维普资讯 http://www.cqvip.com

第23卷 第1期 重庆医科大学学报 Vol.23 No.1
1998 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1998

93-97 细胞粘附分子，L-选择素，结构，功能 (36)

L－选择素的结构和功能的研究进展

基础医学院病生教研室 周 兰* 综述
中心实验室 邱宗荫 审校

R392.12

中图分类号 R392.1

选择素家族(selectin family)是近年新定义的一类细胞粘附分子，包括E－选择素(E－selectin，E－S)、P－选择素(E－selectin，P－S)和L－选择素C－selectin，L－S)，均为单链跨膜的受体糖蛋白，主要介导白细胞与内皮细胞间的选择性识别、粘附，在淋巴细胞归巢、炎性白细胞渗出等过程中起重要作用[1-3]。本文就L－S的结构和功能等研究进展作一综述。

1 L－选择素的结构

L－S又称淋巴细胞归巢受体(lymphocyte homing receptor,LHR)、淋巴细胞相关分子(lymphocyte associated molecule，LAM－1)、TQ－1、Leu－8、MEL－14抗原等[1,2,4]。Tedder[5]、watamabe[6]和Lasky[7]等已分别克隆了人、大鼠和小鼠L－S的cDNA。这些cDNA的开放阅读框架编码375个氨基酸(AA)。从cDNA演绎的AA序列显示，成熟L－S从N端到C端共有五个不同的结构域，它们依次是：大约由120个AA组成的与C－型凝集素(lectin)同源的凝集素域、由36个AA组成的与表皮生长因子同源的表皮生长因子域、两段重复的与补体调节蛋白同源的补体调节蛋白域(每段由62个AA组成)、15－22个AA组成的跨膜域和17－18个AA组成的胞质域。每个域都由一独立的外显子编码。人L－S各域的AA序列与大鼠、小鼠以及人E－S和P－S的同源性见表。表中数据显示不同种族间L－S的同源性高于L－S与同家族的另两种选择素间的同源性。(表:附后)

L—S胞外部分含有7个潜在的N－型糖基化位点；L－S分子的含糖量大于或等于30%；不同的白细胞表面表达的L－S分子量不同，中性粒细胞(Neutrophil，Np)和淋巴细胞(Lymphocyte，LC)表面的L－S分别为95－105kDa和74kDa，这种差异很可能来自其糖基化程度的不同，因为迄今只发现一种形式的L－S mRNA。目前对L－S糖链的结构和功能了解甚少，但已证实其中含有唾液酸化的路易斯X抗原(Sialyl Lewis X，SLeX)，并将其作为配体提供给活化内皮细胞表面的E－S和P－S，参与介导白细胞的滚动(rolling)[8]。

2 L－选择素的配体[1,9-15]

作为受体的选择素，其功能的实现是在其与相应配体结合之后，选择素中的凝集素样结构决定其配体是糖类。已知下列三类结构与选择素具有亲和力：1)SLeX和其异构体SLe^a；2)磷酸化的单糖和多糖，如6－磷酸甘露糖、来自酵母胞壁的富含6－磷酸甘露糖的多糖phosphomannan(PPME)；3)硫酸化的多糖和糖脂，如fucoidan、sulfatide(3－0－sulfate－galatosylceramide)。

L－S配体在外周淋巴结(PLN)的高内皮微静脉(high endothelial venules，HEV)表面呈固有表达，可由单抗MECA79来识别，许多分子量不同的糖蛋白具有这种抗原表位。其中一个50kDa的硫酸化糖蛋白已克隆，是一种粘蛋白样的糖蛋白，含糖量达70%，以O－型糖链为主，而O－型糖链的唾液酸化、岩藻糖化和硫酸化对于其与L－S的结合极为重要，因此又称为糖基化依赖的细胞粘附分子－1(GlyCAM－1)。一般的血管内皮细胞表面在正常条件下不表达或只表达极少量的L－S配体；炎性细胞因子刺激2－4小时后其表达上调，高水平表达可持续24小时，其中LPS、TNF－α和IL－1β的诱导作用大于IFN－γ和IL－4。因此，LC可随时由L－S介导回归PLN，实现再循环；而

