

• 综述 •

细胞黏附分子在多器官功能障碍综合征中的表达变化及意义

杨丰 方国恩

【关键词】 多器官功能障碍综合征; 全身炎症反应综合征; 细胞黏附分子

全身炎症反应综合征(SIRS)是MODS形成中的重要病理基础。而炎症反应对组织和器官的损伤是由于白细胞与血管内皮细胞相互作用、黏附增加,导致白细胞附壁和渗出引起。介导白细胞-内皮细胞黏附的分子基础是细胞黏附分子(CAMs),所以,了解CAMs在MODS中的表达变化,对于进一步认识MODS的发生机制及其防治有重要意义。

1 CAMs 的分类及作用

目前,按照CAMs的结构特点可将其分为选择素家族、免疫球蛋白超家族(IgSF)、整合素家族、黏蛋白样血管逆质素及钙黏着素(或称为钙离子依赖的CAMs家族,又称cadherin家族)⁵类,此外,还有一些尚未归类的黏附分子,如CD44、CD30等。上述CAMs中,被认为与SIRS及MODS有关的有选择素家族、IgSF和整合素家族。

1.1 选择素家族:选择素又称凝集素样CAMs,为跨膜糖蛋白,介导细胞与细胞间的黏附,并具有高度选择性。其配体是位于细胞膜上的寡糖Lex和Lea,包括含半乳糖、岩藻糖和N-乙酰葡萄糖胺的糖类分子,可被唾液酸化(sLex和sLea)和硫酸化(sulfo-Lex和sulfo-Lea)。L-选择素、E-选择素和P-选择素结构相似,在胞浆区无同源性,但在不同种属中高度保守。血管内皮细胞膜上有选择素配体sLex,能与选择素发生快速、低亲和力的结合。由于二者间的亲和力低,加之白细胞活化后,选择素的细胞外域可出现脱落现象,因而由选择素所介导的白细胞与血管内皮细胞的黏附是滚动的、非牢固的,但这一过程为下一阶段的牢固黏附创造了条件。

1.2 IgSF:该家族是一类与免疫球蛋白基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970720)

作者单位:200433 上海,第二军医大学长海医院普通外科

作者简介:杨丰(1973-),男(汉族),江西人,主治医师(E-mail:plenteousy@yahoo.com.cn)。

结构相似的跨膜蛋白质,主要表达于血管内皮细胞以及免疫和神经系统,在炎症反应、免疫调节和组织发生中具有重要作用。IgSF主要包括细胞间黏附分子-1、-2、-3(ICAM-1、-2、-3),血管细胞间黏附分子-1(VCAM-1),淋巴细胞功能相关抗原-2、-3(LFA-2、LFA-3),杀伤性T细胞相关抗原-4(CTLA-4),CD28,以及血小板内皮细胞间黏附分子-1(PECAM-1)等^[1];其配体是整合素,例如ICAM-1的配体是 β_2 -整合素,VCAM-1的配体是极迟抗原-4(VLA-4)整合素。IgSF主要介导白细胞-内皮细胞牢固黏附及增加白细胞向炎症部位的游走。

1.3 整合素家族:于20世纪80年代发现并提出了整合素,它是一个膜受体家族,主要介导细胞与细胞外基质(ECM)的黏附,使细胞得以黏着而形成整体。由 α 、 β 两条链通过共价键连接组成的异源双体,两条链均为1型膜蛋白。已知的整合素家族中至少有14种 α 亚单位和8种 β 亚单位,多数现已克隆成功。整合素配体有两类:一类是ECM成分;另一类为IgSF黏附分子,如ICAM、VCAM,它们参与细胞与细胞间黏附。整合素与配体的结合具有二价阳离子依赖性。

在整合素亚单位中,与炎症关系密切的是 β_2 -整合素,也称白细胞黏附分子(LEU-CAM),由3种白细胞表面的黏附分子组成,它们都有共同的 β 链(CD18),而3个 α 亚单位则以非共价键方式与CD18相连接,分别是CD11a/CD18、CD11b/CD18和CD11c/CD18。CD11a/CD18也称LFA-1,其配体属于IgSF中的ICAM-1、-2,参与白细胞之间和白细胞与内皮细胞之间的牢固黏附。CD11b/CD18也称巨噬细胞分化抗原-1(Mac-1),主要存在于中性粒细胞和单核细胞,有多种配体,功能较广泛。在炎症反应中,Mac-1除介导白细胞与内皮细胞、上皮细胞牢固黏附外,还与自然杀伤细胞(NK细胞)结合iC3b的靶

