

细胞粘连及其生物学意义

方思明 关永全

(中山大学生物系)

细胞粘连是细胞表面的一个重要性质,在多细胞生物的发育、生理和病理上有着重要的意义。现已知道细胞粘连是通过细胞表面的特殊成份起作用的。这些表面分子的化学结构或构型的不同,使细胞显出不同的粘连特性。本文主要讨论高等动物细胞粘连的分子基础及其在胚胎发育和形态建造等方面的可能作用。

一、细胞粘连的特异性

(一) 细胞粘连的组织特异性

用同位素标记细胞来比较同源组织与异源组织如肝、神经视网膜和中脑细胞的粘连比率,结果发现,尽管中脑细胞与神经视网膜细胞间有异源的选择性粘连,但同源组织肝细胞之间的粘连比率远较异源的大。粘连的抑制实验则从另一方面反映这种组织的特异性。鸡神经视网膜的质膜片段能专一性地抑制神经视网膜细胞的聚合,而对小脑细胞不起作用;与此相反,从小脑细胞分离的质膜片段则只专一性地抑制小脑细胞的聚合。用不同发育期的视网膜与视顶盖的细胞质膜片段作粘连抑制试验,结果表明,这些质膜片段只对同一发育时期的同源细胞有明显的聚合抑制作用,而对异源细胞或者即使同源但处于不同胚胎发育阶段的细胞没有抑制作用。这说明粘连特异性不但表现在不同组织细胞上,而且与发育阶段也有关系。有人认为不同组织来源的细胞开始时也能出现暂时性的“集合体”,不久又彼此分开,紧接着才是有选择性和识别性的粘连。有人用神经视网膜与心肌两种细胞做实验,观察不到这种异源细胞的聚合现象,扫描电镜观察则证实,即使在细胞粘连的早期也有组织选择性^[1]。

(二) 细胞粘连的种属特异性

细胞的粘连还表现有种属的特异性。用同位素双重标记比较两种不同海胆的胚胎细胞及其杂种个体细胞间的粘连,发现同种细胞粘连远大于异种细胞,而这两种细胞与杂种个体细胞之间的粘连程度则介于二者之间。同位素双重标记细胞结合定量分析表明,哺乳类与鸟类肝细胞的粘连有明显的种属特异性。从兔和小鼠胚胎分离的肝细胞能互相聚合,但这些细胞却不能与鸡的肝细胞粘连。细胞粘连的这种种属特异性往往比组织特异性弱,如:哺乳类与鸟类的中脑细胞能够互相聚合;来源于小鼠的神经细胞瘤与神经胶质瘤的杂交细胞不仅与小鼠的肌肉细胞结合,也与大鼠和鸡的肌肉细胞结合^[2]。

二、细胞粘连的理论和作用机制

(一) 细胞粘连分子及其特性

细胞表面上的细胞粘连分子(简称CAM)广泛存在于许多生物的各种组织中,不同组织来源的CAM有明显的组织特异性。从神经细胞分离的N-CAM对神经元及成肌细胞有特殊亲和性,专一地促进这两种细胞的特异性粘连^[3,12,13]。N-CAM不仅可与骨骼肌的细胞结合,也可与心肌细胞结合。已经证实N-CAM也存在于肌肉组织中^[4]。从鸡肝细胞分离的细胞粘连分子(L-CAM)的抗体能专一性地抑制鸡胚肝细胞的粘连,而对鸡视网膜细胞、脑细胞以及对小鼠胚胎和成鼠的肝细胞都不起作用^[5]。用间接荧光免疫法分析鼠肝细胞粘连分子(L-CAM 105),表明它有高度的组织专一性,只分布在肝脏、肠和肾小管的上皮组织,

其它器官则不存在。从不同种类的脊椎动物可以找到同源的CAM^[6]，抗小鼠N-CAM的单克隆抗体也与人脑中的N-CAM反应，人N-CAM的抗体抑制小鼠脑细胞的聚合^[7]，这些都说明它们之间有交叉反应。

