

纤溶酶原受体与相关疾病的分子机制*

陈武^{1)**} 莫炜²⁾ 王来友^{3)**}

(¹⁾湖北医药学院附属东风医院检验部, 十堰 442000; (²⁾复旦大学代谢与分子医学教育部重点实验室, 上海 200032;

(³⁾广东药学院中医药研究院, 广州 510006)

摘要 纤溶酶原(PLG)经激活为纤溶酶(PLM)后, 除了发挥纤溶和栓溶作用, 还广泛参与胚胎发育、组织重构、伤口愈合等生理过程。近年来研究显示: PLM 还与炎症、自身免疫、肿瘤和神经变性等存在紧密联系, 而且已在细胞表面发现十几种 PLG 受体(PLGR)、结合蛋白。我们综述了这些受体和结合蛋白的结构、信号通路和致病机制方面的研究进展, 从而为进一步理解纤溶系统的功能、发展新的诊疗方法提供思路。

关键词 纤溶酶原, 受体, 结合蛋白, 信号传导, 疾病

学科分类号 R54, Q5

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0231

纤溶酶(plasmin, PLM)由纤溶酶原(plasminogen, PLG)激活生成, 是一个相对广谱的蛋白酶, 除了发挥纤溶和栓溶作用外, 还广泛参与组织重构、伤口愈合、受精排卵等生理过程^[1]。近年来研究表明, PLM 能够与多种细胞结合, 调节细胞黏附、迁移、增殖、分化、凋亡和衰老, 并参与肿瘤转移、炎症、自身免疫和神经变性等疾病过程^[2-4]。目前已发现十几种 PLG 受体(plasminogen receptors, PLGR)、结合蛋白^[5]。了解它们的结构和功能将有助于我们更好地理解发病机制, 并找到新的诊断和治疗靶靶。

1 PLM 激活的分子机制

PLM 在体内以 Glu-PLG 和 Lys-PLG 两种酶原的形式存在。Glu-PLG 是一个包含 791 个氨基酸的糖蛋白, 由前激肽(pre-activation peptide, PAP)、5 个同源的三角区(kringle, K)和 1 个丝氨酸蛋白酶区 (serine protease, SP) 组成。PLG 激活剂(plasminogen activator, PA)、组织型纤溶酶原激活剂(tissue-type plasminogen activator, tPA)和尿激酶(urine-type plasminogen activator, uPA), 通过水解 PLG 的 Arg561-Val562 肽键, 形成纤溶活性的 PLM^[6](图 1)。刚表达的 Glu-PLG 由于 PAP 区与 K4、K5 的相互作用, 分子处于紧密结构, 激活位点隐藏于分子内^[7]; 当 Glu-PLG 与底物、受体结合

后暴露出激活位点, 从而启动激活; 少量激活的 PLM 水解去除 PAP, 形成结构更加松散的 Lys-PLG, 使其更容易被 PA 激活^[8]。

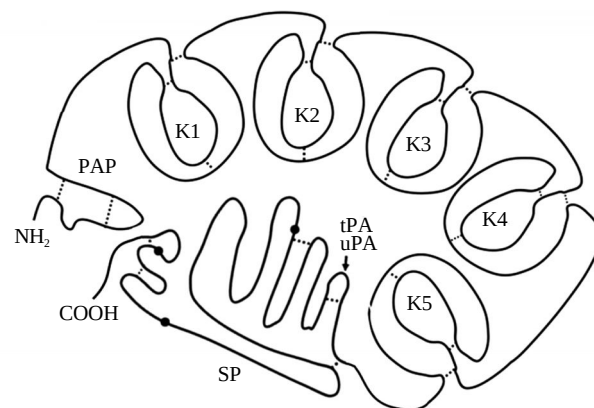


Fig. 1 A sketch of structural domain array of plasminogen

图 1 PLG 结构域排列示意图

PAP: 前激肽; SP: 丝氨酸蛋白酶结构域; K: kringle 结构域; tPA: 组织型纤溶酶原激活剂; uPA: 尿激酶。箭头示 uPA、tPA 激活位点; 圆点示催化三角区氨基酸: His603、Asp646、Ser741; 虚线示二硫键。

* 湖北省教育厅资助项目(B2013105)和国家自然科学基金资助项目(81102502)。

** 通讯联系人。

陈武. Tel: 0719-8272364, E-mail: cwy_100@163.com

王来友. Tel: 020-39352123, E-mail: wanglaiyou@gdpu.edu.cn

收稿日期: 2015-08-28, 接受日期: 2015-10-23

2 PLG 受体和结合蛋白

目前, 已知 PLGR 和结合蛋白在细胞表面的分布从 3.7×10^4 个 / 血小板到 10^7 个 / 血管内皮细胞. PLG 通过 K 区赖氨酸结合位点(lysine-binding site, LBS)与受体的羧基端赖氨酸(carboxyl terminal lysine, CTL)或含有赖氨酸的结构域结合^[9]. tPA 的指形区、K2 区同样具有 LBS, 往往与 PLG 共同结

合于底物、细胞表面; uPA 与 Lys 的亲合力较低, 主要通过 uPA 受体(uPAR)锚合于细胞表面. PLG 和 PA 聚集于细胞表面, 可以明显降低 PA 与 PLG 的 K_m 值(11~60 倍), 提高 PLG 的激活速率, 同时避免 α_2 抗纤溶酶(α_2 anti-plasmin, α_2 -AP)、纤溶酶原激活剂抑制物 1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)的灭活^[10](图 2).