细胞以及巨噬细胞与大肠杆菌等病原菌结合有关。CD11c/CD18也称糖蛋白150/95(GP150/95),主要存在于组织的巨噬细胞膜上,血中单核细胞和某些激活的淋巴细胞也可少量表达,其主要参与细胞毒性T细胞与靶细胞的黏附。

1.4 白细胞的黏附过程:白细胞与内皮细胞相互作用并穿过内皮细胞向炎症部位游走的过程可简要概括为:首先是白细胞与血管内皮细胞的随机接触、滚动阶段,由白细胞和内皮细胞上的L-、P-、E-选择素及糖基介导;然后受到炎症细胞因子和趋化因子的作用,整合素与ICAM-1、-2及VCAM-1等结合而使白细胞与血管内皮细胞牢固黏附;最后,白细胞在 β_2 -整合素和ICAM-1、PECAM-1的相互作用下,变形、穿越出内皮细胞之间,进一步在ECM和趋化因子的指引下,向炎症部位游走。

2 MODS 时 CAMs 表达及调节因素

如前所述,CAMs是引起过度炎症反应的分子基础,其在SIRS和MODS过程中的活跃表达成为引人注目的现象。引起CAMs表达增加的主要原因是创伤、感染等因素刺激巨噬细胞、淋巴细胞、成纤维细胞等释放多种细胞因子,使CAMs由胞内贮存池转移到细胞膜表面,或启动胞内mRNA的转录促进蛋白质合成,导致白细胞和内皮细胞表面的CAMs过量表达^[2]。

2.1 选择素家族的表达变化

2.1.1 L-选择素:炎症时L-选择素淋巴细胞受佛波酯或有丝分裂原刺激后数分钟内表达,亦可于白细胞中因某些趋化蛋白、白细胞介素-8(IL-8)、集落刺激因子以及脂多糖(LPS)等刺激下迅速表达L-选择素。但目前认为,L-选择素的表达在创伤后之初是呈快速下降的趋势,只有病情进展为MODS时L-选择素才出现回升的现象^[3]。van Griensven等^[1]观察了28例多发伤患者,伤后都出现单核细胞表面L-选择素由80 $\mu\text{g/L}$ 快速降至20 $\mu\text{g/L}$;进展至MODS的男

性患者可回升至 $80 \mu\text{g/L}$, 而进展至 MODS 的女性患者则回升至 $110 \mu\text{g/L}$ 。认为出现上述现象可能是由于伤后 L-选择素大量从细胞膜表面脱落所致, 但有必要进行大宗病例和选择更合适的检测时间点加以分析。目前的观察仍表现在创伤时可溶性 L-选择素 (sL-选择素) 表达增加而 L-选择素表达降低。

2.1.2 E-选择素: E-选择素仅存在于活化的内皮细胞上。细胞实验显示, 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-1 等细胞因子可活化内皮细胞而表达 E-选择素, 并在受刺激后 4 h 达到高峰, 24 h 内即从细胞膜上大量脱落而成为可溶性形式。SIRS 早期从外周血检出 sE-选择素或从内皮细胞上检出 E-选择素, 表明了内皮细胞活化是间接反映白细胞活化以及两者黏附加强的一个重要依据。目前认为^[4], E-选择素可能是介导白细胞滚动非常好的基质, 使用抗 E-选择素的单克隆抗体 (单抗) 后白细胞滚动率将下降 40%; 而糖皮质激素等药物由于抑制 E-选择素表达, 从而可以有效地预防 MODS 的发生。同样, E-选择素亦可作为预测 MODS 预后的指标, 其持续表达上调预示病情严重、死亡率高。

2.1.3 P-选择素: P-选择素主要贮存于血小板 α 颗粒和内皮细胞的 Weibel-Palade 小体内。在炎症反应早期, P-选择素通过补体、炎性细胞因子、凝血酶、组胺等刺激后快速表达于细胞膜表面。炎症反应后大约 4 h 内, P-选择素参与了白细胞沿内皮细胞的滚动或短暂的黏附, 这一作用短暂而快速。在炎症早期 P-选择素表达增加是白细胞和内皮细胞活化的主要依据。体外细胞实验显示^[5], IL-1 和 TNF- α 引起白细胞和内皮细胞的活化, P-选择素的表达于 4 h 达高峰; 体内检测表明, P-选择素可在创伤和感染灶处呈现高表达, 并且即便在病情恢复期, 局部及血清中仍可测到高浓度的 sP-选择素。Scalia 等^[6]报道, 给予静脉注射 P-选择素单抗小鼠的平均动脉压 (MAP) 要比同样失血量的对照组高, 血流动力学也稳定。说明 P-选择素在休克过程中参与心脏等循环器官的损害。

