文章编号:0253－3626(2003)01－0122－03

白细胞和血管内皮细胞的粘附作用

乔正荣　综述，时　德　审校

(重庆医科大学临床学院血管外科，重庆　400016)

【中国图书分类法分类号】Q461　　【文献标识码】B　　【收稿日期】2001－06－19

白细胞和血管内皮细胞(endothelial cell，EC)的粘附由细胞膜特异性受体即粘附分子(adhesion molecules，AMs)介导，在细胞移动，细胞间功能活动中起决定性作用，对粘附作用的评价，有助于对心脑和血管疾病发病机制的重新认识，抗粘附治疗的观点有可能成为疾病新的治疗方法。

1　AMs 的表达和功能

AMs 是一类介导细胞之间，细胞与细胞外基质相互粘附的糖蛋白，包括选择素家族，免疫球蛋白基因超家族和整合素家族。

1.1　选择素家族(selectin family)[1－3]

由 E(endothelia)、P(platelet)和 L(leukocyte)3 种蛋白质组成，E 选择素(CD62E，ELAM－1)和 P 一选择(CD62P，PADGEM，GMP－140)在 EC 上表达，L 选择素(CD62L，MEL－14)仅在白细胞表达。其共同的结构特征为具有钙离子依赖性植物凝血素 NH_2 末端区和表皮生长因子样区，基因复制在 1 号染色体的 $q^{21\sim24}$，其表达和功能见表 1.

表 1　选择素家族的表达和功能

	旧名	表达	调节功能	靶细胞
E－选择素	ELAM－1	EC	IL－1，TNF	PMN
(CD_{62E})			LPS 诱导表达	M
			RNA，蛋白质合成	部分 T 细胞
P－选择素	PADGEM	P	凝血酶，组胺和 PMN	
(CD_{62P})	GMP－140	EC	细胞因子诱导合成	M
			和表达	部份 T 细胞
L－选择素	mLHR，Leu8	L	细胞激活	淋巴细胞 HEV
(CD_{62L})	TQ－1，gp90MEL	M	蜕落，调节	激活 EC
	Lam－1，Lecam－1	PMN	活性持续表达	

EC：endothelial cell　　P：platelets L：lymphocytes　　M：monocytes PMN：polymorphonuclear

1.2　免疫球蛋白基因超家族(immunoglobulin gene superfamily)[4－10]

是一组免疫球蛋白同源性表面蛋白，组成包括抗原识别(C_1 型)或补体粘附或细胞粘附(C_2 型)，共同特点是 C_2 型蛋白包含一个细胞外可变免疫球蛋白同源功能区，并保留半胱氨基酸序列，形成二硫化物和第三位 β 链的稳定结构，C_2 型包括 CD_2，CD58(LFA－3)和 CD56(NCAM)，在 EC 表达并与白细胞粘附有细胞间粘附分子(intercellularadhesion molecule－1，ICAM－1，CD54)，ICAM－2(CD102)，血管细胞粘附分子(vascular cell adhesion molecules－1，VCAM－1；CD106)，血小板内皮细胞粘附分子(platelet－endothelial cell adhesion molecule－1，PECAM－1；CD31)和粘膜细胞粘附分子(MADCAM－1)。ICAM－1 单复制基因位于染色体 19 上，分子克隆显示为 5 个细胞外免疫球蛋白同源功能区，核心蛋白为 55KD，ICAM－1 表达于白细胞，成纤维细胞，上皮细胞和 EC，在粘附初期，白细胞 $CD_{11}a/CD_{18}$(LFA－1)粘附部位位于 ICAM－1 第 1 功能区 NH_2 末端，ICAM－1 与白细胞粘附关键点在第 3 和第 4 功能区之间，白细胞 $CD_{11}b/CD_{18}$和 ICAM－1 亲和力随 ICAM－1 糖基化降低程度而增加，并且 ICAM－1 通过 a－肌动蛋白与细胞骨架相连，固定 ICAM－1 在 EC 膜，从而促进白细胞的粘附和转移，ICAM－1 的表达和功能是血管内皮炎症——免疫反应中的典型现象。ICAM－2 仅有 2 个细胞外免疫球蛋白区，由于 ICAM－1 的配体 $CD_{11}a/CD_{18}$(LFA－1)和 $CD_{11}b/CD_{18}$(MAC－1)粘附于免疫球蛋白第 3 区，因此，ICAM－2 不能作为白细胞整合素在 EC 上的配体，ICAM－2 仅为 EC 上的瞬间配体。VCAM－1 中，7DVCAM－1 的附加区在白细胞和 EC 粘附中起功能作用，6D 和 7D VCAM－1 的 NH_2 末端第 1、4 区为白细胞粘附功能区。PECAM－1(CD_{31})在白细胞粘附起作用，特别

