

肌动蛋白在炎症反应中的作用

王昭, 周总光

中图分类号: R364.5

文献标识码: A

肌动蛋白(actin)是细胞骨架微丝(microfilament)的基本成分。经过努力,肌动蛋白的性质、结构、组装等已经比较清楚,但对其功能方面的了解若明若暗,尤其是对其在病理条件下的变化知之甚少。本文就肌动蛋白在炎症反应中的作用作一综述。

1 肌动蛋白

1.1 肌动蛋白的一般性质 肌动蛋白亚单位是一条多肽链构成的分子量为 420,000Da 的球形分子,在适当的条件下可按同一前后方向聚合成链。因此肌动蛋白有球状肌动蛋白(G-actin)和肌动蛋白丝(F-actin)两种形式。肌动蛋白丝以双螺旋的形式存在,宽 7nm,1/2 螺距为 32nm。它在含 ATP 和 Ca^{2+} 溶液中解聚为球状肌动蛋白,而 Mg^{2+} 和较高浓度的 K^{+} 、 Na^{+} 则可诱导肌动蛋白亚单位的聚合。肌动蛋白在进化上是很保守的一种蛋白质。

1.2 肌动蛋白的功能 肌动蛋白和肌球蛋白结合形成微丝后有多种生物学功能:构成细胞支架,维持细胞形状。与细胞运动及细胞内细胞质的运动密切相关。参与细胞内信号传递。参与蛋白质的合成。与细胞内细胞器相连接,显示出其与这些细胞器的功能相关联。

1.3 与肌动蛋白功能相关的其他蛋白质 肌球蛋白(myosin) 肌球蛋白分头部和杆部。头部区有肌动蛋白结合位点。当体液的 pH 值和离子浓度接近生理状况时,肌动蛋白就会与聚合成两极纤维的肌球蛋白结合形成肌动球蛋白(actomyosin)。肌动蛋白和肌球蛋白彼此间能藉 ATP 提供的能量产生滑动现象。肌动蛋白结合蛋白 肌动蛋白结合蛋白对肌动蛋白的构型及行为具有控制作用。已经证实的肌动蛋白结合蛋白达 40 种,按功能,可分为三大类:第一类可抑制肌动蛋白聚合;第二类是打断肌动蛋白纤维或使之维持在短的片断状态;第三类是与肌动蛋白丝结构有关的蛋白。

2. 炎症过程中的肌动蛋白

作者单位:610041 四川省成都市,华西医科大学附属第一医院肝胆胰外科/微循环研究室

作者简介:王昭(1972-),男,汉族,四川省绵阳市人。住院医师,硕士,1999 年华西医科大学。专业:普外。主要从事急性胰腺炎发病机制的研究,探索其在微循环方面的改变。

2.1 肌动蛋白与白细胞在炎症部位微血管内的滞留

2.1.1 肌动蛋白的作用 中性粒细胞肌动蛋白丝组装的增加,以及肌动蛋白丝发生重排,使中性粒细胞的生物物理特性发生改变,包括细胞变形性下降,最终导致中性粒细胞在微血管内滞留。

2.1.2 机制 在炎症介质的诱导下,中性粒细胞表面的 L-selectin 通过其胞外配体结合域 lectin 与其特异性配体交连(cross-linking),产生的信号经胞浆尾传向胞内肌动蛋白丝,经过一系列包括肌动蛋白在内的变化,最后将信号传向细胞核,激活了相应的基因,最终导致肌动蛋白的上述变化。L-selectin 与肌动蛋白丝相互作用的分子学机制。L-selectin 胞浆尾的 11 个氨基酸与肌动蛋白丝相联系,是信号传向肌动蛋白丝不可缺少的部分。Pavalko 和 Walker 等发现,L-selectin 的胞浆域直接与胞浆肌动蛋白结合蛋白 -actinin(-辅肌动蛋白)反应,并与 vinculin(纽带蛋白,一种肌动蛋白结合蛋白)、可能还有 talin(也是一种肌动蛋白结合蛋白)形成一种复合物并与肌动蛋白反应,介导胞外信号传向胞内肌动蛋白丝。其中 talin 的作用是增强 -actinin 与 L-selectin 胞浆域肽段的结合,而 vinculin 的作用是其与 -actinin 结合后将肌动蛋白丝连接到 L-selectin^[1]。

