

Intelectin通过CDC42-WASP-Arp2/3轴增强团头鲂巨噬细胞吞噬功能的调控机制研究

崔虎军, 刘云龙, 郑艳翠, 李红萍, 程汉良, 许建和, 陈香凝, 赵晓恒, 丁祝进*

研究意义

在我们之前的研究中, 团头鲂重组intelectin蛋白 (rMaINTL) 增强了团头鲂巨噬细胞的吞噬和杀伤活性, 但其机制尚不清楚。因此本研究对rMaINTL处理巨噬细胞后的相关信号因子进行验证, 并通过抑制剂阻断实验验证结果, 进而确定intelectin对团头鲂巨噬细胞吞噬功能的调控机制。

研究方法

- (1) 分离团头鲂头肾巨噬细胞;
- (2) 通过免疫荧光检测巨噬细胞的吞噬作用和细胞骨架的变化;
- (3) 透射显微镜观察巨噬细胞内部变化;
- (4) 通过抑制剂阻断验证信号通路。

研究结果

(1) MaINTL与巨噬细胞的结合及表达

MaINTL可以和巨噬细胞结合, 并主要在幼鱼脾脏细胞膜上表达。

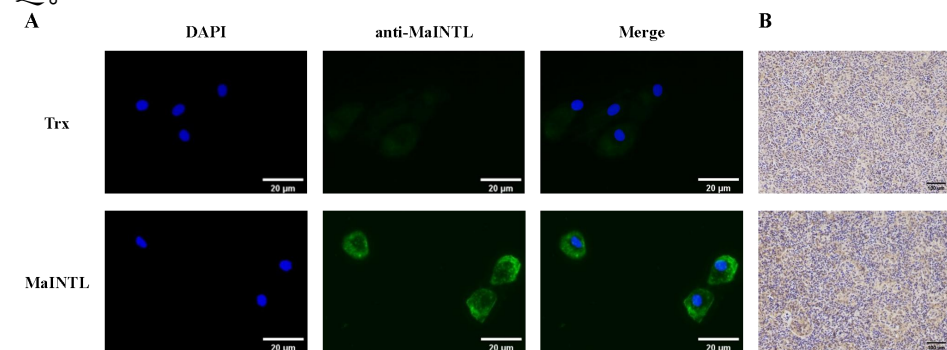


图1. 免疫荧光 (A) 和免疫组化 (B) 分析MaINTL蛋白

(2) MaINTL对巨噬细胞骨架的影响

MaINTL使巨噬细胞伪足延伸。

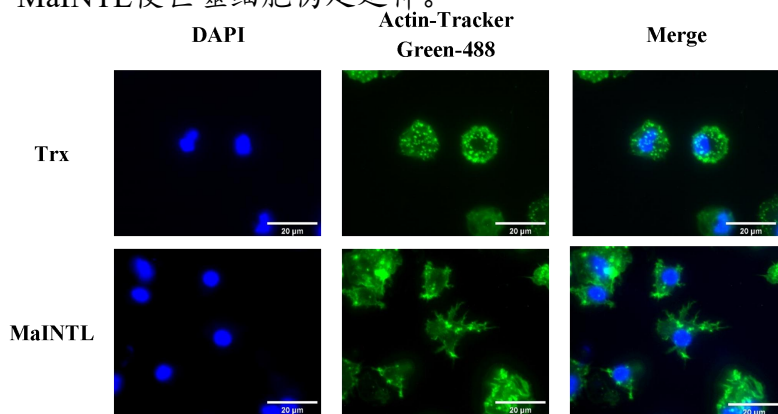


图2. 巨噬细胞骨架的变化

(3) 数字基因表达谱检测MaINTL对团头鲂幼鱼肾脏基因表达的影响

共检测到201个差异基因, 121个上调, 80个下调, 且富集在肌动蛋白细胞骨架调控等方面。同时检测到参与吞噬的CDC42的表达。

