNA profiles as potential new tools for ovarian cancer screening[J]. Br J Cancer, 2010, 103: 693-700.

(收稿日期: 2012-06-23)

组织激肽释放酶-激肽系统及其与心血管疾病的关系

曹步清 综述, 刘铁牛 审校(解放军第三〇三医院检验科, 南宁 530021)

【关键词】 组织激肽释放酶; 缓激肽; 缓激肽受体; 心血管疾病

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.21.040 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)21-2731-03

组织激肽释放酶-激肽系统(KKS)广泛存在于动物体的各种组织中, 通过多条信号通路产生多种生物学作用, 参与多器官功能调节和多种病理生理过程, 如心血管、肾脏和神经系统的调节, 细胞增殖、炎症、凋亡等过程。

1 KKS 的组成和生物学活性

KKS 的组成包括激肽释放酶原、激肽释放酶(KLK)、激肽原、激肽和激肽受体。组织中存在的激肽释放酶原活化后成为激肽释放酶。激肽释放酶分为两种类型: 组织激肽释放酶和血浆激肽释放酶, 二者在其相对分子质量、底物特异性、免疫生物学特性、基因结构以及所释放的激肽类型等方面均存在明显差异。血浆激肽释放酶基因由 15 个外显子和 14 个内含子组成, 位于 4q35 染色体上, 具有丝氨酸蛋白酶活性, 可催化肝脏中合成的前体物激肽原降解, 释放缓激肽。血浆激肽释放酶由肝细胞特异性表达, 其功能是在调节血管收缩程度和炎症过程中通过释放缓激肽参加血液凝固、纤维蛋白溶解^[1]。此外, 血浆激肽释放酶在肾上腺、肾脏、胎盘和骨骼肌上也有表达。组织激

肽释放酶属于一组紧密联系的丝氨酸蛋白酶类, 相对分子质量 (24~45) $\times 10^3$, 等电点在 3.5~4.4, 它广泛存在于肾、胰腺、胃肠道黏膜及中枢神经系统等许多组织中, 以激肽原酶原的形式在组织中合成, 再经胰蛋白酶激活形成组织激肽释放酶, 并可释放至血液循环, 其活性能被抑肽酶或它的内源性抑制剂 kallistatin 所抑制。

长期以来, 人们一直认为 KLK 基因家族只有 3 个基因: KLK1、KLK2 和 KLK3。KLK1 对心血管、肾脏和中枢神经系统具有重要的保护作用, 而 KLK2 和 KLK3 (也称为前列腺特异性抗原) 则被认为是前列腺癌的标志物。目前的研究表明, 组织激肽释放酶基因家族至少有 15 个基因组成 (KLK1~15), 并且这 15 个激肽释放酶相关基因都处于 19q13.4 这条染色体上。系统进化分析法发现, Kallikrein 家族可分为 5 个亚系: 第 1 组 KLK4、KLK5、KLK14; 第 2 组 KLK9、KLK11、KLK15; 第 3 组 KLK10、KLK12; 第 4 组 KLK6、KLK13; 第 5 组 KLK8 和经典的 KLK1、KLK2、KLK3^[2]。

激肽原是一种单链糖蛋白,主要由肝细胞及少量血管内皮细胞产生。哺乳动物体内已发现 3 种激肽原:低相对分子质量激肽原,主要存在于血浆和各种组织中;高相对分子质量激肽原,主要存在于血浆;T-激肽原仅存在于大鼠体内。激肽原在激肽释放酶的作用下释放出活性物质激肽。

激肽主要包括缓激肽(BK)、赖氨酰缓激肽和甲羟缓激肽 3 种,它们是不同的激肽释放酶作用下的不同产物。激肽可以被激肽酶 I、激肽酶 II 和中性肽链内切酶降解成为激肽代谢产物或者非活化片段。激肽酶 I 是一种羧肽酶,激肽酶 II 是一种二肽酶也就是血管紧张素 I 转化酶(ACE)。缓激肽是生理条件下主要的激肽类物质,也是目前人们研究比较多的一种,它是一种血管舒张因子,可扩张小动脉,增加局部血流,增加血管通透性及使血管舒张,促使血压下降,调节血压及心血管功能;同时还能引起白细胞渗出和致炎物质,对平滑肌具有缓慢的收缩作用。另一方面,缓激肽还能促进水钠排泄,具有强大的利尿钠效应。

