

# 淋巴细胞骨架的研究

陈吉龙

王平

(中国科学院发育生物学研究所 北京 100080)

(北京大学生物系)

**关键词** 淋巴细胞,细胞骨架,核骨架

细胞骨架(包括细胞质骨架和核骨架)的研究,加深了人们对细胞结构和功能的认识。淋巴细胞是形态和功能均较多变的一类细胞,有关其细胞骨架系统的研究国内外尚无综述性报道。鉴于骨架系统在淋巴细胞功能方面的重要性,因此认识各种骨架成分在淋巴细胞中的研究概况是十分必要的。

## 1 微丝

微丝(MF)主要是由肌动蛋白(actin)构成的直径为5—7nm的双股螺旋纤维。淋巴细胞MF的研究集中在体外实验,特别是结合特异性药物的应用探讨MF的功能,其内容包括:

**1.1 结合特异性药物的应用探讨MF在淋巴细胞中的功能** Hückel等<sup>[1]</sup>应用细胞松弛素B和秋水仙素处理经Con A诱导活化的小鼠淋巴细胞,结果表明这两种药物能抑制活化的淋巴细胞从G<sub>1</sub>期进入S期。Hückel等认为, MF和微管对于淋巴细胞通过处于G<sub>1</sub>期和S期之间的控制点是至关重要的。进一步研究发现,细胞松弛素B还能抑制淋巴因子(lymphokines)的释放。Rosenblatt等<sup>[2]</sup>在体外实验中发现,抗Actin抗体能抑制人B淋巴细胞分泌IgM( $\mu$ 免疫球蛋白)。这一过程是可逆的,当再加入纯化的Actin,则Actin抗体的抑制作用被解除。实验说明Actin或MF参与了B细胞IgM的分泌过程。Rosenspire等<sup>[3]</sup>则应用抗B细胞膜Ig(免疫球蛋白)抗体来研究MF的变化,结果表明,膜Ig和抗Ig的结合可调节Actin结合蛋白的磷酸化水平,

从而影响MF的动力学特性。

**1.2 MF与淋巴细胞膜表面分子关系的研究** 证明,淋巴细胞膜表面分子的帽形成(capping)或斑形成(patching)与MF密切相关<sup>[4]</sup>。一些学者报道,淋巴细胞膜上有Actin的存在<sup>[5,6]</sup>,并认为一些Actin结合蛋白,如血影蛋白(spectrin)和Fodrin蛋白是膜基质(membrane matrix)的成分。淋巴细胞膜基质蛋白和膜表面受体结合,可以影响受体的信息传导功能<sup>[7]</sup>。淋巴细胞膜的糖蛋白还与胞质MF密切联系。Bourguignon等人<sup>[6]</sup>研究表明,在小鼠T淋巴瘤细胞膜上有一种72KD蛋白(P72),该蛋白是一种锚定蛋白(ankyrin),它是连接质膜上gP85(一种糖蛋白)与Fodrin的桥梁,而Fodrin是Actin的结合蛋白,从而通过P72和Fodrin把gP85与MF联系在一起。在正常小鼠T细胞膜上,Fodrin可直接与膜糖蛋白gP180结合,形成gP180-Fodrin-Actin连接物<sup>[7]</sup>。膜糖蛋白与MF结合影响了淋巴细胞膜的动力学特性。

**1.3 淋巴细胞分裂增殖与MF的关系** 一些研究揭示了MF与淋巴细胞分裂增殖过程有关<sup>[8,9]</sup>。MF的作用表现在它对淋巴母细胞转铁蛋白受体(transferrin receptor, TfR)表达的影响。TfR在活化的淋巴细胞中的表达,对于淋巴细胞DNA的合成,以至分裂增殖都是重要的。因此,对TfR表达的调节是控制淋巴细胞增殖的机制之一。Alcantara等<sup>[10]</sup>研究了淋巴母细胞中TfR表达与MF、MT的关系。他们应用转铁蛋白(iron transferrin, FeTf)这种能引起淋巴细胞TfR表达降低的药物进行

研究,发现 FeTf 所引起的 TfR 表达下降作用,可被细胞松弛素 B 和秋水仙素所抑制。这说明了 FeTf 引起的 TfR 表达下降作用依赖于 MF、MT。从而表明了 MF、MT 参与淋巴母细胞 TfR 表达的调节过程。

