

DOI: 10.13376/j.cbls/2021109

文章编号: 1004-0374(2021)08-0997-05

## PARs在IPF中的作用及其靶向药物研究进展

崔梦奇<sup>1,2</sup>, 任善发<sup>1,2</sup>, 王 明<sup>1</sup>, 高丹迪<sup>1,2</sup>, 肖 婷<sup>1\*</sup>, 周红刚<sup>1,2\*</sup>, 杨 诚<sup>1,2\*</sup>

(1 南开大学药物化学生物学国家重点实验室, 南开大学药学院和天津市分子药物研究重点实验室, 天津 300457; 2 天津市国际生物医药联合研究院高通量分子筛选中心, 天津 300350)

**摘 要:** 特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 是一种病因不明的慢性、进行性、纤维化性间质性肺炎, 治愈率低而死亡率很高, 目前有效的治疗药物较为匮乏。蛋白酶激活受体 (protease activated receptors, PARs) 的不可逆地激活对维持肺功能具有重要作用, PARs 的异常表达与活化可促进炎症和纤维化过程。因此, 在特发性肺纤维化的治疗中, 靶向 PARs 可能成为一种新的治疗手段。该文介绍了 PARs 在促进特发性肺纤维化进程中的功能及作用机制, 并且总结了靶向 PARs 的抗肺纤维化药物的研究进展。

**关键词:** 蛋白酶激活受体; 特发性肺纤维化; 靶向药物

中图分类号: R563

文献标志码: A

## The role of protease activated receptors in idiopathic pulmonary fibrosis and the advance in its targeted drugs

CUI Meng-Qi<sup>1,2</sup>, REN Shan-Fa<sup>1,2</sup>, WANG Ming<sup>1</sup>, GAO Dan-Di<sup>1,2</sup>,  
XIAO Ting<sup>1\*</sup>, ZHOU Hong-Gang<sup>1,2\*</sup>, YANG Cheng<sup>1,2\*</sup>

(1 State Key Laboratory of Medicinal Chemical Biology, Nankai University School of Pharmacy, Nankai University and Tianjin Key Laboratory of Molecular Drug Research, Tianjin 300457, China; 2 High-throughput Molecular Screening Center of Tianjin International Joint Research Institute of Biomedicine, Tianjin 300350, China)

**Abstract:** Idiopathic pulmonary fibrosis is a chronic, progressive, fibrotic interstitial pneumonia of unknown etiology. The cure rate is low and the mortality rate is high. At present, effective treatment drugs are scarce. Irreversible activation of PARs plays an important role in maintaining pulmonary function, and abnormal expression and activation of PARs can promote the process of inflammation and idiopathic pulmonary fibrosis. Therefore, targeted PARs may be a new therapeutic method in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. This paper introduces the function and mechanism of PARs in promoting idiopathic pulmonary fibrosis, and summarizes the advance in anti-fibrosis drugs targeting PARs.

**Key words:** protease activated receptors; idiopathic pulmonary fibrosis; targeted drugs

肺纤维化是一种异质性疾病, 尤其是特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 在肺纤维化患者中致死率较高, 约有 15% 的肺纤维化患者为急性 IPF。急性 IPF 患者多于上呼吸道感染就诊

时发现进行性呼吸困难加重, 且大多在半年内死于呼吸衰竭, 慢性 IPF 患者 5 年生存率比许多癌症还要差, 因此发现新的治疗靶标至关重要。尽管近年来对特发性肺纤维化进行了广泛的研究, 但是其深

收稿日期: 2021-03-08; 修回日期: 2021-04-19

基金项目: 国家自然科学基金重大专项基金项目(2019ZX-09201001); 中央高校基本科研专项基金项目(735-63201239)

\*通信作者: E-mail: xting2011@163.com (肖婷); honggang.zhou@nankai.edu.cn (周红刚); cheng.yang@nankai.edu.cn (杨诚)

