

文章编号: 1001-098X(2001)03-0127-04

细胞粘附分子在放射线致正常组织损伤中的作用

钟 敏

(第三军医大学劳动卫生学教研室,重庆 400038)

摘 要: 放射线辐照引起白细胞渗出,是放疗后组织萎缩、纤维化、坏死的重要原因,严重影响放疗的安全性。细胞粘附分子在介导白细胞渗出中起着重要作用。本文就辐照对细胞粘附分子的影响进行了综述,并对着眼于粘附分子的辐射损伤防治策略的应用前景作了简要介绍。

关键词: 细胞粘附分子; 放射线

中图分类号: R818.74 文献标识码: A

放射线照射引起血管损伤被认为是组织病变的中心环节,其导致的白细胞渗出是受照组织普遍表现的病变,可引发或和加剧受照组织萎缩、纤维化甚至坏死。细胞粘附分子 (cell adhesion molecule, CAM)介导白细胞渗出在炎症、感染研究中已得到共识,包括 E选择素、P选择素、L选择素、细胞间粘附分子 (ICAM-1)、血管细胞粘附分子 (VCAM-1)、血小板内皮细胞粘附分子 (PECAM-1)、 β_1 和 β_2 整合素在内的诸多粘附分子,均参与白细胞滚动、扣押和迁移至组织的级联式反应过程。在辐射致组织损伤病变中,白细胞渗出是否依赖相似机制尚不完全清楚。

1 白细胞与受照血管的相互作用

白细胞浸润除可由血管通透性增加而引起外,白细胞与血管内皮细胞 (VEC)之间的通过粘附分子介导的相互作用也是完成这一病理变化的前提。炎症反应中,白细胞首先在内皮细胞上滚动,随着白细胞从循环血中脱离,白细胞被内皮细胞扣押并最终穿过内皮细胞进入组织间隙^[1]。Panes J等^[2]对受照肠系膜血管上白细胞滚动、粘附、迁移的定量分析发现,辐照后三种现象发生率明显上升,白细胞与受照 VEC 的相互作用与组织炎症反应时类似,提示放射线引起的白细胞浸润过程与炎症反应时白细胞在内皮细胞上滚动、捕获和迁移过程相似,由诸多粘

附分子参与介导和调控

1.1 辐照引起白细胞滚动

P选择素和 E选择素是介导白细胞在内皮细胞上滚动的重要粘附分子。

P选择素 (P-selectin,又称血小板活化依赖性颗粒表面膜蛋白, GMP-140)是分子量为 140 000 的单链糖蛋白,由 789个氨基酸残基构成,主要存在于静息血小板 α 颗粒中及内皮细胞 Weibel-Palade 小体中。内皮细胞受炎性介质如肿瘤坏死因子 (TNF- α)、白介素-1(IL-1)、凝血酶、组胺、过氧化氢 (H₂O₂)、蛋白激酶 C (PKC)激活剂等刺激, P选择素呈一过性迅速表达。用 P选择素单抗体外处理动物组织,可抑制由血管创伤引起的白细胞的自发滚动,剔除 P选择素基因的小鼠也未见白细胞自发性滚动,提示 P选择素是炎症反应中介导白细胞在内皮细胞上滚动的关键分子^[3]。Hallahan DE等^[4]在辐照后 30 min对小鼠肺 VEC上 P选择素的表达观察发现, P选择素主要集中在大血管腔面。Panes J等^[2]用 P选择素单抗处理受照的大鼠肠系膜微血管,未见对辐照引起的白细胞粘附增多有改善。P选择素介导辐照后白细胞的滚动是否有血管大小的选择性,尚待进一步研究。