细胞表面的免疫抗体技术以及近年来发展起来的单克隆抗体技术的应用，使分离提纯细胞表面的CAM成为可能。由此可作进一步的物理、化学分析。现已从多种生物的细胞，如鸡胚视网膜细胞和肝细胞，中国仓鼠成纤维细胞和粘菌等分离出CAM^[8,10,11]。主要是一些与细胞表面结合的糖蛋白，分子量在100,000—200,000之间。

根据CAM结合时是否需要Ca²⁺，可人为地把它分成两大类：一类其结合不依赖于Ca²⁺，这主要是N-CAM，另一类则需要Ca²⁺存在才能结合，这以L-CAM为代表。N-CAM分子中含相当大量的唾液酸，约占N-CAM中总碳水化合物的4/5^[14]，并在有机体的发育过程中经受着由胚胎型(E型)至成体型(A型)的转变，唾液酸的量显著减少^[9,15]。来自非神经组织的Ca²⁺依赖的CAM绝大多数可能都有密切的亲缘关系^[11]。L-CAM介导肝细胞的粘连，也可能对早期胚胎细胞的粘着起作用^[16]。L-CAM的分子结构与N-CAM不同，也未发现有化学修饰现象。最近有人还在小鼠畸胎瘤细胞中发现一种蛋白质“P 140”，是与Ca²⁺依赖的粘连有关的分子，叫作细胞粘连素(Cadherin)^[17]。

CAM一般与细胞膜结合，分离出的CAM在溶液中通常表现出高粘度和自连(Self-association)现象^[9]。CAM的分子量通常较大，有明显的异质性，在凝胶电泳中呈现一宽而连续的带，这种异质性可能是唾液酸含量不同之故，用神经氨酸酶除去唾液酸后，异质性明显减少^[14]。

〈二〉细胞粘连的理论及其分子基础

关于细胞粘连的机制不同学者提出了不同的理论，但基本上可归为两类：一类是化学亲

和性论(Chemoaffinity theory)，强调特异的分子互补，认为细胞与细胞的结合是多种基因产物之间高度特异的配对性互补结合，而起互补作用的主要是糖蛋白中的糖部分。粘连可以是一个细胞表面的蛋白质和另一细胞表面的不同分子的互补受体之间的特异性相互作用^[8]，互补受体可能是一种蛋白质，也可能是糖蛋白或糖脂上的寡糖，这种复合寡糖可能有一末端顺序：N-乙酰唾液酸-半乳糖-N-乙酰葡萄糖胺-R (R为寡糖的核心区)，用神经氨酸酶处理切去唾液酸可以提高细胞的聚合率，但半乳糖苷酶切去半乳糖则降低这种聚合。两细胞表面分子除直接结合形式外，还可以通过称为聚合因子的配体间接互补。从高等动物培养细胞，如鸡胚视网膜细胞、小鼠腹水畸胎瘤细胞的培养液中分离到了这种聚合因子，经鉴定也为糖蛋白。复合寡糖中的半乳糖被认为在细胞粘连中起重要的作用。有人试验小鼠畸胎瘤细胞的粘连活性被β-半乳糖苷酶或因加入半乳糖所抑制，仓鼠细胞的单细胞悬液在含Ca²⁺的培养液中很易聚合，半乳糖氧化酶因可把半乳糖C₆的羟基转变成醛而抑制了这种聚合。已经知道细胞表面存在某些糖基转移酶可与相邻细胞上的糖基受体相作用，酶的高度专一性可使细胞粘连表现高度的特异性，因此，有人推测通过酶的这种作用可以控制细胞之间的粘连。

粘连的另一类假说是调变理论(modulation theory)，这种理论认为组织中只有几种细胞-细胞粘连分子，这些CAM的表达和分布随时间而改变，或因CAM分子本身的调变使细胞产生不同的粘连特异性。

