

## 粘附蛋白与内皮细胞

黄桂秋

(上海第二医科大学病理生理教研室 200025)

细胞间或细胞与细胞外基质间的粘附作用,是细胞生物学领域中一个基本的、重要的问题。具有粘附作用的蛋白与血液凝固性及血管性疾病的发生发展又有密切关系。本文对粘附蛋白与血管壁内皮细胞的相互关系作一简单综述。

### 一、粘附蛋白

目前明确有重要粘附作用的蛋白有纤维蛋白原(fibrinogen Fg)、纤维连接蛋白(fibronectin FN)、血管性假血友病因子(von Willebrand factor vWF)、凝血酶敏感蛋白(thrombospondin TSP)、胶原(Collagen)、血清扩散因子或S蛋白(vitronectin VN)、Laminin(La)、chondronectin (CN)等。其中Fg、FN、vWF、TSP和VN五种称粘附蛋白。对它们的来源,组成成份、细胞膜受体及其基本功能已有了一定了解。FN是粘附蛋白中最有代表性的,以可溶性及不溶性形式存在于血浆、组织和细胞表面,可将Fg或纤维蛋白、血小板、细胞和细胞外基质连接在一起。vWF是一种糖蛋白,是血小板粘附在内皮下组织的必需因子。TSP主要存在于血小板 $\alpha$ 颗粒中,也是一种糖蛋白。其氨基酸组成中,天冬氨酸、谷氨酸等比一般蛋白质高。VN与FN一样,存在于组织,细胞或细胞外基质,有人称它为血清因子。内皮细胞合成FN、vWF和TSP。平滑肌细胞和成纤维细胞也可合成TSP<sup>[1,2]</sup>。但血中TSP浓度主要取决于血小板的释放量。内皮细胞TSP与血小板TSP结构相似,分子量为450,000—500,000<sup>[3]</sup>,约大于FN。TSP通过Fg结合于

血小板膜上,即Fg是TSP在血小板膜上的受体。TSP和vWF也可形成复合物并通过Fg作为媒介,结合于血小板糖蛋白IIb/IIIa上。上述粘附蛋白中,除了TSP之外,另四种均含有三肽氨基酸,即精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arginine-Glycine-Aspartic acid RGD)顺序<sup>[4,5]</sup>。属于粘附分子的受体家族,包括有类似结构的血小板膜糖蛋白IIb/IIIa及VN受体。RGD是粘附蛋白与细胞接合的活性部分之一<sup>[6]</sup>。

### 二、粘附蛋白与内皮细胞

#### (一) 内皮内粘合纤维蛋白层 endoendothelial fibrin(ogenin)lining (EEFL)

内皮细胞与一层粘合纤维蛋白或称内皮内纤维蛋白衬里EEFL紧密相连。Copley认为血管壁与血液循环是一个整体——血管器官,EEFL是该器官界面,起通透性屏障作用,维持机体血液相容性及细胞代谢等生理功能<sup>[7,8]</sup>。EEFL的组成成分有以下几种:

(1) 纤维蛋白;(2) 异型纤维蛋白;(3) 纤维蛋白与纤维蛋白原复合物;(4) fibrin(ogenin)一种修饰过的纤维蛋白原;(5) 纤维蛋白片段;(6) 纤维蛋白与fibrin(ogenin)降解产物;(7) 钙离子。 $Ca^{2+}$ 与纤维蛋白或fibrin(ogenin)结合,增强其粘附作用且调节其弹性。Witte采用静脉内注射荧光标记的Fg,比较研究鼠肠系膜微血管EEFL,发现Fg对静脉EEFL的亲合性要比动脉EEFL的亲合性明显得多<sup>[9]</sup>。

粘合纤维蛋白对维持血液凝固及纤维蛋白

溶解的动态平衡有重要作用。EEFL减少血液粘稠性,降低循环阻力,维持血液流畅。当各种内外因素致使EEFL结构改变或某些生长因子以及分泌合成成份(如t-PA、PAI等)失衡,均可改变内皮细胞正常结构和功能。如临床常见的动脉粥样硬化、心肌梗塞、脑栓塞等血管性疾病以及糖尿病、肾疾患等均与EEFL或粘合纤维蛋白有关。

## (二)粘附蛋白与内皮细胞粘附作用机理

内皮细胞粘附聚集、迁移或扩展与膜受体、膜结构有关,主要有三方面:

