

文章编号:1004-7220(2015)01-0014-07

# 力诱导循环血流中白细胞整合素 LFA-1 的激活机制

童洁, 刘黎, 吴建华, 方颖

(华南理工大学 生物科学与工程学院, 生物力学研究所, 广州 510006)

**摘要:**目的 探讨白细胞整合素 LFA-1 活化的力学调控机制。方法 利用  $Mg^{2+}$  将 LFA-1 从静息态趋化为中等亲和态,并结合流动腔实验,在 4.5 ~ 10 mPa 流体壁面剪应力条件下,观察分析 LFA-1 介导的 Jurkat 细胞拴缚事件;同时建立整合素亲和态跃迁概率模型。**结果** 理论模型可以很好地拟合流动腔实验数据。在拉力作用下,LFA-1 的亲态将发生从中到高的跃迁,导致黏附分子键的延长;细胞拴缚事件的发生概率为15%~26%,LFA-1 在键存续时间的后26%~40%时段内将处于高亲和态;相较于中等亲和态而言,高亲和态 LFA-1 的解离速率要慢 19%~65%,两者均呈现力依赖性,前者受逆锁键调控,后者涉及逆锁键到滑移键的转换。**结论** 力通过诱导循环血流中 LFA-1 的激活介导白细胞的慢速滚动和稳定黏附。这一力诱导的 LFA-1 激活过程,将加深对循环白细胞炎症响应事件的理解,并促进相关疾病抗体药物靶标的发现。

**关键词:** 白细胞整合素;整合素激活;受体配体相互作用;细胞黏附

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.3871/j.1004-7220.2015.01.014.

## Mechanism of force-induced activation of integrin LFA-1 under circulating flows

TONG Jie, LIU Li, WU Jian-hua, FANG Ying (*Institute of Biomechanics, School of Bioscience and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China*)

**Abstract:** **Objective** To reveal the mechanical regulation mechanism for activation of lymphocyte function-associated antigen 1 (LFA-1). **Methods** The LFA-1 expressed on Jurkat cell surface was pre-activated by  $Mg^{2+}$  from quiescent- to intermediate-affinity state, and the tether events of Jurkat cells under different wall shear stresses (4.5-10 mPa) were observed and analyzed by flow chamber experiment. Meanwhile, a probabilistic model of integrin affinity jumping was established. **Results** The affinity jumping model was well fitted with the data obtained from flow chamber experiment. Under flowing loads, LFA-1 from intermediate to high-affinity state was observed, with prolonging of the adhesion bonds. The probability of tether event was 15%-26%. LFA-1 at high-affinity state contributed a significant fraction (about 26%-40%) of the bond lifetime. The off-rate of LFA-1 at high-affinity state was slower by 19%-65% as compared to that at intermediate-affinity state. Dissociating of ICAM-1 from LFA-1 was force-dependent and governed either by slip-bond at intermediate-affinity state or by catch-slip bond at high-affinity state. **Conclusions** The force-induced activation of LFA-1 mediates the slower rolling and firm adhesion of the cells. This research finding will further the understanding of inflammatory response events of circulating leukocytes, and contribute to the discovery of new antibody drug targets for the associated diseases.

**Key words:** Lymphocyte function-associated antigen 1 (LFA-1); Integrin activation; Receptor-ligand interaction; Cell adhesion

将循环白细胞募集到外周血管受损或感染部位的多步级联炎症反应过程受到选择素和整合素的调

控<sup>[1]</sup>。选择素与配体 PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand 1) 的结合介导了白细胞的初始拴缚和在内皮

收稿日期:2014-04-07; 修回日期:2014-05-12

基金项目:国家自然科学基金资助项目(11272125, 31170887)。

通信作者:方颖,副教授, E-mail: yfang@scut.edu.cn。

细胞上的滚动<sup>[2]</sup>,进而诱导白细胞整合素 LFA-1 (lymphocyte function-associated antigen-1)的激活<sup>[3]</sup>;活化的 LFA-1 与配体 ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1)间的相互作用将介导白细胞的稳定黏附、迁移和随后的功能发挥<sup>[1-2]</sup>。作为白细胞免疫应答过程中的关键事件,LFA-1 的激活不仅需要二价金属离子(如  $Mn^{2+}$  和  $Mg^{2+}$ )、趋化因子和选择素等的诱导,而且受到血流剪应力的调控<sup>[4-6]</sup>。

