

· 综 述 ·

类糜蛋白酶在肝脏纤维化中的作用

郭美霞, 张晓华, 朱人敏

(南京军区南京总医院消化内科干部病房, 南京 210002)

【摘 要】 类糜蛋白酶是一种丝氨酸蛋白酶, 主要由肥大细胞分泌。其生物学作用多样。越来越多研究证实类糜蛋白酶与肝脏纤维化密切相关。本文就类糜蛋白酶的结构和分布特点、生物学效应及其与肝脏纤维化的密切关系的研究进展作一概述。

【关键词】 类糜蛋白酶; 肝硬化; 白细胞介素 8; 血管紧张素 II; 基质金属蛋白酶 9

【中图分类号】 R575.2

【文献标识码】 A

【DOI】 10.3724/SP.J.1264.2011.00072

Role of chymase in pathogenesis of liver fibrosis

GUO Meixia, ZHANG Xiaohua, ZHU Renmin

(Cadre's Ward, Department of Gastroenterology, Nanjing General Hospital, Nanjing Military Command, Nanjing 210002, China)

【Abstract】 Chymase, as a serine protease, is mainly secreted by mast cells. It has multiple biological effects and is involved in a variety of human diseases. Numerous studies indicated that chymase plays an important role in the pathogenesis of liver fibrosis. In this paper, we reviewed its structure, distribution characteristics, biological effects, and its close relationship with liver fibrosis, so as to understand its roles in the pathogenesis of liver fibrosis.

【Key words】 chymase; liver fibrosis; interleukin-8; Angiotensin II; matrix metalloproteinase 9

类糜蛋白酶作用的最适 pH 值为 8~9, 组织蛋白酶 C 是类糜蛋白酶特异性催化酶, 使活化后的类糜蛋白酶催化活性可增强 7000 倍^[1]。类糜蛋白酶能高效地将血管紧张素 I (Angiotensin I, Ang I) 转换为 Ang II, 并能降解多种物质的前体, 如白细胞介素-8 前体 (pro-interleukin-8, pro-IL-8)、基质金属蛋白酶-9 前体 (pro-matrix metalloproteinase-9, pro-MMP-9)、原胶原纤维等。类糜蛋白酶活性能被 chymostatin (糜酶抑素)、SBTI (豆类的胰蛋白酶抑制剂) 等物质抑制^[2]。Muto 等^[3]发现类糜蛋白酶在组织纤维化等疾病中存在潜在作用。本文就类糜蛋白酶在肝脏纤维化中作用的研究进展综述如下。

1 类糜蛋白酶结构和分布特点

1953 年由 Gomori 通过组织化学方法发现类糜蛋白酶, 由于其活性与糜蛋白酶非常相似, 因此 1959 年被 Benditt 命名为 chymase。人类类糜蛋白酶基因位于 14 号染色体长臂 (14q11.2), 为一多肽链, 分子质量为 29 ku, 是肥大细胞合成与分泌的特异性

中性蛋白酶, 且理化性质稳定, 常作为肥大细胞标记。类糜蛋白酶主要以活性形式存在于肥大细胞的分泌颗粒和细胞间质中, 在缺血、损伤等情况下经肥大细胞脱颗粒形式分泌到细胞外基质。类糜蛋白酶几乎分布于人体所有组织、器官, 在人体各个组织器官分布及活性有所差异。类糜蛋白酶化学性质在种属间也存在差异。这些差异表明在不同的器官及种属中类糜蛋白酶作用有其特异性。

2 类糜蛋白酶生物学效应

2.1 类糜蛋白酶促进 IL-8 分泌

IL-8 是一种小分子质量活性多肽, 具有多种生物活性的细胞因子, 调节机体免疫, 参与机体细胞生长、发育、修复过程, 但当 IL-8 过度产生时, 则可能导致组织抗炎及促炎失衡, 从而促使组织损伤。将类糜蛋白酶与嗜酸粒细胞共同培养, 发现类糜蛋白酶不仅明显上调嗜酸粒细胞内 IL-8 mRNA 转录, IL-8 合成水平也明显升高, 且呈浓度依赖性, 体内实验也证实这一点。同时, 类糜蛋白酶还能激活 pro-IL-8, IL-18 又可反过来作用于肥大细胞, 促进类

