

SEJTADHÉZIÓ

A többsejtű szervezetekben a sejtek adott funkcióra specializált szöveteket alkotnak. Ehhez a magas szintű szerveződéshez elengedhetetlen a *sejtek egymáshoz és az extracelluláris mátrix (ECM) elemeihez* való kapcsolódása. A szigorúan rendezett szöveti struktúra fenntartásán kívül ezek az interakciók fontos szerepet töltenek be a *sejtmigrációban*, a *differenciálódásban* és a sejtek közötti *kommunikációban* is. Mind a sejtadhézió, mind a sejt-mátrix kapcsolat *dinamikusán változó* kölcsönhatások eredménye, mely kölcsönhatások kialakításában részt vesznek az ECM komponensei (pl. kollagéntrostok, glükózaminoglikánok és proteoglikánok, fibronectin, laminin), a plazmamembránhoz asszociált sejt felszíni adhéziós proteinek, valamint esetenként a citoskeleton elemeit a membrán-proteinekhez horgonyzó kapcsolófehérjék.

A konzultáció céljai

A konzultáció során a hallgató:

- 1) megismeri a sejtadhéziós molekulák egyes osztályainak szerkezeti és funkcionális jellemzőit
- 2) elsajátítja a sejt kapcsoló struktúrák biológiai szerepét
- 3) értelmezi molekuláris szinten a sejt közötti kapcsolatokat átalakulásait két kiemelt kóros állapotban (tumorok fejlődése során, leukocita migráció gyulladás során).

Sejtfelszíni adhéziós molekulák

A különböző szövetek proteolitikus kezelése után keletkező különálló sejtek összekeverésénél azt találták, hogy a reaszociáció során leginkább az azonos szövetből származó sejtek kapcsolódtak össze. Különböző fajokból nyert sejtek összekeverésénél is főként az azonos szövetből származó sejtek tapadtak össze. Ennek magyarázata az, hogy a sejtmembránban található adhéziós molekulák (cell adhesion molecules, **CAM**) evolúciósan konzervált szerkezetű, az adott sejtfeleségre, sőt, a sejt aktuális állapotára (pl. nyugvó vagy aktivált állapot, differenciáltsági fok) is jellemző fehérjék.

Ha a kapcsolat két sejt ugyanolyan típusú sejtadhéziós molekulái között jön létre, *homotípiás* kötődésről beszélünk, ha az adhézió kialakításában résztvevő fehérjék különböző szerkezetűek, a kapcsolatot *heterotípiásnak* hívjuk. Bár az adhéziós molekulák között létrejövő kölcsönhatás általában gyenge, az egymás mellett elhelyezkedő nagyszámú kötőfehérje megfelelő összetartó erőt képes biztosítani („tépőzár elv”). Gyakran a fehérjék nem különállóan hozzák létre a kötést, hanem csoportokba rendeződve, sejt kapcsoló struktúrák részeként.

Hagyományosan a sejtadhéziós kölcsönhatásokat Ca^{2+} -dependens és Ca^{2+} -independens csoportra osztjuk attól függően, hogy a kötés Ca^{2+} ionok jelenlétében vagy azok hiányában is létrejön-e. Újabban a molekulákat fehérjeszerkezet alapján soroljuk csoportokba. A 4 fő CAM csoport: 1) *integrinek*, 2) *kadherinek*, 3) *immunglobulin szupercsaládba tartozó sejtadhéziós molekulák*, 4) *szelektinek*.

Integrinek

Feladatuk a sejtek ECM-hoz való lehorgonyzása, sejt-sejt adhéziós kölcsönhatás kialakítása, továbbá két-irányú szignál átvitel, mivel intracelluláris fehérje-kapcsolataik révén részt vesznek az extracelluláris térből a sejt belseje felé irányuló és az ellenkező irányú, az intracelluláris változásokat a külvilág felé közvetítő jelátvitelben is. E tulajdonságaik alkalmassá teszik az integrineket olyan komplex mechanizmusok szabályozására, mint a véralvadás, a gyulladás, migráció, szöveti differenciáció, osztódás.

Heterodimer felépítésű transzmembrán fehérjék, működésükhöz bivalens kationokat, általában kalciumionokat igényelnek. Az emlősökben leírt α - és β -alegységek kombinációjából létrejövő 24 féle integrin molekula különböző sejtípusokon található meg, és egy sejt többféle integrint is hordozhat. Bár néhány integrin ligandszelektivitása igen specifikus (pl. csak fibronectinhez vagy lamininhez kötődnek), általában többféle ligandot is képesek megkötni. Az integrinek legtöbbször az *RGD* (*arginin-glicin-aszpartát*) aminosav-szekvenciához kötődik. Ez a tripeptid nemcsak ECM makromolekulákban (kollagén, laminin, fibronectin, vitronectin) fordul elő, hanem megtalálható plazmafehérjékben (szolubilis fibronectin, fibrinogén, von Willebrand faktor) és sejt felszíni proteinekben is (pl. számos hormon- és neurotranszmitter-receptorban, amelyek esetleges adhezív funkciója jelenleg is kutatás tárgya). Az integrin molekula citoplazmás doménje kapcsolódik az aktin mikrofilamentumhoz, a talin, vinkulin és α -aktinin, filamin, integrin-kapcsolt kináz (ILK) kapcsolófehérjék útján. A hemidezmoszómát alkotó integrin intracellulárisan az intermedier filamentumokkal áll kapcsolatban.

Sejtek közötti adhéziós molekulaként működik a *Mac1* ($\alpha_M\beta_2$ -integrin). A főleg makrofágokon jelen lévő fehérje tulajdonképpen komplementreceptor, ligandja az idegenként felismert sejtekhez kötődött C3b komplement-fragmentum. A ligandkötés hatására a makrofág fagocitózissal elpusztítja az immunrendszer által károsnak ítélt és a komplement-fragmentummal megjelölt (opszonizált) sejtet. Az LFA1-gyel együtt részt vesz a leukocita-adhézióban is.

Az *LFA1* ($\alpha_L\beta_2$ -integrin) leukocitákon expresszálódik, ligandjai az immunglobulin szupercsaládba tartozó ICAM1 és ICAM2. Fő feladata az érfal mentén gördülő leukociták kikötése az endotél felszínhez. Ez az adhézió teszi lehetővé a fehérvérsejtek érpályából való kivándorlását, ezáltal a lokalizált szöveti gyulladási reakció kialakulását. Az LFA1 örökletes defektusa az I-es típusú leukocita-adhéziós deficiencia (LAD I) néven ismert kórképhez vezet (ld. később).

A *GpIIb/IIIa* ($\alpha_{IIb}\beta_3$ -integrin) néven ismert glikoprotein vérlemezkék membránjában van jelen. A trombocita-aktiváció során konformációváltozást szenved és az RGD-kötőhely felszínre kerülésével képessé válik a véralvadásban jelentős plazmafehérjék (fibrinogén, von Willebrand faktor) megkötésére. Ez az alapja a trombocita-aggregáció folyamatának. A klinikumban egyre elterjedtebben használnak GpIIb/IIIa antagonistákat a véralvadás kóros aktiválódásaként is felfogható trombózis kezelésére, megelőzésére. A fehérje örökletes defektusa okozza a vérzékenységgel járó Glanzmann-féle trombaszténiát.

A fokális kontaktusról és a hemidezmoszómáról, amelyeknek fő építőelemei szintén integrinek, a sejt kapcsoló struktúráknál szólnak.

Kadherine

A kadherin szupercsaládba egy vagy több transzmembrán szakasszal rendelkező glikoproteinek tartoznak, melyek extracelluláris doménjén repetitív *cadherin-repeat* szubdomének találhatók. Ezekhez az ismétlődő fehérje-szekvenciákhoz Ca^{2+} kötődik és a

következmenyes konformációváltozás lehetővé teszi a szomszédos sejtek kadherin molekulái közötti kötés kialakulását; a kadherinek tehát Ca^{2+} dependens, homofil kapcsolatot létrehozó adhézis molekulák. A kadherinek a plazmamembrán citoplazmatikus oldalán a sejtváza mind *aktin*- mind *intermediér filamentum* rendszerével állhatnak kapcsolatban fehérje komplexeken keresztül, amelyek receptor molekulákat, szerkezeti (scaffold) fehérjéket és/ vagy enzimeket (protein-kinázok, foszfatázok) is tartalmaznak. A fehérje komplexek a sejt plazmamembránjának belső oldalán a kadherin molekulák intracelluláris doménje köré szerveződnek. Így tehát érthető, hogy a kadherinek számos szignáltranszdukciós útból részt vesznek.

Az először felfedezett kadherinokat szöveti előfordulásuk szerint nevezték el. Az *E-kadherin* az epiteliális sejtek összetartásáért felelős, megtalálható pl. a bőrben, bélhamban és a vese tubulusaiban, fontos szerepet játszik az embrionális morfogenezis során. A zonula adherens fő alkotóeleme az E-kadherin (ld. a sejtkepcsoló struktúráknál). Az *N-kadherin* a neuronok és a szemlencse sejtjeinek fontos adhézis proteinje, ezen kívül részt vesz az izomsejtek rögzítésében és a szívizomrostok közötti intercelluláris kapcsolat (fascia adherens) kialakításában. *P-kadherin* tartja össze a placenta trofoblasztsejtjeit, de megtalálható az epidermiszben, a bélhamban, a szívben, a tüdőben.

