

肥大细胞和类胰蛋白酶与心血管疾病

江一峰, 殷莲华, 金惠铭

(复旦大学上海医学院生理学与病理生理学系, 上海市 200032)

[关键词] 生理学与病理生理学; 肥大细胞和类胰蛋白酶与心血管疾病的关系; 综述; 类胰蛋白酶

[摘要] 肥大细胞分泌的类胰蛋白酶具有多种生物学活性。这些活性与某些心血管疾病的发生发展密切相关。实验证实, 在扩张型心肌病和缺血性心肌病患者的心脏组织中, 类胰蛋白酶的含量要高于正常心脏组织。活化的肥大细胞可以通过多种机制降解细胞外基质, 其中类胰蛋白酶促进基质金属蛋白酶的生成起到了关键的作用。此外, 类胰蛋白酶能够降解纤维蛋白原, 诱导内皮细胞、成纤维细胞及平滑肌细胞的增殖, 降解纤维连接蛋白。它的这些活性在动脉粥样硬化、血管重构和新生以及血管内皮细胞和平滑肌细胞凋亡的过程中均起到了重要的作用。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

类胰蛋白酶是一种具有多种生物学活性的天然蛋白酶。绝大多数由组织肥大细胞释放, 只有极少量的一部分由循环中的嗜碱性粒细胞表达。类胰蛋白酶从结构上分为两种类型: α 型和 β 型。 α 型类胰蛋白酶多由肥大细胞直接分泌进入血液, β 型类胰蛋白酶贮存在肥大细胞胞质的小颗粒内。当特异性变应原与 IgE 结合并与致敏的肥大细胞表面 IgE 受体交联后, 肥大细胞脱颗粒释放 β 型类胰蛋白酶^[1,2]。

1 类胰蛋白酶的结构

人类胰蛋白酶基因定位于 16 号染色体的短臂上, 每个类胰蛋白酶基因均含有 6 个外显子和 5 个内含子, 编码 30 个氨基酸的前导链 245 个氨基酸的活性部位。 α 型类胰蛋白酶和 β 型类胰蛋白酶约有 90% 的同源性, 主要区别在于 α 型类胰蛋白酶的-3 位氨基酸和 215 位氨基酸分别为谷氨酰胺和天冬氨酸, 而 β 型类胰蛋白酶则分别为精氨酸和甘氨酸^[1]。

β 型类胰蛋白酶为一指环状同源四聚体, 每个四聚体具有两个肝素结合位点, 肝素结合在这两个位点上, 能稳定 β 型类胰蛋白酶的四聚体结构, 并有可能对其活化起到某种作用。四个单体分别在四个角上, 各有一个活性中心指向中央孔, 中央孔比较狭小, 能够阻止多种抑制剂的接近。 α 型类胰蛋白酶不存在四聚体结构, 仅有单体形式^[3]。

2 类胰蛋白酶的生物活性

和胰蛋白酶一样, 类胰蛋白酶一般在肽链的精氨酸和赖氨酸残基的羧基端进行酶切。在体外, 类胰蛋白酶能有效地降解一定数量的多肽, 比如神经肽、血管活性肠肽和组氨酸甲硫氨酸肽。与胰蛋白酶不同之处在于, 类胰蛋白酶仅仅催

化少数蛋白质, 使纤维蛋白原、纤维连接蛋白、高分子量激肽原失活, 使尿激酶型血浆酶原激活物、基质金属蛋白酶 3、补体 C3 等激活。类胰蛋白酶是上皮细胞、成纤维细胞、平滑肌细胞的丝裂原, 也是上皮细胞粘附分子表达的刺激物。肥大细胞能刺激血管内皮细胞增殖并形成毛细血管管腔样结构, 这种作用可能与其释放的类胰蛋白酶有关^[2]。

类胰蛋白酶能酶切并激活多种细胞膜上的酶切激活受体, 这些细胞主要包括血管内皮细胞、肠上皮细胞和结肠肌细胞等。它们能对类胰蛋白酶起反应, 说明酶切激活受体可能介导了类胰蛋白酶产生的某些作用。在心血管系统中, 类胰蛋白酶作为平滑肌细胞、内皮细胞和心肌细胞上酶切激活受体的激活剂, 能够引起血管舒张和收缩, 细胞有丝分裂, 细胞内钙离子浓度升高, 血管性血友病因子的释放以及一氧化氮的释放等多种生物学效应^[4]。

