

감초가 selectin-매개성 호산구 및 호중구의 유착에 미치는 길항능

충북대학교 의과대학 내과학교실

김 미 경

Antagonism of licorice on selectin-mediated eosinophil and neutrophil adhesion

Mi-Kyeong Kim

*Department of Internal Medicine, College of Medicine,
Chungbuk National University, Cheongju, Korea*

Background and Objective : Early in inflammation, adhesion occurs between leukocytes and endothelium where selectins bind to sialyl Lewis x(SLe_x) and related oligosaccharides. We tested glycyrrhetic acid(GA), major anti-inflammatory component of licorice, for its ability to inhibit selectin-mediated adhesion of human eosinophils and neutrophils in vitro.

Material and Method : Neutrophils and eosinophils were isolated by density gradient centrifugation and eosinophils were further purified by immunomagnetic negative selection. Adhesion to unstimulated or IL-1 β -stimulated(5ug/ml, 4-6hr, 37°C) umbilical vein endothelial monolayers was tested under static or rotating conditions, where adhesion is E- or L-selectin dependent, respectively. P-selectin-dependent adhesion was tested on immobilized platelets treated with or without TPA(10-7M, 10mins, RT). Stimulus-induced adhesion was always at least four-fold higher than without stimulus, and selectin dependence was confirmed with specific blocking monoclonal antibody

Result : All three kinds of selectin-mediated eosinophil and neutrophil adhesion were inhibited by GA and they were reversible without affecting viability.

Conclusion : The ability of GA to interfere with the selectin mediated adhesion may contribute the one of the mechanism of the anti-inflammatory effects by licorice.

Key words : Licorice, selectin, adhesion, antagonism

통신저자 : 충북의대 내과 김미경

서 론

천식을 비롯한 염증질환에서 염증세포가 표적 장기로 이동(recruitment)하는 것은 혈관내피세포에 발현된 여러가지 유착분자(adhesion molecule)들과 세포표면에 발현되는 유착분자 특이 ligand와의 유착에 의해 이루어진다^{1,2)}. 첫 단계는 rolling으로 selectin을 통해 이루어지는데, selectin은 E-, P-, L-selectin 세가지가 있으며, 이들 중 E-selectin과 P-selectin은 혈관내피세포에 존재하며, L-selectin은 다른 유착분자와는 달리 염증세포 표면에 존재한다³⁻⁵⁾.

천식의 병리학적 진단명은 만성 호산구성 기관지염(chronic eosinophilic desquamative bronchitis)으로 이는 천식은 기도내로 유입된 호산구에 의한 만성 염증질환이라는 뜻이다⁶⁾. 기도내로 유입된 호산구가 활성화되면, 세포막으로부터 생성되는 혈소판활성인자(platelet activating factor, PAF), leukotriens(LTs) 등의 화학매체들은 기도를 수축시키고, 객담 생성을 증가시키며, 혈관투과성을 증가시켜 부종을 발생시키고, 더불어 화학주성능이 있어 지속적으로 호산구를 비롯한 염증세포들을 기도내로 유입시킬 뿐 아니라, 기도과민성을 생성하거나 증가시키며, 세포질로부터 유리된 세포독성단백은 기도상피를 박탈시킨다⁷⁻⁹⁾. 그러므로 호산구의 기도 내 유입을 차단시킬 수 있다면 기도 내 조직의 손상없이 천식을 완화시키거나 혹은 관해를 유도할 수 있을 것이다.

예로부터 한약제로 쓰여 왔던 감초는 항염증 효능이 있는 것으로 알려져 있고 이의 주 성분이 Glycerrhethinic acid(GA)임도 알려져 있다¹⁰⁾. 또한 GA는 selectin의 ligand인 SLe_x(sialyl lewis x)와 구조가 유사하다고 알려져 있다¹¹⁾.