A vaszkuláris endotélsejteket összekapcsoló *VE-kadherin* fontos szerepet játszik az érpermeabilitás szabályozásában, a leukociták transzendoteliális migrációjában és az angiogenezisben is, mely utóbbi funkciója miatt került az elmúlt években a daganatkutatók érdeklődésének homlokterébe. További, kevésbé elterjedt kadherinek: *M-kadherin* a miocitákon, *R-kadherin* a retinális neuronokon és a szívben fordul elő. A *T-kadherin* nem rendelkezik transzmembrán szakasszal, a sejtmembránhoz glikozilfoszfatidilinozitol horgony segítségével kötődik és nem adhézis fehérje; az LDL részecskék felvételében és – ezzel összefüggésben – az érlemezésedés patomechanizmusában sejtik fontos szerepét.

Immunoglobulin szupercsaládba tartozó adhézis molekulák (IgSF CAM)

Az immunoglobulin szupercsalád számos sejt felszíni és szolubilis proteint tartalmaz, amelyek közreműködnek a sejtek felismerésében, kötésében, rögzítésében, valamint a sejtek közötti kommunikációban (növekedési faktor- és citokin-receptorok). Közös szerkezeti elemük az *immunoglobulin domén*, amit elsőként a plazmasejtek által termelt antitestekben írtak le. A szupercsalád sejtadhézióért felelős tagjai is a membránból extracellulárisan kinyúló immunoglobulin domén segítségével tapadnak egymáshoz, homotípiás sejt-sejt kötést hozva létre, képesek azonban kötődni más szerkezetű sejt felszíni molekulákhoz is (heterotípiás kötés). A kötés mindkét esetben Ca^{2+} jelenlététől független.

A család egyik elsőként leírt molekulája az *N-CAM* volt. Mint később kiderült, az idegsejteken leírt N-CAM valójában nem egy molekula, hanem egy molekula-csoport, amit bár egy gén kódol, a transzkripció során képződő mRNS *alternatív splicing*ja különböző méretű fehérjetermékeket eredményez. A proteinek poszttranszlációs glikoziláció útján poliszíálsav szénhidrátláncok kerülnek, amelyek a negatív töltésüknek köszönhető taszító kölcsönhatás révén gyengítik az N-CAM molekulák közötti homofil kötés erősségét. Ez magyarázza, hogy az embrionális idegsejteken megtalálható magas szíálsavtartalmú N-CAM-et felnőttkorra felváltja az alacsonyabb szíálsavtartalmú változat, ekkor ugyanis a fejlődést lehetővé tevő tranzienst, könnyen megbontható sejt-sejt kötések helyett a stabilabb szöveti szerkezetnek kedvező erős kötések jelenléte kívánatos. A legújabb kutatások szerint az N-CAM poliszíálsav szekvenciájának jelentősége van a tanulásban és a memóriában (a neuronális plaszticitásban) is. Neuronokon kívül az N-CAM megtalálható gliasejtek, harántcsikolt izomrostok és NK-sejtek felszínén.

Az *ICAM* (intercelluláris adhézis molekulák) csoport proteinjei főként

endotélsejteken és fehérvérsejteken expresszálódnak. A létrehozott heterofil kötéshez legfontosabb partnerük a kizárólag fehérvérsejteken expresszáló $\alpha_1\beta_2$ -integrin (LFA1), melynek örökletes defektusa a leukocita-adhéziós deficiencia (LAD) néven ismert kórképhez vezet (ld. később). A fehérvérsejtek érpályából való kilépésén kívül az immunválasz számos más eseményében is közreműködnek az ICAM fehérjék, így pl. az antigén-prezentáció folyamatában és a T-sejt proliferáció megindításában.

Számos immunglobulin típusú adhéziós molekula is csak a citokin stimulus hatására létrejövő aktiváció során jelenik meg az endotélfelszínen. A *VCAM1* ligandjai az ICAM csoporthoz hasonlóan fehérvérsejt-integrinek, feladata ugyancsak a leukocita-adhézió biztosítása. Újabban felvetették a VCAM1 szerepét és gyógyszeres blokkolásának potenciális terápiás hasznát különböző kórfolyamatokban. Melanomasejtek képesek használni a fehérjét az érpályából való kijutásukhoz, ami az áttétképződés folyamatának fontos mozzanata. Hasonlóképpen, vastagbél tumorok májáttéteinek kialakulásában is jelentőséget tulajdonítanak a VCAM1-nek.

Szelektinek

A több transzmembrán doménnel rendelkező szelektinek a szomszédos sejtek felszíni szénhidrátcsoportjaihoz kötődnek. A Ca^{2+} -dependens kötés kialakításában a fehérjemolekula végén található *lektin domén* tölt be kulcsfontosságú szerepet. A létrejövő kapcsolat heterofil: a szelektin a másik sejt felszíni proteinjének vagy lipidjének szénhidrát oldalláncához kapcsolódik, méghozzá specifikusan, a különböző oligoszacharid szekvenciáknak megfelelően. Háromféle szelektint különböztetünk meg.

Az *E-szelektin* az endotélsejteken található, expressziója fokozódik citokin stimulus (pl. IL1, TNF α) hatására. Ligandjai a különböző fehérvérsejtek (monociták, granulociták, T-limfociták) felszínén elhelyezkedő szialinsav és fukóz tartalmú glikoproteinek. A létrejövő kötés gyenge, a fehérvérsejteket nem rögzíti statikusan az endotélhez. Ezekkel a kötésekkel képesek a fehérvérsejtek a véráramlással megegyező irányban, de annál lényegesen lassabban gördülni az érfal mentén („rolling”). Egy másik stimulus hatására a gördülő fehérvérsejtek aktiválódnak és az endotélen keresztül kilépnek az érpályából. Mindezen történések a gyulladás mechanizmusában jutnak jelentős szerephez.

A *P-szelektin* a stimulust követően már percekkel megjelenik az endotélsejteken, amit az tesz lehetővé, hogy ellentétben az E-szelektinnel, ezek a molekulák a stimulus hatására nem újonnan szintetizálódnak, hanem intracelluláris raktáraikból, a Weibel-Palade testekből kerülnek ki a sejt felszínre. Bár a P-szelektin hasonló élettani funkciót lát el, mint az E-szelektin (fehérvérsejt „rolling”), mind ligand (azonos szénhidrát-szekvencia, de eltérő proteinkomponens), mind a stimulust kiváltó ágens (elsősorban hisztamin és trombin) tekintetében különbözik attól. P-szelektin található a vérlemezkék (angolul *platelets*) α -granulumaiban is és innen kerül a felszínre a trombocita-aktiváció során.

A fehérvérsejteken jelen lévő *L-szelektin* a „limfocita-homing” receptorok között tartják számon, szerepe az előzőekhez hasonlóan a fehérvérsejtek lelassítása. Ligandjai a limfoid szöveteken keresztül haladó erek endotélrétegének glikozilált membránfehérjei, pl. a nyirokcsomókban található HEV (magas endotélű venulák) endotélsejtjeinek GlyCAM1 glikoproteinje.

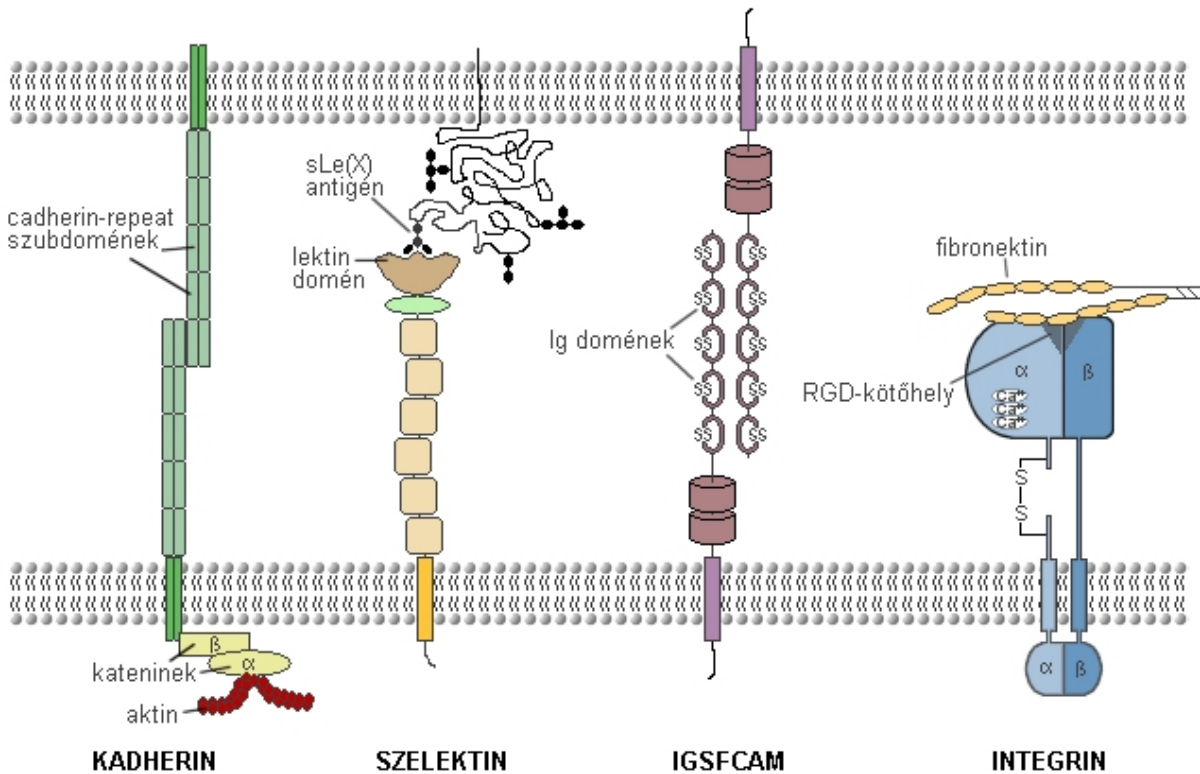
A szelektinek ligand-kötését a glikán oldalláncok fukóz tartalma befolyásolja. A fukóz GDP-fukóz formájában kerül a Golgi-apparátusba, ahol fukozil-transzferáz enzimek kötik a már megszintetizált, később a sejt felszínre kerülő glikoproteinekhez. A GDP-fukóz citoszol→Golgi irányú transzportját végző enzim misszensz mutációja felelős a leukocita adhéziós deficiencia II-es típusáért (ld. később).