E选择素 (E-selectin,又称内皮细胞白细胞粘附分子-1, ELAM-1,)是糖基化单链跨膜蛋白,分子量为 113 000,由 589个氨基酸残基组成,主要在活化的内皮细胞上表达。内皮细胞受内毒素、细胞因子 (IL-1、TNF- α)作用后 30 min开始表达 E选择素,2~6h达高峰,24~48h降到基础水平。E选择素也有介导白细胞滚动的作用。Olofsson AM等^[5]用平行板流动室 (parallel plate flow chambers),观察到白细胞可在含 E选择素的脂质双层上滚动,

收稿日期: 2000-11-15
作者简介: 钟 敏 (1964-),广东新会人,第三军医大学劳动卫生学教研室副教授、博士,主要从事电磁辐射生物效应的研究。
审校者: 第三军医大学全军复合伤研究所 罗成基

IL-1 诱导的肠系膜血管中白细胞滚动可被 E 选择素单抗干预。由于 E 选择素的表达往往在炎性刺激后数小时发生,它可能不是启动白细胞滚动的分子。

Hallahan DE^[6]和 Heckmann M^[7]等相继观测到受放射线照射后人脐静脉内皮细胞(HUVECs)人皮肤微血管内皮细胞(HDMECs)的 E 选择素 mRNA 及蛋白表达呈剂量依赖性上升。将 E 选择素报告基因转染入内皮细胞研究 E 选择素基因的表达调控,发现辐照可诱导报告基因表达,说明 E 选择素启动子的转录活性因辐照而激活。核因子 κ B (NF κ B)是涉及上调 E 选择素启动子活性的主要转录因子。NF κ B 单独作用不能充分启动 E 选择素基因特异性转录,与结合于 E 选择素基因启动子上游序列 TGACATCA(位于 -154 至 -146)的复合物 NF-ELAM₁ 协同后,则特异地充分启动 E 选择素基因的转录。这种转录因子与其他因子组合特异性地调节某一基因表达的模式具有一定的普遍性。该模式符合生物学效率原则,即以有限转录因子特异调控大量基因。蛋白合成抑制剂并不能阻止受照内皮细胞 E 选择素 mRNA 的转录表达,因此 E 选择素的表达不依赖于受照内皮细胞释放的细胞因子,而由 NF κ B 直接调控^[7]。

L 选择素(又称白细胞粘附分子, LAM, Leu-8, LECAM-1)是分子量为 75 000~110 000 的跨膜单链糖蛋白,分布在所有白细胞上。L 选择素可能介导白细胞在内皮细胞上的连续滚动。转染 L 选择素的细胞可在体外的大鼠肠系膜血管上滚动,在剔除 L 选择素基因的小鼠中,白细胞滚动大大减少^[3]。Alon R 等^[8]观察到,与内皮细胞粘附的白细胞可形成“串”(Strings),它是由未粘附的白细胞在已粘附于 VEC 的白细胞上滚动,进而与内皮细胞粘附形成,这一过程依赖于 L 选择素介导的白细胞-白细胞之间相互作用。白细胞“串”的形成与辐照后组织白细胞渗出之间有何联系,目前尚不清楚,推测过度形成白细胞“串”有可能使微血管腔闭塞。

血管细胞粘附分子-1(VCAM-1, CD106, 又称诱导性细胞粘附分子, ICAM)为一种糖蛋白,它只在活化的血管内皮细胞上表达,是另一与细胞滚动相关的粘附分子。VCAM-1 可与单核细胞、淋巴细胞上整合素 $\alpha\beta_1$ 受体结合,介导单核细胞在炎性介质刺激的 VEC 上滚动^[9]。在辐照诱导的白细胞滚动效应中是否存在 VCAM-1 与 $\alpha\beta_1$ 相互作用的介导,尚无足够的实验数据。Gaugler MH 等^[10]和 Halla-

han DE 等^[11]未观察到辐照对 HUVECs VCAM-1 的诱导,但 Heckmann M 等^[7]报告了辐照引起培养的皮肤血管与 VCAM-1 单抗免疫反应增强的结果。由此看来,VCAM-1 在白细胞与受照 VEC 之间相互作用中的地位,还须深入研究。

