

综述

肥大细胞激活相关受体及其功能研究进展

江玉翠¹, 叶凡², 杜莹¹, 唐宗湘^{1,*}

¹南京中医药大学医学与生命科学学院生理学系, 南京 210023; ²吉首大学生物资源与环境科学学院生物科学系, 吉首 416000

摘要: 肥大细胞广泛分布于机体各个部位, 常见于机体与外部环境之间的粘膜表面, 是重要的免疫细胞之一, 在固有免疫、适应性免疫及免疫调节中发挥着重要的作用。研究表明, 肥大细胞的过度激活与哮喘、过敏性鼻炎、食物过敏、急慢性瘙痒等过敏性及炎症疾病的发生、发展密切相关, 主要表现为肥大细胞向炎症部位浸润并释放多种过敏介质。阻断肥大细胞激活可作为有效治疗过敏性及炎症疾病的手段之一, 因此与肥大细胞激活相关的受体是临床药物开发的有效靶点。激活肥大细胞的相关受体种类较多, 并且不同的受体所介导产生的效应也不尽相同, 新的肥大细胞受体不断被发现, 然而, 对这些研究的梳理比较少。本综述总结了参与肥大细胞激活的相关受体, 依据不同效应对受体进行分类, 并对其下游信号通路及应用进行阐述。

关键词: 肥大细胞; 受体; 功能; 信号通路

中图分类号: R332; R363.2; R329.2

Research progress of mast cell activation-related receptors and their functions

JIANG Yu-Cui¹, YE Fan², DU Ying¹, TANG Zong-Xiang^{1,*}

¹Department of Physiology, School of Medicine and Life Sciences, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;

²Department of Biological Sciences, School of Biological Resources and Environmental Sciences, Jishou University, Jishou 416000, China

Abstract: Mast cells are widely distributed in various parts of the body, especially in the mucosal surface between the body and the external environment. Mast cell is one of the important immune cells and plays important roles in innate immunity, adaptive immunity and immune regulation. Previous researches have shown that excessive activation of mast cells is closely related to the development of allergic and inflammatory diseases such as asthma, allergic rhinitis, food allergies, acute and chronic itching. Mast cells infiltrate into the inflammation site and release various allergic mediators during the occurrence and development of these diseases. Therefore, termination of mast cell activation can be one of the effective methods for the treatment of allergic and inflammatory diseases, and receptors related to mast cell activation are potential targets for the development of anti-allergic drugs. There are many receptors related to mast cell activation, and the effects mediated by different receptors varied from each other. In the recent years, new mast cell receptors are being discovered, but there are not many literatures discussing the possible functions of these newly discovered receptors. This review aims to summarize the receptors involved in mast cell activation and classify related receptors according to their effects.

Key words: mast cells; receptors; function; signaling pathway

肥大细胞是德国科学家 Paul Ehrlich 在 1878 年发现的, 来源于 CD13⁺CD34⁺CD117⁺骨髓造血祖细胞^[1]。当肥大细胞获得适当的趋化因子信号后会迁

移至皮肤、粘膜、气道等组织, 受组织微环境影响终止分化, 参与调节天然及适应性免疫反应^[2]。目前研究显示, 肥大细胞不仅是引起许多过敏性炎症

Received 2018-09-11 Accepted 2018-11-19

*Corresponding author. Tel: +86-25-85811959; E-mail: zongxiangtang@njucm.edu.cn

反应的重要效应细胞, 而且对寄生虫、细菌及病毒感染患者也起着保护作用^[3]。肥大细胞是一类长寿细胞, 在组织中可存活长达数月, 病理条件下组织肥大细胞稳态受到干扰, 其数量及分布会发生迅速改变, 主要表现为肥大细胞在炎症部位急剧增多, 并释放大量的与过敏相关的脂类、多肽及蛋白介质^[4]。

肥大细胞激活可引起过敏反应相关疾病^[5], 肥大细胞激活相关的受体可作为多种过敏疾病相关临床药物研发的有效靶点^[6]。成熟的肥大细胞表达多种膜内外受体, 这些受体与相应的配体结合后可诱导细胞活化, 导致各种炎症介质的释放。其中研究最多的是 IgE 高亲和力受体 FcεRI, FcεRI 参与许多急慢性过敏反应, 如过敏性鼻炎、哮喘及特应性皮炎等。除此之外, 还有 KIT (CD117) 受体、神经激肽受体 (neurokinin receptors, NKRs)、内皮素 (endothelin, ET) 受体、原肌球蛋白相关激酶 (tropomyosin-related kinase, Trk) 受体、Mas 相关的 G 蛋白耦联受体 (Mas related G protein coupled receptor, Mrgpr)、Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 和补体 C3a、C5a 受体等^[7]。本文综述了肥大细胞受体激活后的功能特点、研究现状及应用前景。

1 双相反应受体

该类受体与相应配体结合后会发生双相反应, 第一阶段肥大细胞快速脱颗粒, 释放预先合成介质, 如组胺、5-羟色胺、β-氨基己糖苷酶、糜蛋白酶、类胰蛋白酶、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α, TNF-α)、CCL2、CCL5、CCL7 等^[8]; 第二阶段肥大细胞从头合成并释放介质, 包括脂质介质 [前列腺素 D₂ (prostaglandin D₂, PGD₂)、PGE₂、白三烯 C₄ (leukotrienes C₄, LTC₄)、LTB₄ 等]、细胞因子 [白细胞介素 33 (interleukin 33, IL-33)、IL-10、IL-12、IL-17、干扰素 (interferon, IFN)、TNF-α 等]、各类生长因子 [干细胞因子 (stem cell factor, SCF)、粒-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF)、神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 等]、趋化因子、活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 等^[9]。

1.1 FcεRI

FcεRI 是目前研究最为清楚的肥大细胞受体, FcεRI 属于多链免疫识别受体 MIRR 家族, 在肥大细胞和嗜碱性粒细胞中以四聚体形式存在, 由 1 个 α 亚基, 1 个 β 亚基以及 1 个 γ 亚基二聚体组成^[10],

其中 α 链与 IgE 抗体 Fc 片段 CH3 结构域结合, β 链起稳定受体复合物结构以及放大酪氨酸激酶 SYK 磷酸化的作用, γ 链与受体自主激活相关^[11]; 在单核细胞、树突状细胞中, FcεRI 以缺乏 β 亚基的三聚体形式存在^[12]。在没有抗原 Ag 存在的情况下, 单独 IgE 结合受体后一般不会引起肥大细胞活化, 但近期也有研究显示单独 IgE 可以诱导肥大细胞存活、产生细胞因子以及提高 FcεRI 受体表达量; 当同时存在 Ag 时, 抗原与结合在受体上的 IgE Fab 片段相互作用, 促使受体聚集, 从而引发经典的 FcεRI 介导的肥大细胞活化^[13, 14]。

FcεRI 受体 β、γ 亚基含有免疫受体酪氨酸激活基序 (immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM), ITAM 可为 Src 激酶家族 (如 LYN、FYN) 以及 SYK 激酶提供结合位点^[15]。当抗原特异性结合后会导致 IgE-FcεRI 复合物聚集, 使酪氨酸激酶 LYN 快速磷酸化, 后者反过来对 β、γ 亚基 ITAM 磷酸化, ITAM 一旦磷酸化就会招募激酶 FYN 及 SYK 并使其磷酸化, 进一步磷酸化跨膜衔接蛋白 NTAL (non-T cell activation linker)、LAT, 为 PI3K 及 GAB2 等含 SH2 蛋白质提供结合位点, 活化磷脂酶 Cγ (phosphatidase Cγ, PLCγ), 启动 PI3K/AKT 等一系列信号级联反应, 引起 Ca²⁺ 内流、骨架蛋白重排及基因转录水平改变等^[16] (图 1)。IgE-FcεRI 复合物聚集也会激活 PLCδ, 经 RAS-RAF-MAPK 通路影响基因转录, 另外该通路 ERK 激酶可活化 PLA₂, 后者促进脂质介质产生^[17]。FcεRI 聚集最终介导肥大细胞快速脱颗粒, 释放预先合成介质组胺、蛋白酶、肝素等; 另外肥大细胞还从头合成并释放脂质介质 (如 PGD₂、LTC₄ 等)、多种细胞因子 (如 TNF-α、IL-4、IL-5、IL-6、IL-33 等)、趋化因子 [单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)] 及 ROS 等, 引起过敏反应^[18, 19]。IgE-FcεRI 途径是治疗过敏性疾病有效靶点, 如抗 IgE 抗体奥马珠单抗 (omalizumab) 是重组人源单克隆抗体, 与 FcεRI 受体竞争 IgE 结合位点, 临床上已用于治疗过敏性鼻炎与哮喘^[20, 21]。另外, 临床试验表明在多种食物过敏患者中, omalizumab 也可提高口服免疫疗法的疗效, 实现安全快速的脱敏; omalizumab 对 H1 抗组胺药 (H1 antihistamine, H1AH) 难治的慢性自发性荨麻疹 (chronic spontaneous urticaria, CSU) 患者也有效, 且耐受良好^[22, 23]。QGE031 是一种新型抗 IgE 抗体, 其结合 IgE 的亲和力高于奥马珠单抗 omalizumab,

