

胶原性巨噬细胞清道夫受体研究进展

李万里 沃兴德

(浙江中医学院分子医学研究所, 杭州 310009)

摘要 胶原作为人体中最丰富的蛋白质是细胞外基质的一种主要成份。在巨噬细胞的膜蛋白中, I 型和 II 型清道夫受体及胶原样巨噬细胞受体都有一个胶原结构域。对 I 型和 II 型受体缺陷小鼠的分析和组织化学研究指出, 这些蛋白质对巨噬细胞的清除、粘附和宿主的防御功能有重要作用。

关键词 巨噬细胞; 清道夫受体

为研究受体分子而克隆的 I 型和 II 型巨噬细胞清道夫受体提示, 在动脉粥样硬化过程中胆固醇的病理沉积与受体介导修饰低密度脂蛋白 (low density lipoprotein, LDL) 的摄取有关^[1]。I 型和 II 型受体最显著的结构特征是它们都有一个胶原结构。除乙酰胆碱酯酶外, 胶原已明确是一种主要的细胞外基质蛋白质而在细胞膜中含量很少。I 型和 II 型受体显示出交替拼接而成, 并由六个结构域组成^[2]。在 I 型和 II 型受体分子克隆后, 又克隆了胶原样巨噬细胞受体 (macrophage receptor with collagenous structure, MARCO)、CD36、SR-B1 及 CD68 等结构和功能相关蛋白质^[3]。这些蛋白质中, I 型、II 型受体及 MARCO^[4]都含有一个胶原结构。本文着重讨论巨噬细胞胶原性受体的结构和功能。

1 清道夫受体、胶原样巨噬细胞受体和胶原结构的功能

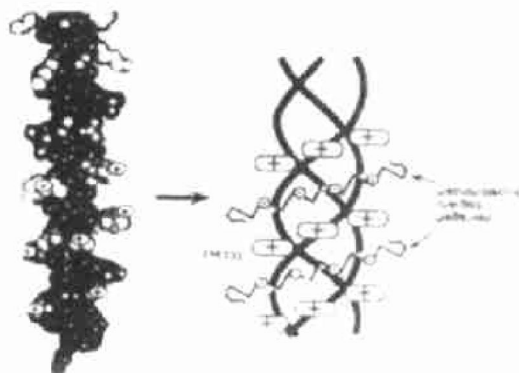
I 型、II 型受体和 MARCO 的一个显著特征是它们都具有广泛的配体结合特性^[5]。就 I 型和 II 型受体来说, 突变实验^[11]指出胶原样结构域 C-端的 22 个氨基酸介导配体识别, 在牛、人、兔和小鼠的 I 型和 II 型

受体中这一结构域含有五种高度保守的基本氨基酸。在这个结构域的 C-端有一个完全保守的氨基酸序列。进一步的点突变实验^[6]显示, 赖氨酸簇中心的第 337 位赖氨酸 (在牛受体中) 被甘氨酸所取代而丧失了对乙酰 LDL 的结合活性。这一突变产物对氧化型 LDL 依然保持弱的结合活性, 但在邻近赖氨酸残基被取代后丧失。基于这些发现和胶原骨架的晶体图谱数据, 建立了一个作为“带电胶原分子”的配体结合区域的计算机图示模型。在这一模型中, 环绕赖氨酸残基可形成一个卷曲的沟槽。在三重螺旋中的第 337 位赖氨酸的边链正好进入带电的三重螺旋空间的中心, 在此可以结合修饰 LDL 中的载脂蛋白 B100 片段、聚鸟苷酸和聚肌苷酸等带负电荷的大分子。

胶原样巨噬细胞受体、I 型和 II 型受体的 α -螺旋卷曲结构被一个较长的胶原样弹性结构所替代^[4]。对两种胶原样结构域氨基酸序列的比较显示, MARCO 的 C-端有一个类似赖氨酸簇氨基酸序列, 可能是 MARCO 的配体结合位置。配体通过受体介导的胞饮作用被吸收后, I 型和 II 型受体结合的配体在酸性饮泡内被解离。这个功能来自 α -螺旋卷曲区域结构的变化^[7]。但 MARCO 没有这个结构, 推测 MARCO 不能在细胞内解离配体。到目前为止, 仍未弄清 MARCO 能否通过受体介导的胞饮作用或吞噬作用来摄取配体。

单克隆抗体 2F₈^[8]能抑制与二价阳离子无关的巨噬细胞的粘附作用, 识别小鼠 I 型和 II 型受体的 α -螺旋卷曲区域, 推测胶原样结构域可能与粘附作用有关。已合成了含有 39 个氨基酸并包括配体结合区域的 I 型和 II 型受体胶原样结构域的模型多肽^[9,10] (见图), 单体多肽在 N-端连接形成三聚体, 且能形成胶原样三聚结构并结合乙酰 LDL, 而单体分子或第 337 位