入的病理生理学特性尚不完全清楚。越来越多的证据表明,凝血级联反应的激活以及由此产生的凝固蛋白酶在与急性和慢性肺损伤有关的肺纤维化中起着核心作用<sup>[1]</sup>,而蛋白酶激活受体(PARs)激活介导的凝血级联反应在促进肺部炎症和纤维化反应中起着至关重要的作用。因此,本文将针对PARs在特发性肺纤维化中的生物学功能与作用机制以及目前靶向PARs的抗特发性肺纤维化药物进行综述,为特发性肺纤维化机制研究以及抗特发性肺纤维化药物的开发提供新的研究策略。

## 1 特发性肺纤维化疾病发生、发展

肺纤维化是一种慢性纤维增生性肺病的基本病理改变,其特征是肺实质中成纤维细胞和胶原蛋白的过度积累,它发生在许多限制性肺部疾病中,包括特发性肺纤维化(IPF)。近年来,IPF的发病率和死亡率逐年增加,诊断后的平均生存期仅2.8年,死亡率高于大多数肿瘤,被称为一种“类肿瘤疾病”。治疗IPF的上市药物目前只有两种,即尼达尼布<sup>[2]</sup>和吡非尼酮<sup>[3]</sup>,目前这两种药物都只能减缓肺功能的下降、减缓疾病的进程,而不能显著延长IPF患者的生存期,也不能阻止或逆转疾病进展。目前特发性肺纤维化的发病机制包括内皮细胞和上皮细胞损伤、炎性细胞积聚、炎性介质的产生以及成纤维细胞的活化<sup>[4]</sup>。肺泡止血平衡在正常的肺中通常具有抗血栓形成和纤溶作用,但在急性肺损伤和肺纤维化中,有利于促凝血和抗纤溶活性<sup>[5]</sup>。在肺组织损伤后的早期阶段,凝血级联反应被激活,触发血小板激活和随后可溶性介质的局部分泌,导致血管通透性增加,并进一步损坏基底膜。同时,受损的上皮或内皮细胞产生并释放过量的炎性因子,促使白细胞通过损坏的基底膜进入,招募的白细胞,如巨噬细胞,会分泌促纤维化细胞因子(例如TGF- $\beta$ 、白介素IL-13和IL-1),从而导致一系列肌成纤维细胞积累的事件<sup>[6]</sup>。特发性肺纤维化起因于反复损伤触发的异常伤口修复机制,使组织损伤部位的临时细胞外基质(extracellular matrix, ECM)形成永久性疤痕<sup>[7]</sup>。因此,特发性肺纤维化的起始和维持是一个非常复杂的过程。但特发性肺纤维化终末期的特征都是深层的成纤维细胞增殖和结缔组织的逐渐积累,取代了正常的功能实质,导致肺结构的急剧变化和进行性呼吸功能不全,从而导致特发性肺纤维化疾病的发展。

## 2 蛋白酶激活受体(PARs)

凝血级联反应的激活是组织损伤后最早引发的事件之一,其主要功能是促进止血并限制因组织损伤而引起的失血,在炎症和组织修复过程具有重要的作用。肺泡空间纤维蛋白的不断沉积和支气管肺泡灌洗液中凝血酶-抗凝血酶复合物水平的升高是特发性肺纤维化的组织学特征<sup>[8]</sup>,因此人们逐渐认识到上皮损伤后的凝血级联反应的激活是特发性肺纤维化发病机制中的关键因素。凝血级联反应通过在纤维蛋白中聚集血小板形成血栓来防止受损组织部位失血。当肺组织损伤后,组织因子(tissue factor, TF)与活化因子VII(FVIIa)结合形成TF-FVIIa复合物。TF-FVIIa复合物进一步引发凝血酶(FIIa)生成,将可溶性纤维蛋白原转化为不溶性纤维蛋白,从而实现凝血。然而在IPF患者的肺中,血凝块形成反应不断被激活,使得促凝血因子和抗凝因子之间的平衡被破坏,导致异常的凝血级联反应的发生。蛋白酶激活受体(PARs)是凝血级联反应过程中的重要效应蛋白,该家族包含四个成员(PAR1、PAR2、PAR3、PAR4)。与通过配体结合激活不同,PARs经蛋白水解作用不可逆地激活。PAR1首先在人的血小板中被鉴定出来,并被Coughlin等称为“克隆的凝血酶受体”<sup>[9]</sup>。Nystedt在1994年发现了PARs家族的第二个成员(即PAR2),他克隆了小鼠基因组DNA序列,该序列编码的蛋白具有与PAR1相同的结构和激活机制<sup>[10]</sup>,但具有不同的栓系配体。后来,PAR3和PAR4也通过相同的基因组测序被发现。四种蛋白酶激活受体显示出了独特的激活机制<sup>[11]</sup>,蛋白酶与PARs结合并随后裂解细胞外N末端形成一种新的栓系配体,该配体与其第二个胞外环结合触发跨膜信号传递到细胞内G蛋白。PARs家族四个成员都有各自不同的N末端切割位点和结合配体序列<sup>[12]</sup>。因此,它们可以被各个凝血因子选择性激活,从而触发不同的功能响应。凝血酶是PAR1、PAR3和PAR4的主要激活剂,此外,FXa和纤溶酶也可以激活PAR1。凝血酶还可反式激活PAR2,其通过产生PAR1的栓系配体反式激活PAR2<sup>[13]</sup>,同时TF和FVIIa的复合物也可激活PAR2。