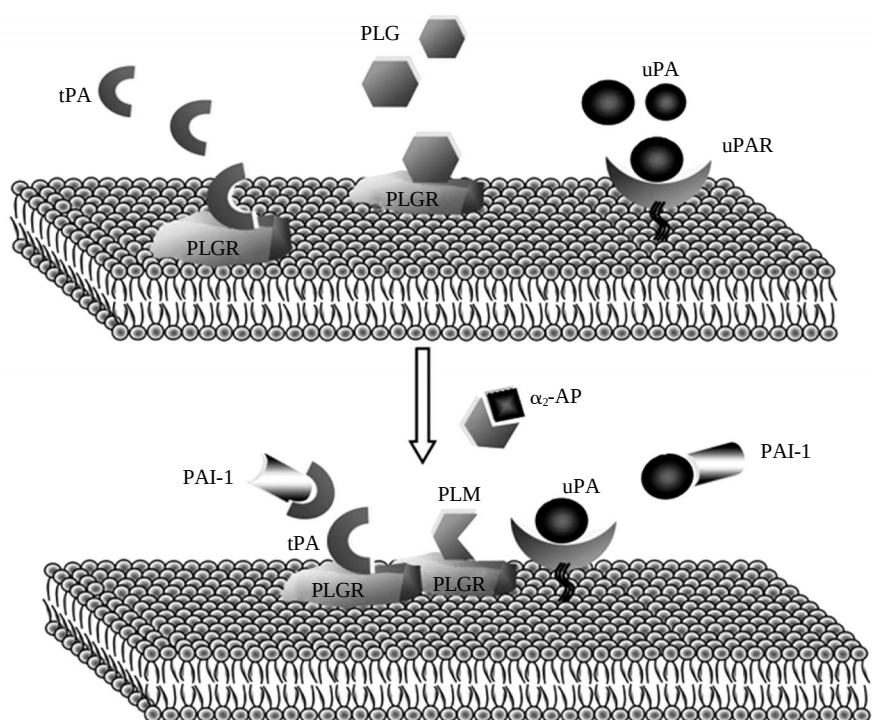


Fig. 2 The schematic diagram of plasminogen activation and inhibition on cell surface

图 2 细胞表面纤溶酶原的激活和抑制模式图

PLGR: 纤溶酶原受体; uPA: 尿激酶; uPAR: 尿激酶受体; PAI-1: 纤溶酶激活剂抑制物 1; α_2 -AP: α_2 抗纤溶酶; tPA: 组织型纤溶酶原激活剂.

细胞表面激活的 PLM 主要发挥几个方面的作用: a. 直接降解细胞周质蛋白, 如纤连蛋白、层黏联蛋白; b. 激活基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP), 如 MMP-1、MMP-3、MMP-9, 降解基底的胶原蛋白; c. 通过受体的变构效应和胞内的信号转导, 诱导细胞运动或表达和释放细胞因子; d. 水解细胞表面或间质中某些蛋白, 释放活性肽和生长因子, 并与自身或邻近细胞表面的相应受体结合, 发挥自分泌和旁分泌的作用. 现对近 20 年发现的 PLGR 和细胞表面结合蛋白进行分类总结(表 1).

2.1 具有 CTL 的 PLG 受体

2.1.1 Plg-R_{KT}

Plg-R_{KT} 是由 2 个跨膜螺旋组成、含有 CTL 的单链膜蛋白^[11](图 3). 体外研究表明: 巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, M-CSF)激活髓系前体细胞 Hoxa9-ER4 分化时, Plg-R_{KT} 表达明显增加, 并提高 tPA 激活 PLG 速率 12.7 倍, 而抗 Plg-R_{KT}-CTL 抗体能抑制 58% 的激活; 外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)经单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1)刺激后, Plg-R_{KT} 和

uPAR 的表达出现增加, 并且两者共定位于细胞表面^[12]. 体内实验表明: 在硫酸质诱导的小鼠腹膜炎腹腔分离的单核样细胞中, Plg-R_{KT} 的表达也出现增加, 预注射抗 Plg-R_{KT}-CTL 抗体、Lys 类似物或 PLM 抑制剂都能明显减少腹腔分泌物中单核细胞数量. 提示这种促迁移作用依赖于 Plg-R_{KT}、PLG 结合和蛋白酶活性^[13](表 1).

此外, Plg-R_{KT} 还表达于各种儿茶酚胺能细胞表面, 并以 PLM 依赖的方式抑制尼古丁诱导的肾上腺髓质儿茶酚胺释放, 提示细胞表面 PLM 可能降解某些多肽激素, 从而参与神经内分泌的调节(表 1)^[14].

2.1.2 α 醛缩酶(α -enolase)

α -enolase 是糖酵解过程中的关键酶之一, 也是最早发现的具有天然 CTL 的 PLGR^[15]. 然而晶体结构显示, 只有当 α -enolase 形成二聚体时, CTL 才暴露于分子表面, 故推测 Lys255 可能是单体 α -enolase 的另一个结合位点^[16](表 1, 图 3). 已知内毒素刺激 U937 单核样细胞 6 h 即可增强 α -enolase 从胞质转移至细胞表面, 并促进 PBMC 迁移至小鼠肺泡, 而抗 α -enolase-CTL 抗体可抑制 20% 的脂多糖作用. 临床研究也证实: 与健康个体相比, 急性肺炎患者血液和肺泡中的单核细胞 α -enolase 表达增高, 并与 PLG 共定位于细胞表面^[17].

此外, 肺癌、乳腺癌、胰腺癌细胞表面的 α -enolase 也明显增多, 并且与增强的 PLM 产生、蛋白质水解、癌细胞增殖、侵袭和转移相关^[18](表 1). 在非小细胞性肺癌, 过表达的 α -enolase 通过激活 FAK/PI3K/AKT 增强癌细胞的糖酵解、生长、迁移和侵袭, 敲除 α -enolase 可逆转该过程^[19]; 敲除胶质瘤细胞的 α -enolase 则明显下调 cyclin D1、Cyclin E、pRb 和 NF- κ B 基因的表达, 并且逆转了上皮细胞向间质细胞的转化^[20]; 一种磷酸化 α -enolase 异构体可诱导 HLA-DR8 特异性 T 细胞产生自身抗体, 并与胰腺癌化疗的良好预后相关^[21].

2.1.3 组蛋白 2B(histone 2B, H2B)

H2B 是一个高度保守的小分子蛋白, 与组蛋白 2A、H3 和 H4 共同组成核小体. H2B 不仅存在于细胞核, 还可以通过磷脂酰丝氨酸锚定于细胞膜^[22]. 有研究表明, 在伏波酯诱导单核细胞向巨噬细胞分化和硫酸质诱导巨噬细胞迁移过程中, H2B 向细胞表面转运增强导致 PLG 结合增多, 采用抗 H2B 抗体可减少 50% 的 PLG 结合, 而向巯基乙酸诱导的腹膜炎小鼠注射抗 H2B 可变区片段, 可明

显减少巨噬细胞的炎症聚集^[23-24](表 1).

目前已知, 这种 H2B 上调机制与 L 型钙离子通道(L-type calcium channel, LTCC)有关, 受钙离子调控. LTCC 的阻断剂, 维拉帕米和氨氯地平, 可以抑制组蛋白 H2B 的转移以及磷脂酰丝氨酸的暴露; 赖氨酸类似物和羧肽酶可以减少细胞表面 PLG 的结合^[25](图 3).