在对CAM的成份和结构特点未有充分了解之前，要提出一个适合各种细胞粘连的统一分子机制似乎是困难的，下述一些情况可能有助于从分子的水平来了解细胞的粘连。

〈1〉细胞粘连需通过CAM的相互作用一般认为粘连的相互作用涉及CAM互补分子之间的结合，相互作用的分子可能不同，也可能相同(但有多个作用位点)。最近有人提出了

细胞粘连的模式^[18]，示如图1。

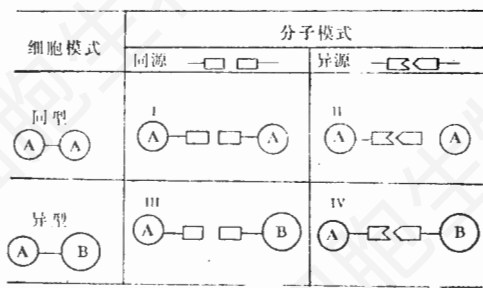


图1 不同模式细胞-细胞粘连图解

环代表细胞，同类细胞以同样大小的环代表，异类细胞以不同大小的环代表，同类的粘连分子用方形表示，互补的分子用五边形代表

这种模式能否符合客观实际，有待更多的实验来证实。有人用提纯的N-CAM做细胞粘连活性实验，发现N-CAM介导的两种不同细胞的粘连只有当两细胞表面都同时存在同一种CAM时才有可能^[5]，两个分子的N-CAM相互作用形成细胞间的键。不管N-CAM相互之间如何作用，它们的结合与神经细胞粘连有关这一点是肯定的。实验证明，两类结合都不需Ca²⁺，也都被抗N-CAM的抗体抑制。神经细胞的聚合率与其表面N-CAM的数量有关，分离的N-CAM与神经细胞的结合改变了这种聚合率。迄今只有抗N-CAM是抗神经细胞表面成份的特异抗体，也抑制了神经细胞之间的粘连；而且证明神经细胞和可溶性N-CAM与各种类型细胞结合的特异性是一样的。

〈2〉细胞粘连分子(或分子复合物)中存在着专门负责粘连的组份或粘连活性部位 一些化学组成复杂的粘连大分子并不是全部参与细胞的粘连，而只是其中的某些组份起这种作用。对N-CAM线状的局部结构目前已有了一些解^[19]示如图2。

整个分子的分子量约为170,000，其多肽链分三个区段：I. 氨基端区，包括N-CAM互相结合的位点(黑色四方区)；II. 含主要唾液酸的中央区；III. 羧基端区，包括多肽链附着于细胞部分，可能穿入类脂双层。N-CAM

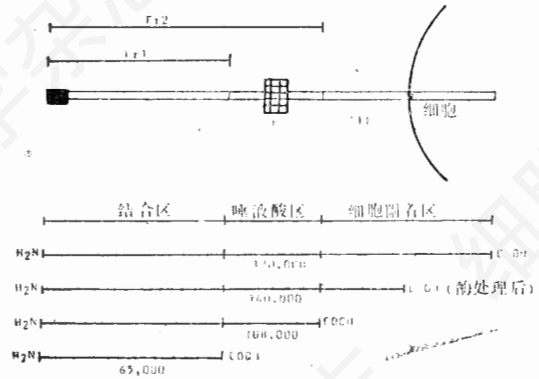


图2 N-CAM线形的局部结构图解
(数字表示整条链的分子量)

溶液在37℃保温，自发裂解出Fr₁片段，分子量65,000；用蛋白酶裂解N-CAM可得分子量为108,000的Fr₂片段。两者与完整的N-CAM有相同的氨基端顺序，故推测羧基端与细胞膜结合。Fr₁和Fr₂能特异地竞争抑制N-CAM与细胞结合。它们附着于一固体支持物时，可特异地与细胞结合，这表明N-CAM参与细胞之间结合键形成的主要区段是在分子中以Fr₁代表的氨基端。中央区的唾液酸并不直接参加细胞的粘连，但唾液酸含量的多寡可能与粘连键的强弱有关。

三、细胞粘连的生物学意义

多细胞生物的个体发育与正常的生理活动离不开细胞之间的相互作用，而在这种作用中细胞的识别、接触与特异性粘连起着特别重要的作用。

〈一〉细胞粘连与胚胎发生和器官形成的关系

细胞粘连在胚胎发生和组织与器官的建造和保持方面起着重要的作用。早期胚胎的L-CAM和N-CAM在胚层的分布是重叠的，最初出现在外胚层和内胚层，其后L-CAM可见于三个胚层，但当神经形成开始，L-CAM在神经板区消失，N-CAM在该区的数量明显增加。器官形成阶段，L-CAM出现于内胚层所形成的结构，而N-CAM明显地出现在神经板、神经管和中胚层，在胚体的大部分区域两种分

