

Received: 2005.02.09
Accepted: 2005.03.25
Published: 2005.04.26

Naczyniowa proteina adhezyjna 1 – unikatowa cząsteczka adhezyjna

Vascular adhesion protein-1: an unusual adhesion molecule

Aneta Madej, Adam Reich, Jacek C. Szepietowski

Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Akademii Medycznej we Wrocławiu

Streszczenie

Proces migracji leukocytów z przestrzeni wewnątrznaczyniowej do tkanek jest podstawowym zjawiskiem warunkującym utrzymanie nadzoru immunologicznego i wytworzenie prawidłowej odpowiedzi na toczący się proces zapalny. Zasiedlanie tkanek przez limfocyty jest ukierunkowanym zjawiskiem, będącym następstwem oddziaływania pomiędzy cząsteczkami adhezyjnymi na komórkach śródbłonna naczyniowego, a receptorami zasiedlania na powierzchni limfocytów. Prowadzone pod koniec lat osiemdziesiątych ubiegłego wieku badania nad ekspresją cząsteczek adhezyjnych na śródbłonnku naczyń błony maziowej w zapalnie zmienionych stawach, doprowadziły do wyodrębnienia nowej molekuly uczestniczącej w migracji limfocytów, którą nazwano naczyniową proteiną adhezyjną 1 (VAP-1). VAP-1 jest unikatową molekulą łączącą w sobie cechy cząsteczki adhezyjnej, zaangażowanej w wiązanie subpopulacji limfocytów T oraz biorącą udział w enzymatycznym procesie oksydacyjnej deaminacji. W badaniach *in vitro* obserwowano ściśle powiązanie tych dwóch funkcji. W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat roli, jaką pełni VAP-1 w patogenezie zapalnych chorób wątroby, zapalnych chorób jelit, chorobach skóry, niektórych nowotworów oraz w procesie odrzucania przeszczepu.

Słowa kluczowe:

cząsteczka adhezyjna • limfocyt • naczyniowa proteina adhezyjna 1 • stan zapalny

Summary

The migration of lymphocytes from intravascular cavities to tissue is a fundamental event in the immunological response to an inflammatory process. The migration of lymphocytes is the result of specific interactions of adhesion molecules on endothelium and their ligands on lymphocytes. Investigations conducted in the late 1980s on the expression of adhesion molecules on the epithelium of inflamed synovium led to the discovery of a new adhesion molecule which was named vascular adhesion protein-1 (VAP-1). VAP-1 is a unique molecule which shares the properties of adhesion molecules for a subpopulation of T-lymphocytes and an enzyme which catalyses the reaction of oxidative deamination. *In vitro* investigations have documented the direct relation of both activities. Here, current knowledge of the importance of VAP-1 in the pathogenesis of several diseases, including inflammatory bowel and liver diseases, skin diseases, some neoplasms, as well as the reaction of graft rejection is presented.

Key words:

adhesion molecule • lymphocyte • vascular adhesion protein-1 • inflammation

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_59/7356.pdf**Word count:** 3584**Tables:** –**Figures:** –**References:** 93**Adres autora:** prof. dr hab. med. Jacek C. Szepietowski, Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii AM, ul. Chałubińskiego 1, 50-368 Wrocław; e-mail: jszepiet@derm.am.wroc.pl

Wykaz skrótów: **CD** – kompleks różnicowania (cluster of differentiation); **DNA** – kwas deoksyrybonukleinowy; **FRC** – fibroblastyczne komórki siateczki (fibroblastic reticular cells); **HEV** – żyłki z wysokim śródbłonkiem (high endothelial venules); **ICAM** – cząsteczka adhezji międzykomórkowej (intercellular adhesion molecule); **komórka LAK** – komórka cytotoksyczna aktywowana limfokiną (lymphokine activated killer); **komórka NK** – naturalna komórka cytotoksyczna (natural killer); **MAdCAM-1** – cząsteczka adhezji komórkowej będąca adresyną błon śluzowych (mucosal addressin cell adhesion molecule-1); **MALT** – tkanka limfatyczna związana z błonami śluzowymi (mucosal-associated lymphoid tissue); **NFκB** – transkrypcyjny czynnik jądrowy κB (nuclear factor κB); **OB** – odczyn opadania (Biernackiego); **PECAM-1** – cząsteczka adhezji komórkowej płytek i śródbłonka (platelet endothelial cell adhesion molecule); **PNA** – adresyna obwodowych węzłów chłonnych (peripheral node addressin); **SSAO** – aminooksydazy wrażliwe na semikarbazyd (semicarbazide sensitive aminooxidases); **sVAP-1** – rozpuszczalna postać naczyniowej proteiny adhezyjnej 1 (soluble vascular adhesion protein-1); **TIL** – limfocyt naciekający nowotwór (tumor-infiltrating lymphocyte); **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor); **VAP-1** – naczyniowa proteina adhezyjna 1 (vascular adhesion protein-1); **VCAM** – cząsteczka adhezji komórkowej naczyń (vascular cell adhesion molecule)

WPROWADZENIE

Proces migracji leukocytów z przestrzeni wewnątrznaczyniowej do tkanek jest podstawowym zjawiskiem warunkującym utrzymanie nadzoru immunologicznego i wytworzenie prawidłowej odpowiedzi na tocący się proces zapalny [48,73]. Zasiadanie tkanek przez limfocyty jest ukierunkowanym i swoistym zjawiskiem będącym następstwem prawidłowego oddziaływania pomiędzy cząsteczkami adhezyjnymi na komórkach śródbłonka naczyniowego, a receptorami zasiedlania na powierzchni limfocytów [18,73,76,85].

PROCES MIGRACJI LIMFOCYTÓW DO TKANEK

Limfocyty, jako jedyne spośród leukocytów, krążą po organizmie, pozostałe subpopulacje leukocytów po opuszczeniu naczyń krwionośnych osiedlają się w tkankach i już nie powracają do układu krążenia [14,88]. Limfocyty ulegając aktywacji proliferują, a zmieniając swoistość swoich receptorów, mogą przekształcać się w komórki pamięci i docierać do tych tkanek, w których po raz pierwszy rozpoznały antygen [21,54,55,64]. Ukierunkowaną wędrówkę komórek immunologicznie kompetentnych kontrolują receptory zasiedlania i adresyny naczyniowe. Receptory zasiedlania znajdują się na powierzchni wędrujących limfocytów. Z kolei adresyny naczyniowe to glikoproteiny umiejscowione na powierzchni komórek śródbłonka [54,55]. Swoistość procesu zasiedlania tkanek przez limfocyty jest wypadkową sygnałów przekazywanych zarówno przez cząsteczki adhezyjne, jak i inne substancje, a wśród nich chemokiny oraz czynniki chemotaktyczne znajdujące się na powierzchni komórek śródbłonka naczyń.

