

MBL 与 Raji 细胞结合特性的研究*

王明永** 张雅妮 张丽芸 卢晓 雷鸣 李瑞芳 陈政良***

(南方医科大学免疫学教研室, 广州 510515)

摘要 甘露聚糖结合凝集素(MBL)作为关键的天然免疫模式识别分子已得到共识, 但其在获得性免疫应答中是否发挥作用目前尚不清楚. 采用酶联免疫吸附试验分析 MBL 能否与 Raji、THP1/CD14、Jurkat 和红细胞结合, 并采用流式细胞术着重研究其与 Raji 细胞结合特性. 结果显示: MBL 以浓度依赖方式结合 Raji、THP1/CD14、Jurkat 细胞, 红细胞则否. MBL 与 Raji 细胞结合是 Ca^{2+} 依赖的, 且能被甘露糖、葡萄糖、N-乙酰葡萄糖胺所抑制; C1q 或抗 C1qR 单克隆抗体能部分抑制 MBL 与 Raji 细胞结合; 重组人 MBL-CRD 蛋白或 MBL-CLR 蛋白均能抑制 MBL 与 Raji 细胞结合, 两者联合应用则可完全阻断这种结合. 研究资料表明, B 淋巴细胞系 Raji 细胞表达 Ca^{2+} 依赖性、糖敏感的 MBL 受体, 包括对 CLR 特异和 CRD 特异的两种受体, 前者为 MBL 和 C1q 的共同受体. 进一步的功能研究显示, 高浓度 MBL (10~50mg/L)对 Raji 细胞的生长具有显著抑制作用, 且呈剂量依赖关系. 提示 MBL 作为一种重要的模式识别分子, 不仅发挥天然免疫功能, 而且可能在调节获得性免疫应答中起一定作用.

关键词 甘露聚糖结合凝集素, Raji 细胞, B 淋巴细胞, 受体
学科分类号 R392

甘露聚糖结合凝集素(mannan-binding lectin, MBL)是由肝细胞合成并分泌的血浆蛋白, 为 C 型凝集素超级家族中胶凝素(collectins)家族成员^[1]. 成熟 MBL 肽链自 N 端至 C 端依次有 4 个结构域: 富含 Cys 的 N 端区、胶原样区(collagen-like region, CLR)、颈区和糖识别域(carbohydrate-recognition domain, CRD). 完整 MBL 分子是同质三肽链结构单位的寡聚体, 多至六聚体, 只有高寡聚体 MBL 分子才具有生物学活性. CRD 是 MBL 分子的识别功能区, 能选择性识别多种病原体表面的糖结构, 而 CLR 是其效应功能区, MBL 激活补体和结合胶凝素受体的功能定位于此区. MBL 分子通过其 CLR 与 MBL 相关丝氨酸蛋白酶(MBL associated serine proteases, MASP1、MASP2)结合形成复合体, 在其 CRD 识别、结合病原微生物的糖结构后, 活化 MASPs 酶原, 继之激活补体凝集素途径而发挥溶破和间接调理功能, 并能与吞噬细胞胶凝素受体(即 C1qR)结合而启动调理吞噬, 还可介导 MBL 依赖的细胞介导的细胞毒作用^[2,3].

最近研究发现, 作为两种关键的天然免疫分子之一, MBL 还能识别并清除凋亡细胞^[4,5], 以钙离子依赖、糖特异的方式结合自身的单核细胞、树突

状细胞(dendritic cell, DC)^[6], 影响单核细胞细胞因子的表达^[7]. 提示 MBL 在免疫调节中发挥重要作用, 并极有可能参与获得性免疫应答. 但遗憾的是, 迄今尚未发现 MBL 介导获得性免疫应答的直接证据.

本实验中, 我们选择人 B 淋巴系 Raji 细胞作为对象, 研究 MBL 是否与其结合及其结合特性, 并对这种相互作用的效应进行了简单分析, 为探索 MBL 直接参与获得性免疫应答提供初步的依据.