이에 저자는 GA(Sigma, USA)의 항염증 작용의 기전이 rolling의 억제, 즉 염증세포가 표적 장기로 이동하는 첫 단계를 억제함으로써 이루어

지는 것이 아닌가 하는 가설을 세우고 이를 확인하고자 제대혈관내피세포(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)로 부터 selectin을 발현시켜 이들과 호산구 및 호중구가 유착하는 것을 억제하는지를 알아보고 selectin의 종류나 염증 세포에 따라 억제능에 차이가 있는지를 알아보고자 하였다. 또한 호산구의 rolling 억제능을 통해 감초가 항 알레르기 약제로써도 효능이 있는지를 유추하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

충북대학교 병원 내과 알레르기 클리닉에서 NAEPEPR(National Asthma Education Program Expert Panel Report) 진단 기준에 의해 천식으로 진단받은 환자들¹²⁾ 중 경구 및(혹은), 흡입 스테로이드제제를 사용하지 않았던 환자들을 대상으로 하였다. 문진, 진찰 및 대변의 총란 검사와 *Clonorchis sinensis*, *Paragonimus westermani* (CS, PW). 항원을 이용한 파내반응검사, 효소면역형광법(Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)등으로 측정한 혈청 내 CS, PW-IgG 항체검사 결과 음성반응을 보여 기생충질환이나, 악성 종양등의 호산구과다증을 동반할 수 있는 여타의 질환이 없었던 환자들을 대상으로 하였다. 호산구는 말초혈액내 수가 500/mm³ 이상인 10명으로 부터 분리하였으며 호중구는 감염이 없는 천식 환자 및 일반인의 말초혈액으로부터 분리하였다.

2. 연구 방법

1) 호중구 및 호산구의 분리

호중구는 Percoll(Pharmacia, La Jolla)과 PIPES buffer를 섞어서 비중 1.080으로 만든 용액을 이용하여 분리하였다. 순수분리도는 96% 이상이었다. 호산구는 CD16 항체를 이용한

negative immunoselection법으로 분리하였다. 약술하면 헤파린 처리하여 환자의 전주와 정맥에서 120 ml를 채혈하여 PIPES 완충액과 1:1.5로 희석한 다음 1.092 Percoll에 부유시켜 원심 분리한 후 혈소판, 림프구, 단핵구등을 제거하고 PIPES 완충액으로 세척하고 세포 pellet에 CD16 항체와 immunobead를 넣어 4℃에서 30분간 결합시키고 magnetic을 이용하여 호중구를 제거하였다. 호산구의 순수분리도는 96% 이상이었다¹³⁾.

2) 제대혈관내피세포(HUVEC)의 분리

제왕절개술시 제대혈관을 무균상태로 얻었다. Cord 완충액에 제대를 넣고 13gauge 바늘을 이용하여 정맥으로부터 내피세포를 분리하였으며 chymotrypsin으로 처리하여 혈관내피세포를 분리 세척하였다¹³⁾. 이를 24 well 조직배양판(plate)에 넣고 HUVEC이 단세포층을 이룬 후 유착 시험에 이용하였다.

3) E-selectin의 발현 및 유착능

IL-1 β (5ug/ml, UBI)로 37℃에서 4-6시간 자극하여 E-selectin을 발현시켰다. E-selectin의 발현은 단세포항체를 이용하여 확인하였다. E-selectin과 세포와의 유착은 4℃에서 30분간 static assay로 하였다. 기본유착능(basal adhesion)은 IL- β 로 자극한 HUVEC과 자극하지 않은 HUVEC에 Cr⁵¹과 배양한 호중구 및 호산구를 각 well에 10⁶개씩 넣고 결합방사능을 측정하고 동시에 각각의 다른 well에는 E-selectin 단세포항체를 넣고 E-selectin과 세포와의 유착정도를 측정하여 아래의 공식을 이용하여 산출하였다¹³⁾.

$$1 - \frac{\begin{array}{l} \% \text{ 단세포항체군이 있는 IL-1로 자극한 HUVEC과의 유착능} \\ \% \text{ 단세포항체군이 있는 IL-1로 자극하지 않은 HUVEC과의 유착능} \end{array}}{\begin{array}{l} \% \text{ 단세포항체군 없이 IL-1로 자극한 HUVEC의 유착능} \\ \% \text{ 단세포항체군 없이 IL-1로 자극하지 않은 HUVEC과의 유착능} \end{array}}$$