Limfocyty opuszczają łożysko naczyniowe za pośrednictwem sekwencyjnej kaskady adhezyjnej. Odbywa się to

w kilku następujących kolejno po sobie etapach. Są to: toczenie się limfocytów po śródbłonku (rolling), aktywacja, ścisła adhezja i kończąca proces migracji diapedeza pomiędzy komórkami śródbłonka [15,85]. W pierwszym etapie dochodzi do delikatnego zetknięcia się przepływającego limfocytu z powierzchnią komórek śródbłonka. Umożliwia to połączenie się pierwszych par cząsteczek adhezyjnych, najczęściej selektyn i ich ligandów [53]. W następstwie owego zaczepienia prąd krwi, napierający na limfocyty, wprowadza je w ruch obrotowy – etap ten określany jest jako toczenie się [15,85,86]. Poprzedza go proces marginalizacji, czyli ruch komórek w stronę ścian naczyń, odbywających się w żyłkach pozawłosowatych. Początkowo sądzono, że w toczeniu limfocytów uczestniczą wyłącznie selektyny i ich ligandy. Obecnie wiadomo, że w procesie tym mogą brać udział również inne pary cząsteczek, m.in. CD44 na powierzchni limfocytów i kwas hialuronowy w glikokaliksie śródbłonka [81], integryny α4β7 i α4β1, które wiążą odpowiednio MAdCAM-1 (mucosal addressin cell adhesion molecule-1 – cząsteczka adhezji komórkowej będąca adresyną błon śluzowych 1) i VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1 – cząsteczka adhezji komórkowej naczyń 1) oraz cząsteczka VAP-1 (vascular adhesion protein-1 – naczyniowa proteina adhezyjna 1) znajdująca się na powierzchni komórek śródbłonka, której ligand nie został jeszcze poznany [2,40].

Kolejnym krokiem w kaskadzie adhezyjnej, następującym po wstępnym związaniu limfocytów, jest proces ich aktywacji [15]. Zachodzi on z udziałem chemokin, aktywujących integryny umiejscowione na powierzchni limfocytów. Integryny w procesie aktywacji ulegają zmianom konformacyjnym i z receptorów o bardzo słabym powinowactwie przekształcają się w cząsteczki silnie wiążące się z ligandami, cząsteczkami z nadrodziny immunoglobulin na ko-

mórkach śródbłónka [4,17,20,23]. Większość chemokin jest wytwarzana przez tkanki otaczające naczynia, a następnie aktywnie transportowana z udziałem fibroblastycznych komórek siateczki (FRC – fibroblastic reticular cells) do komórek śródbłónka, mających wyspecjalizowane struktury pęcherzykowe wynoszące substancje chemotaktyczne na ich powierzchnię. Wiadomo również, iż same komórki śródbłónka mogą wytwarzać niektóre chemokiny pod wpływem działających na nie cytokin, wydzielanych w obrębie tkanki objętej procesem zapalnym [25,34].

W glikokaliksie wyścielającym śródbłonek znajdują się glikoproteiny charakterystyczne dla zrębu macierzy pozakomórkowej – laminina, fibronektyna i tenascyna. Prawdopodobnie wspomagają one ścisłą adhezję limfocytów, następującą po aktywacji tych komórek. Inne glikoproteiny glikokaliksu, które osiągają miejscowo duże stężenie, również mogą zaktywować toczące się limfocyty. W fazie aktywacji leukocytów, poza chemokinami, podobną rolę mogą również pełnić niektóre neuropeptydy (naczynioaktywny peptyd jelitowy, substancja P), białka ostrej fazy, składniki dopełniacza, czy też pochodne kwasu arachidonowego.

Silna adhezja jest etapem poprzedzającym przejście limfocytów pomiędzy dwoma komórkami śródbłónka (diapedeza). W wyniku aktywacji limfocytów zmienia się płynność ich błony komórkowej, umożliwiającą zmianę kształtu i dostosowanie się do przeciskania między komórkami śródbłónka. Migracja limfocytów przez śródbłonek zależy od ładunku powierzchniowego wzajemnie oddziałujących na siebie komórek, siły hemodynamicznej w łożysku naczyniowym i ekspresji komplementarnych zespołów cząsteczek adhezyjnych na leukocytach i śródbłónku. Z tych powodów migracja zachodzi przez ściany żyłek, w których ładunek powierzchniowy jest najniższy, siła hemodynamiczna mała, a cząsteczki adhezyjne ulegają wybiórczej ekspresji.

Proces opuszczania łożyska naczyniowego przez limfocyty odbywa się w wyspecjalizowanych miejscach – żyłkach z wysokim śródbłonkiem (high endothelial venules – HEV), znajdujących się w drugorzędowych narządach limfatycznych [89]. Są to naczynia zbudowane z sześciennych komórek śródbłonkowych, które wykazują ekspresję różnych cząsteczek adhezyjnych, niespotykanych na płaskich, spoczynkowych komórkach śródbłónka zwykłych żyłek. Komórki HEV wykazują w swojej budowie cechy świadczące o intensywnej syntezie i sekrecji substancji biologicznie czynnych, biorących udział w migracji limfocytów. Mają one duży aparat Golgiego, liczne prerybosomy, rozbudowaną siateczkę endoplazmatyczną oraz związane z błoną komórkową liczne struktury pęcherzykowe [30]. Wyróżniające są również połączenia między komórkami, które nie są tak ścisłe i mają charakter przerywany [1]. Glikokaliks tych struktur ma kilka cech unikatowych w porównaniu z glikokaliksem znajdującym się na powierzchni śródbłónka innych naczyń. Jest on znacznie grubszy, znajdują się w nim inne proteoglikany, a ponadto zawiera w dużych ilościach lamininę i fibronektynę, które uczestniczą w zatrzymywaniu toczących się limfocytów [30].

W przebiegu przewlekłych stanów zapalnych komórki żyłek pozawłosowatych narządów Nielimfatycznych mogą przy-

mować kształt morfologicznie podobny do żyłek z wysokim śródbłonkiem. Odbywa się to najprawdopodobniej pod wpływem ciągłej stymulacji wytwarzanymi w okolicznych tkankach cytokinami. Zjawisko to obserwowano w reumatoidalnym zapaleniu stawów, zapalnych chorobach jelit i schorzeniach tarczycy, a także w zapalnych chorobach skóry [24,45,61,68].

WŁAŚCIWOŚCI BIOCHEMICZNE NACZYNIOWEJ PROTEINY ADHEZYJNEJ 1 (VAP-1)

Prowadzone pod koniec lat osiemdziesiątych ub.w. badania nad ekspresją cząsteczek adhezyjnych na śródbłónku naczyń błony maziowej w zapalnie zmienionych stawach wykazały, że proces zasiedlania maziówki przez limfocyty przebiega odmiennie od zaobserwowanego wcześniej zjawiska wiązania limfocytów w tkance chłonnej związanej z błonami śluzowymi (mucosal-associated lymphoid tissue – MALT) zależnego od MAdCAM-1 i w obwodowych węzłach chłonnych zależnego od PNA (peripheral node addressin – adresyna obwodowych węzłów chłonnych) [16,42]. Poczynione obserwacje doprowadziły do wyodrębnienia nowej molekuly, której masa cząsteczkowa oraz dystrybucja tkankowa i komórkowa różniły się od innych znanych wówczas molekuł [70]. Cząsteczkę tę nazwano naczyniową proteiną adhezyjną 1, w skrócie VAP-1 (vascular adhesion protein-1).

VAP-1 jest homodimeryczną glikoproteiną o masie 170–180 kDa, która pośredniczy w przyłączaniu limfocytów do śródbłónka naczyniowego [16,70,78,84]. Dwie identyczne podjednostki są połączone z sobą wiązaniami dwusiarczkowymi [78]. Przestrzenna budowa cząsteczki pozwala scharakteryzować VAP-1 jako przezłonowe białko typu 2, zbudowane z 764 aminokwasów, z krótką N-końcową częścią cytoplazmatyczną, pojedynczą domeną przezłonową i dużą domeną pozakomórkową C-końcową [63,74]. Każda podjednostka ma sześć miejsc N-glikozytacji [80]. Łańcuchy N-glikozydowe VAP-1 zawierają terminalny kwas sjałowy, są jednak różne, w zależności od rodzaju tkanki, w której są ekspozowane, co może sugerować odmienną ich funkcję [39]. Zastosowanie sialidazy, enzymu odcinającego reszty kwasu sjałowego, znosi możliwość wcześniej obserwowanej adhezji limfocytów [16,72,77].