作者介绍：乔正荣(1964－　)，男，博士，
主要研究方向：普通外科和血管外科。

在白细胞粘附中起关键作用,MAdCAM－1 表达于淋巴结高内皮静脉,是独特的能与 $\alpha_4\beta_7$ 整合素和 L 选择素结合的 AMS。

1.3 整合素家族(integrin family)[11~13]

整合素是与细胞骨架蛋白相连的跨膜细胞表面蛋白,与细胞外信号交换,由一条 α 链与 β 链通过非共价键相连,迄今有 15 种 α 链,8 种 β 链被克隆,①β_2 整合素表达局限于白细胞,周围血淋巴结细胞主要表达 $CD_{11}a/CD_{18}$,而 PMN、单核细胞和 NK 细胞表达所有 3 种 β_2 整合素,在 PMN 和单核细胞内贮存池有 $CD_{11}b/CD_{18}$ 和 $CD_{11}c/CD_{18}$ 而无 $CD_{11}a/CD_{18}$,TNF－a、LTB_4、Ca＋＋、FMLP、GM－CSF、C5a 均使 $CD_{11}b/CD_{18}$ 和 $CD_{11}c/CD_{18}$ 表达增加。β_2 整合素配体 ICAM－1 对 $CD_{11}a/CD_{18}$、$CD_{11}b/CD_{18}$;ICAM－2,ICAM－3 对 $CD_{11}a/CD_{18}$,PMN 和单核细胞主要依靠 $CD_{11}a/CD_{18}$ 和 $CD_{11}b/CD_{18}$ 粘附到 EC,而 $CD_{11}c/CD_{18}$ 作用极小,淋巴细胞通过 $CD_{11}a/CD_{18}$ 粘附至 EC 的 ICAM－1 和 ICAM－2。β_1 整合素由 CD_{29} 和 β 亚单位构成,包括细胞外基质蛋白的细胞受体,有纤维连接蛋白、胶原蛋白、层粘连蛋白等,$\alpha_4\beta_1$(VLA－4,CD_{49d}/CD_{29})膜整合蛋白介导淋巴细胞、单核细胞、嗜酸性细胞、嗜碱性细胞和 NK 细胞与激活的 EC 粘附(通过 $\alpha_4\beta_1$ 配体 VCAM－1),而 PMN 不表达 VLA－4,而不能经该途径与 EC 粘附,总之,AMS 的表达反映 EC 和白工细胞的激活状态,但不能完全作为细胞间粘附的证据,因为粘连糖蛋白分子表达在细胞表面,而单抗组代染色不在细胞表面,并且膜内密度分布,形态和生化变化及 AMS 受体配体的变化均对粘附作用是必需的。