* 女，1963－01出生，讲师

维普资讯 http://www.cqvip.com

白细胞在内皮细胞表面的滚动则多发生于炎性刺激因子存在时。

3 L-选择素的功能

3.1 介导LC归巢 LC再循环通路中的一个环节是血液中的LC穿过淋巴结的HEV进入淋巴组织即LC归巢[16]。Gallatin等[17]用L-S单抗MEL-14在体外封闭了LC与PLN中HEV的粘附，也封闭了体内LC向PLN的归巢;纯化的MEL—14抗原预先与PLN切片孵育后，LC 便不再与切片中的HEV结合，但是该单抗不能封闭LC与肠道粘膜集合淋巴结(Peyer′ Patch，PP)中的HEV结合和LC归向PP(已知此过程由VLA-4介导)，表明LC向PLN的归巢是由L-S特异介导的[10,11,16,17]。

L-S各域对该功能的实现都是必不可少的，其中凝集素域直接与配体相互作用，决定该结合的特异性;表皮生长因子域可能是参与维持凝集素域的适当构型，因为缺乏该域的L-S不能识别配体，也不为MEL-14所识别，该域的单抗也明显抑制LC与HEV的粘附;补体调节蛋白域和胞质域的缺失或单抗封闭对L-S与配体的结合几乎无影响，但却阻止LC与HEV的粘附，其中胞质域可能是通过与细胞的骨架成分相互作用而将L-S的配体识别转化为细胞粘附的，因为细胞松弛素B对肌动蛋白微丝的破坏不影响L-S的配体识别，却抑制细胞粘附[2,18]。

3.2 介导白细胞与内皮细胞的初始作用和滚动 150多年前人们就发现白细胞在炎性组织的募集始于与内皮的结合，但仅仅是在近十年来随着特异的细胞粘附分子和化学趋化因子等的鉴定，白细胞粘附的分子机制才得以揭晓[3]。白细胞的炎性渗出过程始于白细胞与内皮细胞的初始作用和白细胞在内皮细胞表面的滚动，此由选择素家族介导，继之白细胞活化并牢固粘附(停留)于内皮表面，这一步由β_2-整合素亚族和免疫球蛋白家族的细胞粘附分子以及一些化学趋化因子(如IL-8，血小板活化因子)介导，最后白细胞穿过内皮和管壁到达组织间隙[19]。L-S及其内皮配体便是一对介导白细胞与内皮细胞初始作用和滚动的主要粘附分子[15]。

vonAndrian等和Lawrence等[20-22]研究发现，L-S单抗DREG56可明显抑制Np滚动，而β_2-整合素或免疫球蛋白超家族成员的单抗则只阻断Np的牢固粘附，不影响滚动;不表达L-S的小鼠前B淋巴细胞瘤株L_{1-2}几乎不能在炎性静脉内皮上滚动，但转染入L-S后，其滚动能力明显增强，且与L-S表达的密度呈正相关;用糜蛋白酸去除L-S和活化诱导的L-S脱落都可高效地封闭Np滚动，同时也阻断了Np的牢固粘附和渗出;但在体外无切应力条件下，β_2-整合素却能介导白细胞与内皮的粘附。上述结果表明，在体内生理切应力条件下，L-S介导白细胞与内皮细胞的初始粘附和滚动，并且这一步是整合素介导白细胞牢固粘附的前提;抑制L-S功能，便抑制了滚动，也就抑制了白细胞渗出。因此，阻断L-S与其内皮配体的作用已成为抗炎研究的新途径[10]。Jutila等[23]全身应用L-S单抗(MEL-14)使小鼠炎性腹腔中Np的渗出减少了70%;Watson等[24]在巯基醋酸性腹膜炎模型上用可溶性L-S/IgG嵌合分子也抑制了75%的Np渗出。此外，人工合成的L-S配体糖类也可竞争性抑制炎性反应，而且具有造价低、分子量小不刺激抗体产生和可能口服或经皮肤渗透给药等优点，可望成为新一代非类固醇抗炎药[9,10,25]。

已知L-S经由下面两条途径介导Np滚动:1)作为受体以凝集素域去识别内皮表面的配体，即不依赖其SLeX或SLeX独立的途径;2)作为配体为内皮表面的E-S和P-S的凝集素域提供其SLeX，即依赖SLeX的途径[8,20,26]。

3.3 介导Np在已与内皮粘附的Np表面滚动 在体内炎症过程中，炎性白细胞快速聚积于血管壁，这有利于白细胞迅速渗出到炎区组织，但同时又在血管壁上形成了一道“屏障”，妨碍了新到来的白细胞与炎性内皮细胞的相互作用，不利于白细胞的大量而持续的渗出。Bargatze等[27]的实验表明，已粘附于内皮细胞的Np可以象活化的内皮细胞一样支持Np的滚动。这一机制对于炎症时白细胞快速而持续地渗出可能具有重意义。这种Np的滚动与E-S和P-S无关，只由L-S介导。