赖氨酸突变的三聚体分子不能与乙酰 LDL 结合。



附图. 模型多肽的结构。

2 巨噬细胞胶原性受体的表达

I 型、II 型受体和 MARCO 主要由巨噬细胞系细胞所表达,但细胞类型和调节机制并不一样。I 型、II 型受体基本上存在巨噬细胞内,包括肝脏的 Kupffer 细胞、肺泡、腹腔及具有旺盛清道夫功能的其它巨噬细胞^[11]。I 型和 II 型受体还在大脑皮层外周血管的巨噬细胞(Mato 细胞)中高度表达^[12]。相反,具有抗原递呈功能的巨噬细胞系细胞,包括表皮的 Langerhans 细胞及树状细胞,受体水平表达较低甚至不易检测。I 型和 II 型受体在肝脏和肾上腺的波状内皮细胞中也有表达^[11,13],而且在淋巴结的微静脉内皮细胞中表达更高^[13]。I 型和 II 型受体的表达可受巨噬细胞集落刺激因子的调节而升高^[11,15],也可受活化的天然 γ -干扰素或 α -肿瘤坏死因子的调节而下降^[14]。总之, I 型和 II 型受体主要在巨噬细胞和波状内皮细胞中得到表达,功能性地专负胞饮和吞噬功能。正常的动物中, MARCO 的表达局限于淋巴结、脾脏边缘区的巨噬细胞及腹腔巨噬细胞^[4]。边缘区的巨噬细胞在解剖结构上有重大意义,此处血液离开小动脉,单核吞噬细胞首先接触血液携带的病原体。当动物被细菌感染或注射细菌脂多糖或卡介苗时,包括 Kupffer 细胞和肺泡巨噬细胞在内的各种器官的巨噬细胞中 MARCO 表达减少^[4]。

人^[11,17-19]和小鼠^[20]的 I 型和 II 型受体基因启动子已被测出序列并进行了分析。Glass 等^[17,18]指出应用大羧二酯酶治疗时 PU-1 型和合成的 AP-1 型介导人单核白血病细胞系 THP-1 向巨噬细胞样细胞转化。利用这一启动子,受体基因可以在动脉粥样硬化的转基因小鼠的巨噬细胞中得到表达^[19]。牛的 I 型清道夫受体在转基因小鼠肝脏的高度表达可抑制饮食引起的高 β 脂蛋白血症^[21]。这个启动子还具有在生长因子协同作

用下在平滑肌细胞中表达 I 型和 II 型受体的功能^[22]。

3 I 型和 II 型清道夫受体基因“敲除”小鼠

3.1 I 型和 II 型受体基因“敲除”小鼠巨噬细胞的胞饮活性

Suzuki 等利用胚胎干细胞通过基因靶培育出 I 型和 II 型受体基因“敲除”小鼠。I 型和 II 型受体基因“敲除”小鼠可以正常生长和繁殖。I 型和 II 型受体基因“敲除”小鼠的纯合子小鼠的腹腔巨噬细胞对乙酰 LDL 和氧化型 LDL 的降解活性分别为正常的 20% 和 40%。这些巨噬细胞对预糖基化的牛血清白蛋白的摄取大约为正常对照水平的三分之一。这些结果表明在各种清道夫受体相关蛋白中, I 型和 II 型受体是最有效的胞饮受体。I 型和 II 型受体对乙酰 LDL 的特异性最好,其次是糖基化配体,而对氧化型 LDL 的特异性较小。

3.2 I 型和 II 型受体基因“敲除”巨噬细胞对凋亡细胞的吞噬作用

虽然大量未成熟胸腺细胞经历凋亡,但由于胸腺基质中巨噬细胞的快速吞噬作用而在胸腺组织中很少出现死亡细胞。正常胸腺巨噬细胞摄取类固醇处理的凋亡胸腺细胞可受到 I 型和 II 型受体单克隆抗体 2F₁ 的部分抑制。体外培养显示, I 型和 II 型受体基因“敲除”巨噬细胞对凋亡胸腺细胞的吞噬作用下降了 50%。这些结果表明 I 型和 II 型受体清除死亡细胞是必要的,而且也暗示在这一过程中存在另外的吞噬受体^[23]。值得注意的是与功能有关但与结构无关的清道夫受体蛋白 CD36,当它转染到 CD36 缺陷细胞时,能增强对凋亡细胞的吞噬作用的能力^[24]。