另一方面, 细胞表面的 H2B 可诱导产生自身抗体, 导致系统性红斑狼疮和全身硬化. 这些抗体阻断了 PLG 与 H2B 的结合, 抑制了机体的纤溶活性, 导致全身性高凝状态^[22, 26](表 1).

2.1.4 膜联素 A2-S100A10 异四聚体(A II t)

A II t 是由 S100A10 和膜联素 A2(annexin A2) 组成异四聚体, 但只有 S100A10 含有 CTL. Annexin A2 是钙依赖的磷脂结合蛋白超家族成员, 可以将 S100A10 转运至细胞表面并锚定在细胞膜上, 过量的 S100A10 则被泛素化降解, 故细胞表面 S100A10 受 Annexin A2 调控^[27](图 3). A II t 可以同时结合 tPA 和 PLG, 并使 PLG 的激活速率提高 90 倍^[28]. O'Connell 等^[29]证实: S100A10 敲除的小鼠中穿过炎症腹膜的巨噬细胞减少, 并与巨噬细胞表面 PLM 的产生和 MMP-9 的激活减少相关(表 1).

激活的 PLM 还水解 Annexin A2 的氨基末端, 产生的活性肽与 Toll 样受体(Toll like receptor, TLR)结合, 促进 MAPK 磷酸化、NF- κ B 核转移以及 TNF- α 、IL-1、IL-6 及细胞趋化因子的表达, 进一步强化炎症反应^[30](图 3). Li 等^[31]研究表明: 该 N 端活性肽还激活 I 型细胞因子受体, 激活酪氨酸激酶 JAK-1 和 STAT-3, 增加单核/巨噬细胞趋化蛋白 1(MCP-1)的表达和释放. 此外, annexin A2 同样可以引起机体产生自身抗体, 导致抗磷脂综合症, 并且这种自身抗体阻止了 PLM 的产生, 同时激活血管内皮细胞释放组织因子, 引起静脉栓塞^[32]. 作为能与 PLG 结合亚基 S100A10 的调节蛋白, Annexin A2 还可作为是多种肿瘤的标记物^[33](表 1).

2.1.5 细胞角蛋白 8(cytokeratin 8, CK8)

CK8 是细胞中间丝蛋白家族的重要成员, 也是唯一具有 CTL 的中间丝蛋白. 在胞内 CK8 与 CK18 组成丝状结构连接细胞核与质膜. 而在胞外 CK8 和其他中间丝蛋白与桥粒、半桥粒起到连接细胞、细胞与基质的作用. 研究表明, 细胞表面及释放的 CK8 可以结合 PLG 和 tPA, 促进了 PLG 的激活, 并且是肝癌、乳腺癌细胞表面 PLG 激活所

必需的受体^[34](图 3, 表 1).

2.2 细胞表面 PLG 结合蛋白

2.2.1 血栓调节蛋白 1(thrombomodulin-1, TM-1)

TM-1 是包含 5 个结构域的 I 型跨膜糖蛋白. TM-1 与凝血酶 1:1 结合后, 使凝血酶不能催化纤维蛋白原聚合, 转而激活血浆蛋白 C(protein C, PC), 降解凝血因子 Va 和 VIIIa, 从而发挥抗凝作用^[35](图 3). 在迁移的血管内皮细胞, TM-1、PLG、uPAR 共定位于运动方向的细胞膜脂筏内, 并与周围基质降解的区域一致. 提示 TM-1 作为内皮细胞表面 PLG 结合蛋白在新生血管中发挥重要作用. TM-1 不具有 CTL, 目前已知与 PLG 结合的位点存在于 Ala₂₂₄-Ser₄₉₇ 区^[36-37]. 此外, 在动脉粥样硬化和皮肤伤口愈合过程中, 新生平滑肌细胞和上皮细胞表面 TM-1 的表达也明显增加, 并与增强的细胞迁移有关^[38](表 1).

2.2.2 β 肌动蛋白(β -actin)

β -actin 是分子质量约 42 ku 的球蛋白. 作为细胞内骨架蛋白维持细胞形态, 参与肌肉收缩、细胞移动、黏附和分裂等过程. 此外, β -actin 还存在于细胞外表面和细胞间质. β -actin 不含有 CTL, 通过 Lys₆₁ 和 Lys₆₈ 与 PLM、PLG、tPA 的 LBS 结合, 并使内皮细胞的基质穿透能力提高 2~3 倍, 促进内皮细胞迁移和血管新生^[39]. 另一方面, 肿瘤细胞表面激活的 PLM 可自身水解产生血管他汀, 发挥抗血管生成作用^[40](表 1, 图 3).

2.2.3 整联蛋白(integrin)

Integrin 是一类细胞黏附受体超家族, 由 α 、 β 两个单跨膜亚基组成异二聚体. 目前至少发现了 18 种 α 亚基、8 种 β 亚基和 24 个不同组合的异构体. 目前已知能与 PLM/PLG 结合的 integrin 包括 $\alpha_3\beta_3$ 、 $\alpha_9\beta_1$ 、 $\alpha_5\beta_1$ 、 $\alpha_M\beta_2$ 、 $\alpha_D\beta_2$ ^[41](图 3). 研究表明: 佛波酯刺激中性粒细胞后其 $\alpha_M\beta_2$ 表达增加, 并与 Glu-PLG 和单链 uPA(sc-uPA)共定位于细胞表面, 使 Glu-PLG 的激活效率提高约 50 倍, 促进了中性粒细胞介导的溶栓^[42], 而 α_M 敲除的肿瘤组织结合 PLG 和 PLM 活性下降 50%~75%, 并导致中性粒细胞、巨噬细胞浸润减少, 血管内皮生长因子(VEGF)分泌明显下降, 不能形成完整的新生血管^[43]. 另一方面, PLM 可以促进表达 $\alpha_9\beta_1$ 的 CHO 细胞迁移, 这种作用依赖于 PLM 的 kringle 区、蛋白酶活性和蛋白酶激活受体 1(protease activated receptors-1, PAR-1)激动剂, 并受 RGD 三肽的抑制. 表明 $\alpha_9\beta_1$ 通过富集 PLM, 诱导了 PAR-1 的激

活, 导致 CHO 细胞迁移^[44](表 1, 图 3).

