

## 激肽释放酶-激肽系统的心血管领域研究进展

汪 涛<sup>1\*</sup>, 康 毅, 姜建石

(天津医科大学药理学教研室, 天津 300070)

**摘要:** 本文主要就激肽释放酶-激肽系统(KKS)在心血管领域的研究进展进行综述。KKS 是机体重要的调节系统,广泛地存在于许多组织和器官中,参与多种生理和病理过程,如心血管、肾脏和神经系统的功能调节,平滑肌收缩、葡萄糖代谢、细胞增殖、炎症与疼痛及休克过程等。近年来特别是在心血管方面的研究进展很快,许多临床研究和基础实验已证实 KKS 具有强大的心血管保护作用,如调节血压、抑制心肌肥厚的形成、减少缺血再灌注损伤和参与缺血预适应形成。对于其各组分及相应受体作用的研究已达分子水平。基因敲除和转基因模型的建立,进一步扩大了研究的深度和广度,为心血管疾病的治疗和新型药物的开发提供广阔的前景。

**关键词:** 激肽释放酶-激肽系统; 缓激肽; 心血管系统; 缺血预适应

中图分类号: R972

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2003)06-0466-05

激肽释放酶-激肽系统(kallikrein-kinin system, KKS)作为一生理调节系统早在半个世纪前就为人所认识。激肽作为该系统的终末效应物质存在于许多组织和器官中,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,平滑肌收缩、葡萄糖代谢、细胞增殖、炎症与疼痛及休克过程等<sup>[1~3]</sup>。近年来,随着分子生物学和基因技术的引入,对 KKS 的研究也日渐深入,涉及的领域亦更加广泛,如激肽与血管紧张素转换酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitor, ACEI)的关系,激肽在缺血再灌注损伤和缺血预适应中的作用,

KKS 与自身免疫性疾病及 KKS 受体在肿瘤组织中的表达等。本文主要综述 KKS 在心血管领域的进展。

### 1 激肽释放酶-激肽系统简介

激肽释放酶是一组存在于腺体细胞、中性粒细胞和生物体液中的丝氨酸蛋白酶。它主要分为两种类型:组织型和血浆型。其作用的内源性底物是激肽原。迄今为止,哺乳动物体内已有三种激肽原被发现:低分子量激肽原(low molecular weight kininogen, LK),主要存在于血浆和各种组织中;高分子量激肽原(high molecular weight kininogen, HK),主要存在于血浆;T-激肽原(T-kininogen)仅存在于大鼠体内<sup>[1,4]</sup>。激肽原在激肽释放酶的作用下释放出活性物质激肽。缓激肽(bradykinin, BK)是生理条件下主要的激肽类物质,它也是目前人们研究比较多的一种。

### 2 激肽释放酶-激肽系统的激活和作用机制

因子Ⅺ(factor Ⅺ, FⅪ)曾被认为是血浆 KKS 在内皮细胞表面活化产生级联反应的始动因子。但最新观点认为血浆 KKS 在生理条件下的激活是所谓“粘附活化”,即循环中 HK 与前激肽释放酶(prekallikrein, PK)以复合物 HK·PK 形式存在,该复合物中的 HK 在脯氨酰羧基肽酶的作用下与内皮细胞表面一种多蛋白受体复合物相结合,结合后的 PK 迅速转化为活性激肽释放酶,并作用于其底物 HK 释放 BK,具有生物活性的 BK 又可使内皮细胞释放组织纤溶酶原激活物、一氧化氮(nitric oxide, NO)和前列腺素(prostaglandin, PG)<sub>I<sub>2</sub></sub>等,从而产生一系列效应<sup>[5,6]</sup>。该理论认为 HK 与内皮细胞表面受体的相互作用是调节 PK 活化的关键,而并不依赖 FⅪ。近期也有研究显示,内皮细胞表面激肽的生成可以在 FⅪ缺乏条件下进行,此时热休克蛋白能促进 HK·PK 的活化<sup>[7]</sup>。

收稿日期: 2002-11-25 接受日期: 2003-03-06

**作者简介:** 汪 涛(1976-),女,天津市人,硕士研究生,研究方向为心血管药理。

\* 联系作者 E-mail: diandilj@yahoo.com.cn Tel: (022) 23542523

BK通过自分泌-旁分泌机制释放,与受体结合后可调节一系列具有生物活性介质的释放,如PG, NO和血小板活化因子等发挥扩张血管、调节血流、抑制平滑肌增殖等多种效应。最近研究表明BK还可刺激血管内皮细胞释放ATP,后者也可刺激上述介质的释放<sup>[8]</sup>。