尽管凝血因子是激活PARs的主要配体,但现在已经确定多种蛋白酶可以激活具有不同亲和力的PARs<sup>[14]</sup>,并触发特异性反应。除凝血酶外,PAR1还被基质金属蛋白酶、激肽释放酶和颗粒酶激活。PAR2也可能被胰蛋白酶和类胰蛋白酶(如肥大细胞类胰蛋白酶)激活。

### 3 PARs在特发性肺纤维化细胞中的表达和作用机制

纤维蛋白的产生和蛋白酶激活受体家族 (PARs) 的激活在协调炎症和组织修复反应中起着关键作用。PARs 在肺内有广泛的分布, 包括肺上皮、成纤维细胞、气道平滑肌细胞、神经细胞、内皮细胞、间质细胞、杯状细胞和各类白细胞。PAR1 可在上皮细胞、内皮细胞和平滑肌细胞中表达。PAR2 也在呼吸系统中广泛地表达, 并已在上皮细胞、内皮细胞和成纤维细胞中检测到。呼吸道中的 PAR3 表达尚未明确证实。然而, 据报道 PAR3 mRNA 在气道平滑肌细胞、上皮细胞和成纤维细胞中表达。有文献表示, PAR4 的表达可见于呼吸道上皮细胞、内皮细胞和平滑肌细胞中。有研究表明, 在正常细胞和纤维化细胞中均鉴定出三种 PAR 亚型: PAR1、PAR2 和 PAR3, 其中 PAR1 显著表达, PAR3 表达较低, PAR2 表达水平也相对较低<sup>[15]</sup>。对临床前动物模型的研究表明, PARs 的抑制剂可抑制博来霉素诱导的肺纤维化形成。研究表明, 促纤维化凝血因子凝血酶激活 PAR1, 可通过激活固有的肺成纤维细胞, 促进肺上皮细胞的上皮间充质转变 (epithelial-mesenchymal transition, EMT), 或通过诱导肺成纤维细胞的分化, 导致肌成纤维细胞累积, 诱导多种促纤维化因子包括 TGF- $\beta$ 、结缔组织生长因子和 PDGF 的表达<sup>[16]</sup>, 最终导致更严重的疾病发生, 甚至死亡。

非正常凝血反应和 PARs 信号转导可导致过度的炎症和纤维增生。PAR1 和 PAR2 都在许多不同的肺细胞类型中广泛表达, 例如成纤维细胞、巨噬细胞、上皮细胞和内皮细胞。体内外的研究发现, PAR1 的基因敲除可抑制博来霉素诱导的急性肺部炎症和纤维化。在博来霉素诱导的肺纤维化模型中, PAR-1 敲除的小鼠可避免肺纤维化的发生。而在临床上, PAR1 的表达水平在 IPF 患者纤维增生和炎症病灶内显著增加<sup>[17]</sup>。PAR1 的激活促进了肺成纤维细胞胶原的产生, 可以诱导肌成纤维细胞分化和 TGF- $\beta$  活化, 具有刺激 ECM 合成的促纤维化作用<sup>[18]</sup>。目前有实验表明, PAR1 在介导肺中的内皮-上皮屏障损伤、炎症细胞募集和胶原沉积中起重要作用, 其通过募集巨噬细胞/单核细胞、释放过量细胞因子以及破坏内皮屏障, 释放大量的促炎因子和促纤维化介质<sup>[19]</sup>, 如炎症细胞趋化因子 (如 CXCL8 和 CCL2)、促炎性细胞因子 (如 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-2 和 IL-6) 以及 PGE 2 等, 以此来诱导炎症及肺