2 AMS 识别的特异性和多样性[14,15]

白细胞和 EC 识别的特异性是由 AMS 受体—配体或激活受体—配体对独特的结合所决定,特异识别的多样性由每一粘附过程可能的受体配体对所决定。白细胞和 EC 粘附识别的模式有 3 个步骤:①L 选择素介导白细胞可逆性滚动。L 选择素可为 EC 上 E 和 P 选择素提供糖类配体 Slex,也可以识别 EC 上的糖类配体,因其具有较高的糖基化而在白细胞与 EC 初期短暂粘附中发挥独特地作用。②血管腔内流动的 PMN 激活。在化学诱导剂和激活因子作用下 PMN 迅速改变而激活,包括 L 选择素从细胞表面脱落,白细胞整合素家族 Mac－1 的表达增多,激活依赖粘附受体的上调。③白细胞稳定牢固的粘附于 EC。包括激活依赖整合素家族,ICAM－1 和 ICAM－2 和配对受体 CD_{11}/CD_{18},VCAM－1/INCAM－110 和配体 $\alpha_4\beta_1$ 整合素。此外,研究表明 CD_{11}/CD_{18} 及其配体 ICAM－1 对流动状态下 PMN 与 EC 粘附几乎无任何作用,而 L 选择素在流动状态下 PMN 与 EC 粘附作用大于静止状态,因此,AMS 在体内作用不同。参与白细胞血管内皮细胞相互作用的 AMS。见表 2。

表 2 参与白细胞和血管 EC 相互作用的 AMS

白细胞的 AMs(受体)	EC 的 AMs(配体)
$P_{150}SLex(CD_{15})$	P－selectin
SLex	E－selectin
L－selectin	PLN
addressins(GlyCAM－1)	
	E－selectin
CLA	E－selectin
CD11a/CD18(LFA－1)	ICAM－1,ICAM－2
CD11b/CD18(Mac－1)	ICAM－1,C_{3b},LPS
$\alpha_4\beta_1$	VCAM－1,INCAM－110
$\alpha_4\beta_7$	MadCAM－1,VCAM－1

3 粘附作用的调节机制

白细胞和 EC 粘附作用的调节,既有表达数量的改变,也有亲和力质的变化,包括单个受体与配体间亲和力的高低、受体与配体数目的上调或下调和细胞膜上 AMS 分布的改变。

3.1 内皮细胞 AMs 的调节[16,17]

细胞因子 IL－1,TNF－a 和 LPS 刺激 ICAM－1,VCAM－1 和 E 选择素表达和活化,是一种转录性调节,主要依赖新 mRNA 和蛋白质的合成,但对大血管和微血管的 EC 表达调节作用不同。血栓素、缺 O_2 再灌注和氧自由基均可诱导 ICAM－1、E 选择素表达。IFNγ 上调 ICAM－1 表达,不能调节 E 选择素和 VSAM－1。革兰氏阴性脓毒血症产生内毒素引起单核因子(IL－1,TNFa)产生而诱导 E 选择素、P 选择素、ICAM－1、VCAM－1 表达。慢性炎症引起淋巴因子(IFNγ,IL－4)产生而介导单核细胞的活动,不同的血管部位有不同的诱导表达,如 TNF－a 和 IL－1 能诱导培养皮肤微血管内皮细胞 ICAM－1 的表达,而 VCAM－1 仅由 TNFa 诱导。ICAM－2 持续性表达于血管内皮,并且细胞因子(TNFa、IL－1、IFNγ)和 LPS 不能上调表达 ICAM－2。P 选择素由 EC 和血小板持续合成,并贮存于 weibel－palade 小体或 a 颗粒,当 EC 被血栓素、组织胺、氧自由基激活,胞浆颗粒与细胞膜融合释放其内容物。激活 EC 信号分子的合成:①PAF(platelet－activating factor,PAF)血小板激活因子是一种生物激活磷酸酯,在静止 EC 不是结构性成份,当血栓素、组织胺等刺激下 EC 几分钟内合成 PAF,并需要 Ca^{2+} 依赖性磷酸酯酶 A_2 和特异性转乙酰酶磷酸化调节,PAF 与细胞表面 G－蛋白偶联的 PMN 上 PAF 受体结合,诱导 $CD_{11}a/CD_{18}$、$CD_{11}b/CD$ 18上调和活化,PAF 也可旁分泌通过另一细胞膜锚锭分子激活靶细胞。因此,激活 EC 表达 PAF 在白细胞和 EC 粘附中起信号作用。②IL－8(interleukin－8)白介素－8 由 TNFa、IL－1 和 LPS 激活 EC 合成一种多肽信号分子(过去称 NA 或 NAP－1,现证实为 IL－8),它与特异 G 蛋白偶联 PMN 上 IL－8 受体结合,上调和活化 β_2 整合素,加强 PMN 与静止 EC 和 EC 下基质的粘附,影响白细胞的活动。③PKC(protein kinase C),蛋白激酶 C 为 58kDa 蛋白,在胞浆中以非活性存在,被膜磷脂代谢(磷脂酶 C)激活,在 TNFa、IL－1、LPS 活化 EC 中可能参与 EC 内