激肽受体有B<sub>1</sub>和B<sub>2</sub>两种类型。B<sub>2</sub>受体是一种跨膜G-蛋白耦联的蛋白质,存在于正常机体。一般认为,KKS的多数功能是通过B<sub>2</sub>受体介导的。B<sub>1</sub>受体则不同,通常认为在正常组织和健康动物体内缺乏该受体,而当组织损伤或炎症发生时,细菌毒素、脂多糖和细胞因子(如白介素-1 $\beta$ 、肿瘤坏死因子- $\alpha$ )可诱导B<sub>1</sub>受体产生并过度表达。尽管B<sub>1</sub>受体在炎症时发挥作用已成公认的事实,近来实验表明B<sub>1</sub>受体不单是一种炎症因子受体,它对一些重要的生理功能,如血压的稳定、伤害性感受的调节也发挥重要的作用<sup>[9,10]</sup>。

### 3 激肽释放酶-激肽系统在心血管领域的研究进展

近年来的研究表明,KKS不仅存在于血管平滑肌还存在于心脏中,而且在很大程度上参与ACEI心血管保护效应<sup>[5]</sup>。大量临床资料和基础实验表明它在心血管系统疾病,如高血压、心脏衰竭、心肌缺血、心肌梗死、心室肥厚及缺血预适应中发挥重要作用。而且KKS活性的降低可导致相关的心血管疾病发生<sup>[11]</sup>。

#### 3.1 对血压和心率的影响

早已证实KKS具有强大的血管舒张作用。激肽能诱导血管内皮产生舒张因子,如NO和PGE<sub>2</sub>等,参与机体血压的调节。Silva等<sup>[12]</sup>应用人类组织激肽释放酶转基因大鼠模型观察该酶对大鼠血压的影响,结果转基因大鼠的平均动脉压显著降低,而且24h节律性受到破坏,但心率和血流动力学未受影响。而Meneton等<sup>[13]</sup>却发现组织激肽释放酶缺陷的小鼠尽管心功能不正常,但收缩压没有明显改变,并没有因激肽生成减少而出现血压上升。Rhaleb等<sup>[4]</sup>用拮抗剂慢性阻断KKS,也并未使收缩压和平均动脉压增加,而且应用很高剂量的艾替班特(iatibant)完全阻断B<sub>2</sub>受体也不会增加高盐饮食和血管紧张素II(angiotensin II)的升压效应。这个结果与Meneton等<sup>[13]</sup>的研究结果有相近之处,但与其他研

究小组的结果存在差异,对此目前尚无法进行解释。所以,KKS对钠平衡的调节有待进一步研究确定,除了激肽,可能还有其它物质共同参与血压调节。

肾脏KKS可抑制盐敏感性高血压发展。研究发现组织激肽释放酶和LK位于集合管一些特殊细胞上,激肽在较低的肾单位中可迅速生成。而激肽可刺激肾脏激肽释放酶基因的表达和酶的释放。应用突变的激肽原缺陷大鼠对肾脏的KKS进行研究<sup>[14]</sup>,结果显示:肾脏KKS使体内多余的钠排泄。高血压患者和高血压大鼠的尿激肽释放酶排泄减少导致钠排泄减少。因此,尿激肽酶抑制剂有望成为一种新型的抗高血压药物。

下丘脑是心血管调节中心,应用特异性多克隆抗体和酶联免疫标记的方法研究证实,KKS多数成分在该处存在<sup>[15~17]</sup>。激肽与中枢性高血压的发病可能有关,脑内激肽水平上升可引起血压的升高,该作用是通过B<sub>2</sub>受体介导。实验发现自发性高血压大鼠下丘脑B<sub>2</sub>受体mRNA水平在高血压发展的整个进程中都是升高的,而B<sub>1</sub>受体mRNA仅在高血压形成后升高。这种表达的差异说明下丘脑B<sub>2</sub>受体可能与高血压形成有关,而B<sub>1</sub>受体则与高血压的伴随现象有关<sup>[17]</sup>。最近有证据显示低级中枢脊髓B<sub>1</sub>受体参与糖尿病大鼠心血管系统的调节,鞘内注射des-Arg<sup>9</sup>-BK(一种B<sub>1</sub>受体激动剂)可以迅速使链脲佐霉素(streptozotocin)所致糖尿病大鼠的平均动脉压升高并产生心动过速。应用B<sub>1</sub>受体拮抗剂可取消上述改变,说明在该实验中脊髓B<sub>1</sub>受体参与心血管调节<sup>[3]</sup>,从而也证实了B<sub>1</sub>受体不仅仅是炎症因子受体。有研究报道另一种激肽受体神经激肽B受体存在于大鼠下丘脑神经回路并参与大鼠血压的调节。应用免疫组化方法发现该受体也存在于人的下丘脑,与大鼠的分布情况相近<sup>[18]</sup>。由此推断该受体可能也参与人体血压的中枢性调节。