## 2 微管

微管 (MT) 是直径为 24—26nm 的管状纤维,是由  $\alpha$ 、 $\beta$  管蛋白 (tubulin) 和少量微管结合蛋白 (MAPs) 聚合而成。淋巴细胞 MT 的研究报道较 MF 少。Hüekel 等人研究认为,MT 在淋巴细胞由 G<sub>1</sub> 期进入 S 期过程中起着十分重要的作用<sup>[9]</sup>。Levasseur 等人<sup>[10]</sup>研究表明,当静止态的淋巴细胞受促有丝分裂素刺激后向淋巴母细胞转化过程中, Tubulin mRNA 水平大幅度提高,MT 的数量和长度都急剧增加。Levasseur 认为,此时 MT 增加的功能可能是保证淋巴细胞胞浆的组成成分、结构的完整性和有序性,以适应细胞的生长,使之顺利进入 S 期。同样, Bilej 等人<sup>[11]</sup>应用放射性标记的单克隆抗体结合分析法 (radiolabelled monoclonal antibody binding assay), 定量测定了免疫后小鼠淋巴细胞中,处于聚合状态 Tubulin 含量的变化,结果表明其含量比对照组的小鼠高 2—4 倍,说明了淋巴细胞去分化 (dedifferentiation) 过程中 Tubulin 合成增高。

Brown 等<sup>[12]</sup>应用抗 Tubulin 抗体结合免疫荧光技术和电镜技术,研究紫杉酚 (Taxol, 一种促进 MT 装配并使之稳定的药物) 对小鼠脾脏淋巴细胞 MT 装配的影响,发现 Taxol 能使 MT 系统广泛重组,并形成几个大的 MT 束,使中心体从靠近核位置迁移到靠近胞膜的位置。Brown 等继续研究了 Taxol 处理后的淋巴细胞对促有丝分裂素 ConA 刺激的反应。实验表明经 ConA 刺激后,虽引起了核结构和胞质结构的改变及 DNA 复制,但细胞不分裂增殖,说明装配正常的 MT 对于淋巴细胞分裂增殖是十分重要的。

## 3 中间纤维

中间纤维 (IF) 是一类形态上十分相似,而成分不同的蛋白纤维,直径为 8—11nm。与 MF、MT 相比,IF 的发现与研究均较晚。近十多年对 IF 的研究已有较大的进展,对 IF 的形态、结构、性质、来源、命名、功能和基因表达等诸多方面都有一定程度的揭示<sup>[13-15]</sup>。

近年来,有些学者基于对 IF 蛋白氨基酸顺序分析的结果,根据头尾两端的差异,对 IF 蛋白进行了新的分类<sup>[16]</sup>: 1. 酸性角蛋白 (acidic keratins)。2. 中性和碱性角蛋白 (neutral-basic keratins)。3. 波形蛋白 (vimentin)、结蛋白 (desmin)、胶质纤维酸性蛋白 (GFAP)。4. 神经原纤维蛋白 (NFP)。5. 核纤层蛋白 (lamins)。Lendahl 等<sup>[17]</sup>研究还发现,在中枢神经系统干细胞 (CNS Stem Cell) 中存在另一类 IF 蛋白,称之 Nestin。

国外关于淋巴细胞 IF 的研究主要是探讨 IF 蛋白的表达及其功能,IF 的形态学研究十分薄弱。为此,本实验室 (1992) 对北京鸭 B 淋巴细胞 IF 的超微形态结构及其成分进行了研究<sup>[18]</sup>。

IF 蛋白的分布具有严格的组织细胞特异性。已经证明人、大鼠和小鼠的淋巴细胞 IF 成分是波形蛋白<sup>[17-19]</sup>。Birkerbach 等<sup>[20]</sup>研究表明,EBV (Epstein-Bar Virus) 潜伏感染人 B 细胞可导致波形蛋白基因转录活性大大提高,波形蛋白的合成大幅度增加,故认为这是 EBV 感染 B 细胞诱导其活化的必要条件。Podolin 等<sup>[21]</sup>曾探讨辅助 T 细胞 (Th) 经白细胞介素 2 激活增殖过程中,胞质波形蛋白表达的调节,并观察到 Th 被激活后波形蛋白 mRNA 增加了 10 至 20 倍,伴随着波形蛋白合成速率增加了 14 倍。因此认为波形蛋白表达的调节可能是在 DNA 转录水平上和 mRNA 稳定性上,而不是在蛋白质合成水平上的调节。

波形纤维和 MF、MT 可能参与了淋巴细胞膜受体的帽形成 (capping) 过程<sup>[6,10]</sup>。波形纤维的动力学变化,对于淋巴细胞对促有丝分裂素的反应,及分裂增殖都是很重要的<sup>[22]</sup>。当 G<sub>0</sub> 期淋巴细胞受促有丝分裂素刺激后去分化,