2.3 PLM 激活的受体

2.3.1 蛋白酶激活的受体 (protease activated receptors, PARs)

PARs 隶属于跨膜 G 蛋白耦联受体超家族, 包括 PAR1~4 四个成员^[45](表 1). 最初的研究发现: 凝血酶能水解 PARs 氨基末端释放一段短肽, 使新暴露的 N 端与自身的受体结合区结合, 导致跨膜区构象改变, 并激活耦联的 G 蛋白, 因此 PARs 曾一度被认为是凝血酶受体^[46](图 3). 近来的研究表明: PLM 与凝血酶具有相同的水解作用位点, PLM 激活 PAR-1 后可调控多种基因的表达, 从而促进 PBMC 的迁移、释放炎症细胞因子、趋化巨噬细胞、抑制 TNF- α 诱导的凋亡, 促进肾小管上皮细胞向间质细胞的转化, 增强星形胶质细胞表达 TGF- β_3 ^[45, 47-51](表 1).

2.3.2 N- 甲酰 -D- 天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartic acid receptor, NMDAR)

NMDAR 是三种离子型谷氨酸受体之一, 由 NR1、NR2、NR3 三种亚基构成异四聚体, 主要分布于突触后膜. 与其他离子型谷氨酸受体不同, NADMR 受多种细胞外离子和小分子化合物如 Mg²⁺、Zn²⁺、多胺、H⁺ 的变构抑制^[52](表 1). NADMR 的过度激活则可引起兴奋性神经损伤, 是导致脑缺血、阿茨海默、帕金森症、亨廷顿疾病中神经细胞死亡的主要原因^[53]. 近年来研究表明: 在 NR1/NR2A 转染的 HEK293、皮层神经元细胞, PLM 可水解 NR1、NR2A 亚基氨基末端结构域的 Lys₃₁₇, 释放 Zn²⁺ 功能性结合位点, 从而解除 Zn²⁺ 对 NMDAR 的抑制, 加重激动剂诱导的兴奋性毒性^[54](图 3, 表 1).

2.3.3 上皮钠离子通道 (epithelial Na⁺ channel, ENaC)

ENaC 是由 α 、 β 、 γ 3 个亚单位构成, 每个亚单位由 2 个跨膜区域(M1 和 M2)、细胞外袢及胞质内的氨基和羧基末端组成, 细胞外袢是阻止离子通道的主要结构. ENaC 主要分布在远端肾单位、结肠远端、肺上皮细胞、腮腺、汗腺, 负责钠离子的限速重吸收, 对于维持钠的自身平衡、细胞外液量和血压起重要作用^[55](图 3, 表 1). 有研究表明^[56]: 弗林蛋白酶水解 α 亚单位细胞外袢区两处肽键, 释放一段阻滞肽, 从而部分激活 ENaC. 而对于 γ 亚单位胞外袢区, 弗林蛋白酶只能水解一处肽键. Passero 等^[57]研究则显示: PLM 通过激活细胞膜上

糖基磷脂酰肌醇锚合的前列腺素，水解 γ 亚单位另一处肽键，释放 γ 亚单位阻滞肽，从而进一步激活 ENaC。在肾病综合症中，皮质集合管 ENaC 活性增强，可能与钠潴留、肾源性高血压相关^[58](表 1)。

2.3.4 β_2 糖蛋白 1 (β_2 -glucoprotein I, β_2 GP1)

β_2 GP1 是由单链组成的血浆糖蛋白，也称载脂蛋白 H。 β_2 GP1 由 5 个结构域组成，前 4 个为高度同源的环区，第 5 个结构域为富含赖氨酸的三角区，可以与膜磷脂结合^[59](图 3)。PLM 水解结构域 V 内 Lys₃₁₇-Thr₃₁₈ 肽键，使其从细胞表面脱离，产生的 CTL 可以加速 PLG 的结合和激活^[60]。另一方面，脱离的 β_2 GP1 片段与脐静脉内皮细胞 Annexin II 结合，抑制细胞周期蛋白 A、B 和 D1，上调 p21

和 p27 表达，使细胞停留在 S 和 G2/M 期，并证实该活性与 MAPK/ERK/JNK 途径有关^[61]。此外， β_2 GP1 也是引起自身免疫疾病的一种重要抗原^[62](表 1)。

2.3.5 蛋白酪氨酸磷酸酶受体 Z 型 (protein tyrosine phosphatase receptor type Z, Ptporz)

Ptporz 属于蛋白酪氨酸磷酸酶家族的 I 型单跨膜蛋白，由 5 个结构域组成。Ptporz 有三种异构型：Ptporz-A、Ptporz-B 和 Ptporz-S，由同一个基因经不同剪接而成。Ptporz 主要表达于神经元和神经胶质细胞。Ptporz 敲除的轴突修复能力明显削弱^[63](图 3)。研究表明，PLM 可以水解细胞外的 Lys₄₇₈-Thr₄₇₉ 肽键而激活 Ptporz-B。腹腔注射 2-羟甲基-3-异丙烯

Table 1 Biological characterizations of plasminogen receptors and binding proteins and associated diseases							
表 1 纤溶酶原受体、结合蛋白的生物学特性与相关疾病							
分类	名称	组成(aa)	作用位点	K _d /(μmol/L)	表达分布	相关疾病	文献
含有 CTL 的 PLGR	Plg-R _{K1}	147	K ₁₃₄ ARKEQSRFFID K ₁₄₇	2.0	Hoxa9-ER4、PBMc、U937、THP-1、PC12、嗜铬细胞	炎症	[11-14]
	α 醛缩酶	434	(1) F ₂₅₀ FRSGKY ₂₅₆ ; (2) K ₄₁₉ AKFAGR NFRNPLAK ₄₃₄	0.075	U937、PMBos、淋巴细胞、骨骼肌细胞、肿瘤细胞	感染、炎症、自身免疫、肿瘤	[15-18]
	组蛋白 2B	126	K ₁₂₁ AVTKYTSS K ₁₂₆	—	U937、RAW 264.7、J774A.1、THP-1、PMBos	炎症、自身免疫、肿瘤	[22-26]
	膜联素 A2-S100A10	454	K ₄₄₆ QKGGK ₄₅₄	0.11	HUVEC、RAW 264.7、THP-1、PBMc、PMBos、PMBnp	炎症、自身免疫、肿瘤	[27-33]
	细胞角蛋白 8	483	K ₄₇₁ LVSESSDVLPK ₄₈₃	0.1~0.2	肝细胞、HepG2、BT20、MCF-7、MDA-MB-157	肝癌、乳腺癌	[34]
PLG 结合蛋白	血栓调节素 1	575	A ₂₂₄ -S ₄₉₇	0.1~0.3	HT1080、HUVEC、角质生成细胞、平滑肌细胞	动脉粥样硬化、肿瘤	[36-38]
	β 肌动蛋白	375	K ₆₁ CDVDIRKD ₆₉	0.14	PC-3、HT1080、MDA-MB231	肿瘤	[39-40]
	整联素	—	D ₁₀₇ GR ₁₀₉ (α 9)	1.0	U937、HUVEC、PMBnp	炎症、肿瘤、动脉粥样硬化	[41-44]
PLM 激活的受体	蛋白酶激活的受体 1	425	SFLLR ₄₁ -N ₄₂	—	星形胶质细胞、PBMc、U937、肾小管上皮细胞、成纤维细胞、RAW 264.7	炎症、进行性肾衰	[45, 47-51]
	NMDA 受体	—	K ₃₁₇ -A ₃₁₈ (NR2A 亚基)	—	海马神经元	缺血性脑卒中	[52, 54]
	上皮钠离子通道	2058	K ₁₉₄ -A ₁₉₅ (小鼠 γ 亚基)	—	肾小管上皮细胞, 气道上皮细胞	肾病综合症	[55, 57-58]
	β_2 糖蛋白 I	326	K ₃₁₇ -T ₃₁₈	—	AKR-2B, HMEC-1, HUVEC	抗磷脂综合症	[60-62]
	蛋白酪氨酸磷酸化受体 Z 型	2315	K ₄₇₈ -T ₄₇₉	—	海马神经元	阿尔茨海默病	[63-64]