信号传递。

3.2 白细胞 AMS 的调节[17,18]

白细胞 AMS 表达功能构象改变比数量变化更重要，吞噬细胞激活可引起 $CD_{11}b/CD_{18}$ 和 $CD_{11}c/CD_{18}$ 从细胞内颗粒转移至细胞膜，$CD_{11}b/CD_{18}$ 表达的上调对 PMN 与 EC 粘附并不是必需条件，但 $CD_{11}b/CD_{18}$ 的功能改变的作用仍不清楚，最近研究表明重新活动的 $CD_{11}b/CD_{18}$ 受体在粘附中起重要作用，尤其是 AMS 受体亲和力质的变化。循环血细胞整合素受体正常处于不活动和低亲和力状态，与 EC 不粘附或极少粘附于 EC 配体，在恰当刺激下，转变为活动状态而有效粘附 EC 配体、调节白细胞亲和力的机制称为"inside－out"signaling，肽、脂质化学诱导剂触发膜受体交叉连接其它表面分子，整合素受体构象调节从低亲和到高亲和状态时，白细胞在循环中自由移动、并牢固粘附于炎症部位，若调节受体构象从高亲和到低亲和状态称为"冷冻受体"，从而阻止白细胞的迁移。

4 AMS 介导的 EC 损伤[17～19]

CD_{11}/CD_{18} 和 ICAM－1 的结合，在 PMN 诱导 EC 损伤中起关键作用，PMN－EC 粘附的启动，一是 PMN 启动途径，PMN 被激活，迅速表达 CD_{11}/CD_{18}，与静息 EC 结构性表达的 ICAM－1 结合；二是 EC 启动途径：EC 被激活，E 选择素、P 选择素表达，与 PMN 膜上 sialyl Lex 结合，激活 CD_{11}/CD_{18} 上调和构象变化，并与 ICAM－1 结合，从而介导 PMN－EC 粘附，损伤 EC。EC 损伤的可能机制①过氧化氢模式：积聚于毛细血管内的白细胞被激活，脱颗粒，释放弹性蛋白酶、毒性氧产物，损伤 EC，在缺氧时，诱导黄嘌呤脱氢酶转化为黄嘌呤氧化酶(XO)，激活 PMN 主要氧化物为 H_2O_2(过氧化氢)，渗入 EC，使 EC 中 ATP 分解形成黄嘌呤和次黄嘌呤，在 XO 作用下产生超氧阴离子(O_2^-)，而使 EC 中的铁由 Fe^{3+} 变为 Fe^{2+}，Fe^{2+} 与 H_2O_2 反应生成羟自由基(HO·)，即损伤 EC 的主要毒性氧产物，外源性 H_2O_2，由激活 PMN 产生，且 EC 在激活后本身也可产生 H_2O_2，H_2O_2 在 EC 通过 Harber－weiss 反应将 H_2O_2 转变为 HO·，导致细胞毒性作用，而 ICAM－1 和 CD_{11}/CD_{18} 结合是 EC 内过氧化物升高的必需条件。②Savase 模式：激活 PMN 释放弹性蛋白酶，与 EC 细胞膜结合，这一自身免疫反应的直接靶细胞是 EC 膜。引起 EC 损伤和血管破坏，弹性蛋白酶在循环血和浸润的 PMN 组织中增高已为实验所证实。③微血管阻塞：白细胞和 EC 粘附是微血管阻塞的前提，白细胞粘附增多，形成微血栓，栓塞毛细血管，使组织灌流减少和缺血，同时，粘附激活白细胞释放 TNF－a、IL－1 等，可直接损伤 EC，应用单克隆抗体 $CD_{11}b/CD_{18}$ 可抑制 PMN 与 EC 的粘附，从而有效减轻血管内皮损伤。