激肽主要通过自分泌和旁分泌途径以局部激素形式与缓激肽受体对邻近细胞发挥重要的生物学作用。目前已证实体内主要有缓激肽 β_1 受体和 β_2 受体,它们都是 G 蛋白耦联受体。完整的激肽类结合缓激肽 β_2 受体,而激肽酶 I 的代谢产物,比如 des-Arg9-BK 和 des-Arg10-kallidin 则与激肽 β_1 受体结合。 β_2 受体存在于正常机体,表达较多,对 BK 和赖氨酸缓激肽敏感,目前研究认为, β_2 受体介导激肽的大多数心血管效应、电解质代谢及器官保护功能^[3]。 β_1 受体在正常条件下表达量非常少,但在炎症和应激下可被诱导表达增多,还参与新生血管的形成过程。 β_2 受体能被特异性的拮抗剂 icatibant (HOE140)所阻断,而 β_1 受体也能被特异性拮抗剂 des-Arg9-Leu8-BK 和 des-Arg10-Leu9-kallidin 阻断^[3-4]。

2 KKS 与心血管疾病的相关性及研究进展

近来的研究发现,KKS 与心血管疾病联系非常密切,它具有降低血压、改善心肌缺血及心力衰竭、抗心肌肥大、阻止血管损伤并促进新生血管形成等功能。

2.1 KKS 对高血压的影响 早在 20 世纪初,组织激肽释放酶在人尿中被发现并且显示具有降血压的作用。临床及流行病学研究也发现,部分原发性高血压患者尿中 KLK 水平明显降低;同时,在自发性高血压大鼠及盐敏感高血压大鼠(DSS)等高血压大鼠模型中其尿 KLK 排泄减少。BK 主要通过 2 个方面来降低血压。一方面,BK 能诱导血管内皮产生一氧化氮(NO)和前列环素等血管舒张因子,引起血管扩张,降低外周血管阻力;另一方面,BK 具有强大的利尿作用,促进水钠排泄。而给予 β_2 受体拮抗剂 HOE140 后,血压明显升高。激肽原缺乏大鼠(brown Norway-Katholiek rat)因不能产生激肽而在接受血管紧张素 II、高盐饮食或脱氧皮质酮和钠盐刺激后比正常大鼠更早出现高血压。ACE 抑制剂(ACEI)不仅阻止无活性的血管紧张素 I 转化成血管紧张素 II,而且也可减少激肽降解,导致激肽水平增高。很多 ACE 抑制剂治疗高血压和心肌损伤的疗效主要是因为激肽含量持续保持在一个高水平。以上结果充分说明,激肽释放酶-激肽系统 in 高血压中的作用非常重要。

目前,KLK 降低血压的功能被广泛研究。较早的研究显示,口服从猪胰中纯化的组织激肽释放酶可降低高血压患者的血压,但降压效果不明显,需要反复补充;而过表达人组织激肽释放酶的转基因小鼠或大鼠可永久地保持低血压。给实验动物静脉注射提纯的组织型 KLK 可引起快速而短暂的降压效

应,BK 受体抑制剂 HOE140 能阻断此反应。并且,使用激肽释放酶基因转移、激肽释放酶蛋白或者激肽灌注和激肽释放酶改良的间质干细胞种植等多种方法证明,组织激肽释放酶对减少高血压、心脏和肾脏损伤、血管再狭窄、缺血性脑梗死、促进血管发生和皮肤损伤愈合等具有广泛的保护作用^[5-7]。这些成果提示,发展新的治疗方法来支撑脉管系统和器官内特殊结构的组织激肽释放酶-激肽活性可能是一种更高效的治疗高血压和器官损伤的策略。

2.2 KKS 对心肌缺血及心肌肥大的影响 心肌缺血和心肌肥大是人类健康的最大杀手之一。目前已证实,心血管系统中存在 KKS 的所有成员,并且 KKS 对心脏有着直接或间接地保护作用。

组织激肽释放酶经激肽 β_2 受体活化产生重要的心肌保护作用。激肽 β_2 受体基因敲除鼠由于血管壁修复纤维化,容易发展成为扩张型心肌病^[8]。相似的,将鼠的组织激肽释放酶基因敲除可导致扩张性代偿失调性心肌病。然而在转基因大鼠中过表达人组织激肽释放酶可减少异丙肾上腺素诱导的心肌肥大和纤维化。携带组织激肽释放酶的腺病毒全身给药法可导致高血压大鼠血压降低并减轻心肌肥大和纤维化。此外,激肽释放酶基因过表达可减轻正常血压大鼠心肌梗死后的心肌肥大和纤维化,同时在遗传性高血压大鼠中不显著地影响血压^[9]。并且,激肽释放酶能改善心肌梗死后的心脏功能和减少梗死面积及心室纤颤的发病率,而 HOE140 可阻止这些保护作用^[10]。在链脲霉素诱导的糖尿病大鼠模型中,激肽释放酶经激肽 β_2 受体也可通过改善心脏功能、血清糖和脂质水平来防止心肌病^[11]。这些结果说明激肽释放酶可对抗心肌损伤、改善心脏功能,同时对血压影响较小。