导致有丝分裂,这时可见波形纤维形成网状的帽围绕在有丝分裂装置的周围,且波形纤维与MT在空间有密切的联系,波形纤维参与淋巴细胞活化后增殖过程。

#### 4 核骨架

1974年, Berezney 和 Coffey 首先把核骨架(nuclear skeleton)作为细胞核内独立的结构体系进行研究。核骨架是指细胞核内以纤维蛋白成分为主的纤维网架体系。近年来对核骨架的成分、形态结构及功能的研究取得了很大进展。值得一提的是,1991年 Coffey 等人提出<sup>[21,22]</sup>:核骨架、细胞质骨架和胞外基质是一个相互连接和相互作用的结构体系,统称之为组织基质系统(tissue matrix system)。并发现胞外基质成分可形成某种环境,对胞质的IF及核骨架成分有修饰作用,还影响核骨架蛋白的组成<sup>[21]</sup>。他们认为,细胞运动、细胞形态变化、胞膜运动、能量转换、信息传递等生命活动均与组织基质系统的协调作用密切相关<sup>[21]</sup>。

目前淋巴细胞核骨架研究的主要内容,是结合淋巴细胞促有丝分裂素激活实验,对其活化增殖过程中核骨架成分进行生化分析<sup>[23-26]</sup>。

Kaplan 等<sup>[19]</sup>研究证明,小鼠和人淋巴细胞核骨架中含有DNA拓扑异构酶II,并发现当淋巴细胞经促有丝分裂素刺激后,核骨架成分变得丰富和复杂化。同样,Bladon等<sup>[23]</sup>用双向电泳技术分析Con A刺激前后牛淋巴细胞核骨架成分,表明刺激后多肽种类和含量增加,而且含有更多的RNA,即RNP(ribonucleoprotein)含量丰富。Feuerstein 和 Mond<sup>[24]</sup>在小鼠和人的B、T细胞中鉴定了一种分子量为40KD/PI 5.0的核骨架蛋白,并命名为Numatrin。

Feuerstein 和 Mond 等人对淋巴细胞 Numatrin 进行系统研究,证明了当G<sub>0</sub>期B细胞经抗膜IgG抗体和十二酰佛波乙酸酯(PMA)协同诱导活化后,Numatrin合成高峰与DNA合成高峰是一致的,因此推测Numatrin可能与DNA复制有关。Feuerstein<sup>[25]</sup>深入研究

了细胞周期中 Numatrin 磷酸化,表明 Numatrin 和另两种核骨架蛋白(75 KD/PI 6.6 和 83KD/PI 5.3)的磷酸化是受cdc2/P58(一种细胞周期蛋白)的调节。

除了一些对淋巴细胞核骨架成分生化分析研究工作外,少量文献还报道,B细胞Ig重链基因片段重排活性与核骨架的关系<sup>[26]</sup>。Dave 等人认为,编码抗体的V-(D)-J基因片段联接的形成过程是在核骨架上进行的。

综上所述,迄今为止在淋巴细胞骨架研究领域虽然已积累了一些资料,但是研究仍不充分,研究偏重于骨架蛋白的生化分析和结合特异性药物的应用,来探讨淋巴细胞骨架的功能,且结果多从体外实验中取得。尽管如此,近年来研究已有了较大的进展,许多实验证据已经显示骨架系统在淋巴细胞功能方面的重要性。当前,关于淋巴细胞骨架的超微结构特点,淋巴细胞骨架系统与淋巴细胞分化及去分化的关系,淋巴细胞骨架与Ig基因或TcR基因重排的关系等问题仍在深入的研究中。

#### 参 考 文 献

- 1 Lendahl U, Zimmerman L. B, McKay R. D. CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein. *Cell* 1990, 60:585-595.
- 2 Rosenblatt H.M, Green C.G, McClure J.E. et al. Antibody to human lymphocyte actin regulates immunoglobulin secretion by an EBV-transformed human B-cell line. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1986, 140(1):399-405.
- 3 Rosenspire A.J, Choi Y.S. Membrane immunoglobulin:anti-immunoglobulin interactions mediate the phosphorylation of actin associated proteins in the B lymphocyte life. *Science* 1988, 42: 497-504.
- 4 Beout J.C. Interactions between surface molecules and the cytoskeleton in the lymphocyte. A review from the department of medicine, the university of Alabama at Birmingham. 1987.
- 5 Trenn G, Takayama H, Davidson W. F. et al. Organization of lymphocyte plasma membrane. *Cell Differentiation*. 1988, 22:233-244.
- 6 Bourguignon Y.W, Walker G, Suchard S.J. et al. A lymphoma plasma membrane associated protein with ankyrin-like properties. *J. Cell Biol.* 1986, 102(6): 2115-2124.
- 7 Suchard S. J, Bourguignon L. Y. W. Further characterization of a fodrin-containing transme-

