

胰蛋白酶及 PAR-2 在恶性肿瘤调控中的研究进展

Progress in Trypsin and Protease-activated Receptor-2 on Regulation and Control for Malignant Tumor // ZHENG Yan-min, XIE Li-qun

郑艳敏^{1,2} 综述, 谢立群² 审校

(1.河北医科大学,河北 石家庄 050017;

2.中国人民武装警察部队后勤学院附属医院,天津 300162)

摘要:胰蛋白酶及蛋白酶激活受体-2(PAR-2)在多种肿瘤细胞中异常表达,且与肿瘤细胞的生物学特性及恶性程度密切相关。PAR-2 激活后可通过多种信号转导途径导致细胞增殖和侵袭转移。PAR-2 和胰蛋白酶可能成为肿瘤细胞生物学行为的新标志物,为临床恶性肿瘤的早期诊断和治疗提供一个方向。现全文对胰蛋白酶和 PAR-2 在恶性肿瘤调控途径中的最新进展作一全面的综述。

关键词:胰蛋白酶;蛋白酶激活受体-2;肿瘤

中图分类号:R735 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2012)05-0379-07

肿瘤的发生发展与胰蛋白酶及蛋白酶激活受体-2 (protease activated receptor 2, PAR-2) 密切相关,关于胰蛋白酶及 PAR-2 对肿瘤的影响作用及其分子机制的研究越来越多,成为肿瘤治疗研究方面的新热点。现本文就胰蛋白酶及 PAR-2 调控肿瘤细胞恶性行为的研究概况作一扼要综述。

1 胰蛋白酶与恶性肿瘤

1.1 胰蛋白酶原的分类与分布

人类胰腺细胞合成两种主要的胰蛋白酶,通常是以无活性的酶原形式存在,即胰蛋白酶原-1 和胰蛋白酶原-2。其中,胰蛋白酶原-2 与肿瘤有密切关系,又称为肿瘤相关胰蛋白酶原-2(tumor associated trypsinogen-2, TAT-2)。一般情况下,胰蛋白酶以非活性的酶原形式被分泌出后在十二指肠接受肠激酶的作用,切除 N-端的活化肽,成为活性酶,参与食物的消化过程。近来研究表明,胰腺外组织如消化道、皮肤、肺、肝、胆中存在胰蛋白酶原的表达^[1]。在胰腺癌、大肠癌、舌癌等多种肿瘤细胞中存在胰蛋白酶原

的高表达,且与肿瘤的发生、发展和转移机制密切相关^[2-4]。

1.2 胰蛋白酶原与肿瘤恶性行为的关系

在多种肿瘤组织及血清中存在胰蛋白酶原的异常表达,其被激活后通过降解细胞外基质,刺激肿瘤细胞增殖和侵袭。研究表明 TAT-1、TAT-2 在肝胆和胰腺肿瘤患者血清和组织中明显升高,在肿瘤检测中具有重要意义^[5,6]。张艺等^[7]研究表明,83 例胃癌患者血清中胃蛋白酶原 (PG)I 与 PG I / PG II 比值显著低于正常组,而 TAT-2 的含量明显高于健康者,利用血清 PG 与 TAT-2 联合筛查胃癌效果优于 TAT-2 或 PG 单筛。Williams 等^[8]报道人结肠癌组织中 TAT 的表达比其邻近的正常黏膜组织明显上调,通过 RNA-Northern 印迹实验显示,28 例恶性结肠肿瘤患者中的 9 例 TAT 的转录要比相应的正常黏膜上调 2~33 倍。通过细胞实验发现,6 个结肠癌细胞株中均表达 TAT mRNA,其中两个高转移株 SW620 和 HT29 表达 TAT mRNA 的量最高。TAT 的两个同工酶 TAT-1 和 TAT-2 的区别在于 TAT-2 表达于所有 6 个肿瘤细胞株,而 TAT-1 仅表达于两个高转移株。近来研究表明,TAT 不仅通过细胞外基质的降解发挥重要作用,还能做为一种生长刺激因子,活化 PAR-2,促进细胞增殖和转移^[9]。

通讯作者:谢立群,主任医师,博士;中国人民武装警察部队后勤学院附属医院消化内科,天津市河东区成林道 220 号 (300162);E-mail: xieliquan66@hotmail.com。