Schwartz 等^[5]报道, 在实验诱导的全身性过敏反应中, 血浆类胰蛋白酶的峰值水平出现在给予过敏刺激后的 1~2 h 内。峰值过后, 类胰蛋白酶浓度按照恒定百分比下降, 其半衰期大约为 2 h。而在同等条件下, 组胺的峰值则出现在 5~10 min 后。随后, 组胺水平立即下降, 在 15~60 min 内恢复至基础水平。由此可见, 以过敏性反应为例, 获得类胰蛋白酶样品的最佳时间是在病变发生后的 1~2 h 以内。

3 肥大细胞和类胰蛋白酶与心血管疾病

3.1 类胰蛋白酶在正常人心脏组织中的含量

人肥大细胞中含有至少三种主要的蛋白水解酶: 类胰蛋白酶、糜蛋白酶和羧肽酶, 这些酶占肥大细胞酶总量的 20%~50%。人肥大细胞按其所含酶类的不同可分为两种, 一种是只含有类胰蛋白酶的肥大细胞, 另一种是同时含有类胰蛋白酶和糜蛋白酶的肥大细胞。

几乎所有的人肥大细胞(包括皮肤、肺、心脏等)都含有类胰蛋白酶, 但是类胰蛋白酶在这些组织的肥大细胞中所含的量有所不同。在心脏肥大细胞中, 类胰蛋白酶平均含量为 24 pg/细胞, 这一数值低于皮肤肥大细胞中的 35 pg/细胞, 而

[收稿日期] 2005-01-11 [修回日期] 2005-11-18

[基金项目] 国家“十五”和“211”工程重点学科建设基金资助

[作者简介] 江一峰, 硕士研究生。通讯作者殷莲华, 博士研究生导师, 研究方向为血管新生与疾病。金惠铭, 博士研究生导师, 研究方向为血管新生与疾病。

高于肺肥大细胞中的 10 pg/细胞。外周血中嗜碱性粒细胞也含有极微量的类胰蛋白酶,其含量小于 0.05 pg/细胞^[5]。糜蛋白酶存在于绝大多数人肥大细胞(> 95%)的分泌颗粒中,说明大多数肥大细胞同时含有类胰蛋白酶和糜蛋白酶这两种蛋白水解酶^[6]。

3.2 肥大细胞和类胰蛋白酶在扩张型和缺血性心肌病心脏组织中的变化

Vincenzo 等^[7]报道了 24 例扩张型心肌病和 10 例缺血性心肌病患者(以 10 例无任何心血管疾病的患者作为对照组)心脏组织中肥大细胞及类胰蛋白酶的含量。在这些病例的心脏组织中发现,肥大细胞主要存在于血管周围和心肌纤维之间。在动脉粥样硬化损伤的内膜中也有肥大细胞的存在。人心脏肥大细胞具有多形性:一部分(62%)体积较大,呈圆形或椭圆形,细胞质内充满小颗粒;另一些(38%)则细小、狭长。在这些病例的心脏肥大细胞中,约 15% 具有活性,表现为脱颗粒形式。而从数量上来说,扩张型心肌病的心脏组织中肥大细胞含量为 $18.4 \pm 1.6/\text{mm}^2$,缺血性心肌病的心脏组织中肥大细胞含量为 $18.4 \pm 1.5/\text{mm}^2$,都明显高于对照组水平($5.3 \pm 0.7/\text{mm}^2$)。类胰蛋白酶几乎存在于所有人肥大细胞的胞质小颗粒中,它也是人成纤维细胞的一种高效丝裂原。用固相放射免疫测定法分析发现,在扩张型心肌病的心脏组织中类胰蛋白酶含量为 $32.3 \pm 5.9 \mu\text{g/g}$,而在缺血性心肌病的心脏组织中的含量为 $33.7 \pm 4.3 \mu\text{g/g}$,大大高于对照组的 $6.9 \mu\text{g/g}$ 。很明显,在这两种心脏疾病中类胰蛋白酶含量的变化与上述肥大细胞数量的变化一致。进一步以抗 IgE 抗体刺激人心脏肥大细胞分泌类胰蛋白酶,分别在三种不同的抗 IgE 抗体浓度的条件下测定类胰蛋白酶的量,发现来自扩张型心肌病和缺血性心肌病患者的心脏肥大细胞所释放类胰蛋白酶的量要明显高于对照组的心脏肥大细胞。