LFA-1 是由细胞分泌的一种表面糖蛋白,广泛表达于多种细胞之上,介导细胞与细胞及胞外基质间的黏附与信号转导<sup>[4,7-10]</sup>,存在低、中、高 3 种不同的亲和力状态<sup>[11]</sup>。LFA-1 的功能发挥要求 LFA-1 从低到高亲和力构象的转变,即 LFA-1 的激活。在正常生理条件下,LFA-1 处于静息的低亲和力状态,几乎不能识别 ICAM-1;但在炎症反应发生时,受到选择素以及趋化因子等的诱导,LFA-1 将迅速从弯曲、低亲和力的构象转换为伸展、中等亲和力,可以识别 ICAM-1 的构象<sup>[3,12]</sup>。LFA-1 从中等到高亲和力构象的转变,通常还需要血流剪应力这一催化剂的存在,即血流剪应力环境将进一步上调 LFA-1 活化水平<sup>[11]</sup>。在血流动力学环境中,结合到 ICAM-1 上的 LFA-1,不但会发生从低至中间亲和态的转换,而且可能发生从中间至高亲和态的转变,促进白细胞的稳定黏附。

迄今为止,力诱导的整合素亲和力上调,还是一个尚不明晰的事件;现有实验数据通常基于单分子生物力学测量技术得到。通过原子力显微镜 (atomic force microscope, AFM)<sup>[13-14]</sup>和生物膜力探针 (biomembrane force probe, BFP)<sup>[6]</sup>观察发现,力亦可以降低复合物 LFA-1/ICAM-1 的解离速率,即 LFA-1 与 ICAM-1 间相互作用存在“逆锁键”调控机制;而且,力将上调 LFA-1 的结合亲和力<sup>[3,6]</sup>。然而,无论是基于 AFM 还是 BFP 的单分子生物力学测量,均显著偏离了实际发生的生理病理过程。事实上,随着实验不断重复进行,利用 AFM 和 BFP 等观察到的越来越多的黏附事件可能是由力诱导、激活了的 LFA-1 所介导,而非源于未激活的 LFA-1 对 ICAM-1 的识别所致。为此,本课题组首次基于流动腔实验技术,在不同流体壁面剪应力条件下,研究人 T 淋巴瘤细胞 Jurkat 在铺有 ICAM-1 分子的流动腔底部上的拴缚事件,并成功观察到力诱导的 LFA-1 从中

等亲和态转化为高亲和力这一激活事件;同时,提出一个整合素亲和力转换的二态动力学模型,该模型可以很好地吻合流动腔实验结果。本研究结果丰富了现有关于力诱导的 LFA-1 活化的知识,并有助于深化对白细胞炎症免疫应答过程的理解。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞、蛋白与试剂

表达有 LFA-1 的 Jurkat 细胞购买自中国典型培养物保藏中心,将其置于 RPMI 1640 培养液中培养。ICMA-1-Fc 蛋白、RPMI 1640,胎牛血清(FBS)、牛血清白蛋白(BSA)、1%青链霉素、HBSS(pH 7.4,不含  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$ )和 HEPES 等溶液均购自 Gibco 公司。

### 1.2 流动腔底板功能化

硅胶垫圈铺在直径为 35 mm 载玻片上,形成 5 mm × 5 mm 流动腔底部工作区域。将 0.5 μg/mL 的 ICAM-1 溶液置于该工作区,在室温下孵育 2 h;移除垫圈,用含 2% BSA 的 PBS 溶液清洗载玻片 2 次,再加入 0.8 ~ 1 mL 的 2% BSA 的 PBS 溶液,室温孵育 1 h。该功能化了的流动腔底部可以识别结合有  $Mg^{2+}$  的中等亲和力的 LFA-1,导致细胞拴缚事件的发生,但不支持细胞的稳定黏附以及速度显著低于自由滑移速度的黏附滚动。

### 1.3 细胞悬浮液的配制

用含 5 mol/L EDTA 的 Buffer A (不含  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$  的 HBSS 溶液,10 mol/L HEPES,0.5% BSA)溶液清洗 Jurkat 细胞 2 次,然后用 HBSS (不含  $Ca^{2+}/Mg^{2+}$ )清洗细胞 2 次,最后用含 2 mol/L  $Mg^{2+}$  / 1 mol/L EGTA 的 Buffer A 悬浮细胞,使细胞浓度达到  $0.5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^6$  / mL。通过与  $Mg^{2+}$  的结合,表达在细胞膜表面上的 LFA-1 被激活到了中间亲和力状态<sup>[15]</sup>。

