

人脑凝集素

王拥军

(首都医学院宣武医院神经生化室, 北京 100053)

提 要

人脑凝集素是近年从脑中分离到的一种糖结合蛋白, 它可通过盐析和层析的方法加以纯化. 现已弄清了这一蛋白的分子结构. 其在脑中的分布受生长发育的调节; 在不同的发育时期行使其不同的功能. 利用免疫学方法可测定其在血及脑脊液中的含量. 文中并探讨了它的生理和病理学意义.

关键词 凝集素, 脑, 糖结合蛋白

“Lectin”一般译为凝集素、植物凝集素或外源凝集素, 过去是指从人体之外(尤其是植物中)得到的一组大分子物质, 它们具有促进细胞凝集、分裂及转化的作用. 近年来, 从人脑中分离到了类似的活性物质, 称之为**人脑凝集素** (human brain lectin, HBL), 本文对有关研究现状作一简要介绍.

1 概 念

由于动物体内内源性凝集素的发现, 使得凝集素一词的概念也发生了变化. 1980年, Goldstein 等对凝集素提出了如下的概念^[1]: “凝集素是非免疫源性的糖结合蛋白或糖蛋白, 它凝集细胞和/或沉淀糖结合分子(glycoconjugates), 至少暴露两个糖结合位点.” 1981年 Kocourek 和 Horejsi 为凝集素一词下的定义为^[2]: “凝集素是非免疫源性的糖结合蛋白或糖蛋白, 对结合的糖基不具有酶的活性, 至少有一个结合位点.” 1988年 Barondes 对凝集素一词的概念作了更为高度的概括^[3], 指出: “凝集素是酶和抗体之外的糖结合蛋白.” 归纳上述概念, 可以看出: 凝集素是一组与糖特异性酶和抗体不同的糖结合蛋白, 可以识别糖蛋白和糖脂上特异性的糖基结构.

内源性凝集素可分为三大类^[4]: a. C型: 特点是依赖钙离子; b. S型: 不依赖钙离子, 但依赖硫醇(thiol); c. 其它: 即不依赖钙离子, 也

不依赖硫醇. 表1列出了内源性凝集素的分型.

表1 内源性凝集素的分型

分型	代表性物质	糖特异性
S型	14kD	β -D-半乳糖苷
	18kD	β -D-半乳糖苷
	22kD	β -D-半乳糖苷
	29kD	β -D-半乳糖苷
	35kD	β -D-半乳糖苷
C型	甘露糖结合蛋白	甘露糖
	粘合素	甘露糖
	肺表面纯化蛋白	甘露糖/岩藻糖
	C反应蛋白	半乳糖苷
其它	肝素结合蛋白(包括aFGF)	肝素/GAG
	唾液酸结合凝集素	O-乙酰唾液酸
	S小脑凝集素	甘露糖
	白介素1	脱氧葡萄糖、脱氧D-半乳糖

对S型凝集素的研究较多, S型凝集素又称为可溶性乳酸结合(S-Lac)凝集素或S-Lac半乳糖苷特异性凝集素. 其中研究较为清楚的是14kD人脑半乳糖苷可溶性凝集素.

2 纯化及结构

利用硫酸铵沉淀和乳酸-二乙烯磺酸盐琼脂糖凝胶(lactose-divinylsulfone agarose gel)

亲和层析可以纯化出 HBL^[5]。通过化学和蛋白水解方法得到的肽进行分析, Bladier 等弄清了人脑 14kD 凝集素的分子结构^[6]。这一蛋白由 134 个氨基酸残基组成, 其氨基酸排列顺序见图 1。

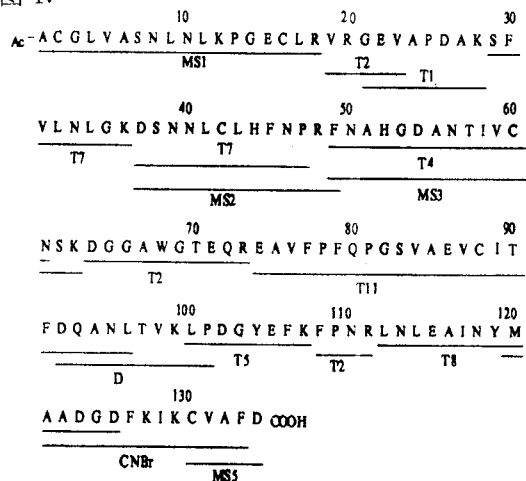


图 1 人脑凝集素的氨基酸序列 T 为胰蛋白酶肽;

D 为内蛋白酶 Asp-N 肽; CNBr 为溴化氰; MS 为气

相色谱识别的乙基-pyridylated 胰蛋白酶肽

这一分子结构与发现的其它凝集素进行了比较, 如从胎盘、肺、肝癌细胞 HepG₂ 株、白血病细胞株 HL60 分离的凝集素, 发现它们之间在分子结构上有极大的同源性, 与在其它哺乳动物体内得到的凝集素也具有同源性。这提示凝集素编码基因衍生于共同的原基因, 此基因产物也具有共同的抗原性, 抗 HBL 的抗血清同时与鼠脑、牛脑、人胎盘等的凝集素起交叉反应。

在 134 个氨基酸残基中, 第 68—71 之间的四肽 (W-G-T-E) 是糖结合位点, 在髓鞘碱性蛋白 (MBP) 中也有这个四肽结构, 这一四肽结构是 MBP 诱导实验性变态反应性脑脊髓炎的主要决定基团。HBL 的糖化位点可能位于 95—97 位 (A-L-T)。