这些结果提示,肥大细胞密度的增加及其局部释放细胞丝裂原(如类胰蛋白酶)的增加,可能促进血管平滑肌细胞过度合成胶原,并在心肌间质中积聚^[8]。这可能是心肌收缩力降低,心力衰竭发生的一个重要原因。

3.3 肥大细胞和类胰蛋白酶与动脉粥样硬化

类胰蛋白酶和糜蛋白酶阳性的肥大细胞已被证实存在于正常的主动脉内膜以及动脉粥样硬化的主动脉内膜之中^[8]。活化的肥大细胞可以通过以下多种机制降解细胞外基质:①释放类胰蛋白酶和糜蛋白酶直接作用于细胞外基质中的某些成分(如纤维蛋白原、纤维连接蛋白等);②类胰蛋白酶和糜蛋白酶能够激活基质金属蛋白酶原形成具有活性的基质金属蛋白酶,基质金属蛋白酶可以直接降解细胞外基质,并能激活其它尚未活化的基质金属蛋白酶;③类胰蛋白酶和糜蛋白酶能够激活平滑肌细胞和巨噬细胞分泌基质金属蛋白酶;④表达肿瘤坏死因子 α 激活巨噬细胞,使其分泌基质金属蛋白酶。活化的肥大细胞通过以上途径降解细胞外基质,而细胞外基质是维持动脉粥样硬化斑块强度的重要因素,当其被基质金属蛋白酶降解后,导致动脉粥样硬化斑块破裂。在斑块破裂过程中所释放的一些被基质金属蛋白酶降解的产物,进一步激活肥大细胞。因此,在肥大细胞、类

胰蛋白酶和基质金属蛋白酶的激活间存在着恶性循环。

动脉粥样硬化斑块破裂的区域往往是心血管损伤形成并发展的地方。血栓可以在腐蚀、破裂的动脉粥样硬化斑块上形成。研究发现,肥大细胞广泛存在于血栓及血栓周围。其释放的类胰蛋白酶具有降解纤维蛋白原的作用。因此,类胰蛋白酶可以和同样由肥大细胞释放的具有抗凝血作用的肝素一起,使血栓不稳定甚至降解^[8]。

近来研究发现,部分不稳定型心绞痛患者在心肌缺血 5 min 后,血中类胰蛋白酶含量将增加 6 倍。在心肌缺血发生 15 min 后,其含量下降并恢复到基础水平。值得注意的是,由麦角新碱引发的心肌缺血并不能导致类胰蛋白酶水平的升高。提示肥大细胞的脱颗粒效应对不稳定型心绞痛的发生具有一定作用,而这一作用可能是包括类胰蛋白酶、糜蛋白酶及肝素等多种介质共同作用的结果^[9]。

3.4 肥大细胞、类胰蛋白酶与血管重构和血管新生

很多心血管疾病中均存在血管的重构和新生,血管的重构和新生常常是通过许多体液性因子的介导而发生的。肥大细胞可以释放白细胞介素 4、血小板源生长因子、碱性成纤维细胞生长因子、血管内皮生长因子、转化生长因子 α 、转化生长因子 β 、肝素、组胺和类胰蛋白酶等多种介质。这些介质能促使平滑肌细胞合成胶原,使内膜增厚^[8]。其中,类胰蛋白酶不仅可以刺激前胶原 mRNA 的合成,而且对其他介质具有趋化作用。类胰蛋白酶与这些细胞因子和生长因子之间存在着复杂的相互反应,这些反应促进了血管重构的发生与发展。肥大细胞释放的类胰蛋白酶能够招募中性粒细胞,提示类胰蛋白酶还与炎症的启动有关。此外,类胰蛋白酶可以刺激内皮细胞分泌白细胞介素 8,进一步促进白细胞的聚集^[10]。动脉粥样硬化斑块中,基质金属蛋白酶水平与类胰蛋白酶活性有关。基质金属蛋白酶活性对于细胞微环境具有重要作用。类胰蛋白酶激活基质金属蛋白酶 3(前基质溶解酶),基质金属蛋白酶 3 再激活基质金属蛋白酶 1(前胶原酶),这两步反应具有放大效应,因此,仅微量类胰蛋白酶就能激活大量基质金属蛋白酶 1。少量类胰蛋白酶通过激活组织中的蛋白酶,以级联放大的形式扩大了蛋白水解的活性。由此可见,类胰蛋白酶在血管基质的降解过程中起了重要的作用,而血管基质的降解是引起血管壁重构与血管新生的重要前提。