3.3 I 型和 II 型受体基因“敲除”巨噬细胞的粘附功能

在离体培养中, I 型和 II 型受体介导小鼠巨噬细胞与二价阳离子无关的粘附作用^[4]。用硫代羧乙酸刺激所收集的正常腹腔巨噬细胞在孵育过夜后能牢固地粘附于塑料培养板上,并可观察到很多伪足。I 型和 II 型受体基因“敲除”巨噬细胞在孵育过夜后(12~20 h)仍呈圆盘状,并很少粘附。I 型和 II 型受体基因“敲除”巨噬细胞需要 40 h 以上才能粘附于塑料板上,变成与正常粘附的巨噬细胞一样。这些结果表明在粘附过程的早期,至少在开始培养的 24 h 内, I 型和 II 型受体介导的粘附作用是很重要的,后阶段其它粘附分子起重要作用。

3.4 胶原性受体在巨噬细胞宿主防御功能中的作用

有人报道 I 型和 II 型受体可结合细菌内毒素^[25]和革兰氏阳性细菌, 识别脂磷壁酸^[26]。纯合子 I 型和 II 型受体基因“敲除”小鼠易受李士德菌感染。已知该菌为宿主细胞吞噬后, 细菌被包裹在溶酶体内, 溶酶体的低 pH 环境激活李士德菌裂解素 O, 溶解隔膜而使李士德菌逸入细胞质中。李士德菌可引起清道夫受体功能损伤, 但作用机理不清楚。注射卡介苗的纯合子 I 型和 II 型受体基因“敲除”小鼠对细菌脂多糖更敏感。近来, 一组带有包括荷电胶原结构在内的胶原样区域的蛋白质、甘露醇结合蛋白和其它凝集素也显示出与宿主防御机制有关。

3.5 I 型和 II 型受体基因“敲除”小鼠的动脉粥样硬化

为了检测 I 型和 II 型受体对动脉粥样硬化的直接作用, Suzuki 等为动脉粥样硬化模型繁殖了 I 型和 II 型受体基因“敲除”小鼠, 从中选择合并 LDL 受体或载脂蛋白 E 受体缺陷的小鼠。载脂蛋白 E 受体缺陷的小鼠不给高胆固醇饮食时观察其粥样斑块的形成。LDL 受体缺陷小鼠从 10 周龄时给予 1.25% 的高胆固醇饮食。从 I 型和 II 型受体合并 LDL 受体或载脂蛋白 E 受体缺陷的动物中均观察到动脉粥样硬化的形成。初步测定斑块面积表明, I 型和 II 型受体基因“敲除”动物比的斑块面积比合并 LDL 受体或载脂蛋白 E 受体缺陷动物约小 40%。动脉粥样硬化斑块面积易受遗传背景、年龄、性别和其它可变因素的影响, 进一步的细致研究需要完整的定量分析。

4 结论

胶原性清道夫受体的受体介导胞饮、吞噬及粘附作用与其胶原样结构有关。I 型和 II 型受体广泛地表达于各种组织中, 在体内起清除剂的作用。免疫刺激可引起 MARCO 在巨噬细胞特定亚群中表达, 表明其在细菌感染和炎症期间起着宿主防御作用。清道夫受体还与动脉粥样硬化有关, 不久的将来可应用小鼠病理模型对其作用作精密的测定。

参考文献

- 1 Rohrer L, Freeman M, Kodama T, et al. Coiled-coil fibrous domains mediate ligand binding by macrophage scavenger receptor type II. *Nature*, 1990, **343**: 570~572.
- 2 Emi M, Asaoka H, Matsumoto A, et al. Structure, organization and chromosomal mapping of the human macrophage scavenger receptor gene. *J Biol Chem*,

1993, **268**: 2 120~125.