#### 3.2 对心脏和血管形态功能的影响

最新研究表明,组织激肽释放酶通过释放激肽可影响心脏形态,对异丙肾上腺素(isoprenaline)诱导的心肌肥大和纤维化有抑制作用<sup>[12]</sup>。众所周知,异丙肾上腺素引起的心肌肥厚可被ACEI类药物抑制,由此推断ACEI的心血管保护作用可能很大程度上是通过激肽系统发挥的。实验表明,内源性BK在不改变舒张末压的情况下可使心室舒张,心脏搏出量增加;BK在离体豚鼠心脏同样可选择性舒张左室<sup>[19]</sup>。激肽释放酶基因缺陷小鼠的内源性BK形成

能力丧失,体内激肽缺乏,表现为心室间隔和心室后壁变薄,左室射血分数降低,搏出量减少,血流引起的颈动脉血管舒张能力缺损<sup>[13,20]</sup>。经皮冠状动脉扩张术后再狭窄在临床上是比较常见的,其解决的关键在于防止冠状动脉血管平滑肌过度增殖。而激肽释放酶可抑制血小板源性生长因子诱导的血管平滑肌增殖,该作用可能是通过生成 NO,抑制血管平滑肌增殖和迁移<sup>[2,10]</sup>。

### 3.3 对凝血功能的影响

近年研究认为 KKS 和肾素-血管紧张素系统在功能上是相拮抗的,不但表现为他们对血压的“反向”调节作用,而且对凝血系统的影响也有区别。血管紧张素 II 可诱导纤溶酶原激活物抑制因子-1 分泌,有促进血栓形成的作用<sup>[22]</sup>。KKS 中的激肽原和激肽释放酶可通过直接作用或释放激肽参与血管内皮凝血功能的调节。血浆激肽释放酶可促进单链尿激酶和纤溶酶原的活化,发挥抗血栓形成作用。激肽原及降解产物也具有抗凝血酶活性。而且目前已证实 BK 可诱导组织纤溶酶原激活物的分泌,也具有抗凝血作用<sup>[20]</sup>。FⅪ, PK 和 HK 是参与内源性凝血的蛋白质,Merlo 等<sup>[22]</sup>采用对照的方法对 200 名心肌梗死患者血中 FⅪ, FⅫ, PK 和 HK 的含量进行测定,发现 FⅫ, HK 和 PK 水平显著升高,它们对心肌梗死的发生可能起一定的作用。亦有一些相悖实验结果,认为上述蛋白与机体抗凝作用有关<sup>[23,24]</sup>。

### 3.4 缺血再灌注损伤和缺血预适应

缺血预适应是一种心肌保护现象,是指心肌经 1~4 次短时间(2~10 min)缺血对随后的长时间缺血性损伤产生耐受性,细胞的损伤明显减轻。其机制至今尚未完全阐明,但目前已有的研究证实,缺血可触发内源性自我保护,释放一系列内源性活性物质, BK 便是其中之一。BK 在缺血早期就由心肌组织释放,给予外源性 BK 可明显减少缺血性心律失常及室颤的发生率<sup>[25]</sup>。而且 BK 的释放也激发 NO 和 PGI<sub>2</sub> 的释放参与发挥保护作用。宋秋景等<sup>[26,27]</sup>在离体大鼠心脏发现 BK 可显著改善再灌注后的心功能,减少肌酸磷酸激酶的释放,其作用可分别被吲哚美辛(indomethacin)和 HOE140 或降钙素基因相关肽受体拮抗剂 CGRP8-37 取消。说明 BK 诱导的预适应对心脏的保护作用与促进 PG 和降钙素基因相关肽释放有关。关于缺血延迟性心脏保护,较早的研究主要是集中在诱导细胞产生保护性蛋白热休克蛋白。前已述及该蛋白可促进 HK·PK 复合物的活

化,从而释放 BK,所以 BK 可能也是参与延迟性保护作用物质。李飞等<sup>[28,29]</sup>于在体兔缺血再灌注模型中发现 BK 可显著降低缺血 24 h 后再缺血的心肌梗死面积及肌酸磷酸激酶水平,具有延迟性保护作用。该作用可被 HOE140(一种 B<sub>2</sub> 受体拮抗剂)和多粘菌素 B-蛋白激酶 C 抑制剂取消,说明 BK 对缺血预适应的保护作用是由 B<sub>2</sub> 受体介导,通过蛋白激酶 C 途径实现的。