EKSPRESJA NACZYNIOWEJ PROTEINY ADHEZYJNEJ 1 (VAP)

Stałą ekspresję VAP-1 stwierdza się na żyłkach o wysokim śródbłonku (HEV), występujących fizjologicznie w obwodowych narządach limfatycznych [70] oraz w wątrobie [53,85], gdzie HEV tworzą sieć zatokowych naczyń włosowatych, a także na komórkach dendrytycznych centrów rozmnażania węzłów chłonnych [75]. VAP-1 obecny jest także w komórkach mięśni gładkich [70] i adipocytach [12,41]. Cząsteczka ta jest magazynowana w komórkach w ziarnistościach cytoplazmatycznych odmiennych od ciała Weibela-Pallade'a [70,71], a następnie w warunkach stanu zapalnego jest translokowana na powierzchnię błony komórkowej [71]. Substancje powodujące wzrost ekspresji VAP-1 w miejscach stanu zapalnego nie zostały do tej pory scharakteryzowane. W przeprowadzonych badaniach żadna z cytokin, mitogenów lub innych aktywatorów stanu zapalnego nie były w stanie wzbudzić ekspre-

sji VAP-1 w hodowanych liniach komórek śródbłonna [5]. Ciekawa wydaje się koncepcja wysuwana przez Salmiego i Jalkanena [70], którzy odnaleźli w regionie promocyjnym genu *VAP-1* sekwencję wiążącą czynnik transkrypcyjny NF- κ B, co sugeruje, iż podobnie jak w przypadku E-selektyny, TNF- α (tumor necrosis factor- α – czynnik martwicy nowotworu- α) mógłby stanowić cytokinę regulującą ekspresję VAP-1. Powyższą sugestię potwierdzać mogą obserwacje poczynione przez tych samych autorów w badaniach, w których stymulacja tkanek migdałków podniebiennych poprzez TNF- α zaowocowała pojawieniem się immunoreaktywności VAP-1 w naczyniach [77].

Testy przeprowadzone na modelach zwierzęcych dostarczyły przekonujących dowodów na ekspresję luminalną VAP-1 (zlokalizowaną na powierzchni błony komórkowej komórek endotelialnych) jedynie w warunkach stanu zapalnego [40]. Wprowadzone dożylnie do organizmu psów i świń przeciwciała anti-VAP-1 łączyły się jedynie z endoteliem narządów objętych procesem zapalnym, w tym przypadku skóry i serca, oszczędzając inne, zdrowe tkanki [40]. Maksymalna ekspresja VAP-1 na komórkach pojawiała się po 6–8 godzinach od chwili uszkodzenia tkanek [39].

Stwierdzono, że ekspresja VAP-1 w komórkach śródbłonna ulega indukcji w wielu stanach chorobowych: zapaleniu stawów, wstrząsy, zapalnych dermatozach, również w tych o podłożu alergicznym oraz w zapalnych chorobach jelit [2,59,75]. Zaobserwowano także, że w przewlekłych stanach zapalnych drobne naczynia żyłne upodabniają się morfologicznie do naczyń typu HEV [24,45,61,68].

AMINOOKSYDAZY WRAŻLIWE NA SEMIKARBAZYD

W 1998 roku poznano strukturę DNA kodującego cząsteczkę VAP-1 [84]. Zaobserwowano wówczas wysokiego stopnia homologie pomiędzy VAP-1, a poznanymi znacznie wcześniej i będącymi przedmiotem wielu badań, enzymami z grupy aminooksydaz wrażliwych na semikarbazyd (SSAO – semicarbazide-sensitive amine oxidase). Dominująca w budowie VAP-1 domena pozakomórkowa zawiera ukryte centrum aktywne, dostępne poprzez kanał substratowy i wykazujące aktywność SSAO [84]. SSAO są enzymami szeroko reprezentowanymi w świecie zwierząt. U ludzi występują w wielu tkankach, a także krążą w osoczu. U osób zdrowych obserwuje się stały i stabilny poziom aktywności SSAO od urodzenia do około 16 roku życia. Po tym okresie wartość ta obniża się, by ponownie wzrosnąć po 50 roku życia, nie osiągając jednak wartości charakterystycznych dla pierwszego okresu życia [7]. Fizjologicznym stanem organizmu, w którym stwierdzone są podwyższone wartości SSAO, jest ciąża [83]. Nie wykazano różnic w wartościach SSAO w odpowiadających sobie grupach wiekowych wśród mężczyzn i kobiet [7]. Na poziom SSAO nie wpływa również pozycja ciała oraz nie obserwuje się zmian ich wartości w rytmie dobowym [87].

Aminooksydazy wrażliwe na semikarbazyd zawierają w swojej budowie atom miedzi i funkcjonalną grupę karbonylową zidentyfikowaną jako topachinon, powstający jako postranslacyjna modyfikacja tyrozyny [43]. Enzymy te z udziałem cząsteczki tlenu przeprowadzają deaminację

pierwszorzędowych grup aminowych do odpowiadających im aldehydów, a dodatkowymi produktami reakcji są nad-tlenek wodoru i amoniak [46,57,62]. VAP-1 utlenia benzyloaminę, która jest powszechnie używanym sztucznym substratem dla SSAO [13,56,58,65,92,93]. Aktywność VAP-1 jest całkowicie znoszona przez semikarbazyd i hydroksyloaminę, substancje szeroko stosowane w badaniach nad aktywnością SSAO [6,12,41,57].

W dyskusjach nad rolą SSAO podkreśla się ich znaczenie ochronne przed aminami pochodzenia endo- i egzogenne, udział w procesie apoptozy, w transporcie glukozy do komórek oraz funkcję adhezyjną dla wybranych subpopulacji limfocytów, będącą *de facto* wynikiem fizjologicznej funkcji cząsteczki VAP-1 [6,9,27,41,43,57,58,84,90,91,93]. Produkty reakcji katalizowanej przez SSAO – nad-tlenek wodoru i amoniak – są substancjami wykazującymi dużą aktywność biologiczną. W wyższych stężeniach są cytotoksyczne i mogą odgrywać rolę w procesie uszkodzenia naczyń [91]. Równie ważna jest rola nadtlenu wodoru w procesie adhezji komórkowej. Dane z piśmiennictwa wskazują na znaczenie stężenia tego reaktywnego związku tlenu, który wpływa na proliferację i ekspresję genów w komórkach śródbłonna i komórkach mięśni gładkich [5,44]. Nad-tlenek wodoru indukuje również ekspresję P-selektyny, wpływając tym samym na proces rolowania limfocytów [5,44,49,62]. Cząsteczka VAP-1 w ścianie naczynia jest potencjalnym enzymem, który może brać udział w syntezie tego aktywnego związku tlenu [28,44].