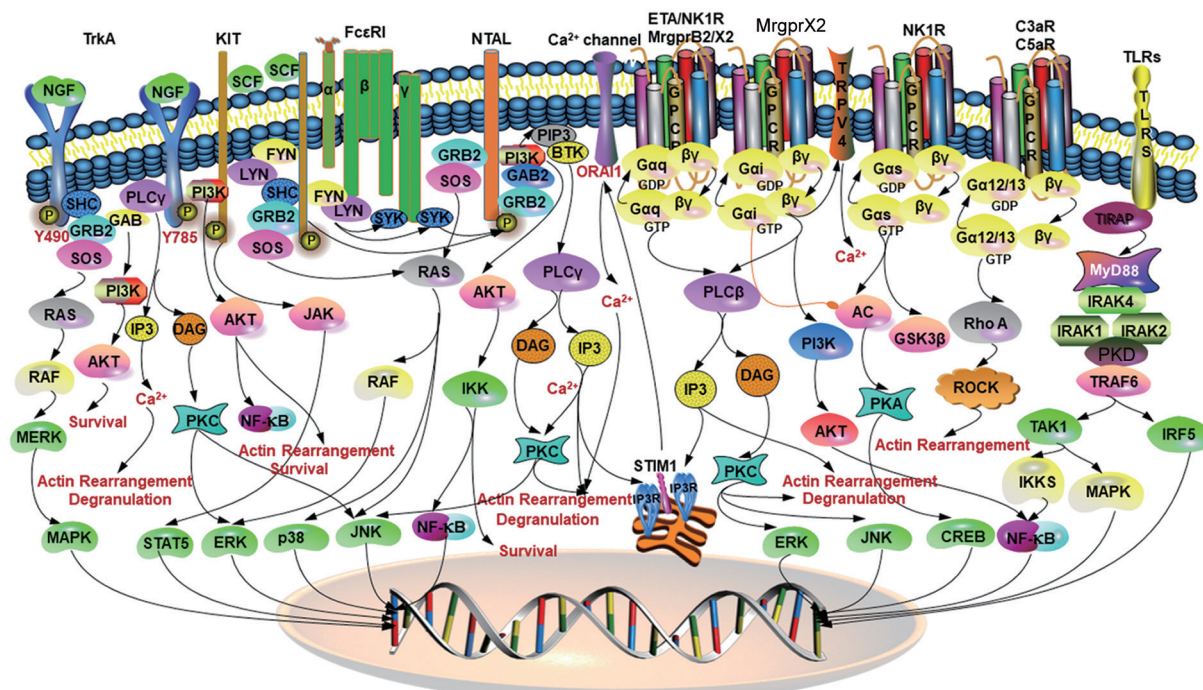


图 1. 肥大细胞激活相关受体及信号通路

Fig. 1. Mast cell activation-related receptors and signaling pathways. NGF, nerve growth factor; SCF, stem cell factor; ETA, endothelin type A receptor; NTAL, non-T cell activation linker; NK1R, neurokinin-1 receptor; Mrgpr, Mas related G protein coupled receptor; TLRs, Toll-like receptors.

临床试验表明, 对于轻度过敏性哮喘患者, QGE031 对吸入反应、皮肤过敏原反应的效果均优于 omalizumab, 可作为哮喘治疗的临床开发药物^[24]。

1.2 NKRs

神经激肽是一类天然存在的具有共同 C 末端 Phe-X-Gly-Leu-Met-NH₂ 的多肽, 分布于中枢神经系统及外周组织, 包括 P 物质 (substance P, SP)、神经激肽 A (neurokinin A, NKA)、NKB 等, NKRs 属于七次跨膜 G 耦联蛋白受体 GPCR 家族, 主要有 NK1R (SP 受体)、NK2R (NKA 受体)、NK3R (NKB 受体)^[25]。目前肥大细胞中研究较多的受体是 NK1R, NK1R 是一类高度保守的受体, 可调节包括免疫系统在内的多种生理及病理途径, 其配体包括 SP、SP 样速激肽等^[26]。人类 NK1R 由 1 221 个核苷酸开放阅读框编码, Fong 等人^[27]发现 NK1R 可分为两种亚型, 截短形式的 NK1R-T (311 aa) 以及完整长度形式的 NK1R-F (407 aa)。两种 NK1R 亚型具有不同的功能, 有报道指出 SP 作用于过表达 NK1R-F 的 HEK 细胞可以引起 Ca²⁺ 内流, 而对过表达 NK1R-T 的 HEK 细胞没有反应; 另外在表达 NK1R-F 的细胞中, SP 可以激活核因子 κB (nuclear factor κB, NF-κB), 上

调 IL-8 表达, 而在表达 NK1R-T 的细胞中, SP 不仅不会激活 NF-κB, 而且还下调 IL-8 表达^[28]。

当神经激肽与 NK1R-F 结合后, NK1R-F 与 Gαq 相互作用活化 PLC, 后者水解 PI(4,5)P₂ 产生第二信使 DAG 及 IP₃, 引起胞内 [Ca²⁺] 升高、PKC 激活及下游 NF-κB 等转录因子激活; 由于 NK1R-T 的 C 末端环被截断, 影响受体与 G 蛋白的结合, 因此其引起的 Ca²⁺ 内流及 PKC 激活较弱, 而且还延迟 ERK 的激活^[29]。另外, NK1R 还与 Gαs 作用使 cAMP 升高, 激活 PKA, 影响相关基因转录^[30] (图 1)。SP 通过 NK1R 途径激活肥大细胞, 使肥大细胞迅速脱颗粒, 释放已有介质, 包括组胺、β-氨基己糖苷酶等, 同时肥大细胞也从头合成并释放 PGD₂、LTB₄、多种趋化因子与细胞因子 (如 IL-8、CCL2、CCL5 等), 参与多种急性与慢性炎症反应^[31, 32]。NK1R 拮抗剂对炎症、哮喘、HIV 感染、慢性瘙痒及抑郁症等都具有明显作用。NK1R 拮抗剂 CP96345 可以拮抗 SP 在中枢神经系统炎症中的促进作用, 抑制自身免疫性脑脊髓炎^[33]。临床试验中 NK1R 拮抗剂 orvepitant 可有效治疗抑郁症、重度抑郁症及创伤后应激障碍; 此外, 研究表明, orvepitant 还

可以抑制慢性瘙痒行为^[34, 35]。临床研究表明: NK1R/NK2R 双重拮抗剂 DNK333 以及 NKRs 三重拮抗剂 CS-003 都可以明显抑制哮喘患者中 NKA 诱发的支气管收缩现象^[36, 37]。阿瑞匹坦 (Aprepitant) 是 NK1R 拮抗剂, 临床试验表明与昂丹司琼联合用药可有效预防术后及化疗引起的恶心呕吐; 此外, 在治疗 HIV 过程中 Aprepitant 虽然未显示出显著的抗病毒活性, 但是阻断 NK1R 可以调节单核细胞活性, 减少患者 CD4⁺ 程序性死亡 1 阳性细胞数量, 降低血浆 SP 及可溶性 CD163 水平, 可能在 HIV 的临床治疗中发挥作用^[38, 39]。

