



# P2Y<sub>6</sub> 受体生物学效应的研究进展

曾勇,文爱珍,王顺民,刘丹,谭元生\*

(湖南中医药大学第一附属医院,长沙 410007)

**【摘要】** 嘌呤受体分为P1和P2受体两大类,其中,P2受体又分为配体门控离子通道型受体(P2X受体)和G蛋白偶联型受体(P2Y受体)。P2Y<sub>6</sub>受体是P2Y家族中的一员,P2Y<sub>6</sub>受体参与心血管疾病、内分泌疾病及神经病变等疾病的发生。随着氯吡格雷(P2Y<sub>12</sub>受体阻断剂)等嘌呤受体阻断剂被FDA批准应用于临床,且表现出良好的疗效,P2Y<sub>6</sub>受体的生物学效应的研究,亦成为人们开展针对P2Y受体的新型靶向性药物研究的热点之一。基于分子生物学技术的发展,P2Y<sub>6</sub>受体生物学效应的研究取得了显著进展。

**【关键词】** P2Y<sub>6</sub>受体;生物学效应;进展

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2016)01-0107-04

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2016.01.019

## Research progress of the biological effect of P2Y<sub>6</sub> receptor

ZENG Yong, WEN Ai-zhen, WANG Shun-min, LIU Dan, TAN Yuan-sheng\*

(the First Affiliated Hospital of Hunan University of TCM, Changsha 410007, China)

**【Abstract】** Purine receptors are divided into P1 and P2 receptors. P2 receptors are divided into the ligand gated ion channel receptor (P2X receptor) and G protein coupled receptor (P2Y receptor). The P2Y<sub>6</sub> receptor is a member of the P2Y family, P2Y<sub>6</sub> receptors are involved in cardiovascular diseases, endocrine diseases and neuropathy diseases, etc. With clopidogrel (P2Y<sub>12</sub> receptor antagonist) and other purine receptor blocker approved by the FDA for clinical application, and showed good efficacy, study on biological effect of P2Y<sub>6</sub> receptor also becomes one of the hot researches to new drug target for the P2Y receptor. Based on the development of molecular biological techniques, the research on biological effect of P2Y<sub>6</sub> receptor achieved significant advances.

**【Key words】** P2Y receptors; Biological effect; Progress

Corresponding author: TAN Yuan-sheng, E-mail: tys702@126.com

嘌呤受体分为P1和P2受体两大类。其中,P2受体又分为配体门控离子通道型受体(P2X受体)和G蛋白偶联型受体(P2Y受体)。P2Y<sub>6</sub>受体是P2Y家族中的一员,广泛分布于机体各组织。P2Y<sub>6</sub>受体的内源性配体是胞外核苷酸分子,主要包括:三磷酸腺苷(ATP)、二磷酸腺苷(ADP)、三磷酸尿苷(UTP)和二磷酸尿苷(UDP)及其衍生物。生理状态下,胞外核苷酸分子的浓度维持在很低状态,而胞内

浓度明显高于胞外;病理状态下,如缺氧、炎症、损伤等,细胞可以通过自分泌、旁分泌或泄漏等形式,将胞内的核苷酸释放至细胞外激活P2Y<sub>6</sub>受体,产生生物学效应。随着氯吡格雷(P2Y<sub>12</sub>受体阻断剂)等嘌呤受体阻断剂成功被FDA批准应用于临床,且表现出良好疗效<sup>[1]</sup>。P2Y<sub>6</sub>受体生物学效应的研究成为开展针对P2Y受体的新型靶向性药物研究热点。

**【基金项目】**国家自然科学基金项目(项目编号:81473616);湖南省科学技术厅科技计划重点项目(项目编号:2013SK2025);中医内科学部共建教育部重点实验室开放基金资助项目(ZYNK201507);湖南省中医药科研计划重点项目(201534)。

**【作者简介】**曾勇,男,医学硕士,医师,从事心血管疾病的防治研究。E-mail: 781920555@qq.com

**【通讯作者】**谭元生,男,医学博士,主任医师,教授,博士生导师,致力于心血管疾病的防治研究。E-mail: tys702@126.com

## 1 心血管系统

### 1.1 促进血管炎性病变发生

在 TNF- $\alpha$  或 LPS 刺激下,血管内皮细胞上 P2Y<sub>6</sub> 受体选择性上调表达,而非其他 P2Y 或 P2X 受体, P2Y<sub>6</sub> 受体激活 NF- $\kappa$ B 通路诱导白细胞介素-8 (IL-8) 和血管细胞粘附分子-1 表达,促进血管炎症反应发生<sup>[2]</sup>;同时, P2Y<sub>6</sub> 受体能增强巨噬细胞促炎作用,促进动脉粥样硬化形成及动脉瘤等血管性疾病的形成<sup>[3]</sup>。