收稿日期:2011-12-09; **修回日期:**2012-01-18

2 PAR-2 与恶性肿瘤

2.1 PAR-2 的结构与分布

蛋白酶激活受体 (protease activated receptors, PARs) 属于 G-蛋白偶联受体家族成员, 包括 PAR-1、PAR-2、PAR-3 和 PAR-4 四个亚型。PARs 家族成员均有 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, 1 个胞内 C-端和胞外 N-端^[10]。PAR-1、PAR-3 和 PAR-4 是凝血酶受体, 而 PAR-2 是胰蛋白酶的细胞表面受体。PAR-2 可被胰蛋白酶和胰蛋白酶样丝氨酸蛋白酶, 如类胰蛋白酶、活化的凝血因子 VIIa 和 Xa 等激活, 其中胰蛋白酶是目前发现的最有效的 PAR-2 生理激动剂^[11]。PAR-2 激动剂自 Arg36 和 Ser37 之间切下 PAR-2 的 N-末端氨基酸残基, 暴露出 SLIGKV(人) 或 SLIGRL(鼠) 配体即系锁配体, 这个系锁配体和细胞外的受体分子相互作用, 从而激活该受体^[12]。近来研究发现, 模仿 PAR-2 的配体区域合成的小分子多肽可模拟内源性激动剂的作用直接激活 PAR-2^[13]。PAR-2 广泛表达于体内多种组织和器官, 激活后产生多种生理病理作用, 包括炎症反应、凝血反应、黏膜保护、收缩胃肠道平滑肌、促进细胞增殖和迁移等^[14]。PAR-2 激活剂持续或反复刺激可导致该受体对激活剂的反应性下降 (即受体脱敏), 脱敏后的 PAR-2 还可复敏。PAR-2 的脱敏及复敏与 PAR-2 内陷有关^[12]。

2.2 PAR-2 与肿瘤恶性行为的关系

大量研究表明, 在多种肿瘤细胞及组织中存在 PAR-2 的高表达, 如结肠癌、乳腺癌、胰腺癌、胃癌等, 提示 PAR-2 可能与肿瘤生物学特性和恶性程度密切相关。刘星等^[15]采用免疫组织化学法及逆转录聚合酶链式反应检测胰腺癌组织及细胞株 Bxpc-3 中 PAR-2 基因的表达, 结果发现, 胰腺癌组 PAR-2 的表达高于对照组, PAR-2 在胰腺癌中的表达与患者年龄、性别无关, 但癌细胞远处转移者显著高于无转移者, 说明胰腺癌的发生发展与 PAR-2 有关, PAR-2 在胰腺癌中的表达与患者年龄、性别无关, 但与淋巴结是否转移有关。Fujimoto 等^[16]研究发现, PAR-2 表达程度与胃癌浸润深度、淋巴侵犯、静脉侵犯、肝转移呈正相关, 且 PAR-2 阳性的患者比 PAR-2 阴性的患者预后差。我们在前期工作中亦发现肝癌组织中 PAR-2 的表达较癌旁组织明显升高, 胰蛋白

酶、SLIGKV 可通过激活 PAR-2 促进食管癌细胞增殖和侵袭转移能力^[17-18]。

3 胰蛋白酶及 PAR-2 促进肿瘤细胞增殖和侵袭转移的分子机制

3.1 TGF- α -EGFR-Src-ERK1/2 途径

转化生长因子- α (transforming growth factor α , TGF- α) 是参与细胞生长与转化的一类细胞因子, 可通过与细胞膜上的表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 结合, 通过介导其下游信号转导调控细胞的生长、分化、增殖、黏附、侵袭和迁移。Darmoul 等^[19]研究表明, 胰蛋白酶和 PAR-2 激动肽可通过降解基质金属蛋白酶, 释放 TGF- α , 转激活 EGFR, 激活 Src, 进而调节 ERK1/2 的活性和结肠癌 HT-29 细胞增殖, 这一过程可被 MMP 抑制剂巴马司他、TGF- α 封闭抗体、EGFR 阻断剂 (AG1478 和 PD168393)、Src 抑制剂 PP2 及 MEK 抑制剂 PD98059 所阻断。Caruso 等^[20]研究表明, PAR-2 激活肽激活 PAR-2 后可通过转激活 EGFR, 激活 Src 和 ERK1/2, 促进胃癌细胞 AGS 和 MKN28 增殖, 这一过程可被 Src 抑制剂 PP1 或 Src siRNA、EGFR 抑制剂 AG1478 或 EGFR siRNA 阻断。ERK1/2 激活后可通过刺激 G₀ 期细胞进入 S 期, 并可通过 S6 蛋白磷酸化促进核糖体 40S 亚基与 mRNA 结合, 促进蛋白质合成, 进而促进细胞增殖。这提示 PAR-2 激活后可通过 TGF- α -EGFR-Src-ERK1/2 途径促进肿瘤细胞增殖和分化。