维普资讯 http://www.cqvip.com

3.4 L－S的信号功能;1994年以来，Waddell和Laudanna等[28-32]相继报道Np表面L－S在细胞内[Ca^{2+}]—过性增加、呼吸(或者氧)爆发的激活或加强、氧自由基产生、化学趋化性运动以及TNF和IL－8基因表达增加等过程中起着信号分子的作用。Waddell等[33]的进研究表明胞内数种蛋白质的酪氨酸磷酸化加强是L－S信号通路中所必需的中间环节。人Np的L－S与L－S单抗或sulfatides作用30秒钟即现胞内总的蛋白质酪氨酸磷酸化加强，并持续20分钟(推测是Np活化后L－S的脱落使该反应终止);糜蛋白酶处理Np(可去除绝大部分L－S)后，该反应明显减弱，而酪氨酸蛋白激酶抑制剂genistein则可完全封闭sulfatides(L－S的配体)诱导的胞内[Ca^{2+}]—过性增加和氧爆发。L—S引发的这些事件可能有助于Np的激活和化学趋化运动。

Murakawa[34]和Boirivant等[35]在研究人外周血T淋巴细胞(TL)L－S时发现，L－S抗体影响抗CD_3诱导的TL增殖，增强抗CD_3诱导的磷酸肌醇水解和加速抗CD_3诱导的蛋白质酪氨酸磷酸化，并且抗CD_3激活的CD_4^+TL表面L－S的交联可使TL内IFN－γ的mRNA表达明显增加(6小时增加10倍)。L－S直接或间接与蛋白激酶相关，通过后者转导细胞内信号，并经此调节着抗CD_3诱导的TL激活。

另外，Qian等[36]的研究表明L－S可能在肿瘤细胞向淋巴结的转移中发挥作用。

4 活化依赖和活化独立的L－选择素的脱落或下调

E－S和P－S在内皮细胞表面呈诱导表达;而L－S则固有地表达于白细胞表面，脱落是调节其活性的主要形式[37-40]。

4.1 活化依赖的L－S脱落 L－S在循环Np表面呈高水平表达(5－10万个L－S分子/细胞)，但炎性组织中的Np则几乎不表达之[23]；体外，GM－CSF、TNF和国LTB4等激活Np后，其表面的L－S活性呈一过性增强，然后在5－15分钟内迅速脱落;体内炎性反应过程中也存在Np表面L－S的活化脱落，并且是在Np进入炎性组织之前[38]，同时还伴有β_2－整合素的上调。这种L－S的脱落可能系内源性蛋白酶在L－S靠近细胞膜的部位使肽键水解断裂所致，该水解位点可能是$LYs^{321}-Ser^{322}$[40]；脱落引起的L－S下调可解除白细胞与内皮表面的粘附，有利于其穿过内皮到达炎区组织，同时也可避免这些活化的白细胞回到血循环后再与其它非炎区内皮发生粘附。

LC表面L－S在佛波酯、细菌超抗原(auperantigen)或抗CD_3等作用下也会脱落，但需要更长的时间，约15－30分钟，Chao等[42]报道，在抗CD_3激活后的最初2小时内L－S下调，此系蛋白激酶C(PKC)介导的L－S脱落所致;随后L－S表达呈超诱导状态，最高峰在24－48小时，继之便逐渐消失;L－S的这一动态变化过程与其mRNA水平的变化完全一致，表明其变化来自基因转录水平的调控。

4.2 活化独立或L－S交联诱导的脱落 即使在没有明显白细胞活化的正常人血浆中也存在较高浓度(详见后)的脱落L－S(shed L－S，SL－S)，表明活化脱落的SL－S并非血浆SL－S的常规来源和/或唯一来源。Palecanda等[43]用化学交联剂(4°C条件下)和L－S单抗(37°C条件下)引起了Np上L－S的交联和脱落，但并不伴有Np的激活，表明L－S的交联可独立于细胞活化而引起以L－S脱落。体内，LC表面的L－S随时介导着LC与外周淋巴结HEV表面的相应配体结合，也不时地介导白细胞在非炎性内皮表面的滚动，这些过程中都存在L－S的交联。因此，交联诱导的L－S脱落这一经常性事件可能是血浆SL－S的常规来源，但也不排除其可能来自一些细胞的主动分泌和/或白细胞更新时胞膜表面释放的L－S。