激肽释放酶和激肽通过刺激激肽 β_2 受体-氧化应激诱导的蛋白激酶 B-糖原合成酶(Akt-GSK-3 β)和 Akt-Bad-14-3-3 信号途径保护体内和培养心肌细胞缺血/再灌注所诱导的心肌凋亡^[10]。此外,NO 通过抑制氧化应激、TGF- β_1 /Smad2 和 JNK/p38MAPK 信号通路及 NF- κ B 活化,在激肽释放酶/激肽介导的保护心肌缺血/再灌注诱导的炎症和心室重构过程中具有重要作用^[12]。并且,组织激肽释放酶通过激肽 β_2 受体来增加 NO 形成、减少 Akt-GSK-3 β 信号分子、促分裂原活化蛋白激酶(MAPK)和核因子- κ B(NF- κ B)活化,以此来保护压力负荷诱导的心肌肥大^[13]。同样,组织激肽释放酶灌注可以通过激肽 β_2 受体活化、增加 NO 形成、Akt-GSK-3 β 磷酸化、抑制氧化应激介导的 MAPK 磷酸化和 NF- κ B 活化来减轻心肌细胞凋亡、炎症、心室重构和纤维化^[14]。在对 β_2 受体和 β_1 受体缺陷鼠的研究中发现,激肽 β_2 受体而不是 β_1 受体通过增加 Akt-GSK3 β 活性,在保护缺血/再灌注诱导的心功能障碍、心室重构和凋亡过程中起着关键作用^[14]。以上体内和体外实验结果说明,组织激肽释放酶通过激肽 β_2 受体活化来抑制凋亡、炎症、肥大来抵抗心肌损伤,同时通过增加 NO 形成抑制纤维化和抑制氧化应激介导的信号级联放大。

2.3 KKS 对血管的影响 人组织激肽释放酶基因转移可保护正常鼠类、高血压和糖尿病动物中的缺血组织^[15]。在后肢缺血的小鼠模型中,局部应用激肽释放酶蛋白或者激肽多肽可促进缺血后肢新生血管形成^[16]。此外,在链脲霉素诱导的糖尿病小鼠模型中,局部的人激肽释放酶基因转移可通过抑制凋亡和促进新生血管形成来阻止小鼠后肢骨骼肌的微血管透明化的发展。并且,给予 1 型糖尿病小鼠预防性的人组织激肽释放酶基因转移可促进后肢缺血性恢复。

在高血压和心肌梗死动物模型中,组织激肽释放酶基因转移可通过促进缺血性心肌新生血管形成来减轻心肌重构。激肽释放酶基因转移可通过促进新生血管形成、恢复局部血流来保护急性期的心肌梗死,也可通过增加 Akt 和 GSK-3 β 磷酸化和减少 GSK-3 β 活性来改善心肌功能^[17]。磷酸化可引起 GSK-3 β 失活但增加 β 连环蛋白水平,它可上调内皮细胞的血管内皮生长因子(VEGF)和 VEGFR-2 表达来诱导毛细血管形成。实际上,组织激肽释放酶刺激 Akt-GSK 磷酸化后,即导致缺血性心肌和培养内皮细胞 VEGF 和 VEGFR-2 表达增加^[17]。这些发现和以前研究表明的激肽通过激肽 β_2 受体反式激活 VEGFR-2 来刺激内皮细胞增殖毛细血管形成的结果^[18] 相一致。而且,研究已经表明,Akt-内皮型一氧化氮合酶(eNOS)活化是缺血和 VEGF 介导血管发生的关键步骤,Akt-eNOS 通过一个正反馈回路进一步刺激磷脂酰肌醇-3-激酶-Akt 信号途径^[19]。这些综合的结果表明,组织激肽释放酶/激肽通过激肽 β_2 受体活化促进血管发生,而促进血管发生是通过 Akt-GSK-3 β -VEGF-VEGFR-2 和 Akt-eNOS-NO 信号途径来完成的。