### 1.4 流动腔实验

在 10 倍相差显微镜下,通过蠕动泵 (Harvard Pump, PHD 2000),以不同的流量( $Q$ )将 Jurkat 细胞悬浮液灌注到平行平板流动腔中。流动腔工作段的几何尺寸为: $H$ (高) = 0.254 mm,  $B$ (宽) = 5 mm,  $L$ (长) = 5 mm。利用高速摄像机,以 50 帧/s 的速度记录近壁流过的细胞的运动速度;采用 Image Pro Plus 软件跟踪每个细胞的运动轨迹,利用 Microsoft Excel 软件分析细胞轨迹数据。观察细胞的滚动滑

移速度( $u_m$ )和位移( $x$ )的时间历程,若细胞速度小于 $20 \mu\text{m/s}$ ,或细胞的位移时间历程曲线出现一水平的平台区,则将其定义为一次拴缚黏附事件,细胞拴缚时间 $t$ 可从速度和位移时间历程图中直接测量<sup>[16]</sup>。假定流动为 Poiseuille 流,估算近壁面自由滑移细胞的质心速度  $u_w = 3QD/(BH^2)$ ,流动腔底部壁面剪应力  $\tau_w = 6\mu_0 Q/(BH^2)$ ;其中, $D$ 为细胞的半径,细胞悬浮液的运动黏性系数  $\mu_0 = 1.01 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ 。

### 1.5 黏附特异性实验

通过3种不同的流动腔底部处理方式实施,3组实验分别为:①阻断对照组:底板不铺 ICAM-1 分子,直接用含 2% BSA 的 PBS 溶液阻断 1 h,阻断物理吸附;②空白或物理吸附对照组:底板不做任何处理,直接加入 0.8 ~ 1 mL 的 PBS 溶液;③功能组:底板进行功能化处理(如 1.2 节所述)。每组实验均分别采用壁面流体剪应力( $\tau_w$ )为 4.5 和 10 mPa 的力学环境,重复 3 次,驱动细胞悬浮液流经流动腔 5 min。细胞悬浮液的配制和实验方法如 1.4 和 1.5 节所述。实验记录细胞拴缚事件的个数,分析实验组别的统计学差异性。

### 1.6 恒力介导的 LFA-1 亲和态跃迁模型

经由趋化因子诱导或通过与二价金属离子(如  $\text{Mg}^{2+}$ )的结合,表达在白细胞膜表面上的 LFA-1 已被激活到中等亲和力的状态,它通过识别表达在血管壁表面上的配体 ICAM-1,导致循环白细胞被捕获到血管壁表面之上。假设表达在血管壁内皮细胞上的配体 ICAM-1 的浓度不足以支持白细胞的稳定黏附及黏附滚动,只能通过单个 LFA-1/ICAM 复合物将细胞短暂拴缚;在这一由单键介导的细胞拴缚或停留事件中,在持续而又恒稳的力学信号刺激之下,与 ICAM-1 键合的 LFA-1 将发生从中等到高亲和态的跃迁,或 LFA-1 从 ICAM-1 上的解离速率从快到慢的质变。这一整合素的活化过程,可由下述分子键的生存概率模型来描述,即:

$$P_b = \begin{cases} \exp(-k_1 t), & 0 \leq t < t_A \\ \exp[-k_2(t-t_A) - k_1 t_A], & t_A \leq t < \infty \end{cases} \quad (1)$$

式中: $P_b$ 为单个黏附分子键的生存概率; $k_1$ 和 $k_2$ 分别为分子键 LFA-1/ICAM-1 的 2 个快慢不同的解离速率常数, $k_2 < k_1$ ;  $t_A$ 为 LFA-1 的亲合态发生跃迁所需力学刺激的持续时间。这样,分子键的生存时间( $T$ )和 LFA-1 发生亲和态跃迁的时间( $t_A$ )可表示

如下:

$$T = \int_0^{\infty} t d(1 - P_b) = \frac{1 + \theta}{k_1} \quad (2)$$

式中: $\theta$ 为 LFA-1 亲和态的转变所导致的键生存时间之相对增量,  $\theta = (k_1/k_2 - 1)P_b(t_A)$ 。相应地,将 LFA-1 的中和高亲和力状态对键生存时间的贡献率分别记为  $\alpha$  和  $\beta$ ,即:

$$\alpha = 1 - \beta$$

$$\beta = \frac{1}{T} \int_{t_A}^{\infty} t d(1 - P_b) = \frac{\theta}{(k_1 - k_2)T} \quad (3)$$