损伤的发生。此外, 相关证据表明 PAR1 在人肺成纤维细胞中高表达, 通过该受体的自分泌上调血小板衍生生长因子 (PDGF) 水平来促进其增殖<sup>[20]</sup>。PAR1 信号还诱导结缔组织生长因子的产生和释放并上调纤连蛋白和纤溶酶原激活物抑制剂 1 (plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1) 的表达<sup>[21]</sup>。PAR1 激活下游引起的许多促炎和纤维化反应以及细胞反应的探究将有助于纤维化疾病急性加重的病理生理学研究。

PAR2 在促进肺部炎症和纤维化反应中也起着至关重要的作用。PAR2 的激活导致急性肺损伤期间内皮屏障功能障碍和血管通透性增强, 进而介导肺部炎症反应。PAR2 还可诱导成纤维细胞的激活、增殖和迁移, 导致细胞因子的分泌, 如单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)、IL-6、IL-8 和 TGF- $\beta$ <sup>[22]</sup>, 而 IL-8 的表达升高增强了气道上皮细胞的炎症信号转导。有研究发现, PAR2 缺乏小鼠的过敏性肺部炎症减轻<sup>[23]</sup>, PAR2 的缺乏降低纤维化病变的严重程度以及减少胶原蛋白的表达, 从而可防止博来霉素诱导的肺纤维化。与正常的肺组织相比, 在 IPF 患者的肺中, PAR2 的 mRNA 和蛋白水平均明显升高, 高表达的 PAR2 可能与 II 型肺泡细胞和成纤维细胞/肌纤维细胞的增生相关。此外, 对 PARs 转录水平的评估显示, 与正常细胞相比, 纤维化细胞中 PAR2 表达显著增加 (4 倍)<sup>[24]</sup>, 这与 PAR1 不同, PAR1 在正常肺成纤维细胞中的表达已经相对较高, 而 PAR2 在正常肺成纤维细胞中的表达却较低<sup>[25]</sup>, 但在炎症和纤维化条件下明显增加。此外, PAR2 可被纤维化因子 PDGF 和 TGF- $\beta$ 1 刺激<sup>[26]</sup>, 因此, 在纤维化条件下, PAR2 的过表达可能是纤维增生性疾病的特征。

在一项实验中, 在 IPF 患者的肺部和博来霉素诱导的小鼠肺纤维化模型中, PAR3 表达升高, 但未检测到 PAR4<sup>[27]</sup>。其中纤维化肺中 PAR3 表达的增加主要归因于 II 型肺泡 (ATII) 细胞。用凝血酶刺激原代小鼠 ATII、MLE15 和 A549 细胞可激活 PAR1、PAR3 和 PAR4 诱导的 EMT。有研究者推测, PAR1 和 PAR3 在 ATII 细胞中共定位<sup>[27]</sup>, 而凝血酶激活 PAR4 可导致 EMT 来促进肺纤维化。但是, 也有实验证明, PAR4 可以通过对抗 PAR1 刺激的成纤维细胞的增生而抑制肺纤维化。另外, cathepsin G 可以激活 PAR4 而抑制 PAR1 和 PAR2<sup>[14]</sup>。

