

脑微血管内皮细胞黏附分子表达与缺血性脑损伤研究进展

刘子旺, 王玉来

[摘要] 脑微血管内皮表达的细胞黏附分子在生理上参与脑组织正常结构和功能的维持, 保证内皮细胞层的连续性、通透血脑屏障等功能, 在病理过程中具有介导炎性细胞向正常或炎症组织移动或定位等功能, 其中由脑微血管内皮细胞表达的免疫球蛋白超家族和选择素家族两类黏附分子与缺血性脑损伤的发生、发展有密切关系。作者对脑微血管内皮细胞表达的黏附分子与缺血性脑损伤的研究进展进行了综述。

[关键词] 脑微血管内皮细胞; 黏附分子; 缺血性脑损伤; 综述

Relationship between Expression of Adhesion Molecules by Brain Microvascular Endothelial Cell and Ischemic Brain Damage (review)
LIU Zi-wang, WANG Yu-lai. The Affiliated Dongfang Hospital, Beijing University of TCM, Beijing 100078, China

Abstract: The adhesion molecules expressed by brain microvascular endothelial cell maintain the structure and function of brain, ensure the continuity of endothelium cell and penetrate blood-brain barrier in physiology. They also intervene inflammation cells that remove or orientate regular or inflammation organism in pathology. The adhesion molecules of Immunoglobulin superfamily and Selectin family are expressed by brain microvascular endothelial cell and have affinity with the ischemic brain damage. The advance in research on relationship between the expression of adhesion molecules by brain microvascular endothelial cell and ischemic brain damage is reviewed in this article.

Key words: brain microvascular endothelial cell; adhesion molecules; ischemic brain damage; review

[中图分类号] R741.02 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2006)08-0654-02

[本文著录格式] 刘子旺, 王玉来. 脑微血管内皮细胞黏附分子表达与缺血性脑损伤研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2006, 12(8): 654-655.

脑微血管内皮细胞 (brain microvascular endothelial cell, BMVEC) 不仅具有生理屏障作用, 而且具有极为活跃的代谢功能。在生理和应激情况下, 血管内皮细胞能产生多种因子, 控制血管的张力, 调节血管的舒张及收缩, 同时还具有活化血小板、促进单核细胞黏附和血栓形成、产生炎症反应的作用, 并影响脂质蛋白的代谢、摄取以及血管的生长和重塑等, 因此在缺血性脑损伤的发生发展中起重要作用。黏附分子 (adhesion molecules, AM) 是一类由细胞产生, 存在于细胞表面, 介导细胞间或细胞与间质相互接触和结合的糖蛋白分子^[1]。根据 cDNA 序列的同源性和功能, 可将黏附分子分为 5 类: 即免疫球蛋白超家族 (immunoglobulin superfamily)、选择素家族 (selectin family)、整合素家族 (integrin family)、钙黏附蛋白家族 (cadherin family) 和其他黏附分子。其中由 BMVEC 表达的免疫球蛋白超家族和选择素家族两类黏附分子与缺血性脑损伤有密切关系, 现将有关研究的进展综述如下:

1 免疫球蛋白超家族

免疫球蛋白超家族为 I 类膜蛋白, 与免疫球蛋白同源, 主要包括以下几个亚家族: 细胞间黏附分子 (intercellular adhesion molecule, ICAM)、血管细胞黏附分子 (vascular cell adhesion molecule, VACM) 和血小板内皮细胞黏附分子 (platelet endothelium cell adhesion molecules, PECAM)。由 BMVEC 表达的主要有 ICAM-1、VCAM-1 和 PECAM-1。

1.1 ICAM-1 1986 年, Rottelein 等人在研究淋巴细胞的黏附中发现一种抗原-1 的配体是细胞黏附必需的, 并将其命名为 ICAM-1, 克隆号 CD54^[2]。ICAM-1 属于蛋白类抗体, 可与其特异性抗体结合, 采用免疫组化的方法可以对其进行定位和半定量观察。脑皮质微血管内皮细胞膜表面表达有多种黏附分子, 其中的 ICAM-1 主要介导白细胞的黏附和移行, 参与白