PBMc: 外周血单核细胞; PMBos: 外周血巨噬细胞; PMBnp: 外周血中性粒细胞; HUVEC: 人脐静脉内皮细胞.

基脯氨酸(kainic acid, KA)诱导的小鼠癫痫模型, 其脑部 PLM 水解 Ptpz-B 明显增强, 提示 PLM 可能参与了 KA 引起的兴奋性作用^[64](表 1)。

3 PLM 介导的信号传导

目前已知的 PLM 信号途径主要有三种: TLR4/I κ B α /NF- κ B 途径(巨噬细胞、单核细胞、血管内皮细胞)^[65-67]、G 蛋白/PI3K/Akt/ERK1/2 途径(平滑肌细胞、树突状细胞、单核细胞、上皮细胞、成纤维细胞)^[51, 68-69]和 Rho 激酶途径(星形胶质细胞)^[70]

(图 3)。除了受体介导的信号传导, PLM 还通过水解 LTBP(latent TGF-beta binding protein)、胰岛素样生长因子结合蛋白(IGFBP)、脑源性神经营养因子前体(pre-BDNF)、富含半胱氨酸蛋白 61(cysteine-rich protein 61, Cyr61), 释放 TGF、IGF、BDNF、Cyr61 活性肽。这些因子与相应的受体结合, 诱导了其他基因的表达^[71-74]。此外值得注意的是, 细胞内 Ca^{2+} 可以促进多种 PLG 受体、结合蛋白转运至细胞表面, 增强 PLG 的结合和激活, 并反馈性激活一些离子通道, 促进 Ca^{2+} 的内流^[25, 54, 64, 75](图 3)。

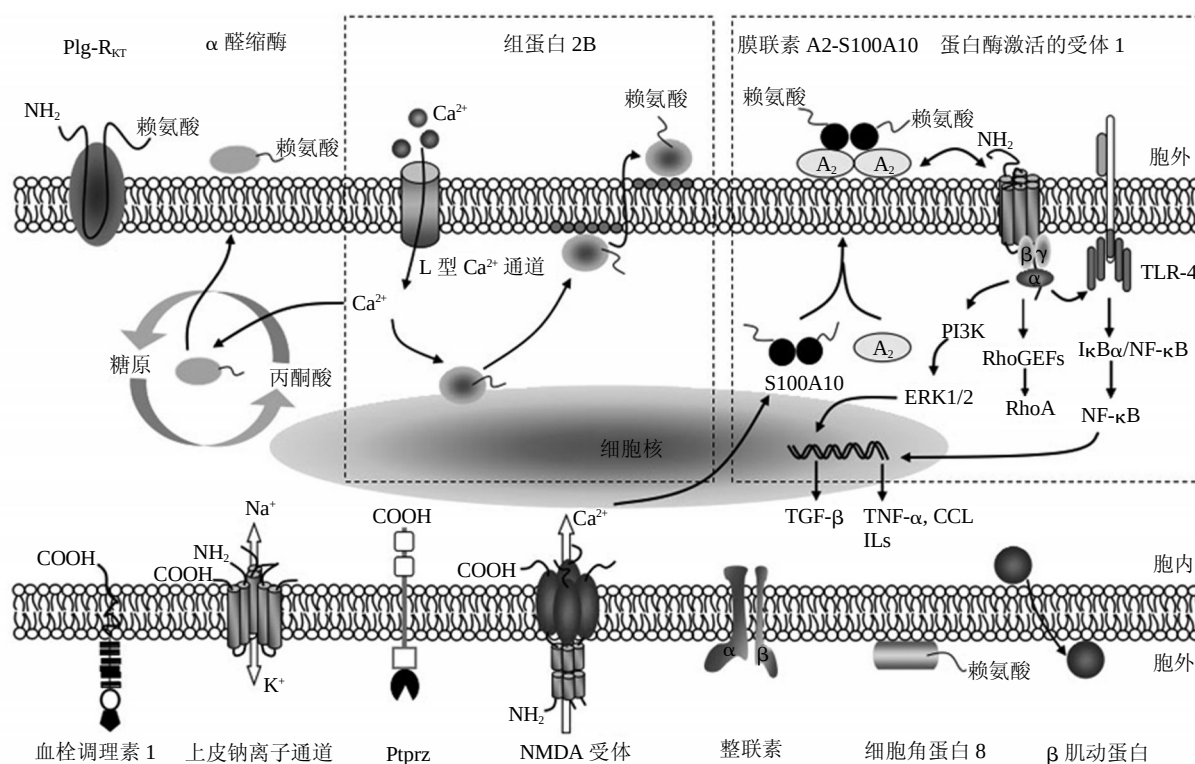


Fig. 3 Plasminogen receptors, binding proteins and associated signal pathways

图 3 PLG 受体、结合蛋白和相关的信号途径

TGF- β : 转化生长因子 β ; TLR-4: Toll 样受体 4; PI3K: 三磷酸肌醇激酶; TNF- α : 肿瘤坏死因子 α ; CCL: 细胞趋化因子配体; ILs: 白介素; ERK1/2: 细胞外引起的反应激酶 1/2; NF- κ B: 核因子 κ B; I κ B α : 核因子 κ B 抑制蛋白 α ; Ptpz: 蛋白酪氨酸磷酸化受体 Z 型; RhoA: Ras 基因家族成员 A; RhoGEFs: Rho 鸟苷酸交换因子。