### 1. RGD特异性识别及糖蛋白IIb/IIIa的作用

内皮细胞表面有与血小板糖蛋白IIb/IIIa结构相似的复合物。是一种非共价键二聚体,分子量为135,000(糖蛋白IIb亚单位)和105,000(糖蛋白IIIa亚单位)。实验证明<sup>[10]</sup>,内皮细胞糖蛋白IIb/IIIa参与并促进内皮细胞粘附于各种粘附蛋白和细胞外基质。Fg、vWF、FN和VN都含有RGD,可选择性识别细胞表面特殊受体。如人脐静脉内皮细胞(HUVEC)易粘附于用FN、VN、Fg或vWF复盖的玻璃片上,尤其对FN及VN的表面粘附要比Fg或vWF更快。但FN并不介导HUVEC粘附于Fg。HUVEC也不粘附于用白蛋白复盖或不复盖的表面。糖蛋白IIb/IIIa单克隆抗体可抑制内皮细胞粘附于VN、Fg、vWF,却不抑制其对FN的粘附。说明RGD顺序的选择性识别作用和糖蛋白IIb/IIIa对正常内皮细胞粘附于细胞外底物是相当重要的<sup>[11,12]</sup>。Chen等用一种高度特异的兔抗人血小板糖蛋白IIb/IIIa多克隆抗体,检测人内皮细胞糖蛋白IIb/IIIa的作用,发现该多克隆抗体可识别内皮细胞糖蛋白IIb/IIIa复合物,抗体的IgG组分和其Fab'片段可使已经汇合成单层或将汇合的HUVEC由底物上脱落。脱落的细胞经重新接种后,仍保持其活力,说明糖蛋白IIb/IIIa IgG无毒性作用<sup>[13]</sup>。另外发现内皮细胞对用Fg或FN复盖的底物表面粘附及扩展是一致的。但是加入Fg抗体,

可阻止内皮细胞对Fg的粘附,对FN却无作用。同样加入FN抗体,可阻止内皮细胞粘附于FN,对Fg不起作用。在HUVEC粘附于Fg的过程中,加入亚胺环己酮(Cycloheximide 20 uM)后,可抑制其蛋白质合成,但不影响其对Fg或FN的粘附。另外人的动脉平滑肌细胞则不能在Fg底物上粘附或扩展,表明内皮细胞是易于粘附到Fg或胶原复盖的表面<sup>[13,14]</sup>。

### 2. 微丝结构的形成和对钙离子的依赖性

内皮细胞粘附或迁移与细胞骨架成份之一的微丝结构形成有关。它像肌球蛋白一样收缩或伸展,这一作用除与膜结构有联系外,还对Ca<sup>2+</sup>浓度有依赖性。在测定内皮细胞与Fg粘附实验中,发现Ca<sup>2+</sup>有促进两者的结合作用,随着培养液中Ca<sup>2+</sup>浓度的增加,Fg或其他粘附蛋白与内皮细胞作用加强<sup>[14]</sup>。用同位素<sup>125</sup>I标记Fg示踪结果也证实上述作用与Ca<sup>2+</sup>浓度的相关性。内皮细胞TSP或血小板TSP与FN结合,也是有Ca<sup>2+</sup>依赖性。当有Ca<sup>2+</sup>存在时,内皮细胞TSP有明显地抗蛋白水解酶的作用。Ca<sup>2+</sup>可稳定TSP的构型,当用EDTA去除溶液中的Ca<sup>2+</sup>后,TSP的分子构型由椭圆形变成棒状,不对称性增加,沉降系数减小,对酶的敏感性增高,分子趋向不稳定性<sup>[15]</sup>。这说明TSP与血小板膜蛋白或粘附蛋白FN的结合均需Ca<sup>2+</sup>存在。

### 3. S-蛋白-凝血酶-抗凝血酶III复合物的作用

VN是最初在研究补体系统时发现的一种蛋白质,称为S蛋白。当补体系统被激活形成膜攻击复合物,可使细胞受损和溶解,而VN可与该复合物结合,抑制其损伤细胞膜作用。经用SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分析,S蛋白有两条带,分子量为65,000和80,000,血浆中浓度为200 ug/ml。Tomasimi等<sup>[16,17]</sup>用单克隆抗体及亲和层析方法研究,发现VN也是有两条带,分子量为75,000和65,000,正常血浆中浓度为250 ug/ml。VN和S蛋白