3.2 钙离子通路

Ca²⁺ 广泛存在于细胞内、外液中, 是重要的第二信使, 可激活 Ca²⁺/钙调蛋白依赖性蛋白激酶, 使许多蛋白质的丝 (苏) 氨酸残基磷酸化, 使之激活或失活, 在体内参与癌细胞分化、增殖等多种生理过程的调节。PAR-2 可偶联 G α_q /11 和磷脂酶 C β 导致磷酸酯二磷酸肌醇水解、Ca²⁺ 动员, 进而激活蛋白激酶 C (PLC)、ERK1/2 和酪氨酸激酶 (TK)^[21]。Darmoul 等^[22]用荧光指示剂 Fura2/AM 检测结肠癌细胞株 HT-29 细胞内钙离子浓度变化, 研究发现胰蛋白酶和 PAR-2 激动肽 SLIGKV 能引起 HT-29 细胞内钙离子的快速瞬间升高, 而 PAR-2 反激动肽 VKGILS 无此作用, 此外, 在无钙离子培养基培养的 HT-29 细胞中, 胰

蛋白酶或 SLICKV 的促钙离子动员效应未受影响,说明钙离子来源于细胞内的钙离子库。DeFea 等^[23]研究表明,胰蛋白酶激活野生型 PAR-2 后,可诱导细胞内 Ca^{2+} 动员,活化 PLC 和 raf-1,形成 PAR-2、 β -arrestin、raf-1 和 ERK1/2 信号复合物。活化的 ERK1/2 可使细胞骨架蛋白、微管相关蛋白和磷脂酶 A2 磷酸化,启动多种细胞质反应。Nishibori 等^[24]分别用 PAR-1 激动肽和 PAR-2 激动肽刺激人结肠癌细胞株 DLD-1,结果表明 PAR-2 激活后可促进结肠癌细胞增殖,而 PAR-1 不能;PAR-2 激活后能诱导细胞内 Ca^{2+} 暂时升高以及 MEK1/2 和 ERK1/2 磷酸化,而 PAR-1 不能;MEK1/2 抑制剂 PD98059 可完全阻断 PAR-2 诱导的增殖效应;这说明 PAR-2 激活后可能通过 Ca^{2+} 或 MEK-ERK 信号通路促进结肠癌细胞增殖。

3.3 环氧合酶-2 途径

环氧合酶 (cyclooxygenase, COX) 是前列腺素 (prostaglandin, PG) 合成过程中的重要限速酶,可将花生四烯酸转变为各种内源性前列腺产物,有两种同工酶,COX-1 和 COX-2,其中 COX-2 在肿瘤发生、发展过程中发挥重要作用。近来研究表明,胰蛋白酶和 PAR-2 可通过调节 COX-2 的合成促进肿瘤细胞增殖和侵袭转移。Yada 等^[25]研究发现 PAR-2 激活后可增强 COX-2 表达,促进胰腺癌细胞 Panc1 增殖,COX-2 抑制剂美洛昔康可抑制 PAR-2 激活对胰腺癌细胞的增殖作用。俞敏等^[26]通过免疫组化检测 64 例胃腺癌组织和 10 例正常胃黏膜组织中 PAR-2 和 COX-2 表达,发现胃腺癌组织中 PAR-2 和 COX-2 阳性表达率均高于正常胃黏膜组织,COX-2 的高表达还与肿瘤大小、浸润深度、淋巴结转移及 TNM 分期相关,与患者的性别、年龄及分化程度无关;胃腺癌组织中 PAR-2 和 COX-2 的表达呈正相关;提示胃腺癌组织 PAR-2 和 COX-2 表达升高,两者的高表达在胃腺癌的发生和发展中发挥重要作用。

3.4 胰蛋白酶自分泌环作用

自分泌生长因子是维持肿瘤自主性生长的重要原因之一,多种肿瘤细胞中存在自分泌生长因子。大量研究表明肿瘤细胞中存在维持其自主生长的胰蛋白酶自分泌循环,胰蛋白酶可通过活化 PAR-2 发挥生物学效应,PAR-2 活化后亦可调节胰蛋白酶生成。

Uchima 等^[27]研究表明,PAR-2 激活后可诱导胰腺癌细胞 SW1990、CAPAN-2 分泌 TGF- β 、TAT、uPA、MMP-2,进而促进胰腺癌细胞增殖、细胞黏附、血管形成及侵袭转移过程,蛋白水解酶抑制剂加贝酯可抑制 TAT 和 uPA 的活性,减少 PAR-2 的激活,抑制 TGF- β 、uPA、MMP-2 的分泌。Ducroc 等^[28]通过 RT-PCR 方法检测发现结肠癌细胞株 T84、Caco-2、HT-29 和 C1.19A 中存在胰蛋白酶原的基因转录;通过 Western blot 方法发现在细胞裂解液及相应的细胞培养基中存在胰蛋白酶原-1 的表达;细胞裂解液中胰蛋白酶原的浓度在纳摩尔范围,与 PAR-2 激活的浓度相符合;进一步的研究证实,在 T84、Caco-2 或 C1.19A 细胞培养基中可检测出钙离子浓度增加,这一过程可被胰蛋白酶抑制剂阻断。这些结果表明 PAR-2 激活后可促进结肠癌细胞株 T84、Caco-2、HT-29 和 C1.19A 分泌胰蛋白酶,增加的胰蛋白酶又可激活更多的 PAR-2,进而发挥生物学效应。Ge 等^[29]发现转移性乳腺癌细胞 MDAMB-231 也存在此胰蛋白酶自分泌循环。PAR-2 与胰蛋白酶这种自分泌循环的方式与肿瘤细胞的增殖及侵袭转移密切相关。

