

Экспрессия и индукция молекул адгезии на эндотелии	422
Суперсемейство иммуноглобулинов	423
Семейство селектинов	425
Семейство кадгеринов	428
Лиганд-рецепторные системы при иммунном ответе	428

Молекулы межклеточной адгезии - это связанные с плазматической мембраной белки, которые обеспечивают механическое взаимодействие клеток друг с другом. Часто это молекулы, которые пронизывают мембрану и присоединены к цитоскелету. С их помощью клетки при движении могут «подтягиваться» к другим клеткам или перемещаться по внеклеточному матриксу. Во многих случаях отдельная молекула межклеточной адгезии способна взаимодействовать не с одним, а с несколькими лигандами, для чего служат разные участки связывания. Хотя связывание индивидуальных молекул адгезии со своими лигандами обычно происходит с низким сродством, avidность взаимодействия может быть довольно высокой, за счет того, что молекулы адгезии расположены на поверхности клеток кластерами и образуют участки многоточечного связывания.

Взаимодействие двух типов клеток может изменяться в результате увеличения числа молекул адгезии на клеточной поверхности либо при изменении их аффинности и/или avidности. Существуют два механизма увеличения числа молекул адгезии на поверхности клеток: у многих клеток большие запасы этих молекул хранятся во внутриклеточных везикулах, которые способны через несколько минут после активации устремляться к поверхности цитоплазматической мембраны; другой механизм заключается в синтезе таких молекул и переносе их на поверхность (эти процессы занимают, как правило, несколько часов).

Все молекулы межклеточной адгезии можно разделить на пять структурных семейств:

- Интегрины - гетеродимерные молекулы, функционирующие как клеточно-субстратные, так и межклеточные адгезивные рецепторы;
- Адгезивные рецепторы суперсемейства иммуноглобулинов, которые участвуют в межклеточной адгезии и особенно важны в эмбриогенезе, заживлении ран и иммунном ответе;
- Селектины - адгезивные молекулы, лектинподобный домен которых обеспечивает адгезию лейкоцитов к эндотелиальным клеткам;
- Кадгерини - кальцийзависимые гомофильные межклеточные адгезивные белки;

- Хоминговые рецепторы - молекулы, обеспечивающие попадание лимфоцитов в специфическую лимфоидную ткань.

Экспрессия и индукция молекул адгезии на эндотелии

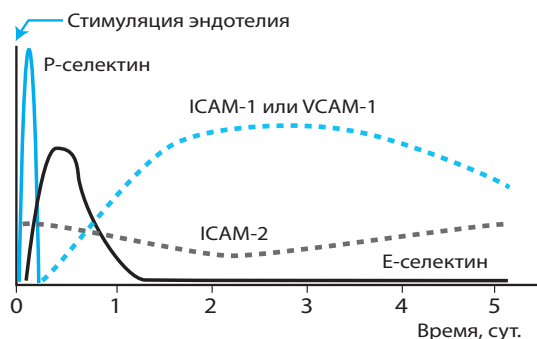
Повышение адгезивности имеет большое значение в патогенезе дисфункции эндотелия при воспалении, атеросклерозе, септическом шоке и других патологических процессах.

Миграция клеток - это сложный процесс, в котором на разных стадиях принимают участие несколько наборов молекул адгезии. В физиологических условиях эндотелиальная клетка не экспрессирует молекулы адгезии. Увеличение концентрации последних на поверхности эндотелиальных клеток возникает при действии различных повреждающих факторов - увеличении напряжения линейного сдвига в определенном участке артерии, накоплении в субэндотелиальном пространстве окисленных липидов и липопротеидов (например, у больных сахарным диабетом при наличии в стенке сосуда недоокисленных гликозилированных продуктов) и т.д.

Адгезия лейкоцитов проходит в две стадии: стадия роллинга (прокатывания лейкоцитов вдоль эндотелия)

и стадия плотной адгезии (остановки лейкоцитов). Эти стадии связаны с различными адгезивными молекулами, последовательность и время экспрессии которых на лейкоцитах и эндотелии различно.

В нормальных условиях на эндотелии представлена в небольшом количестве молекула адгезии ICAM-2, посредством которой происходит формирование пула лейкоцитов в венозных сосудах ЖКТ, легких и других органах. Нейтрофилы появляются в очаге острого воспаления на его ранней стадии, и отчасти это обусловлено индукцией цитокинами экспрессии E-селектина на поверхности эндотелия в этой области. Стимуляция клеток эндотелия *in vitro* такими цитокинами, как TNF- α или IL-1 индуцирует экспрессию E-селектина спустя 4-12 часов, а через 24 часа она прекращается (см. рисунок). Экспрессия P-селектина происходит в течение очень короткого времени при воздействии на эндотелий тромбина, гистамина, фактора активации тромбоцитов, компонентов системы комплемента и некоторых других стимулов. Важную роль в миграции нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов выполняют также экспрессируемые на лейкоцитах β 2-интегрины LFA-1 и CR3, которые связываются с эндотелиальными молекулами межклеточной адгезии из суперсемейства иммуноглобулинов. Так, LFA-1 связывается с ICAM-1 и ICAM-2 на эндотелии сосудов.



Динамика экспрессии различных молекул межклеточной адгезии на клетках эндотелия после стимуляции TNF-1 *in vitro*

В условиях *in vitro* индуцированная экспрессия ICAM-1 наблюдается в период 8-96 часов после стимуляции, что соответствует более позднему прибытию *in vivo* в очаг воспаления лимфоцитов и моноцитов. Экспрессия VCAM-1, как и ICAM-1, индуцируется в области воспаления, причем *in vitro* индукция этих двух молекул происходит синхронно. Вместе с тем механизмы индукции E-селектина, ICAM-1 и VCAM-1 у разных популяций лимфоцитов и клеток эндотелия на различных участках сосудистого русла тонко различаются. Это обеспечивает точную настройку миграции лейкоцитов сквозь эндотелий при воспалении и пос-

ледовательное прибытие в очаг различных клеточных популяций. Прилипание лимфоцитов к эндотелию можно подавить антителами к молекулам межклеточной адгезии лимфоцитов или эндотелия либо растворимыми препаратами самих этих молекул. Именно на таком подходе основан новый способ лечения болезней иммунологического патогенеза.