4 展 望

由此看来, 尽管 PLM 受体、结合蛋白的发现证实了 PLM 参与的病理生理过程, 然而大量的分子机制仍有待进一步研究, 比如: 目前发现一种细胞可以表达多种 PLM 受体, 细胞如何调控各个受

体的表达; 另一方面, 多种 PLM 受体、结合蛋白均为胞内构成表达的功能蛋白和酶, 其转运至细胞表面的机制也有待阐明; 此外, 几种已有的 PLM 抑制剂在临床试验中却显示强的副作用, 新的特异性药物也在实验中^[76-77]。总之, PA-PLM-PLMR 系统的研究为多种疾病的诊断和治疗提供了新的思路。

参 考 文 献

- [1] Zhang L, Seiffert D, Fowler B J, *et al.* Plasminogen has a broad extrahepatic distribution. *Thromb Haemost*, 2002, **87**(87): 493–501
- [2] Kwaan H C. From fibrinolysis to the plasminogen-plasmin system and beyond: a remarkable growth of knowledge, with personal observations on the history of fibrinolysis. *Semin Thromb Hemost*, 2014, **40**(5): 585–591
- [3] Didiasova M, Wujak L, Wygrecka M, *et al.* From plasminogen to plasmin: role of plasminogen receptors in human cancer. *Int J Mol Sci*, 2014, **15**(11): 21229–21252
- [4] Godier A, Hunt B J. Plasminogen receptors and their role in the pathogenesis of inflammatory, autoimmune and malignant disease. *J Thromb Haemost*, 2013, **11**(1): 26–34
- [5] Miles L A, Plow E F, Waisman D M, *et al.* Plasminogen receptors. *J Biomed Biotechnol*, 2012, **2012**(8): 1803–1804
- [6] Petersen T E, Martzen M R, Ichinose A, *et al.* Characterization of the gene for human plasminogen, a key proenzyme in the fibrinolytic system. *J Biol Chem*, 1990, **265**(11): 6104–6111
- [7] Law R H, Caradoc-Davies T, Cowieson N, *et al.* The X-ray crystal structure of full-length human plasminogen. *Cell Rep*, 2012, **1**(3): 185–190
- [8] Xue Y, Bodin C, Olsson K. Crystal structure of the native plasminogen reveals an activation-resistant compact conformation. *J Thromb Haemost*, 2012, **10**(7): 1385–1396
- [9] Cesarman-Maus G, Hajjar K A. Molecular mechanisms of fibrinolysis. *British J Haematol*, 2005, **129**(3): 307–321
- [10] Longstaff C, Kolev K. Basic mechanisms and regulation of fibrinolysis. *J Thromb Haemost*, 2015, **13**(S1): 98–105
- [11] Andronicos N M, Chen E I, Baik N, *et al.* Proteomics-based discovery of a novel, structurally unique, and developmentally regulated plasminogen receptor, Plg-RKT, a major regulator of cell surface plasminogen activation. *Blood*, 2010, **115**(7): 1319–1330
- [12] Miles L A, Lighvani S, Baik N, *et al.* New insights into the role of plg-rkt in macrophage recruitment. *Int Rev Cell Mol Bio*, 2014, **309**: 259–302
- [13] Lighvani S, Baik N, Diggs J E, *et al.* Regulation of macrophage migration by a novel plasminogen receptor Plg-R KT. *Blood*, 2011, **118**(20): 5622–5630
- [14] Bai H, Baik N, Kiosses W B, *et al.* The novel plasminogen receptor, plasminogen receptor kt (plg-rkt), regulates catecholamine release. *J Biol Chem*, 2011, **286**(38): 33125–33133
- [15] Miles L A, Dahlberg C M, Plescia J, *et al.* Role of cell-surface lysines in plasminogen binding to cells: identification of alpha-enolase as a candidate plasminogen receptor. *Biochemistry*, 1991, **30**(6): 1682–1691
- [16] Kang H J, Jung S K, Kim S J, *et al.* Structure of human alpha-enolase (hENO1), a multifunctional glycolytic enzyme. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, 2008, **64**(8): 651–657
- [17] Wygrecka M, Marsh L M, Morty R E, *et al.* Enolase-1 promotes plasminogen-mediated recruitment of monocytes to the acutely inflamed lung. *Blood*, 2009, **113**(22): 5588–5598
- [18] Capello M, Ferri-Borgogno S, Cappello P, *et al.* α -enolase: a promising therapeutic and diagnostic tumor target. *FEBS J*, 2011, **278**(7): 1064–1074
- [19] Fu Q F, Liu Y, Fan Y, *et al.* Alpha-enolase promotes cell glycolysis, growth, migration, and invasion in non-small cell lung cancer through FAK-mediated PI3K/AKT pathway. *J Hematol Oncol*, 2015, **8**:22(DOI: 10.1186/s13045-015-0117-5)
- [20] Song Y, Luo Q, Long H, *et al.* Alpha-enolase as a potential cancer prognostic marker promotes cell growth, migration, and invasion in glioma. *Mol Cancer*, 2014, **13**(13): 1736–1742
- [21] Capello M, Caorsi C, Dametto E, *et al.* Phosphorylated alpha-enolase induces autoantibodies in HLA-DR8 pancreatic cancer patients and triggers HLA-DR8 restricted T-cell activation. *Immunol Lett*, 2015, **167**(1): 11–16
- [22] Das R, Plow E F. Phosphatidylserine as an anchor for plasminogen and its plasminogen receptor, Histone H2B, to the macrophage surface. *J Thromb Haemost*, 2010, **9**(2): 339–349
- [23] Herren T, Burke T A, Das R, *et al.* Identification of histone H2B as a regulated plasminogen receptor. *Biochemistry*, 2006, **45** (31): 9463–9474
- [24] Das R, Burke T, Plow EF. Histone H2B as a functionally important plasminogen receptor on macrophages. *Blood*, 2007, **110** (10): 3763–3772
- [25] Das R, Burke T, Wagoner D R V, *et al.* L-type calcium channel blockers exert an antiinflammatory effect by suppressing expression of plasminogen receptors on macrophages. *Circ Res*, 2009, **105**(2): 167–175
- [26] Monestier M, Decker P, Briand J P, *et al.* Molecular and structural properties of three autoimmune IgG monoclonal antibodies to histone H2B. *J Biol Chem*, 2000, **275**(18): 13558–13563
- [27] Bydoun M, Waisman D M. On the contribution of S100A10 and annexin A2 to plasminogen activation and oncogenesis: an enduring ambiguity. *Future Oncol*, 2014, **10**(15): 2469–2479
- [28] Kassam G, Choi K S, Ghuman J, *et al.* The role of annexin II tetramer in the activation of plasminogen. *J Biol Chem*, 1998, **273**(8): 4790–4799
- [29] O'Connell P A, Surette A P, Liwski R S, *et al.* S100A10 regulates plasminogen-dependent macrophage invasion. *Blood*, 2010, **116**(7): 1136–1146
- [30] Swisher J F. Annexin A2 is a soluble mediator of macrophage activation. *J Leukoc Biol*, 2007, **82**(5): 1174–1184
- [31] Li Q, Ke F, Zhang W, *et al.* A role for the annexin A2 amino-terminal peptide in the plasmin-induced activation of human peripheral monocytes. *Mol Immunol*, 2010, **47**(14): 292–294
- [32] Canas F, Simonin L, Couturaud F, *et al.* Annexin A2 autoantibodies in thrombosis and autoimmune diseases *Thromb Res*, 2015, **135**(2): 226–230
- [33] Xu X H, Pan W, Kang L H, *et al.* Association of annexin A2 with cancer development (Review). *Oncol Rep*, 2015, **33**(5): 2121–2128
- [34] Gonias S L, Hembrough T A, Sankovic M. Cytokeratin 8 functions as a major plasminogen receptor in select epithelial and carcinoma cells. *Front Biosci*, 2001, **6**(13): D1403–14011