1.3 Mrgprs

Mrgprs 在感知、伤害感受及瘙痒中起着重要作用。Mrgprs 家族在小鼠中的成员数超 50 个, 被分为 MrgprAs (A1~A22)、MrgprBs (B1~B13)、MrgprCs (C1~C14) 以及 MrgprD~H; 在人类被分为 MrgprXs (X1~X7) 及 MrgprD~G。除了 MrgprA1~A16、MrgprA19、MrgprB1~B6、MrgprB8、MrgprB10、MrgprB11、MrgprC11、MrgprX1~X4、MrgprD~H 外, 其余成员都为“伪基因”(“伪基因”是指一段基因序列与其他生物体内已知的基因序列非常相似的片段, 但这个片段不能翻译成蛋白质, 无法发挥原有的基因功能), 其中 MrgprX1 与小鼠 MrgprC11 同源, MrgprX2 与小鼠 MrgprB2 同源^[40, 41]。Mrgprs 大量表达于神经系统的背根神经节上, 除此之外, 肥大细胞是目前发现表达该受体的唯一细胞, Mrgprs 主要与皮肤中大量存在的类胰蛋白酶/类胰凝乳蛋白酶阳性肥大细胞 (MC_{TC}) 相关, 而胰蛋白酶阳性肥大细胞 (MC_T) 不表达该受体^[42]。近期 McNeil 等发现肥大细胞特异性表达 MrgprB2 (人类同源的 MrgprX2 表达于背根神经节 DRG 及肥大细胞), 多种基本促分泌物如 SP、血管活性肠肽、抗菌肽 LL-37 以及经典激活剂化合物 48/80 等可作为配体作用于 MrgprB2/MrgprX2, 该受体在固有免疫、适应性免疫、伤口愈合、神经性炎症、慢性炎症以及疼痛、瘙痒中发挥重要作用^[43]。

配体结合 MrgprB2/MrgprX2 后, 受体与 Gαq 相互作用活化 PLC, 产生 DAG 及 IP₃, IP₃ 与内质网 IP₃R 受体作用, 引起内 Ca²⁺ 释放, 继而开放 Ca²⁺ 激活 Ca²⁺ 通道, 引起胞内 [Ca²⁺] 升高; DAG 激活下游 PKC 激酶, 经 Ras/Raf/MEK/MAPK 通路影响基因转录, 最终导致肥大细胞迅速发生脱颗粒, 释放组胺、β-氨基己糖苷酶等介质, 并合成释放 PGD₂

及细胞因子 TNF-α 等, 参与过敏性炎症反应^[44, 45](图 1)。另外, MrgprX2 受体还可与 Gαi 作用, 通过 MrgprX2/Gαi 信号转导诱导瞬变感受器电位蛋白 V4 (transient receptor potential V4, TRPV4) 通道开放, 阳离子内流, 从而使肥大细胞进行连续脱颗粒; 但是, TRPV4 通道不参与 MrgprB2 受体介导的 Ca²⁺ 内流及脱颗粒过程^[46–48](图 1)。该受体可作为过敏性疾病潜在的治疗靶点, 敲除人源肥大细胞中 MrgprX2 或突变鼠肥大细胞 MrgprB2 可以抑制 SP 诱导的肥大细胞脱颗粒^[49]。NK1R 拮抗剂与 MrgprB2/MrgprX2 拮抗剂有一定的相关性, 研究显示 NK1R 拮抗剂 L733060 和 Aprepitant 可以阻断 SP 激活 MrgprB2, 拮抗剂 Gln-D-Trp (甲酰基)-Phe 苄基酯 (QWF) 可有效阻断 SP 激活 NK1R、MrgprB2 及 MrgprX2^[50]。目前, MrgprB2/MrgprX2 受体拮抗剂尚无相关临床试验报道。

1.4 ET 受体

ET 是一种由 21 个氨基酸残基组成、具有强烈收缩血管和其它生物功能的活性肽, 1988 年由 Yanagisawa 等发现^[51]。ET 可由许多不同种类的细胞表达, 在机体稳态维持及疾病发生中发挥重要作用^[52]。人类 ET 有 ET-1、ET-2、ET-3 三种亚型, 其生物活性存在一定的差异, 其中 ET-1 活性最强, ET-3 活性最弱。ET 受体属于 G 蛋白耦联受体家族, 可分为 ET_A、ET_B 两种亚型, 分子量分别为 65 kDa 和 43 kDa。1991 年 Ogawa 等^[53]和 Sakamoto 等^[54]几乎同时克隆了 ET 受体的这 2 种亚型, 其中 ET_A 亚型受体与 ET-1、ET-2 具有高度的亲和力, 能特异性结合; ET_B 亚型则能与 ET-1、ET-2 和 ET-3 特异性结合。

大多肥大细胞表达 ET_A 受体, 存在 ET_B 受体的肥大细胞很少, 胎儿来源的肥大细胞系 FSMC 中可以在基因和蛋白水平检测到 ET_B 受体^[55]。肥大细胞被激活后可以释放 ET-1, 并且 ET-1 还可作为肥大细胞激活剂与其表面 ET_A 受体结合, 经磷脂酶 PLC 活化, 分解 PIP₂ 生成 IP₃ 和 DAG, IP₃ 作用于内质网 IP₃R, 引起胞内钙释放, 进而促进内质网膜上的基质相互作用分子 1 (stromal interaction molecule 1, STIM1) 与 Ca²⁺ 激活 Ca²⁺ 通道 ORAI1 直接作用, 质膜 Ca²⁺ 通道开放引起细胞外 Ca²⁺ 内流, 胞内 [Ca²⁺] 急剧升高。DAG 激活蛋白激酶 PKC, 经 Ras/Raf/MEK/MAPK 通路影响一系列基因转录, 引起肥大细胞脱颗粒并释放已有及从头合成的炎症介质, 包

括 β -氨基己糖苷酶、组胺、5-羟色胺、LTC₄ 以及细胞因子 TNF- α 、IL-12 等^[56-59](图 1)。另外,肥大细胞激活的过程中也会释放糜蛋白酶,后者可以水解 ET-1,平衡机体的 ET-1 水平^[60]。临床上受体拮抗剂主要用于血管疾病治疗,双受体拮抗剂波生坦(bosentan)用于治疗肺动脉高压,临床研究表明 bosentan 对特发性肺纤维化引起的肺动脉高压也有疗效,能明显延长患者生存期^[61];Bosentan 可用于治疗外周动脉疾病(peripheral arterial disease, PAD),报道指出对于表现间歇性跛行的 PAD 患者, bosentan 耐受性良好,明显改善内皮功能、跛行距离以及炎症和血液动力学状态^[62];此外,临床研究显示 bosentan 也可被用于预防系统性硬化症患者手指溃疡,但是对手指溃疡治愈无明显效果^[63]。

1.5 Trk 受体

神经营养因子家族由四种生长因子组成,包括 NGF、脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)、神经营养因子(neurotrophin-3, NT-3)及 NT-4,这些生长因子各自与其高亲和力受体——Trk 受体结合。NGF 与 TrkA 结合, BDNF 及 NT-3 与 TrkB 结合, NT-4 与 TrkC 结合。在肥大细胞中 TrkA 研究较多, TrkA 由 5 个细胞外结构域(1 个富含亮氨酸结构域、2 个富含半胱氨酸结构域、2 个免疫球蛋白样结构域)、跨膜区以及细胞内激酶结构域组成^[64]。NGF 基因经转录剪接后翻译形成前体 NGF(pro-NGF), pro-NGF 转移到内质网腔中,胞外途径转运过程中转化为具有生物活性的 NGF。成熟 NGF 结构于 1991 年被解析,是由分子量 13 kDa 的单体通过广泛疏水相互作用结合形成的小同源二聚体^[65, 66]。NGF 不仅在神经元的分化、增殖及分泌中发挥重要作用,还可以刺激包括肥大细胞在内的各种炎症细胞参与过敏反应^[67, 68]。

当 NGF 二聚体与 TrkA 受体胞外的 Ig-C2 结构域结合,促使 TrkA 受体聚合形成二聚体,继而引起受体胞内部分的酪氨酸残基 Tyr490(Y490)、Tyr785(Y785)发生自身磷酸化,招募适配子结合,经 PI3K-AKT、PLC γ -PKC 以及 SHC-RAS-RAF-MAPK 等下游信号通路转导,引起细胞内 [Ca²⁺] 升高,影响细胞增殖、分化及炎症相关基因转录水平改变(图 1)。NGF/TrkA 途径可激活肥大细胞,使其迅速脱颗粒,在数分钟内释放组胺等介质,同时从头合成并释放 PGD₂、PGE₂、LT 以及多种细胞因子^[69]。TrkA 抑制剂 CT327 在感觉神经元中通过抑制 NGF-TrkA-