2.2 白细胞、大分子物质跨血管壁的渗出与肌动蛋白

2.2.1 肌动蛋白的作用 白细胞肌动蛋白丝的重排以及内皮细胞肌动蛋白丝的组装,介导白细胞形态改变及其向血管外游出。有研究在探讨 $\alpha_5\beta_1$ -integrin 与 $\alpha_4\beta_1$ -integrin 之间的交联以及这种交联对淋巴细胞沿着炎症内皮细胞的运动和随后的跨内皮细胞游走的调节时发现,这个过程伴随有淋巴细胞肌动蛋白丝的极化。Müne 等发现,通过酪氨酸激酶及 IP3 激酶的作用,肝细胞生长因子(HGF)能诱导中性粒细胞肌动蛋白丝的聚合以及肌动蛋白细胞骨架的重排。中性粒细胞肌动蛋白的这种变化,对整合素介导的粘附、中性粒细胞跨微血管壁向急性炎症部位游走都起着极为重要的作用^[2]。内皮细胞肌动蛋白丝的破坏,

可介导炎症介质诱导的微血管中大分子物质的渗漏。Thurston 等对鼠肠系膜微血管系统渗漏部位内皮细胞肌动蛋白的改变进行了研究。采用的方法是对麻醉鼠的肠系膜窗中的血循环用组胺 (100 μ M) 再加上 FITC (fluorescein isothiocyanate) 标记的白蛋白灌注液灌注 3min 再用生理压维持。脉管系统用若丹明-鬼笔环肽 (rhodamine phalloidine) 灌注染色来标记肌动蛋白丝, 然后用激光扫描共焦显微镜加以研究。结果发现, 白蛋白渗漏部位的内皮细胞胞质外周的肌动蛋白丝环被特异性地破坏, 并随渗漏范围的增大, 肌动蛋白丝环被破坏的程度愈严重, 涉及的内皮细胞的范围愈广泛^[3]。

2.2.2 肌动蛋白丝变化及其作用的机制 白细胞跨血管壁游走过程中, 内皮细胞肌动蛋白丝的组装, 是通过依赖于钙离子/钙调蛋白的肌球蛋白轻链激酶的调节实现的。Saito 等在体外建立了一个中性粒细胞通过培养在羊膜上的人脐静脉内皮细胞 (HUVEC) 单层移动的模式。对具有浓度梯度的白三烯 B₄ (LTB₄) 的反应使得人类中性粒细胞能够跨 HUVEC 单层移动。同时用若丹明-鬼笔环肽染色来跟踪内皮细胞肌动蛋白丝。预先用肌球蛋白轻链激酶抑制剂 ML-9 处理, 则中性粒细胞游走和肌动蛋白丝的组装都被抑制。预先用钙离子螯合剂 BAPTA/AM 和钙调蛋白拮抗剂三氟拉嗪处理也有相似结果^[4]。炎症过程中, 炎症介质通过诱导肌动蛋白结合蛋白的变化而影响内皮细胞肌动蛋白丝的组装, 最终改变内皮细胞间的接合部的直径, 引起大分子物质和血细胞的游出。肌动蛋白结合蛋白的这种作用, 是通过调节肌动蛋白的胶凝/胶溶状态以及细胞膜与肌动蛋白细胞骨架的相互作用来完成的。Wang、Patton 等发现, 缓激肽 (brandy-kinin) 诱发的早期炎症性反应中, 内皮细胞中的 filamin 从细胞的边周向细胞质中央移位。filamin 从肌动蛋白丝上分离后, 使得肌动蛋白丝密集周围带去组装, 结果是内皮细胞间的连接部松弛, 有利于血细胞的游出以及大分子物质的渗漏。这种移位是由依赖于 Ca²⁺/钙调蛋白 (calmodulin) 的蛋白激酶发动的。而依赖于 cAMP 的蛋白激酶通路则阻止这种移位^[5]。

2.3 肌动蛋白与炎症部位炎症介质所致的炎症反应 肌动蛋白介导炎症介质所致细胞功能障碍。Bird 和 Walker 用直接的免疫细胞化学染色的方法进行研究发现, 用肥大细胞源性组织胺处理人腹膜间皮细胞后, 间皮细胞肌动蛋白应力丝有显著的增加, 并通过这种应力丝的增加对间皮的通透性产生直接的影响^[6]。Salzman 报道, 在肠道炎症的发展阶段, NO 合酶被激活, NO 大量生成, 当其达到毒性浓度时, 就破坏小肠上皮细胞肌动蛋白, 导致肌动蛋白丝网络解体, 从而引起

上皮细胞功能失调, 有助于肠道形成高渗状态^[7]。肌动蛋白介导细胞因子诱导的炎症部位炎症细胞的免疫反应。Cross 和 Woodroffe 通过实验发现, 单核细胞趋化蛋白 I, 巨噬细胞炎症蛋白 I、巨噬细胞炎症蛋白 I、RANTES、IL-8、IP-10 等细胞因子, 能在体外诱导成鼠小胶质细胞和人大小胶质细胞株 CHME3 肌动蛋白丝在胞内的分布发生变化, 还可引起这些细胞肌动蛋白细胞骨架的重组。这些变化有助于小胶质细胞向炎症部位集中^[8]。