Суперсемейство иммуноглобулинов

К суперсемейству иммуноглобулинов принадлежит ряд молекул адгезии эндотелиальных клеток, в том числе молекулы межклеточной адгезии 1 (ICAM-1), 2 (ICAM-2) и 3 типа (ICAM-3), молекулы адгезии сосудистого эндотелия 1 типа (VCAM-1). На эндотелиальных клетках они являются поверхностными лигандами для интегринов LFA-1 и VLA-4. Различная регуляция экспрессии ICAM-1, -2, -3 и VCAM-1 играет важную роль в адгезии лимфоцитов. Высокий уровень экспрессии ICAM-2 постоянно выявляется на покоящихся эндотелиальных клетках и эта экспрессия не усиливается при активации. Наоборот, ICAM-1 плохо выявляется на покоящемся эндотелии, а VCAM-1 просто отсутствует. При активации эндотелия экспрессия этих молекул быстро усиливается.

Растворимая форма молекулы (межклеточной адгезии 1 (sICAM-1))

ICAM-1 или CD54 представляет собой одноцепочечный гликопротеин с молекулярной массой 55 kDa. Это интегральный мембранный белок, содержащий пять Ig-подобных внеклеточных доменов. Ген, кодирующий ICAM-1, локализован на 19-й хромосоме. ICAM-1 является лигандом для LFA-1, Mac-1 и CD43. ICAM-1 экспрессируется на различных типах эндотелиальных клеток, эпителиальных клетках, фибробластах, на некоторых гемопоэтических клетках - тканевых макрофагах, митоген-стимулированных Т-клетках, в клетках зародышевых центров, дендритных клетках, в лимфоузлах. ICAM-1 фибробластов и эндотелиальных клеток индуцируется медиаторами воспаления, такими как IL-1, TNF α и IFN γ . Экспрессия ICAM-1 усиливается в течение 6-8 часов после стимуляции и сохраняется как минимум 48 часов. Взаимодействие лейкоцитарного β 2-интегрина с ICAM-1 имеет важное значение в регуляции отдельного этапа адгезии лейкоцитов и их трансэндотелиальной миграции.

ICAM-1 и его рецептор LFA-1 являются дополнительными факторами активации Т-лимфоцитов. Кратковременное взаимодействие Т-клеточного рецептора и CD2 индуцирует определенное состояние LFA-1, при котором возрастает уровень его связывания с ICAM-1, причем без изменения концентрации обеих молекул.

Роль ICAM-1 как маркера заболеваний доказана для большого числа различных патологических ситуаций.

В аллергическом воспалении дыхательных путей ICAM-1 участвует в патогенезе аллергических ринитов, при аллергическом контактном дерматите ICAM-1 появляется на кератиноцитах уже через 4 часа после проведения кожного аллергического теста.

При опухолевых заболеваниях замечена прямая корреляция между степенью экспрессии ICAM-1 и гистологически установленной степенью рака. Уровень sICAM-1 в сыворотке пациентов с опухолью желудочно-кишечного тракта с метастазами в печень значительно выше, чем у пациентов без метастазов. ICAM-1 представлен на опухолевых клетках миелоидной и В-клеточной природы. При лимфопролиферативных заболеваниях экспрессия ICAM-1 связана со степенью злокачественного перерождения. При HTLV-1-ассоциированной миелопатии и Т-клеточной лейкемии концентрация sICAM-1 в сыворотке повышена. Высокий уровень sICAM-1 наблюдается в сыворотках крови пациентов со злокачественной меланомой.

Инфекции. Отмечено повышение уровня sICAM-1 у лиц с ВИЧ-1. При тропической малярии ICAM-1 участвует в адгезии инфицированных эритроцитов к капиллярному эндотелию, что является очень важным моментом для патогенеза церебральной малярии. sICAM-1 - хороший прогностический параметр при проведении терапии интерфероном β больных гепатитом В.

Уровень sICAM-1 в крови увеличивается **при состояниях после трансплантации**: при отторжении капиллярного эндотелия, миокарда и эндокарда в трансплантированном сердце, при остром отторжении аллотрансплантата почки и печени. В первые 12-24 часа острого инфаркта миокарда отмечается снижение уровня sICAM-1, что может служить прогностическим фактором для развития ишемии миокарда и реперфузии. sICAM-1 является одним из маркеров нарушения ЦНС, связанного с кровоизлиянием и нарушением гемато-энцефалического барьера.

У лиц с инсулин-зависимым сахарным диабетом (ИЗСД) и у лиц с повышенным риском ИЗСД были найдены повышенные сывороточные уровни ICAM-1 и L-селектина. Повышение количества гломерулярного ICAM-1 наблюдается на ранних стадиях различных форм гломерулонефрита, и тубулярная экспрессия ICAM-1 *de novo* сильно коррелирует с активностью болезни. Рост концентрации sICAM-1 коррелирует с активностью ревматоидного артрита.

Растворимый ICAM-1 не обнаруживается обычно в амниотической жидкости во 2-м триместре беременности, но его уровень значительно повышается вместе с α -фетопротеином при задержке внутриутробного развития.

Растворимая форма молекулы межклеточной адгезии 2 (sICAM-2)

ICAM-2 представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 60 kDa, расположенный на поверхности клеточной мембраны. В состав молекулы входят два Ig-подобных внеклеточных домена. ICAM-2 обладает гораздо более высокой степенью гомологии с N-концевым доменом ICAM-1, чем обе эти молекулы по отношению к другим белкам, входящим в состав Ig-семейства. Это подтверждает существование подсемейства Ig-подобных лигандов, взаимодействующих с одним интегриновым рецептором.