TRPV1 途径抑制辣椒素反应^[70]。临床研究表明:TrkA 抑制剂 CT327 能显著减少银屑病瘙痒行为,银屑病斑块面积以及严重性指数也明显降低,说明 TrkA 是瘙痒症的关键靶标,CT327 有可能成为治疗银屑病的安全有效药物^[70]。K252a 是一种有效的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶抑制剂,已被证明其可阻断由 NGF 诱导的大鼠嗜铬细胞瘤 PC12 细胞的神经元分化^[71]。研究表明:K252a 在体内外能抑制 NGF 诱发的腹腔肥大细胞脱颗粒,降低相关炎症反应,可能成为治疗结肠运动改变为特征的胃肠道疾病的潜在药物^[72]。

1.6 其他

除上述受体之外,还有一些双相反应受体被报道。例如 Sheen 等^[73]发现可卡因可以作用于肥大细胞阿片受体,通过 PKA 及 PI3K 等信号转导使其脱颗粒,释放 β -氨基己糖苷酶、CCL2、CCL-5、IL-8 等多种细胞因子及趋化因子。肥大细胞上还表达 IgG 的受体 Fc γ RI、Fc γ RIIA 和 Fc γ RIIIA,该类受体含有 ITAM;Malbec 等^[74]发现该受体可以介导腹腔来源的肥大细胞脱颗粒,释放组胺、 β -氨基己糖苷酶、TNF- α 、IL-6 等。另外,血小板活化因子(platelet-activating factor, PAF)能与肥大细胞血小板活化因子受体(platelet-activating factor receptor, PAFR)结合,活化磷脂酶 PLC γ 1、PLC β 2,使其脱颗粒并释放炎症介质^[75]。

2 单相反应受体

单相反应受体又可以分为第一相反应受体及第二相反应受体,第一相反应受体是指相应配体与受体结合后肥大细胞仅发生脱颗粒现象,释放已有炎症介质;第二相反应受体使相应配体与受体结合后肥大细胞不发生脱颗粒,仅从头合成并释放炎症介质。

2.1 第一相反应受体

该类受体报道较少,补体受体属于该类受体。补体系统在特异性及非特异性免疫中具有重要的作用,研究显示,补体成分参与大鼠的被动皮肤过敏反应,C3a、C5a 两种小肽(约 9~11 kDa)在各种 IgE 依赖性超敏反应期间快速产生,且在纳摩尔浓度下就能产生效应,可以与肥大细胞上 C3aR、C5aR 受体相互作用,使细胞发生快速脱颗粒并释放组胺^[76, 77]。Nakano 等^[78]研究发现哮喘患者在阶段性过敏原激发后,支气管肺泡灌洗液中 C3a 与 C5a 明显增多;此外,哮喘急性加重期血浆 C3a 和

C5a 水平升高, 且因哮喘死亡的受试者大部分是由于 C3aR 受体不受调节引起的。C3aR、C5aR 由单拷贝基因编码, 人类 C5aR 受体基因位于 19 号染色体上, 编码人类 C3aR 的基因位于 12 号染色体上。C3aR、C5aR 属于 G 蛋白耦联受体 Rho 家族, 主要分布在啮齿动物浆膜型肥大细胞以及人类 MC_{TC} 群体, 尤其是人皮肤肥大细胞表面^[79]。

当补体与 C3aR、C5aR 受体结合后, 与受体结合的 G $\alpha_{12/13}$ 蛋白活化, 经 RhoA/Rho 相关激酶 ROCK 信号通路, 引起肌动蛋白重排, 最终导致肥大细胞脱颗粒, 释放组胺 (图 1)。补体 C3a、C5a 诱导肥大细胞组胺释放的过程是非细胞毒性且不依赖于细胞外 Ca²⁺, 不会从头合成并释放炎症介质, 但可以加重 IgE 依赖的炎症反应^[80, 81]。C3a/C3aR、C5a/C5aR 途径阻断是治疗炎症性疾病的有效手段。例如 PMX53 (3D53) 环肽是最早报道的 C5aR 阻断剂, 能够通过模拟 C5a 活性 C-末端氨基酸残基来非竞争性抑制 C5a/C5aR 途径, 口服可以长时间抑制 C5aR 信号通路, PMX53 在一系列炎症模型中具有良好的抗炎作用, 对包括炎症性关节炎、缺血再灌注损伤、败血症、炎症肠病、牙周炎等均有疗效^[82–84]; 此外, DF2593A 也是 C5aR 抑制剂, 可以有效抑制 C5a 诱导的人和啮齿动物中性粒细胞的迁移, 口服具有生物活性且能透过血脑屏障, 口服 DF2593A 可以有效减轻急性炎症模型以及神经性疼痛模型中 C5aR 介导的伤害性感受^[85]。

2.2 第二相反应受体

2.2.1 KIT 受体

SCF 基因位于人类 12q22-q24 染色体以及小鼠 10 号染色体 Sl 基因座上, 基因表达后经可变剪接及蛋白质裂解。SCF 以两种形式存在: 可溶性糖蛋白和膜结合形式存在的糖蛋白。SCF 是肥大细胞的激活剂/共激活剂, 其受体 KIT 受体 (CD117) 是肥大细胞表面重要受体之一, KIT 激活与肥大细胞生长、生存、分化成熟及归巢等过程密切相关^[86]。KIT 受体属于酪氨酸激酶受体家族, 是 1 个具有酪氨酸激酶的单链跨膜受体, 基因位于人 4q11-q12 染色体以及小鼠 5 号染色体 W 基因座上。KIT 受体胞外部分由 5 个免疫球蛋白 (Ig) 样结构域组成, 其中 SCF 二聚体结合于前三个 Ig 样结构域, 并介导 KIT 受体二聚化; 胞内部分由裂解催化结构域组成^[87]。

KIT 受体胞外部分与 SCF 结合后不仅引起受体二聚化, 还使受体酪氨酸残基发生自身磷酸化, 促

进 Src 家族酪氨酸激酶如 LYN、FYN 激酶、SHP2、PI3K、GRB2、SHC 及其他含 SH2 结构域的蛋白质与受体结合。此外, KIT 自身磷酸化也可以使跨膜衔接蛋白 NTAL 磷酸化, 继而发生一系列的下流信号转导, 包括 JAK-STAT、RAS-RAF-MAPK 等信号通路, 改变相关基因转录, 影响细胞因子, 促进 IL-4、IL-6、IL-1 β 的分泌、细胞存活和肌动蛋白重排等^[88, 89] (图 1)。目前大多数研究者认为 KIT 受体介导肥大细胞激活不会引起快速脱颗粒现象发生, 但由于 KIT 受体与 Fc ϵ RI 受体引发的信号转导途径发生整合, 因此, 当 SCF 与 KIT 受体结合可以增强由抗原引起的肥大细胞脱颗粒及细胞因子释放^[90]。SCF/KIT 途径也可作为炎症性疾病治疗靶点, Finotto 等^[91] 采用反义寡聚核苷酸降低 SCF 表达, 可降低小鼠哮喘模型中气道高反应及 IL-4 水平; 伊马替尼 (STI 571) 是第一种被研发出的 c-KIT 抑制剂, 在体外可以抑制人肥大细胞的生长与粘附, 可以减轻肠道过敏模型小鼠的腹泻, 减轻实验性关节炎模型小鼠及人类类风湿性关节炎的炎症; 临床研究表明伊马替尼可以抑制肥大细胞活化, 改善重症难治性哮喘患者症状^[92]。除此之外, c-KIT 抑制剂马替尼 (AB1010)、达西替尼 (BMS-354825)、EXEL-0862 具有治疗系统性肥大细胞增多症的前景; 另外, 临床研究表明马替尼也可以改善阿尔茨海默病、原发性进行性多发硬化患者症状^[93]。

2.2.2 TLRs

肥大细胞对革兰氏阳性及阴性细菌产物敏感是源于其表达多种 TLRs。研究表明: 肥大细胞不仅膜上表达 TLR2、TLR4、TLR5, 还在胞内表达 TLRs, 如 TLR3、TLR7、TLR9、TLR10; 不同种属、不同组织来源以及不同的体外培养条件均会影响肥大细胞 TLRs 表达^[94]。大多数 TLRs 受体不会诱导肥大细胞脱颗粒, 但会引起多种细胞因子、趋化因子、半胱氨酰 LT 及其他类二十烷酸产生, 除此之外也影响其他受体介导的肥大细胞激活^[95]。