### 1.2 介导 VSMC 收缩与增殖

早前 Wang 等<sup>[4]</sup> 研究发现 P2X<sub>1</sub>、P2Y<sub>2</sub> 和 P2Y<sub>6</sub> 是血管平滑肌细胞 (VSMC) 表达最多的嘌呤受体,可能介导了平滑肌细胞的收缩及增殖。2008 年, Bobbert 等<sup>[5]</sup> 研究表明通过激活 P2Y 受体,引起 Ras-Raf-MEK-ERK1/2 的级联刺激,促进 VSMC 的增殖。Govindan 等<sup>[6]</sup> 进行了进一步研究证实 P2Y<sub>6</sub> 是促进 VSMC 收缩与增殖的受体之一。

### 1.3 促进心肌纤维化

压力负荷 (如高血压) 刺激心肌细胞,ATP、UDP 等核苷酸经 P<sub>2x</sub> 离子通道释放到胞外,刺激心肌细胞的 P2Y<sub>6</sub> 受体,通过偶联的 G12/13 蛋白激活 Rho 途径,调节纤维化因子的表达 (如 CTGF 和 TGF- $\beta$ ), 进而促进下游 I/III 型胶原蛋白的表达,促进心肌纤维化的产生<sup>[7]</sup>。

## 2 调节小胶质细胞功能

刺激小胶质细胞 P2Y<sub>6</sub> 受体能显著增强其对损伤神经元细胞的吞噬作用<sup>[8]</sup>,抑制 UDP/P2Y<sub>6</sub> 信号通路则能阻止体内外小神经胶质细胞的吞噬作用,有效阻止神经元缺失和死亡<sup>[9]</sup>。经 LPS 处理的混合培养的星形胶质细胞和小神经胶质细胞中,UTP 迅速转变为 UDP 激活 P2Y<sub>6</sub> 受体从而诱导小神经胶质细胞 NO 的释放,NO 通过控制星形胶质细胞的增殖和阻止过度的聚集而致使其凋亡<sup>[10]</sup>。用 UTP 刺激原代培养的大鼠脊髓小胶质细胞,UTP 可通过刺激 P2Y<sub>6</sub> 受体通过磷脂酶 C (PLC) 介导的细胞外调节蛋白激酶 (ERK) 或 p38 蛋白磷酸化和随后的 NF- $\kappa$ B 激活诱导大鼠脊髓小胶质细胞产生 MCP-1<sup>[11]</sup>。

脊髓 P2Y<sub>6</sub> 存在于脊髓小胶质细胞,而 P2Y<sub>11</sub> 受体同时还存在于脊髓星形胶质细胞,在脊髓神经损伤大鼠体内这两种受体皆上调,脊髓 P2Y<sub>6</sub> 和 P2Y<sub>11</sub> 受体参与神经性疼痛的维持<sup>[12]</sup>,而 Syhr 等<sup>[13]</sup> 通过

全身或鞘内注射 P2Y<sub>6</sub> 受体的阻滞剂 (MRS2578), 结果发行并未能影响到损伤所诱导的小鼠神经性疼痛行为,因此认为相比于其他嘌呤受体亚型, P2Y<sub>6</sub> 受体严格意义上说未参与神经损伤所诱导的神经性疼痛的过程,并不支持上述观点。

## 3 呼吸系统

### 3.1 促进气道炎症发生及维持

在气道上皮细胞, P2Y<sub>6</sub> 诱导巨噬细胞炎性蛋白 20 (CCL20) 趋化因子表达,并且这种作用能被 P38 抑制剂显著性阻断,因此认为 P2Y<sub>6</sub> 受体通过激活丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)/P38 通路诱导 CCL20 的表达<sup>[13]</sup>,气道炎症反应过程中,核苷酸释放激活 P2Y<sub>6</sub> 受体,引起至少 2 种促炎因子的产生 (IL-6 和 IL-8),该过程是 Ca<sup>2+</sup> 依赖性的,而非 cAMP/PKA 通路。这种炎症因子的分泌和“炎症网络”的形成在维持气道炎症性疾病中扮演者重要的角色<sup>[15]</sup>。