### 4 靶向PARs的抗IPF药物研究进展

IPF 最初被认为是由肺损伤引起的慢性炎症反

应, 因此 IPF 患者接受了抗炎药治疗。尽管抗炎治疗可能有助于改善症状并在一定程度上减轻患者的疼痛, 但它们在 IPF 中未显示出临床疗效。因此, 在世界范围内仍然迫切需要新的治疗靶标和策略。靶向凝血曾被视为治疗 IPF 的潜在方法。在一组日本 IPF 患者的临床试验中, 抗凝剂华法林或者肝素与糖皮质激素的组合降低了患者死亡率。但是, 在后来的一项更大的 IPF 美国临床试验中, 华法林在没有与类固醇联合的情况下实际上增加了死亡率, 其结果可能是由于其抗凝作用机制涉及维生素 K1 的再激活受阻; 在博来霉素诱导的兔肺损伤模型中, 雾化的肝素可减弱肺纤维化的发展, 然而, 肝素需要皮下注射, 并且由于其聚阴离子性质而具有多种脱靶作用。因此, 在肺纤维化治疗中, 抑制 PARs 可能是一种新的、有潜力的治疗选择。临床上较为常见的 PAR1 拮抗剂 SCH530348 (现称为 vorapaxar) 可减少肺炎链球菌诱导的肺部细菌感染期间的中性粒细胞炎症和肺泡屏障破坏<sup>[28]</sup>, 主要表现为肺内促炎细胞因子和趋化因子水平显著降低, 肺泡渗漏减弱。有研究表明 vorapaxar 可改善肾脏损伤和肾小管间质纤维化<sup>[29]</sup>。此外, 研究表明在纤维化发作后开始给予 PAR1 特异的拮抗剂 P1pal-12 治疗, 仍能有效地抑制博来霉素诱导的肺纤维化<sup>[30]</sup>。Lin 等<sup>[31]</sup>研究发现, PAR-2 拮抗剂 (P2pal-18S) 抑制了鼠和原代人肺成纤维细胞中 PAR-2 诱导的纤维化反应, 且在预防性给药和治疗性给药时, P2pal-18S 均可保护博来霉素诱导的小鼠肺纤维化。

虽然目前 PARs 拮抗剂还在开发中而且在肺纤维化中的实验较少, 但其在抗炎、抗血栓、心血管疾病以及器官纤维化中表现出较好的前景, 其中几个 PARs 小分子拮抗剂还处于了临床开发的晚期阶段。因此, 在急性肺损伤和纤维化的环境中测试此类拮抗剂非常重要, 将给肺纤维化的治疗带来希望。如 PAR-1 抑制剂 SCH79797 在缺血 - 再灌注引起的心脏、肾脏和肠道损伤小鼠, 以及手术引起的脑损伤中起到了有效减轻损伤的作用<sup>[32-34]</sup>, RWJ-56110 拮抗剂对 PAR1 的抑制作用限制了实验性肝纤维化的进展, 降低了肝脏 I 型胶原 mRNA 和蛋白表达以及羟脯氨酸的肝和尿排泄; Argatroban 可通过减少纤维化、炎症、凋亡和蛋白酶激活受体的表达来减轻大鼠糖尿病性心肌病<sup>[35]</sup>。另外, PAR2 pepducin 抑制剂在治疗肝纤维化方面同样具有很大的潜力<sup>[33]</sup>。pepducin 类似物通过抑制 PAR2 也可有效抑制实验性肝、心脏<sup>[35-36]</sup>。如 PZ235 可以显著抑制四氯化碳

诱导的肝纤维化, 抑制肝细胞坏死、活性氧产生、脂肪变性和炎症的发生<sup>[36]</sup>。

## 5 总结

特发性肺纤维化的发病率和死亡率逐渐升高, 其生存期较短, 病程进展快, 死亡率甚至高于恶性肿瘤, 而目前尚无有效的治疗药物, 仅有的两种上市药物也仅仅能缓解肺功能和延缓病程, 对于延长生存期作用甚微。因此, 开发新的、有效的治疗特发性肺纤维化的药物迫在眉睫。PARs 的激活在血栓形成、炎症、免疫调节、组织修复和肿瘤血管生成等病理生理过程中起着重要作用。目前, PARs 在特发性肺纤维化发生、发展进程中的功能与分子机制研究已受到国内外研究人员的广泛关注, 越来越多的研究工作投入到 PARs 促纤维化的分子机制及靶向 PARs 的药物开发中。尽管目前关于靶向 PARs 的药物治疗特发性肺纤维化的报道和研究仍然相对较少, 但已有不少研究证明 PARs 的过表达和过度激活可促进特发性肺纤维化进程, 如诱导肺成纤维细胞向肌成纤维细胞转化, 促进肺上皮细胞 EMT 发生, 诱导促纤维化因子的表达和分泌等等。越来越多的证据表明特发性肺纤维化中的蛋白酶激活受体 (PARs) 抑制剂有望用于未来治疗。未来靶向 PARs 的抑制剂开发也将为特发性肺纤维化的治疗提供新的治疗方案和机会。相信随着对特发性肺纤维化机制和 PARs 信号转导通路的深入研究以及 PARs 拮抗剂的不断优化, 靶向 PARs 治疗特发性肺纤维化领域一定会取得重大突破。