- membrane complex from mouse T lymphoma cells. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1987, **896**(1):35—46.
- 8 Alcantara O. Philips J. L. Boldt D. H. Phorbol diesters and transferrin modulate lymphoblastoid cell transferrin receptor expression by two different mechanisms. *J. Cell Physiol.* 1986, **129**(3):329—335.
  - 9 Hüchel Ch. Werner H. Brock J. The role of the cytoskeleton in the lymphocyte stimulation. *Allergic Immunol.* 1985, **31**(1):83—90.
  - 10 Levasseur M. P. Brown D. L. Vimentin dynamics during the mitogenic stimulation of mouse splenic lymphocytes. *Cell Motility and Cytoskeleton.* 1987, **8**:227—237.
  - 11 Bilej M. Microtubule dynamics in cells. *J. Cell Sci. Suppl.* 1989, **5**:293—310.
  - 12 Brown D.L. Proteins of the kinetochore in vitro: MT nucleation and tubulin binding. *J. Cell Biol.* 1985, **101**:755—765.
  - 13 陈吉龙 王平 鸭胚 B 淋巴细胞中间纤维的研究。北京大学学报(自然科学版)。1992, **28**(6): 706—711。
  - 14 Podolin P. L. Prystowsky M. B. The kinetics of vimentin RNA and protein expression in interleukin 2-stimulated T lymphocytes. *J. Biol. Chem.* 1991, **266**(9):5870—5875.
  - 15 Sternert P.M. Liem R.K.H. Intermediate filament dynamics. *Cell* 1990, **60**:521—523.
  - 16 Sternert P.M. Steven A. C. Rupp D.R. The molecular biology of intermediate filaments. *Cell* 1985, **42**:411—419.
  - 17 Giorn O.P. Immunohistochemical analysis of the distribution of vimentin in human peripheral lymphoid tissues. *Anat. Rec.* 1985, **211**(1):43—47.
  - 18 Levasseur M.P. Brown D.L. Organization fate of vimentin during redistribution of surface immunoglobulin in mouse splenic lymphocytes. *Cell Biology International Reports.* 1987, **211**(8):583—590.
  - 19 Kaplan J.G. Brown D.L. Chaly N. et al. Structural and evolutionary implication of the packaging of DNA for differentiation and proliferation in the lymphocyte. *J. Mol. Evol.* 1987, **26**(3): 173—179.
  - 20 Birkenbach M. D. Liebowitz F. Wang J. et al. Epstein-Barr virus latent infection membrane protein increases vimentin expression in human B cell lines. *J. Virology* 1989, **63**(9):4079—4084.
  - 21 Getzenberg R.H. Pienta K.J. Huang E.Y. et al. Modifications of the intermediate filament and nuclear matrix networks by the extra-cellular matrix. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1991, **179**(1):340—344.
  - 22 Pienta K.J. Coffey D. S. Cellular harmonic information transfer through a tissue tensegrity-matrix system. *Med. Hypotheses.* 1991, **34**(1):88—95.
  - 23 Blandon T.K. Brasch D. Brown D. et al. Changes in structure and protein composition of bovine lymphocyte nuclear matrix during Con A-induced mitogenesis. *Biochem. Cell Biol.* 1988, **66**(1): 40—53.
  - 24 Feuerstein N. Spiegel S. Mond J. J. The nuclear matrix protein, numatrin, is associated with growth factor-induced mitogenesis in Swiss 3T3 fibroblasts and with T lymphocyte proliferation stimulated by lectin and anti-T cell antigen receptor antibody. *J. Cell Biol.* 1988, **107**(5): 1629—1642.
  - 25 Feuerstein N. Phosphorylation of numatrin and other nuclear proteins by cdc 2 containing CTD kinase cdc 2/P58. *J. Biol. Chem.* 1991, **266**(24): 16200—16206.
  - 26 Dave V.P. Modak M.J. Pandey V.N. Nuclear matrix bound V(D) J recombination activity in rat thymus nuclei: an in vitro system. *Biochemistry.* 1991, **30**(19):4763—4767.