NACZYNIOWA PROTEINA ADHEZYJNA 1 (VAP) – EKTOENZYM UCZESTNICZĄCY W PROCESIE MIGRACJI LIMFOCYTÓW DO TKANEK

VAP-1 jest unikatową molekułą łączącą w sobie cechy cząsteczki adhezyjnej zaangażowanej w wiązanie subpopulacji limfocytów T oraz biorącej udział w procesie oksydacyjnej deaminacji [41,79,84]. W badaniach *in vitro* obserwowano ściśle powiązanie tych dwóch funkcji. Salmi i wsp. [79] sugerują, że aktywność katalityczna VAP-1 bezpośrednio reguluje stopień wiązania limfocytów do komórek śródbłonna. Według tych autorów centrum aktywne może wiązać pierwszorzędowe grupy aminowe obecne na powierzchni limfocytów i w procesie oksydacyjnej deaminacji prowadzić do powstania przejściowego wiązania kowalencyjnego pomiędzy komórkami śródbłonna i limfocytami. W badaniach *in vitro* stopień blokowania adhezji limfocytów w wyniku zastosowania monoklonalnych przeciwciał anti-VAP-1, jak i inhibitorów aktywności SSAO, był porównywalny [84]. Cząsteczka VAP-1 jest tym samym strukturalnie i funkcjonalnie odmienna od typowych molekuł adhezyjnych zaangażowanych w migrację leukocytów, a wykazujących ekspresję na śródbłonku naczyniowym.

Funkcja adhezyjna VAP-1 została udowodniona na podstawie badań *in vitro* w testach wiązania przeprowadzonych klasyczną metodą Stamper-Woodruffa. Tkanki pobrane od chorych (błona maziowa, migdałki podniebienne, tkanka wyrostka robaczkowego) wykorzystano do oceny stopnia blokowania adhezji limfocytów uzyskanych z krwi obwodowej do śródbłonna naczyniowego z użyciem monoklonalnych przeciwciał anti-VAP-1 [70,85]. Stosując tę metodę wykazano, że VAP-1 pełni znaczącą rolę w wiązaniu limfocytów do naczyń w wielu patologicznych stanach chorobowych: w zapalnie zmienionej skórze, zapalnych chorobach jelit oraz w zjawisku przenikania limfocytów do tkan-

ki mięśnia sercowego, które jest obserwowane w okresie reperfuzji pozawałowej [2,38,75,76]. W stawach nieobjętych stanem zapalnym błona maziowa nie wiąże limfocytów. Uzyskane mysie przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko antygenowi VAP-1 (1B2) w sposób znaczący (>50%) zmniejszało liczbę limfocytów związanych z błoną maziową zmienioną zapalnie. Jalkanen [42], prowadząc badania nad ekspresją molekuł adhezyjnych w błonie maziowej u pacjentów ze stawową postacią choroby z Lyme, zaobserwowała dominującą ekspresję P-selektyny i VAP-1 na komórkach śródbłonna naczyń błony maziowej. Natomiast Salmi i wsp. [76] wykazali, że w przebiegu zapalenia stawów towarzyszącemu zapalnemu schorzeniom przewodu pokarmowego, spośród cząsteczek adhezyjnych w błonie maziowej w największej ilości prezentowane były cząsteczki ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1 – cząsteczka adhezji międzykomórkowej 1) oraz VAP-1. W odróżnieniu od makrofagów, których przyłączanie do błony maziowej stawów zależało prawie wyłącznie od P-selektyny, wiązanie jelitowych limfocytów i immunoblastów związane było głównie z VAP-1. W przypadku zapalnych chorób skóry (łuszczycy, liszaja płaskiego oraz pemfigoidu) stwierdzono, że ekspresja VAP-1 w naczyniach skóry zmienionej chorobowo dotyczyła 75–100% naczyń, a w skórze pozornie zdrowej obejmowała 50–100% naczyń [2]. Ekspresja VAP-1 w skórze zmienionej chorobowo była umiarkowana bądź silna, w skórze pozornie zdrowej ekspresja wyrażona była jedynie w stopniu słabym lub umiarkowanym. Zastosowanie przeciwciał anti-VAP-1 skutkowało blisko 60% spadkiem wiązania limfocytów, co może świadczyć o znaczącym udziale VAP-1 w migracji limfocytów do skóry. W przedstawionym badaniu w analogiczny sposób przeprowadzono testy wiązania limfocytów z zastosowaniem przeciwciał skierowanych przeciwko E-selektynie, PNAd oraz ICAM-1, obserwując odpowiednio 30% spadek tego wiązania przy blokadzie E-selektyny i podobnego stopnia, jak przy zastosowaniu anti-VAP-1 ograniczenie migracji limfocytów podczas blokady PNAd. Przeciwciała anti-ICAM-1 spowodowało jedynie śladowe zahamowanie wiązania limfocytów [2].

VAP-1, podobnie jak E-selektyna i PNAd, jest cząsteczką adhezyjną działającą w pierwszej fazie kaskady migracyjnej limfocytów [60,70,75–77,82,85]. Ligand cząsteczki VAP-1 nadal pozostaje nieznany. Być może jest to struktura oligosacharydowa na wzór ligandów selektyn, która występuje jedynie na pewnych subpopulacjach limfocytów. Testy wiązania limfocytów w fazie toczenia wykazały, że VAP-1 wybiórczo łączy się z limfocytami CD8+ cytotoksycznymi i komórkami NK CD16+ [72,76]. Inne subpopulacje limfocytów T oraz limfocyty B i monocyty nie wiążą się z cząsteczką VAP-1 [77].

Uwzględniając udział cząsteczki VAP-1 w zasiedlaniu tkanek objętych procesem zapalnym przez limfocyty T cytotoksyczne i komórki NK, zbadano ekspresję VAP-1 w nowotworowym łożysku naczyniowym i udział tej molekuly w wiązaniu aktywowanych komórek TIL (tumor-infiltrating lymphocyte) i LAK (lymphokine activated killer), wykorzystywanych w immunoterapii nowotworów. Irjala i wsp. [37] przeanalizowali ekspresję VAP-1 w naczyniach tkanek nowotworowych pobranych od 29 pacjentów z histologicznie potwierdzonym rakiem kolczystokomórkowym, w większości przypadków umiejscowionym

na głowie i szyi. W barwieniach immunohistochemicznych wszystkie tkanki nowotworowe miały naczynia VAP-1 dodatnie, a ich liczba i stopień ekspresji były różne w badanych skrawkach. Stwierdzono istotną korelację pomiędzy liczbą VAP-1 dodatnich naczyń i intensywnością ich zabarwienia, a stopniem naciekania tkanek przez limfocyty. Natomiast ekspresja VAP-1 w naczyniach nowotworowych nie korelowała z histologiczną klasyfikacją zaawansowania procesu nowotworowego. W testach wiązania wszystkie podtypy komórek efektorowych (TIL, LAK, NK) wykorzystywały VAP-1 w procesie adhezji do ściany naczynia. Porównanie stopnia blokowania wiązania komórek TIL do śródbłonna przez przeciwciała anti-VAP-1 oraz przez mieszaninę przeciwciał skierowanych przeciwko różnym cząsteczkom adhezyjnym (ICAM-1, VCAM-1, PNAd, E- i P-selektynie) wypadło na korzyść VAP-1, a stopień blokady wynosił odpowiednio 53 i 44%. W raku wątrobowokomórkowym naciekanie tkanek nowotworowych przez komórki TIL również odbywa się z udziałem VAP-1. Zjawiska tego nie obserwuje się natomiast w przerzutach raka jelita grubego do wątroby [69].