交联诱导的脱落可能是不完全的，也许只发生在白细胞与内皮细胞接触的那一部分胞膜，因为进入非炎性淋巴结的LC表面仍然表达较高水平的L－S。这种调节方式的存在可能有利于那些参加了滚动、但相应的激活因子尚不存在的白细胞(如炎症早期参加滚动的LC和单核细胞)及时释放回到循环中，同时这些细胞以后还能重新与内皮细胞相互作用即滚动并脱落L－S[4]。

5 SL－S及其生理和病理意义

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 L－选择素的种族和家族同源性(%)比较[4-7]

人 L－S	凝集素域	表皮生长因子域	补体调节蛋白域	跨膜域	胞质域
小鼠L－S	83	80	61－74	95	78
大鼠L－S	81	77	73	/	/
人 L－S	61	66	40－45	*	*
人 L－S	67	63	40－45	*	*

/:未作比较; *:几乎无同源性

白细胞活化和L－S交联诱导产生的SL－S的分子量为71kDa，具有几乎完整的L－S胞外结构和结合配体的活性。半纯化的SL－S以剂量依赖方式抑制L－S介导的LC与炎性内皮的粘附，8－15μg/ml的SL－S则可完全阻断该粘附;SL－S也能抑制L－S单抗与白细胞表面的结合，因此推测胞外环境中存在的SL－S可能也调节着L－S的功能[37]。

Schleiffenbaum等[37]用Western blot法证实自LC和Np脱落的SL－S呈高水平存在于正常人血液中，可达1.6±0.8μg/ml(ELISA);Spertini等[43]也用ELISA法检测正常人血清和血浆中的SL－S，分别为1.92±0.96和1.91±0.98μg/ml，而脑脊腋中的SL－S只有血清水平的0.6－6%。他们认为，血液中存在的如此高浓度的SL－S可能是一种物学意义上的粘附缓冲系统，一方面竞争性地阻止白细胞在L－S配体呈低水平上调的部位粘附和滚动，以免炎症轻易发生;另一方面在炎症过程中当白细胞渗出达一定程度后，这些渗出的白细胞活化脱落的SL－S进入血液，使血液中SL－S水平升高，而增高的SL－S又反过来竞争性阻止白细胞继续与内皮细胞相互作用，起负反馈调节作用，使白细胞渗出和炎症反应"适可而止"。

Spertini等检测了一些全身性炎症和感染性疾病病人的血清SL—S水平，发现严重烧伤病人与正常人相似，Kawasaki综合征病人普遍低于正常人，而脓毒血症和感染HIV的病人则明显高于正常人，这些结果的意义尚不清楚;Tamatani等[45]报道，正常大鼠血清SL－S用ELISA法检测不出来，但在用可溶性视网膜抗原复制实验性自身免疫性眼色素膜炎模型的第四天，便可在该大鼠的血清中检测到SL－S，第12－14天达高峰，第21天疾病缓解时回到正常水平;而其相应的临床表现和组织学特征是在第11天才出现的，明显晚于血清SL－S的变化。因此，他们认为血清SL－S的变化可以反映炎症的消长，对于监测一些炎性或免疫性疾病的发生和发展可能是一潜在的实用指标，甚至还可能反映其治疗效果即炎症控制情况。培养的白细胞在细胞因子刺激后，其培养上清中SL－S的含量增加，这也提示血清SL－S水平能反映炎症期间体内白细胞的激活情况[44]。

6 L－选择素的再表达

淋巴结和炎性组织的免疫组化显示，位于血管外的LC、Np和单核细胞都不同程度地表达L－S，推测系白细胞定位于组织后L－S再表达的结果，而且它们还可继续脱落，成为血清中高水平SL－S的又一来源[37]。Miethke等[46]报道山细菌超抗原引起的TL表面的L－S的脱落在30分钟内完成，尔后10小时内有部分细胞再表达L－S，48－50小时后则几乎全部细胞都再表达了L－S，并恢复至正常水平。但迄今未见Np表面L－S再表达的进一步研究报道。

