

工作综述

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.002887



专家介绍:赵晓东, 二级教授, 主任医师, 博士生导师, 重庆医科大学附属第二医院院长, 国家“万人计划”科技创新领军人才、百千万人才工程国家级人选。研究方向为儿童免疫性疾病发病机制, 尤其是在原发性免疫缺陷病发病机制和防治领域居全国前列。获国务院特殊津贴、科技部中青年科技创新领军人才、重庆市首席医学专家、重庆市首席专家工作室等人才称号。曾任亚太免疫缺陷学会(APSID)常务理事和临床工作委员会主席, 中华医学会儿科学分会免疫学组组长, 现任中华医学会儿科学分会免疫学组名誉组长、中华医学会儿科学分会风湿病学组副组长、首届中国研究型医院学会过敏医学专业委员会副主委、中国中药协会儿童健康与药物研究专业委员会副主委。牵头国家卫生计生委行业专项“免疫缺陷病关键防治技术研究”、牵头初步构建了我国原发性免疫缺陷病防治体系, 获得国际同行认可。承担国家自然科学基金重点项目、国际合作重点项目、面上项目、青年基金项目等科研资助, 作为课题负责人获重庆市科技进步一等奖、教育部科技进步二等奖, 荣获 2010 年中国青年五四奖章。在国际知名期刊 *J Allergy Clin Immunol*、*Blood* 等发表 SCI 论文 60 余篇, 获得授权国家发明专利 5 项。

骨架蛋白调节相关原发性免疫缺陷病的机制研究

李亚男, 赵晓东

(重庆医科大学附属儿童医院风湿免疫科、国家儿童健康与疾病临床医学研究中心、儿童发育疾病研究教育部重点实验室、儿童感染免疫重庆市重点实验室, 重庆 400014)

【摘要】原发性免疫缺陷病(primary immunodeficiency disease, PID)是一组由基因突变导致的免疫失衡性疾病, 主要表现为反复、严重感染, 特殊病原微生物感染, 常伴自身免疫及肿瘤高度易感性。细胞骨架是一组维持细胞形态、促进细胞移动且可调节细胞多项功能的蛋白网状结构, 主要由微管、微丝和中间纤维组成。本文以 PID 为研究背景, 以威斯科特-奥尔德里奇综合征(Wiskott-Aldrich syndrome, WAS)和 DOCK8 缺陷为例, 对 WAS 蛋白和 DOCK8 蛋白在细胞免疫、体液免疫及其在免疫代谢、核内调节的作用机制进行工作综述, 并对尚存科学问题进行展望。

【关键词】原发性免疫缺陷病; 骨架蛋白; WAS 蛋白; DOCK8

【中图分类号】R725

【文献标志码】A

【收稿日期】2021-06-14

Mechanism of cytoskeleton-related regulation on the primary immunodeficiency diseases

Li Yanan, Zhao Xiaodong

(Department of rheumatology and immunology Children's Hospital of Chongqing Medical University, National Clinical Research Center for Child Health and Disorders, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, Chongqing Key Laboratory of Child Infection and Immunity)

【Abstract】Primary immunodeficiency disease(PID) is a group of immune disorder caused by gene mutation. It is clinically manifested as recurrent and severe infections especially by specific pathogenic microorganism and often accompanied by auto-immune and high susceptibility to tumors. Cytoskeleton is a system of filaments or fibers that maintains cell shape, support cell's movement and regulates multiple cellular functions, mainly composed of microtubules, microfilaments and intermediate fibers. On the background of PID and taken Wiskott-Aldrich syndrome(WAS) and DOCK8 deficiency disease as examples, we reviewed on the regulation of WAS protein,

DOCK8 as cytoskeleton proteins in cellular immunity, humoral immunity, immune metabolism and their role in nuclear regulation. In addition, we also addressed currently unsolved scientific questions.

【Key words】primary immunodeficiency disease; cytoskeleton; Wiskott-Aldrich syndrome protein; DOCK8

作者介绍:李亚男, Email: yananli1010@126.com,

研究方向: 细胞骨架的免疫调节; 原发性免疫缺陷病。

通信作者:赵晓东, Email: zhaosd530@aliyun.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号: 8161001201)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20210915.1802.010.html>

(2021-09-16)

1 细胞骨架蛋白

细胞骨架是真核细胞内一群蛋白纤维网架结构,主要参与细胞形态调节和结构维持、胞内细胞器定位及结构动态性、细胞的运动和胞内物质的运输等重要功能。人们对细胞骨架的真正认识起始于 20 世纪 60 年代,常温下戊二醛固定方法被建立之后。随着对细胞骨架的广泛认识,人们发现真核细胞中,细胞骨架主要有微管、微丝和中间纤维三类^[1]。