3.5 IL-8 途径

IL-8 是一种与炎症及肿瘤发生发展密切相关的趋化因子。它通过 2 个细胞膜受体 (CXCR1 和 CXCR2) 发挥生物学效应,表达于某些癌细胞和新生血管内皮细胞上,具有促有丝分裂与血管生成的作用,与多种肿瘤的生长、浸润、转移及预后密切相关。Tanaka 等^[30]发现 PAR-2 激动肽可诱导人结肠癌细胞株 HCT-15 和胃腺癌细胞株 MKN-45 释放 IL-8,这一效应可被 MEK 抑制剂 (U0126) 或 PI3 激酶抑制剂 (LY294002) 阻断,且 PAR-2 激活后可激活下游激酶 ERK 和 Akt, U0126 能抑制 ERK 磷酸化,而不能抑制 Akt 磷酸化; LY294002 可抑制 Akt 磷酸化,而不能抑制 ERK 磷酸化。这说明, PAR-2 可通过两个不同的途径 MEK/ERK 和 PI3-kinase/Akt 诱导 IL-8 的释放,进而促进胃肠道细胞的炎症反应。Ikeda 等^[31]研究表明胰蛋白酶和 PAR-2 激活肽激活 PAR-2 后可上调胰腺癌 SUI2 和 MiaPaCa2 细胞中 IL-8 及其受体 CXCR2 的表达, IL-8 以自分泌和旁分泌方式作用于胰腺癌细胞及其周围成纤维细胞,进而促进肿瘤增殖和侵袭过程。

3.6 组织因子途径

组织因子(tissue factor, TF)是一种单链跨膜糖蛋白,通常与因子Ⅶ结合形成具有蛋白酶活性的TF/Ⅶa复合物,除了在凝血过程中发挥重要作用外,还参与多种病理生理过程,包括调节血管生成、肿瘤生长和转移等^[32]。TF主要通过PARs介导信号转导。研究表明,TF在胰腺癌、乳腺癌、急性白血病等肿瘤细胞表面及血管内皮细胞表达均异常增高,参与肿瘤生物学行为发生及肿瘤微环境形成^[33-35]。Gessler等^[36]研究表明,在低氧环境中,肿瘤细胞侵袭转移能力升高,同时TF表达量及P44/42-ERK1/2磷酸化水平均明显升高,沉默TF或PAR-2基因可完全阻断TF在该细胞中增殖及侵袭转移中的作用,表明TF/Ⅶa/PAR-2/ERK是肿瘤增殖及侵袭转移过程中的重要途径。石文霞等^[37]用ELISA法检测细胞培养上清中IL-8水平,实时定量PCR法检测细胞IL-8 mRNA表达,结果表明血浆浓度(100 pmol/L)乃至10倍血浆浓度(1nmol/L)的FⅦa单独使用不能活化PAR-2而诱导细胞IL-8分泌,而当因子X存在的条件下具有效应;更高浓度(10nmol/L)FⅦa单独作用即可显著促进细胞IL-8表达,此时加入FX则不能增加效应;FⅦa必须与细胞膜TF结合(TF-FⅦa)才具有作用,抗TF及抗PAR-2抗体均能阻断FⅦa的效应。提示低浓度Ⅶa主要以TF-FⅦa-FXa复合物形式作用于PAR-2,高浓度FⅦa则不需要FXa,仅TF-FⅦa就足以活化PAR-2。TF-FⅦa及TF-FⅦa-FXa复合物,而非FⅦa,活化PAR-2后可上调SW620细胞IL-8表达,从而促进细胞增殖及迁移。Shi等^[38]通过ELISA、Western Blot和QT-PCR方法检测FⅦa或PAR-2激动肽处理人结肠癌细胞SW620后IL-8、TF、caspase-7和p-p38 MAPK mRNA和蛋白表达变化,结果表明FⅦa或PAR-2激动肽诱导IL-8的基因和蛋白表达,上调TF mRNA表达和活性,但下调caspase-7和p-p38 MAPK的表达,FⅦa的这种效应不仅被TF抗体阻断也被PAR-2抗体阻断,说明TF/Ⅶa复合体激活PAR-2后可引起IL-8和TF的表达,抑制caspase-7表达,进而促进肿瘤细胞增殖和迁徙,p38 MAPK可能负调控这一过程。