## 2 结果

### 2.1 ICAM-1 介导的细胞拴缚受到壁面流体剪应力调节

通过黏附特异性实验,检验 Jurkat 细胞拴缚事件是否源于同一分子机制,结果如图 1 所示。在细胞悬浮液流过流动腔观察视窗 5 min 内,在壁面流体剪应力( $\tau_w$ )为 4.5 和 10 mPa 情形下,在空白对照组实验中可以观察到 40 ~ 60 个左右的非特异黏附导致的细胞停留事件,BSA 可以显著地阻断这一非特异黏附事件,导致非特异黏附事件下降到 10 个以下的水平;ICAM-1 诱导的特异性黏附现象是显著的,每次可观察到 40 个左右的黏附事件,是经 BSA 阻断物理吸附后非特异黏附事件的 4 倍左右;剪应力增加导致的特异性黏附事件减少并不显著,但可显著减少细胞物理吸附在未经 BSA 处理的流动腔底部之上。因此,LFA-1 通过特异性地识别表达在血管内皮表面上的配体 ICAM-1,介导白细胞黏附。

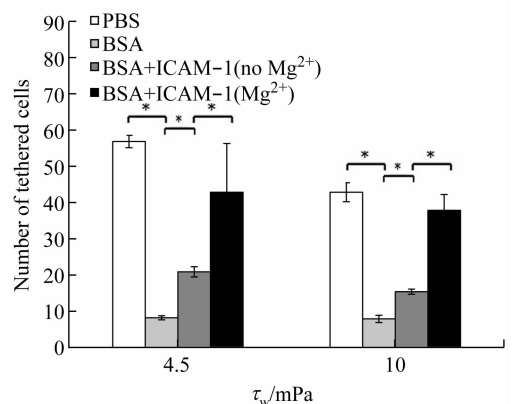


图1 LFA-1/ICAM-1 结合的特异性(\*表示差异有显著性)

Fig. 1 Binding specificity of LFA-1 with ICAM-1

上述 ICAM 介导的细胞拴缚事件将受到流体剪应力的调节。在壁面流体剪应力 ( $\tau_w$ ) 分别为 4.5、5、6、8 和 10 mPa 的条件下, 观测统计细胞拴缚停留时间。结果表明, 随着剪应力的增加, 细胞拴缚停留时间将减少 (见图 2)。这一现象提示, LFA-1/ICAM-1 复合物解离受到滑移键 (slip-bond) 机制的调控。事实上, 随流滑移的 Jurkat 细胞被捕获到表达有 ICAM-1 分子的流动腔底部这一事件的发生, 受到表达在细胞膜表面上、结合有  $Mg^{2+}$ 、处于中等亲和态的 LFA-1 与 ICAM-1 特异相互作用的介导; 同时, 细胞停留时间可视为黏附分子键的生存时间, 因为本实验中 ICAM-1 分子的浓度不足以支持细胞的滚动黏附, 分子键一旦解离, 很难在短时间内再次发生黏附, 以致细胞拴缚解离事件反映的是单个 LFA-1/ICAM-1 复合物的解离过程。

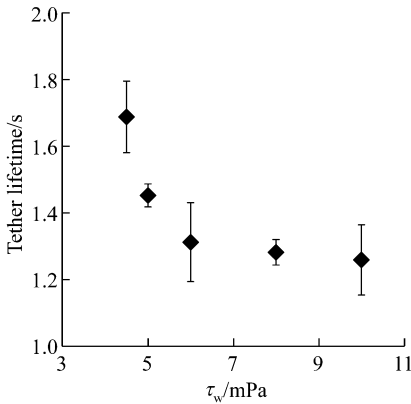


图2 细胞拴缚停留时间随壁面剪应力的变化  
 Fig.2 Variation of tether lifetime of flowing cells with wall shear stress