4) P-selectin 발현 및 유착능

P-selectin은 혈소판을 이용하여 발현시켰다. P-selectin은 혈관내피의 과립이나 혈소판에 이미 존재하고 자극에 의해 수 초내지 수 분간 표면 밖으로 표출하기 때문에 혈관내피세포를 이용하기가 수월치 않아 혈소판을 사용하였다. 헤파린을 사용하여 혈소판을 분리한 후 TPA(10⁻⁷ M)로 자극하고 glutaraldehyde(1%)로 고정시켰다. P-selectin 기능(functioning) epitope 단세포항체로 면역발색반응을 시켜 Flowcytometry로 epitope의 발현을 확인하였다. 고정된 혈소판을 세포배양판에 부착시킨 후 단세포층을 형성하였는지는 염색 후 위상차 현미경으로 관찰하여 확인하였으며 이를 assay에 사용하였다¹⁴⁾. 유착능은 E-selectin과 같이 static assay법으로 하였으나 10분간 상온에서 시행하였으며 유착능은 같은 방법으로 산출하였다.

5) L-selectin 유착능

E-, P-selectin assay와는 달리 rotating assay법으로 시행하였다. L-selectin은 E-, P-selectin과는 반대로 세포표면에 존재하며 이의 ligand가 혈관내피세포에 존재한다. 또한 세포가 활성화되면 L-selectin은 표면에서 shedding되기 때문에 세포 분리시 활성화되지 않게 무균 상태로 하였다. E-selectin과 같이 HUVEC을 IL-1 β (5ug/ml, UBI)로 자극하여 ligand를 발현시킨 후 분리한 세포를 자극한 well 과 자극하지 않은 well에 각각 넣고 cold room에서 rotating plate(80 rpm)를 이용하여 유착시킨 후 세척하였다. 1% glutaraldehyde로 고정시키고 광학현미경으로 400배율 하에서 무작위로 10시야에서의 유착된 세포 수를 측정하여 E-selectin과 같은 공식에 의해 유착능을 산출하였다¹⁵⁾. 이때 well의 가장자리는 원심력에 의해 세포가 많이 유착되므로 측정시 제외시켰다.

6) 감초가 Selectin 유착에 미치는 억제능

GA를 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3mM까지 각각 유착시에 함께 배양하여 억제능을 측정하였다. 억제능은 기본 유착능에 대한 억제 정도를 백분율로 나타낸 % 억제능을 산출하여 비교 분석하였다. % 억제능 = (기본 유착능 - GA 존재하의 유착능 / 기본 유착능) × 100

3. 통계 처리

ANOVA를 이용하여 $p < 0.05$ 를 유의하다고 판정하였다.

결 과

단세포항체를 이용하여 측정된 IL-1 β 자극에 의해 제대혈관세포(HUVEC)에 발현시킨 E-selectin의 호중구 및 호산구와의 기본 유착능은 각각 18 ± 3.4 , $15 \pm 3.5\%$ 였으며, P-selectin은 33 ± 4.8 , $31 \pm 3.5\%$, L-selectin은 65 ± 8.7 , $45 \pm 6.8\%$ 였으며, 이들은 자극하지 않은 경우의 유착능보다 4배 이상 증가되었다(Fig. 1).