Wydaje się także, że VAP-1 odgrywa istotną rolę w procesie odrzucania przeszczepów. W przypadku nerek, które uległy odrzuceniu, wykazano wysoką ekspresję VAP-1 w śródbłonku naczyń okołocewkowych, upodabniających się morfologicznie do naczyń typu HEV [51]. W badaniach *in vitro* przeciwciała anti-VAP-1 obniżało o około 50% stopień wiązania limfocytów w tkankach nerki, która uległa odrzuceniu. Wcześniej prowadzone badania kliniczne sugerowały znaczącą rolę ICAM-1 i VCAM-1 w mediowaniu adhezji limfocytów do śródbłonna naczyniowego w zjawisku ostrego odrzucenia przeszczepu [19]. Jednakże, mimo że terapia antyadhezyjna w stosunku do ICAM-1 dała obiecujące rezultaty w pierwszej fazie badań klinicznych, w wieloosrodkowych badaniach w fazie drugiej nie potwierdzono tak dużej skuteczności proponowanej terapii [35,66]. Być może zastosowanie przeciwciał skierowanych przeciwko VAP-1 pozwoli na opracowanie metod skuteczniejszego zapobiegania odrzuceniu przeszczepów.

Funkcja VAP-1 obecnego w komórkach innych od komórek śródbłonna dotąd nie została wyjaśniona i wymaga dalszych badań. Być może VAP-1 służy innym procesom, niezwiązanym z adhezją limfocytów. Wyniki niektórych badań sugerują, że VAP-1 może wykazywać także działanie podobne do insuliny, wpływając tym samym na metabolizm glukozy [10,27].

ROZPUSZCZALNA POSTAĆ NACZYNIOWEJ PROTEINY ADHEZYJNEJ 1 (sVAP-1)

W surowicy osób zdrowych stwierdza się obecność rozpuszczalnej postaci VAP-1 (soluble VAP-1 – sVAP-1), której stężenie u osób dorosłych wynosi średnio 90 ng/ml [50]. Rozpuszczalna VAP-1 jest prawdopodobnie uwalniana w wyniku enzymatycznej proteolizy, podobnie jak rozpuszczalne postaci VCAM-1, ICAM-1, selektyn E i L oraz CD44 [67]. Nie wyklucza się również, iż sVAP-1 powstaje bezpośrednio na matrycy RNA pozbawionego fragmentu kodującego region błonowy. Podobny proces zachodzi w przypadku syntezy rozpuszczalnej P-selektyny i PECAM-1 (platelet endothelial cell adhesion molecu-

le-1 – cząsteczka adhezji komórkowej płytek i śródbłonna-1) [22,36]. W wyniku kompetencyjnego wiązania się z odpowiadającymi im ligandami, postaci rozpuszczalne cząsteczek adhezyjnych często wpływają hamująco na regulację przylegania limfocytów. Zjawisko to jest obserwowane w przypadku rozpuszczalnej L-selektyny i ICAM-1 [3]. Natomiast rozpuszczalna VAP-1 ma funkcje immunomodulujące, nasilając wiązanie limfocytów do komórek śródbłonna [50].

Poziom sVAP-1 wzrasta w niektórych stanach chorobowych, takich jak zapalne schorzenia wątroby, jelit oraz cukrzycy typu I i II [33,47,50]. W innych patologiach, np. zespół Sjögrena, czy w uogólnionym procesie miażdżycowym, poziom sVAP-1 pozostaje niezmienny. Z tego powodu nie można traktować poziomu rozpuszczalnej VAP-1 jako uniwersalnego markera stanu zapalnego [46].

Kurkijarvi i wsp. [52] prześledzili stężenie sVAP-1 u pacjentów ze schorzeniami wątroby. Poziom sVAP-1 u wszystkich chorych łącznie był istotnie statystycznie wyższy niż w grupie kontrolnej. Najwyższe wartości obserwowano u chorych z marskością, powstałą w wyniku poalkoholowego uszkodzenia wątroby oraz u pacjentów z pierwotną marskością żółciową. W grupie pacjentów z pierwotnym zwężającym zapaleniem dróg żółciowych sVAP-1 był wyższy, ale obserwowane różnice w stosunku do osób zdrowych nie wykazywały cech istotności statystycznej. U chorych z marskością pozapalną w przebiegu wirusowego zapalenia wątroby typu C również zaznaczony był wzrost wartości sVAP-1 w osoczu. Kilko analizowanych pacjentów z rakiem wątrobowokomórkowym miało wartości sVAP-1 wyższe niż w grupie kontrolnej, zaś u chorych z przerzutami do wątroby w przebiegu procesów rozrostowych innych narządów poziom sVAP-1 nie odbiegał od obserwowanego u osób zdrowych [52].

U pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek stężenie sVAP-1 było wyższe niż w grupie kontrolnej i ulegało istotnemu obniżeniu średnio po trzech tygodniach od wykonania przeszczepu. U pacjentów, u których rozwinęła się reakcja odrzucenia przeszczepionej nerki, poziom sVAP-1 ponownie wzrastał, nie osiągał jednak wartości sprzed zabiegu [51].

W przypadku zapalnych chorób jelit wykazano wyższe stężenia sVAP-1 u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego, a poziom badanego parametru był najwyższy w aktywnym okresie choroby [47]. Nie wykazano nato-

miast istnienia korelacji pomiędzy stężeniem sVAP-1 a wskaźnikami stanu zapalnego (OB, poziomem białka CRP), poziomem albumin oraz zastosowaną opcją terapeutyczną. Nie zanotowano również zależności pomiędzy stężeniem sVAP-1, a lokalizacją zmian chorobowych i rozległością zajęcia błony śluzowej jelita [47].

Wieloośrodkowe badania wykazały wzrost aktywności SSAO w surowicy pacjentów z I i II typem cukrzycy. Poziom enzymu był znacząco wyższy u osób ze współistniejącymi powikłaniami pod postacią nefro-, neuro- i retinopatii [9,11,32]. Podobne zależności obserwowano u pacjentów z zastoinową niewydolnością krążenia, a wyniki 5-letnich badań prospektywnych przeprowadzonych na 372 pacjentach pozwalają uznać poziom badanego parametru za niezależny wskaźnik przeżywalności chorych [8]. Interesujące wydaje się także wykazanie addycyjnego wpływu obu tych chorób na wartość SSAO.

Podwyższenie poziomu SSAO wykazano także u pacjentów z nowotworami kości i obecnością przerzutów do kości [26]. Próbowano to powiązać z obserwowanymi u dzieci wyższymi wartościami SSAO. Być może przyczyna tego zjawiska jest związana z fazą aktywnego wzrostu tkanki kostnej. Natomiast u pacjentów z rakiem płuc obserwowano spadek wartości SSAO, który korelował z progresją choroby [31].

W badaniach Foty-Markowskiej i wsp. [29] przeanalizowano stężenia VAP-1 w surowicy chorych z wybranymi postaciami klinicznymi boreliozy. Stwierdzono, że średnie stężenie sVAP-1 u pacjentów z rozpoznaną boreliozą stawową było istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej. W grupie pacjentów leczonych z powodu rumienia przewlekłego wędrującego nie wykazano wzrostu stężenia sVAP-1 w surowicy w porównaniu z osobami zdrowymi [29].