2.2 IgSF 的表达变化: IgSF 主要包括 ICAM-1、ICAM-2、VCAM-1 和 LFA-3 等, 目前对其中 ICAM-1 研究较多。创伤或感染后, TNF- α 、IL-1、

γ -干扰素 (IFN- γ) 等刺激, 内皮细胞活化而表达 ICAM-1, 加强白细胞表面 LFA-1 的结合, 促进两者的牢固黏附。Carlos 等^[7]观察到大鼠脑创伤后, 受伤半球血管内皮在伤后 4、24、48 和 72 h ICAM-1 表达显著增加; 对侧半球的血管内皮在伤后 48 h ICAM-1 的表达亦强烈, 且与炎症程度密切相关。在休克、脓毒症发生、发展中, ICAM-1 介导的白细胞-内皮细胞牢固黏附起到重要作用。Hildebrand 等^[8]报道, 在盲肠结扎穿孔术复制脓毒症的小鼠模型中, ICAM-1 基因剔除的小鼠肺内白细胞浸润和肝脏损害程度要比野生型小鼠明显减轻, 并且血浆中促炎介质 TNF- α 、IL-6 浓度降低, 抗炎介质 IL-10 浓度升高。萧正伦等^[9]在兔急性失血性休克联合内毒素模型中发现, 失血性休克加内毒素组血浆 VCAM-1 和 ICAM-1 水平在感染内毒素后 4 h 均显著高于正常对照组, 表明失血性休克联合内毒素可导致肺血管渗透性增加, 而且其升高与前炎症因子 IL-18 血浆水平持续升高密切相关。

2.3 整合素家族的表达变化: 整合素家族中, 目前发现与白细胞活化关系较为密切者主要是 LFA-1 (CD11a/CD18) 和 Mac-1 (CD11b/CD18)。SIRS 时, 由单核细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、成纤维细胞和内皮细胞等接受炎性刺激后产生 IL-6 等促炎细胞因子, 使白细胞活化并表达 CD11/CD18。Fujimi 等^[10]观察到, 严重创伤患者 Mac-1 表达量在伤后 12 d 内都处于高水平, 白细胞表面 CD11a/CD18 和 CD11b/CD18 表达均上调, 与代谢性酸中毒和过度炎症反应程度相关。Gorden 等^[11]则认为, MODS 的发生可能与白细胞表面 CD11/CD18 受体的过量表达有关。上述结果是否能够解释整合素在 MODS 发生时介导的白细胞扣押现象和器官功能损害的机制。

2.4 sCAMs 的变化: sL-选择素来自淋巴细胞和中性粒细胞表面 L-选择素分子的脱落, sE-选择素、sICAM-1 和 sVCAM-1 主要来自血管内皮细胞表面。对于 P-选择素, 由于巨噬细胞和血管内皮细胞内 P-选择素分子的 mRNA 存在着不同的剪接形式, 其中一种缺少胞浆区 mRNA 编码的蛋白质被分泌到血液中, 成为血浆中 sP-选择素的主要来源。Stengel 等^[3]的研究表明, 创伤严重程度评分 (ISS) ≥ 16 分的多发伤患者,

伤后早期血中 sL-选择素的浓度越低, 表明白细胞被内皮细胞扣押严重, 所以发生急性肺损伤 (ALI) 和 ARDS 的可能性增大, 提示预后不良。Gando 等^[12]观察了 58 例严重创伤患者, 伤后 2~4 d 血清中 sE-选择素、sP-选择素、sICAM-1 和 sVCAM-1 水平与弥散性血管内凝血 (DIC) 的发生显著相关。廖建坤等^[13]发现与白细胞 NF- κ B 及 TNF- α 的变化呈正相关。Mac 等^[14]观察了创伤致失血性休克、重症脓毒症以及脓毒性休克患者, 发现 3 组的 sP-选择素水平均较正常人显著升高, 且与感染严重程度呈更为明显的相关性, 3 组中以脓毒性休克患者 sP-选择素最高。

由于 sP-选择素既可由血管内皮细胞上脱落, 也可由血小板分泌产生, 所以 sP-选择素的水平也反映了血小板的活化状态。Ogura 等^[15]报道, 严重 SIRS 患者 sP-选择素水平与微血管内血小板-单核细胞组成的微粒水平呈正相关, 并且在使用 P-选择素的单抗之后微粒形成明显被抑制, 说明 P-选择素在介导血小板-白细胞相互黏附、形成微血栓方面的重要作用。