ICAM-2 широко представлен на гемопоэтических клетках. На покоящихся лимфоцитах экспрессия ICAM-2 в несколько раз выше, чем ICAM-1, тогда как уровень синтеза этих молекул на моноцитах примерно одинаков. В отличие от ICAM-1, ICAM-2 не определяется на нейтрофилах и на других типах клеток (или выявляется в очень незначительных количествах). Исключением являются покоящиеся васкулоэндотелиальные клетки и небольшая группа клеток лимфоидной ткани зародышевых центров, на которых ICAM-2 выявляется в больших количествах.

Экспрессия ICAM-2 не подвергается влиянию различных «воспалительных» цитокинов. Это указывает на важность присутствия ICAM-2 для клеток в нестимулированном, покоящемся состоянии, когда уровень ICAM-1 снижен. Рецептором для ICAM-2, также как и для ICAM-1, является интегрин LFA-1. Так как ICAM-2, в отличие от ICAM-1, присутствует на покоящихся эндотелиальных клетках, то он, скорее всего, вовлечен в рециркуляцию LFA-1-положительных лимфоцитов. Кроме того, раз покоящиеся Т-клетки практически не синтезируют ICAM-1, ICAM-2 необходим для инициации Т-клеточной адгезии к АПК. Еще одной функцией ICAM-2, возможно, является ICAM-1-независимый лизис различных клеток-мишеней.

Растворимая форма молекулы межклеточной адгезии 3 (sICAM-3)

ICAM-3 принадлежит семейству иммуноглобулинов и представляет собой высокогликозилированный протеин с молекулярной массой 124 kDa (масса полипептидного ядра составляет только 57 kDa). Это интегральный мембранный белок, содержащий пять Ig-подобных внеклеточных доменов. ICAM-3 обладает высокой гомологией по отношению к ICAM-1 и -2 во внеклеточном регионе. Также, как и ICAM-1 и -2, ICAM-3 является лигандом для LFA-1, что и определяет его функциональную активность.

В отличие от ICAM-1 и -2, ICAM-3 отсутствует на эндотелии. ICAM-3 экспрессируется на покоящихся лимфоцитах, моноцитах и нейтрофилах, являясь основным

лигандом для LFA-1 на этих клетках. Известно, что первичная адгезия покоящихся Т-лимфоцитов происходит именно при участии ICAM-3. Кроме того, как уже отмечалось, ICAM-3 гораздо лучше экспрессируется на моноцитах и покоящихся лимфоцитах, чем другие лиганды LFA-1. Совокупность этих фактов означает, что ICAM-3 играет важную роль в инициации иммунного ответа.

Обнаружено, что ICAM-3 также вовлечен в регуляцию LFA-1/ICAM-1-зависимого межклеточного взаимодействия лейкоцитов. Первичное взаимодействие ICAM-3 с LFA-1 может увеличивать LFA-1-опосредованный клеточный гранулематоз. Уровень sICAM-3 увеличивается при ревматоидном артрите, системной волчанке.

Растворимая форма молекулы адгезии сосудистого эндотелия 1 типа (sVCAM-1)

VCAM-1 - один из членов суперсемейства иммуноглобулинов, который вовлекается в лейкоцитарно-эндотелиальное взаимодействие. VCAM-1 содержит 6 или 7 иммуноглобулиновых доменов N-типа и экспрессируется только после стимуляции клеток IL-1, TNF- α или эндотоксином. VCAM-1 является лигандом интегрина VLA-4, найденного на лимфоцитах, моноцитах и эозинофилах. VCAM-1/VLA-4 взаимодействие опосредует прочное прилипание циркулирующих лейкоцитов (не относящихся к нейтрофилам) к эндотелию. VCAM-1 также участвует в адгезии лейкоцитов вне сосудов, опосредуя взаимодействие предшественников лимфоцитов со стромальными клетками костного мозга и В-клеток с дендритными клетками фолликулов лимфоузлов. VCAM-1 обладает относительно селективной лейкоцитарной адгезией, обеспечивая накопление мононуклеарных клеток в процессе смены острой фазы воспаления хронической. Показана определенная роль VCAM-1 в развитии атеросклероза.*

Повышенный уровень sVCAM обнаруживается при различных заболеваниях:

Рак	яичников, гастроинтестинальный, опухоли почек, крови, неходжкинская лимфома, рак груди (в жидкости из кист)
Аутоиммунные заболевания	рассеянный склероз (спинномозговая жидкость), склеродермия, системная красная волчанка, ревматоидный артрит
Инфекции	сепсис, менингит, малярия
Воспаление	васкулиты, алкогольный цирроз, грануломатоз Вегенера
Другие	нарушение функции почек, гемодиализ, гипертиреозидизм, трансплантация почки

Растворимая форма PECAM (sPECAM-1)

PECAM-1, также известный как CD31 или EndoCAM, не так давно охарактеризованная молекула адгезии, принадлежащая семейству иммуноглобулинов. Это трансмембранный гликопротеин с молекулярной массой около 130 kDa (в зависимости от степени гликозилирования).

PECAM-1 в основном экспрессируется сосудистыми клетками и считается важным иммуногистохимическим маркером состояния ангиогенеза кровеносных сосудов. PECAM-1 также выявляется на тромбоцитах, моноцитах, нейтрофилах и CD8⁺ Т-клетках. Стволовые клетки костного мозга и трансформированные клеточные линии миелоидных клеток и мегакариоцитов также экспрессируют PECAM-1. Очень большой интерес вызывает тот факт, что PECAM-1 выявляется в клетках солидных опухолей.

Недавние исследования подтверждают участие PECAM-1 в воспалительных процессах и взаимодействии лейкоцитов с эндотелиальными клетками. Процесс миграции лейкоцитов в область воспаления может быть подразделен на 3 стадии, одна из которых - проникновение лейкоцитов через межклеточные переходы эндотелиальных клеток сосудов осуществляется под воздействием PECAM-1.

Молекулы PECAM-1 могут взаимодействовать как между собой (гомофильное связывание) так и с другими молекулами (гетерофильное связывание). PECAM-1 является ранним и очень чувствительным маркером опухоль-ассоциированного ангиогенеза. Следует отметить, что молекула вовлечена в процессы ангиогенеза как при эмбриональном развитии, так и при формировании метастазов.