3.7 NF-κB途径

核转录因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)是一

类普遍存在的转录因子,能和许多基因启动子区域的固定核苷酸序列结合而启动基因转录,进而调节编码生长因子、细胞因子、细胞黏附分子等蛋白的基因转录,在机体免疫应答、炎症反应及细胞生长调控等方面发挥重要作用。近来研究表明,NF-κB与PAR-2密切相关。叶献词等^[39]研究发现,溃疡性结肠炎肠黏膜中PAR-2与NF-κB p65蛋白表达呈正相关,表明PAR-2激活后可能启动受体后信号转导途径,促进NF-κB活化,大量炎性细胞因子释放,从而导致溃疡性结肠炎肠黏膜炎症反应。Park等^[40]研究表明,在大鼠星形胶质细胞中,PAR-2被PAR-2激动剂激活后可使NO产生增多及NF-κB的转录活性增强和IκB磷酸化,且ERK、p38MAPK、JNK、NF-κB抑制剂均可抑制PAR-2介导的NO产生。Syeda等^[41]研究表明,在人内皮细胞中,PAR-2活化后可激活ERK1/2和p38MAPK,上调COX-2表达,增强NF-κB p65核转录及磷酸化,且p38MAPK抑制剂SB203580和NF-κB抑制剂PCA90能明显抑制PAR-2激动剂诱导的COX-2表达。Moriyuki等^[42]研究发现,PAR-2激活后可通过促进Akt磷酸化,NF-κB抑制蛋白(IκB)磷酸化,进而促进PGE₂释放,此过程可被MEK、PI3K和Akt抑制剂,而不是p38MAPK和JNK抑制剂所阻断,说明PAR-2激活后可通过MEK/ERK/PI3K/Akt/NF-κB途径促进PGE₂释放。目前尚未见关于PAR-2与NF-κB在肿瘤细胞中相互作用的报道,有待进一步的研究。

总之,胰蛋白酶和PAR-2可通过TGF-α-EGFR-Src-ERK1/2、Ca²⁺-ERK1/2、COX-2、胰蛋白酶自分泌环、IL-8、TF且可能通过NF-κB信号转导途径调控肿瘤细胞增殖和侵袭转移,这些信号转导途径间可能存在相互交叉作用。信号转导通路是一个复杂的调控网络,其他可能参与信号转导的分子的作用有待进一步探讨。

4 胰蛋白酶、PAR-2与肿瘤治疗

4.1 胰蛋白酶抑制剂

胰蛋白酶抑制剂(trypsin inhibitor, TI)指具有抑制胰蛋白酶活性作用的一类物质,根据其来源不同可分为多种种类,如从牛肺或牛胰中提取的抑肽酶、从人尿中提取的人尿胰蛋白酶抑制剂、从黄豆中提

取的大豆胰蛋白酶抑制剂、从南瓜籽中提取的南瓜胰蛋白酶抑制剂等,另外还有很多人工合成的,如甲磺酸胍己苯脂等,这些 TI 能抑制丝氨酸蛋白酶的活性,在临床上广泛用于急性胰腺炎、再灌注损伤、肺气肿、脑水肿、肿瘤的浸润和转移等疾病。肿瘤细胞在产生肿瘤相关胰蛋白酶原的同时也产生肿瘤相关胰蛋白酶原抑制剂 (tumor-associated trypsin inhibitor, TATI),它是胰蛋白酶的强抑制剂,能抑制胰蛋白酶原的活化,与胰蛋白酶相互作用而使其逐渐降解。近来研究表明,胰蛋白酶抑制剂具有潜在的抗肿瘤作用。白崇智等^[43]采用 MTT 法、DNA 电泳分析、细胞核形态学观察、细胞色素 c 检测、caspases 活性检测等方法测定重组荞麦胰蛋白酶抑制剂 (rBTI)在体外诱导肝癌细胞 H₂₂ 凋亡的作用,结果显示 rBTI 能够在体外特异性地抑制 H₂₂ 细胞的生长,诱导 H₂₂ 细胞凋亡,且呈剂量和时间依赖性;rBTI 处理细胞后可导致细胞色素 c 从线粒体释放到细胞质中,并能增强 caspase-3、caspase-8、caspase-9 的活性;这些结果表明 rBTI 能特异性地诱导 H₂₂ 细胞凋亡,其机制与 caspase-3 依赖性凋亡调节信号通路有关。刘同祥等^[44]采用 MTT 法检测 SBTI 对人肺癌 PG 细胞的增殖抑制作用,流式细胞仪检测 SBTI 对人肺癌 PG 细胞周期的影响,电子显微镜观察 SBTI 对细胞凋亡的作用,结果显示 SBTI 对人肺癌 PG 细胞的生长有明显抑制作用;SBTI 可以将人肺癌 PG 细胞阻滞于 S 期;SBTI 可以促使人肺癌 PG 细胞出现明显的染色质浓缩和凋亡小体,诱导人肺癌 PG 细胞的凋亡。胰蛋白酶可能成为重要的肿瘤标志物,胰蛋白酶抑制剂有望成为新型的抗肿瘤制剂,有待进一步研究和开发。