目前研究最多的是 TLR2 及 TLR4。TLR4 是革兰氏阴性菌脂多糖 (LPS) 的受体, 另外, TLR4 受体的配体也可以是病原相关分子模式 (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs) 及损伤相关分子模式 (damage-associated molecular patterns, DAMPs), 如病毒、寄生虫来源的糖和糖蛋白、宿主来源的伴侣蛋白以及氧化低密度脂蛋白^[96]。TLR4 结合配体后, 与其共受体 CD14 及 MD-2 一起激活 MyD88 依

赖信号通路, MyD88 通过衔接分子 TIRAP 与 TLR4 连接, MyD88 激活会引起 IRAK 家族成员及 PDK1 活化, 进一步激活 MAPK 家族成员 JNK、p38、ERK, 最终激活转录因子 NF- κ B、激活蛋白-1 (activator protein 1, AP-1)、干扰素调节因子-5 (interferon regulatory factor, IRF-5), 引起一系列细胞因子及趋化因子的产生; 另外, ERK 可激活磷脂酶 PLA2, 生成脂类介质^[97] (图 1)。TLR4 受体参与的肥大细胞激活不会引起脱颗粒, 但会导致炎症介质释放, 介质种类依赖于肥大细胞来源及相关实验条件, 主要包括 TNF α 、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、IL-1 β 、GM-CSF、CCL1、CCL2、CCL3、CXCL2、半胱氨酰白三烯 (cysteinyl leukotriene, CysLT) 等^[98]。

TLR2 是肽聚糖的受体, 也能结合其他的 PAMPs 及 DAMPs, 如来源于病毒、寄生虫的多种糖与糖蛋白^[99]。除了少数的配体外, 大部分研究显示 TLR2 受体介导肥大细胞的激活只释放炎症介质, 而不引起脱颗粒现象发生。当配体与 TLR2 受体结合后, 经 MyD88 依赖的信号通路进行传导, 最终导致 MAPK 家族 (JNK、p38、ERK)、NF- κ B 及 AP-1 活化 (图 1), 合成并释放多种细胞因子, 如 IL-1 β 、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-13、IL-17、TNF α 、IFN γ 、CysLTs、LTB4、PGD₂ 等。不同配体通过 TLR2 受体激活肥大细胞所释放的细胞因子也不同, 例如 TLR2 受体的配体脂磷壁酸 LTA 可以激活肥大细胞释放 PGD₂, 而配体巨噬细胞活化脂肽-2 MALP-2 却不能诱导细胞释放 PGD₂^[100, 101]。

TLRs 受体通路是炎症疾病治疗的潜在靶点, TLR2 受体抑制剂可以明显抑制 TLR2 诱导的小鼠炎症^[102]; TLR4 受体抑制剂 TAK-242 能够减少应激后大鼠大脑额叶皮层的神经炎症, 提示给予 TLR4 受体抑制剂是治疗应激相关神经炎症的潜在手段^[103]; 抗炎药物透明质酸 (hyaluronic acid, HA) 可以抑制 TLRs 受体通路, 降低 LPS 诱导的组织蛋白酶 K 和基质金属蛋白酶 1 (matrix metalloproteinases 1, MMP1) 的表达, 在类风湿性关节炎的发病过程中对类风湿性滑膜成纤维细胞发挥保护作用^[104]; MyD88 抑制剂 (TJ-M2010-5) 可以明显降低氧化偶氮甲烷 (azoxymethane, AOM)/ 葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导的结肠炎相关癌症 (colitis associated cancer, CAC) 小鼠模型中炎症细胞的浸润及炎症因子的释放, 因此 MyD88 抑制剂是治疗结肠炎或 CAC 患者的潜在药物^[105]; 蛋白酪氨酸激酶 PTK

抑制剂 AG126 可直接抑制 TLRs 受体通路酪氨酸激酶 BTK, 被证实包括神经炎性在内的多种炎症模型中均有作用^[106]。

2.2.3 其它

除了 KIT 受体、TLRs 受体之外, 还有一些受体介导的肥大细胞激活不会引起脱颗粒, 只产生炎症介质。例如模式识别受体 Dectin-1, Dectin-1 属于 C 型凝集素受体 (C-type lectin receptors, CLRs) 家族, 其特异性配体富含 β - 葡聚糖结构域, 存在于大多数真菌中, Dectin-1 介导的肥大细胞激活不会导致脱颗粒, 但可以诱导细胞产生 ROS、CysLTs、TNF α 、IL-3、IL-4、IL-13、CCL2、CCL7 等^[107]。另外, 核苷酸寡聚化结构域 (nucleotide oligodepolymerization domain, NOD) 样受体 NOD1 也可以介导肥大细胞激活, 该过程不会发生脱颗粒现象, 也不会分泌花生酸类介质, 但会引起细胞因子与趋化因子 IL-8、TNF α 、CCL3 及 CCL4 释放^[108]。

3 结语

肥大细胞在很多过敏性及炎症性疾病中起着重要作用, 阻断肥大细胞激活可有效治疗相关疾病, 而肥大细胞激活离不开其表达的受体, 因此, 介导肥大细胞激活的受体及下游信号转导途径中的关键分子可作为临床药物开发潜在靶点。由于参与肥大细胞激活相关受体的种类繁多, 不同受体所产生的效应及机制也不相同, 因此, 本综述根据产生的效应将相关受体分为双相反应受体和单相反应受体, 双相反应受体不仅引起肥大细胞脱颗粒, 还从头合成并释放介质; 单相反应受体仅仅引起一种反应, 肥大细胞脱颗粒或者从头合成并释放介质。此外, 本文还对受体介导肥大细胞激活过程中的信号转导途径、关键信号分子以及相关应用进行了阐述, 为今后过敏性、炎症性疾病的药物开发及治疗提供一定理论依据。

* * *

致谢: 本综述受国家自然科学基金 (No. 31771163, 31471007) 资助。

参考文献

- 1 Rigoni A, Colombo MP, Pucillo C. Mast cells, basophils and eosinophils: From allergy to cancer. *Semin Immunol* 2018; 35: 29–34.