В отличие от мембранного гликопротеина, sPECAM-1 на 5-10 kDa меньше и содержит цитоплазматический «хвост». Эта форма PECAM-1 образуется путем альтернативного сплайсинга мРНК, при котором удаляется экзон, кодирующий трансмембранный домен. sPECAM-1 в норме присутствует в крови. Антитела к PECAM-1 проявляют высокую чувствительность и специфичность к эндотелиальным клеткам в норме, при воспалении и неоплазии.

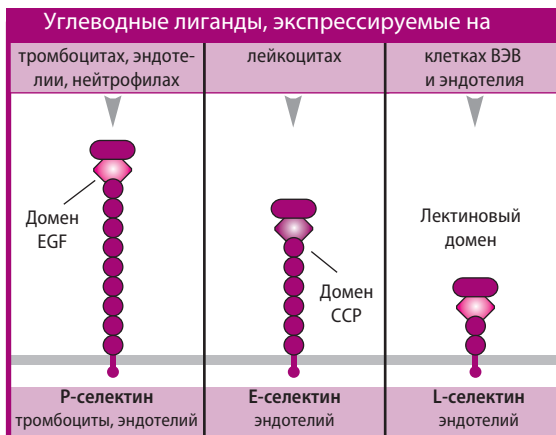
PECAM-1 является чувствительным и специфическим маркером определения меланомы-ассоциированного ангиогенеза и раннего выявления метастазов.

Семейство селектинов

Селектины - семейство адгезивных белков, которые имеют три характерные черты: варьируемое число (от 2 до 9) повторов комплемент-регуляторных белков, домен эпидермального фактора роста (EGF) и N-концевой лектиновый домен. Хорошо охаракте-

* см. главу «Кардиомаркеры», стр. 5

ризованы три члена этого семейства: L-селектин, P-селектин и E-селектин. Селектины являются тканевыми лектинами, обладающими сродством к концевым остаткам маннозы, для связывания которых требуется присутствие Ca^{2+} (свойство группы селективов). Под действием P- и E-селективов осуществляется частичная задержка лейкоцитов с неполной остановкой на поверхности эндотелия - роллинг. Причем P-селектин обеспечивает начальную стадию, быстрый роллинг лейкоцитов, скорость которого начинает замедляться при экспрессии E-селектина.



Растворимый L-селектин (sL-selectin)

Растворимый L-селектин, называемый также sCD62L или sLECAM-L, представляет собой гликопротеин, образующийся в результате распада мембранного предшественника L-селектина, гликопротеина с молекулярной массой 75-80 kDa. L-селектин экспрессируется на лимфоцитах и имеет прямое отношение к их миграции. Данный белок также представлен на нейтрофилах, моноцитах и других миелоидных клетках. Показано, что L-селектин опосредует эффект «катящихся» нейтрофилов вдоль сосудистой стенки микроциркулярного русла - феномен, который многие исследователи рассматривают как первый «шаг» адгезии лейкоцитов к эндотелию, что, в свою очередь, приводит к их накоплению в зоне воспаления. Металлопротеиназы клеточной поверхности расщепляют L-селектин, что может снижать регуляцию L-селектин-опосредованной адгезии.

Изучение циркулирующего sL-селектина могло бы обеспечить более детальное понимание различных патологических вариантов течения болезней:

- **Аллергия:** экспрессия L-селектина снижается на эозинофилах из бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), взятого после провокации аллергеном. БАЛ кратковременно стимулирует активацию поли-

морфноядерных лейкоцитов/моноцитов и мобилизацию их в бронхоальвеолярное пространство. Клетки отвечают полной потерей L-селектина, когда они попадают из крови в бронхоальвеолярное пространство.

- **Глубокий венозный тромбоз:** Полиморфноядерные лейкоциты могут участвовать в инициировании и распространении венозного тромбоза. Вероятно, с помощью L-селектина лейкоциты прилипают к участкам вен, где образуются тромбы.
- **ВИЧ:** у пациентов, страдающих от ВИЧ-инфекции, значительно увеличен уровень sL-селектина в сыворотке.
- **Инсулин-зависимый сахарный диабет (ИЗСД):** концентрация L-селектина в сыворотке у больных диабетом повышена и сопряжена с риском развития ИЗСД.
- **Синдром Кавасаки:** уровень sL-селектина, меньше по сравнению с нормой.
- **Опухоли В-клеток:** уровень sL-селектина увеличен по сравнению с нормой при В-клеточном хроническом лимфоцитарном лейкозе, волосатоклеточном лейкозе и лимфоме.
- **Неонатальная бактериальная инфекция:** в случае внутриутробной инфекции на лимфоцитах пуповинной крови снижена экспрессия L-селектина. Она не зависит от срока гестации, веса при рождении, pH пуповинной артериальной крови, гематокрита, лейкоцитоза, абсолютного количества нейтрофилов, уровня С-реактивного белка или лихорадки у матери.
- **Сепсис:** у пациентов с сепсисом показана высокая концентрация sL-селектина в сыворотке. Повреждение эндотелия сосудов, наблюдаемое при генерализованном сепсисе, может быть вызвано ферментами нейтрофилов. Адгезия к эндотелию предпосылка этого процесса. Изучение sL-селектина может обеспечить более глубокое понимание взаимосвязи между нейтрофильной активацией и повреждением эндотелия при грам-отрицательном сепсисе.
- **Хирургия:** у пациентов, подвергшихся операции аорто-коронарного шунтирования, может развиться острое послеоперационное капиллярное кровотечение из-за повреждения эндотелия, вызванного адгезивными нейтрофилами.