1 材料与方法

1.1 主要材料

Raji、Jurkat 细胞株为本室保存, THP1/CD14 细胞株由 Dr. Han(Scripps, La Jolla, CA)惠赠. 人红细胞(human red blood cell, HRBC)用密度梯度离心法分离于新鲜外周血(本室志愿者提供). 纯化的人天然 MBL, 按照本室常规方法^[8]分离纯化并鉴定. 抗人 C1qR 单克隆抗体(monoclonal antibody,

* 广东省自然科学基金研究团队项目(015003).

** 现工作单位: 河南省新乡医学院检验系, 新乡 453003

*** 通讯联系人. Tel: 020-61648477, E-mail: zhlchen@fimmu.com

收稿日期: 2007-07-22, 接受日期: 2007-10-11

mAb)E8、原核表达的重组人 MBL-CRD 蛋白和重组人 MBL-CLR 蛋白等由本室制备. 人 C1q 购自 Calbiochem 公司, 牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA)、HRP-羊抗鼠 IgG 抗体、异硫氰酸荧光黄 (fluorescein isothiocyanate, FITC) 购自 Sigma 公司, 抗人 MBL mAb HYP131-11 购自 Abcam 公司, RPMI 1640 培养基和新生牛血清购自 Gibco 公司. WST-1 细胞增殖检测试剂盒购自碧云天生物技术有限公司, 其他化学试剂为进口或国产分析纯商品. 结合缓冲液: 20 mmol/L Tris-HCl (pH 8.0)、150 mmol/L NaCl、1 mmol/L CaCl₂、2 mmol/L MgCl₂、5 g/L BSA、1 g/L 叠氮钠. TBS-T: 50 mmol/L Tris-HCl、150 mmol/L NaCl、0.5 ml/L Tween 20.

1.2 制备 FITC-MBL

循文献[9], 采用透析法, 以 FITC 标记 MBL, 标记产物 FITC-MBL 的 F/P 比值为 2.4.

1.3 细胞-酶联免疫吸附测定 (Cell-ELISA)

Raji、THP1/CD14、Jurkat 细胞株复苏后, 以含 10% 新生牛血清的 RPMI 1640 中培养传代. 试验前, 细胞经 TBS-T 洗涤 3 次, 台盼蓝排除法检测细胞活力 > 90%. 外周血分离的 HRBC 用等渗液洗涤 3 次备用. 将各组细胞配制密度为 1×10^8 个/L 的细胞悬液, 加入酶联板内, 100 μ l/孔, 1 000 g 离心 5 min. 加入 5 ml/L 戊二醛, 100 μ l/孔, 37 $^{\circ}$ C 固定 15 min. 以 TBS-T 洗涤 3 次后, 用 50 g/L BSA 封闭 2 h. TBS-T 洗涤 5 次. 将纯化 MBL 从 20 mg/L 至 0.01 mg/L 倍比稀释, 加入酶联板, 100 μ l/孔, 以稀释液为空白对照, 37 $^{\circ}$ C 反应 1 h. 洗涤, 加入 1 : 5 000 稀释的抗人 MBL mAb HYP131-11, 37 $^{\circ}$ C 反应 1 h. 洗涤, 加 1 : 4 000 稀释的 HRP-羊抗鼠 IgG, 37 $^{\circ}$ C 反应 1 h. 洗涤后, TMB 底物液显色, 2 mol/L H₂SO₄ 终止反应, 测 A₄₅₀ 值.