GA 1mM이 호중구 및 호산구 각각 selectin과의 유착능에 미치는 억제능은(Fig. 2) E-se-

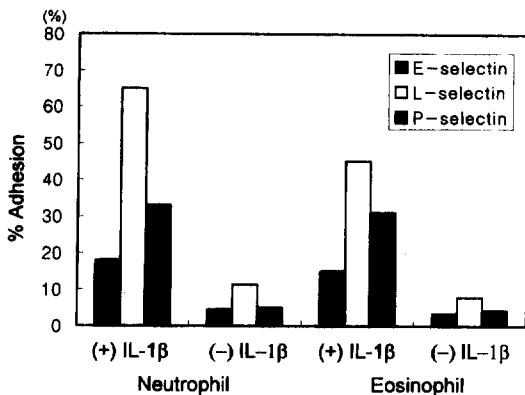


Fig. 1. Adhesion of neutrophil & eosinophil to HUVEC with or without stimulation with IL-1 β , (+), (-) : IL-1 β with or without IL-1 β stimulation

lectin과의 각각 세포의 유착능을 38 ± 5.6 , $30 \pm 7.1\%$ 까지 유의하게 억제하였으나($p < 0.05$), E-selectin 단세포항체 (1:1000)에 의한 억제능인 71 ± 9.8 , $68 \pm 6.7\%$ 보다는 유의하게 낮았다($p < 0.05$). P-selectin과의 유착에 대한 억제는 호중구에 대하여는 $28 \pm 4.5\%$, 호산구에 대하여는 $22 \pm 4.3\%$ 로 의미있게 억제시켰으나($p < 0.05$), 이 역시 P-selectin 단세포항체가 각각에 대하여 52 ± 4.8 , $54 \pm 3.5\%$ 억제시킨 것 보다는 낮았다($p < 0.05$). L-selectin과의 유착능에 관하여는 호중구와 호산구의 유착에 대하여 39 ± 4.5 , $36 \pm 5.4\%$ 까지 의미있게 억제시켰으나($p < 0.05$), 이 역시 단세포항체군이 각각 60 ± 5.6 , $60 \pm 4.8\%$ 억제시킨 것 보다는 낮았다($p < 0.05$).

GA의 농도별 억제능을 관찰한 결과(Fig. 3) E-selectin과 호산구 및 호중구와의 유착능에 대하여는 0.3mM에서 호중구에 대하여는 $20 \pm 3.4\%$, 호산구에 대하여는 $19 \pm 4.5\%$ 를 억제하기 시작하여($p < 0.05$), 1mM에서는 37 ± 4.3 , $32 \pm 4.2\%$, 3mM에서는 39 ± 4.5 , $38 \pm 2.3\%$ 로 고평부를 이루었다($p < 0.05$). P-selectin의 경우도 0.3mM에서부터 억제능이 시작되었으며 정도는 호중구에 대하여는 17 ± 4.7 , 호산구에 대하여는 $15 \pm 5.6\%$ 였으며($p < 0.05$), 1mM의 경우는 각각에 대하여 24 ± 3.5 , $22 \pm 4.9\%$ 였고 3mM에

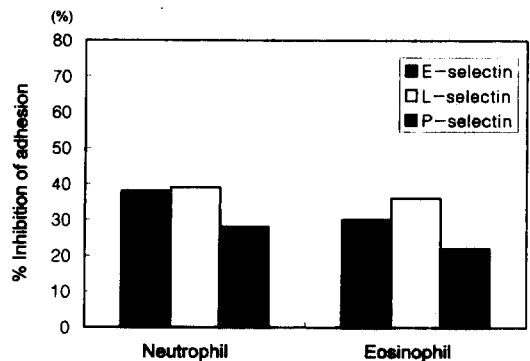


Fig. 2. Inhibitory effect of licorice 1mM on the E-, L-, P-selectin dependent neutrophil & eosinophil adhesion

대하여는 39 ± 5.5 , $26 \pm 4.6\%$ 로 호중구에 대하여는 억제능이 계속 증가하였으나($p < 0.05$), 호산구에 대하여는 고평부를 이루었다. L-selectin과의 유착에 대한 억제능도 0.3mM에서 시작되었으며($p < 0.05$) 정도는 호중구와의 유착은 $24 \pm 4.3\%$, 호산구와의 유착은 $20 \pm 3.2\%$ 억제시켰으며 1mM에서는 36 ± 4.5 , $24 \pm 3.1\%$, 3mM에서는 38 ± 4.6 , $34 \pm 4.5\%$ 억제시켰다.