Растворимый P-селектин (sP-selectin)

Растворимый P-селектин, называемый также CD62, PADGEM, GMP-140, представляет собой гликопротеид плотных гранул тромбоцитов с молекулярной массой 190 kDa. Хранится в тельцах Вейбеля-Паладе эндотелиальных клеток. После стимуляции эндотелия

тромбином, гистамином или реактивно окисленными веществами, такими как H_2O_2 , P-селектин транслоцируется на поверхность клетки. Появление P-селектина на поверхности происходит очень быстро и также быстро снижается его уровень до базального в короткое время после стимуляции. Контакт P-селектинов с нейтрофилами может осуществляться без их активации или без участия $\beta 2$ -интегриновой системы. P-селектин связывается с углеводными остатками лейкоцитарных гликопротеинов, главным образом сходных с сиалил-Lewis X-остатками и сульфогруппами белков, экспрессируемых на поверхности клеток.

Физиологическая роль P-селектина заключается, скорее всего, в опосредовании адгезии лейкоцитов к активированному эндотелию в процессе острого воспаления. Он может действовать совместно с E-селектином, осуществляя на местах в ранний период воспаления специфическую адгезию нейтрофилов и моноцитов в участках острого процесса. Растворимая форма P-селектина, найденная в сыворотке и плазме, является продуктом протеолиза и, вероятнее всего, что это растворимый фрагмент, в котором отсутствует трансмембранный участок.

Изучение растворимого P-селектина могло бы обеспечить более детальное понимание различных патологических вариантов течения болезней. Чрезмерное накопление нейтрофилов на поверхности эндотелия, сопровождающееся высоким уровнем P-селектина, связано со множеством протекающих воспалительных процессов, включая респираторный дистресс-синдром взрослых, острое поражение легких, повреждение при ишемии-реперфузии, грам-отрицательный септический шок, тромботические заболевания и ревматоидный артрит.

Было показано, что малигнизированные клетки экспрессируют рецепторы для P-селектина, что предполагает важную роль этой молекулы в формировании опухолей и метастазов.

Растворимый E-селектин (sE-selectin)

Растворимый E-селектин, называемый также ELAM-1, представляет собой гликопротеид с молекулярной массой 115 kDa. Является первой индуцибельной адгезивной молекулой, выявленной на эндотелиальных клетках и характерной только для эндотелия. После стимуляции различными цитокинами (IL-1 α и β , TNF- α), эндотоксином или субстанцией P эндотелиальные клетки синтезируют и экспрессируют E-селектин. Подобно P-селектину, E-селектин также транзитивно экспрессируется на эндотелии и взаимодействует с сиалил-Lewis X-углеводными остатками. Поверхностная экспрессия проявляется приблизительно через 1 час и достигает максимума через 4-8 часов, заканчи-

ваясь через 24-48 часов. Клетки, трансфицированные геном E-селектина, экспрессируют его в значительном количестве, приобретая при этом выраженную способность связывать нейтрофилы. Все эти данные указывают, что остановка нейтрофилов при участии E-селектина - это первая необходимая стадия их миграции. Циркулирующая форма или растворимый E-селектин (sE-селектин) служит хемотаксическим сигналом для нейтрофилов и дополнительно активирует $\beta 2$ -интегрины - sE-селектин усиливает способность к миграции клеток, несущих эти интегрины.

Изучение растворимого E-селектина могло бы обеспечить более детальное понимание различных патологических вариантов течения болезней:

- **Аллергические реакции:** временный приток нейтрофилов в респираторный тракт в результате воспалительного ответа в основном опосредуется E-селектином. Показана функциональная роль этой молекулы в развитии острого воспаления дыхательных путей *in vivo*. К тому же именно E-селектину принадлежит особенно важная роль в развитии ранней стадии аллергического контактного дерматита.
- **Глазные болезни:** присутствие E-селектина на ретинальном сосудистом эндотелии предполагает его важную функцию в патогенезе заболеваний глаза, обусловленных иммунологическими нарушениями.
- **Септический шок:** показано, что E-селектин вовлечен в патогенез полиорганной недостаточности при септическом шоке.
- **Внутрисосудистая инфекция и воспаление:** уровни sE-селектина у пациентов в начале заболевания узелковым полиартериитом значительно выше по сравнению с контролем.
- **Воспалительные заболевания кишечника:** экспрессия E-селектина на эндотелии толстого кишечника связана с воспалением.
- **Трансплантация:** найдено, что экспрессия E-селектина на эндотелиальных клетках повышена при реакции «трансплантат против хозяина».

Гликопротеиновый лиганд-1 P-селектина (sPSGL-1)

PSGL-1 - функционально наиболее важный лиганд P-селектина. Это муциноподобный трансмембранный гликопротеин, гомодимер, состоящий из двух субъединиц, связанных дисульфидными мостиками. PSGL-1 экспрессируется на клетках лимфоидного, дендритного и миелоидного типов. Связывание с P-селектином регулируется степенью и формой гликозилирования. Показано, что взаимодействие L-селектина и PSGL-1 влияет на агрегацию нейтрофилов. Однако PSGL-1 не является первичным лигандом L-селектина.

Высокий уровень экспрессии Р-селектина и PSGL-1 наблюдается при септическом шоке, ревматоидном артрите, синдроме затрудненного дыхания, ишемии. Снижение концентрации этих двух молекул выявлено при системном склерозе.

Семейство кадгеринов

Кальций-зависимые адгезивные молекулы, или кадгерины, опосредуют клеточную адгезию только в присутствии ионов кальция. Семейство кадгеринов это структурно подобные молекулы, состоящие из 723-748 аминокислотных остатков. Степень гомологии между кадгеринами из различных тканей и образцов достигает 50-60%. Семейство кадгеринов включает в себя три субкласса:

- Е-кадгерины, найденные в эпителиальных клетках и известные как увоморулин, клеточная молекула адгезии (CAM 120/80 или L-CAM);
- N-кадгерины, найденные в зрелой нервной и мышечной ткани и известные как А-CAM;
- Р-кадгерины, найденные первоначально в плаценте и эпителии, но транзиторно экспрессируемые и другими тканями в процессе развития.