- 3 Krieger M. Molecular flypaper and atherosclerosis: structure of the macrophage scavenger receptor. *Trends Biochem Sci*, 1992, **17**: 141~146.
- 4 Elomaa O, Kangas M, Sahlberg C, et al. Cloning of a novel bacteria-binding receptor structurally related to scavenger receptors and expressed in a subset of macrophages. *Cell*, 1995, **80**: 603~609.
- 5 Brown MS, Basu SK, Falck JL, et al. The scavenger cell pathway for lipoprotein degradation: specificity of the binding site that mediates the uptake of negatively-charged LDL by macrophages. *J Supramol struct*, 1980, **13**: 67~81.
- 6 Doi T, Higashino K, Kurihara Y, et al. Charged collagen structure mediates the recognition of negatively charged macromolecules by macrophage scavenger receptor. *J Biol Chem*, 1993, **268**: 2 126~133.
- 7 Doi T, Kurasawa M, Higashino K, et al. The histidine interruption of an alpha-helical coiled coil allosterically mediates a pH-dependent ligand dissociation from macrophage scavenger receptors. *J Biol Chem*, 1994, **269**: 25 598~604.
- 8 Fraser I, Hughes D, Gordon S, et al. Divalent cation-independent macrophage adhesion inhibited by monoclonal antibody to murine scavenger receptor. *Nature*, 1993, **364**: 343~346.
- 9 Tanaka T, Wada Y, Nishikawa A, et al. A synthetic model of collagen structure taken from bovin macrophage scavenger receptor. *FEBS Lett*, 1993, **334**: 272~276.
- 10 Tanaka T, Nishikawa A, Wada Y, et al. Synthetic collagen-like domain derived from the macrophage scavenger receptor binds acetylated low density lipoprotein in vitro. *Protein Engineering*, 1996, **9**: 307~313.
- 11 Matsumoto A, Naito M, Suzuki H, et al. Human macrophage scavenger receptor: primary structure, expression and localization in atherosclerotic lesions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87**: 9 133~137.
- 12 Mato M, Ookawara S, Sakamoto A, et al. Involvement of specific macrophage lineage cells surrounding arterioles in barrier and scavenger function in brain cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**: 3 269~274.
- 13 Geng YJ, Hansson GK. High endothelial cells of post-capillary venules express the scavenger receptor in human peripheral lymph nodes. *Scand J Immunol*, 1995, **42**: 289~296.
- 14 De Villiers WJ, Fraser IP, Hughes D, et al. Macrophage-colony-stimulating factor selectively en-

- hances macrophage scavenger receptor expression and function. *J Exp Med*, 1994, **180**: 705~709.
- 15 De Villiers WJ, Fraser IP, Gordon S, et al. Cytokine and growth factor regulation of macrophage scavenger receptor expression and function. *Immunol Lett*, 1994, **43**: 73~79.
- 16 Geng YJ, Hansson G, Stemme S, et al. Interferon gamma inhibits scavenger receptor expression and foam cell formation in human monocyte-derived macrophages. *J Clin Invest*, 1992, **89**: 1 322~330.
- 17 Moulton KS, Semple K, Wu H, et al. Cell-specific expression of the macrophage scavenger receptor gene is dependent on PU-1 and a composite AP-1/ets motif. *Mol Cell Biol*, 1994, **14**: 4 408~418.
- 18 Wu H, Moulton K, Semple K, et al. Combinatorial interactions between AP-1 and ets domain protein contribute to the developmental regulation of the macrophage scavenger receptor gene. *Mol Cell Biol*, 1994, **14**: 2 129~139.
- 19 Horvai A, Palinski W, Buylar S, et al. Scavenger receptor A gene regulatory elements target gene expression to macrophages and to foam cells of atherosclerotic lesions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, **92**: 5 391~395.
- 20 Afring RP, Freeman MW. Structure of the murine macrophage scavenger receptor gene and evaluation of sequences that regulate expression in the macrophage cell line.P388D. *J Lipid Res*, 1995, **36**: 1 305~314.
- 21 Wolle S, Via DP, Saxena U, et al. Hepatic overexpression of bovine scavenger receptor type I in transgenic mice prevents diet-induced hyperbetalipoproteinemia. *J Clin Invest*, 1995, **96**: 260~272.
- 22 Gong Q, Pitas RE, Bellosta S, et al. Synergistic effects of growth factors on the regulation of smooth muscle cell scavenger receptor activity. *J Biol Chem*, 1995, **270**: 21 672~678.
- 23 Platt N, Suzuki H, Mato M, et al. A role for the class A macrophage scavenger receptor(SR-A) in phagocytosis of apoptotic thymocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, **93**: 5 391~395.
- 24 Ren Y, Silverstein RL, Madden KS, et al. CD36 gene transfer confers capacity for phagocytosis of cells undergoing apoptosis. *J Exp Med*, 1995, **181**: 1 857~862.
- 25 Hampton RY, Golenbock DT, Raetz C, et al. Recognition and plasma clearance of endotoxin by scavenger receptors. *Nature*, 1991, **352**: 342~344.
- 26 Dunne DW, Resnick D, Greenberg J, et al. The type I macrophage scavenger receptor binds to gram-positive bacteria and recognizes lipoteichoic acid. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91**: 1 863~867.
- 27 Sumiya M, Super M, Suzuki H, et al. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *Lancet*, 1991, **337**: 1 569~570.
- 28 Hoppe HJ, Reid KB. Collectins-soluble proteins containing collagenous regions and lectin domains and their roles in innate immunity. *Protein Sci*, 1994, **3**: 1 143~158.

(此文 1998-07-05 收到, 1998-10-27 修回)

(此文编辑: 文玉珊)