Sejt-mátrix adhéziós proteinek

Az sejt-ECM kapcsolat biztosításáért felelős fő sejtfelszíni receptorcsaládot, az integrineket a sejtadhéziós molekuláknál leírtuk. Legfontosabb ligandjaik olyan mátrixfehérjék (fibronectin, vitronectin, kollagén, laminin), amelyek egyaránt tartalmaznak kötőhelyeket az ECM-ban elhelyezkedő rostok és a sejtmembránból kinyúló integrinek számára. Ezzel mintegy összeragasztják a sejt közötti állomány rostrendszerét a sejt felszíni fehérjékkel és azokon keresztül a sejt vázzal. A kötés nélkülözhetetlen a stabil szöveti szerkezet fenntartásához, ugyanakkor a fenti fehérjék a sejt migrációban is közreműködnek, mintegy útvonalat („sín”) képezve a sejtek vándorlásához. A sejt vándorlással kerülnek a velőcső eredetű sejtek a perifériára az embrionális fejlődés során, sebgyógyulásban a fibroblasztok, és keratinociták a sebzés területére.

A *fibronectin* két, diszulfidhidakkal összekapcsolt polipeptidláncból álló dimer. Kötőhelyeket hordoz a kollagén, a heparán-szulfát, a heparin, a véralvadási kaskád végtermékeként létrejövő fibrin, transzmembrán proteoglikánok, valamint az integrinek számára. Utóbbi a már említett RGD tripeptid szekvencia. A fibronectin génről átíródó mRNS alternatív splicingja két különböző fehérjét eredményez. A *sejt felszíni fibronectin* gyakran polimerizálódik rostokká, a rostok pedig hálózattá állnak össze. Az ilyen hálózatok biztosítják az útvonalat a makrofágok és a szöveti regeneráció során vándorlásnak induló sejtek számára. A másik fehérjetermék elsősorban a májban képződik és oldott formában kering a vérben: szolubilis- vagy *plazma-fibronectin*. Az mRNS splicingja során kivágásra kerül a polimerizációért felelős exon, ezért a plazma-fibronectin nem polimerizálódik. Érsérülés kapcsán szabaddá váló kollagénhez kötődve konformációváltáson megy keresztül, melynek eredményeként jelentősen megnő affinitása az aktiválódott GpIIb/IIIa vérlemezke-

1. ábra Sejtadhéziós molekulák



integrinhez. Ebből következik legfontosabb funkciója: a trombocita-aggregáció és ezáltal a stabil alvadékképződés elősegítése.

A *laminin* köti a sejteket a lamina basalishoz. Az extracelluláris mátrix részeként is felfogható bazális lamina megtalálható az epitél- és endotélrétegek alatt, valamint sok más, nem hám típusú sejt környezetében is. A laminin mellett tartalmaz IV-es típusú kollagént, heparán-szulfátot, és nidogént is. A laminin kötőhellyel rendelkezik a többi bazális lamina komponens, illetve a sejtfelszíni fehérjék (integrinek és egyéb glikoproteinek) számára. A laminin örökletes defektusai súlyos bőrbetegségek, izomdisztrófiák és glomerulusfiltrációs zavarok képében manifesztálódnak.

Sejtkapcsoló struktúrák (junkiók)

Epiteliális sejtek egymáshoz és az extracelluláris mátrixhoz adhéziós komplexekkel kapcsolódnak. Ezek a szupramolekuláris szerveződések lehetővé teszik a sejtek közötti mechanikai kapcsolat fenntartását, információt szolgáltatnak a sejtnak a környezetéről, elektromos és kémiai jeleket továbbítanak az egyik sejtől a másikba, valamint diffúziós gátat képeznek az intercelluláris résben.

Mechanikai kapcsolatot létrehozó junkciók lehetnek szoros kapcsolatok (*zonula occludens*, vagy **tight junction**), adhéziós kapcsolatok (*zonula adherens*, vagy **adherens junctions**), *dezmoszómalis* kapcsolatok, valamint a sejteket az ECM-hoz rögzíthetik a *fokális adhéziók* és a *hemidezmoszóma*k. Az elektromos és kémiai jelek továbbítására szolgáló kommunikációs junkció a *réskapcsolat* (más néven *nexus* vagy *gap junction*). Az epitheliális sejteket összekapcsoló junkcionális komplexek biztosítják a szöveti differenciálódást és később a szövetek mechanikus szilárdságát. A kapcsoló struktúrákban részt vevő fehérjék szerepét nem lehet leszűkíteni csak a mechanikai kapcsolat fenntartására, mert képesek részt venni bizonyos szignál transzdukciós folyamatokban is. Specifikus szignál fehérjék ingáznak az adhéziós helyek és a sejtmag között.

Zonula occludens

Jellemzően az epithelsejtek hordópántszerűen körbefutó sejtkapcsoló struktúrája, amely nagy szerepet játszik a hámok szigetelő, illetve bizonyos anyagokra szelektíven permeábilis barrier funkciójában. Az *okludin*, *klauudinok* és *JAM* (junkcionális adhéziós molekulák) kapcsolják össze a szomszédos epitheliális sejteket és adapterfehérjék (ZO-1,-2,-3, szimplekin, cingulin) kötik a citoskeleton aktin mikrofilamentum rendszeréhez. A fehérje-komplexek oldalirányban szorosan egymás mellé rendezettek, elágazó, anasztomizáló sorokat alkotnak, amelyek a sejtek apikális részét teljesen körbeérik.

A *zonula occludens* egyik fő feladata a *membránkomponensek* (így az integráns transzportfehérjék) *szabad vándorlásának megakadályozása az apikális és bazolaterális membránrészek között*. Így a béllumenben lévő és a szervezet számára fontos anyagok két lépésben szívódnak fel. Először a sejt apikális membránjában elhelyezkedő transzportfehérjék segítségével a hámsejtbe kerülnek, majd a sejt bazolaterális oldalán keresztül az intersticiális térbe, végül onnan a véráramba. A lumen→bélhámsejt, illetve bélhámsejt→extracelluláris tér (intersticium) irányú transzportot végző carrier fehérjék egymástól lényegesen különböző, mind a transzportált molekulára, mind annak koncentrációjára igen specifikus proteinek.

Az epithéliumon keresztül két fajta mechanizmussal tudnak molekulák, vagy kórokozók átjutni. Az egyik a sejtek közötti ún. paracelluláris transzport, amit a sejt-sejt kapcsolatok felszakadása tesz lehetővé, és a másik pedig a transzcelluláris transzport, amelynél egy endocitózissal kerül be a molekula/részecske a sejtbe, majd áthaladva az epithél sejteken exocitózissal távozik. (Ezt a folyamatot újabban transzcitózisnak is nevezik.)

A *paracelluláris* transzporthoz, ami mindig passzív diffúzió, szintén elengedhetetlen egy szoros zárórendszer jelenléte, amely képes meggátolni az intersticiumba felszívott anyagok visszaáramlását a bélumenbe. A zonula occludens által létrehozott kapcsolat olyan szoros, hogy még elektronmikroszkóppal sem különíthető el intercelluláris rés az összefekvő membránterületek között (innen az angol neve: tight junction), a kapcsolóstruktúra hatékonyan *képes gátolni a molekulák rediffúzióját*. Ez tehát másik fő szerepe a bélhámon keresztüli tápanyagfelvételben. Bár makromolekulákra kivétel nélkül átjárhatatlan a junkció, bizonyos vízdékony kismolekulák és ionok gond nélkül átjuthatnak a lumenből az intersticiális térbe (és *vice versa* természetesen), ami adott esetben lehetővé teszi a lumenben nagy koncentrációban jelenlévő, passzív diffúzióval felszívódni képes anyagok (pl. aminosavak) ún. paracelluláris transzportját.

A nemrégiben felfedezett zonula occludens toxin (Zot) egy enterotoxin, a kolera kórokozójaként ismert *Vibrio cholerae* baktérium terméke. Hatására létrejövő változás a zonula occludens reverzibilis nyílása. A toxin csak a bél bizonyos részein (jejunum és terminális ileum) kötődik az intesztinális hámmhoz, amely területek permeabilitása már eleve nagyobb az egyéb bélszakaszokon mérthez képest.

Transzcelluláris transzportra példa a Shiga toxin, ami az endotél sejtekre fejt ki hatását, de felszívódásához át kell jutnia az epitél szöveten. A TLR receptor (toll-szerű receptor) mediálta transzcelluláris transzport az egyik legtanulmányozottabb mechanizmusa.

A zonula occludensnek kulcsszerepe van nemcsak a bélhám és a vesetubulusok működésében, de a központi idegrendszer területén a vér és az agyszövet közötti eltérő anyagösszetétel fenntartásában is (vér-agy gát). A vér-agy-gát endotél sejtjeit összekapcsoló zonula occludens strukturálisan nagyon hasonlít az előbbieken ismertetett epiteliális sejtkeéhez. Fő feladata, hogy a poláros oldatok paracelluláris diffúzióját gátolja a vér plazmából az agyszövetbe. A vér-agy-gát paracelluláris permeabilitását az agyi kapilláris endotél sejteken kívül az asztrociták, periciták is befolyásolják.