均属于 $\alpha$ 球蛋白,两者的氨基酸序列也相似,而且均以相同方式与凝血酶、抗凝血酶 III 复合物结合,促进内皮细胞与细胞外基质的粘附作用。实验证明<sup>[18]</sup>, S-蛋白、凝血酶、抗凝血酶 III(STAT)可促使 90%以上的内皮细胞在两小时内粘附贴壁。如果加入五肽氨基酸(Glycine-Arginine-Glycine-Aspartic acid-serine)以及抗 S 蛋白单克隆抗体,内皮细胞粘附功能明显地受到抑制。如果加入其他无关的肽或抗 Fg、FN、vWF 抗体,对内皮细胞粘附功能无明显抑制现象。

### (三) Fg 或纤维蛋白对内皮细胞产生前列环素及组织纤溶酶原激活物的影响

文献报道内毒素、佛波酯(phorboster)均可干扰内皮细胞产生前列环素(Prostacyclin PGI<sub>2</sub>)而凝血酶、Ca<sup>2+</sup>载体(A 23187)、舒缓激肽及花生四烯酸等通过不同机理刺激 PGI<sub>2</sub>的产生。前列腺素中的血栓素(TXA<sub>2</sub>)和 PGI<sub>2</sub>失去平衡时,对休克的发生发展、血栓形成和动脉粥样硬化过程中均有重要的促进作用。组织纤溶酶原激活物(tissue plasminogen activator t-PA)是哺乳动物血液中存在的一种纤维蛋白溶解启动因子,体内纤维蛋白沉着部位发生纤维蛋白溶解,主要依赖 t-PA 的活化。t-PA 主要由血管内皮细胞合成和分泌。Kaplan 等对内皮细胞合成 PGI<sub>2</sub>及 t-PA 进行了一些实验性研究,观察 Fg 或纤维蛋白对体外培养的内皮细胞合成分泌的 PGI<sub>2</sub>及 t-PA 的影响<sup>[19]</sup>,比较了纤维蛋白、凝血酶、Ca<sup>2+</sup>及细胞松弛素 D 等对内皮细胞合成上述物质的差别。结果发现,纤维蛋白可增加 PGI<sub>2</sub>和 t-PA 的合成和分泌,而且 PGI<sub>2</sub>的合成比 t-PA 更快,但是加入凝血酶无促进作用,可能与血浆中含有凝血酶抑制物及肝素复合因子 I 有关。细胞松弛素无明显抑制现象。富含血小板或无血小板血浆对 PGI<sub>2</sub>或 t-PA 的合成亦无明显差别。这些结果说明纤维蛋白(原)对内皮细胞合成 PGI<sub>2</sub>或 t-PA 呈特异性作用。

内皮细胞合成的 PGI<sub>2</sub>是血小板功能抑制

剂和强烈的血管扩张物质。一般情况下,内皮细胞抗血小板聚集、抗血栓形成的功能与内皮细胞膜有关,而与 PGI<sub>2</sub>的形成无直接关系。但在病理情况下,血小板受刺激后,PGI<sub>2</sub>对血小板功能的抑制则具有重要意义。实验证明<sup>[20,21]</sup>,纤维蛋白与内皮细胞共同孵育 24 小时后,多数细胞呈球形,失去正常单层汇合的鹅卵石样形态。72 小时后细胞明显皱缩,细胞间隙增大,许多细胞脱落或变形。因此临床冠状血管病变患者血管内膜受到损伤后,可招致许多血小板粘附在损伤部位并释放一系列活性物质如 ADP、5-HT、组织胺、血小板促生长因子 PDGF 等,使血管壁通透性增加,致使血浆中脂质如 LDL、VLDL 大量浸润在内皮下层和平滑肌细胞移行增殖。由于正常血管内皮层的屏障功能遭破坏,血小板大量粘附聚集, TXA<sub>2</sub>在局部释放增加,而病变部位的血管内膜 PGI<sub>2</sub>形成减少,这就使局部 TXA<sub>2</sub> PGI<sub>2</sub>失去平衡,进一步促使血栓形成与其他病理生理变化。t-PA 与纤维蛋白有高度亲和力。在有纤维蛋白存在时, t-PA 对纤溶酶原的活化作成大为增强,能特异地与纤维蛋白相结合,并激活吸附在上面的纤溶酶原,使纤维蛋白溶解。这对临床防治冠心病、心肌梗塞等都有特异性作用。