## 2.2 力诱导 LFA-1 亲和态的跃迁需要力学信号的持续刺激

为探明结合有 ICAM-1 的 LFA-1 的亲和态是否受到力学刺激的调控, 估算细胞拴缚事件在时刻  $t$  的生存频 (概) 率  $P_b(t)$  (拴缚时间大于  $t$  的拴缚事件数与观察到的总拴缚事件数之比)。图 3 结果表明, 在恒稳力学信号 ( $\tau_w = 4.5、6、8、10$  mPa) 的刺激下, 黏附分子键 LFA-1/ICAM-1 的生存概率  $P_b$  先将经历一个快速、速率  $k_1$  几乎为常数的指数下降过程; 到达时刻  $t_A$  之后, 键的生存概率  $P_b$  的指数下降过程几乎立即变慢, 相应的下降或解离速率  $k_2$  显著小于早先的解离速率  $k_1$ , 这一现象与通过 BFP 观察

到的现象类似<sup>[5]</sup>。基于分子键生存概率模型 (1) 的拟合结果与实验数据的高度吻合, 表明本研究所给出的模型的合理性; 同时提示在力学信号刺激之下, 结合有 ICAM-1 的 LFA-1 将发生亲和态的跃迁, 导致复合物 LFA-1/ICAM-1 的解离发生从快到慢的跃变。

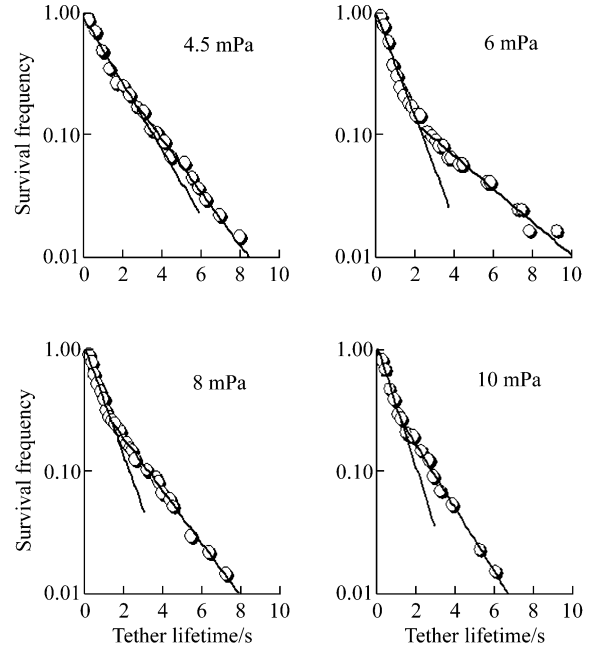


图3 在不同壁面剪应力条件下细胞拴缚事件的生存率  
 Fig.3 Survival frequency of tether events under different wall shear stresses

## 2.3 复合物 ICAM-1/LFA-1 解离的力学调控途径依赖于 LFA-1 的亲和态

采用亲和态跃迁模型 (1) 来拟合不同壁面剪应力环境中 LFA-1/ICAM-1 黏附分子键生存频率的测量值, 得到整合素 LFA-1 发生亲和态跃迁所需的时间  $t_A$ 、ICAM-1 从中到高亲和态的 LFA-1 上解离的速率常数  $k_1$  和  $k_2$  等的拟合值及其随剪应力的依赖特性 (见图 4)。结果表明, 力诱导的 LFA-1 亲和态跃迁, 大约发生于 1.1 ~ 2.5 s 的持续的恒力作用之后; 随着力的增加, 需要作用的时间越短, 提示力越大, 蛋白质对力学变构信号的响应将越快, 越易于发生亲和态的跃迁; 相应地, 在发生亲和态的跃迁之前, 蛋白质需要更长的时间来感受和累积微弱的力学变构信号。

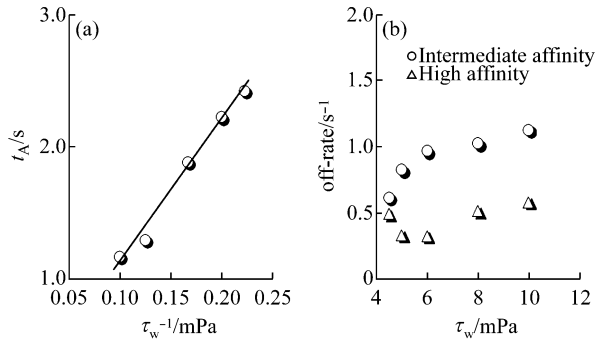


图4 LFA-1 发生亲和态跃迁所需的力学刺激时间 (a) 及中和高2种亲和状态下解离常数 (b) 随壁面剪应力的变化

Fig.4 Variation of activation time in tethering when LFA-1 affinity state transition occurred (a) and off-rates of LFA-1 at intermediate- and high-affinity states (b) with wall shear stress