1.2 辐照引起白细胞在内皮细胞上扣押

ICAM-1(细胞间粘附分子, CD54)为单链跨膜糖蛋白,是介导炎症时内皮细胞对白细胞扣押的关键分子,上皮细胞、纤维母细胞、多种肿瘤细胞上均可表达,以 VEC 表达最强。内皮细胞 ICAM 在细胞因子刺激下表达明显增加,其中第一和第三结构区可分别与白细胞上 β_2 整合素 LFA-1 和 Mac-1 结合使白细胞粘附。用抗 LFA-1 和 Mac-1 的单抗处理兔肠系膜,可抑制白细胞在内皮细胞上的扣押粘附,但对白细胞滚动无影响。Van de Stolpe A 等^[12]认为,正常循环血中的白细胞,其 LFA-1 和 Mac-1 处于无配基结合点状态,在致炎因子作用下,白细胞与内皮细胞相互作用进行粘附时, LFA-1 和 Mac-1 开启与配基结合的构型,以利白细胞与内皮细胞结合,完成动态环境中内皮细胞对白细胞的扣押。

辐照可诱导 VEC 表达 ICAM-1 Hallahan DE 等^[11]观察到辐照对 HUVECs HDMECs 上 ICAM-1 的诱导。小鼠剔除 ICAM-1 基因和用 ICAM-1 单抗预处理大鼠肠系膜血管,证实辐照引起 ICAM-1 表达上调与中性粒细胞粘附增加及组织中炎细胞浸润密切相关。辐照引起 ICAM-1 上调的基因调控与 NF κ B 激活有关,并由活性氧介质(ROIs)介导 NF κ B 激活,抗氧化剂处理受照细胞可减弱 κ B 位点结合量及 ICAM-1 上调性表达。

1.3 辐照引起白细胞跨血管壁迁移

CD31(血小板内皮细胞粘附分子-1, PECAM-1)是一种内皮细胞连接分子,分子量为 130 000,分布于内皮细胞(主要在细胞间连接处)、血小板及一些白细胞上。成熟型人 CD31 包含一个由 574 个氨基酸残基组成的大的胞外区,一个由 19 个疏水氨基酸残基组成的单一的跨膜区以及一个由 118 个氨基酸残基组成的胞浆区,胞浆区的丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基是细胞激活后磷酸化位点。CD31 与 VEC 的 CD⁺ 依赖性粘附分子(VE-Cadherins)共同构成内皮细胞的粘附连接,在保证内皮细胞层通透屏障功能中起重要作用。

在体外白细胞粘附和迁移研究模型中发现, CD31 单抗或重组 CD31 可阻滞白细胞穿过内皮细

胞,但不影响白细胞在内皮细胞上的稳定粘附 说明内皮细胞上 CD31参与对白细胞迁移的调控。

CD31介导白细胞迁移的详尽机制仍未完全明了。Muller WM等^[13]观察到,CD31单抗与内皮细胞或白细胞作用均可阻滞白细胞迁移,作者认为对这一现象的最好解释是白细胞迁移是由白细胞上 CD31与内皮细胞上 CD31之间同源结合完成的 内皮细胞连接间隙处的 CD31似乎是为白细胞迁移时识别细胞间隙而排列的一种“阵”(cue),当内皮细胞 CD31与白细胞 CD31结合,白细胞便可随内皮细胞 CD31的动态移动完成迁移。有关 CD31参与调控白细胞在受照血管中迁移的分子机制目前知之甚少,Quarmby S等^[14]观察到,放射线可引起 CD31在 mRNA和蛋白水平的表达上调,在放疗病人皮肤微血管中,CD31表达增加,用 CD31单抗可阻滞辐射引起的白细胞迁移。