细胞与内皮细胞的黏附过程, 在脑外伤、脑缺血及炎症介质如白细胞介素-1 (interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrotic factor- α , TNF- α) 等的作用下, ICAM-1 表达增强, 白细胞释放自由基及一些活性酶, 直接损伤内皮细胞, 使其产生一氧化氮、前列腺素等保护因子的能力下降, 加重内皮细胞损伤, 使血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 的通透性增高, 脑水肿加重。RT-PCR 和定量即时 RT-PCR 等检测显示, 缺血-再灌注大鼠脑缺血区 ICAM-1 mRNA 的表达及 ICAM-1 蛋白质的合成增加, ICAM-1 mRNA 表达稍早于 ICAM-1, 采用神经保护剂可抑制 ICAM-1 升高^[3]。大鼠脑缺血模型的实验研究显示, 缺血皮质 ICAM-1 mRNA 水平在缺血后 3 h 时明显增高, 6~12 h 达到高峰, 并持续 3 d; 标记 ICAM-1 抗体的免疫组化研究显示, 缺血皮质中 ICAM-1 表达较非缺血区或半暗带明显增高, 且 ICAM-1 定位于缺血区脑实质血管内皮细胞^[4,5]。ICAM-1 基因敲除鼠的梗死面积仅为正常鼠的 1/3~1/7, 存活率可提高 35%, 神经功能缺损程度较对照组减轻, 梗死区的脑血流量是对照组的 3 倍, 而且中性粒细胞耗竭后, 基因敲除鼠的脑缺血损伤面积进一步缩小^[6]。尸体解剖证实, 脑梗死 2~3 d 时梗死区微血管内皮细胞可检测出 ICAM-1^[7]。

1.2 VCAM-1 VCAM-1 首先由 Osborn 等于 1989 年用真核基因表达的方法克隆发现, 并定名为 VCAM-1, 克隆号 CDI06^[8]。VCAM-1 主要由活化内皮细胞表达。脑微血管内皮损伤后可出现炎症反应, 而炎症的产生、发展与 VCAM-1 的异常表达密切相关。白细胞从血管内渗出是整个炎症过程的重要组成部分, 白细胞的移行是通过其在血管壁上附壁滚动、激活、紧密黏附和移行四个步骤完成的, 其中激活较为关键。参与激活的黏附分子除 ICAM-1 外, 还有 VCAM-1, 而激活后的过程也由 VCAM-1 和 ICAM-1 等介导^[9]。体内和体外实验显示, 白细胞介素-4 (IL-4)、白细胞介素-13 (IL-13) 能明显提高血管内皮细胞 VCAM-1 的 mRNA 水平, 其可溶性 VCAM-1 产物也随之增加, 给予抗 VCAM-1 或抗 $\alpha 4$ 整合素亚单位的抗体则能阻止管状血管的形成, 提示依赖于 IL-4、IL-13 引起的血管增生是通过可溶性 VCAM-1/ $\alpha 4$ 整合素途径介导的^[10]。

1.3 PECAM-1 PECAM-1 又名 CD31, 广泛分布于血管内皮细胞等多种细胞上, 是相对分子质量 (Mr) 为 130000 的 I 型跨膜糖蛋白, 由于发育和成熟个体的所有血管内皮细胞都高度表

作者单位: 1. 北京中医药大学东方医院神经内科, 北京市 100078。

作者简介: 刘子旺 (1972-), 男, 河北清河县人, 博士研究生, 主治医师, 主要研究方向: 中医神经信息学。通讯作者: 王玉来 (1956-), 男, 主任医师, 教授, 国家“八五”、“九五”、“十五”科技攻关项目主要负责人, 主要从事中医神经信息学的研究。

达 PECAM-1, 因此 PECAM-1 常被当作血管内皮细胞的标志物。PECAM-1 可在血液流动状态下介导白细胞在微血管内皮细胞上滚动, 并同其他黏附分子共同作用, 使白细胞穿过血管壁进入脑实质, 导致缺血区脑组织损伤。同时, PECAM-1 可上调整合素的功能, 并且在调节血小板功能、抑制细胞凋亡、介导信号转导等过程中发挥重要作用。研究还发现^[11], CD31 可传递信号, 抑制细胞凋亡, 从而起到细胞保护作用。

2 选择素家族

已知选择素家族有三种结构相似的细胞表面蛋白: ①L-选择素(L-selectin), 表达于白细胞; ②E-选择素(E-selectin), 表达于血管内皮细胞; ③P-选择素(P-selectin), 表达于血小板和血管内皮细胞^[12]。下面主要讨论 BMVEC 表达的 E-选择素和 P-选择素。