1.4 流式细胞术分析

Raji 细胞用结合缓冲液 (调整 Ca²⁺ 浓度分别为 1 mol/L、5 mmol/L、10 mmol/L, 或者用 5 mmol/L EDTA 代替 CaCl₂) 重悬并调整细胞密度为 5×10^9 个/L, 于 200 μ l 细胞悬液中加入 FITC-MBL, 37 $^{\circ}$ C 避光反应 30 min. 选择用略高于人血浆 MBL 生理浓度的上限 15 mg/L 作为实验中 MBL 用量的标准浓度. 为了进一步研究 MBL 与细胞结合的有关特性, 将潜在抑制物包括各种糖、重组人 MBL-CRD 蛋白、重组人 MBL-CLR 蛋白、C1q、

抗人 C1qR mAb E8 以 30 mg/L 浓度预先加入细胞悬液, 37 $^{\circ}$ C 反应 10 min, PBS 洗涤 3 次后, 再按原步骤加入 FITC-MBL, 37 $^{\circ}$ C 避光反应 30 min, PBS 洗涤 3 次, 流式细胞术分析. 以加未标记 FITC 的 MBL 为阴性对照.

1.5 细胞增殖实验

取对数生长期的 Raji 细胞用含 10% 新生牛血清的 RPMI 1640 培养液配成 5×10^7 个/L 单细胞悬液, 接种至 96 孔培养板中, 每孔 180 μ l, 每组设 4 个平行孔, 然后加入天然 MBL 至终浓度分别为 0、5、10、25、50 mg/L, 终体积为 200 μ l, 在细胞培养的不同时间点 (1、2、3、4 天), 按照 WST-1 细胞增殖检测试剂盒说明测细胞的 A₄₅₀, 反映每孔中活细胞的数量.

1.6 统计学分析

应用 SPSS11.0 软件包进行统计处理, 数据采用单因素方差分析方法 (one-way ANOVA), $P < 0.05$ 时具有显著性差异.

2 结 果

2.1 MBL 以浓度依赖方式结合 Raji 细胞

ELISA 结果表明, MBL 可结合于 Raji 细胞、THP1/CD14 细胞和 Jurkat 细胞, 其中与 Raji 细胞的结合最为强烈, 而且结合量与 MBL 有浓度依赖关系 (图 1), 但 MBL 不能与 HRBC 结合, 提示 Raji 细胞表面可能存在 MBL 结合蛋白或 MBL 受体.

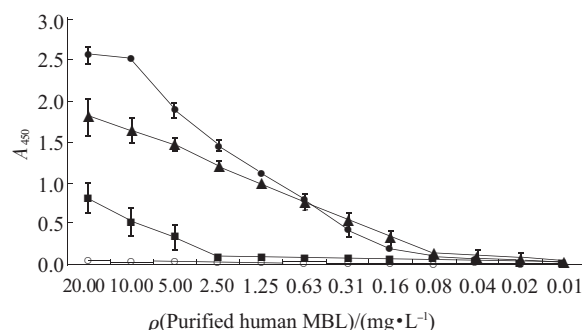


Fig. 1 Analyses of the binding of MBL to various cells by Cell-ELISA

The graph denoted the binding of human MBL to Raji cells, THP1/CD14 cells, Jurkat cells and HRBCs, respectively. Values represent ($\bar{x} \pm s$) of three independent experiments. ●—●: MBL binding to Raji; ▲—▲: MBL binding to THP1/CD14; ■—■: MBL binding to Jurkat; ○—○: MBL binding to HRBC.

2.2 MBL 与 Raji 细胞的结合具 Ca²⁺ 依赖性

流式细胞术分析表明, MBL 在无 Ca²⁺ 或含

EDTA 的结合缓冲液中几乎不与 Raji 细胞结合,而在分别含 1 mmol/L、5 mmol/L、10 mmol/L CaCl_2 的结合缓冲液中,MBL 与 Raji 细胞的结合逐渐增强,呈 Ca^{2+} 浓度依赖关系(图 2).