A zonula occludens szorosságát az agyi endotél sejtekben is ugyanazok a transzmembrán fehérjék biztosítják mint az epiteliális sejteknél: a klaudinok, okludin, és a JAM, de ezek szövetre specifikus izoformái. A paracelluláris permeabilitás erősen függ a zonula occludens komplex integritásától, amely a fehérjék reverzibilis foszforilációja útján szabályozott.

Általában azok a körülmények amelyek a zonula occludens fehérjék áthelyeződését okozzák a sejt apikális részéből a sejt belseje felé, vagy a zonula occludens fehérjék expresszióját csökkentik, ezzel rést idézve elő a szoros kapcsolatok között növelve a paracelluláris permeabilitást. Ilyen körülmény például a hipoxia (akár a földrajzi magasság által indukált pl. hegyezés, akár patológias körülmények között, pl. stroke következtében). Cerebrális ischémiában az agyi endotél sejtek zonula occludens fehérjéi (a klaudin-5 és az okludin) delokalizálódnak a membránból és expressziójuk is csökken, ami paracelluláris permeabilitás növekedéssel jár. Ezen felül a ZO-1,-2 adapter fehérjék (amely támasztó molekulák, és mind a zonula occludens, mind a zonula adherens strukturát a citoskeletonhoz kapcsolják, biztosítva a struktúra stabilitását) lokalizációja is megváltozik, csökken a membrán körüli régiókban és bevándorol a magba, ahol transzkripció fehérjékhez (Fos, Jun) kapcsolódik.

Zonula adherens

A zonula adherens egy övszerűen körbefutó struktúra a sejtek apikális részén, amely közvetlenül a zonula occludens alatt helyezkedik el. Amíg a zonula occludens elsődlegesen a paracelluláris permeabilitás gátlásáért felelős, addig a zonula adherens lokalizálja és stabilizálja a zonula occludens. Megtalálható majdnem minden szövetben pl. szívízomban a miociták kapcsolódásainál (fascia adherens a discus intercalarisok területén), illetve sok más szövetben is, például központi idegrendszeri szinapszisok környékén. A sejt-sejt kapcsolatot ebben a szerkezetben a kadherin molekulák biztosítják az extracelluláris doménekhez kötődő

Ca²⁺ ionok jelenlétében. Az epiteliális sejteknél az E-kadherin, az izomsejtekben, a fascia adherensben az N-kadherin játszik szerepet. A zonula adherens citoplazma felőli oldalát övszerűen végigfutó aktin filamentumok és rögzítésükre szolgáló fehérjekomplexek alkotják. A membrán belső felületéhez a transzmembrán kadherinekhöz az α -, β -, γ -kateninek és a vinkulin fehérjék rögzítik az aktin-gyűrűt. Az aktin-köteget az α -aktinin molekulák rögzítik. A zonula adherens tehát, összességében egy egységes kontraktilis hálózat, amit a sejtek adherens aktin-gyűrűi alkotnak. E kontraktilis szerkezet működésének nagy jelentőséget tulajdonítanak a morfogenezisben, a lumennel rendelkező csőszerű struktúrák kialakulásában.

A zonula occludens és adherens egymáshoz térben nagyon közel helyezkedik el a laterális membrán apikális régiójában, az adherens junkciók épsége feltétele a szoros kapcsolatok kialakulásának, így ezek együtt hozzák létre az apikális junkciós komplexet. Az apikális junkciós komplexet alkotó fehérjék egy része az u.n. PDZ fehérjék családjába tartozik, vagyis olyan domént (PDZ) tartalmaznak, amely fehérje-fehérje kölcsönhatásban képes felismerni és kötni más fehérjék C terminális végén található 4 aminosav hosszúságú PDZ kötőhelyet. Ezáltal egy fehérje hálózat alakul ki, ami hozzájárul a sejt polaritásának fenntartásához.

A PDZ domént tartalmazó fehérjék fontosságát bizonyítja, hogy specifikus célpontjai lehetnek bizonyos vírus oncoproteineknek, és a vírus- PDZ fehérje kölcsönhatás következtében a szövetben rákos elváltozás következhet be. Ilyen pl. a humán papilloma vírus (HPV), amely megtámadja a hámsejtek PDZ fehérjéit, aminek következtében a sejt elveszti polaritását és ezzel párhuzamosan denzitástól független osztódás, sejtciklus zavar, és szöveti elváltozás jön létre.

Dezmoszóma

Két szomszédos sejtet egymáshoz rögzítő pontszerű kapcsolóstruktúra. Elektronmikroszkóp alatt sötét, plakkszerű állományként jelenik meg a membrán citoplazmatikus oldalán. Ehhez a plakkszerű lemezhez, amelyet *dezmozoplakin* és γ -katenin (régibbi nevén plakoglobin) alkot, csatlakoznak a sejtíváz intermedier filamentumai. A membránból a szomszédos sejt felé kinyúló kadherin molekulák, a *dezmozoglein* és a *dezmozokollin* szintén a citoplazmatikus lemezben vannak lehorgonyozva. A dezmozómális kadherinekhöz közti Ca²⁺-dependens, homotípiás kapcsolat bár önmagában gyenge, a nagyszámú kötés együttesen komoly összetartó erőt képvisel. Ennek jelentősége egyértelmű, ha figyelembe vesszük, hogy dezmozómák tartják össze az epidermisz keratinocitáit, ezért ellenállónak kell lenniük a kültakarót érő mindennemű erőbehatással szemben. Az epidermiszen kívül dezmozómális kapcsolatot találunk pl. a kapilláris-endotélben, a nyirokrendszerben vagy a discus intercalarisok területén a szívizomban. Az epidermális hólyagképződéssel járó *pemphigus* betegségben dezmozoglein ellenes autoantitestek termelődnek és kötődnek a dezmozómákhoz. Az antitest-kötődés immunreakciót indít el, amelynek során a dezmozómák pusztulása miatt a hámsejtek elválhatnak egymástól és a kialakuló terekben folyadék halmozódik fel.

Míg a dezmozoplakin defektusa elsősorban bőrtünetekkel jár, a γ -katenin (plakoglobin) gén hibája az autoszómális recesszív módon öröklődő Naxos-betegséget (vagy öröklődő aritmogén jobb kamrai diszplázia) okozza, amire a palmo-plantaris keratózison és a göndör, gyapjúszerű hajon kívül a jobb kamrai szívizom zsíros-fibrotikus átépülése és következményes kamrai aritmiák jellemzők.

Fokális adhézciók

A fokális adhézció a sejtet az *ECM*-hoz kihorgonyozó junkció, amelyben az *integrinek* felelősek az adhézióért. Az érett fokális adhézó formálásában több, mint 150 protein vesz részt. Az integrinek az intracelluláris aktin filamentumokhoz *talín*, *vinkulin*, *paxillin* és α -

aktinin kapcsolófehérjékkel kötődnek. A mátrixhoz való stabil rögzítésen kívül a proteinek képesek dinamikusan össze- és szétkapcsolódni a sejt aktuális igényeinek megfelelően; ezzel lehetővé válik a *sejtmigráció*. Emellett a junkció a sejt és környezete közötti kétirányú *jelátvitelben* is részt vesz. Fokális kontaktust találunk pl. izomsejteken, keratinocitákon, fibrocitákon és fehérvérsejteken.

Sok más adapterfehérje is kapcsolódik a fokális kontaktus komplexhez, pl. a kindlinek. E proteincsalád egyik tagjának örökletes mutációja a klinikumban Kindler-szindrómaként ismert, mely betegségre a bőr extrém sérülékenysége és subepidermális hólyagképződés jellemző (a kórkép az epidermolysis bullosa betegségcsoport tagja). A kindlin család egyes tagjai előfordulnak az E-kadherineknél is (zonula adherens), valamint a sejtmag-membránhoz asszociáltnak.

Sejtmigráció

A sejtmigráció során a sejtek a mozgás irányába **polarizálódnak**, azaz kialakul egy vezető él (lamellipodia) és egy farki rész (uropod). A sejtmigráció egy többlépcsős, ciklikus folyamat, ami több lépésre bontható: (1) a sejt polarizációját követően a mozgás irányába mutató él előre nyúlik, (2) a sejt és a mátrix között új adhéziók képződnek (fokális komplexek), (3) az aktin hálózat stressz szálakká szerveződik (4) az aktomiozin szálak összehúzóásával a citoplazma a farki részből a vezető él felé áramlik (5) a farki részen az érett fokális adhéziók felszakadnak ezzel egy idejűleg a fokális komplexek adhéziókká érnek. A sejtek mind önállóan (individuális sejt migráció), mind csoportokban (klaszter migráció) vándorolhatnak. A klaszter migrációnál a sejtek megtartják a köztük levő sejt-kapcsoló struktúrájukat.

Hemidezmoszóma

Elsődleges előfordulási helye a bőrben a dermo-epidermális határ területe, feladata pedig a *bazális keratinocita-réteg rögzítése a lamina basalis*hoz. Elektronmikroszkópos megjelenésében egy elfelezett dezmoszóma emlékeztet, felépítését tekintve azonban jelentősen eltér attól. A citoplazmatikus plakkból lehorgonyozott *integrinek* laminin fehérjén keresztül kapcsolódnak a lamina basalis kollagénjéhez. Intracellulárisan a plakkhöz *keratin* intermedier filamentumok kötődnek.