子的分布不相重叠。据此有人提出胚胎发生期CAM的关键作用在于胚胎诱导^[15]。有人研究两栖类原肠胚的形态发生,其胚层的重新组织是由细胞间粘连特性的变化所引起的。发育初期细胞之间没甚区别,以后出现不同粘连特性,同胚层的细胞结合得紧,异层间的结合不稳定。胚胎发育中神经系统的形成也与细胞之间粘连的变化有关。N-CAM在胚胎期的作用被认为与轴突粘连形成神经束和视网膜细胞形成细胞层有关,在成体则可能是保持这种已建立的粘连所必需的。

〈二〉细胞粘连与生理和病理过程的关系

特异性的细胞粘连被认为是许多生理过程可能的机制^[20]。例如多细胞生物的受精过程需要卵子与精子的相互识别,并在融合前发生特异性的粘连,有认为L-岩藻糖可能是哺乳类配子表面识别信号的一部分。哺乳类动物胚泡在子宫壁的植入也涉及胚泡与子宫内膜间的特异性粘连。哺乳动物复杂免疫系统的机能包括一系列的细胞相互作用,这些都有赖于细胞的特异性粘连。

细胞粘连在正常的生理过程中起着不可忽视的作用,异常的细胞粘连也可能引起病变。有人研究一系列的小鼠黑色素瘤细胞系,发现黑色素瘤细胞仅与从肺部分离的细胞发生聚合,其聚合程度与黑色素瘤细胞形成肺癌的能力呈正相关。肿瘤细胞的粘连活性常较正常细胞低,推测可能与肿瘤细胞表面CAM含唾液酸量的增多有关。粘连性降低也被认为可能是导致癌细胞转移的重要因素。细胞粘连性可能还与发育异常和感染等有关。

尽管已知CAM在细胞粘着及发育各阶段的形态建造起主要作用,但这些作用的详细过程还有待了解。这些分子在发育中的变化和基因调节的研究可能有助于揭示各种诱导事件。有人已用抗小鼠N-CAM的有交叉反应的单克

隆抗体提纯到人脑的N-CAM,这将便于探索N-CAM在各种神经性疾病中的变异,为生理和病理提供更具体可靠的资料。

参 考 文 献

- [1] Shimada, Y. et al., 1974, *Dev. Biol.*, 36: 428—446.
- [2] Puro, D. G. et al., 1977, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 74: 4977—4981.
- [3] Rothard, J. B. et al., 1982, *J. Biol. Chem.*, 257: 11064—11069.
- [4] Grumet, M. et al., 1982, *Nature (London)* 295: 693—695.
- [5] Nielsen, L. D. et al., 1981, *Dev. Biol.*, 86: 315—326.
- [6] Chuong, C-M. et al., 1982, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 79: 4234—4238.
- [7] McClain, D. A. and Edelman, G. M., 1982, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 79: 6380—6384.
- [8] Rauvala, H. et al., 1981, *J. Cell Biol.*, 88: 127—137.
- [9] Edelman, G. M., 1983, *Science*, 219: 450—457.
- [10] Ocklind, C. and Obrink, B., 1982, *J. Biol. Chem.*, 257: 6788—6795.
- [11] Gallin, W. J. et al., 1983, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 80: 1038—1042.
- [12] Rutishauser, U. et al., 1982, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 79: 685—689.
- [13] Rutishauser, U. et al., 1983, *J. Cell Biol.*, 97: 145—152.
- [14] Hoffman, S. et al., 1982, *J. Biol. Chem.*, 257: 7720—7729.
- [15] Edelman, G. M. et al., 1983, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 80: 4384—4388.
- [16] Thiery, J-P. et al., 1984, *Dev. Biol.*, 102: 61—78.
- [17] Yoshida/-Noro, C. et al., 1984, *Dev. Biol.*, 101: 19—27.
- [18] Grumet, M. and Edelman, G. M., 1984, *J. Cell Biol.*, 98: 1746—1756.
- [19] Cunningham, B. A. et al., 1983, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 80: 3116—3120.
- [20] Marchase, R. B. et al., 1976, *Biochem. Biophys. Acta*, 457: 385—416.