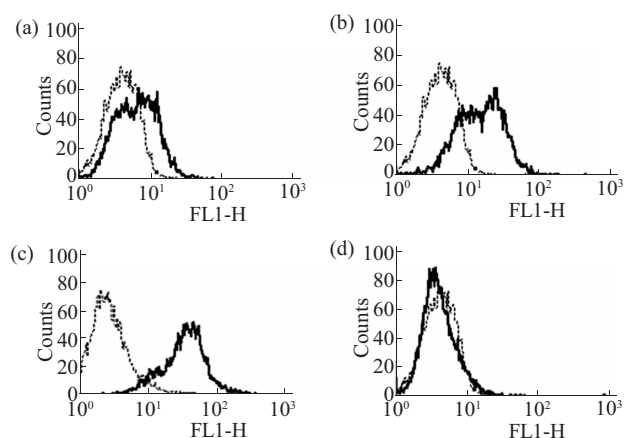


Fig. 2 Ca^{2+} -dependent binding underlying the interaction of MBL with Raji cells

Raji cells were incubated in Tris-buffered saline with various concentrations of CaCl_2 , alternatively. (a) Tris-buffered saline with 1 mmol/L CaCl_2 . (b) Tris-buffered saline with 5 mmol/L CaCl_2 . (c) Tris-buffered saline with 10 mmol/L CaCl_2 . (d) Tris-buffered saline with 5 mmol/L EDTA. Then, FITC-MBL (15 mg/L) was added. After incubation for 30 min at 37 °C, the binding of MBL to Raji cells was analyzed by use of flow cytometry, as shown in the representative histograms (a ~d). Black lines, MBL binding; dotted lines, negative controls. Data shown are representative of seven independent experiments.

2.3 MBL 与 Raji 细胞的结合能被糖类抑制

MBL 与 Raji 细胞的结合可被甘露糖、葡萄糖、N-乙酰葡萄糖胺抑制,但海藻糖、N-乙酰半乳糖胺及蔗糖则无抑制作用(图 3).

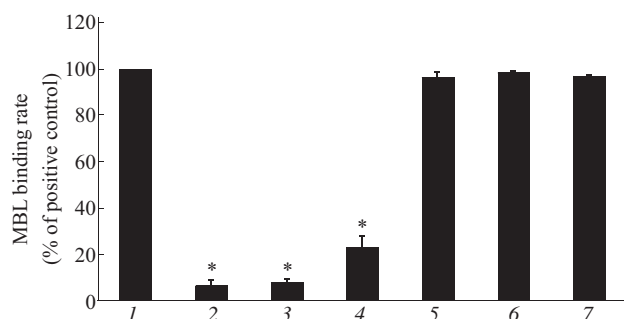


Fig. 3 Inhibition of MBL binding to Raji cells by saccharides

Samples of Raji cells were incubated with FITC-MBL at 15 mg/L in the presence of mannose, glucose, N-acetylglucosamine (GlcNAc), trehalose, sucrose or N-acetylgalactosamine (GalNAc) at 30 mmol/L, respectively. Results are expressed as percentage of the specific binding values obtained with the positive controls (sugar-free) and represent the ($\bar{x} \pm s$) of three independent experiments. * $P < 0.05$ as compared to positive control. 1: Sugar-free; 2: Mannose; 3: Glucose; 4: GlcNAc; 5: Trehalose; 6: Sucrose; 7: GalNAc.

2.4 C1q 或抗 C1qR mAb 可部分抑制 MBL 与 Raji 细胞结合

C1q 可部分抑制 MBL 与 Raji 细胞结合(图 4a), 抗人 C1qR mAb E8 也能部分抑制 MBL 与 Raji 细胞结合(图 4b), 提示可能 MBL 与 C1q 结合 Raji 细胞表面相同的膜分子, MBL 与 C1q 具有共同的细胞膜表面结合蛋白或受体.