PODSUMOWANIE

Przedstawione wyniki badań przemawiają za rolą aktywacji śródbłonna naczyniowego w patogenezie stanu zapalnego oraz istotną funkcją, jaką w tym procesie pełni VAP-1. Z pewnością dalsze badania pozwolą w sposób precyzyjny określić znaczenie tej cząsteczki adhezyjnej w patogenezie poszczególnych schorzeń, a wdrożenie do leczenia przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko tej molekuule być może umożliwi skuteczniejsze leczenie niektórych chorób.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Anderson A.O., Shaw S.: T cell adhesion to endothelium: the FRC conduit system and other anatomic and molecular features which facilitate the adhesion cascade in lymph node. *Semin. Immunol.*, 1993; 5: 271–282
- [2] Arvilommi A.-M., Salmi M., Kalimo K., Jalkanen S.: Lymphocyte binding to vascular endothelium in inflamed skin revisited: a central role for vascular adhesion protein-1 (VAP-1). *Eur. J. Immunol.*, 1996; 26: 825–833
- [3] Baggiolini M.: Chemokines and leukocyte traffic. *Nature*, 1998; 392: 565–574
- [4] Baggiolini M., Loetscher P.: Chemokines in inflammation and immunity. *Immunol. Today*, 2000; 21: 418–420
- [5] Bogdan C., Rollinghoff M., Diefenbach A.: Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates in innate and specific immunity. *Curr. Opin. Immunol.*, 2000; 12: 64–76
- [6] Boomsma F.: Semicarbazide-sensitive amine oxidases: widespread occurrence and many names and faces. *Neurobiology*, 2000; 8: 1–16
- [7] Boomsma F., Bhagoe U.M., van der Houwen A.M., van den Meiracker A.H.: Plasma semicarbazide-sensitive amine oxidase in human (patho)physiology. *Bioch. Bioph. Acta*, 2003; 1647: 48–54
- [8] Boomsma F., de Kam P.J., Tjeerdsma G., van den Meiracker A.H., van Veldhuisen D.J.: Plasma semicarbazide-sensitive amine oxidase is an independent prognostic parameter for survival in chronic heart failure. *Eur. Heart J.*, 2000; 21: 1859–1863

- [9] Boomsma F., Derckx F.H.M., van den Meiracker A.H., Man in 't Veld A.J.: Plasma semicarbazide-sensitive amine oxidase activity is elevated in diabetes mellitus and correlates with glycosylated haemoglobin. *Clin. Sci.*, 1995; 88: 675-679
- [10] Boomsma F., Ekberg K., Bruining G.J.: C peptide and insulin do not influence plasma semicarbazide-sensitive amine oxidase activity. *Diabetologia*, 2001; 44: 388-389
- [11] Boomsma F., van den Meiracker A.H., Winkel S., Aanstoot H.J., Bastra M.R., Man in 't Veld A.J., Bruining G.J.: Circulating semicarbazide-sensitive amine oxidase is raised both in type I (insulin-dependent), in type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and even in childhood type I diabetes at first clinical diagnosis. *Diabetologia*, 1999; 42: 233-237
- [12] Boomsma F., van Dijk J., Bhaggoe U.M., Bouhuizen A.M., van den Meiracker A.H.: Variation in semicarbazide-sensitive amine oxidase activity in plasma and tissues of mammas. *Comp. Biochem. Physiol.*, 2000; 126: 69-78
- [13] Boor P.J., Trent M.B., Lyles G.A., Tao M., Ansari G.A.S.: Methylamine metabolism to formaldehyde by vascular semicarbazide-sensitive amine oxidase. *Toxicology*, 1992; 73: 251-258
- [14] Bos J.D., Kapsenberg M.L.: The skin immune system: progress in cutaneous biology. *Immunol. Today*, 1993; 14: 75-78
- [15] Butcher E.C.: Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell*, 1991; 67: 1033-1036
- [16] Butcher E.C., Picker L.J.: Lymphocyte homing and homeostasis. *Science*, 1996; 272: 60-66
- [17] Campbell J.J., Haraldsen G., Pan J., Rottman J., Qin S., Ponath P., Andrew D.P., Warnke R., Ruffing N., Kassam N., Wu L., Butcher E.C.: The chemokine receptor CCR4 in vascular recognition by cutaneous but not intestinal memory T cells. *Nature*, 1999; 400: 776-780
- [18] Carlos T.M., Harlan J.M.: Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood*, 1994; 84: 2068-2101
- [19] Chakravorty S.J., Howie A.J., Cockwell P., Adu D., Savage C.S.: T lymphocyte adhesion mechanism within inflamed human kidney: studies with a Stamper-Woodruff assay. *Am. J. Pathol.*, 1999; 154: 503-514
- [20] Chan P.-Y., Aruffo A.: VLA-4 integrin mediates lymphocyte migration on the inducible endothelial cell ligand VCAM-1 and the extracellular matrix ligand fibronectin. *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 24655-24664
- [21] Cho B.K., Wang C., Sugawa S., Eisen H.N., Chen J.: Functional differences between memory and naive CD8 T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 2976-2981
- [22] DeGrendele H.C., Estess P., Picker L.J., Siegelman M.H.: CD44 and its ligand hyaluronate mediate rolling under physiologic flow: a novel lymphocyte-endothelial cell primary adhesion pathway. *J. Exp. Med.*, 1996; 183: 1119-1130
- [23] Dietz S.B., Whitaker-Menezes D., Lessin S.R.: The role of alpha E beta 7 integrin (CD103) and E-cadherin in epidermotropism in cutaneous T-cell lymphoma. *J. Cutan. Pathol.*, 1996; 23: 312-318
- [24] Duijvestijn A.M., Horst E., Pals S.T., Rouse B.N., Steere A.C., Picker L.J., Meijer C.J., Butcher E.C.: High endothelial differentiation in human lymphoid and inflammatory tissues defined by monoclonal antibody HECA-452. *Am. J. Pathol.*, 1988; 130: 147-155
- [25] Dustin M.L., Springer T.A.: T-cell receptor cross-linking transiently stimulates adhesiveness through LFA-1. *Nature*, 1989; 341: 619-624
- [26] Ekblom J., Gronvall J., Lennernast B., Nilsson S., Garpenstrand H., Orelund L.: Elevated activity of semicarbazide-sensitive amine oxidase in blood from patients with skeletal metastases of prostate cancer. *Clin. Sci.*, 1999; 97: 111-115
- [27] Enrique-Tarancon G., Marti L., Morin N., Lizcano J.M., Unzeta M., Sevilla L., Camps M., Palacin M., Testar X., Carpeno C., Zorzano A.: Role of semicarbazide-sensitive amine oxidase on glucose transport and GLUT4 recruitment to the cell surface in adipose cells. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 8025-8032