综上所述,粘附蛋白的主要功能是连接细胞(如内皮细胞、吞噬细胞、血小板等)、细胞与细胞外基质。RGD 是粘附蛋白与细胞连接的活性部分之一,它可特异地识别细胞表面的结合位点。内皮细胞糖蛋白 IIb/IIIa 复合物对细胞粘附于粘附蛋白和细胞外基质有促进作用。细胞粘附与钙离子浓度也有关系。t-PA 及 PGI<sub>2</sub>对维持正常血流通畅,防治因血栓形成、血管栓塞所引起的严重疾患具有重要作用。粘附蛋白 FN 的分子能特异地与纤维蛋白(原)结合,因此 FN 能与纤维蛋白形成复合物,溶解不稳定的纤维凝块,同时又可加强吞噬细胞的功能(如吞噬纤维蛋白),进一步阻止血栓形成,起到了维持血管完整性的调整作用。

## 摘 要

RGD是粘附蛋白与细胞接合的活性部分之一。血小板糖蛋白IIb/IIIa是识别RGD的受体家族,可以与RGD结合。纤维蛋白(原)能特异地刺激内皮细胞合成和分泌PGI<sub>2</sub>及t-PA。

## 参 考 文 献

- [1] Mosher, D. F. et al., 1982, *J. Cell. Biol.*, 95: 343—348.  
 [2] Baugi, G. I. et al., 1982, *J. Cell. Biol.*, 95: 351—354.  
 [3] Lahav, J. et al., 1987, *Seminars in Thrombosis and Hemostasis.*, 3: 352—360.  
 [4] Tranqui, L. et al., 1989, *J. Cell. Biol.*, 108: 2519—2527.  
 [5] Pollock, B. et al., 1989, *Blood.*, 73: 1519—1524.  
 [6] Dejana, E. et al., 1990, *Blood.*, 75: 1509—1517.  
 [7] Copley, A. L., 1988, *Annals New York Academy of Sciences.*, 416: 377—393.  
 [8] Copley, AL., 1988, *Biorheology.*, 25: 377

- 399.  
 [9] Witte, S., 1988, *Thrombosis Research.*, 52: 111—117.  
 [10] Languino, L. R., et al., 1989, *Blood.*, 73: 734—742.  
 [11] Fitzgerald, L. A. et al., 1986, *J. Biol. Chem.*, 260 (20): 10893—10896.  
 [12] Charo, I. F. et al., 1987, *J. Biol. Chem.*, 262 (21): 9935—9938.  
 [13] Chen, C. S. et al., 1987, *J. Cell. Biol.*, 105: 1885—1892.  
 [14] Dejana, E. et al., 1987, *J. Cell. Biol.*, 104: 1403—1411.  
 [15] Lawler, J. et al., 1982, *J. Biol. Chem.*, 257: 12257—12265.  
 [16] Tomasini, R. et al., 1986, *Blood.*, 68 (3): 734—742.  
 [17] Hayman, E. G. et al., 1983, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 80: 4003—4007.  
 [18] Priessner, K. T. et al., 1988, *Blood.*, 71: (6): 1581—1589.  
 [19] Kaplan, K. L. et al., 1989, *Arteriosclerosis.*, 9: 43—49.  
 [20] Kadish, K. L. et al., 1979, *Tissue and Cell.*, 11 (1): 99—108.  
 [21] Schleef, R. R. et al., 1984, *Arteriosclerosis.*, 3: 14—20.

## 新书推荐

## 《走向21世纪的生物学—未来生物学(1991—2020年)预测》

20世纪下半期,生物学日益显示出带头学科的趋势。未来生物学向何处去?下一个发展高峰将是什么?将有哪些重大突破?对自然科学、社会经济和人类思维发展带来什么影响?本书意图对这些人们所十分关心的问题给予科学的回答。

本书由中国科学院政策局组织中国科学院未来生物学预测研究组,采用以专家调研、讨论和问卷调查(Delphi法)相结合的方法,对从目前到2020年未来生物学发展进行预测,潜心研究后,综述成书。

全书分18章:预测方法与结果,总论,生物大分子的结构与功能,分子遗传学、遗传发育和进化的统一,神经科学未来30年,行为科学未来的发展,未来生态学,对人的生命的一种互补的认识,生物技术的未来发展,未来的数学与生物学,未来的物理学与生物学,未来的化学与生物学,未来的生物学与农业,未来的生物学与资源环境,未来的生物学与能源,未来的生物学与医疗保健,未来的生物学与人口控制。

本书适合于生物学、农业、医疗、环保等方面的科技、教学、管理人员及学生使用,对于各有关科技产业部门的领导和管理人员也可参考阅读。

主编:王亚辉,吴志纯

需订购者可与华夏出版社读者服务部(北京东直门外香河园北里4号,100028)联系