当壁面流体剪应力 ( $\tau_w$ ) 处于 4.5 ~ 10 mPa,  $k_1$  随  $\tau_w$  的增加而增加, 即 ICAM-1 从中等亲和态的 LFA-1 上的解离随着力的增加而加快, 呈现典型的滑移键特征; 与之不同, 随着  $\tau_w$  的增加,  $k_2$  先减小后

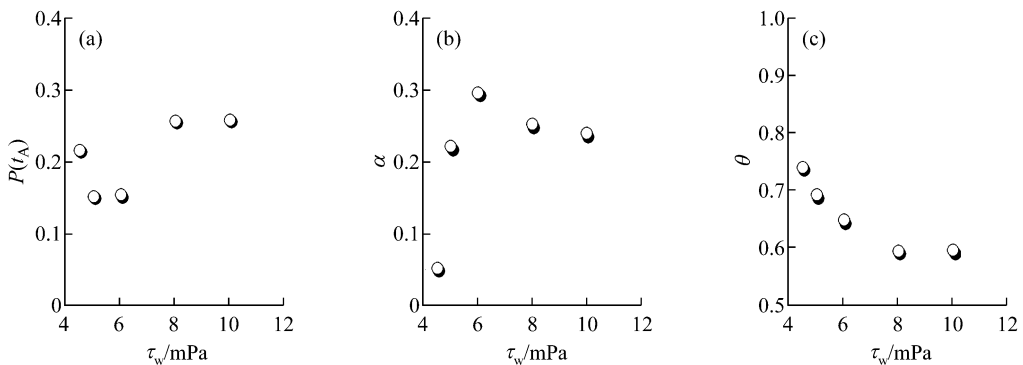


图5 LFA-1 活化的概率 (a)、保持中等亲和态的生存时间比例 (b) 和亲和态跃迁导致生存时间的相对增量 (c) 随壁面剪应力的变化

Fig.5 Variation of LFA-1 activation probability (a), lifetime fraction at pre-activated state (b), relative lifetime increment via activation (c) with wall shear stress

上述结果表明, 在流体剪应力环境中, 力诱导的 LFA-1 活化发生概率为 15% ~ 26%, 亲和态的跃迁需要持续的力学刺激; 同时, 活化发生概率随力的增加先减少后增加的特性, 依赖于如下力调控的过程: 无论是该事件发生所需的力学刺激时间的下降, 还是中等亲和态的解离, 均随壁面剪应力的增加而逐渐减慢。尽管力诱导的 LFA-1 的活化事件发生概率不大, 但该事件的发生使键合的 LFA-1 保持中等

增加, 提示力先减弱后促进了 ICAM-1 从高亲和态 LFA-1 上的解离, 发生了从逆锁键到滑移键的转换, 这种转换发生于  $\tau_w = 6$  mPa, 表明力诱导的 LFA-1 激活, 不仅意味着解离速率的变慢, 还伴随着力依赖的解离路径的改变; 推测这一解离动力学行为正是 LFA-1 在介导白细胞的慢速滚动、稳定黏附和随后发挥的其他生物学功能过程中所必需的。

## 2.4 键合的 LFA-1 亲和态跃迁对键生存时间的影响及力依赖特性

为进一步揭示力诱导的 LFA-1 激活及其黏附特性, 采用  $k_1$ 、 $k_2$  和  $t_A$  的拟合数据, 并利用式 (1) ~ (3), 估计  $P(t_A)$  (LFA-1 活化的概率),  $\alpha$  (LFA-1 依然保持中等亲和态时间所占键生存时间的比例) 和  $\theta$  (LFA-1 亲和态跃迁导致的键生存时间的相对增量) 的值 (见图 5)。结果发现, 随着  $\tau_w$  由 4.5 mPa 逐渐增加到 10 mPa,  $P(t_A)$  将先从 0.22 下降到 0.15 后再上升至 0.26, 而  $\theta$  先从 0.05 上升至 0.3 后再下降到 0.24; 与  $P(t_A)$  和  $\theta$  与  $\tau_w$  间的双向依赖关系不同,  $\alpha$  将随  $\tau_w$  的增加而减少, 从 74% 下降到 60%。