需要指出的是, 用常规酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测的 sCAMs 有时并不能反映血中 sCAMs 的真实水平, 因为 sCAMs 除以游离状态存在外, 还可以与细胞表面或游离的配体相结合。所以, 对 sCAMs 的监测应保持动态跟踪, 并结合临床实际综合评价。

3 有关抗细胞黏附的治疗进展

尽管白细胞与内皮细胞之间的黏附作用是构成机体屏障的重要一环, 但在 SIRS 和 MODS 时, 白细胞-内皮细胞的过度黏附是有害的。例如, 在缺血/再灌注损伤中, 再灌注后细胞黏附增加会激发炎症渗出加剧, 造成比缺血更大的组织和器官损害。因此, 探索阻断白细胞-内皮细胞黏附的治疗方法, 有助于减轻炎症反应和血管、组织的损害, 改善临床症状。抗细胞黏附通常有以下几种途径: ① 最直接的是阻断受体-配体之间的结合。在一些动物和临床试验中, 已有用鼠源性单抗来进行抗黏附治疗。如用能够拮抗多种选择素的抗体 TBC-1269 可阻止肝组织中白细胞黏附和聚集, 可有效改善失血性休克大鼠的肝脏功能, 同时对第二次打击——内毒素感染也有保护作用^[16]。目前大多数临床试验中, 正

在逐步使用人源性单抗来取代鼠源性,以减少不良的免疫反应。②也可用一些小分子物质与白细胞上的整合素配体识别区结合,从而阻断其与 IgSF 的黏附,或者将受体变构修饰以阻断其与配体的结合。③另也有学者利用低敏的寡聚核苷酸作用于内皮细胞的 mRNA,使得 CAMs 的转录受阻或转录信息紊乱,从而减少 ICAM-1 等黏附分子表达^[17]。④现在普遍关注的途径是阻断炎症反应中具有枢纽地位的 NF- κ B 的作用,因为 NF- κ B 可以调节内皮细胞上几种重要的促炎黏附分子表达,如 ICAM-1、VCAM-1、P-选择素等。Nootboom 等^[18]在内毒素刺激的人血中加 NF- κ B 拮抗剂,结果内皮细胞表达 ICAM-1 明显减少。⑤对已游走出血管的白细胞进行抗黏附治疗也是途径之一。⑥还可通过模拟控制细胞活化或凋亡信号来调节白细胞功能,减少黏附的发生。

目前抗黏附治疗在临床上应用不多,应该说多数还处于动物实验阶段。比较成功的例子是在冠心病患者中,通过阻断血小板上的整合素受体以减少冠状动脉血栓形成。Vedder 等^[19]利用人源性 CD18 单抗治疗创伤性休克患者,尽管治疗组患者遭受感染的风险很高,但该组患者感染并发症并无增加,且治疗组患者住重症监护室(ICU)时间和接受机械通气的时间较对照组缩短,急性呼吸窘迫综合征(ARDS)和心、肺器官功能衰竭的发生率明显下降,病死率以及其他指标没有明显改变。然而,CD18 单抗在治疗中风、心肌梗死等典型缺血/再灌注损伤类疾病时,效果却令人失望^[20]。其原因可能与这些器官缺血时间过长,再灌注损伤相对较轻有关;或是在长时间缺血的情况下,白细胞活化不再是主要的致伤因素,而其他成分,如补体、氧自由基等成为导致再灌注损伤的主要原因;再者,也可能是最重要的原因,动物模型并未能真实反映临床疾病的面貌。临床上,往往缺血损伤是主要的,而复苏后的再灌注损伤临床意义并不大。此外, Crockett 等^[21]报道,在 ICAM-1 和 P-选择素基因剔除的小鼠腹膜炎模型中,其腹腔白细胞渗出状况并不比野生型小鼠有改善,故认为可能存在除 ICAM-1 和 P-选择素以外的其他细胞黏附途径介导了腹腔内白细胞的渗出。

4 小 结

在 SIRS 及 SIRS 发展至 MODS 的过程中,细胞黏附作用的增强具有重要意义,而 CAMs 表达变化是细胞黏附增强的分子基础;CAMs 表达受 TNF- α 、IL-1 等炎性介质的调节;监测组织或血浆中 CAMs 的表达变化和 sCAMs 的水平,结合临床实际,可对一些危重患者的预后作出判断;抗黏附治疗目前大多处于动物实验阶段,但临床应用前景广阔,开辟了防治 MODS 的新途径。

参考文献:

- van Griensven M, Barkhausen T, Hildebrand F, et al. L-selectin shows time and gender dependency in association with MODS[J]. *Injury*, 2004, 35: 1087-1095.
- Martinez-Mier G, Toledo-Pereyra L H, Ward P A. Adhesion molecules and hemorrhagic shock[J]. *J Trauma*, 2001, 51: 408-415.
- Stengel D, Bauwens K, Keh D, et al. Prognostic value of an early soluble L-selectin (sCD62L) assay for risk assessment in blunt multiple trauma: a meta-analysis[J]. *Clin Chem*, 2005, 51: 16-24.
- Leone M, Boutiere-Albanese B, Valette S, et al. Cell adhesion molecules as a marker reflecting the reduction of endothelial activation induced by glucocorticoids[J]. *Shock*, 2004, 21: 311-314.
- Raaf M, Daxecker H, Markovic S, et al. Variation of adhesion molecule expression on human umbilical vein endothelial cells upon multiple cytokine application[J]. *Chin Chim Acta*, 2002, 321: 11-16.
- Scalia R, Armstead V E, Minchenko A G, et al. Essential role of P-selectin in the initiation of the inflammatory response induced by hemorrhage and reinfusion[J]. *J Exp Med*, 1999, 189: 931-938.
- Carlos T M, Clark R S, Francica-Higgins D, et al. Expression of endothelial adhesion molecules and recruitment of neutrophils after traumatic brain injury in rats[J]. *J Leukoc Biol*, 1997, 61: 279-285.
- Hildebrand F, Pape H C, Harwood P, et al. Role of adhesion molecule ICAM in the pathogenesis of polymicrobial sepsis[J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2005, 56: 281-290.
- 萧正伦, 徐远达, 黄海鹭, 等. 黏附分子和白介素-8 在早期急性呼吸窘迫综合征中的作用研究[J]. *中国危重病急救医学*, 2001, 13: 102-106.
- Fujimi S, Ogura H, Tanaka H, et al. Increased production of leukocyte microparticles with enhanced expression of adhesion molecules from activated polymorphonuclear leukocytes in severely injured patients[J]. *J Trauma*, 2003, 54: 114-119.
- Gorden M W, Robertson C E, Daves J, et al. The expression of integrin is associated with morbidity of multiple organ dysfunction syndrome[J]. *Intensive Care Med*, 2000, 15: 543-549.
- Gando S, Kameue T, Matsuda N, et al. Combined activation of coagulation and inflammation has an important role in multiple organ dysfunction and poor outcome after severe trauma[J]. *Thromb Haemost*, 2002, 88: 943-949.
- 廖建坤, 廖红梅, 罗学宏. 核转录因子- κ B 在烧伤早期的活性变化及意义[J]. *中国危重病急救医学*, 2003, 15: 220-221.
- Mac L, Brightt B, Laurance C J, et al. Systemic endothelial activation is greater in septic than in traumatic-hemorrhage shock but does not correlate with endothelial activation in skin biopsies[J]. *Crit Care Med*, 2002, 30: 808-814.
- Ogura H, Kawasaki T, Tanaka H, et al. Activated platelets enhance microparticle formation and platelet-leukocyte interaction in severe trauma and sepsis[J]. *J Trauma*, 2001, 50: 801-809.
- Anaya-Prado R, Ramos-Kelly J R, Toledo-Pereyra L H, et al. Multiple selectin blockade with a small-molecule selectin inhibitor does not affect survival after a second inflammatory challenge with nonlethal LPS[J]. *J Invest Surg*, 2002, 15: 171-180.
- Asakura H, Jokaji H, Saito M, et al. Plasma levels of soluble thrombomodulin increase in cases of disseminated intravascular coagulation with organ failure[J]. *Am J Hematol*, 1991, 38: 281-287.
- Nootboom A, van der Linden C J, Hendriks T. Modulation of adhesion molecule expression on endothelial cells after induction by lipopolysaccharide/stimulated whole blood[J]. *Scand J Immunol*, 2004, 59: 440-448.
- Vedder N B, Harlan J, Winn R, et al. Immunomodulators, inhibitors of adhesion[J]. *Shock*, 2000, 13: 1.
- Sughrue M E, Mehra A, Connolly E S Jr, et al. Anti-adhesion molecule strategies as potential neuroprotective agents in cerebral ischemia: a critical review of the literature[J]. *Inflamm Res*, 2004, 53: 497-508.
- Crockett E T, Remelius C, Hess K, et al. Gene deletion of P-selectin and ICAM-1 does not inhibit neutrophil infiltration into peritoneal cavity following cecal ligation puncture[J]. *BMC Clin Pathol*, 2004, 4: 2.

(收稿日期: 2006-09-06)

(本文编辑: 李银平)