## [参 考 文 献]

- [1] Waasdrorp M, de Rooij DM, Florquin S, et al. Protease-activated receptor-1 contributes to renal injury and interstitial fibrosis during chronic obstructive nephropathy. *J Cell Mol Med*, 2019, 23:1268-79
- [2] Poole LG, Pant A, Cline-Fedewa HM, et al. Liver fibrosis is driven by protease-activated receptor-1 expressed by hepatic stellate cells in experimental chronic liver injury. *Res Pract Thromb Haemost*, 2020, 4: 906-17
- [3] Gorge PM, Wells AU. Pirfenidone for the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2017, 10: 483-91
- [4] Zuo P, Zhu Y, Li Y, et al. Protease-activated receptor 2 deficiency in hematopoietic lineage protects against myocardial infarction through attenuated inflammatory response and fibrosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 526: 253-60
- [5] Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, et al. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis

- and diastolic dysfunction. *Eur Heart J*, 2019, 40: 3318-32
- [6] Richeldi L, Collard HR, Jones MG. Idiopathic pulmonary fibrosis. *Lancet*, 2017, 389: 1941-52
- [7] Menou A, Duitman J, Crestani B. The impaired proteases and anti-proteases balance in idiopathic pulmonary fibrosis. *Matrix Biol*, 2018, 68: 382-403
- [8] Crooks MG, Hart SP. Coagulation and anticoagulation in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir Rev*, 2015, 24: 392-9
- [9] Posma JJ, Grover SP, Hisada Y, et al. Roles of coagulation proteases and PARs (protease-activated receptors) in mouse models of inflammatory diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39: 13-24
- [10] Lin Y, Wozniak JM, Grimsey NJ, et al. Phosphoproteomic analysis of protease-activated receptor-1 biased signaling reveals unique modulators of endothelial barrier function. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117: 5039-48
- [11] Schuliga M, Grainge C, Westall G, et al. The fibrogenic actions of the coagulant and plasminogen activation systems in pulmonary fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, 97: 108-17
- [12] Ramachandran R, Hollenberg MD. Proteinases and signalling: pathophysiological and therapeutic implications via PARs and more. *Br J Pharmacol*, 2008, 153: S263-82
- [13] Lin H, Liu AP, Smith TH, et al. Cofactoring and dimerization of proteinase-activated receptors. *Pharmacol Rev*, 2013, 65: 1198-213
- [14] Thibeault PE, LeSarge JC, Arends D, et al. Molecular basis for activation and biased signaling at the thrombin-activated GPCR proteinase activated receptor-4 (PAR4). *J Biol Chem*, 2020, 295: 2520-40
- [15] Liu S, Li S, Yuan D, et al. Protease activated receptor 4 (PAR4) antagonists: research progress on small molecules in the field of antiplatelet agents. *Eur J Med Chem*, 2021, 209: 112893
- [16] Kawaguchi M, Yamamoto K, Kataoka H, et al. Protease-activated receptor-2 accelerates intestinal tumor formation through activation of nuclear factor- $\kappa$ B signaling and tumor angiogenesis in *Apc<sup>Min/+</sup>* mice. *Cancer Sci*, 2020, 111: 1193-202
- [17] Kolpakov MA, Guo X, Rafiq K, et al. Loss of protease-activated receptor 4 prevents inflammation resolution and predisposes the heart to cardiac rupture after myocardial infarction. *Circulation*, 2020, 142: 758-75
- [18] Yokono Y, Hanada K, Narita M, et al. Blockade of PAR-1 signaling attenuates cardiac hypertrophy and fibrosis in renin-overexpressing hypertensive mice. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9: e015616