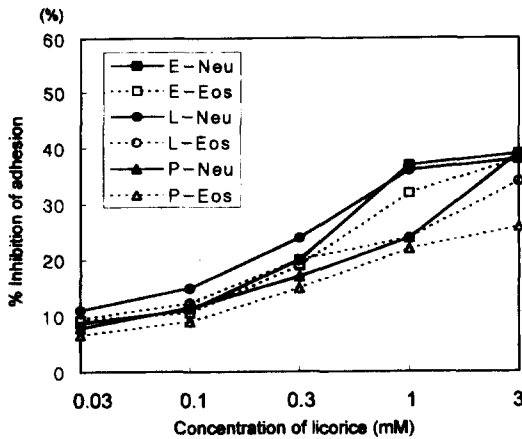


Fig. 3. Dose-response inhibitory effect of licorice on E-, L-, P-selectin dependent neutrophil & eosinophil adhesion. E-, L-, P-Neu, Eos: adhesion of neutrophil or eosinophil to E-, L-, P-selectin

고 찰

알레르기 질환을 포함한 모든 염증질환의 특징은 염증세포가 염증 부위로 침윤하는 것이다^{1,6)}. 즉 세균성 감염시는 호중구가, 알레르기 반응시는 주로 호산구가 그 부위로 모여든다. 이러한 초기 단계가 염증부위에 인접한 post-capillary venule에서의 내피세포와 염증세포와의 유착에 의해 이루어지며 이를 tethering 혹은 rolling이라 한다³⁻⁵⁾. Tethering은 selectin에 의해 매개

되는데 selectin은 E-, L-, P-selectin 세 종류가 있다³⁾. Selectin은 Lectin, EGF(epithelial growth factor), CR(complement related), Transmembrane, Cytoplasmic의 5개의 domain으로 구성되어 있으며 이중 N-terminal은 칼슘의존성 lectin의 구조를 가진 117-120개의 아미노산으로 구성되어 있는데 이 부분이 염증세포와의 유착에 관여하는 것으로 알려져 있다⁵⁾. Selectin은 CR의 크기에 따라 분자량이 다르며 L-selectin이 가장 크다. Selectin의 ligand는 SLe_x, SLe_a, dimeric-SLe_x와 같이 세 종류의 selectin들 모두와 유착을 이루는 것과 어떤 특정한 selectin 한 가지와만 유착을 이루는 ligand가 있다. 예를 들면 PSGL-1(P-selectin glycoprotein ligand -1)과 같이 P-selectin의 ligand로만 작용하는 것이 있고¹⁷⁾, ESL-1(E-selectin ligand-1), myeloglycan과 같이 E-selectin 고유의 ligand도 있고²⁰⁻²⁾, CD34, GlyCAM-1(glycosylated cell adhesion molecule-1), MadCAM-1(mucosal addressin cell adhesion molecule-1)과 같이 L-selectin 고유의 ligand도 있다²⁰⁻²⁾. 이러한 ligand 특이 항체를 주입하거나 혹은 각각의 selectin항체를 이용한 *in vitro*나 *in vivo* 실험에서, 염증세포의 침윤뿐 아니라 표적장기에서의 염증반응도 억제되었다는 결과에 비추어보면 selectin과 염증세포와의 유착이 억제되면 염증반응이 일어나지 않음을 알 수 있다. 염증세포의 표면에는 정도의 차이가 있기는 하나 SLe_x, SLe_a, dimeric-SLe_x와 같은 selectin 공통의 ligand가 존재한다. 물론 이들이 ligand로 작용하는 데는 sialyl acid와 fucose가 절대적이기는 하나²³⁾ P-selectin의 경우는 Le_x, Le_a, dimeric-Le_x 등도 기능을 하는 것으로 인지되고 있다.