4.2 PAR-2 抑制剂

目前人们已设计合成了多种 PAR-2 拮抗剂。Kanke 等^[45]模拟 PAR-2 配体区域研究出 PAR-2 拮抗剂 K-12940 及 K-14585,这两种拮抗剂均可竞争性抑制 PAR-2 激活剂引起的细胞内 Ca²⁺动员及 NF- κ B 介导的 IL-8 的生成。Park 等^[46]研究发现,用 PAR-2 拮抗剂(FSLLRY-Amide)作用于糖尿病大鼠可减少 TNF- α 、gp91(phox)和 PAR-2 蛋白的表达。Barry 等^[47]设计合成 PAR-2 激动剂 GB110 和 PAR-2 拮抗剂 GB83,GB110 可通过激活 PAR-2 诱导结肠癌细胞株 HT29 细胞内 Ca²⁺释放,而 GB83 能可逆地抑制

蛋白酶和其他 PAR-2 激动剂对 PAR-2 的激活。Kelso 等^[48]报道,PAR-2 拮抗剂(ENMD-1068)能显著缓解实验性鼠急性关节炎的炎症反应,并呈剂量依赖性。PAR-2 有可能成为肿瘤治疗上的一个新的靶点,PAR-2 拮抗剂可能成为新的抗肿瘤药物,抑制 PAR-2 的表达有可能阻断恶性肿瘤的发生发展。

5 结语与展望

综上所述,胰蛋白酶和 PAR-2 可通过 TGF- α -EGFR-Src-ERK1/2、Ca²⁺-ERK1/2、COX-2、胰蛋白酶自分泌环、IL-8、TF 等多种信号转导途径调控肿瘤细胞增殖和侵袭转移,且这些信号转导途径间可能存在相互交叉作用,其具体机制尚需进一步研究。在临床上,对 PAR-2 及胰蛋白酶原高度表达的病人应高度警惕恶性肿瘤的可能。PAR-2 和胰蛋白酶可能成为肿瘤细胞生物学行为的新标志物,有望成为临床恶性肿瘤的早期诊断和治疗的新靶点。通过对 PAR-2 拮抗剂及胰蛋白酶抑制剂的研究可能开发出新型的抗肿瘤药物,且抑制 PAR-2 和胰蛋白酶所介导的信号转导通路可能阻断恶性肿瘤的发生发展。

参考文献:

- [1] Koshikawa N, Hasegawa S, Nagashima Y, et al. Expression of trypsin by epithelial cells of various tissues, leukocytes, and neurons in human and mouse [J]. *Am J Pathol*, 1998, 153 (3):937-944.
- [2] Shimamoto R, Sawada T, Uchima Y, et al. A role for protease-activated receptor-2 in pancreatic cancer cell proliferation[J]. *Int J Oncol*, 2004, 24(6):1401-1406.
- [3] Yamamoto H, Iku S, Adachi Y, et al. Association of trypsin expression with tumour progression and matrilysin expression in human colorectal cancer [J]. *J Pathol*, 2003, 199(2):176-184.
- [4] Li Z, Bian LJ, Li Y, et al. Expression of protease-activated receptor-2 (PAR-2) in patients with nasopharyngeal carcinoma: correlation with clinicopathological features and prognosis[J]. *Pathol Res Pract*, 2009, 205 (8):542-550.
- [5] Hedström J, Haglund C, Leinonen J, et al. Trypsinogen-1, -2 and tumour-associated trypsin-inhibitor in bile and biliary tract tissues from patients with biliary tract diseases and pancreatic carcinomas [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2001, 61(2):111-118.