据报道,真皮组织中肥大细胞的数量和血管的密度密切相关,提示肥大细胞对血管新生可能起到一定的作用^[11]。将肥大细胞与皮肤血管内皮细胞共培养后发现,肥大细胞能够刺激血管内皮细胞增殖,并且能够使其形成毛细血管腔样结构。在肥大细胞脱颗粒时,新生血管的延伸现象更加明显。而使用类胰蛋白酶的抑制剂后,这一作用减弱了 73% ~ 88%。类胰蛋白酶能够诱导内皮细胞的增殖,这可能是类胰蛋白酶直接作用于内皮细胞的结果。已知类胰蛋白酶是成纤维细胞、上皮细胞和平滑肌细胞的丝裂原,而对于微血管内皮细胞,已经有相当多的实验结果说明,类胰蛋白酶具有丝裂原的作用。近年来有人明确提出,类胰蛋白酶是一种新发现的、强有力的血管新生诱导因子^[11]。因此,它在缺血

性心血管疾病发生发展中的作用, 以及在治疗性血管新生中的意义, 值得进一步深入研究。

3.5 肥大细胞、类胰蛋白酶与内皮细胞和平滑肌细胞凋亡

血管内皮细胞和血管平滑肌细胞的凋亡是很多心血管疾病发生的基础。以往的实验研究已经证明, 细胞外基质粘附到糖蛋白上对心血管系统中的内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞以及心肌细胞的存在是必须的。粘附可以使细胞张力完整并抑制凋亡信号, 而失去粘附则导致相反的结果^[12]。纤维连接蛋白是最主要的粘附糖蛋白之一, 具有两种类型: 可溶性型, 由肝细胞合成并分泌进入血液; 细胞型, 由粘附细胞比如平滑肌细胞和成纤维细胞合成并分泌进入细胞外基质, 以作为这些细胞的粘附基础。纤维连接蛋白被认为是内皮细胞和平滑肌细胞的存活因子。很多蛋白酶, 包括纤维蛋白溶解酶、凝血酶、弹性蛋白酶、糜蛋白酶和类胰蛋白酶, 都可以附着在纤维连接蛋白分子上, 对其发生作用, 使其降解成不同大小的片段。这些可溶性肽段具有一个共同的特点即含有精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸结构域, 此结构域能抑制血管内皮细胞和血管平滑肌细胞伸展, 触动细胞凋亡。一旦纤维连接蛋白发生降解, 使细胞失去粘附, 就会引起血管内皮细胞和血管平滑肌细胞失巢凋亡^[12]。血管内皮细胞的凋亡可能引发动脉粥样硬化的起始, 血管平滑肌细胞的凋亡可能在动脉粥样硬化斑块的血栓形成中起到重要作用。

近年来, 实验研究证实, 肥大细胞及其释放的类胰蛋白酶可以通过多种途径来影响心血管疾病的发生与发展。但是, 目前的研究资料还不够丰富, 研究结果尚不能全面并系统地解释它们在心血管疾病发生发展过程中的具体作用及其机制。因此, 需要进行更多的实验研究来进一步揭示肥大细胞及类胰蛋白酶与心血管疾病的关系。

[参考文献]