BK 具有松弛血管的性质,因可用于改善心、脑和肾等组织缺血,所以倍受临床研究关注。更有研究表明,激肽可通过刺激血管生长来改善缺血组织状态。药理学和遗传学研究显示激肽释放酶和激肽受体在缺血后被诱导活化是机体的自发性反应,以增加患部血液灌注,促进康复。因此急性心肌梗死后心肌 BK 量增加被认为是减少或限制梗死面积的有益反应。实验显示 BK 冠脉灌注可增加离体缺血心脏的功能和代谢,减少再灌注损伤和心律失常的发生<sup>[30]</sup>。

人们对 KKS 的认识随着实验技术的发展在不断深化,不但在心血管方面取得进展,而且该系统在其他多种病理过程中的作用也成为研究的热点。特异性受体正成为研究的新靶点,相应拮抗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、疼痛及免疫性疾病新型药物。

### 4 参考文献:

- [1] Bhoola KD, Figueroa CD, Worthy K. Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens, and kininases[J]. *Pharmacol Rev*, 1992, **44**(1):1-80.
- [2] Tan SJ, Jin LR, Chen WC. Effect of kallikrein on PDGF induced proliferation of cultured rat aortic vascular smooth muscle cell[J]. *Shanghai Med J*(上海医学), 1999, **22**(2):112-114.
- [3] Cloutier F, Couture R. Pharmacological characterization of the cardiovascular responses elicited by kinin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> receptor agonists in the spinal cord of streptozotocin-diabetic rats[J]. *Br J Pharmacol*, 2000, **130**(2):375-385.
- [4] Rhaleb NE, Yang XP, Nanba M, Shesely EG, Carretero OA. Effect of chronic blockade of the kallikrein-kinin system on the development of hypertension in rats[J]. *Hypertension*, 2001, **37**(1):121-128.
- [5] Schmaier AH. The plasma kallikrein-kinin system counterbalances the renin-angiotensin system[J]. *J Clin Invest*, 2002, **109**(8):1007-1009.