糜蛋白酶分泌, 形成正反馈调节作用^[4]。因此类糜蛋白酶可通过与 IL-8 交互作用, 参与组织炎症及组织重塑。

2.2 类糜蛋白酶促进 Ang II 合成

Ang II 可通过类糜蛋白酶及 ACE 两条途径产生^[5]。研究证实局部的肾素-血管紧张素-醛固酮系统与组织器官纤维化和结构重构过程有密切关系^[6]。类糜蛋白酶可通过局部循环产生 Ang II, 并活化 MMP-2 前体, 同时 Ang II 可上调 MMP-2 前体表达, 诱导血管内膜增生, 参与血管重塑^[7]。Ang II 在肝脏通过作用其特异受体 AT1, 促进肝脏纤维化及门静脉高压。

2.3 类糜蛋白酶活化 pro-MMP-9

MMPs 是锌结合蛋白酶家族, 在组织纤维化、损伤修复及血管生发过程中, 扮演重要角色。其中 MMP-9, 即明胶酶 B, 可通过降解血管基膜 IV 胶原, 增加血管通透性, 参与炎症的病理生理过程, 并通过降解细胞外基质中胶原, 改变细胞外基质结构, 参与组织重塑。mMCP-4 与人类类糜蛋白酶功能非常类似, 因此可假设鼠内 mMCP-4 与人体内类糜蛋白酶在调节 MMP-9 上扮演相似角色。Tchougounova 等^[8]将 mMCP-4^{-/-}小鼠及野生型小鼠分成两组, 用明胶酶谱法分别检测两组小鼠耳、肺及心脏 MMP-9 及 pro-MMP-9 含量, 结果显示, mMCP-4^{-/-}小鼠仅检测到 MMP-9 前体, 而野生型小鼠则可同时检测到 MMP-9 及 pro-MMP-9, 提示类糜蛋白酶是 pro-MMP-9 活化的关键酶, 并推测类糜蛋白酶可通过激活 pro-MMP-9 而在组织炎症及重塑中起关键作用。

3 类糜蛋白酶与肝脏纤维化

3.1 类糜蛋白酶在肝脏纤维化中实验研究进展

Satomura 等^[9]创立了肝组织中糜蛋白酶浓度的检测方法, 使研究类糜蛋白酶与肝脏纤维化的关系成为可能。Satomura 等^[10]应用 ELISA 方法分别测定并比较原发性胆汁性肝硬化 (primary biliary cirrhosis, PBC)、自身免疫性肝炎 (autoimmune hepatitis, AIH) 以及急性肝炎 (acute hepatitis, AH) 患者肝脏类糜蛋白酶含量, 结果显示 PBC 及 AIH 患者肝组织含量明显高于 AH 患者, 且 PBC、AIH 肝脏纤维化程度与类糜蛋白酶浓度呈正相关性, 提示类糜蛋白酶不仅参与肝脏纤维化, 且与肝脏纤维化程度密切相关。临床研究发现, AT1 拮抗剂缬沙坦可减轻肝纤维化患者门静脉压力梯度, 因此, 阻断类糜蛋白酶生成 Ang II 途径有望成为肝纤维化及门静脉高压的有

效治疗靶点^[11]。

3.2 类糜蛋白酶参与肝脏纤维化可能有关机制

3.2.1 IL-8 途径 肝炎病毒感染是肝脏纤维化最常见病因之一, Clement 等^[12]在体外实验证实, 丙型肝炎病毒感染肝脏细胞后, 丙型肝炎病毒核心蛋白表达阳性肝细胞能合成 IL-8, 且发现 IL-8 作用于肝脏星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 表面 CXCR2 受体, IL-8 一方面使局部炎症细胞趋化、募集, 间接参与肝脏纤维化; 另一方面, IL-8 还可促进 HSC 表达 α -平滑肌肌动蛋白, 使其具有成肌纤维样细胞收缩功能, 且抑制活化的 HSC 迁徙, 使之在炎症局部堆积, 促进肝脏纤维化。类糜蛋白酶可促进炎症细胞 IL-8 表达, 并通过激活 pro-IL-8, 参与肝脏纤维化生理、病理机制。