### 3.2 促进肺癌细胞损伤修复

研究发现<sup>[16]</sup>:人肺癌 A549 细胞上 P2Y<sub>6</sub> 受体呈高表达,而 P2Y<sub>12</sub> 受体表达非常弱,使用 P2Y<sub>6</sub> 受体阻断剂 (MRS2578) 及基因敲除 P2Y<sub>6</sub> 受体的基因后,暴露于  $\gamma$  射线的肿瘤细胞生存率明显下降,进一步证实激活 P2Y<sub>6</sub> 受体后是通过 ERK1/2 通路而促进暴露于  $\gamma$  射线的肿瘤细胞 DNA 损伤修复的。另外,激活气道腔面上皮 P2Y<sub>6</sub> 受体能促进电解质的分泌运输<sup>[17]</sup>。

## 4 促进小肠炎症发生及黏膜修复

小肠上皮细胞上调表达 P2Y<sub>6</sub> 受体, P2Y<sub>6</sub> 受体通过活化 ERK1/2 调节 IL-8 分泌,进而促进中性粒细胞的迁移,促进小肠炎症反应发生<sup>[18]</sup>。细胞损伤和 UDP 释放使得 P2Y<sub>6</sub> 受体的表达增加,损伤诱导的 UDP 释放,激活肠道上皮细胞 P2Y<sub>6</sub> 受体,介导 TGF- $\beta$  的从头合成,为肠道黏膜修复发挥积极的补给作用<sup>[19]</sup>。

## 5 调节膀胱功能

刺激膀胱平滑肌细胞 P2Y<sub>6</sub> 受体能通过 PLC/IP3 信号通路调节膀胱平滑肌的收缩<sup>[20]</sup>。在麻醉小鼠体内,膀胱上皮细胞通过释放 ATP 激活 P2Y<sub>6</sub> 受体能提高膀胱的排空频率<sup>[21]</sup>,膀胱上皮细胞是通过泛连接蛋白-1 管道释放 ATP 激活 P2Y<sub>6</sub> 受

体使膀胱收缩频率增加<sup>[22]</sup>。

## 6 抑制骨骼肌细胞凋亡

实验证实 TNF- $\alpha$  诱导小鼠骨骼肌细胞凋亡与 NF- $\kappa$ B 的活化相关<sup>[23]</sup>, 激活 P2Y<sub>6</sub> 受体能降低 TNF- $\alpha$  诱导的 NF- $\kappa$ B 提升作用而间接发挥抑制细胞凋亡的作用<sup>[24]</sup>。进一步研究发现内源性 UDP 和合成激动剂 MRS2693 浓度依赖性保护小鼠骨骼肌细胞凋亡, P2Y<sub>6</sub> 阻断剂能阻止这种保护作用<sup>[25]</sup>。

## 7 其他

另外, 激活 P2Y<sub>6</sub> 受体能调节磷脂酶 D 的活性及磷脂酸生成, 且阻断磷脂酶 D 途径后细胞能通过其他途径促进磷脂酸的生成<sup>[26]</sup>; 用 UDP 激活 P2Y<sub>6</sub> 受体能有效保护小鼠感染水疱性口炎病毒<sup>[27]</sup>; P2Y<sub>6</sub> 受体能调节白细胞对 CCL2 的反应能力<sup>[28]</sup>; 激活 P2Y<sub>6</sub> 能够刺激胰岛素的分泌<sup>[29]</sup>; 以巨噬细胞为研究对象, P2Y<sub>6</sub> 相对于其他 P2Y 嘌呤受体成员, 在巨噬细胞中呈高表达, 调控多种促炎症因子如单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  和炎症蛋白-1 $\alpha$ /p 等的转录表达, 进一步研究表明, P2Y<sub>6</sub> 主要通过 MEK1/2-ERK1/2MAPK ~ API 信号通路从转录水平上调 MCP-1 表达, 而非 P38、c-Jun 氨基末端激酶或 NF- $\kappa$ B 通路<sup>[30]</sup>。