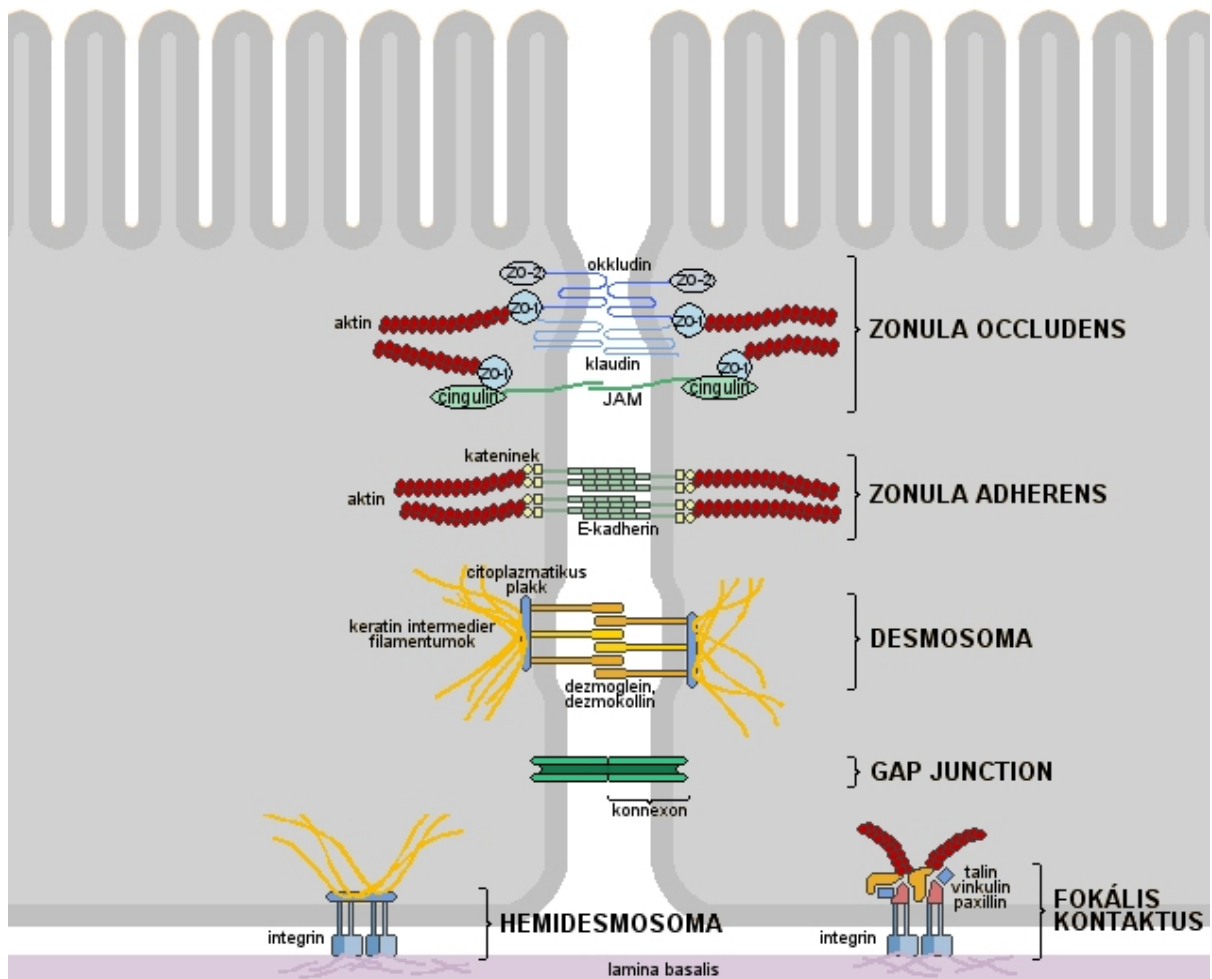
A transzmembrán elhelyezkedésű kollagén XVII is részt vesz a hemidezmoszóma protein-komplexének felépítésében. Az N-terminális részével a hemidezmoszóma citoplazmatikus plakkjához kötődő homotrimer fehérje jelenléte feltétele a rögzítőstruktúra stabilitásának. Örökletes hibája, valamint a fehérje ellen termelődött autoantitestek megjelenése egyaránt hólyagképződéssel járó bőrbetegséghez vezet.

Réskapcsolat (nexus, gap junction)

Két szomszédos sejt között csatornát képező fehérje-komplex. A csatorna, belső átmérője alapján a 2000 Da-nál nem nagyobb molekulák számára átjárható. A réskapcsolat egyik fő funkciója *jelátvitel*; a passzívan, diffúzióval keresztülhaladó anyagok többnyire szekunder messenger molekulák (pl. cAMP, Ca²⁺). A kiváltott válasz a csatornán átjutó molekula típusának megfelelő, pl. excitózis vagy kontrakció. Másik fontos működése a sejtek anyagcseréjének összehangolása, azaz egy sejt-lánc tagjai számára a *tápanyagellátás* egyenlő biztosítása, pl. a rossz vérellátású szövetekben, amilyen a szemlencse vagy a csontok erektől távol eső részei. Mindennek jelentős szerep jut az embriogenezisben is, ahol a sejtek tápanyagellátásán kívül az is lényeges, hogy egy bizonyos sejtcsoport egységesen reagáljon valamely ingerre. Réskapcsolat képezi a neuronok között található, közvetlen ingerületátvitelt lehetővé tevő *elektromos szinapszis* molekuláris egységét is. Itt az elektrokémiai gradiensnek megfelelően átkerülő ionok közvetítik a hatást, amely nem más, mint a posztszinaptikus sejt

depolarizációja. Az elektromos szinapszis fő előnye a kémiai szinapszissal szemben a gyors-, fő hátránya a kétirányú ingerületátvitel. A depolarizáló ingerület közvetítésével lehetséges az *izomsejtek* (*szívizomsejtek*, *simaizomsejtek*) *egyidejű, szinkronizált összehúzódása* is, amit szintén réskapcsolatok jelenléte tesz lehetővé (pl. a *discus intercalaris* területén vagy a gyomor-bél rendszer *simaizomsejtjei* között).

2. ábra Sejtkapcsoló struktúrák az intesztinális epitéliumban



A tulajdonképpeni csatorna két szomszédos sejt *konnexon* egységeiből tevődik össze, amelyek az intercelluláris résben szorosan kapcsolódnak. A konnexonokat hat *konnexin* fehérje alegység alkotja, az általuk közrefogott pórus belső átmérője 1.2-2 nm. A junkció permeabilitását az intracelluláris ionösszetétel szabályozza. Amennyiben sérülés következtében egy sejt Ca^{2+} tartalma abnormálisan megemelkedik, a csatorna bezárul. Ez a mechanizmus a szomszédos sejt védelmét hivatott szolgálni és hasonló szabályozó hatása van a sejten belüli pH extrém mértékű változásának is.

A konnexin fehérjék mutációit számos veleszületett betegség hátterében megtalálták. A leginkább a cochleában expresszált Cx-26 fehérje mutációja szenzorineurális halláskárosodást okoz, ami feltehetően a belső fül folyadéktereinek kóros K^+ eloszlásával van összefüggésben. A Cx-32 izoforma defektusa felelős a Charcot-Marie-Tooth-szindrómaként is ismert, perifériás neuropátiával és izomdisztrófiával járó betegség egy formájáért. Az alsó végtagi izomzat sorvadásával kezdődő kórkép ezen formájában az idegrostokat körülvevő velőshüvely Ranvier-befűződéseiben és Schmidt-Lantermann-réseiben lokalizálódó réskapcsolatok hibájáról van szó, ami feltehetően a Schwann-sejt táplálását biztosító diffúziós utak sérülésén keresztül vezet a velőshüvely degenerációjához.

Adhéziós molekulák a daganatos áttétképződésben

A sejtadhéziós kapcsolatok kialakítása, fenntartása és megszüntetése mind fontos eseményei a tumorok progressziójának és áttétképzésének. Az adhéziós molekulák egyaránt szerepet játszanak a sejtek tumorról történő leszakadásában, vándorlásában, a távoli szövetben való megtelepedésében és az angiogenezisben. Az áttétképződés lépéseinek szemléltetésére egy molekuláris alapjaiban viszonylag jól feltérképezett hematogén metasztatizálási folyamatot, a vastagbél rosszindulatú daganatának (CRC: colorectalis carcinoma) májba történő áttétképzését ismertetjük, de a főbb mozzanatok azonosak minden malignus tumor esetében. A limfogén metasztatizálás részleteiben jóval kevésbé ismert mechanizmus.

Az első lépés a daganatsejt leszakadása a tumorról. Normálisan, ha a hámsejtek kiszakadnak környezetükből, azaz elvesztik kapcsolatukat az őket körülvevő ECM-el, apoptózissal elpusztulnak (a jelenséget *anoikis*nek nevezik, a szó görögül hontalanságot jelent). A malignusan transzformált sejtek azonban képesek elkerülni az apoptózist és életben maradnak. A sejtek először visszanyerik migrációs képességüket (szükséges feltétel), majd áttörnek az érfalat. Ennek előfeltétele, hogy matrix metallo-proteázokat termeljenek a sejtek. A sejtek önálló sejtként, vagy csoportosan jutnak át az endotél sejtek között. A leszakadó sejt a véráramba kerül (vagy már eleve ott van, ha a tumor ereket infiltrált) és a kisebb hasi vénákon keresztül a v. portaeba sodródik. A tumorsejtek hepatikus kolonizációja a szinuszoidokban kezdődik, ahol szinuszoidális endotélsejtek, Kupffer-sejtek és Ito-sejtek kerülnek kapcsolatba a behatoló rákossejtekkel, vagyis az elszabadult sejtek letapadnak. A szinuszoidális endotélhez való sikeres kikötődés lehetővé teszi az extravazációt és a proteolitikus penetrációt a májparenchymába. Ha a daganatsejt a parenchymában túlél és osztódni kezd, kialakul a másodlagos daganat (metasztázis), melynek minden sejtje a behatolóval azonos genetikai állományú, tehát annak klónja lesz (hacsak nem alakul ki másodlagos mutáció az osztódás során). A növekedés során sem a primer daganat, sem a metasztázis nem nélkülözheti a sejtek működéséhez szükséges oxigént és tápanyagokat, ezért amikor térfogatuk meghaladja az egyszerű diffúzióval ellátható nagyságot, új erek képződését indukálják (angiogenezis).