2.1 E-选择素 E-选择素发现于 1985 年, 1989 年其基因被克隆^[13]。受细胞因子如 IL-1 和 TNF- α 等的诱导, E-选择素表达于血管内皮细胞, 是介导白细胞与内皮细胞起始黏附的重要因子之一。E-选择素仅表达在内皮细胞上, 静息时内皮细胞上的 E-选择素含量甚微。当内皮细胞受到炎症因子, 如 IL-1、TNF- α 、脂多糖(lipopolysacchride, LPS)等刺激后, E-选择素的表达明显增加, 2~4 h 达最高峰, 24 h 降解^[13]。E-选择素参与白细胞的黏附与聚集, 同时还可参与脂类代谢, 影响胆固醇、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白等的水平, 在炎症反应、动脉粥样硬化及血栓形成、脑梗死等缺血性脑损伤过程中起重要作用。

在多种动物局部大脑缺血模型中, 大鼠大脑中动脉永久性阻断可引起缺血局部皮质 E-选择素 mRNA 的表达显著增加, 12 h 达峰值, 维持 2 d 以上^[13]。脑卒中后, 多数患者可溶性 E-选择素水平在 24~36 h 内升高, 但大多在后续几天内降低到初始水平。这种反映 E-选择素水平变化特征性的时间过程, 可见于完全性脑卒中患者, 不见于暂时性局部缺血发作(transient ischemic attack, TIA)患者。完全性脑卒中患者的内皮细胞激活和继发的黏附分子表达与 TIA 相比更明显。E-选择素水平特殊的时间进程与临床过程相联系, 预后不良的患者初期 E-选择素水平偏高, 症状较轻的患者 E-选择素水平最终明显下降。与正常对照组相比, E-选择素的浓度在腔隙性梗阻的急性期和粥样硬化性梗阻的亚急性期明显升高^[14]。

2.2 P-选择素 P-选择素为高度糖基化的单链跨膜糖蛋白, 表达在活化的内皮细胞表面, 介导这些细胞间以及与白细胞的黏附, 是启动白细胞黏附迁移级联过程的一个重要的黏附成分。P-选择素主要分布于内皮细胞的 Weibel-Palade 小体, 在正常内皮细胞表面无表达或低表达, 经凝血酶、组胺、补体、活性氧、TNF- α 等刺激后可在内皮细胞迅速表达, 启动内皮细胞间以及这些细胞与白细胞的相互黏附^[15]。其中 TNF- α 等也能激活 P-选择素基因, 从转录水平使其表达合成。正是由于 P-选择素具有两种表达方式, 使其在细胞受刺激后既较早出现, 又较持久表达, 这可能是 P-选择素参与缺血性脑损伤后炎症反应的一个重要机制。

P-选择素可以介导缺血区血循环中的中性粒细胞和激活的血管内皮细胞发生反应, 进一步介导中性粒细胞在 BMVEC 上的滚动, 在其他细胞黏附分子的协助下, 使中性粒细胞穿出血管壁进入脑实质, 通过以下途径导致缺血再灌注损伤: ①阻塞微血管, 造成“不灌注”或“低灌注”现象; ②释放血管活性物质, 导致血管收缩, 并降低血管反应性; ③产生大量氧自由基, 引起脂质过氧化反应, 这是再灌注损伤最为重要的机制; ④释放大量的蛋白水解酶, 造成内皮细胞及基底膜损伤, 破坏血脑屏障, 促进脑水肿的形成, 同时破坏血脑屏障完整性, 使红细胞溢出增加, 从而促使梗死向出血转变。Ishikawa 等研究发现, 鼠脑双侧颈动脉闭塞再灌注时可见血小板在血管内皮细胞上滚动黏附, 但 P-选择素缺乏鼠的血小板在血管内皮细胞上的滚动黏附较野生鼠明显减少^[16], 认为 P-选择素促进脑缺血再灌注后血小板在血管内皮细胞上黏附聚集, 从而介导脑缺血再灌

注后的高凝状态。

综上所述, BMVEC 表达的细胞黏附分子在生理上参与正常脑组织结构和功能的维持, 保证内皮细胞层的连续性、通透血脑屏障等功能^[12,17,18]; 在病理过程中具有介导炎性细胞向正常或炎症组织移动或定位等功能, 与缺血性脑损伤的发生、发展密切相关^[19]。因此, 对黏附分子的结构与功能作更深入的探讨, 筛选出能影响黏附分子的表达与功能的药物, 将为揭示缺血性脑损伤的发病机理及治疗提供线索。