5 抗粘附治疗展望[19～22]

对白细胞与血管 EC 粘附作用的研究已受到人们的高度重视，已成为目前分子免疫学进展最快的领域之一，粘附分子在炎症反应、免疫反应、血管损伤和血栓形成等方面起关键作用，粘附分子的缺乏、功能不良、过度表达在多种疾病的病理生理中有重要意义，如血清、尿中 E 选择素、VCAM－1 和 ICAM－1 值可作为移植物急性排斥的早期指标；针对 $CD_{11}a$、$CD_{11}b$ 和 CD_{18}MoAbs 的临床应用；L－选择素—Ig 嵌合体抑制炎症中白细胞的聚集；药物选择性阻断 EC 粘附蛋白的信号传递和调节整合素亲和力等。其潜在的治疗方法已显示出不可估量的临床应用价值，抗粘附治疗将成为疾病新的治疗方法，尤其对炎症免疫中白细胞 AMs 的分布和结构的确定，疾病生物学和病理学的重新认识，以及如何调节 AMs 的表达和亲和力尚需深入研究，这无疑将对疾病的预防和诊治产生突破性进展。

参 考 文 献

[1] Bevilacque MP, Nelson RM. J Clin Invest, 1993; 91: 379.

[2] Lasky LA. Science, 1992; 258: 964－968.

[3] Hollenbaugh D, Bajorath J, Stenkamp R, et al. Biochemistry, 1993; 32: 2960－2963.

[4] Kirchhausen T, Staunton DE, Springer TA. J Leukoc Biol, 1993; 53: 342－346.

[5] Diamond MS, Staunton DE, Marlin SD, et al. Cell, 1991; 65: 961－966.

[6] Pepimsky B, Hession C, Chen L－L, et al. J Biol Chem, 1992; 267: 17820－17825.

[7] Osborn L, Vassallo C, Benjamin CD. J Exp Med, 1992; 176: 99－103.

[8] Muller WA, Berman ME, Neuman PJ, et al. J Exp Med, 1992; 175: 1401－1405.

[9] Berlin C, Berg EL, Briskin MJ, et al. Cell, 1993; 74: 185－189.

[10] Berg EL, McEroy LM, Berlin C, et al. Nature, 1993; 366: 659－698.

[11] Hynes RO. Cell, 1992; 69: 11－13.

[12] Smyth SS, Joneckis CC, Parise LV. Blood, 1993; 81: 2827－2831.

[13] Hemler ME. Annu Rev Immunol, 1990; 8: 365－367.

[14] Mackay CR, Beat A. Immunology Today, 1993; 14(3): 99－103.

[15] Picker LJ, Butcher EC. Annu Rev Immunol, 1992; 10: 561－591

[16] Bender JR, Sadeghi MMM, Mills LK, et al. J Cell Biochem, 1992; 16A: 15－19.

[17] Kuijpers TW, Mul Ep, Blom M, et al. J Exp Med, 1993; 178: 279－281.

[18] Gaboury JP, Anderson DC, Kubes P. Am J Physiol, 1994; 363: H637－H642.

[19] Pujita H, Morita 1, Murota SI. Arch Biochemi and Biophys, 1994; 309(1): 62－69.

[20] Buerke M, Weyrich AS, Zheng Z, et al. Nature, 1994; 93: 1140－1143.

[21] Bennett CF. J Cell Biochem, 1994; 18A: E021－25.

[22] Wolitzky B, Kwee L, Terry R, et al. J Cell Biochem, 1994; 18A: E253－26.