Az *immunglobulin szupercsalád* adhéziós proteinjei közül az *ICAM1* és *VCAM1* tűnik fontosnak az áttétképződés szempontjából. Patkányokon végzett kísérletek alapján úgy tűnik, hogy a CRC sejtek a máj Kupffer-sejtjeit gyulladáscitokinek (pl. $\text{TNF-}\alpha$) termelésére készítetik, amik pedig a szinuszoidális endotélsejtek *ICAM1* és *VCAM1* expresszióját fokozzák. Ezek az adhéziós fehérjék azután megkötik a tumorsejteket, így azok képesek lesznek kilépni a véráramból. Hogy a Kupffer-sejtek citokin termelését mely faktor indítja be,

pontosan nem ismert, a legvalószínűbbnek mégis a malignusan átalakult bélhámsejtek felszínén megjelenő CEA (carcinoembrionális antigén) tűnik. A klinikumban tumor-markerként használt molekula szintén az immunglobulin szupercsaládba tartozik. Az immunglobulin domént hordozó adhéziós molekulák szerepe tehát kétszintű: egyrészt a CEA-CEA-receptor (Kupffer-sejteken) kötődés megindítja a Kupffer-sejtek citokin elválasztását, másrészt a citokinek hatására az endotélsejteken ugyancsak immunglobulin típusú adhéziós proteinek jelennek meg.

A hámsejtek membránjáról a CEA bekerül a vérkeringésbe is, onnan kimutatható. Mennyisége a szérumban arányos a tumor progressziójával, ezért kiválóan alkalmas annak követésére és a sikeres kezelés utáni esetleges recidíva kiszűrésére. Mivel más, nem malignus állapotok is járhatnak a szérumban CEA szint megemelkedésével, a laborvizsgálat diagnózisra nem alkalmas.

Az említett adhéziós proteinek jelentőségét támasztja alá az is, hogy a ciklooxygenáz-2 enzimet gátló szereknek, amelyeket a valamilyen szempontból veszélyeztetett populációban (pl. diagnosztizált vastagbél polipok esetén) preventív céllal adnak, down-regulációs hatásuk van az ICAM1 és VCAM1 expresszióra. Ilyen szer például az aspirin és az abból kifejlesztett, szelektívebb coxibok.

A szelektinek a fehérvérsejt-adhézióhoz hasonlóan a tumorsejtek kezdeti, gyenge adhézióját segítenék elő, melyet integrin aktiváció, szorosabb kitapadás, végül diapedezis és az érpálya elhagyása követ. Az E-szelektin nemcsak a kezdeti, tranzienst adhézió kialakításában látszik fontosnak, hanem úgy tűnik, közreműködik a sejtek endotélrétegen keresztüli kijutásában (diapedezis) is, így szerepe a folyamatban többszintű. Bár az E-szelektin nincs jelen a vastagbél hámsejtjein, ugyanakkor nagymértékben expresszálódik a primer tumorhoz és a metasztázisokhoz közel eső erekben, így nem meglepő, hogy a szolubilis E-szelektin szintje a vérben korrelál a CRC hematogén úton adott metasztázisainak előfordulásával. A P-szelektin a tumorsejtek fukozilált, szializált felszíni fehérjéihez kötődik, lehetővé téve a daganatsejt-ellenes immunreakció kivédésében, illetve az intra- és extravazációban is fontosnak gondolt vérlemezke-tumorsejt interakciót.

A szelektinek szerepe a tumorfejlődés egyéb történéseiben is felvetődött. A vaszkuláris endoteliális növekedési faktor (VEGF), amit tumorsejtek képesek nagymennyiségben termelni, fokozza az endoteliális E-szelektin expresszióját. Mivel a VEGF a daganat oxigén- és tápanyagellátását, ezáltal túlélését biztosító érképződés (angiogenezis) egyik legpotensebb aktivátor molekulája, valószínűsíthető, hogy az E-szelektin is szerepet kap a folyamatban. Az érképződést gátló (anti-angiogén) szerek kifejlesztéséhez és terápiás alkalmazásához nagy reményeket fűznek, az ilyen vegyületek felkutatásához azonban először a folyamatban részt vevő, gyógyszer-célpontként szóbaeső molekulákat kell azonosítani. A VEGF ellen termeltetett monoklonális antitestet (bevacizumab, Avastin) elterjedten használják a klinikumban. Blokkoló anti-szelektin antitestek, szolubilis szelektin-receptorok és szelektin-antagonisták fejlesztése folyamatban van. A szelektineken kívül más típusú adhéziós proteinek, pl. integrinek gátlásával is próbálkoznak. A korábban említett VE-kadherin gyógyszeres blokkolásának lehetőségét csak az utóbbi időben kezdték vizsgálni, az állatkísérletek eredményei biztatóak.

Az integrinek szerepe a normális és kóros sejtek működésében rendkívül szerteágazó. Az általuk létrehozott kötés tízszer erősebb a szelektineknél, ezért képesek az endotélhez csak lazán kötődő tumorsejt szorosabb rögzítésére (a leukocita-adhézióval analóg módon, ld. lejjebb). Sználtranszdukciós tulajdonságaik révén az endotélsejtek retrakcióját indukálják, ami a tumorsejt extravazációját megkönnyíti (ennek a máj szinuszoidokban, ahol eleve nem folytonos az endotél bélés, kisebb a jelentősége). Ezen kívül részt vesznek az apoptózisban, a sejt migrációban, tumor-invázióban, angiogenezisben. Megfigyelték, hogy a tumorsejtek integrin expressziós mintázata változik a tumor növekedésével. Így pl. CRC tumorsejtek integrin expressziója jelentősen fokozódik és új, addig nem termelt alegységek megjelenésével összetételében is változik a proliferáció során. A daganatban így kialakuló sejtcsoportok metasztázisok hajlama lényegesen nagyobb.

A népes fehérjecsald utóbbi időben leginkább tanulmányozott tagjai az α_v integrinek. Az $\alpha_v\beta_6$ -integrin kísérletes blokkolása az uPA (urokináz típusú plazminogén aktivátor), MMP2 (mátrix metalloproteáz-2) és MMP9 proteázok szekréciójának csökkenését eredményezte, ily módon elejét véve az ECM lebontásának, ami a tumoros invázió egyik kulcslépése. Az $\alpha_v\beta_3$ -integrin (vitronektin receptor) is jelentősnek látszik a metasztatikus progresszióban: humán emlőcarcinoma és melanoma sejtek csak akkor képesek áttétképzésre, ha felszínükön az $\alpha_v\beta_3$ -integrin aktív konformációban van jelen. Emellett az α_v -integrinek blokkolása a sejtek proliferációjának ütemét jelentősen csökkentette, néhány kísérletben apoptózist is sikerült kiváltani.

Régóta ismert tény, hogy a primer tumor sebészi eltávolítása meggyorsítja az áttétek növekedését. Megfigyelték azt is, hogy vastagbél-tumor excíziója után a vérben keringő tumorsejtek adhéziója a májban fokozódik. Utóbbi jelenség patkányokban kivédhetőnek bizonyult a sebészi kimetszés után alkalmazott monoklonális anti- α_2 -integrin terápiával. Számos integrin bír továbbá pro-angiogenetikus hatással, antagonistáik klinikai alkalmazásának lehetőségét vizsgálják.

A sejtadhézió terápiás befolyásolása tehát egy ígéretes eleme az onkológia jövőbeni fegyvertárának.

A leukociták extravazációja, leukocita adhéziós deficiencia

Ahhoz, hogy a fehérvérsejtek a szövetekben teljesíthessék feladatukat, el kell hogy hagyják a keringést (extravazáció). Ehhez elsőként keresztül kell jutniuk a – többnyire – szorosan összefüggő endotélrétegen. Ez két lépésben történik. Először a vérrel áramló leukociták kitapadnak az endotélsejtekhez, majd rajtuk keresztülhatolva kilépnek az érlumenből. Az extravazáció szinte kivétel nélkül a posztkapilláris venulák területén zajlik le.

Először a leukociták laza kötéseket létesítenek az endotéllel és lelassulva, az érfal mentén gördülve haladnak tovább az érlumenben („*rolling*”). Az adhézió e kezdeti lépésében a szelektineknek van nagy szerepük. *L-szelektint* a legtöbb leukocita expresszál, *E- és P-szelektint* csak az aktivált endotélsejtek. A legnagyobb affinitást a P-szelektin iránt mutató, de a másik két szelektinhez is kötődni képes *PSGL1* (P-szelektin glikoprotein ligand-1) leukocitákon és az újabb adatok szerint bizonyos endotélsejteken is jelen van. A létrejövő kötés nem tartós, az áramlás hamar továbbsodorja a sejtet, ami azonban új szelektin kötéseket létesít, ily módon lassan, gördülve halad az endotélfelszínen. A szelektin-kötés intracelluláris jelátviteli mechanizmusok útján képes további adhéziós molekulák (pl. integrinek) megjelenését kiváltani, illetve a már expresszált fehérjék konformációját aktív, kötés kialakítására alkalmas állapotba hozni mind a fehérvérsejten, mind az endotélen.