생약인 감초는 예로부터 작용 기전을 모르는 채 한방 약제로 널리 쓰여 왔으나 최근 주요 약효가 항염증 작용임이 입증되었으며 특히 류마티

스성 관절염에서는 스테로이드와 효능이 유사한 것으로 알려지고 있다¹¹⁾. 또한 감초는 selectin의 ligand인 SLe_x와 구조가 유사한 것으로 밝혀져 있다¹²⁾. 그러므로 본 연구 결과 감초가 호산구 및 호중구와 HUVEC에 발현된 세 종류의 selectin들과의 유착을 억제시킨 것은 ligand와의 결합과정을 통해 이루어진 것으로 사려된다. 그러나 SLe_x, SLe_a, dimeric-SLe_x, 이들이 ligand로 작용하는 데는 sialyl acid와 fucose가 절대적이며 P-selectin의 경우만 Le_x, Le_a, dimeric-Le_x등도 기능을 하는 것으로 인지되고 있어 이러한 관점에서만 보면 감초가 E-, L-selectin과 세포와의 유착을 억제한 본 연구 결과는 이해되기 쉽다. 이 문제는 향후 현재 저자가 진행하고 있는 여러 가지 당류 자체가 selectin을 통한 세포 유착에 영향을 미치는지의 결과를 얻으면 설명이 가능할 것으로 생각된다.

감초가 selectin 매개성 세포 유착의 억제를 통해 항염증 작용을 나타내며 세 가지 selectin 모두와의 유착을 억제시킨 본 연구의 결과는 지금까지 각각의 selectin 단세포항체를 이용하여 염증세포의 유착을 억제함으로써 부분적 항염증 효과를 나타내었던 연구보다는 세 가지 selectin과의 유착을 모두 억제할 수 있어 훨씬 고무적인 결과이며, 향후 감초를 이용한 신약 개발의 근원적 배경을 제시한 결과로 생각된다. 그러나 본 연구 결과 선택적 억제가 아닌 호산구 및 호중구의 유착을 동시에 억제하였으므로 인체의 방어 기전에 작용하는 호중구의 역할이 소실되어 발생할 수 있는 부작용은 향후 해결해야 할 과제일 것으로 생각된다.

결 론

감초의 항 알레르기 및 항 염증작용의 기전을 유추하고자 감초의 항 염증작용의 주 성분으로

알려져 있는 GA가 호산구 및 호중구와 selectin 유착에 미치는 억제능을 조사하여 아래와 같은 결과를 얻었다.

1. IL-1 β 자극에 의한 E-, L-selectin 매개성 유착이나 TPA 자극에 의한 P-selectin 매개성 유착은 자극하지 않은 경우의 유착보다는 항상 4배 이상의 차이를 나타내었다.

2. GA의 E-, P-, L-selectin과 호중구 및 호산구의 유착에 대한 억제능은 0.3mM에서 부터 시작되었으며, 3mM까지 용량반응곡선의 양상을 나타내었다.

3. GA의 E-, L-, P-selectin 각각과 호산구 및 호중구의 유착에 대한 억제능 사이에는 차이가 없었다($p>0.05$).

이상의 결과를 종합해 보면 감초의 항 염증작용의 일부는 염증세포의 selectin 매개성 유착을 억제함으로써 이루어지는 것을 알 수 있다.

참 고 문 헌

- 1) Montefort S, Holgate ST, Howarth PH: Leukocyte-endothelial adhesion molecules and their role in bronchial asthma and allergic rhinitis. Eur Respir J 6:1044-54, 1993
- 2) Alberta SMC, Smith CW, Ward PA: Adhesion molecules and inflammatory injury. FASEB J 8:504-512, 1994
- 3) Bevilacqua MP, Nelson RM: Selectins. J Clin Invest 91:379-876, 1993
- 4) Tedder TF, Steeber A, Engel P: The selectin: vascular adhesion molecules. FASEB J 9: 866-73, 1995
- 5) Varki A: Selectin ligands. Proc Natl Acad Sci USA 91:7390-7, 1994
- 6) Bousquet J, Chasnez P, Lacoste JY: Eosin-