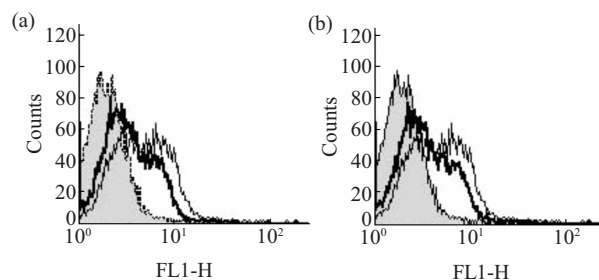


Fig. 4 Inhibition of MBL binding to Raji cells by C1q or anti-C1qR mAb E8

Samples of Raji cells were incubated with C1q at 30 mg/L (a), or anti-C1qR mAb E8 at 30 mg/L (b) in Tris-buffered saline, for 10 min before the addition of FITC-MBL (15 mg/L). The binding of MBL was measured as indicated (black solid line) and compared to the positive controls (C1q-or anti-C1qR mAb E8-free) (dotted line) and negative controls (shaded curves). Data shown are representative of four independent experiments.

2.5 MBL 结构域能部分抑制 MBL 与 Raji 细胞结合

重组人 MBL-CRD 蛋白和 MBL-CLR 蛋白均能单独抑制 MBL 与 Raji 细胞结合(图 5a, b), 联合应用重组人 MBL-CRD 蛋白和 MBL-CLR 蛋白, 能够完全阻断 MBL 与 Raji 细胞结合(图 5c), 提示 MBL 不仅能够通过其 CLR 与 Raji 细胞表面的胶凝素受体结合, 亦能够通过其 CRD 与 Raji 细胞表面有关分子结合.

2.6 MBL 对 Raji 细胞生长的抑制作用

WST-1 法检测 MBL 作用于 Raji 细胞 3 天后的细胞增殖情况, 发现, 低浓度 MBL(5 mg/L)对 Raji 细胞的增殖几乎没有影响, 但高浓度 MBL(10~50 mg/L)对 Raji 细胞的生长有显著抑制作用($P < 0.05$), 且呈剂量依赖关系(图 6). 采用定量浓度 MBL(25 mg/L)作用于 Raji 细胞, 在不同的时间点检测细胞的增殖情况, 结果显示, Raji 细胞从第 2 天起处于明显的抑制状态, 到第 3 天达到最佳的抑制效果, 此后 MBL 的抑制作用明显减弱(图 7).

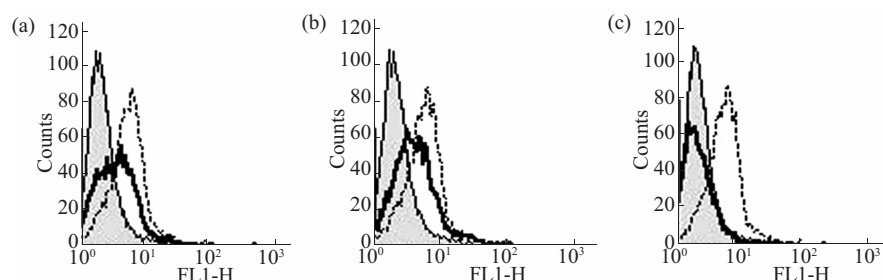


Fig. 5 Inhibition of MBL binding to Raji cells by MBL-CLR protein and MBL-CRD protein

Samples of Raji cells were incubated with either MBL-CLR protein (30 mg/L) (a), or MBL-CRD protein (30 mg/L) (b), or both (c), in Tris-buffered saline for 10 min before the addition of FITC-MBL (at 15 mg/L). The binding of MBL was measured as indicated (black solid line) and compared to the positive controls (MBL-CLR protein-or MBL-CRD protein-free) (dotted line) and negative controls (shaded curves). Data shown are representative of four independent experiments.

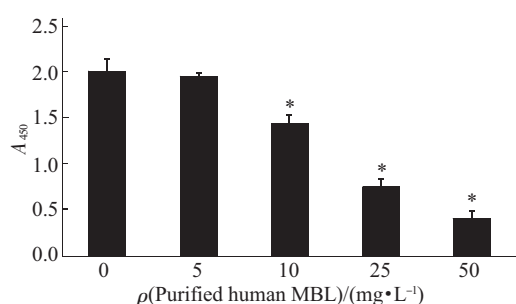


Fig. 6 Dose-dependent effects of MBL on Raji cell proliferation

Raji cells were stimulated by MBL for 3 days in complete medium. Cell proliferation at different MBL levels (0, 5, 10, 25, 50 mg/L) was detected by WST-1 kit. Values represent ($\bar{x} \pm s$) of three independent experiments. * $P < 0.05$ as compared to control (MBL free).