Az integrinek részt vesznek a rolling folyamatában és az azt követő szoros adhézió kialakításában is. A kezdeti szelektin-PSGL1 kötés az *LFA1* integrin konformációját például egy olyan intermedier affinitású állapotba hozza, ami alkalmas az endoteliális ICAM1 fehérjék átmeneti kötésére. Hasonló változás játszódik le a *VLA4* (ligandja a *VCAM1*) és a *Mac1* (ligandjai főleg ICAM-ok) integrinek konformációjában is, a kialakuló átmeneti affinitási állapot tranzien kötések létrehozására ad lehetőséget. Ezek a tranzien kötések szintén a rollingnak kedveznek, ami ebben a fázisban lassabb, mint a szelektin-dependens kezdeti szakban („*slow rolling*”).

Ezután a gördülő leukocita a gyulladás körüli sejtek által termelt citokinek, az ún. *kemokinek* hatására teljesen megáll és szoros kötéseket létesít az endotéllel („*arrest*”), melyben szintén a fent említett integrin-CAM interakciók (LFA1-ICAM, VLA4-VCAM1) játszanak szerepet. Hogy a fentiek lejátszódhassanak, az endotélsejteknek olyan CAM proteineket kell termelniük, amik a felszínükre kerülve képesek a leukocita integrinek ligandjául szolgálni (és fordítva, olyan integrineket, amik képesek megkötni a leukociták CAM proteinjeit). Ehhez az endotélsejteknek is aktiválódniuk kell, ami gyulladáscitokinek hatására következik be. Az aktiváció után nem csak adhéziós proteinek expressziója

fokozódik az endotélsejtben, hanem a fehérvérsejteket az érintett területre irányító kemokinek és lipid jellegű kemoattraktáns anyagok szintézise is. Ezek az anyagok koncentráció gradiensükkel irányítják a fehérvérsejtet extravazációját és vándorlását a gyulladás helye felé (kemotaxis). A stabil rögzítést biztosító integrin-CAM kapcsolathoz tehát mindkét résztvevő sejtnek aktiválódnia kell, ami az endotél esetében az elsődleges citokin-szignál, leukocitáknál pedig az aktivált endotélből kikerülő – gyakran távolabb termelődött és az endotélsejt által csak a lumen felé transzportált – kemoattraktáns anyagok hatására következik be. A kemokin hatás nem csak az integrinek nagy affinitású konformációját stabilizálja, de befolyásolja azok felszíni elrendeződését is: aktivált leukocitákon az integrinek gyakran csoportokba (clusterekbe) rendeződve vannak jelen. Az integrinek aktiválódásáért felelős intracelluláris jelátviteli utak nem teljesen ismertek, de a foszfolipáz C indukálta $[Ca^{2+}]_i$ emelkedés, kis GTPáz fehérjék és aktin-kötő proteinek (pl. talin-1) minden bizonnyal szerepelnek a folyamatban.

Hogy az immár sikeresen az ér falhoz rögzített leukociták át is tudjanak hatolni azon, először megfelelő helyet kell találniuk a transzendoteliális migrációra. Ez az ún. „*crawling*”, amikor a fehérvérsejt szétterül, megnyúlik és az endotélsejten kúszva keresi meg az áthatásra legalkalmasabb helyet. Az alakváltozást és a kúszó mozgást Mac1-ICAM1 adhézió közvetíti. Amikor a fehérvérsejt megtalálta a megfelelő helyet, megkezdheti a *transzmigrációt*, amelynek során három barrieren halad keresztül: az endotél, a bazális membrán, végül a periciták rétegén. Az endoteliális CAM fehérjék citoplazmatikus doménjükkel számos jelközvetítő molekulával állnak kapcsolatban, melyek további fehérje-interakciókra képesek. Ligandkötés esetén a protein-kaszkádnak aktiválódik, ami végső soron az endotélsejt közötti sejtkapcsoló junkciók átalakulását idézi elő. Az addig fennálló intercelluláris adhéziós kötések felbomlanak, a transzmigrációt akadályozó proteinek (pl. VE-cadherin) eltávolításra kerülnek az érintett régióból, a leukocita-liganddal rendelkező junkcionális molekulák pedig a lumen felé irányába vándorolnak, hogy az intercelluláris rések felé, illetve azon keresztül tudják vezetni a fehérvérsejteket. Utóbbi, a transzmigrációban aktívan közreműködő junkcionális fehérjék leggyakrabban az immunoglobulin szupercsalád tagjai, pl. a *PECAM1* (vérlemezké-endotél sejtadhéziós molekula), a *JAM-A,-B,-C* (junkcionális adhéziós molekulák) és az *ESAM* (endotélsejt-szelektív adhéziós molekula). Míg a *PECAM1* homotípiás kötést létesít a leukocita és az endotélsejt között, a *JAM* fehérjék képesek homotípiás és integrin-kötésre is. E kötések kialakításával és felbontásával a leukociták áthatnak az endotélsejt között; a fenti folyamatot *paracelluláris* transzmigrációnak hívjuk. Természetesen mindehhez szükséges a leukocita aktív alakváltozása is (pseudopodiumok dinamikus kibocsátása és visszahúzása, a kötések kialakítása után a sejt lemaradó részének továbbhúzása).

A másik mód, ahogy a leukociták keresztüljuthatnak az endotélrétegen a *transzcelluláris út*. Ezt az áthatási formát csak a keringő leukociták kis százaléka veszi igénybe és csak a keringés bizonyos kitüntetett helyei alkalmasak rá (pl. a központi idegrendszer, néha gyulladós területek is). Ebben az esetben a transzmigráció az endotélsejt ún. vezikulo-vakuoláris organellumain keresztül zajlik, amelyek szűk, intakt plazmamembránnal határolt járatok a lumen és a bazális felszín között. A járatképződést elsősorban az ICAM1 ligandkötése indítja meg, az átalakulásban többek között érintett az aktin- és a vimentin-filament rendszer, illetve a caveolin fehérjék. Ezzel párhuzamosan az ICAM1 molekulák transzlokálódnak a csatornákat szegélyező membránterületekre, de a fehérvérsejt átsegítésében részt vesznek a paracelluláris útnál leírt adhéziós molekulák is (pl. a *PECAM1*). Az átjutást segítő tényező még az endotélsejt aktív ellapulása, ezáltal a megegyező út lerövidülése is. A fehérvérsejt membránkitüremkedéseket bocsátanak a csatornába és további mozgásuk sem különbözik lényegesen az endotélfelszínen, illetve a paracelluláris áthatás során tapasztalttól.

A transzendenteliális migráción sikeresen átesett leukocitának keresztül kell hatolnia a bazális membránon és a periciták rétegén. Ez az érpálya elhagyásának leglassabban végbemenő lépése, akár 15 percig is eltarthat az egyéb történések néhány perces időigényével szemben. A pontos mechanizmus itt sem ismert, de annyi bizonyos, hogy a PECAM1 kötés további integrin-aktivációt és -transzlokációt indukál, méghozzá leginkább olyan integrinekét, amelyek fő ligandja a laminin, tehát valószínűleg közreműködnek a sejt bazális membránhoz tapadásában. A leukociták elasztáz-expressziója is fokozódik különböző stimulusok hatására, mely enzim az ECM komponensek proteolitikus bontásával segítheti az érfali és az azt követő egyéb szöveti penetrációt.

A bazális lamina felépítése nem egységes, bizonyos területein lényegesen alacsonyabb laminin és kollagén IV tartalmat mutattak ki és e területek nagysága citokin stimulus hatására növekedett. Az ilyen részek nemcsak a sejt áthaladását könnyíthetik meg, de a kemoattraktáns anyagok (melyek egyébként nagy mennyiségben kötődnek a bazális lamina heparán-szulfát komponenséhez) akadálymentes diffúziójának biztosításával a leukociták irányításában is fontosak lehetnek. A bazális lamina e ritkább, áteresztőbb területeivel azonos szakaszra esnek a periciták közötti rések, valamint az érfali ECM proteinben szegény, alacsony denzitású részei.