- [6] Shariat-Madar Z, Mahdi F, Schmaier AH. Assembly and activation of the plasma kallikrein/kinin system: a new interpretation[J]. *Int Immunopharmacol*, 2002, **2**(13-14): 1841-1849.
- [7] Joseph K, Tholanikunnel BG, Kaplan AP. Heat shock protein 90 catalyzes activation of the prekallikrein-kininogen complex in the absence of factor XII[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, **99**(2):896-900.
- [8] Anning PB, Prendergast BD, MacCarthy PA, Shah AM, Buss DC, Lewis MJ. ATP is involved in myocardial and vascular effects of exogenous bradykinin in ejecting guinea pig heart[J]. *Am J Physiol*, 1999, **277**(2 Pt 2):H818-H825.
- [9] Marceau F, Hess JF, Bachvarov DR. The B<sub>1</sub> receptors for kinins[J]. *Pharmacol Rev*, 1998, **50**(3):357-386.
- [10] Pesquero JB, Araujo RC, Heppenstall PA, Stucky CL, Silva JA Jr, Walther T, et al. Hypoalgesia and altered inflammatory responses in mice lacking kinin B<sub>1</sub> receptors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, **97**(14):8140-8145.
- [11] Sharma JN, Sharma J. Cardiovascular properties of the kallikrein-kinin system[J]. *Curr Med Res Opin*, 2002, **18**(1):10-17.
- [12] Silva JA Jr, Araujo RC, Baltatu O, Oliveira SM, Tschope C, Fink E, et al. Reduced cardiac hypertrophy and altered blood pressure control in transgenic rats with the human tissue kallikrein gene[J]. *FASEB J*, 2000, **14**(13):1858-1860.
- [13] Meneton P, Bloch-Faure M, Hagege AA, Ruetten H, Huang W, Bergaya S, et al. Cardiovascular abnormalities with normal blood pressure in tissue kallikrein-deficient mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(5):2634-2639.
- [14] Katori M, Majima M, Hayashi I. Crucial suppressive role of renal kallikrein-kinin system in development of salt-sensitive hypertension[J]. *Biol Res*, 1998, **31**(3):143-149.
- [15] Cerf ME, Raidoo DM. Immunolocalization of plasma kallikrein in human brain[J]. *Metab Brain Dis*, 2000, **15**(4):315-323.
- [16] Mahabeer R, Naidoo S, Raidoo DM. Detection of tissue kallikrein and kinin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> receptor mRNAs in human brain by *in situ* RT-PCR[J]. *Metab Brain Dis*, 2000, **15**(4):325-335.
- [17] Qadri F, Hauser W, Jöhren O, Dominiak P. Kinin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> receptor mRNA expression in the hypothalamus of spontaneously hypertensive rats[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2002, **80**(4):258-263.
- [18] Koutcherov Y, Ashwell KW, Paxinos G. The distribution of the neurokinin B receptor in the human and rat hypothalamus[J]. *Neuroreport*, 2000, **11**(14):3127-3131.
- [19] Sarkar R, Meinberg EG, Stanley JC, Gordon D, Webb RC. Nitric oxide reversibly inhibits the migration of cultured vascular smooth muscle cells[J]. *Circ Res*, 1996, **78**(2):225-230.
- [20] Bergaya S, Meneton P, Bloch-Faure M, Mathieu E, Alhenc-Gelas F, Levy BI, et al. Decreased flow-dependent dilation in carotid arteries of tissue kallikrein-knockout mice[J]. *Circ Res*, 2001, **88**(6):593-599.
- [21] Brown NJ, Vaughan DE. Prothrombotic effects of angiotensin[J]. *Adv Intern Med*, 2000, **45**:419-429.
- [22] Merlo C, Willemin WA, Redondo M, Furlan M, Sulzer I, Kremer-Hovinga J, et al. Elevated levels of plasma prekallikrein, high molecular weight kininogen and factor XII in coronary heart disease[J]. *Atherosclerosis*, 2002, **161**(2):261-267.
- [23] Chavakis T, Pixley RA, Isordia-Salas I, Colman RW, Preissner KT. A novel antithrombotic role for high molecular weight kininogen as inhibitor of plasminogen activator inhibitor-1 function[J]. *J Biol Chem*, 2002, **277**(36):32677-32682.
- [24] Braat EA, Dooijewaard G, Rijken DC. Fibrinolytic properties of activated F<sub>XII</sub>[J]. *Eur J Biochem*, 1999, **263**(3):904-911.
- [25] Chen WZ. Ischemia preconditioning of myocardium[A]. In: Su DF, ed. *Cardiovascular Pharmacology* (心血管药理学)[M]. Beijing: Science Publishing House, 2001. 151.
- [26] Song QJ, Li YJ, Deng HW. Cardioprotection of bradykinin-induced preconditioning mediated by prostaglandin[J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1999, **13**(1):13-16.
- [27] Song QJ, Li YJ, Deng HW. Cardioprotective effect of bradykinin-induced preconditioning mediated by calcitonin gene-related peptide in isolated rat heart[J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1999, **20**(2):162-166.
- [28] Li F, Jia GL, Li W, Liang YC. Relationship study between bradykinin and delayed ischemia preconditioning in rabbits[J]. *J Fourth Mil Med Univ* (第四军医大学学报), 2000, **21**(3):317-319.
- [29] Li F, Jia GL, Wu DN. Experimental study of delayed protection of bradykinin on rabbit myocardium[J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 1999, **15**(11):997-998.
- [30] Czokalo-Plichta M, Skibinska E, Kosiorek P, Musial WJ. Kallikrein-kinin system activation and its interactions with other plasma haemostatic components in the coronary artery

disease[J]. *Rocz Akad Med Białymst*, 2001, 46: 209 –

224.

## Advances in research on kallikrein-kinin system in cardiovascular system

WANG Tao, KANG Yi, LOU Jian-Shi

(*Department of Pharmacology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China*)

**Abstract:** This paper is to review the researches on the kallikrein-kinin system in cardiovascular system. Kallikrein-kinin system is a family of peptides and extensively exists in many tissues and organs, which plays a critical role in a variety of physiology and pathophysiological conditions. In recent years, numerous observations obtained from clinical and experimental studies suggest that KKS contribute to the regulation of blood pressure and the cardioprotective effects, such as preconditioning, reduction of cardiac hypertrophy and cardiac ischemic/reperfusion injury. The assembly and activation of KKS have new interpretation.

The studies on the components of KKS and their receptors develop rapidly. Molecular biological analysis and the establishment of transgenic animals and gene knock-out models have also allowed newer information to be acquired on this subject, which provides more selective therapeutic modalities and promotes the development on novel agents.

**Key words:** kallikrein-kinin system; bradykinin; cardiovascular system; ischemic preconditioning

(本文编辑 董立春)