亲和态的时间只占总的键生存时间的 60% ~ 74%, 从而显著延长了 LFA-1/ICAM-1 黏附分子键的生存时间, 加固了 LFA-1/ICAM-1 这一信号转导通路, 有利于下一个黏附事件的发生, 促进白细胞的稳定黏附。

## 3 讨论

现有证据支持如下的 LFA-1 结构功能模型: LFA-1 存在对应低、中和高活性的 3 种不同构象, 即

闭合、弯曲和伸直的构象;在二价金属离子(如  $Mg^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ )、细胞趋化因子(CXCL12)和选择素等的诱导下,LFA-1 可被激活到中间亲和态;外力促进了 LFA-1 从中间亲和态到高亲和态的转变过程。针对力诱导的 LFA-1 激活这一白细胞炎症反应过程中尚不明晰的关键事件,本文主要关注经  $Mg^{2+}$  处理的 LFA-1 激活以及 LFA-1 从 ICAM-1 上解离的力学调控机制。这类 LFA-1/ICAM-1 复合物解离速率常数的现有实测数据源于光镊、微吸管和 BFP 实验<sup>[4]</sup>。流动腔实验结果表明,力将诱导 LFA-1 从中到高亲和态的跃迁。这是一个具有较高发生率( $>15%$ )的事件,它的触发需要一定时间的恒稳力学信号的持续刺激。力依赖的 LFA-1 从 ICAM-1 上的解离,受到 LFA-1 激活前后两种亲和态的调节和滑移键调控中等亲和态的解离,而高亲和态的解离受逆锁键-滑移键机制的调控。

在早先发展的 LFA-1 亲和态转换的动力学模型中,认为力诱导的 LFA-1 活化是以一定速率从低到中再到高亲和态转换的过程<sup>[17]</sup>,表明经  $Mg^{2+}$  处理后细胞上表达的 LFA-1 尚未全部趋化到高亲和态。与之不同,本研究中力诱导的 LFA-1 跃迁模型中,假设 LFA-1 分子已完全被  $Mg^{2+}$  预先激活到中间亲和态了,即循环细胞的拴缚事件的发生是完全由中等亲和态的 LFA-1 所介导。事实上,未用  $Mg^{2+}$  处理的细胞黏附事件很少,在流体剪应力环境中观察到的 LFA-1 亲和态转换仅呈现显著的二态跃迁现象。同时,在 4.5 ~ 10 mPa 壁面流体剪应力条件下,LFA-1 在介导一次拴缚事件之后而被激活的概率约为 15% ~ 26%,提示对于 AFM、光镊、微吸管和 BFP 的生物力学测量而言,在经历多次重复实验之后,整合素样本分子有很大可能已在拉力的作用下激活了,这将导致低估中等亲和态的解离速率。事实上,采用 10 pN/s 加载率下解离速率的光镊测量值为 0.55 或 0.59  $s^{-1}$ <sup>[4]</sup>,而在恒力(0 ~ 30 pN)拉伸情形下的 BFP 测量结果为 0.3 ~ 0.65  $s^{-1}$ <sup>[5]</sup>,这些数据要比本研究采用流动腔实验测得的解离速率(0.59 ~ 0.8  $s^{-1}$ )要小。因此,相较于其他力学测量方案而言,除了更接近真实生理过程之外,结合流动腔实验和亲和态跃迁概率模型的方案可能是研究 LFA-1 激活及解离动力学的力学调控机制的更佳解决方案。

本研究结果提示,对于力诱导的 LFA-1 亲和态的改变而言,它可能是一个亲和态跃迁的而不是以一定速率逐渐活化的不可逆过程。然而,这依然是一个尚需进一步证实的事件。在基于整合素与选择素协同诱导的白细胞的慢速滚动这一白细胞炎症早期免疫响应过程中,ICAM-1/LFA-1 复合物所受的力只有几十 pN,它和本研究所取的壁面剪应力范围相对应<sup>[5]</sup>。也许是因为本实验所取的壁面流体剪应力的值过大,没能观察到在 BFP 实验中已观察到的力延缓的细胞解离过程<sup>[5]</sup>;同时,仅观察到经  $Mg^{2+}$  处理的细胞拴缚事件,尚未研究经其他金属离子(如  $Mn^{2+}$ )和细胞趋化因子处理、力诱导的 LFA-1 活化过程。因此,提供更多实验证据来支持力诱导的 LFA-1 亲和态跃迁模型,并揭示其分子结构基础,是后续研究工作的目标。本研究结果提示了一种可能的 LFA-1 激活的力学调控机制,将有助于更深入理解 LFA-1 介导的白细胞慢速滚动和稳定黏附这一细胞炎症反应应答中的力学调控机制。