Кадгерины являются важной составной частью адгезивных контактов, ответственных за организацию цитоскелета клетки. Сложный каскад событий требует формирования контактных структур, вероятно, инициируемых соединением кадгерина с винкулином. Кадгерины появляются в основном при начальной межклеточной адгезии на стадиях морфо- и органогенеза. Кадгерины обеспечивают структурную целостность тканей (особенно эпителиального монослоя).

VE-кадгерин

По функции и местоположению кадгерин сосудистого эндотелия был назван VE-кадгерином. Ген VE-кадгерина экспрессируется исключительно в эндотелиальных клетках. VE-кадгерин опосредует гомофильную кальций-зависимую агрегацию и слипание клетки с клеткой, что уменьшает межклеточную проницаемость для молекул с высоким молекулярным весом и степень миграции клеток через поврежденную область. Таким образом, VE-кадгерин может играть важную роль в функционировании эндотелия, контролируя образование межклеточных адгезивных соединений. VE-кадгерин необходим нейтрофилам для преодоления эндотелиального барьера. VE-кадгерин трансмембранный белок, внутриклеточный домен которого взаимодействует с цитоплазматическими белками, называемыми катенинами, передающими адгезионный сигнал после активации. Экстрацеллюлярного домена VE-кадгерина достаточно для ранних

стадий адгезии клетки и распознавания. Однако взаимодействие VE-кадгерина с цитоскелетом через цитоплазматический домен является необходимым для обеспечения силы и сцепления молекул адгезии.

Специфические молекулы клеточной адгезии типа VE-кадгерина вовлечены в поздние события дифференцировки эндотелиальных клеток, апоптоз и ангиогенез. Иммунохимическими методами экспрессия VE-кадгерина была описана для нескольких опухолей типа гемангиом, глиобластом и саркомы Капоши.

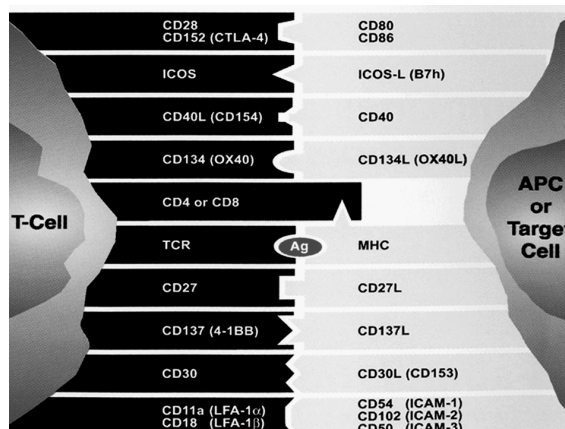
ЗАО «БиоХимМак» предлагает наборы для определения молекул адгезии методом проточной цитометрии. Более подробно смотрите главу «Проточная цитометрия», стр. 498.

Лиганд-рецепторные системы при иммунном ответе

Межклеточные контактные взаимодействия при иммунном ответе можно объединить в три группы:

- взаимодействия, связанные с презентацией антигена. В них участвуют вспомогательные клетки (дендритные, макрофаги, В-лимфоциты) и Т-хелперы;
- кооперация лимфоцитов, т.е. взаимодействие Т-хелперов с В-лимфоцитами и предшественниками Т-киллеров;
- взаимодействие киллеров с клетками-мишенями в процессе их распознавания и разрушения.

В осуществлении Т-В кооперации основная роль принадлежит взаимодействию двух пар молекул: CD80/CD86 В-клеток и CD28 Т-лимфоцитов, а также CD40 В-клеток и CD40L Т-клеток.



sCD134 (OX40)

NEW

OX40 (CD134) принадлежит семейству TNF и является важным кофактором, экспрессируемым активированными Т-клетками.

Связывание OX40 со своим лигандом – OX40L, считается очень важным этапом для активации Т-клеток, происходящим при их взаимодействии с антигенпрезентирующими клетками. Связывание с OX40 индуцирует клональную экспансию (размножение клона) и выживание CD4⁺ клеток во время первичного ответа, и приводит к накоплению большего числа клеток памяти с течением времени.

Показано, что OX40 участвует в адгезии Т-клеток к эндотелию. Предполагается наличие индукции CD134 под влиянием ИЛ-4 Т-хелперов 2 типа. Кроме Т-клеток, экспрессия OX40 обнаружена в небольшой субпопуляции макрофагов, клетках Лангерганса и В-клетках при неходжкинских лимфомах. OX40 усиливает экспрессию Vcl-xL и Vcl-2, являясь, тем самым, важным регулятором выживаемости антигенспецифических Т-клеток. Индукция OX40 делает клетки Т-клеточной лейкемии взрослых резистентными к Fas-индуцированному апоптозу.

CD134 был описан как молекула, участвующая в регуляции иммунологической толерантности, являющейся основной преградой при разработке эффективной противопухоловой иммунотерапии.

Описана растворимая изоформа OX40. Измерения этой молекулы могут иметь диагностическую значимость при полимиозите, миопатии, Т-клеточных лимфомах и лимфоматоидном папулезе, пролиферативном волчаночном нефрите, ревматоидном артрите, у ВИЧ-инфицированных пациентов, больных вирусными заболеваниями легких, в регуляции реакции «трансплантат против хозяина», при миокардитах и дилатационной кардиомиопатии. Показана важная роль OX40 в развитии аутоиммунных заболеваний.

sCD137 (4-1BB)

NEW

CD137 (ILA/4-1BB) принадлежит семейству рецептора TNF экспрессируемого активированными Т-клетками.

Костимуляция через CD137 повышает активацию Т-лимфоцитов и может усиливать противоопухолевый иммунитет *in vivo*. Ген человеческого CD137 расположен на хромосоме 1q36. Мутации в этом хромосомном регионе ассоциированы с различными злокачественными заболеваниями. Для системы CD137 рецептор/лиганд показано наличие двустороннего сигналинга. В то время как перекрестное связывание CD137 активирует Т-лимфоциты, перекрестное связывание лиганда CD137 имеет противоположный эффект. Эта обратная передача сигнала, через лиганд CD137, ингибирует пролиферацию и индуцирует апоптоз Т-лимфоцитов.