- [35] Suzuki K, Kusumoto H, Deyashiki Y, *et al.* Structure and expression of human thrombomodulin, a thrombin receptor on endothelium acting as a cofactor for protein C activation. *EMBO J*, 1987, **6**(7): 1891–1897
- [36] Han H S, Wu H L, Lin B T, *et al.* Effect of thrombomodulin on plasminogen activation. *Fibrinolysis Proteolysis*, 2000, **14** (4): 221–228
- [37] Chen P K, Chang B I, Kuo C H, *et al.* Thrombomodulin functions as a plasminogen receptor to modulate angiogenesis. *FASEB J*, 2013, **27**(11): 4520–4531
- [38] Li Y H, Liu S L, Shi G Y, *et al.* Thrombomodulin plays an important role in arterial remodeling and neointima formation in mouse carotid ligation model. *Thromb Haemost*, 2006, **95** (1): 128–133
- [39] Wang H, Doll J A, Jiang K, *et al.* Differential binding of plasminogen, plasmin, and angiotensin II to cell surface beta-actin: implications for cancer-mediated angiogenesis. *Cancer Res*, 2006, **66**(11): 7211–7215
- [40] Wang H, Schultz R, Hong J, *et al.* Cell surface-dependent generation of angiotensin II. *Cancer Res*, 2004, **64**(1): 162–168
- [41] Takada Y, Ye X, Simon S. The integrins. *Genome Biol*, 2007, **8**(5): 215
- [42] Lishko V K, Novokhatny V V, Yakubenko V P, *et al.* Characterization of plasminogen as an adhesive ligand for integrins alpha(M)beta(2) (Mac-1) and alpha(5)beta(1) (VLA-75). *Blood*, 2004, **104**(3): 719–726
- [43] Soloviev D A, Hazen S L, Szpak D, *et al.* Dual role of the leukocyte integrin $\alpha M\beta 2$ in angiogenesis. *J Immunol*, 2014, **193**(9): 4712–4721
- [44] Majumdar M, Tarui T, Shi B, *et al.* Plasmin-induced migration requires signaling through protease-activated receptor 1 and integrin $\alpha 9\beta 1$. *J Biol Chem*, 2004, **279**(36): 34528–37534
- [45] Ramachandran R, Hollenberg M D. Proteinases and signalling: pathophysiological and therapeutic implications *via* PARs and more. *Br J Pharmacol*, 2008, **153**(S1): 263–282
- [46] Vu T K, Hung D T, Wheaton V I, *et al.* Molecular cloning of a functional thrombin receptor reveals a novel proteolytic mechanism of receptor activation. *Cell*, 1991, **64**(6): 1057–1068
- [47] Syrovets T, Jendrach M, Rohwedder A, *et al.* Plasmin-induced expression of cytokines and tissue factor in human monocytes involves AP-1 and IKKbeta-mediated NF-kappaB activation. *Blood*, 2001, **97**(12): 3941–3950
- [48] Pendurthi U R, Ngyuen M, Andrade-Gordon P, *et al.* Plasmin induces cyr61 gene expression in fibroblasts via protease-activated receptor-1 and p44/42 mitogen-activated protein kinase c dependent signaling pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002, **22**(9): 1421–1426
- [49] Zhang G, Kernan K A, Collins S J, *et al.* Plasmin(ogen) promotes renal interstitial fibrosis by promoting epithelial-to-mesenchymal transition: role of plasmin-activated signals. *J Am Soc Nephrol*, 2007, **18**(3): 846–859
- [50] Maeda S, Nakajima K, Tohyama Y, *et al.* Characteristic response of astrocytes to plasminogen/plasmin to upregulate transforming growth factor beta 3 (TGFbeta3) production/secretion through proteinase-activated receptor-1 (PAR-1) and the downstream phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-Akt/PKB signaling cascade. *Brain Res*, 2009, **1305**: 1–13
- [51] Carmo A A, Costa B R, Vago J P, *et al.* Plasmin induces *in vivo* monocyte recruitment through protease-activated receptor-1, MEK/ERK, and CCR2-mediated signaling. *J Immunol*, 2014, **193** (7): 3654–3663
- [52] Paoletti P, Neyton J. NMDA receptor subunits: function and pharmacology. *Curr Opin Pharmacol*, 2007, **7**(1): 39–47
- [53] Parsons M P, Raymond L A. Extrasynaptic NMDA receptor involvement in central nervous system disorders. *Neuron*, 2014, **82**(2): 279–293
- [54] Yuan H, Vance K M, Junge C E, *et al.* The serine protease plasmin cleaves the amino-terminal domain of the NR2A subunit to relieve zinc inhibition of the N-methyl-D-aspartate receptors. *J Biol Chem*, 2009, **284**(19): 12862–12873
- [55] Schild L, Kellenberger S. Structure function relationships of ENaC and its role in sodium handling//Roach R C, Wagner P D, Hackett P H. *Adv Exp Med Biol*, Hypoxia, 502. New York: Springer US, 2001: 305–314
- [56] Bruns J B, Carattino M D, Sheng S, *et al.* Epithelial Na⁺ channels are fully activated by furin- and prostaticin-dependent release of an inhibitory peptide from the gamma-subunit. *J Biol Chem* 2007, **282**(9): 6153–6160
- [57] Passero C J, Mueller G M, Rondon-Berrios H, *et al.* Plasmin activates epithelial Na⁺ channels by cleaving the gamma subunit. *J Biol Chem*, 2008, **283**(52): 36586–36591
- [58] Svenningsen P, Andersen H, Nielsen L H, *et al.* Urinary serine proteases and activation of ENaC in kidney-implications for physiological renal salt handling and hypertensive disorders with albuminuria. *Pflügers Arch*, 2015, **467**(3): 531–542.
- [59] Kato H, Enjyoji K. Amino acid sequence and location of the disulfide bonds in bovine beta 2 glycoprotein I: the presence of five Sushi domains. *Biochemistry*, 1991, **30**(50): 11687–11694
- [60] Horbach D A, Van O E, Lisman T, *et al.* Beta2-glycoprotein I is proteolytically cleaved *in vivo* upon activation of fibrinolysis. *Thromb Haemost*, 1999, **81**(1): 87–95
- [61] Beecken W D, Ringel E M, Babica J, *et al.* Plasmin-clipped beta(2)-glycoprotein-I inhibits endothelial cell growth by down-regulating cyclin A, B and D1 and up-regulating p21 and p27. *Cancer Lett*, 2010, **296**(2): 160–167
- [62] Pengo V, Ruffatti A, Tonello M, *et al.* Antiphospholipid syndrome: antibodies to Domain 1 of $\beta 2$ -glycoprotein 1 correctly classify patients at risk. *J Thromb Haemost*, 2015, **13**(5): 782–787
- [63] Huang J K, Ferrari C C, Monteiro de C G, *et al.* Accelerated axonal loss following acute CNS demyelination in mice lacking protein tyrosine phosphatase receptor type Z. *Am J Pathol*, 2012, **181**(5): 1518–1523
- [64] Chow J P. Plasmin-mediated processing of protein tyrosine phosphatase receptor type Z in the mouse brain. *Neurosci Lett*,