## 参考文献:

- [1] Butcher EC. Leukocyte-endothelial cell recognition: Three (or more) steps to specificity and diversity [J]. *Cell*, 1991, 67(6): 1033-1036.
- [2] McEver RP. Selectins: Lectins that initiate cell adhesion under flow [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2002, 14(5): 581-586.
- [3] Laudanna C. Integrin activation under flow: A local affair [J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(5): 429-429.
- [4] Li N, Mao D, Lü S, et al. Distinct binding affinities of Mac-1 and LFA-1 in neutrophil activation [J]. *J Immunol*, 2013, 190(8): 4371-4381.
- [5] Chen W, Lou J, Zhu C. Forcing switch from short-to intermediate-and long-lived states of the  $\alpha A$  domain generates LFA-1/ICAM-1 catch bonds [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(46): 35967-35978.
- [6] Chen W, Lou J, Evans EA, et al. Observing force-regulated conformational changes and ligand dissociation from a single integrin on cells [J]. *J Cell Biol*, 2012, 199(3): 497-512.
- [7] Hynes RO. Integrins: Versatility, modulation, and signaling in cell adhesion [J]. *Cell*, 1992, 69(1): 11-25.
- [8] Springer TA. Adhesion receptors of the immune system [J]. *Nature*, 1990, 346(6283): 425-434.
- [9] 展冬颖, 章燕, 龙勉.  $\beta 2$  整合素介导的人中性粒细胞在

- ICAM-1 袂衬表面的铺展动力学[J]. 医用生物力学, 2011, 26(3): 205-210.
- Zhan DY, Zhang Y, Long M. Spreading dynamics of  $\beta 2$  integrin-expressed human neutrophils onto ICAM-1-immobilized substrate [J]. J Med Biomech, 2011, 26(3): 205-210
- [10] Campbell ID, Humphries MJ. Integrin structure, activation, and interactions [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2011, 3(3): 1-14
- [11] Shimaoka M, Xiao T, Liu JH, *et al.* Structures of the alpha  $L_1$  domain and its complex with ICAM-1 reveal a shape-shifting pathway for integrin regulation [J]. Cell, 2003, 112(1): 99-111.
- [12] Davis C, Fischer J, Ley K, *et al.* The role of inflammation in vascular injury and repair [J]. J Thromb Haemost, 2003, 1(8): 1699-1709.
- [13] Marshall BT, Long M, Piper JW, *et al.* Direct observation of catch bonds involving cell-adhesion molecules [J]. Nature, 2003, 423(6936): 190-193.
- [14] Kong F, García AJ, Mould AP, *et al.* Demonstration of catch bonds between an integrin and its ligand [J]. J Cell Biol, 2009, 185(7): 1275-1284.
- [15] Chen J, Salas A, Springer TA. Bistable regulation of integrin adhesiveness by a bipolar metal ion cluster [J]. Nat Struct Biol, 2003, 10(12): 995-1001.
- [16] Li Q, Fang Y, Ding X, *et al.* Force-dependent bond dissociation govern rolling of HL-60 cells through E-selectin [J]. Exp Cell Res, 2012, 318(14): 1649-1658.
- [17] Xiang X, Lee CY, Li T, *et al.* Structural basis and kinetics of force-induced conformational changes of an  $\alpha A$  domain-containing integrin [J]. PLoS One, 2011, 6(11): e27946.

## 祝贺我刊主编戴尅戎教授当选法国国家医学科学院外籍通信院士

中国工程院院士、上海交通大学医学院骨关节研究所所长、上海市关节外科临床医学中心主任、《医用生物力学》杂志主编戴尅戎教授当选为2014年法国国家医学科学院外籍通信院士。

法国国家医学科学院成立于1820年,是法国医学界最高荣誉机构,共设130名院士、160名通信院士、40名外籍合作院士以及100名外籍通信院士,许多法国的诺贝尔生理学或医学奖获得者均出自该院,该院聘请的外籍院士都是受到各国同行一致肯定的知名学者。戴尅戎教授因在人工关节、生物力学、骨科矫形、骨软骨再生医学等临床研究领域做出突出贡献而获此殊荣。

本刊编辑部