- [28] Finkel T.: Oxygen radicals and signaling. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1998; 10: 248-253
- [29] Fota-Markowska H., Modrzewska R., Bielec D., Lis J., Przybyla A.: Steżenie sVAP-1 w surowicy krwi w wybranych postaciach klinicznych boreliozy z Lyme. *Przegl. Epidemiol.*, 2002; 56: 79-85
- [30] Freemont A.J., Jones C.J.: Light microscopic, histochemical and ultrastructural studies of human lymph node paracortical venules. *J. Anat.*, 1983; 136: 349-362
- [31] Garpenstrand H., Bergqvist M., Brattstrom D., Larsson A., Orelund L., Hesselius P., Wagenius G.: Serum semicarbazide-sensitive amine oxidase (SSAO) activity correlates with VEGF in non-small-cell lung cancer patients. *Med. Oncol.*, 2004; 21: 241-250
- [32] Garpenstrand H., Ekblom J., Backlund L.B., Orelund L., Rosenqvist U.: Elevated plasma semicarbazide-sensitive amine oxidase (SSAO) activity in type 2 diabetes mellitus complicated by retinopathy. *Diabet. Med.*, 1999; 16: 514-521
- [33] Gearing A.J., Newman W.: Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol. Today*, 1993; 14: 506-512
- [34] Gunn M.D., Tangemann K., Tam C., Cyster J.G., Rosen S.D., Williams L.T.: A chemokine expressed in lymphoid high endothelial venules promotes the adhesion and chemotaxis of naive T lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 258-263
- [35] Haug C.E., Colvin R.B., Delmonico F.L., Auchincloss H. Jr, Tolkoff-Rubin N., Pfeffer F.I., Rothlein R., Norris S., Scharschmidt L., Cosimi A.B.: A phase I trial of immunosuppression with anti-ICAM-1 (CD54) mAb in renal allograft recipients. *Transplantation*, 1993; 55: 766-772
- [36] Hynes R.O.: Integrins: versatility, modulation and signaling in cell adhesion. *Cell*, 1992; 69: 11-25
- [37] Irjala H., Salmi M., Alanen K., Grenman R., Jalkanen S.: Vascular adhesion protein-1 mediates binding of immunotherapeutic effector cells to tumor endothelium. *J. Immunol.*, 2001; 166: 6937-6943
- [38] Jaakkola K., Jalkanen S., Kaunismaki K., Vantinen E., Saukko P., Alanen K., Kallajoki M., Voipio-Pulkki L.M., Salmi M.: Vascular adhesion protein-1, intercellular adhesion molecule-1 and P-selectin mediate leukocyte binding to ischaemic heart in humans. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2000; 36: 122-129
- [39] Jaakkola K., Kaunismaki K., Tohka S., Yegutkin G., Vantinen E., Havia T., Pelliniemi L.J., Virolainen M., Jalkanen S., Salmi M.: Human vascular adhesion protein-1 in smooth muscle cells. *Am. J. Pathol.*, 1999; 155: 1953-1965
- [40] Jaakkola K., Nikula T., Holopainen R., Vahasilta T., Matikainen M.T., Laukkanen M.L., Huupponen R., Halkola L., Nieminen L., Hiltunen J., Parviainen S., Clark M.R., Knuuti J., Savunen T., Kaapa P., Voipio-Pulkki L.M., Jalkanen S.: *In vivo* detection of vascular adhesion protein-1 in experimental inflammation. *Am. J. Pathol.*, 2000; 157: 463-471
- [41] Jalkanen S., Steere A.C., Fox R.I., Butcher E.C.: A distinct endothelial cell recognition system that controls lymphocyte traffic into inflamed synovium. *Science*, 1986; 233: 556-558
- [42] Jalkanen S., Salmi M.: Cell surface monoamine oxidases: enzymes in search of a function. *EMBO J.*, 2001; 20: 3893-3901
- [43] Janes S.M., Mu D., Wemmer D., Smith A.J., Kaur S., Matby D., Burlingame A.L., Klinman J.P.: A new redox cofactor in eukaryotic enzymes: 6-hydroxydopa at the active site of bovine serum amine oxidase. *Science*, 1990; 248: 981-987
- [44] Johnston B., Kanwar S., Kubes P.: Hydrogen peroxide induced leukocyte rolling: modulation by endogenous antioxidant mechanism including NO. *Am. J. Physiol.*, 1996; 271: H614-H621
- [45] Kabel P.J., Voorbij H.A., de Haan-Meulman M., Pals S.T., Drexhage H.A.: High endothelial venules present in lymphoid cell accumulations in thyroids affected by autoimmune disease: a study in men and BB rats of functional activity and development. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1989; 68: 744-751
- [46] Klinman J.P., Mu D.: Quinonozymes in biology. *Annu. Rev. Biochem.*, 1994; 63: 299-344
- [47] Koutroubakis I.E., Petinaki E., Vardas E., Dimoulis P., Roussoumoustakaki M., Maniatis A.N., Kouroumalis E.A.: Circulating soluble vascular adhesion protein-1 in patients with inflammatory bowel disease. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2002; 14: 405-408
- [48] Kunkel E.J., Campbell J.J., Haraldsen G., Pan J., Boisvert J., Roberts A.I., Ebert E.C., Vierra M.A., Goodman S.B., Genovese M.C., Wardlaw A.J., Greenberg H.B., Parker C.M., Butcher E.C., Andrew D.P., Agace W.W.: Lymphocyte CC chemokine receptor 9 and epithelial thymus-expressed chemokine (TECK) expression distinguish the small intestinal immune compartment: epithelial expression of tissue-specific chemokines as an organizing principle in regional immunity. *J. Exp. Med.*, 2000; 192: 761-768
- [49] Kunsch C., Medford R.M.: Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature. *Circ. Res.*, 1999; 85: 753-766
- [50] Kurkijarvi R., Adams D.H., Leino R., Mottonen T., Jalkanen S., Salmi M.: Circulating form of human vascular adhesion protein-1 (VAP-1): increased serum levels in inflammatory liver diseases. *J. Immunol.*, 1998; 161: 1549-1557
- [51] Kurkijarvi R., Jalkanen S., Isoniemi H., Salmi M.: Vascular adhesion protein-1 (VAP-1) mediates lymphocyte-endothelial interactions in chronic kidney rejection. *Eur. J. Immunol.*, 2001; 31: 2876-2884
- [52] Kurkijarvi R., Yegutkin G.G., Gunson B.K., Jalkanen S., Salmi M., Adams D.H.: Circulating soluble vascular adhesion protein-1 accounts for the increased serum monoamine oxidase activity in chronic liver disease. *Gastroenterology*, 2000; 119: 1096-1103