2.4 肌动蛋白与慢性炎症免疫反应 慢性炎症免疫反应过程也同样离不开肌动蛋白的介导。Singh 等发现, IL-1 能以依赖于 RHO 的形式刺激噬血清 HeLa 细胞肌动蛋白应力丝的生成。这种肌动蛋白的变化对慢性炎症中细胞的激活是不可缺少的^[9]。在慢性炎症部位, 巨噬细胞融合成异物巨细胞也是通过肌动蛋白丝的变化来介导的。DeFife 等通过荧光共聚焦显微镜观察到, 肌动蛋白丝向融合部位细胞膜侧集中。当用破坏肌动蛋白丝的药物细胞松弛素 B、D 及 latrunculin-A 处理后可抑制巨噬细胞的融合^[10]。

2.5 肌动蛋白介导细菌及其产物对机体的损伤 细胞肌动蛋白介导病原微生物对机体的入侵以及在体内繁殖、散播。Wilson 和 Drevets 发现, 产单核细胞李斯特菌对大脑微血管的侵袭, 必须要有肌动蛋白丝的重排才能完成。细胞松弛素能终止这种侵袭^[11]。Sarrsonetti 等在实验中观察到, 侵袭型弗氏志贺菌分泌的 Ipa 蛋白, 能诱导小肠上皮细胞内较为显著的肌动蛋白细胞骨架的重排。这种肌动蛋白的变化, 有利于细菌进入细胞并在其中繁殖。还发现, 繁殖后的细菌在细胞间的转移也依赖于肌动蛋白^[12]。在炎症部位, 病原微生物产物可直接损伤机体细胞, 并通过细胞肌动蛋白丝的变化介导病原体对机体的进一步侵害。Biancone 等观察到, 大肠埃希氏 36KD 外膜蛋白刺激培养人近端小管上皮细胞后很快就出现细胞肌动蛋白丝和 vinculin (一种肌动蛋白结合蛋白) 的重排, 并通过这种变化促进了肾脏损伤的发展^[13]。

3 肌动蛋白在炎症白细胞信号传递中的作用

3.1 肌动蛋白介导白细胞表面 integrin 与配体结合后的信号传导

3.1.1 肌动蛋白介导的 integrin 信号传导过程 细胞信号由外向内的传导。机体发生炎症时, Integrin 的胞外配体结合域与细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 成分以及其它细胞表面的浆膜蛋白相互作用, 并通过与肌动蛋白丝相联系的胞浆尾, 把这种相互作用产生的信号传向胞内肌动蛋白丝。通过肌动蛋白丝的组装、重组以及将信号向更深的方向传递, 引起胞浆

pH 值、钙离子浓度、蛋白磷酸化以及基因诱导等一系列改变,从而实现细胞移动、细胞生长、分化、组织形成、目标的识别、细胞粘附等过程。细胞信号由内向外的传导。Integrin 能以一种双向的方式传导信息。这种双向信号传递功能,可以使细胞内产生的信息通过肌动蛋白丝传向 integrin 的 α 亚单位胞浆尾,使得 integrin 对配体的亲和力发生改变,从而实现细胞信号由内向外的传递。近年来的研究不仅能够辨认 α 亚单位上的配体结合域,也能辨认与肌动蛋白丝以及信号传递途径中的成分相互作用的 α 亚单位胞浆尾的顺序。

3.1.2 肌动蛋白介导 integrin 信号传导的机制

细胞外信号向细胞内肌动蛋白丝传导是经过酪氨酸蛋白激酶 (tyrosine protein kinase, TPK) 信号传递系统来完成的。在信号传递过程中,蛋白酪氨酸磷酸化对肌动蛋白丝的组装、重组、细胞点状粘附形成起着中心性作用。Yap 和 Stevenson 等观察到,通过蛋白酪氨酸磷酸化,肌动蛋白细胞骨架得以重组,同时,肌动蛋白应力丝显著增多。在此基础上,白细胞的点状粘附 (focal adhesion) 的结合部得以顺利组装。用 TPK 的有效抑制剂 Genistein 处理后,肌动蛋白细胞骨架的重组以及肌动蛋白应力丝的增加都被抑制了^[14]。

3.2 肌动蛋白介导白细胞膜表面 NGFR 与 NGF 结合后的信号传导

3.2.1 细胞膜上的功能性神经生长因子受体 (NGFR) 与 NGF 结合产生信号,这种信号向细胞内传导是由 B 淋巴细胞肌动蛋白丝的组装来介导的。

Melamed 和 Turner 的研究小组运用荧光染色、抗肌动蛋白抗体与肌动蛋白作用的免疫斑点试验,研究神经生长因子 (NGF) 在过敏性炎症中的作用时发现,在加入 NGF 后,随着时间的延长和浓度的增大,肌动蛋白丝的含量也随之增加,1min 后可达最大效应。当在加入 NGF 之前,把 B 淋巴细胞和细胞松弛素以及肉毒毒素 C₂ (botulinum C₂ toxin) 共同孵育,肌动蛋白丝含量的增加将被阻断^[15]。