3.2.2 Ang II 途径 类糜蛋白酶在肝脏局部组织中生成大量的 Ang II, Ang II 可直接作用于 HSC 膜受体 AT1, 通过开放 HSC 中 L 型 Ca^{2+} 通道, 增加 HSC 内 Ca^{2+} 浓度, 使得 HSC 具有收缩功能。同时在实验中发现, HSC 数明显增加时, 血浆中 MAPK 浓度也明显增加, 且 MAPK 特异性抑制剂 PD98059 能明显减少 HSC 有丝分裂, 表明 Ang II 可通过 MAPK 依赖途径促进 HSC 增殖^[13]。体外实验发现, 活化的 HSC 表达大量 AT1 受体, Ang II 可通过作用 AT1 受体, 诱导兔 HSCs 胶原合成, 促进转化生长因子 β 及结缔组织生长因子分泌, 且阻断 AT1 受体, 可明显减轻肝脏纤维化^[14]。另外, Ang II 还可促进间质纤维母细胞转化生长因子 β 的表达, 启动转化生长因子 β /Smad 信号通路, 诱导 I 型胶原及 III 型胶原基因表达, 合成大量胶原纤维, 抑制肝细胞再生, 诱导肝细胞凋亡。Ikura 等^[15]比较了肝脏纤维化与正常对照组中 AT1 蛋白及其 mRNA 水平, 结果显示不仅在血管平滑肌细胞中发现二者表达水平明显增加, 在活化的 HSC、肌纤维母细胞以及肝脏实质细胞中均可发现 AT1 的存在, 且血管及肌纤维母细胞中 AT1 表达较对照组明显增多, 推测类糜蛋白酶可通过局部生成 Ang II, 作用肝脏血管及肌纤维母细胞表面受体 AT1, 从而增加门静脉压力梯度。

3.2.3 活化 pro-MMP-9 途径 Kirimlioglu 等^[16]在慢性肝纤维化模型中发现 MMP-9 浓度明显升高, 表明 MMP-9 在慢性肝脏纤维化中发挥重要作用。正常人 HSC 主要位于富含 IV 型胶原的 Disse 间隙和肝细胞隐窝内, 一般处于静止状态。类糜蛋白酶可通过激活 pro-MMP-9 降解 IV 胶原, 破坏 HSC 周围的稳态环境, 形成 HSC-细胞外基质相互作用的正反馈作用, 激活静止期 HSC, 促进 HSC 合成大量细胞外基质,

从而促进肝脏纤维化^[17]。

4 总 结

肝脏纤维化是肝脏对损伤因素的一种修复反应, 从而保持其完整性, 但是过度失控的修复过程, 将导致肝脏纤维化。HSC 的激活是肝脏纤维化的中心环节, 类糜蛋白酶可通过促进 IL-8 分泌, 活化 pro-IL-8, 促进 Ang II 合成, 活化 pro-MMP-9 等途径激活 HSC, 参与肝脏纤维化。类糜蛋白酶在多种病因引起肝脏纤维化中, 包括病毒性肝硬化、自身免疫性肝硬化、四氯化碳中毒性肝硬化等, 均扮演重要角色, 这一发现为肝脏纤维化的病理生理机制提供了新的思路。应用 Chymostatin 和 SBTI 等类糜蛋白酶抑制剂, 有望成为肝脏纤维化治疗新策略, 且类糜蛋白酶与肝脏纤维化程度呈浓度依赖性, 有可能作为肝脏纤维化严重程度指标之一。但由于实验样本量过少, 以及受到体内试验的限制, 类糜蛋白酶作用机制及临床应用尚有待进一步深入研究。