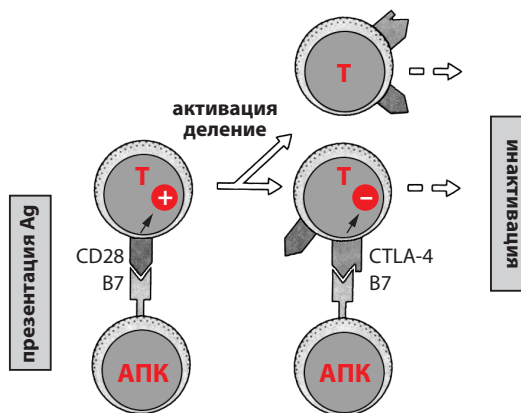
Уровень sCD137, секретируемого активированными лимфоцитами, обратно коррелирует с развитием воспаления при некоторых аутоиммунных заболеваниях, таких как ревматоидный артрит или рассеянный склероз.

sCD28, sCD80, sCD86

Основную роль в осуществлении костимуляции отводят взаимодействию корцептора CD28 Т-клетки с молекулами CD80 (B7-1) и CD86 (B7-2) антигенпрезентирующих клеток (АПК). Молекула CD28 присутствует на поверхности всех покоящихся CD4⁺ и 70% CD8⁺ Т-клеток. После активации на Т-клетках появляется другая молекула со сходной структурой CTLA-4. Стимулирующий эффект CD28 состоит в продлении и усилении продукции ИЛ-2 и других цитокинов; эта стимуляция, по-видимому, имеет также существенное значение для предотвращения индукции толерантности. Несмотря на то, что взаимодействие CD28-B7 крайне важно, нокаутные мыши, лишённые гена CD28, все же реагируют на антиген, хотя для этого требуется большее его количество. Следовательно, стимуляция CD28 не обязательна для активации даже непримированных Т-клеток. Возможно, у лишенных CD28 мышей роль CD28-B7 в качестве костимулирующего сигнала выполняют другие сигнальные молекулы.

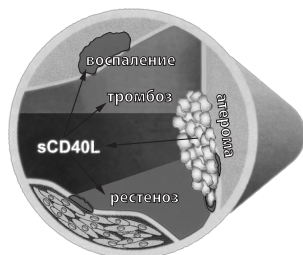
CTLA-4 (CD152)

CTLA-4 - ингибирующий рецептор, который ограничивает Т-клеточную активацию. Вначале молекула CD28, экспрессируемая конститутивно, взаимодействует с B7, что ведет к активации Т-клеток, однако вызванная активацией экспрессия молекулы CTLA-4, обладающей более высокой аффинностью, лимитирует степень активации, так как имеющийся антиген B7 взаимодействует теперь с CTLA-4 (см. рисунок). О значении этой молекулы свидетельствует тот факт, что у лишенных CTLA-4 мышей развивается лимфопролиферативное расстройство, обусловленное отсутствием эффективной инактивации делящихся Т-клеток.



Роль CTLA-4 в регуляции Т-клеточной активации

sCD40, sCD40L (CD154)



Секреция sCD40L при образовании тромба

Молекула CD40 представляет собой фосфопротеин с молекулярной массой 48 кДа. Она экспрессируется не только на В-лимфоцитах, но и на клетках эндотелия, макрофагах, дендритных (в основном на фолликулярных) клетках. Ее лиганд CD154 экспрессируется на активированных Т-клетках, тучных клетках и базофилах. По своей структуре молекула CD40 гомологична рецепторам для TNF-α, CD30, FAS-рецептору и др. В отличие от рецептора TNFα I типа в цитоплазматическом участке CD40 отсутствует «домен смерти», определяющий передачу сигнала к апоптозу. Сигнал, передаваемый в В-лимфоцит через молекулу CD40, обуславливает основные события Т-В взаимодействия. Такой сигнал в конечном итоге обеспечивает включение в В-лимфоцитах ряда событий перво-степенной важности: переключение классов иммуноглобулинов, индукцию пролиферации и дифференцировки при гуморальном иммунном ответе. Этот сигнал важен также для развития В-клеток памяти, формирования зародышевых центров, защиты В-лимфоцитов от апоптоза.

Аналогичный сигнал, генерируемый в макрофагах, эндотелиальных клетках и фибробластах, включает активационные события, важные для осуществления воспалительной реакции. Обсуждается потенциальная вспомогательная роль CD40L при В-клеточных опухолях, кроме того, было обнаружено, что молекулярный дефект при X-связанном гипер-IgM синдроме относится к гену CD40L, его функции затрагиваются в В-клеточных

гибридомах, при хроническом лимфоцитарном лейкозе, а так же при различных аутоиммунных заболеваниях. Предполагается, что sCD40L является потенциальным индикатором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний: его уровень повышен при инфаркте миокарда, сердечной недостаточности, инсульте.

sCD26

NEW

CD26 АГ активации Т-клеток, представляет собой 110кДа гликопротеин на поверхности клетки. Экстрацеллюлярный домен, обладающий дипептидил пептидазной активностью (DPPIV), присутствует на разных типах клеток, включая Т-клетки и эпителиальные клетки печени, почек и кишечника. Среди всех известных на сегодняшний день АГ Т-клеток, CD26 представляет, пожалуй, наибольший интерес в плане своих функциональных ассоциаций. Есть свидетельства в пользу того, что CD26 может осуществлять передачу потенциального костимулирующего сигнала на Т-клетки. Предполагается, что свойство трансдукции сигнала принадлежит экстрацеллюлярному домену. Кроме того, CD26 может быть функциональным рецептором коллагена, который может помогать активировать Т-клетки при локализации в местах воспаления. Также было показано, что CD26 не только действует как функциональная дипептидил пептидаза IV, но также прочно связывает аденозин деаминазу. Значительный уровень активности DPPIV был обнаружен в плазме, сыворотке и моче. Сывороточная форма DPPIV уникальна, она не является продуктом разрушения мембранного CD26, тем не менее, при этом имеет значительное структурное сходство с мембранной формой.