## 8 结语

综上所述, P2Y<sub>6</sub> 受体的过度激活会引起严重的生理功能障碍和疾病, P2Y<sub>6</sub> 受体参与心血管疾病、神经病变、呼吸系统疾病及胃肠道疾病等的发生。其中, P2Y<sub>6</sub> 受体介导细胞外核苷酸的活动, 以参与心血管疾病的发生发展最为重要, 体现在促进血管炎症反应、增强血管张力、促进平滑肌细胞的收缩与增殖等方面, 因此寻找 P2Y<sub>6</sub> 受体阻断剂的研究可能成为未来心血管疾病药物研究领域的一大热点。同时, P2Y<sub>6</sub> 受体广泛调控各种炎症因子的表达及炎症反应, 且与其他受体 (CysLT1R 和 C5aR 受体) 协同调节炎症因子的表达<sup>[31]</sup>, 为开展抗炎症药物研究提供了新的靶点。此外, 激活 P2Y<sub>6</sub> 受体能刺激胰岛素的分泌, 相应受体的激动剂和拮抗剂具有开发成治疗糖尿病药物的前景。因此, 研究 P2Y<sub>6</sub> 受体的生物学效应具有重要的理论和应用价值。未来关于 P2Y<sub>6</sub> 受体生物学效应的研究应倾向于在明确其生物学效应后, 对其生物学效应进行进一步筛选, 确

证其在某一领域的实用价值。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Paikin JS, Eikelboom JW, Cairns JA, et al. New antithrombotic agents - insights from clinical trials [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2010, 7(9): 498 - 509.
- [ 2 ] Riegel AK, Faigle M, Zug S, et al. Selective induction of endothelial P2Y<sub>6</sub> nucleotide receptor promotes vascular inflammation [J]. *Blood*, 2011, 117(8): 2548 - 2555.
- [ 3 ] Garcia RA1, Yan M1, Search D1, et al. P2Y<sub>6</sub> receptor potentiates pro-inflammatory responses in macrophages and exhibits differential roles in atherosclerotic lesion development [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(10): e111385.
- [ 4 ] Wang L, Karlsson L, Moses S, et al. P2 receptor expression profiles in human vascular smooth muscle and endothelial cells [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2002, 40(6): 841 - 853.
- [ 5 ] Bobbert P, Schlüter H, Schultheiss HP, et al. Diadenosine polyphosphates Ap3A and Ap4A, but not Ap5A or Ap6A induce proliferation of vascular smooth muscle cells [J]. *Biochem Pharmacol*, 2008, 75(10): 1966 - 1973.
- [ 6 ] Govindan S, Taylor EJ, Taylor CW. Ca<sup>2+</sup> signalling by P2Y receptors in cultured rat aortic smooth muscle cells [J]. *Br J Pharmacol*, 2010, 160(8): 1953 - 1962.
- [ 7 ] Nishida M, Sato Y, Uemura A, et al. P2Y<sub>6</sub> receptor-G $\alpha$ 12/13 signalling in cardiomyocytes triggers pressure overload-induced cardiac fibrosis [J]. *EMBO J*, 2008, 27(23): 3104 - 3115.
- [ 8 ] Koizumi S, Shigemoto-Mogami Y, Nasu-Tada K, et al. UDP acting at P2Y<sub>6</sub> receptors is a mediator of microglial phagocytosis [J]. *Nature*, 2007, 446(7139): 1091 - 1095.
- [ 9 ] Neher JJ, Neniskyte U, Hornik T, et al. Inhibition of UDP/P2Y<sub>6</sub> purinergic signaling prevents phagocytosis of viable neurons by activated microglia in vitro and in vivo [J]. *Glia*, 2014, 62(9): 1463 - 1475.
- [ 10 ] Quintas C, Pinho D, Pereira C, et al. Microglia P2Y<sub>6</sub> receptors mediate nitric oxide release and astrocyte apoptosis [J]. *J Neuroinflammation*, 2014, 11: 141.
- [ 11 ] Morioka N, Tokuhara M, Harano S, et al. The activation of P2Y<sub>6</sub> receptor in cultured spinal microglia induces the production of CCL2 through the MAP kinases-NF- $\kappa$ B pathway [J]. *Neuropharmacology*, 2013, 75(2): 116 - 125.
- [ 12 ] Barragán-Iglesias P, Pineda-Farias JB, Cervantes-Durán C, et al. Role of spinal P2Y<sub>6</sub> and P2Y<sub>11</sub> receptors in neuropathic pain in rats; possible involvement of glial cells [J]. *Mol Pain*, 2014, 10: 29.
- [ 13 ] Syhr KM, Kallenborn-Gerhardt W, Lu R, et al. Lack of effect of a P2Y<sub>6</sub> receptor antagonist on neuropathic pain behavior in mice [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2014, 124: 389 - 395.
- [ 14 ] Marcet B, Horeckmans M, Libert F, et al. Extracellular nucleotides regulate CCL20 release from human primary airway epithelial cells, monocytes and monocyte-derived dendritic cells [J]. *J Cell Physiol*, 2007, 211(3): 716 - 727.
- [ 15 ] Hao Y, Liang JF, Chow AW, et al. P2Y<sub>6</sub> receptor-mediated