- ophilic inflammation in asthma. *New Eng J Med* 323:1033-9, 1990
- 7) Frigas E, Gleich GJ: The eosinophil and pathology of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 77:527-37, 1986
- 8) Gleich GJ: The eosinophil and asthma. *Current understanding* 85:422-35, 1990
- 9) West BC, Gelb NA, Rosenthal AS: Isolation and partial characterization of human eosinophil granules: comparisons to neutrophils. *Am J Pathol* 81:575-86, 1975
- 10) Musser JH, Anderson MB, Fugedi P: Glycomimetics: an approach to discovering leads for therapeutics. *Pharmaceutical news* 5: 11-7, 1995
- 11) Rao N, Anderson MB, Musser JH, Gilbert J, Schaefer M, Foxall C, Brandley B: Sialyl Lewis X mimics derived from a pharmacophore search are selectin inhibitors with anti-inflammatory activity. *J Biol Chem* 269:19663-6, 1994
- 12) National asthma education program. Expert Panel Report: Guidelines for the diagnosis and management of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 88:425-44, 1988
- 13) Bochner BS, Luscinskas FW, Gimbrone MA, Newman W, Sterbinsky SA, Derse-Anthony C, Klunk D, Schleimer RP: Adhesion of human basophils, eosinophils, and neutrophils to IL-1-activated human vascular endothelial cells: contributors of endothelial cell adhesion molecules. *J Exp Med* 173: 1553-7, 1991
- 14) Kojima N, Handa K, Newman W, Hakemori S: Inhibition of selectin-dependent tumor cell adhesion to endothelial cells and platelets by blocking O-glycosylation of these cells. *Biochem Biophys Res Commun* 182: 1288-95, 1992
- 15) Knol EF, Tackey F, Tedder TF, Klunk DA, Bickel CA, Bochner BS: Comparison of human eosinophils and neutrophils adhesion to endothelial cells under non-static conditions: the role of L-selectin. *J Immunol* 153:2161-7, 1994
- 16) Bochner BS, Schleimer RP: Endothelial cells and cell adhesion. In Kaplan AP (ed.): *Allergy* 2nd ed. pp 251-76, WB Saunders, Philadelphia, 1997
- 17) Lowe JB: Specificity and expression of carbohydrate ligands. In Wegner CD (ed) *Adhesion molecules* 1st ed. pp 113-40, Academic press, London, 1994
- 18) Stroud MR, Handa K, Ito K, Salyan MEK, Fang H, Levery SB, Hakemori S, Reinhold BB, Reinhold VN: Myeloglobulin, a series of E-selectin-binding polylectosaminolipids found in normal human leukocytes and myelocytic leukemia HL60 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 209:777-87, 1995
- 19) Brumhueter S, Singer MS, Henzel W, Hemmerich S, Renz M, Rosen SD, Lasky LA: Binding of L-selectin to the vascular sialomucin CD34. *Science* 262:436-8, 1993
- 20) Lasky LA, Singer MS, Dowbenko D, Imai Y, Henzel WJ, Grimley C, Fennie C, Gillett N, Watson SR, Rosen SD: An endothelial ligand for L-selectin is a novel mucin-like molecules. *Cell* 69:927-38, 1992
- 21) Berg EL, McEvoy LM, Berlin C, Bargatze RF, Butcher EC: L-selectin-mediated lymphocyte rolling on MAdCAM-1. *Nature* 366:695-8, 1993
- 22) Spertini O, Luscinskas FW, Kansas GS, Munro JM, Griffin JD, Gimbrone MA, Tedder TF: Leukocyte adhesion molecule-1 (LAM-1, L-selectin) interacts with an inducible endothelial cell ligand to support leukocyte adhesion. *J Immunol* 147:2565-73, 1991

23) Brandley BK, Kiso M, Abbas P, Nikrad O, Srivasatava C, Foxall Y, Hagesawa A: Structure-function studies on selectin car-

bohydrate ligands-modifications to fucose, sialic acid and sulphate as a sialic acid replacement. *Glycobiology* 3:633-41, 1993