Подобно многим другим молекулам Т-клеток, CD26 ассоциирован с прогрессированием ВИЧ заболевания. Существует корреляция между экспрессией CD26 и заражением, репликацией и цитопатичностью ВИЧ. CD26 является ключевым маркером моноцитотропной инфекции ВИЧ-1. Описан механизм ранней потери CD26-экспрессирующих клеток у ВИЧ-1 инфицированных паци-

Диагностическая значимость растворимых ко-стимулирующих молекул при различных заболеваниях

sCD27	неходжкинская лимфома синдром Шегрена СПИД дисфункция почек	sCD40	почечная недостаточность	sCD80	артриты
sCD30	прогноз отторжения трансплантата атопические дерматиты хронические гепатиты эмбриональная карцинома ходжкинская лимфома СКВ и ревматоидный артрит малярия	sCD40L	сердечно-сосудистые заболевания инсульт диабет метастазы в кость	sCD134 (OX 40)	Т-клеточная лимфома ревматоидный артрит СПИД миокардиты
sCD28	артриты	sCD137	рассеянный склероз лейкозы	sCD152 (CTLA- 4)	АИЗ щитовидной железы

ентов. CD26 используют в качестве маркера активации Т-клеток – показано, что его содержание меняется параллельно с некоторыми аутоиммунными заболеваниями, такими как РА и аутоиммунный тиреоидит. Известно, что CD26 является маркером, коррелирующим с уровнем активности этих заболеваний. В ряде работ показано, что CD26 может служить индикатором клинического прогрессирования множественного склероза.

sCD27

CD27 - член суперсемейства TNF-рецепторов, экспрессируется на большинстве Т-клеток и на всех NK-клетках. Проводя ко-стимуляторный сигнал в Т-клетки, CD27 индуцирует продукцию INF γ . Его лиганд, молекула CD70, экспрессируется на лимфоцитах и Т-клетках, инфицированных вирусом иммунодефицита человека. Эктопическая экспрессия CD70 на лимфоцитах приводит к отбраковке этих клеток, опосредованной NK-клетками и/или Т-клетками в зависимости от типа опухолевых клеток. Иммунизация CD70-экспрессирующими опухолевыми клетками приводит к индукции Т-клеточной памяти. Повышенная концентрация sCD27 в сыворотке обнаружена у пациентов при В-клеточных лимфомах, уровень sCD27 строго коррелирует со степенью тяжести развития заболевания. Было показано, что уровень маркера повышен у пациентов при хронических вирусных инфекциях, например, при ВИЧ или инфекции HTLV-I, синдроме Шегрена, заболеваниях щитовидной железы.

sCD30, sCD30L

При определении антигена CD30 было показано, что его зрелая форма представляет собой трансмембранный белок с м.м. 120 kDa преобразованный из цитоплазматического предшественника 84 kDa в основном путем гликозилирования. Идентифицированный лиганд CD30 (CD30L) показывает значительную гомологию с TNF- α и - β , FasL, CD40L, CD27L и 4-1BBL. CD30L экспрессируется на активированных Т-клетках. Взаимодействие цитокинового рецептора CD30 со своим лигандом имеет плейотропные биологические эффекты, такие, как, например, дифференцировка, активация, пролиферация и клеточная гибель. В CD30⁺ клеточных линиях связывание CD30L индуцирует гибель клеток в процессе апоптоза. Более того, CD30 вполне может быть вовлечен в контроль CD40/CD40L сигнала, пролиферацию Т-клеток, созревание В-клеток, индуцированное Т-клеточными цитокинами. Таким образом, CD30 передает информацию, необходимую для иммунного ответа. Экспрессия CD30 строго зависит от активации и пролиферации Т- и В-клеток. Появляется все больше данных о клиническом использовании молекулы CD30, ее потенциальной роли в терапии. Было показано *in vitro* и *in vivo*, что 85 кДа растворимая форма предшественника CD30 (sCD30) обнаруживается в CD30⁺ клетках. Концентрация sCD30 в сыворотке может быть использована как маркер CD30⁺ клеток, присутствующих в организме.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Кат. №	Производитель	Наименование
BMS812FF	Bender MedSystems	Набор для определения 6 молекул клеточной адгезии методом проточной цитометрии 6plex (sICAM-1, sICAM-3, sVCAM-1, sPECAM-1, sE-selectin, sP-selectin), 96
BMS201	Bender MedSystems	Молекула межклеточной адгезии-1 (sICAM-1), 96
BMS236	Bender MedSystems	Молекула межклеточной адгезии-2 (sICAM-2), 96
BMS229	Bender MedSystems	sPECAM-1, 96
BMS232	Bender MedSystems	Молекула адгезии сосудистого эндотелия 1 типа (sVCAM-1), 96
BMS205	Bender MedSystems	sE-селектин, 96
BMS206	Bender MedSystems	sL-селектин, 96
BMS218	Bender MedSystems	sICAM-3, 96
BMS219	Bender MedSystems	sP-селектин, 96
BMS253	Bender MedSystems	sVE-кадгерин, 96
BMS255	Bender MedSystems	Муциноподобный гликопротеиновый лиганд-1 P-селектина (sPSGL-1), 96
BMS235	Bender MedSystems	sCD26, 96
BMS286	Bender MedSystems	sCD27, 96
BMS290	Bender MedSystems	sCD28, 96
BMS240	Bender MedSystems	sCD30, 96
BMS298	Bender MedSystems	sCD30L (sCD153), 96
BMS265	Bender MedSystems	sCD40, 96
BMS239	Bender MedSystems	sCD40 лиганд, 96
BMS291	Bender MedSystems	sCD80 Instant ELISA, 96
BMS292	Bender MedSystems	sCD86, 96
BMS296	Bender MedSystems	sCD134 (OX-40), 96
BMS289	Bender MedSystems	sCD137, 96
BMS276	Bender MedSystems	sCTLA-4 (CD152), 96