3.2.2 肌动蛋白介导 NGFR 信号传导的机制

B 淋巴细胞肌动蛋白丝介导 NGFR 的信号传导,是在 gp^{140trk} 酪氨酸蛋白激酶的参与下进行的。Melamed 等发现,当把人 B 淋巴细胞与 10nM MK252a (一种酪氨酸蛋白激酶抑制剂) 同孵育,能降低 NGF 诱导的 75% 的肌动蛋白丝的组装。同时发现, Paxillin (参与将肌动蛋白丝连接到浆膜的一组点状粘附蛋白之一) 被 gp^{140trk} 激酶磷酸化后,通过对肌动蛋白丝的影响,在这种信号传导通路中起着基础性的作用。免疫共沉淀证实了 gp^{140trk} 激酶与 paxillin 之间的相关性^[15]。

4 结语

肌动蛋白在炎症反应中具有多方面的作用,目前所取得的成就只是冰山的一角,许多问题仍不十分清楚。例如肌动蛋白介导炎症反应时如何进行重排以及重排后怎样引起进一步反应等等,都还不清楚,还要做很多工作。

参考文献

- 1 Pavalko FM, Walker DM, Graham L, et al. The cytoplasmic domain of L-selectin interacts with cytoskeletal proteins via alpha-actinin: receptor positioning in microvilli does not require interaction with alpha-actinin [J]. J Cell Biol. 1995,129(4):1155~1164
- 2 Mine S, Tanaka Y, Suematu M, et al. Hepatocyte growth factor is a potent trigger of neutrophil adhesion through rapid activation of lymphocyte function-associated antigen-1[J]. Lab Invest. 1998, 78(11):1395~1404
- 3 Thurston G, Baldwin AL, Wilson LM. Changes in endothelial actin cytoskeleton at leakage sites in the rat mesenteric microvasculature[J]. Am J Physiol. 1995, 268:H316~329
- 4 Saito H, Minamiya Y, Kitamura M, et al. Endothelial myosin light chain kinase regulates neutrophil migration across human umbilical vein endothelial cell monolayer [J]. J Immunol. 1998,161(3):1533~1540
- 5 Wang Q, Patton WF, Chiang ET, et al. Filamin translocation is an early endothelial cell inflammatory response to bradykinin: regulation by calcium, protein kinases, and protein phosphatases[J]. J Cell Biochem. 1996,62(3):383~396
- 6 Bird SD, Walker RJ. Mast cell histamine-induced calcium transients in cultured human peritoneal mesothelial cells [J]. Perit Dial Int. 1998, 18(6):626~636
- 7 Salzman AL. Nitric oxide in the gut[J]. New Horiz. 1995,3(2):352~364
- 8 Cross AK, Woodroffe MN. Chemokines induce migration and changes in actin polymerization in adult rat brain microglia and a human fetal microglial cell line in vitro[J]. J Neurosci Res. 1999,55(1):17~23
- 9 Singh R, Wang B, Shirvaikar A, et al. The IL-1 receptor and Rho directly associate to drive cell activation in inflammation[J]. J Clin Invest. 1999,103(11):1561~1570
- 10 DeHfe KM, Jenney CR, Colton E, et al. Disruption of filamentous actin inhibits human macrophage fusion[J]. FASEB J. 1999,13(8):823~832
- 11 Wilson SL, Drevets DA. Listeria monocytogenes infection and activation of human brain microvascular endothelial cells [J]. J Infect Dis. 1998, 178(6):1658~1666
- 12 Sansonetti P, Tian Van Nhieu G, Egile C. Rupture of the intestinal epithelial barrier and mucosal invasion by Shigella flexneri[J]. Clin Infect Dis. 1999,28(3):466~475
- 13 Biancone L, Conaldi PG, Toniolo A, et al. Escherichia coli porin induces proinflammatory alterations in renal tubular cells[J]. Exp Nephrol. 1997, 5(4):330~336
- 14 Yap AS, Stevenson BR, Cooper V, et al. Protein tyrosine phosphorylation influences adhesive junction assembly and follicular organization of cultured thyroid epithelial cells[J]. Endocrinology. 1997,138(6):2315~2324
- 15 Melamed I, Turner CE, Aktories K, et al. Nerve growth factor triggers microfilament assembly and paxillin phosphorylation in human B lymphocytes [J]. J Exp Med. 1995,181(3):1071~1079

(收稿 2001 - 02 - 08 修回 2001 - 05 - 09)