- 2008, **442**(3): 208–212
- [65] Ward J R, Dower S K, Whyte M K, *et al.* Potentiation of TLR4 signalling by plasmin activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, **341**(2): 299–303
- [66] Swisher J F, Burton N, Bacot S M, *et al.* Annexin A2 tetramer activates human and murine macrophages through TLR4. *Blood*, 2010, **115**(3): 549–558
- [67] Syrovets T, Jendrach M, Rohwedder A, *et al.* Plasmin-induced expression of cytokines and tissue factor in human monocytes involves AP-1 and IKKbeta-mediated NF-kappaB activation. *Blood*, 2001, **97**(12): 3941–3950
- [68] Nicholl S M, Roztocil E, Galaria I I, *et al.* Plasmin induces smooth muscle cell proliferation. *J Surg Res*, 2005, **127**(1): 39–45
- [69] Li X, Syrovets T, Genze F, *et al.* Plasmin triggers chemotaxis of monocyte-derived dendritic cells through an Akt2-dependent pathway and promotes a T-helper type-1 response. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, **30**(3): 582–590
- [70] Niego B, Freeman R, Puschmann T B, *et al.* t-PA-specific modulation of a human blood-brain barrier model involves plasmin-mediated activation of the Rho kinase pathway in astrocytes. *Blood*, 2012, **119**(20): 4752–4761
- [71] Mizuno K, Wachi H, Isogai Z, *et al.* Proteolytic release of latent transforming growth factor-beta (TGF-beta) binding protein-1 (LTBP-1) fragment in wound healing. *J Health Sci*, 2009, **55**(3): 468–472
- [72] Marcinkiewicz M, Gordon P V. A role for plasmin in platelet aggregation: differential regulation of IGF release from IGF-IGFBP complexes. *Growth Horm IGF Res*, 2008, **18**(4): 325–334
- [73] Gray K, Ellis V. Activation of pro-BDNF by the pericellular serine protease plasmin. *FEBS Lett*, 2008, **582**(6): 907–910
- [74] Pendurthi U R, Tran T T, Post M, *et al.* Proteolysis of CEN1 by plasmin: functional implications. *Cancer Res*, 2005, **65**(21): 9705–9711
- [75] Das R, Pluskota E, Plow E F. Plasminogen and its receptors as regulators of cardiovascular inflammatory responses. *Trends in Cardiovasc Med* 2010, **20**(4): 120–124
- [76] Kumar Y, Vadivel K, Schmidt A E, *et al.* Decoy plasminogen receptor containing a selective Kunitz-inhibitory domain. *Biochemistry*, 2014, **53**(3): 505–517
- [77] Al-Horani R A, Karuturi R, White D T, *et al.* Plasmin regulation through allosteric, sulfated, small molecules. *Molecules*, 2015, **20**(1): 608–624

Molecular Mechanisms of Plasminogen Receptors and Associated Diseases*

CHEN Wu^{1)**}, MO Wei²⁾, WANG Lai-You^{3)**}

⁽¹⁾ Department of Clinical Laboratory, Dongfeng Hospital of Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China;

⁽²⁾ Key Laboratory of Metabolism and Molecular Medicine, Ministry of Education, Fudan University, Shanghai 200032, China;

⁽³⁾ Institute of Chinese Medical Sciences, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

Abstract Plasmin (PLM), *via* activation from plasminogen (PLG), not only exerts fibrinolysis and thrombolysis effects, but also involves in extensive physical processes such as embryonic development, tissue remodeling and wound healing. Moreover, recent studies showed a tough association between PLM with inflammation, autoimmunity, malignancy and neural degeneration. Furthermore, more than ten plasminogen receptors and binding proteins have been discovered on cellular surface. Here, we review the researching progresses on the structures, signal transduction and pathogenic mechanisms of these receptors and binding proteins, so as to provide clues for better understanding on fibrinolysis system and for developing new diagnostic and therapeutic pathways.

Key words plasminogen, receptors, binding proteins, signal transduction, diseases

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0231

* This work was supported by grants from Department of Education of Hubei Province (B2013105) and The National Natural Science Foundation of China (81102502).

**Corresponding author.

CHEN Wu. Tel: 86-719-8272364, E-mail: cwy_100@163.com

WANG Lai-You. Tel: 86-20-39352123, E-mail: wanglaiyou@gdpu.edu.cn

Received: August 28, 2015 Accepted: October 23, 2015