[参考文献]

- [1] Zimmerman GA, McIntyre TM, Mehra M, et al. Endothelial cell-associated intercellular adhesion[J]. J Cell Bio, 1990, 110(2): 529—540.
- [2] Rothlein R, Dustin ML, Marlin SD, et al. A human intercellular adhesion molecule(ICAM-1) distinct from LAF-1[J]. J Immunol, 1986, 137(4): 1270—1274.
- [3] Ding C, He Q, Li PA. Diabetes increases expression of ICAM after a brief period of cerebral ischemia[J]. J Neuroimmunol, 2005, 161(12): 61—67.
- [4] Vemuganti R, Dempsey RJ, Bowen KK. Inhibition of intercellular adhesion molecule-1 protein expression by antisense oligonucleotides is neuroprotective after transient middle cerebral artery occlusion in rat[J]. Stroke, 2004, 35: 179—184.
- [5] Berti R, Williams AJ, Moffett JR, et al. Quantitative realtime RT-PCR analysis of inflammatory gene expression associated with ischemia-reperfusion brain injury[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2002, 22: 1068—1079.
- [6] Frijs CJ, Kappelle LJ. Inflammatory cell adhesion molecules in ischemic cerebrovascular disease[J]. Stroke, 2002, 33: 2115—2122.
- [7] Love S, Barber R. Expression of P-selectin and intercellular adhesion molecule-1 in human brain after focal infarction or cardiac arrest[J]. Neuropathol App Neurobiol, 2001, 27: 465—473.
- [8] Osborn L, Hession C, Tizard R, et al. Direct expression cloning of vascular cell adhesion molecule 1, a cytokine-induced endothelial protein that binds to lymphocytes[J]. Cell, 1989, 59(6): 1203—1211.
- [9] Petty MA, Wettstein JG. Elements of cerebral microvascular ischaemia[J]. Brain Research Reviews, 2001, 36(1): 23—34.
- [10] Fukushi J, Ono M, Morikawa W, et al. The activity of soluble VCAM-1 in angiogenesis stimulated by IL-4 and IL-13[J]. J Immunol, 2000, 165(5): 2813—2823.
- [11] Han N, Madri JA. PECAM-1: old friend, new partners[J]. Curr Opin Cell Biol, 2003, 15: 515—524.
- [12] Kanemoto Y, Nakase H, Akita N, et al. Effects of anti intercellular adhesion molecule-1 antibody on reperfusion injury induced by late reperfusion in the rat middle cerebral artery occlusion model[J]. Neurosurgery, 2002, 51(4): 1034—1041.
- [13] Bevilacqua MP, Stengelin S, Gimbrone MA, et al. Endothelial leukocyte adhesion molecule-1: An inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory proteins and lectins[J]. Science, 1989, 243: 1160.
- [14] Kozuka K, Kohriyama T, Nomura E, et al. Endothelial markers and adhesion molecules in acute ischemic stroke—sequential change and differences in stroke subtype[J]. At Aerosdeosu, 2002, 161(1): 161—168.
- [15] Beckerle MC. Cell adhesion[M]. Oxford: Oxford University Press, 2002, 1—36.
- [16] Ishikawa M, Cooper D, Russell J, et al. Molecular determinants of the prothrombotic and inflammatory phenotype assumed by the postischemic cerebral microcirculation[J]. Stroke, 2003, 34(7): 1777—1782.
- [17] Emerich DF, Dean RL, Bartus RT. The role of leukocytes following cerebral ischemia: pathogenic variable or bystander reaction to emerging infarct[J]. Exp Neurol, 2002, 173(1): 168—181.
- [18] Lonescu CV, Cepinskas G, Savickiene J, et al. Neutrophils induce sequential focal changes in endothelial adherens junction components: role of elastase[J]. Microcirculation, 2003, 10(2): 205—220.
- [19] Schuller AM, Windolf J, Blaheta R, et al. Degradation of microvascular brain endothelial cell beta-catenin after co-culture with activated neutrophils from patients undergoing cardiac surgery with prolonged cardiopulmonary bypass[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 329(2): 616—623.

(收稿日期: 2006-05-17 修改日期: 2006-06-29)