3 分布及功能

脑凝集素的分布明显受生长发育的调节, 在成年脑中凝集素广泛分布于神经元的胞浆中, 但在发育的早期阶段却分布于细胞外。在

小鼠胚胎和生后脑的提取物中都发现了凝集素的存在, 其出生后的含量最高^[7]。在大鼠背根神经节神经元中也发现类似的表达规律。利用细胞自身凝集技术, 在出生后脑细胞表面发现了 β -半乳糖苷结合活性, 这提示在发育的某一阶段, 凝集素的分泌可能与细胞间的糖特异性结合有关。

在出生时的前 13d, 脑内凝集素主要分布于神经元内, 也存在于星形胶质细胞和血管周围细胞内, 但后者与神经元不同, 不具有随生长发育而变化的特性。在小脑内, 凝集素广泛分布于神经元、星形细胞和血管周围细胞内, 在出生后 10—13d 凝集素积聚于浦肯野氏细胞树突脊上。

HBL 在脑内结合的配体是糖蛋白和糖脂, 但具体的结合配体 (ligand) 仍不明确。Avellana 等发现了人脑中的两个蛋白组分 (41kD 和 43kD 蛋白) 能被内源性脑凝集素识别^[6], 这两个蛋白分子可能是 HBL 脑内结合的配体, 其配体在 HBL 行使功能时起着重要的作用。

HBL 的功能与分布的部位、发育阶段和生理-病理状态都有关系, 在很长一段时间内, HBL 被认为是细胞之间通过膜糖蛋白结合的桥梁。然而, 因为在细胞内分布着 HBL, 这就不难理解它有更多更复杂的功能。但目前对这些功能缺乏更深入的了解, 已经知道的一些功能有^[4]:

- 在新生儿大脑皮层, 参与突触和神经束的形成;
- 在成人大脑皮层, 参与细胞内运输;
- 在小脑, 参与成神经细胞的粘附和并行纤维束的形成;
- 在周围神经系统, 交联轴突表面和周围细胞表面或基质分子中的糖类, 识别其它种类的神经细胞粘附分子。

脑内的 HBL 可以进入脑脊液 (CSF) 内, 通过免疫学方法可以测定 CSF 中 HBL 的含量^[8], 这些研究有助于弄清 HBL 在病理情况下的临床意义。

[下转第 456 页]

- 4 Veronese F M, Boccu E, Schiavon O *et al.* Antiinflammatory and pharmacokinetic properties of superoxide dismutase derivatized with polyethylene glycol via active esters. *J Pharm Pharmacol*, 1983;**35**:757
- 5 Veronese F M, Startore L, Schiavon O *et al.* A comparative study of enzymatic, structural, and pharmacokinetic properties of superoxide dismutase isolated from two sources and modified by monomethoxy-polyethylene glycol using different methods of coupling. *Ann N Y Acad Sci*, 1990;**613**:468
- 6 区耀华, 吕冬, 周昕. 超氧化物歧化酶化学修饰的初步研究. *生物化学与生物物理进展*, 1989;**16**(3):203
- 7 Charles O, Steven L G, David P M *et al.* A new procedure for the synthesis of polyethylene glycol-protein adducts; effects on function, receptor recognition and clearance of superoxide dismutase, lactoferrin and α_2 -macroglobulin. *Anal Biochem*, 1983;**131**:25

A Preliminary Study on Chemical Modification of Recombinant Human Superoxide Dismutase

Luo Xunyi Wang Jingyi Xie Bangtie Li Zhanqing Liu Xiaoling Chen Xiaosui

(Laboratory of Molecular Biology, Naval General Hospital, Beijing 100037)

ABSTRACT

To overcome several disadvantages of the use of superoxide dismutase (SOD) in its native form the surface modification of therapeutically useful enzyme by covalent linkage of nontoxic, nonimmunogenic, and biocompatible polymers has been investigated. Recombinant human Cu/Zn SOD (rh Cu/Zn SOD) obtained from *E. coli* was coupled chemically with activated polyethylene glycol (PEG). The modified rhCu/Zn SOD, with apparent molecular weight about 60000 daltons, has longer half-life (15 hours), and the remaining enzyme activity is more than 80 per cent. Its stabilities against acid, alkali and heat were increased significantly. The relation between the amount of PEG used and the remained enzyme activity was also reported.

Key words superoxide dismutase, chemical modification, PEG, genetic engineering

[上接第 436 页]

参 考 文 献

- 1 Goldstein I J, Hughes R C, Monsigny M *et al.* What should be called a lectin? *Nature*, 1980;**285**:66
- 2 Kocourek J, Horejsi V. Defining a lection. *Nature*, 1981;**290**:181
- 3 Barondes S H. Bifunctional properties of lectins; lectin redefined. *TIBS*, 1988;**13**:480
- 4 Caron M, Bladier D, Joubert R. Soluble galactoside-binding vertebrate lectins; a protein family with common properties. *Int J Biochem*, 1990;**22**:1379
- 5 Bladier D, Joubert R, Avellana-Adalid V *et al.* Purification and characterization of a galactoside-binding lectin from human brain. *Archs Biochem Biophys*, 1989;**269**:433
- 6 Bladier D, Le Caer J P, Joubert R *et al.* β -Galactoside soluble lectin from human brain; complete amino acid sequence. *Neurochem Int*, 1991;**18**:275
- 7 Joubert R, Caron M, Bladier D. Distribution of β -galactoside specific lectin activities during pre- and post-natal mouse brain development. *Cell Molec Biol*, 1988;**34**:79
- 8 Eloumami H, Bladier D, Caruelle D *et al.* Human brain lectin immunoreactive materia in cerebrospinal fluids determined by enzyme immunoassay (EIA). *J Neurol Sci*, 1991;**105**:6