- [19] Gadepalli R, Kotla S, Heckle MR, et al. Novel role for p21-activated kinase 2 in thrombin-induced monocyte migration. *J Biol Chem*, 2013, 288: 30815-31
- [20] Blanc-Brude OP, Chambers RC, Leoni P, et al. Factor Xa is a fibroblast mitogen via binding to effector-cell protease receptor-1 and autocrine release of PDGF. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2001, 281: C681-9
- [21] Chambers RC, Leoni P, Blanc-Brude OP, et al. Thrombin is a potent inducer of connective tissue growth factor production via proteolytic activation of protease-activated receptor-1. *J Biol Chem*, 2000, 275: 35584-91
- [22] Borensztajn K, Stiekema J, Nijmeijer S, et al. Factor Xa stimulates proinflammatory and profibrotic responses in fibroblasts via protease-activated receptor-2 activation. *Am J Pathol*, 2008, 172: 309-20
- [23] de Boer JD, Van' t Veer C, Stroo I, et al. Protease-activated receptor-2 deficient mice have reduced house dust mite-evoked allergic lung inflammation. *Innate Immun*, 2014, 20: 618-25
- [24] Meah MN, Raftis J, Wilson SJ, et al. Antithrombotic effects of combined PAR (protease-activated receptor)-4 antagonism and factor Xa inhibition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40: 2678-85
- [25] Wygrecka M, Kwapiszewska G, Jablonska E, et al. Role of protease-activated receptor-2 in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183:1703-14
- [26] Menou A, Flajolet P, Duitman J, et al. Human airway trypsin-like protease exerts potent, antifibrotic action in pulmonary fibrosis. *FASEB J*, 2018, 32: 1250-64
- [27] Buhl T, Ikoma A, Kempkes C, et al. Protease-activated receptor-2 regulates neuro-epidermal communication in atopic dermatitis. *Front Immunol*, 2020, 11: 1740
- [28] Hassler SN, Kume M, Mwirigi JM, et al. The cellular basis of protease-activated receptor 2-evoked mechanical and affective pain. *JCI Insight*, 2020, 5: e137393
- [29] Lok SWY, Yiu WH, Li H, et al. The PAR-1 antagonist vorapaxar ameliorates kidney injury and tubulointerstitial fibrosis. *Clin Sci (Lond)*, 2020, 134: 2873-91
- [30] Lin C, Duitman J, Daalhuisen J, et al. Targeting protease activated receptor-1 with P1pal-12 limits bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Thorax*, 2014, 69: 152-60
- [31] Lin C, von der Thüsen J, Daalhuisen J, et al. Pharmacological targeting of protease-activated receptor 2 affords protection from bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Mol Med*, 2015, 21: 576-83
- [32] Saifi MA, Annaldas S, Godugu C. A direct thrombin inhibitor, dabigatran etexilate protects from renal fibrosis by inhibiting protease activated receptor-1. *Eur J Pharmacol*, 2021, 893: 173838
- [33] Shearer AM, Rana R, Austin K, et al. Targeting liver fibrosis with a cell-penetrating protease-activated receptor-2 (PAR2) pepducin. *J Biol Chem*, 2016, 291: 23188-98
- [34] Noguchi D, Kuriyama N, Ito T, et al. Antiapoptotic effect by PAR-1 antagonist protects mouse liver against ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res*, 2020, 246: 568-83
- [35] Bulani Y, Sharma SS. Argatroban attenuates diabetic cardiomyopathy in rats by reducing fibrosis, inflammation, apoptosis, and protease-activated receptor expression. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2017, 31: 255-67
- [36] Lu J, Chen B, Li S, Sun Q. Trypsin inhibitor APC 366 prevents hepatic fibrosis by inhibiting collagen synthesis induced by trypsin/protease-activated receptor 2 interactions in hepatic stellate cells. *Int Immunopharmacol*, 2014, 20: 352-7