参考文献

1.Bevilacqua MP, Nelson RM. J Clin Invest 1993;91:379
2.Kansas GS. APMIS 1992;100:287
3.Albelda SM, et al. FASEB J 1994;8:504
4.Jutila MA. APMIS 1992;100:191
5.Tedder TF. et al. J Exp Med 1989;170:123
6.Watanabe T, et al. Biochim Biophys Acta 1992;1131:321
7.Lasky LJ, et al. Cell 1989;56:1045

维普资讯 http://www.cqvip.com

8.Picker LJ. et al. Cell 1991;66:921
9.Lasky LA.Science 1992;258:964
10.Williams TJ.Hellewell PG. Am Rev Respir Dis 1992;146:S45
11.Mackay CR. Imhof BA. Immunol Today 1993;14:99
12.Imai Y. et al. Nature 1993;361:555
13.Suzuki Y. et al. Biochem Biophys Res Commun 1993;190:426
14.Lasky LA.et al. Cold Spring Harb Symp Quant Biol 1992;57:259
15.Spertini O. et al. J Immunol 1991;147:2565
16.Springer TA. Nature 1990;346:425
17.Gallatin WM. et al. Nature 1983;304:30
18.Kansas GS. et al. J Exp Med 1993;177'833
19.周 兰.等.重庆医科大学学报 1993;21:294
20.vom Amdrian UH. et al. Blood 1993;82:182
21.von Andrian UH. et al. Am J Physiol 1993;263:H1034
22.Lawrence MB. Springer TA. Cell 1991;65:859
23.Jutila MA. et al. J Immunol 1989;143:3318
24.Watson SR. et al. Nature 1991;349;164
25.Wong CH. et al. FEBS Lett 1993;330:243
26.Price TH. et al. Blood 1994;84:1635
27.Bargatze RF. et al. J Exp Med 1994;180:1785
28.Waddell TK. et al. J Biol Chem 1994;269:1848
29.Laudanna C. et al. J Biol Chem 1994;269:4021
30.Grockett—Torabi E. J Immunol 1995;154;2291
31.Hwang ST. et al. The 9th Imternational Congress of Immunology Abstrct Book (9th ICIAB0). 1995;804(No 4770)San Francisco. CA USA
32.Rosales C. Juliano RL. J Leukoc Biol 1995;57;189
33.Waddell TK. et al. J Biol Chem 1995;2o7:15403
34.Murakawa Y. et al. 9th ICIAB. pp802(No 4760)
35.Boirivant M. et al. 9th ICIAB. pp804(No 4772)
36.Qian F. et al. 9th ICIAB. pp805(No 4774)
37.Schleiffenbaum B. et al. J Cell Biol 1992;119:229
38.Griffin JDO. et al. J Immunol 199o;45:576
39.Watson SR. et al. J Cell Biol 1990;110:2221
40.Ruoslahti E. J Clin Invest 1991;87:1
41.Kahn J. et al. J Cell Biol 1994;125:461
42.Chao CC. Dailey MO. 9th ICIAB.pp806(No 4779)
43.Palecanda A.et al. Eur J Immunol 1992;22:1279
44.Spertini o. et al. J Immunol Methods 1992:156:115
45.Tamatani T. et al. Eur J Immunol 1993;23:2181
46.Miethke T. et al. J Immunol 1993;151:6777

(收稿日期1997－01－23)

97-100

补体，排斥反应，器官移植

37

补体与排斥反应

R392.11
R392.4

临床学院普外科 杜成友* 综述
华西医科大学外科 沈文律 审校

中国分类号 R392.11

补体是人或动物体液中正常存在的一组与免疫相关的并有酶活性的蛋白，这些蛋白的相互作用导致如C_{1q}、C_{3a}、C_{5a}这些肽的产生，形成复合物作用在细胞膜上。一般来讲，补体是通过抗体激活其经典途径。但在某些种族补体的激活是不依赖于抗体而接活替代途径。补体广泛参与器官移植排斥反应。本文将对补体在急性，慢性及超急性排斥反应中的可能作用机理进行综述。

1 补体的产生部位

1.1 肝脏是制造补体的主要场所 哺乳动物的肝细胞培养，肝的离体灌注和肝脏移植后表明肝脏是补体产生的主要器官[1]，肝脏移植术后6周内受体血清中的P因子，B因子及C_6已转化成供体内的等价体(Allotype)[2]。

1.2 肝脏以外的其它细胞具有合成完整有功能的补体的能力 如巨噬细胞，血小板，中性粒细胞，肺泡上皮细胞，肾小球基底膜细胞等均具合成

* 男，1 64－07出生，主治医生