- [53] Ley K., Tedder T.F.: Leukocyte interactions with vascular endothelium: new insights into selectin-mediated attachment and rolling. *J. Immunol.*, 1995; 155: 525–528
- [54] Lichtman A.H., Ding H., Henault L., Vachino G., Camphausen R., Cumming D., Lusinskas F.W.: CD45RA-RO+ (memory) but not CD45RA-RO- (naïve) T cells roll efficiently on E- and P-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 under flow. *J. Immunol.*, 1997; 158: 3640–3650
- [55] Lusinskas F.W., Ding H., Lichtman A.H.: P-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 mediate rolling and arrest, respectively, of CD4+ T lymphocytes on tumor necrosis factor alpha-activated vascular endothelium under flow. *J. Exp. Med.*, 1995; 181: 1179–1186
- [56] Lyles G.A.: Substrate-specificity of mammalian tissue-bound semicarbazide-sensitive amine oxidase. *Prog. Brain Res.*, 1995; 106: 293–303
- [57] Lyles G.A.: Mammalian plasma and tissue-bound semicarbazide-sensitive amine oxidases: biochemical, pharmacological and toxicological aspects. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, 1996; 28: 259–274
- [58] Lyles G.A., Chalmers J.: The metabolism of aminoacetone to methylglyoxal by semicarbazide-sensitive amine oxidase in human umbilical artery. *Biochem. Pharmacol.*, 1992; 43: 1409–1414
- [59] McNab G., Reeves J.L., Salmi M., Hubscher S., Jalkanen S., Adams D.H.: Vascular adhesion protein-1 mediates binding of T cells to human hepatic endothelium. *Gastroenterology*, 1996; 110: 522–528
- [60] Melchers F., Rolink A.G., Schaniel C.: The role of chemokines in regulating cell migration during humoral immune response. *Cell*, 1999; 99: 351–354
- [61] Michie S.A., Streeter P.R., Bolt P.A., Butcher E.C., Picker L.J.: The human peripheral lymph node vascular addressin. An inducible endothelial antigen involved in lymphocyte homing. *Am. J. Pathol.*, 1993; 143: 1688–1698
- [62] Patel K.D., Zimmermann G.A., Prescott S.M., McEver R.P., McIntyre T.M.: Oxygen radicals induce human endothelial cells to express GMP-140 and bind neutrophils. *J. Cell Biol.*, 1991; 112: 749–759
- [63] Picarella D., Hurlbut P., Rottman J., Shi X., Butcher E., Ringler D.J.: Monoclonal antibodies specific for β 7 integrin and mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCAM-1) reduce inflammation in the colon of SCID mice reconstituted with CD45RB^{high}CD4+ T cells. *J. Immunol.*, 1997; 158: 2099–2106
- [64] Picker L.J., Martin R.J., Trumble A., Newman L.S., Collins P.A., Bergstresser P.R., Leung D.Y.: Differential expression of lymphocyte homing receptors by human memory/effector T cells in pulmonary versus cutaneous immune effector sites. *Eur. J. Immunol.*, 1994; 24: 1269–1277
- [65] Precious E., Gunn C.E., Lyles G.A.: Deamination of methylamine by semicarbazide-sensitive amine oxidase in human umbilical artery and rat aorta. *Biochem. Pharmacol.*, 1988; 37: 707–713
- [66] Salmela K., Wramner L., Ekberg H., Hauser I., Bentdal O., Lins L.E., Isoniemi H., Backman L., Persson N., Neumayer H.H., Jorgensen P.F., Spiekler C., Hendry B., Nicholls A., Kirste G., Hasche G.: A randomized multicenter trial of the anti-ICAM-1 monoclonal antibody (enlimomab) for the prevention of acute rejection and delayed onset of graft function in cadaveric renal transplantation: a report of the European Anti-ICAM-1 Renal Transplant Study Group. *Transplantation*, 1999; 67: 729–736
- [67] Salmi M., Andrew D.P., Butcher E.C., Jalkanen S.: Dual binding capacity of mucosal immunoblasts to mucosal and synovial endothelium in humans: dissection of the molecular mechanism. *J. Exp. Med.*, 1995; 181: 137–149
- [68] Salmi M., Granfors K., MacDermott R., Jalkanen S.: Aberrant binding of lamina propria lymphocytes to vascular endothelium in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*, 1994; 106: 596–605
- [69] Salmi M., Grenman R., Grenman S., Nordman E., Jalkanen S.: Tumor endothelium selectively supports binding of IL-2-propagated tumor-infiltrating lymphocytes. *J. Immunol.*, 1995; 154: 6002–6012
- [70] Salmi M., Jalkanen S.: A 90-kilodalton endothelial cell molecule mediating lymphocyte binding in humans. *Science*, 1992; 257: 1407–1409
- [71] Salmi M., Jalkanen S.: Different forms of human vascular adhesion protein-1 (VAP-1) in blood vessels *in vivo* and in cultured endothelial cells: implications for lymphocyte-endothelial cell adhesion models. *Eur. J. Immunol.*, 1995; 25: 2803–2812
- [72] Salmi M., Jalkanen S.: Human vascular adhesion protein-1 (VAP-1) is a unique sialoglycoprotein that mediates carbohydrate-dependent binding of lymphocytes to endothelial cells. *J. Exp. Med.*, 1996; 183: 569–579
- [73] Salmi M., Jalkanen S.: How do lymphocytes know where to go: current concept and enigmas of lymphocyte homing. *Adv. Immunol.*, 1997; 64: 139–218
- [74] Salmi M., Jalkanen S.: VAP-1: an adhesin and an enzyme. *Trends Immunol.*, 2001; 22: 211–216
- [75] Salmi M., Kalimo K., Jalkanen S.: Induction and function of vascular adhesion protein-1 at sites of inflammation. *J. Exp. Med.*, 1993; 178: 2255–2260
- [76] Salmi M., Rajala P., Jalkanen S.: Homing of mucosal leukocytes to joints: distinct endothelial ligands in synovium mediate leukocyte-subtype specific adhesion. *J. Clin. Invest.*, 1997; 99: 2165–2172
- [77] Salmi M., Tohka S., Berg E.L., Butcher E.C., Jalkanen S.: Vascular adhesion protein-1 (VAP-1) mediates lymphocyte subtype-specific, selectin-independent recognition of vascular endothelium in human lymph nodes. *J. Exp. Med.*, 1997; 186: 589–600
- [78] Salmi M., Tohka S., Jalkanen S.: Human vascular adhesion protein-1 (VAP-1) plays critical role in lymphocyte-endothelial cell adhesion cascade under shear. *Circ. Res.*, 2000; 86: 1245–1251
- [79] Salmi M., Yegutkin G.G., Lehvonen R., Koskinen K., Salminen T., Jalkanen S.: A cell surface amine oxidase directly controls lymphocyte migration. *Immunity*, 2001; 14: 265–276
- [80] Salminen T.A., Smith D.J., Jalkanen S., Johnson M.S.: Structural model of the catalytic domain of an enzyme with cell adhesion activity: human vascular adhesion protein-1 (HVAP-1) D4 domain is an amine oxidase. *Protein Eng.*, 1998; 11: 1195–1204
- [81] Seiter S., Schadendorf D., Tilgen W., Zoller M.: CD44 variant isoform expression in a variety of skin-associated autoimmune diseases. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1998; 89: 79–93
- [82] Shimizu Y., Rose D.M., Ginsberg M.H.: Integrins in the immune system. *Adv. Immunol.*, 1999; 72: 325–380
- [83] Sikkema J.M., Franx A., Fijnheer R., Nikkels P.G., Bruinse H.W., Boomsma F.: Semicarbazide-sensitive amine oxidase in pre-eclampsia: no relation with markers of endothelial cell activation. *Clin. Chim. Acta*, 2002; 324: 31–38
- [84] Smith D.J., Salmi M., Bono P., Hellman J., Leu T., Jalkanen S.: Cloning of vascular adhesion protein-1 reveals a novel multifunctional adhesion molecule. *J. Exp. Med.*, 1998; 188: 17–27
- [85] Springer T.A.: Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: multistep paradigm. *Cell*, 1994; 76: 301–314
- [86] Springer T.A., Lasky L.A.: Sticky sugars for selectins. *Nature*, 1991; 349: 196–197
- [87] Van Dijk J., Boomsma F., Alberts G., Man in 't Veld A.J., Schalekamp M.A.: Determination of semicarbazide sensitive amine oxidase in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *J. Chromatogr. B. Biomed. Appl.*, 1995; 663: 43–50
- [88] Von Andrian U.H., Mackay C.R.: T-cell function and migration: two sides of the same coin. *N. Engl. J. Med.*, 2000; 343: 1020–1034
- [89] Westermann J., Blaschke V., Zimmermann G., Hirschfeld U., Pabst R.: Random entry of circulating lymphocyte subset into peripheral lymph nodes and Peyer's patches: no evidence *in vivo* of a tissue-specific migration of B and T lymphocytes at the level of high endothelial venules. *Eur. J. Immunol.*, 1992; 22: 2219–2223
- [90] Yoong K.F., McNab G., Hubscher S.G., Adams D.H.: Vascular adhesion protein-1 and ICAM-1 support the adhesion of tumor-infiltrating lymphocytes to tumor endothelium in human hepatocellular carcinoma. *J. Immunol.*, 1998; 160: 3978–3988
- [91] Yu P.H., Deng Y.L.: Endogenous formaldehyde as a potential factor of vulnerability of atherosclerosis: involvement of semicarbazide-sensitive amine oxidase-mediated methylamine turnover. *Atherosclerosis*, 1998; 140: 357–363
- [92] Yu P.H., Zuo D.M.: Oxidative deamination of methylamine by semicarbazide-sensitive amine oxidase leads to cytotoxic damage in endothelial cells. *Diabetes*, 1993; 42: 594–603
- [93] Yu P.H., Zuo D.M.: Aminoguanidine inhibits semicarbazide-sensitive amine oxidase activity: implications for advanced glycation and diabetic complications. *Diabetologia*, 1997; 40: 1243–1250