2 着眼于粘附分子的辐射损伤防治策略的应用前景

上述几种粘附分子在辐照致白细胞浸润中作用的阐明,为进一步研究治疗方案提供了新途径 放射线照射剔除 ICAM-1基因的小鼠,肺组织中未发现白细胞浸润;给普通小鼠受照肺部注射 ICAM-1抗体,可减少白细胞在组织的渗出。实验提示,为改变放射线引起的白细胞 内皮细胞间的相互作用,ICAM-1可作为治疗方案的靶点,抑制内皮细胞表面 ICAM-1与白细胞上配基的结合能力,可减少放疗病人受照组织中白细胞渗出及其带来的组织损伤。用 CD31抗体抑制白细胞迁移,同样是一个治疗策略。在缺血再灌注动物模型中,用 CD31抗体处理,可防止白细胞渗入组织,减少组织损伤 在转录水平抑制辐照引起的细胞粘附分子表达的药物,同样对减少辐照后白细胞渗出有作用。已知辐照后 E选择素和 ICAM-1的上调与 ROIs产生和 NF- κ B激活有关,因此用抗氧化剂处理以灭活自由基,以及 NF- κ B的抑制剂如糖皮质激素,都可抑制 E选择素和 ICAM-1的转录,进而抑制白细胞粘附渗出。

辐照引起的白细胞浸润,是辐照后期组织损伤病变的中心环节,而受照血管表现的血小板粘附及内皮细胞异常增生可引起血管腔闭塞,导致血管功能失调,CD31在这一过程中有着重要作用。CD31表达上调可干扰控制细胞增生的调控环节,引起局部内皮细胞增生,导致腔内形成突起^[15,16]。因此,减少 CD31表达,一方面可抑制白细胞渗出,另一方面

对血栓形成以及 VEC异常增生也有缓解 由此可见,着眼于拮抗受照血管上 CD31的治疗策略,对减轻辐照后期的损伤反应,可能更有价值。

综上所述,白细胞渗出是一系列连续过程,包括细胞粘附分子、细胞因子以及趋化因子之间的高度协同作用。白细胞渗出也是放射线致组织损伤的重要环节,对这一过程的分子调控机制的深入研究,可为放射损伤的防治策略的研究提供更广、更新的思路。

参考文献:

[1] Kunkel EJ, Chonas JE, Leg K. Role of primary and secondary capture for leukocyte accumulation *in vivo* [J]. *Circul Res*, 1998, 92 30-38.

[2] Panes J, Anderson DC, Miyasaka M, et al. Role of leukocyte endothelial cell adhesion in radiation induced microvascular dysfunction in rats [J]. *Gastroenterology*, 1995, 108 1761-1769.

[3] Arbones ML, Ord DC, Ley K, et al. Lymphocyte homing and leukocyte rolling and migration are impaired in L-selectin(CD62L) deficient mice [J]. *Immunology*, 1994, 1 247-250.

[4] Hallahan DE and Virudachalam S. Ionizing radiation mediates expression of cell adhesion molecules in distinct histological patterns within the lung [J]. *Cancer Res*, 1997, 57 2096-2099.

[5] Olofsson AM, Arfors KE, Ramexani L, et al. E-selectin mediates leukocyte rolling in interleukin-1 treated mesentery venules [J]. *Blood*, 1994, 84 2749-2758.

[6] Hallahan DE, Clatk TE, Kuchibhotla J, et al. E-selectin gene induction by ionizing radiation is independent of cytokine induction [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, 217 784-795.

[7] Heckmann M, Douwes K, Peter R, et al. Vascular activation of adhesion molecule mRNA and cell surface expression by ionizing radiation [J]. *Exp Cell Res*, 1998, 238 148-154.

[8] Alon R, Fuhlbrigge RC, Finger EB, et al. Interactions through L-selectin between leukocytes and adherent leukocytes nucleate tolling adhesions on selectins and VCAM-1 in shear flow [J]. *J Cell Biol*, 1996, 135 849-865.