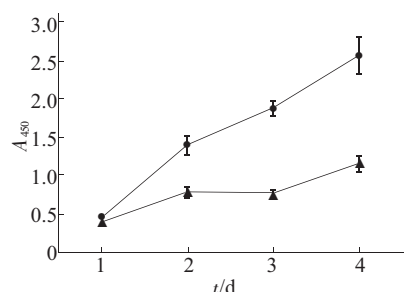


Fig. 7 Time-dependent effects of MBL on Raji cell proliferation

Raji cells were stimulated by MBL (25 mg/L) in complete medium. Cell proliferation at different time points was detected by WST-1 kit. Values represent ($\bar{x} \pm s$) of three independent experiments. ●—●: Raji; ▲—▲: Raji + MBL.

3 讨 论

作为天然免疫系统中关键的模式识别分子, MBL 通过其 C 端 CRD 识别多种病原生物的糖结

构, 又籍其近 N 端的 CLR 介导效应功能, 从而发挥天然免疫作用. 除此以外, MBL 是否还有其他功能呢?

已发现, 与 MBL 同属于 C 型凝集素超级家族中凝集素家族成员的肺表面活性物质脱辅基蛋白 A 和 D (surfactant proteins A and D, SP-A 和 SP-D) 具有多种免疫调节功能^[10~12], 如 SP-A 能抑制 DC 的分化成熟, SP-D 可增强 DC 的提呈抗原能力, 促进抗感染获得性免疫应答, SP-A 通过与 CD14 相互作用调节细菌脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的细胞应答, SP-D 结合 CD14 并改变 CD14-LPS 相互作用等. 根据 MBL 与 SP-A、SP-D 结构的同源性、都能与凝集素受体结合及巨噬细胞和 DC 表达特异性凝集素受体并介导多种免疫调节功能的情况, 我们推论 MBL 极有可能参与获得性免疫应答. 而 T、B 淋巴细胞是获得性免疫应答的介导者, 但迄今未见 MBL 直接与淋巴细胞相互作用而参与获得性免疫应答的报道. 因此, 研究 MBL 与淋巴细胞之间的相互作用具有重要意义.

我们选择人源 Raji、THP1/CD14、Jurkat 和红细胞作为对象, 分析其与 MBL 的相互作用, 发现, MBL 以浓度依赖关系可结合于 Raji 细胞、THP1/CD14 细胞和 Jurkat 细胞, 其中与 Raji 细胞的结合最为强烈 ($A_{490} > 2.5$). Raji 细胞表面存在特异性的糖敏感 MBL 受体, 这一结论源于以下证据: a. MBL 以浓度依赖方式结合 Raji 细胞, 但不结合 HRBC; b. MBL 与 Raji 细胞的结合是 Ca^{2+} 依赖性的; c. MBL 与 Raji 细胞的结合能被某些单糖抑制, 但另一些则否; d. 重组人 MBL-CRD 蛋白或 MBL-CLR 蛋白均能竞争性抑制 MBL 与 Raji 细胞

结合, 两者联合应用则可完全阻断这种结合;

e. C1q 或抗 C1qR mAb 能部分抑制 MBL 与 Raji 细胞结合.