- 2 Cardamone C, Parente R, Feo GD, Triggiani M. Mast cells as effector cells of innate immunity and regulators of adaptive immunity. *Immunol Lett* 2016; 178: 10–14.
- 3 Abraham SN1, St John AL. Mast cell-orchestrated immunity to pathogens. *Nat Rev Immunol* 2010; 10(6): 440–452.
- 4 Dahlin JS, Hallgren J. Mast cell progenitors: origin, development and migration to tissues. *Mol Immunol* 2015; 63(1): 9–17.
- 5 Kubo M. Mast cells and basophils in allergic inflammation. *Curr Opin Immunol* 2018; 54: 74–79.
- 6 Reber LL, Frossard N. Targeting mast cells in inflammatory diseases. *Pharmacol Ther* 2014; 142(3): 416–435.
- 7 Halova I, Draberova L, Draber P. Mast cell chemotaxis-chemoattractants and signaling pathways. *Front Immunol* 2012; 3: 119.
- 8 Lundequist A, Pejler G. Biological implications of preformed mast cell mediators. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68(6): 965–975.
- 9 da Silva EZ, Jamur MC, Oliver C. Mast cell function: a new vision of an old cell. *J Histochem Cytochem* 2014; 62(10): 698–738.
- 10 Blank U, Ra C, Miller L, White K, Metzger H, Kinet JP. Complete structure and expression in transfected cells of high affinity IgE receptor. *Nature* 1989; 337(6203): 187–189.
- 11 Donnadieu E, Jouvin MH, Kinet JP. A second amplifier function for the allergy-associated Fc ϵ RI- β subunit. *Immunity* 2000; 12(5): 515–523.
- 12 Kinet JP. The high-affinity IgE receptor (Fc ϵ RI): from physiology to pathology. *Annu Rev Immunol* 1999; 17: 931–972.
- 13 Matsuda K, Piliponsky AM, Iikura M, Nakae S, Wang EW, Dutta SM, Kawakami T, Tsai M, Galli SJ. Monomeric IgE enhances human mast cell chemokine production: IL-4 augments and dexamethasone suppresses the response. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116 (6): 1357–1363.
- 14 Kawakami T, Kitauro J, Xiao W, Kawakami Y. IgE regulation of mast cell survival and function. *Novartis Found Symp* 2005; 271: 100–107; discussion 108–114, 145–151.
- 15 Eiseman E, Bolen JB. Engagement of the high-affinity IgE receptor activates src protein-related tyrosine kinases. *Nature* 1992; 355(6355): 78–80.
- 16 Draber P, Halova I, Polakovicova I, Kawakami T. Signal transduction and chemotaxis in mast cells. *Eur J Pharmacol* 2016; 778: 11–23.
- 17 Cho SH, You HJ, Woo CH, Yoo YJ, Kim JH. Rac and protein kinase C- δ regulate ERKs and cytosolic phospholipase A2 in Fc ϵ RI signaling to cysteinyl leukotriene synthesis in mast cells. *J Immunol* 2004; 173(1): 624–631.
- 18 Saito H, Ishizaka T, Ishizaka K. Mast cells and IgE: from history to today. *Allergol Int* 2013; 62(1): 3–12.
- 19 Saito H. Mast cell research. *Chem Immunol Allergy* 2014; 100: 165–171.
- 20 Casale TB, Condemi J, LaForce C, Nayak A, Rowe M, Watrous M, McAlary M, Fowler-Taylor A, Racine A, Gupta N, Fick R, Della Cioppa G; Omalizumab Seasonal Allergic Rhinitis Trial Group. Effect of omalizumab on symptoms of seasonal allergic rhinitis: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001; 286(23): 2956–2967.
- 21 Busse W, Corren J, Lanier BQ, McAlary M, Fowler-Taylor A, Cioppa GD, van As A, Gupta N. Omalizumab, anti-IgE recombinant humanized monoclonal antibody, for the treatment of severe allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108(2): 184–190.
- 22 Andorf S, Purington N, Block WM, Long AJ, Tupa D, Brittain E, Rudman Spergel A, Desai M, Galli SJ, Nadeau KC, Chinthrajah RS. Anti-IgE treatment with oral immunotherapy in multifoed allergic participants: a double-blind, randomised, controlled trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2018; 3(2): 85–94.
- 23 Hide M, Igarashi A, Yagami A, Chinuki Y, Inomata N, Fukunaga A, Kaiser G, Wang J, Matsushima S, Greenberg S, Khalil S. Efficacy and safety of omalizumab for the treatment of refractory chronic spontaneous urticaria in Japanese patients: Subgroup analysis of the phase 3 POLARIS study. *Allergol Int* 2018; 67(2): 243–252.
- 24 Gauvreau GM, Arm JP, Boulet LP, Leigh R, Cockcroft DW, Davis BE, Mayers I, FitzGerald JM, Dahlen B, Killian KJ, Laviolette M, Carlsten C, Lazarinis N, Watson RM, Milot J, Swystun V, Bowen M, Hui L, Lantz AS, Meiser K, Maahs S, Lowe PJ, Skerjanec A, Drollmann A, O'Byrne PM. Efficacy and safety of multiple doses of QGE031 (ligelizumab) versus omalizumab and placebo in inhibiting allergen-induced early asthmatic responses. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 138(4): 1051–1059.
- 25 Regoli D, Nantel F. Pharmacology of neurokinin receptors. *Biopolymers* 1991; 31(6): 777–783.
- 26 Douglas SD, Leeman SE. Neurokinin-1 receptor: functional significance in the immune system in reference to selected infections and inflammation. *Ann N Y Acad Sci* 2011; 1217: 83–95.
- 27 Fong TM, Anderson SA, Yu H, Huang RR, Strader CD. Differential activation of intracellular effector by two isoforms of human neurokinin-1 receptor. *Mol Pharmacol* 1992; 41(1): 24–30.
- 28 Lai JP, Lai S, Tuluc F, Tansky MF, Kilpatrick LE, Leeman SE, Douglas SD. Differences in the length of the carboxyl terminus mediate functional properties of neurokinin-1

- receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(34): 12605–12610.
- 29 Spitsin S, Pappa V, Douglas SD. Truncation of neurokinin-1 receptor-negative regulation of substance P signaling. *J Leukoc Biol* 2018; doi: 10.1002/JLB.3MIR0817-348R.
- 30 Palanche T, Ilien B, Zoffmann S, Reck MP, Bucher B, Edelstein SJ, Galzi JL. The neurokinin A receptor activates calcium and cAMP responses through distinct conformational states. *J Biol Chem* 2001; 276(37): 34853–34861.
- 31 Kulka M, Sheen CH, Tancowny BP, Grammer LC, Schleimer RP. Neuropeptides activate human mast cell degranulation and chemokine production. *Immunology* 2008; 123(3): 398–410.
- 32 Castellani ML, Ciampoli C, Felaco M, Tetè S, Conti CM, Salini V, De Amicis D, Orso C, Antinolfi PL, Caraffa A, Cerulli G, Boscolo P, Theoharides TC, Conti P, Kepuraj D. Neuropeptide substance P induces mRNA expression and secretion of CXCL8 chemokine, and HDC in human umbilical cord blood mast cells. *Clin Invest Med* 2008; 31(6): E362–E372.
- 33 Nessler S, Stadelmann C, Bittner A, Schlegel K, Gronen F, Brueck W, Hemmer B, Sommer N. Suppression of autoimmune encephalomyelitis by a neurokinin-1 receptor antagonist—a putative role for substance P in CNS inflammation. *J Neuroimmunol* 2006; 179(1–2): 1–8.
- 34 Ratti E, Bettica P, Alexander R, Archer G, Carpenter D, Evoniuk G, Gomeni R, Lawson E, Lopez M, Millns H, Rabiner EA, Trist D, Trower M, Zamuner S, Krishnan R, Fava M. Full central neurokinin-1 receptor blockade is required for efficacy in depression: evidence from orvepitant clinical studies. *J Psychopharmacol* 2013; 27(5): 424–434.
- 35 Trower MK, Fisher A, Upton N, Ratti E. Neurokinin-1 receptor antagonist orvepitant is an effective inhibitor of itch-associated response in a Mongolian gerbil model of scratching behavior. *Exp Dermatol* 2014; 23(11): 858–860.
- 36 Joos G, Vincken W, Louis R, Schelfhout VJ, Wang JH, Shaw MJ, Cioppa GD, Pauwels RA. Dual NK1/NK2 antagonist DNK333 inhibits neurokinin A-induced bronchoconstriction in asthma patients. *Eur Respir J* 2004; 23: 76–81.
- 37 Schelfhout V, Louis R, Lenz W, Heyrman R, Pauwels R, Joos G. The triple neurokinin-receptor antagonist CS-003 inhibits neurokinin A-induced bronchoconstriction in patients with asthma. *Pulm Pharmacol Ther* 2006; 19(6): 413–418.
- 38 Sugimori Y, Ota T, Ujihira T, Ishiguro T, Ogishima D. A phase II randomised study to evaluate the efficacy of aprepitant plus palonosetron for preventing delayed-phase CINV associated with TC therapy in gynaecological cancer. *J Obstet Gynaecol Res* 2017; 43(9): 1454–1459.
- 39 Tebas P, Spitsin S, Barrett JS, Tuluc F, Elci O, Korelitz JJ, Wagner W, Winters A, Kim D, Catalano R, Evans DL, Douglas SD. Reduction of soluble CD163, substance P, programmed death 1 and inflammatory markers: phase 1B trial of aprepitant in HIV-1-infected adults. *AIDS* 2015; 29(8): 931–939.
- 40 Liu Q, Dong X. The role of the Mrgpr receptor family in itch. *Handb Exp Pharmacol* 2015; 226: 71–88.
- 41 Voisin T, Bouvier A, Chiu IM. Neuro-immune interactions in allergic diseases: novel targets for therapeutics. *Int Immunol* 2017; 29(6): 247–261.
- 42 Subramanian H, Gupta K, Ali H. Roles of Mas-related G protein-coupled receptor X2 on mast cell-mediated host defense, pseudoallergic drug reactions, and chronic inflammatory diseases. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 138(3): 700–710.
- 43 McNeil BD, Pundir P, Meeker S, Han L, Undem BJ, Kulka M, Dong X. Identification of a mast-cell-specific receptor crucial for pseudo-allergic drug reactions. *Nature* 2015; 519(7542): 237–241.
- 44 Ali H. Emerging roles for MAS-related G protein-coupled receptor-X2 in host defense peptide, opioid, and neuropeptide-mediated inflammatory reactions. *Adv Immunol* 2017; 136: 123–162.
- 45 Subramanian H, Gupta K, Guo Q, Price R, Ali H. Mas-related gene X2 (MrgX2) is a novel G protein-coupled receptor for the antimicrobial peptide LL-37 in human mast cells: resistance to receptor phosphorylation, desensitization, and internalization. *J Biol Chem* 2011; 286(52): 44739–44749.
- 46 Sulk M, Seeliger S, Aubert J, Schwab VD, Cevikbas F, Rivier M, Nowak P, Voegel JJ, Buddenkotte J, Steinhoff M. Distribution and expression of non-neuronal transient receptor potential (TRPV) ion channels in rosacea. *J Invest Dermatol* 2012; 132(4): 1253–1262.
- 47 Mascarenhas NL, Wang Z, Chang YL, Di Nardo A. TRPV4 mediates mast cell activation in cathelicidin-induced rosacea inflammation. *J Invest Dermatol* 2017; 137(4): 972–975.
- 48 Solís-López A, Kriebs U, Marx A, Mannebach S, Liedtke WB, Caterina MJ, Freichel M, Tsvilovskyy VV. Analysis of TRPV channel activation by stimulation of FCeRI and MRGPR receptors in mouse peritoneal mast cells. *PLoS One* 2017; 12(2): e0171366.
- 49 Liu R, Che D, Zhao T, Pundir P, Cao J, Lv Y, Wang J, Ma P, Fu J, Wang N, Wang X, Zhang T, Dong X, He L. MRGPRX2 is essential for sinomenine hydrochloride induced anaphylactoid reactions. *Biochem Pharmacol* 2017; 146: 214–223.
- 50 Azimi E, Reddy VB, Shade KC, Anthony RM, Talbot S, Pereira PJ, Lerner EA. Dual action of neurokinin-1 antago-