【参考文献】

- [1] Kivinen PK, Kaminska R, Naukarinen A, *et al.* Release of soluble tryptase but only minor amounts of chymase activity from cutaneous mast cells[J]. *Exp Dermatol*, 2001, 10(4): 246-255.
- [2] He SH, Chen P, Chen HQ. Modulation of enzymatic activity of human mast cell tryptase and chymase by protease inhibitors[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2003, 24(9): 923-929.
- [3] Muto T, Fukami H. Recent chymase inhibitors and their effects in *in vivo* models[J]. *IDrugs*, 2002, 5(12): 1141-1150.
- [4] Omoto Y, Tokime K, Yamanaka K, *et al.* Human mast cell chymase cleaves pro-IL-18 and generates a novel and biologically active IL-18 fragment[J]. *J Immunol*, 2006, 177(12): 8315-8319.
- [5] Chen LY, Li P, He Q, *et al.* Transgenic study of the function of chymase in heart remodeling[J]. *J Hypertens*, 2002, 20(10): 2047-2055.
- [6] Toblli JE, Munoz MC, Cao G, *et al.* ACE inhibition and AT1 receptor blockade prevent fatty liver and fibrosis in obese Zucker rats[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2008, 16(4): 770-776.
- [7] Kishi K, Muramatsu M, Jin D, *et al.* The effects of chymase on matrix metalloproteinase-2 activation in neointimal hyperplasia after balloon injury in dogs[J]. *Hypertens Res*, 2007, 30(1): 77-83.
- [8] Tchougounova E, Lundequist A, Fajardo I, *et al.* A key role for mast cell chymase in the activation of pro-matrix metalloproteinase-9 and pro-matrix metalloproteinase-2[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(10): 9291-9296.
- [9] Satomura K, Shimizu S, Nagato T, *et al.* Establishment of an assay method for human mast cell chymase [J]. *Hepatol Res*, 2002, 24(4): 361-367.
- [10] Satomura K, Yin M, Shimizu S, *et al.* Increased chymase in livers with autoimmune disease: colocalization with fibrosis[J]. *Nippon Med Sch*, 2003, 70(6): 490-495.
- [11] Debernardi-Venon W, Martini S, Biasi F, *et al.* AT1 receptor antagonist Candesartan in selected cirrhotic patients: effect on portal pressure and liver fibrosis markers[J]. *J Hepatol*, 2007, 46(6): 1026-1033.
- [12] Clément S, Pascarella S, Conzelmann S, *et al.* The hepatitis C virus core protein indirectly induces alpha-smooth muscle actin expression in hepatic stellate cells *via* interleukin-8[J]. *J Hepatol*, 2010, 52(5): 635-643.
- [13] Bataller R, Ginès P, Nicolás JM, *et al.* Angiotensin II induces contraction and proliferation of human hepatic stellate cells[J]. *Gastroenterology*, 2000, 118(6): 1149-1156.
- [14] Kurikawa N, Suga M, Kuroda S, *et al.* An angiotensin II type 1 receptor antagonist, Olmesartan medoxomil, improves experimental liver fibrosis by suppression of proliferation and collagen synthesis in activated hepatic stellate cells[J]. *Br J Pharmacol*, 2003, 139(6): 1085-1094.
- [15] Ikura Y, Ohsawa M, Shirai N, *et al.* Expression of angiotensin II type 1 receptor in human cirrhotic livers: Its relation to fibrosis and portal hypertension[J]. *Hepatol Res*, 2005, 32(2): 107-116.
- [16] Kirimlioglu H, Kirimlioglu V, Yilmaz S. Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in donor liver, cirrhotic liver, and acute rejection after human liver transplantation[J]. *Transplant Proc*, 2008, 40(10): 3574-3577.
- [17] Page-McCaw A, Ewald AJ, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(3): 221-233.

(编辑: 周宇红)