- [6] 崔婷婷, 曹建彪, 郭汉斌. 血清肿瘤相关性胰蛋白酶原 2 检测在胰腺癌初筛中的意义 [J]. 医学综述, 2011, 17(7): 1092-1094.
- [7] 张艺, 张珏, 马智鸿, 等. 胃蛋白酶原与胰蛋白酶原-2 联合检测筛查胃癌的意义 [J]. 中国临床医学, 2009, 16(4): 548-550.
- [8] Williams SJ, Gotley DC, Antalis TM. Human trypsinogen in colorectal cancer [J]. *Int J Cancer*, 2001, 93(1): 67-73.
- [9] Alm AK, Gagnemo-Persson R, Sorsa T, et al. Extrapancratic trypsin-2 cleaves proteinase-activated receptor-2 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 275 (1): 77-83.
- [10] Jiang R, Zatta A, Kin H, et al. PAR-2 activation at the time of reperfusion salvages myocardium via an ERK1/2 pathway in vivo rat hearts [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 293(5): H2845-2852.
- [11] Awasthi V, Mandal SK, Papanna V, et al. Modulation of tissue factor-factor VIIa signaling by lipid rafts and caveolae [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(6): 1447-1455.
- [12] Al-Ani B, Hansen KK, Hollenberg MD. Proteinase-activated receptor-2: key role of amino-terminal dipeptide residues of the tethered ligand for receptor activation [J]. *Mol Pharmacol*, 2004, 65(1): 149-156.
- [13] Kirkland JG, Cottrell GS, Bunnett NW, et al. Agonists of protease-activated receptors 1 and 2 stimulate electrolyte secretion from mouse gallbladder [J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2007, 293(1): G335-346.
- [14] 李轩, 谢立群. PARs 与消化系统肿瘤关系的研究进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(21): 2179-2183.
- [15] 刘星, 胡煜辉, 肖游章, 等. PAR-2 在人胰腺肿瘤细胞中的表达及其相关机制的研究 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2011, 27(4): 430-432.
- [16] Fujimoto D, Hirano Y, Goi T, et al. Expression of protease activated receptor-2 (PAR-2) in gastric cancer [J]. *J Surg Oncol*, 2006, 93(2): 139-144.
- [17] 海鸥, 谢立群, 李轩, 等. 蛋白酶激活受体-2 在原发性肝癌组织中的表达 [J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(20): 2159-2162.
- [18] 周静, 谢立群, 李飞, 等. 蛋白酶激活受体 2 激动剂对食管癌 EC109 细胞侵袭转移的促进作用 [J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(13): 1313-1319.
- [19] Darmoul D, Gratio V, Devaud H, et al. Protease-activated receptor 2 in colon cancer: trypsin-induced MAPK phosphorylation and cell proliferation are mediated by epidermal growth factor receptor transactivation [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(20): 20927-20934.
- [20] Caruso R, Pallone F, Fina D, et al. Protease-activated receptor-2 activation in gastric cancer cells promotes epidermal growth factor receptor trans-activation and proliferation [J]. *Am J Pathol*, 2006, 169(1): 268-278.
- [21] Lidington EA, Steinberg R, Kinderlerer AR, et al. A role for proteinase-activated receptor 2 and PKC- κ in thrombin-mediated induction of decay-accelerating factor on human endothelial cells [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2005, 289 (6): 1437-1447.
- [22] Darmoul D, Marie JC, Devaud H, et al. Initiation of human colon cancer cell proliferation by trypsin acting at protease-activated receptor-2 [J]. *Br Cancer*, 2001, 85 (5): 772-779.
- [23] Defea KA, Zalevsky J, Thoma MS, et al. Bate-arrestin-dependent endocytosis of proteinase-activated receptor 2 is required for intracellular targeting of activated ERK1/2 [J]. *Cell Biol*, 2000, 148(6): 1267-1281.
- [24] Nishibori M, Mori S, Takahashi HK. Physiology and pathophysiology of proteinase-activated receptors (PARs): PAR-2-mediated proliferation of colon cancer cell [J]. *J Pharmacol Sci*, 2005, 97(1): 25-30.
- [25] Yada K, Shibata K, Matsumoto T, et al. Protease-activated receptor-2 regulates cell proliferation and enhances cyclooxygenase-2 mRNA expression in human pancreatic cancer cells [J]. *J Surg Oncol*, 2005, 89(2): 79-85.
- [26] 俞敏, 冯一中, 王辉, 等. PAR-2 和 COX-2 在胃癌中的表达及意义 [J]. 山东医药, 2009, 49(1): 50-51.
- [27] Uchima Y, Sawada T, Hirakawa K. Action of antiproteases on pancreatic cancer cells [J]. *JOP*, 2007, 8(4 Suppl): 479-487.
- [28] Ducroc R, Bontemps C, Marazova K, et al. Trypsin is produced by and activates protease-activated receptor-2 in human cancer colon cells: evidence for new autocrine loop [J]. *Life Sci*, 2002, 70(12): 1359-1367.
- [29] Ge L, Shenoy SK, Lefkowitz RJ, et al. Constitutive protease-activated receptor-2-mediated migration of MDAMB-231 breast cancer cells requires both beta-arrestin-1 and-2 [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(53): 55419- 55424.
- [30] Tanaka Y, Sekiguchi F, Hong H, et al. PAR2 triggers IL-8 release via MEK/ERK and PI3-kinase/Akt pathways in GI epithelial cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 377(2): 622-626.
- [31] Ikeda O, Egami H, Ishiko T, et al. Signal of proteinase-activated receptor-2 contributes to highly malignant potential of human pancreatic cancer by up-regulation of interleukin-8 release [J]. *Int J Oncol*, 2006, 28(4): 939-946.
- [32] 郭艳丽, 闫慧明, 宋善俊. 组织因子、尿激酶型纤溶酶原