Leukocita adhéziós deficiencia

Esetismertetés:

„A szájsebészeti szakrendelésre egy korának megfelelő fejlettségű, aktív, ránézésre egészségesnek tűnő 3 éves kislányt vittek be a szülei. Fő panaszuk az volt, hogy a kislány fogínye 3 hónapja piros, fájdalmas, szájnyálkahártyája gyakran vérzik. Elmondták még, hogy a kislánynak 1 éve visszatérő, hámlással járó bőrgyulladásai vannak, valamint szintén visszatérő, nehezen kezelhető húgyúti fertőzései. Az orvos a szájüreg vizsgálata során diffúzan vérbő, duzzadt szájnyálkahártyát talált, amely enyhe rányomásra vérezni kezdett. Az alsó ajak szájüregi felszínén kb. egy cm átmérőjű fekély látszott, amelynek felszínéről azonban hiányzott a nyálkahártyafekélyeken általában megtalálható fibrines-gennyes álhártya. Megnagyobbodott nyirokcsomó nem volt tapintható és a fej-nyak régió radiológiai vizsgálata is negatív eredménnyel zárult. A periodontális területről nyert váladék mikrobiológiai tenyésztése csak a szájüreg normálflórájához tartozó baktérium- és gombafajok jelenlétét igazolta. Noha ezek a fajok ritkán okoznak betegséget, a kislánynak 3 hétig tartó, célzott antibiotikus és antifungális terápiát rendeltek. Mivel a kezelésre a tünetek nem javultak lényegesen, a kislányt gyermekimmunológiai osztályra utalták. Az itt végzett laboratóriumi vizsgálatok 30000/μl feletti fehérvérsejt-számot mutattak (normál: 5000-13500/μl), melyből a neutrofil granulociták abszolút száma 24600/μl (normál: a teljes fvs. szám 60-70%-a) volt. A granulociták és limfociták áramláscitometriás vizsgálata a CD11a, CD11b, CD11c és CD18 felszíni fehérjék csökkent expresszióját mutatta. A fehérvérsejtek baktericid aktivitását vizsgáló laboratóriumi teszt szignifikánsan csökkent kemotaktikus és baktericid funkciót jelzett. A beteg kromoszóma vizsgálatán a 21-es kromoszóma q karjának 2 pontmutációját találták. Ezek alapján I-es típusú leukocita adhéziós deficienciát állapítottak meg. A diagnózis felállítás után hónapokkal a kislány karján egy horzsolás után súlyos bőrgyulladás keletkezett, amely nem gyógyult és autológ bőrlebenszövet-transzplantációt igényelt. 3 hónappal később súlyos hasmenéssel járó bélfertőzés jelentkezett, melyet csak műtétilag, a vastagbél mesterséges kivezetésével (colostomia) tudtak uralni. A vastagbél-sztóma környékét azonban hamarosan egy antibiotikumokra nagymértékben rezisztens baktériumtözs kolonizálta. A beteg 2 hetente granulocita koncentrátum transzfúziót kapott, majd allogén (donortól származó) csontvelő-transzplantáción esett át, a beültetett csontvelő azonban kilöködött. A transzplantáció után 2 hónappal súlyos lázas infekció alakult ki, amit akut hipotenzió és veseelégtelenség követett. Végül légzési elégtelenség lépett fel, ezért a beteg gyermekintenzív

osztályra került, ahol respirátorra tették. További kezelési lehetőségek hiányában és a rossz prognózisra való tekintettel, a szülők és a kezelőorvos közös döntése alapján pár nap múlva abba hagyták a lélegeztetést és a beteg a LAD I diagnózis felállítása után 26 hónappal exitált.”

A leukocita adhéziós deficiencia (LAD) öröklött betegség, amelyet rekurrens bőr- és nyálkahártya fertőzések, szubkután infekciók, csökkent gennyképződés és rossz sebgyógyulás jellemeznek. Utóbbihoz tartozik a beteg újszülöttekénél tapasztalt egyik első figyelmeztető tünet, a köldökcsomk leszáradásának és leesésének elmaradása is. A fentiekén kívül az ilyen újszülöttek mindenféle – elsősorban bakteriális és gombás – fertőzésre fogékonyabbak az átlagpopulációnál, a kialakuló fertőzések lezajlása súlyosabb, prognózisuk rosszabb. A rutin laboratóriumi vizsgálatok magas fehérvérsejt számot mutatnak, a polimorfonukleáris sejtek dominanciájával. A betegségnek specifikus gyógymódja nincs, a fertőzések kezelése antibiotikumokkal, megelőzésük fokozott száj- és bőrhigiéné fenntartásával lehetséges.

A kórképnek több típusát különböztetik meg.

Az *I-es típusban (LAD I)* a granulociták, monociták, limfociták felszínén megtalálható adhéziós glikoproteinek genetikai defektusáról van szó. Három integrin típusú molekula érintett: a *Mac1*, az *LFA1* és a *p150,95*. β_2 -alegységük azonos, ezt CD18-nak is nevezik, a három glikoproteint csak a különböző α -alegység különbözteti meg, amelyeket CD11a, CD11b, CD11c névvel jelölnek. A *Mac1* fagocitózisra képes sejteken található meg, részben komplementreceptorként, részben adhéziós molekulaként funkcionál. Az *LFA1* limfocitákon található, felelős a citotoxikus T-sejtek aktivitásáért és a limfociták más sejtekkel való interakcióiért. A *p150,95* jelen van fagocitáló sejteken és limfocitákon is, pontos fiziológiai jelentősége nem tisztázott. A *CD18 génje* a 21-es kromoszóma q22.3 régiójában található és e génlókuszt érintő *mutáció* minden esetben fellelhető a LAD I-es betegek genetikai vizsgálata során.

A *LAD II-t* az E- és P-szelektin ligandjául szolgáló *szénhidrát lánc* (szialil-Lewis^x antigénnek nevezett tetraszacharid) *hiánya* okozza. Jóval ritkább, mint az I-es típus, az irodalom csak néhány esetről tud és a legtöbb esetben rokonházasságból született gyermekekről van szó. Az oligoszacharid lánc szialsavat és fukózt is tartalmaz, utóbbi GDP-fukóz formájában kerül be a proteinek glikozilálását végző Golgi-apparátusba. A betegség ezen altípusának hátterében a GDP-fukóz transzportjáért felelős enzim, a *fukozil-transzferáz* defektusa áll. Bár a defektív fukoziláció és az ebből fakadó hibás szelektin-funkció, mint a fehérvérsejt adhéziós zavar oka, egyértelmű, ugyanakkor az ilyen betegekénél tapasztalható egyéb fejlődési (pszichomotoros és morfológiai) eltérések patofiziológiai háttere eddig nem ismert.

Nemrég leírták a kórkép III. típusát is, amelyben az I-es típusal ellentétben az integrinek expressziója és szerkezete normális, kemokin-dependens *in situ* aktivációjuk viszont sérült. Ezért, ugyan „rollingra” képesek a sejtek, az integrinek nagy affinitású, aktív konformációja nem alakul ki, aminek következtében az „arrest” és a transzendenteliális migráció elmarad. A genetikai hiba a G-proteinhez társult receptorokon (GPCR) keresztül érkező szignálok transzdukciójában részt vevő protein-kaszkádot érinti. A tünetek hasonlóak a többi típusban tapasztaltakhoz, de a LAD III-ban érzékenység is jelen van, ami azzal magyarázható, hogy a trombocita-aggregációért felelős GpIIb/IIIa integrin is hasonló úton aktiválódik trombin, ADP, adrenalin hatására.

Kérdések:

1. Hogyan értelmezi a genetikai hibák és a klinikai manifesztációk közötti összefüggéseket? Az immunválasz mely lépései károsodottak?
2. Hogyan magyarázza a köldökcsomk leesésének elmaradását, mint a betegség egy gyakori tünetét? Milyen szerepe lehet ebben a granulocitáknak?
3. A LAD I betegekből nyert leukociták *in vitro* vizsgálata során nem csak az adhézió

- bizonyult károsodottnak, hanem a fagocitózis is. Mi lehet ennek az oka?
4. Ha csak a CD18 gén defektusáról van szó, miért csökkent az α -alegységek sejtfelszíni expressziója is?
 5. A granulocita koncentrációjában adott fehérvérsejtek életideje a vérben csupán néhány nap. Ezen kívül az idegen fehérvérsejtek immunreakciót provokálnak, ami tovább gyengíti az eleve károsodott immunrendszert. Mi értelme lehet mégis ilyen készítmény adásának?
 6. Mit reméltek a beteg kezelőorvosai az allogén csontvelő-transzplantációtól?
 7. Milyen, jelenleg még kísérleti stádiumban lévő kezelési lehetőséget tartana alkalmasnak a betegség jövőbeni gyógyítására?
 8. A NADPH-oxidáz hibája miatt kialakuló *krónikus granulomatózus betegség* és a lizoszómális lebontás defektusával járó *Chediak-Higashi-szindróma* gyakran hasonló klinikai manifesztációval jelentkeznek. Milyen laboratóriumi módszerekkel különítené el ezeket a betegségeket a LAD-tól?

Ajánlott irodalom

1. A. Etzioni, Defects in the Leukocyte Adhesion Cascade. *Clin Rev Allergy Immunol* 2009 May 13 E-pub ahead of print.
Leukocita adhéziós defektusok: klinikai jellemzők, patobiokémia.
2. V. Bogomolski-Yahalom, Y. Matzner, Disorders of neutrophil function. *Blood Rev* 1995 Sep;9(3):183-90.
Az utolsó kérdéshez kapcsolódó cikk a granulocita-funkció vizsgálatáról és zavarairól.
3. K. Ley, C. Laudanna, M.L. Cybulsky and S. Nourshagh, Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updates, *Nat Rev Immunol* 2007 Sep;7(9):678-89
Összefoglaló a leukocita adhézióról.
4. P. Gassmann, A. Enns and J. Haier, Role of tumor cell adhesion and migration in organ-specific metastasis formation. *Onkologie* 2004 Dec;27(6):577-82.
Review cikk a tumorsejt adhézióról és migrációról.
5. C. Kneuer, C. Ehrhardt, M.W. Radomski and U. Bakowsky, Selectins – potential pharmacological targets? *Drug Discov Today* 2006 Nov;11(21-22):1034-40.
Értekezés a szelektinek blokkolásának lehetőségéről, a szelektinek fiziológias és patológias folyamatokban játszott szerepének részletes ismertetésével.
6. R.K. Andrews and M.C. Berndt, Platelet physiology and thrombosis. *Thromb Res* 2004;114(5-6):447-53.
A vérlemezke integrinek működéséről, thrombosisról.
7. R. O. Hynes, Integrins: Bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell* 2002;110: 673-87.
Integrinek szerkezete, funkciójuk szabályozása.