- proinflammatory signaling in human bronchial epithelia [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(9): e106235.
- [16] Ide S, Nishimaki N, Tsukimoto M, et al. Purine receptor P2Y6 mediates cellular response to  $\gamma$ -ray-induced DNA damage [J]. *J Toxicol Sci*, 2014, 39(1): 15–23.
- [17] Schreiber R, Kunzelmann K. Purinergic P2Y6 receptors induce  $\text{Ca}^{2+}$  and CFTR dependent  $\text{Cl}^{-}$ -secretion in mouse trachea [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2005, 16(13): 99–108.
- [18] Grbic DM, Degagné E, Langlois C, et al. Intestinal inflammation increases the expression of the P2Y6 receptor on epithelial cells and the release of CXC chemokine ligand 8 by UDP [J]. *J Immunol*, 2008, 180(4): 2659–2668.
- [19] Nakamura T, Murata T, Hori M, et al. UDP induces intestinal epithelial migration via the P2Y6 receptor [J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 170(4): 883–892.
- [20] Yu W, Sun X, Robson SC, et al. Extracellular UDP enhances P2X-mediated bladder smooth muscle contractility via P2Y6 activation of the phospholipase C/inositol trisphosphate pathway [J]. *FASEB J*, 2013, 27(5): 1895–1903.
- [21] Carneiro I, Timóteo MA, Silva I, et al. Activation of P2Y6 receptors increases the voiding frequency in anaesthetized rats by releasing ATP from the bladder urothelium [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(14): 3404–3419.
- [22] Timóteo MA, Carneiro I, Silva I, et al. ATP released via pannexin-1 hemichannels mediates bladder overactivity triggered by urothelial P2Y6 receptors [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 87(2): 371–379.
- [23] Stewart CE, Newcomb PV, Holly JM. Multifaceted roles of TNF- $\alpha$  in myoblast destruction: a multitude of signal transduction pathways [J]. *J Cell Physiol*, 2004, 198(2): 237–247.
- [24] Zheng J, Wang R, Zambraski E, et al. A novel protective action of adenosine A3 receptors; attenuation of skeletal muscle ischemia and reperfusion injury [J]. *Am J Physiol*, 2007, 293: 3685–3691.
- [25] Mamedova LK, Wang R, Besada P. Attenuation of apoptosis in vitro and ischemia/reperfusion injury in vivo in mouse skeletal muscle by P2Y6 receptor activation [J]. *Pharmacol Res*, 2008, 58(34): 232–239.
- [26] Scott SA, Xiang Y, Mathews TP, et al. Regulation of phospholipase D activity and phosphatidic acid production after purinergic P2Y6 receptor stimulation [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(28): 20477–20487.
- [27] Li R, Tan B, Yan Y, et al. Extracellular UDP and P2Y6 function as a danger signal to protect mice from vesicular stomatitis virus infection through an increase in IFN- $\beta$  production [J]. *J Immunol*, 2014, 193(9): 4515–4526.
- [28] Campwala H, Sexton DW, Crossman DC, et al. P2Y6 receptor inhibition perturbs CCL2-evoked signalling in human monocytic and peripheral blood mononuclear cells [J]. *J Cell Sci*, 2014, 127(22): 4964–4973.
- [29] Petit P, Lajoix AD, Gross R. P2 purinergic signalling in the pancreatic beta-cell; control of insulin secretion and pharmacology [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2009, 37(2): 67–75.
- [30] Zhang Z, Wang Z, Ren H, et al. P2Y6 agonist uridine 5'-diphosphate promotes host defense against bacterial infection via monocyte chemoattractant protein-1-mediated monocytes/macrophages recruitment [J]. *J Immunol*, 2011, 186(9): 5376–5387.
- [31] Jiang Y, Borrelli L, Bacskai BJ, et al. P2Y6 receptors require an intact cysteinyl leukotriene synthetic and signaling system to induce survival and activation of mast cells [J]. *J Immunol*, 2009, 182(2): 1129–1137.

[收稿日期] 2015-09-06