- 激活剂受体 mRNA 在人乳腺癌中的表达 [J]. 肿瘤学杂志, 2005, 11(2): 113–115.
- [33] Nadir Y, Brenner B, Zetser A, et al. Heparanase induces tissue factor expression in vascular endothelial and cancer cells[J]. *J Thromb Haemost*, 2006, 4 (11): 2443–2451.
- [34] Jiang X, Guo YL, Bromberg ME. Formation of tissue factor-VIIa-factor Xa complex prevents apoptosis in human breast cancer cells[J]. *Thromb Haemost*, 2006, 96(2): 196–201.
- [35] Nitori N, Ino Y, Nakanishi Y, et al. Prognostic significance of tissue factor in pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(7): 2531–2539.
- [36] Gessler F, Voss V, Dützmann S, et al. Inhibition of tissue factor/ protease-activated receptor-2 signaling limits proliferation, migration and invasion of malignant glioma cells [J]. *Neuroscience*, 2010, 165(4): 1312–1322.
- [37] 石文霞, 周红, 李娜, 等. FVIIa 依赖 TF 及 FX 活化 PAR2 上调 SW620 细胞 IL-8 表达 [J]. 血栓与止血学, 2009, 15 (2): 53–56.
- [38] 石文霞, 周红, 李娜, 等. 凝血因子 VIIa 促进 SW620 细胞增殖与迁移的机制探讨 [J]. 中华肿瘤杂志, 2009, 31(7): 485–489.
- [39] 叶献词, 吴正祥. 蛋白酶激活受体 2、NF- κ B 在溃疡性结肠炎肠黏膜的表达及其与肥大细胞相关性研究 [J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2009, 18(2): 138–141.
- [40] Park GH, Jeon SJ, Ryu JR, et al. Essential role of mitogen-activated protein kinase pathways in protease activated receptor 2-mediated nitric-oxide production from rat primary astrocytes [J]. *Nitric Oxide*, 2009, 21(2): 110–119.
- [41] Syeda F, Grosjean J, Houliston RA, et al. Cyclooxygenase-2 induction and prostacyclin release by protease-activated receptors in endothelial cells require cooperation between mitogen-activated protein kinase and NF-kappaB pathways [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(17): 11792–11804.
- [42] Moriyuki K, Sekiguchi F, Matsubara K, et al. Proteinase-activated receptor-2-triggered prostaglandin E(2) release, but not cyclooxygenase-2 upregulation, requires activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt /nuclear factor-kappa B pathway in human alveolar epithelial cells [J]. *J Pharmacol Sci*, 2009, 111(3): 269–275.
- [43] 白崇智, 李玉英, 李芳, 等. 重组羧基胰蛋白酶抑制剂诱导肝癌细胞 H₂₂ 凋亡的作用及其机制 [J]. 细胞生物学杂志, 2009, 31(1): 79–83.
- [44] 刘同祥, 张少娟, 艾浩, 等. 大豆胰蛋白酶抑制剂抑制肺癌 PG 细胞生长及诱导细胞凋亡的研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(9): 2180–2181.
- [45] Kanke T, Kabeya M, Kubo S, et al. Novel antagonists for proteinase-activated receptor 2: inhibition of cellular and vascular responses in vitro and in vivo [J]. *Br J Pharmacol*, 2009, 158(1): 361–371.
- [46] Park Y, Yang J, Zhang H, et al. Effect of PAR2 in regulating TNF- α and NAD (P)H oxidase in coronary arterioles in type 2 diabetic mice [J]. *Basic Res Cardiol*, 2011, 106(1): 111–123.
- [47] Barry GD, Suen JY, Le GT, et al. Novel agonists and antagonists for human protease activated receptor 2 [J]. *J Med Chem*, 2010, 53 (20): 7428–7440.
- [48] Kelso EB, Lockhart JC, Hembrough T, et al. Therapeutic promise of proteinase-activated receptor-2 antagonism in joint inflammation [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 316(3): 1017–1024.