MBL 在结构和功能方面均与补体分子 C1q 具有相似的特征. 因为 MBL 也能与细胞表面 C1qR 结合, 故后来 C1qR 被称为胶凝素受体, 但也有矛盾的报道^[13]. 本实验结果发现, 不仅 C1q, 而且抗 C1qR mAb E8 均能抑制 MBL 与 Raji 细胞结合, 提示 MBL 与 C1q 结合 Raji 细胞膜表面相同的分子. 已知 C1q 以其 CLR 结合胶凝素受体, MBL 的情况如何呢? 我们将重组的 MBL-CRD 蛋白或 MBL-CLR 蛋白加入反应中, 惊奇地发现, CRD 蛋白和 CLR 蛋白均能抑制 MBL 与 Raji 细胞结合, 两者联合应用则可完全阻断 MBL 与 Raji 细胞结合. 此结果对传统认识提出很大的挑战, 表明 MBL 可以通过一种以上的方式与免疫细胞膜表面分子相互作用, 提示 MBL 在免疫应答中可能扮演更为复杂的、目前尚难以预测的角色.

进一步的功能研究显示, 高浓度 MBL(10~50 mg/L)作用于 Raji 细胞对其生长有显著抑制作用, 而低浓度 MBL(5 mg/L)对细胞的增殖几乎没有影响. 资料表明, 人正常血清 MBL 浓度在 0.01~10 mg/L 之间^[14, 15], 在局部血管外组织如滑膜液、阴道黏膜、羊水、肺脏等能检测到高浓度 MBL^[16~18], 而且 MBL 作为一种急性期蛋白, 在应急状态下浓度可以升高 3 倍以上^[2, 3]. 因此有理由推测, 在应急状态下, 血液及局部组织 MBL 浓度激增, 不仅可以发挥天然免疫作用, 而且可以结合自身淋巴细胞, 进而调控获得性免疫应答的发生和发展.

本研究表明, 人 B 淋巴细胞系 Raji 细胞表达 Ca^{2+} 依赖性、糖敏感的 MBL 受体, 包括对 CLR 特异和 CRD 特异的两种受体, 前者为 MBL 和 C1q 的共同受体; 高浓度 MBL 可抑制 Raji 细胞的增殖. 提示, MBL 作为一种重要的模式识别分子, 不仅在天然免疫中发挥重要作用, 而且可能对获得性免疫应答的发生发展有一定影响.