- nists on Mas-related GPCRs. *JCI Insight* 2016; 1(16): e89362.
- 51 Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332(6163): 411–415.
 - 52 Kedzierski RM, Yanagisawa M. Endothelin system: the double-edged sword in health and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001; 41: 851–876.
 - 53 Ogawa Y, Nakao K, Arai H, Nakagawa O, Hosoda K, Suga S, Nakanishi S, Imura H. Molecular cloning of a non-isopeptide-selective human endothelin receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 178(1): 248–255.
 - 54 Sakamoto A, Yanagisawa M, Sakurai T, Takawa Y, Yanagisawa H, Masaki T. Cloning and functional expression of human cDNA for the ETB endothelin receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1991; 178(2): 656–663.
 - 55 Matsushima H, Yamada N, Matsue H, Shimada S. The effects of endothelin-1 on degranulation, cytokine, and growth factor production by skin-derived mast cells. *Eur J Immunol* 2004; 34(7): 1910–1919.
 - 56 Stassen M, Hültner L, Schmitt E. Classical and alternative pathways of mast cell activation. *Crit Rev Immunol* 2002; 22(2): 115–140.
 - 57 Yamamura H, Nabe T, Kohno S, Ohata K. Endothelin-1 induces release of histamine and leukotriene C4 from mouse bone marrow-derived mast cells. *Eur J Pharmacol* 1994; 257(3): 235–242.
 - 58 Hültner L, Ehrenreich H. Mast cells and endothelin-1: a life-saving biological liaison? *Trends Immunol* 2005; 26(5): 235–238.
 - 59 Kowalczyk A, Kleniewska P, Kolodziejczyk M, Skibska B, Goraca A. The role of endothelin-1 and endothelin receptor antagonists in inflammatory response and sepsis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2015; 63(1): 41–52.
 - 60 Maurer M, Wedemeyer J, Metz M, Piliponsky AM, Weller K, Chatterjea D, Clouthier DE, Yanagisawa MM, Tsai M, Galli SJ. Mast cells promote homeostasis by limiting endothelin-1-induced toxicity. *Nature* 2004; 432(7016): 512–516.
 - 61 Tanaka Y, Hino M, Gemma A. Potential benefit of bosentan therapy in borderline or less severe pulmonary hypertension secondary to idiopathic pulmonary fibrosis-an interim analysis of results from a prospective, single-center, randomized, parallel-group study. *BMC Pulm Med* 2017; 17(1): 200.
 - 62 De Haro J, Bleda S, Varela C, Esparza L, Acin F. Effect of Bosentan on claudication distance and endothelium-dependent vasodilation in hispanic patients with peripheral arterial disease. *Am J Cardiol* 2016; 117(2): 295–301.
 - 63 Chung L, Ball K, Yaqub A, Lingala B, Fiorentino D. Effect of the endothelin type A-selective endothelin receptor antagonist ambrisentan on digital ulcers in patients with systemic sclerosis: results of a prospective pilot study. *J Am Acad Dermatol* 2014; 71(2): 400–401.
 - 64 Chao MV. Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4(4): 299–309.
 - 65 Edwards RH, Selby MJ, Rutter WJ. Differential RNA splicing predicts two distinct nerve growth factor precursors. *Nature* 1986; 319(6056): 784–787.
 - 66 McDonald NQ, Lapatto R, Murray-Rust J, Gunning J, Wlodawer A, Blundell TL. New protein fold revealed by a 2.3-Å resolution crystal structure of nerve growth factor. *Nature* 1991; 354(6352): 411–414.
 - 67 Marshall JS, Gomi K, Blennerhassett MG, Bienenstock J. Nerve growth factor modifies the expression of inflammatory cytokines by mast cells via a prostanoïd-dependent mechanism. *J Immunol* 1999; 162(7): 4271–4276.
 - 68 Stempel M, Ferjan I. Signaling pathway in nerve growth factor induced histamine release from rat mast cells. *Inflamm Res* 2005; 54(8): 344–349.
 - 69 Marlin MC, Li G. Biogenesis and function of the NGF/TrkA signaling endosome. *Int Rev Cell Mol Biol* 2015; 314: 239–257.
 - 70 Roblin D, Yosipovitch G, Boyce B, Robinson J, Sandy J, Mainero V, Wickramasinghe R, Anand U, Anand P. Topical TrkA kinase inhibitor CT327 is an effective, novel therapy for the treatment of pruritus due to psoriasis: Results from experimental studies, and efficacy and safety of CT327 in a phase 2b clinical trial in patients with psoriasis. *Acta Derm Venereol* 2015; 95(5): 542–548.
 - 71 Koizumi S, Contreras ML, Matsuda Y, Hama T, Lazarovici P, Guroff G. K-252a: a specific inhibitor of the action of nerve growth factor on PC 12 cells. *J Neurosci* 1988; 8(2): 715–721.
 - 72 Berdún S, Rychter J, Vergara P. Effects of nerve growth factor antagonist K252a on peritoneal mast cell degranulation: implications for rat postoperative ileus. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2015; 309(10): G801–G806.
 - 73 Sheen CH, Schleimer RP, Kulka M. Codeine induces human mast cell chemokine and cytokine production: involvement of G-protein activation. *Allergy* 2007; 62(5): 532–538.
 - 74 Malbec O, Roget K, Schiffer C, Iannascoli B, Dumas AR, Arock M, Daëron M. Peritoneal cell-derived mast cells: an *in vitro* model of mature serosal-type mouse mast cells. *J Immunol* 2007; 178(10): 6465–6475.