[9] Kubes P, Nui X, Smith CW, et al. A novel β -dependent adhesion pathway on neutrophils a mechanism invoked by dihydrocytochalasin B or endothelial transmigration [J]. *FASEB J*, 1995, 9 1103-1111.

[10] Gaugler MH, Squiban C. Late and persistent upregulation of intercellular adhesion molecule-1 expression by

- ionizing radiation in human endothelial cells in vitro [J]. *Int J Radiat Biol*, 1997, 72: 201-209.
- [11] Hallahan DE, Kuchibhotla J, Wyble C. Cell adhesion molecules mediate radiation-induced leukocyte adhesion to the vascular endothelium [J]. *Cancer Res*, 1996, 56: 5150-5155.
- [12] Van de Stolpe A, Van der Saag PT. Intercellular adhesion molecule-1 [J]. *J mol Med*, 1996, 74: 13-33.
- [13] Muller WA. The role of PECAM-1 in leukocyte emigration: studies in vitro and *in vivo* [J]. *J Leukocyte Biol*, 1995, 57: 523-528.
- [14] Quarmby S, Wang JM, Kumar P, et al. Irradiation induces upregulation of CD31 on human endothelial cells [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19: 588-597.
- [15] Buckley CD, Doumnas R, Newton JP, et al. Identification of $\alpha_v\beta_3$ as a heterotypic ligand for CD31 [J]. *J Cell Sci*, 1996, 109: 437-445.
- [16] Rosenblum WJ, Nelson GH, Wormley B, et al. Role of PECAM-1 in platelet adhesion/aggregation over injured but not denuded endothelium *in vivo* and *ex vivo* [J]. *Stroke*, 1996, 27: 709-711.

Progressive study of adhesion molecules in normal tissue injury induced by irradiation

ZHONG Min

(Department of Military Occupational Hygiene, Third Military Medical University, Chong Qing 400038, China)

Abstract The late onset of necrosis and fibrosis in normal tissues can be a serious consequence of radiotherapy. Leukocyte infiltration is commonly observed at sites of irradiation and is likely to play an important role in this pathogenesis. This review is focused on the role of adhesion molecules in radiation-induced leukocyte infiltration and the therapeutic implications.

Key words adhesion molecules; irradiation

文章编号: 1001-098X(2001)03-0130-05

电离辐射对血管内皮细胞与白细胞粘附的影响

王玉祥

(苏州大学附二院放疗科, 苏州 215004)

摘要: 电离辐射在体内外可引起白细胞与受照血管内皮细胞的粘附增加,这与照射后正常组织的放射反应或损伤有关,细胞间粘附分子(ICAM-1)及E选择素等表达上调可能是其重要机制,转录因子NF- κ B可调节这些粘附分子的表达,相应的拮抗剂可抑制电离辐射引起的粘附增强效应。

关键词: 血管内皮细胞; 粘附; 粘附分子; 射线

中图分类号: R818.74

文献标识码: A

放射治疗是目前恶性肿瘤治疗的主要方法之一,但照射引起正常组织器官的放射性炎症、纤维化、坏死等限制了放射治疗的有效使用,并在一定程度上影响了疗效,而引起这些放疗并发症的确切机

制目前还不十分明确。以往的研究表明,照射后早期血管的辐射反应或损伤与照射后正常组织器官的损伤有密切的关系,血管内皮细胞(VEC)是血管中重要的辐射敏感的靶细胞,VEC的辐射损伤是引起血管及周围组织器官损伤的重要原因。

1 照射后VEC与白细胞粘附的变化

白细胞与VEC的粘附是炎症及免疫反应的早期改变,主要表现为白细胞在VEC表面的滚动、附

收稿日期: 2000-11-17

作者简介: 王玉祥(1969-),男,甘肃秦安人,苏州大学附属第二医院放射治疗科硕士研究生,主要从事血管内皮细胞的电离辐射效应及相关研究。

审校者: ①苏州大学附属第二医院放射治疗科 田野
②苏州大学医学院 苏燎原