参 考 文 献

- 1 陈政良. 哺乳类 C 型凝集素超级家族. 生物化学与生物物理进展, 1997, **24**(6): 491~494
Chen Z L. Prog Biochem Biophys, 1997, **24**(6): 491~496
- 2 Takahashi K, Ip W K E, Michelow I C, *et al.* The mannose-binding lectin: a prototypic pattern recognition molecule. Cur Opin Immunol, 2006, **18**(1): 16~23
- 3 Garred P, Larsen F, Seyfarth J, *et al.* Mannose-binding lectin and its genetic variants. Genes Immun, 2006, **7**(2): 85~94
- 4 Nauta A J, Raaschou-Jensen N, Roos A, *et al.* Mannose binding lectin engagement with late apoptotic and necrotic cells. Eur J Immunol, 2003, **33**(10): 2853~2863
- 5 Ogden C A, deCathelineau A, Hoffmann P R, *et al.* C1q and mannose binding lectin engagement of cell surface calreticulin and CD91 initiates macropinocytosis and uptake of apoptotic cells. J Exp Med, 2001, **194**(6): 781~796
- 6 Downing I, Koch C, Kilpatrick D C. Immature dendritic cells possess a sugar-sensitive receptor for human mannan-binding lectin. Immunol, 2003, **109**(3): 360~364
- 7 Fraser D A, Bohlson S S, Jasinskiene N, *et al.* C1q and MBL, components of the innate immune system, influence monocyte cytokine expression. J Leukoc Biol, 2006, **80**(1): 107~116
- 8 陈政良, 韩强涛, 易正山, 等. 人血浆 MBL 的分离纯化及特性鉴定. 免疫学杂志, 1998, **14**(1): 12~17
Chen Z L, Han Q T, Yi Z S, *et al.* Immunological Journal, 1998, **14**(1): 12~17
- 9 Alvarez-Dominguez C, Carrasco-Marin E, Leyva-Cobian F. Role of complement component C1q in phagocytosis of listeria monocytogenes by murine macrophage-like cell lines. Infect Immun, 1993, **61**(9): 3664~3672
- 10 Crouch E C. Surfactant protein-D and pulmonary host defense. Respir Res, 2000, **1**(2): 93~108
- 11 Brinker K G, Martin E, Borron P, *et al.* Surfactant protein D enhances bacterial antigen presentation by bone marrow-derived dendritic cells. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2002, **282**(3): L516~L517
- 12 Sano H, Chiba H, Iwaki D, *et al.* Surfactant proteins A and D bind CD14 by different mechanisms. J Biol Chem, 2000, **275**(29): 22442~22451
- 13 Bajtaj Z, Jozsi M, Banki Z, *et al.* Mannan binding lectin and C1q bind to distinct structures and exert differential effects on macrophages. Eur J Immunol, 2000, **30**(6): 1706~1713
- 14 Bohlson S S, Fraser D A, Tenner A J. Complement proteins C1q and MBL are pattern recognition molecules that signal immediate and long-term protective immune functions. Mol Immunol, 2007, **44**(1): 33~43
- 15 Turner M W, Hamvas R M. Mannose-binding lectin: structure, function, genetics and disease associations. Rev Immunogenet, 2000, **2**(3): 305~322
- 16 Malhotra R, Willis A C, Bernal L A, *et al.* Mannan binding protein levels in human amniotic fluid during gestation and its interaction with collectin receptor from amniotic cells. Immunol, 1994, **82**(3): 439~444
- 17 Gomi K, Tokue Y, Kobayashi T, *et al.* Mannose-binding lectin gene polymorphism is a modulating factor in repeated respiratory infections. Chest, 2004, **126**(1): 95~99
- 18 Pellis V, Seta D F, Crovella S, *et al.* Mannose binding lectin and C3 act as recognition molecules for infectious agents in the vagina. Clin Exp Immunol, 2005, **139**(1): 120~126

Characterization of The Binding of Mannan-binding Lectin to Raji Cells*

WANG Ming-Yong**, ZHANG Ya-Ni, Zhang Li-Yun, LU Xiao,

LEI Ming, LI Rui-Fang, CHEN Zheng-Liang***

(Department of Immunology, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

Abstract Little is known about the role of mannan-binding lectin (MBL) in adaptive immune responses although it is believed to be of importance in innate immunity. The interaction of MBL with Raji cells, THP1/CD14 cells, Jurket cells and human red blood cells (HRBCs) has been investigated by ELISA, and the characteristics of MBL binding to Raji cells by FACS. The results showed that MBL could bind to Raji cells, THP1/CD14 cells and Jurket cells except HRBCs, and the binding was dose-dependent. Furthermore, the binding of MBL to Raji cells was evident in a Ca^{2+} -dependent manner, which was partially inhibited by some saccharides (mannose, glucose, or N-acetylglucosamine), C1q and anti-C1qR mAb. Similarly, it was also incompletely inhibited by recombinant human MBL carbohydrate recognition domains (rhMBL-CRD) protein and recombinant human MBL collagen-like region (rhMBL-CLR) protein, respectively, but completely inhibited by both. These data indicated that Raji cells express Ca^{2+} -dependent and sugar-sensitive CLR-specific and CRD-specific MBL receptors, of which, the former was also shared with C1q. Further investigation showed that MBL could significantly inhibit Raji cell proliferation directly at higher concentrations (10~50 mg/L) in a dose-dependent manner, suggesting that MBL might also play certain roles in adaptive immune responses.

Key words mannan-binding lectin, Raji cells, B lymphocytes, receptors

*This work was supported by a grant from Natural Science Foundation Team Research Project of Guangdong Province (015003).

**Current address: Department of Medical Tests, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, China

***Corresponding author. Tel: 86-20-61648477, E-mail: zhlichen@fimmu.com

Received: July 22, 2007 Accepted: October 11, 2007