- 75 Kajiwara N, Sasaki T, Bradding P, Cruse G, Sagara H, Ohmori K, Saito H, Ra C, Okayama Y. Activation of human mast cells through the platelet-activating factor receptor. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125(5): 1137–1145.
- 76 Osler AG, Randall HG, Hill BM, Ovary Z. Studies on the mechanism of hypersensitivity phenomena. III. The participation of complement in the formation of anaphylatoxin. *J Exp Med* 1959; 110: 311–339.
- 77 Johnson AR, Hugli TE, Muller-Eberhard HJ. Release of histamine from rat mast cells by the complement peptides C3a and C5a. *Immunology* 1975; 28: 1067–1080.
- 78 Nakano Y, Morita S, Kawamoto A, Suda T, Chida K, Nakamura H. Elevated complement C3a in plasma from patients with severe acute asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112(3): 525–530.
- 79 el-Lati SG, Dahinden CA, Church MK. Complement peptides C3a- and C5a-induced mediator release from dissociated human skin mast cells. *J Invest Dermatol* 1994; 102(5): 803–806.
- 80 Ali H. Regulation of human mast cell and basophil function by anaphylatoxins C3a and C5a. *Immunol Lett* 2010; 128: 36–45.
- 81 Schäfer B, Piliponsky AM, Oka T, Song CH, Gerard NP, Gerard C, Tsai M, Kalesnikoff J, Galli SJ. Mast cell anaphylatoxin receptor expression can enhance IgE-dependent skin inflammation in mice. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131(2): 541–548.
- 82 Woodruff TM, Strachan AJ, Dryburgh N, Shiels IA, Reid RC, Fairlie DP, Taylor SM. Antiarthritic activity of an orally active C5a receptor antagonist against antigen-induced monarticular arthritis in the rat. *Arthritis Rheum* 2002; 46(9): 2476–2485.
- 83 Woodruff TM, Arumugam TV, Shiels IA, Reid RC, Fairlie DP, Taylor SM. A potent human C5a receptor antagonist protects against disease pathology in a rat model of inflammatory bowel disease. *J Immunol* 2003; 171(10): 5514–5520.
- 84 Li G, Pan J, Tang Q, Liu X, Wang L, Meng Y, Yu W. Anti-inflammatory effects of PMX205 in mouse macrophage periodontitis model. *Iran J Immunol* 2018; 15(2): 84–96.
- 85 Moriconi A, Cunha TM, Souza GR, Lopes AH, Cunha FQ, Carneiro VL, Pinto LG, Brandolini L, Aramini A, Bizzarri C, Bianchini G, Beccari AR, Fanton M, Bruno A, Costantino G, Bertini R, Galliera E, Locati M, Ferreira SH, Teixeira MM, Allegretti M. Targeting the minor pocket of C5aR for the rational design of an oral allosteric inhibitor for inflammatory and neuropathic pain relief. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(47): 16937–16942.
- 86 El-Agamy DS. Targeting c-kit in the therapy of mast cell disorders: current update. *Eur J Pharmacol* 2012; 690(1–3): 1–3.
- 87 Jensen BM, Metcalfe DD, Gilfillan AM. Targeting kit activation: a potential therapeutic approach in the treatment of allergic inflammation. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2007; 6(1): 57–62.
- 88 Reber L, Da Silva CA, Frossard N. Stem cell factor and its receptor c-Kit as targets for inflammatory diseases. *Eur J Pharmacol* 2006; 533(1–3): 327–340.
- 89 Gilfillan AM, Tkaczyk C. Integrated signalling pathways for mast-cell activation. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(3): 218–230.
- 90 Hundley TR, Gilfillan AM, Tkaczyk C, Andrade MV, Metcalfe DD, Beaven MA. Kit and FcεRI mediate unique and convergent signals for release of inflammatory mediators from human mast cells. *Blood* 2004; 104(8): 2410–2417.
- 91 Finotto S, Buerke M, Lingnau K, Schmitt E, Galle PR, Neurath MF. Local administration of antisense phosphorothioate oligonucleotides to the c-kit ligand, stem cell factor, suppresses airway inflammation and IL-4 production in a murine model of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107(2): 279–286.
- 92 Cahill KN, Katz HR, Cui J, Lai J, Kazani S, Crosby-Thompson A, Garofalo D, Castro M, Jarjour N, DiMango E, Erzurum S, Trevor JL, Shenoy K, Chinchilli VM, Wechsler ME, Laidlaw TM, Boyce JA, Israel E. KIT Inhibition by imatinib in patients with severe refractory asthma. *N Engl J Med* 2017; 376(20): 1911–1920.
- 93 Lortholary O, Chandesris MO, Bulai Livideanu C, Paul C, Guillet G, Jassem E, Niedozytko M, Barete S, Verstovsek S, Grattan C, Damaj G, Canioni D, Fraïtag S, Lhermitte L, Georgin Lavialle S, Frenzel L, Afrin LB, Hanssens K, Agopian J, Gaillard R, Kinet JP, Auclair C, Mansfield C, Moussy A, Dubreuil P, Hermine O. Masitinib for treatment of severely symptomatic indolent systemic mastocytosis: a randomised, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet* 2017; 389(10069): 612–620.
- 94 Agier J, Żelechowska P, Kozłowska E, Brzezińska-Błaszczyk E. Expression of surface and intracellular Toll-like receptors by mature mast cells. *Cent Eur J Immunol* 2016; 41(4): 333–338.
- 95 Redegeld FA, Yu Y, Kumari S, Charles N, Blank U. Non-IgE mediated mast cell activation. *Immunol Rev* 2018; 282(1): 87–113.
- 96 Lee CC, Avalos AM, Ploegh HL. Accessory molecules for Toll-like receptors and their function. *Nat Rev Immunol* 2012; 12(3): 168–179.
- 97 Avila M, Gonzalez-Espinosa C. Signaling through Toll-like receptor 4 and mast cell-dependent innate immunity

- responses. *IUBMB Life* 2011; 63(10): 873–880.
- 98 McCurdy JD, Lin TJ, Marshall JS. Toll-like receptor 4-mediated activation of murine mast cells. *J Leukoc Biol* 2001; 70(6): 977–984.
- 99 Sandig H, Bulfone-Paus S. TLR signaling in mast cells: common and unique features. *Front Immunol* 2012; 3: 185.
- 100 Mrabet-Dahbi S, Metz M, Dudeck A, Zuberbier T, Maurer M. Murine mast cells secrete a unique profile of cytokines and prostaglandins in response to distinct TLR2 ligands. *Exp Dermatol* 2009; 18(5): 437–444.
- 101 Varadaradjalou S, Féger F, Thieblemont N, Hamouda NB, Pleau JM, Dy M, Arock M. Toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4 differentially activate human mast cells. *Eur J Immunol* 2003; 33(4): 899–906.
- 102 Mistry P, Laird MH, Schwarz RS, Greene S, Dyson T, Snyder GA, Xiao TS, Chauhan J, Fletcher S, Toshchakov VY, MacKerell AD Jr, Vogel SN. Inhibition of TLR2 signaling by small molecule inhibitors targeting a pocket within the TLR2 TIR domain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112(17): 5455–5460.
- 103 Gárate I, García-Bueno B, Madrigal JL, Caso JR, Alou L, Gómez-Lus ML, Leza JC. Toll-like 4 receptor inhibitor TAK-242 decreases neuroinflammation in rat brain frontal cortex after stress. *J Neuroinflammation* 2014; 11: 8.
- 104 Hirabara S, Kojima T, Takahashi N, Hanabayashi M, Ishiguro N. Hyaluronan inhibits TLR-4 dependent cathepsin K and matrix metalloproteinase 1 expression in human fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 430(2): 519–522.
- 105 Xie L, Jiang FC, Zhang LM, He WT, Liu JH, Li MQ, Zhang X, Xing S, Guo H, Zhou P. Targeting of MyD88 homodimerization by novel synthetic inhibitor TJ-M2010-5 in preventing colitis-associated colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2015; 108(4). doi: 10.1093/jnci/djv364.
- 106 Menzfeld C, John M, van Rossum D, Regen T, Scheffel J, Janova H, Götz A, Ribes S, Nau R, Borisch A, Boutin P, Neumann K, Bremes V, Wienands J, Reichardt HM, Lühder F, Tischner D, Waetzig V, Herdegen T, Teismann P, Greig I, Müller M, Pukrop T, Mildner A, Kettenmann H, Brück W, Prinz M, Rotshenker S, Weber MS, Hanisch UK. Tyrphostin AG126 exerts neuroprotection in CNS inflammation by a dual mechanism. *Glia* 2015; 63(6): 1083–1099.
- 107 Kimura Y, Chihara K, Honjoh C, Takeuchi K, Yamauchi S, Yoshiki H, Fujieda S, Sada K. Dectin-1-mediated signaling leads to characteristic gene expressions and cytokine secretion via spleen tyrosine kinase (Syk) in rat mast cells. *J Biol Chem* 2014; 289(45): 31565–31575.
- 108 Enoksson M, Ejendal KF, McAlpine S, Nilsson G, Lunderius-Andersson C. Human cord blood-derived mast cells are activated by the Nod1 agonist M-TriDAP to release pro-inflammatory cytokines and chemokines. *J Innate Immun* 2011; 3(2): 142–149.