3 展 望

以上大量研究表明,KKS 在心血管系统各种疾病的发病机制中发挥相当重要的作用,如高血压、心力衰竭及心肌缺血、左心室肥大及血管内皮功能紊乱。近年来,随着人们对激肽释放酶基因家族研究的深入,其各个组成成员的特性及作用逐渐被人们所认识并且不断深化,不但在心血管方面,而且在癌症组织、中枢神经系统、皮肤及其他相关系统中的作用逐渐成为研究的热点。同时,特异性受体正成为研究的新靶点,相应激动剂的问世将成为新一代更具选择性的治疗心血管疾病、炎症、疼痛及免疫性疾病的新型药物。相信在不久的将来,激肽释放酶、激肽将成为治疗疾病的一个新的有效靶点。

参考文献

- [1] Yousef GM,Diamandis EP. An overview of the kallikrein gene families in humans and other species:emerging candidate tumour markers [J]. Clin Biochem,2003,36:443-452.
- [2] Elliott MB,Lrwin DM,Diamandis EP. In silico identification and Bayesian phylogenetic analysis of multiple new mammalian kallikrein gene families [J]. Genomics,2006,88:591-599.
- [3] Hagiwara M,Murakai H,Ura N,et al. Renal protective role of bradykinin B1 receptor in stroke-prone spontaneously hypertensive rats[J]. Hypertens Res,2004,27:399-408.
- [4] Moreau ME,Garbacki N,Molinario G,et al. The kallikrein-kinin system:current and future pharmacological targets[J]. J Pharmacol Sci,2005,99:6-38.
- [5] Chao J,Chao L. Kallikrein-kinin in stroke,cardiovascular and renal disease [J]. Exp Physiol,2005,90:291-298.
- [6] Chao J,Bledsoe G,Yin H,et al. The tissue kallikrein-kinin system protects against cardiovascular and renal diseases and ischemic stroke independently of blood pressure reduction [J]. Biol Chem,2006,387:665-675.

- [7] Madeddu P,Emanuelli C,EL-Dahrs,et al. Mechanisms of disease;the tissue kallikrein-kinin system in hypertension and vascular remodeling [J]. Nat Clin Pract Nephrol,2007,3:208-221.
- [8] Maestri R,Milia AF,Salis MB,et al. Cardiac hypertrophy and microvascular deficit in kinin B2 receptor knockout mice [J]. Hypertension,2003,41:1151-1155.
- [9] Bledsoe G,Chao L,Chao J. Kallikrein gene delivery attenuates cardiac remodeling and promotes neovascularization in spontaneously hypertensive rats[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2003,285:1479-1488.
- [10] Yin H,Chao L,Chao J. Kallikrein/kinin protects against myocardial apoptosis after ischemia/reperfusion via Akt-glycogen synthase kinase-3 and Akt-Bad, 14-3-3 signaling pathways [J]. J Biol Chem,2005,280:8022-8030.
- [11] Montanari D,Yin H,Dobrzynski E,et al. Kallikrein gene delivery improves serum glucose and lipid profiles and cardiac function in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Diabetes,2005,54:1573-1580.
- [12] Yin H,Chao L,Chao J. Nitric oxide mediates cardiac protection of tissue kallikrein by reducing inflammation and ventricular remodeling after myocardial ischemia/reperfusion[J]. Life Sci,2008,82:156-165.
- [13] Li HJ,Yin H,Yao YY,et al. Tissue kallikrein protects against pressure overload-induced cardiac hypertrophy through kinin B2 receptor and glycogen synthase kinase-3beta activation [J]. Cardiovasc Res,2007,73:130-142.
- [14] Yao YY,Yin H,Chao L,et al. Tissue kallikrein infusion prevents cardiomyocyte apoptosis,inflammation and ventricular remodeling after myocardial infarction [J]. Regul Pept,2007,140:12-20.
- [15] Emanuelli C,Madeddu P. Angiogenesis therapy with human tissue kallikrein for the treatment of ischemic diseases [J]. Arch Mal Coeur Vaiss,2004,97:679-687.
- [16] Smith RS Jr,Gao L,Chao L,et al. Tissue kallikrein and kinin infusion promotes neovascularization in limb ischemia[J]. Biol Chem,2008,389:725-730.
- [17] Yao YY,Yin H,Shen B,et al. Tissue kallikrein promotes neovascularization and improves cardiac function by the Akt-glycogen synthase kinase-3beta pathway[J]. Cardiovasc Res,2008,80:354-364.
- [18] Miura S,Matsuo Y,Saku K. Transactivation of KDR/Flk-1 by the B2 receptor induces tube formation in human coronary endothelial cells [J]. Hypertension,2003,41:1118-1123.
- [19] Ackah E,Yu J,Zoellner S,et al. Akt1/protein kinase Balpha is critical for ischemic and VEGF-mediated angiogenesis[J]. J Clin Invest,2005,115:2119-2127.

(收稿日期:2012-06-25)