- [1] 陆超, 殷莲华, 金惠铭. 类胰蛋白酶与疾病[J]. 中国病理生理杂志, 2002, **18** (6): 718-721
- [2] Randall B, Butts J, Halsey JF. Elevated postmortem trypsin in the absence of anaphylaxis[J]. *J Foren Sci*, 1995, **40**: 208-211
- [3] Pereira PJB, Bergner A, Macedo Ribeiro S, Huber R, Matschner G, Fritz H, et al. Human β -trypsin is a ring-like tetramer with active sites facing a central pore[J]. *Nature*, 1998, **392** (6673): 306-311
- [4] Macfarlane SR, Scatter MJ, Kanke T. Proteinase-activated receptors[J]. *Pharmacol Rev*, 2001, **53**: 245-282
- [5] Schwartz LB, Yunginger JW, Miller J, Bokhari R, Dull D. Time course of appearance and disappearance of human mast cell trypsin in the circulation after anaphylaxis[J]. *J Clin Invest*, 1989, **83** (5): 1551-555
- [6] Marone G, de Crescenzo G, Florio G, Granata F, Dente V, Genovese A. Immunological modulation of human cardiac mast cells[J]. *Neurochem Res*, 1999, **24** (9): 1195-202
- [7] Vincenzo P, Isabella M, Eloisa A, Barbel LS, Laura V, Monika A, et al. Stem cell factor in mast cells and increased mast cell density in idiopathic and ischemic cardiomyopathy[J]. *Am Heart Assoc*, 1998, **97** (10): 971-978
- [8] Kelley JL, Chi DS, Abourauda W, Smith JK, Krishnaswamy G. The molecular role of mast cells in atherosclerotic cardiovascular disease[J]. *Mol Med Today*, 2000, **6**: 304-308
- [9] Van Haelst PL, Timmer JR, Grijns HJGM, Kauffman HF, Gans ROB, van Doornaal JJ. No long-lasting or intermittent mast cell activation in acute coronary syndromes[J]. *Internat J Cardiol*, 2001, **78**: 75-81
- [10] Compton SJ, Cairns JA, Holgate ST, Walls AF. The role of mast cell trypsin in regulating endothelial cell proliferation, cytokine release, and adhesion molecule expression: trypsin induces expression of mRNA for IL-1 β and IL-8 and stimulates the selective release of IL-8 from human umbilical vein endothelial cells[J]. *Immun*, 1998, **161**: 1939-946
- [11] Blair RJ, Meng H, Marchese MJ, Ren SL, Schwartz LB, Tonnesen MG, et al. Human mast cells stimulate vascular tube formation. Trypsin is a novel, potent angiogenic factor[J]. *J Clin Invest*, 1997, **99** (11): 2691-700
- [12] Michel, Jear-Baptiste. Anoxia in the cardiovascular system: known and unknown extracellular mediators[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, **23** (12): 2146-154

(此文编辑 文玉珊)

•会议征文•

全国心血管病实验室诊断与临床专题学术研讨会征文通知

由中华医学会、中华检验医学杂志编辑委员会主办的“全国心血管病实验室诊断与临床专题学术研讨会”, 定于2006年9月在张家界召开(具体时间和地点另行通知)。会议将邀请国内外著名专家就心血管病检验诊断技术最新研究进展作专题学术报告。会议将遴选优秀论文在《中华检验医学杂志》正式发表, 与会代表授予国家继续教育学分。现将征文内容通知如下:

1、征文内容: (1) 心血管病生物标志物的检验诊断与临床应用研究; (2) 心肌肌钙蛋白(cTn)检测在心肌损伤诊断中的临床应用研究; (3) B型钠尿肽(BNP)/N末端B型钠尿肽(NT-proBNP)检测及其在心衰诊断和危险分层中的临床应用研究; (4) 肌红蛋白(Mb)和CK-MB等检测与临床应用评价; (5) 心血管病新的生物标志物和实验室诊断方法的建立与研究; (6) 炎症标志物、代谢综合征相关标志物与心血管病的临床与基础研究; (7) 心血管病的生化检验, 如血脂、心血管活性肽、同型半胱氨酸等检验诊断与临床研究; (8) 其他有关心血管病实验室诊断方法和技术研究等。

2、稿件要求: (1) 未在正式刊物发表过的文章, 论著、综述、临床经验总结等均可; (2) 文章摘要和全文各一份, 全文按《中华检验医学杂志》稿约要求撰写; (3) 请注明详细单位、邮政编码和电话及电子邮件地址; (4) 截稿日期: 稿件截止于2006年4月20日止。并请在信封上注明“心血管病实验诊断会议”字样。

3、联系地址: 稿件请寄: 100710 北京东西大街42号 中华医学会《中华检验医学杂志》编辑部 唐栋收, 欢迎电子邮件来稿(Word格式附件发), 电话: 010-85158269; 电子邮件地址: tangdong@cma.org.cn。