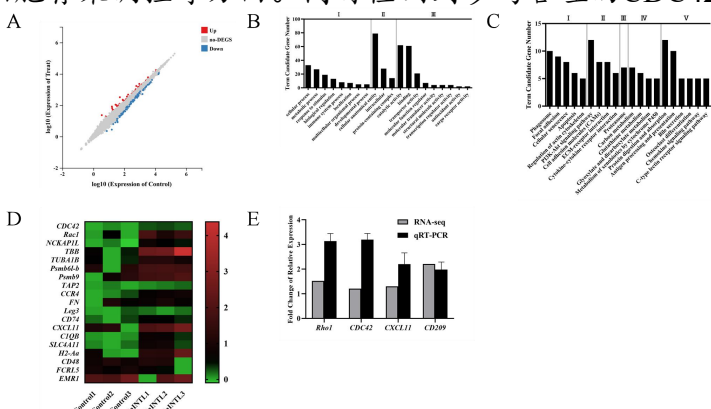


图3. MaINTL处理后团头鲂幼鱼肾脏基因的表达

(4) MaINTL诱导吞噬相关信号因子的表达

MaINTL促进了CDC42、WASP、Arpc2和Arpc4的表达。并可被CDC42和WASP抑制剂抑制。

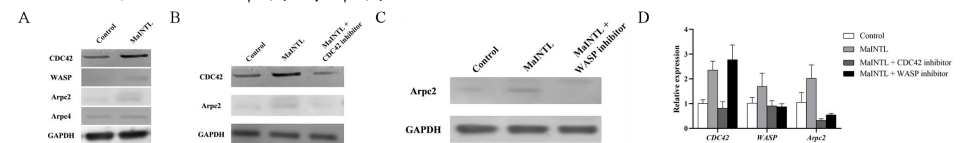


图4. MaINTL对吞噬相关信号因子表达的影响

(5) MaINTL通过CDC42/WASP调节肌动蛋白的聚合

MaINTL处理后, F-actin表达增加, G-actin表达降低。抑制剂处理后, 这一趋势被抑制, G-肌动蛋白向F-肌动蛋白的转换被阻止。

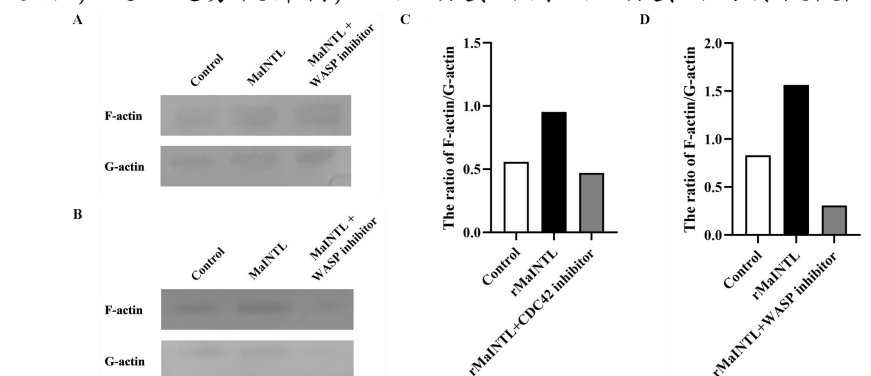


图5. rMaINTL和抑制剂处理后巨噬细胞中F-actin和G-actin的表达

(6) MaINTL通过CDC42/WASP促进巨噬细胞的吞噬作用

rMaINTL增强了巨噬细胞的吞噬功能, 而CDC42抑制剂和WASP抑制剂减弱巨噬细胞的吞噬功能。

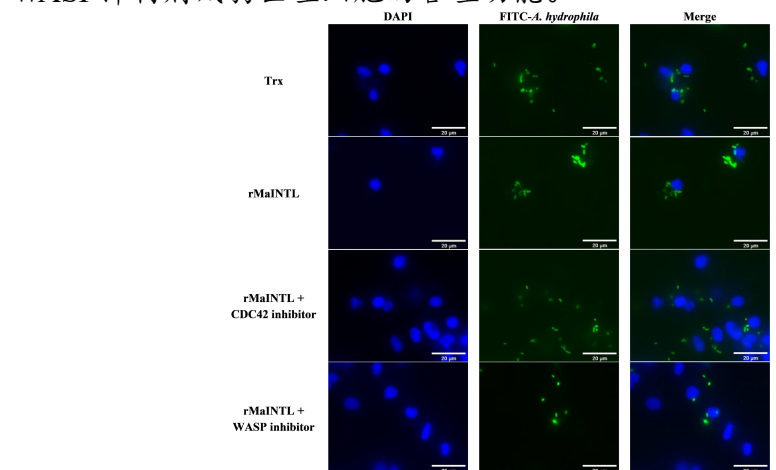


图6. MaINTL对团头鲂巨噬细胞吞噬功能的影响

结论

MaINTL通过CDC42-WASP-Arp2/3复合体将肌动蛋白单体组装为肌动蛋白丝, 进而促进伪足的形成, 诱导巨噬细胞骨架改变并促进其吞噬作用。

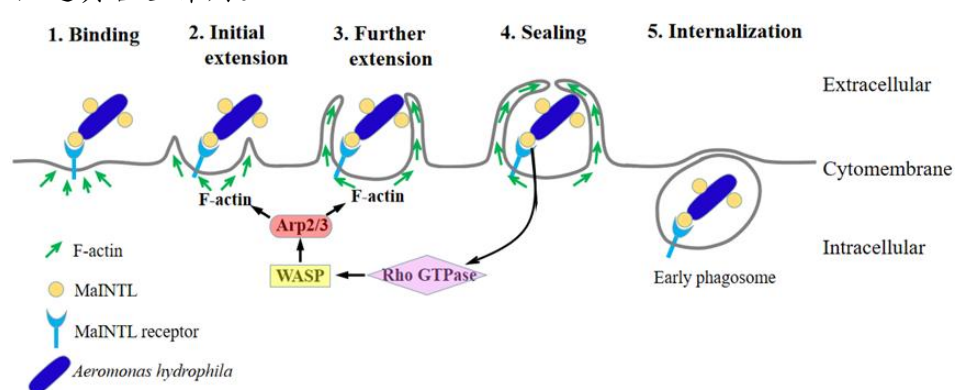


图7. MaINTL对团头鲂巨噬细胞吞噬功能的调控机制