微管(microtubule, MT)作为细胞内运输的主要调节骨架,由微管蛋白分子组成,可与微管结合蛋白(microtubulin associated protein, MAP)装配形成多种结构并发挥功能。微丝(microfilament, MF)即肌动蛋白丝,由肌动蛋白组成。肌动蛋白是一种球形蛋白,而微丝则是球形肌动蛋白聚合形成的多聚体,也称为纤维状肌动蛋白^[2-4]。微管和微丝的多项功能发挥均依赖其高度动态不稳定性^[5-7],其中微管蛋白单聚体在聚合和解聚之间可相互切换,使得微管可响应细胞内外多种信号,随之产生牵拉和推动力量,发生适应性反应,从而实现骨架结构的重塑。而微丝的组装可用经典的“踏车模型”和“非稳态动力学”模型解释^[8-10],其中成核是微丝组装的关键步骤,Arp2/3 复合物、Formin 以及如 Spire、Cobl 和 leiomodin 等串联单聚体结合型成核因子,则是调节肌动蛋白成核作用的主要三类成核因子^[11-13]。Arp2/3 复合物的促成核因子(nucleation-promoting factors, NPFs)如 WASP/WAVE 家族蛋白对免疫细胞的分化及功能发挥、T 细胞肿瘤的抑制均有关键作用^[14-17]。多项基于威斯科特-奥尔德里奇综合征(Wiskott-Aldrich syndrome, WAS)患者及 WAS 蛋白(Wiskott-Aldrich syndrome protein, WASP)敲除小鼠的研究证明肌动蛋白本身也通过影响细胞活化、抗原提呈、T-B 细胞相互作用等多个方面参与调节体液免疫及细胞免疫反应^[18-20],其重塑失衡可导致如自身免疫及免疫失调等严重问题^[21]。

中间纤维(intermediate filaments, IF)是介于肌肉细胞肌动蛋白细丝与肌球蛋白粗丝之间,相对稳定的丝状蛋白多聚体,具有组织细胞特异性。可在细胞内形成完整的网状骨架系统,提供机械强度的支持和细胞间的连接作用等。研究表明,免疫细胞内 IF 如 Lamin A/C 的表达随着细胞分化、活化及迁移等活动发生迅速变化,固有免疫细胞和适应性免疫细胞中, Lamin A/C 的表达具有各自的特点^[22],且 Vimentin、keratin 17 和 cytokeratin 19 等多种 IF 在肿瘤中也具有关键作用^[23]。

由此可见,机体骨架蛋白异常与多种疾病发生相关,其中以肿瘤细胞的迁移和浸润、神经系统疾病的神经退行性变(如阿尔茨海默病)和遗传性疾病中免疫失调(如湿疹-血小板减少伴免疫缺陷综合征)为主。

2 骨架蛋白在原发性免疫缺陷病中的免疫调节

原发性免疫缺陷病(primary immunodeficiency disease, PID)是一组由免疫系统发育或功能缺陷为主的异质性免疫失调性疾病。2019 年国际免疫学会联盟(International Union of Immunological Societies, IUIS)在原有先天免疫缺陷(inborn errors of immunity, IEI)分类标准基础上新增了 65 种,截至今日总计有 406 种先天性免疫失调,并为临床诊断提供了更为科学详尽的思路^[24]。其中以 WAS、DOCK8 缺陷为主要代表,不乏有因细胞骨架蛋白缺陷而致病的 PID,并且以此为模型,大量研究探讨了 WASP、DOCK8 骨架蛋白对免疫系统的调节机制。

2.1 WASP 的免疫调节

WASP 是一组 X 染色体连锁、由编码 WASP 的基因突变导致蛋白表达缺失或缺陷致病的 PID。该疾病主要影响造血细胞的分化及功能,如血小板、淋巴细胞、单核细胞等。

WASP 是造血系统中关键的肌动蛋白调节因子,同时表达于胞内和核内。胞内 WASP 主要参与调节肌动蛋白的聚合作用。静息状态下, WASP 的 VCA 区与 GBD 区的疏水区结合保持蛋白的自抑结构,隐藏了与 Arp2/3 复合物结合的位点。WASP 活化时,如 CDC42 蛋白等分子可与 WASP 的 GBD 结合从而释放 WASP 的 C 端使其解除自抑状态,继而磷酸位点激活、蛋白活化。活化的 WASP 可通过 VCA 区与 Arp2/3 复合物结合促进肌动蛋白成核反应,从而调节细胞骨架重塑^[25]。核内 WASP 则可支持 RNA 聚合酶 II 依赖性转录并帮助维持基因组稳定性,从而调节免疫细胞基因损伤修复、细胞活性及关键分子转录^[26-27]。

因此, WASP 的免疫功能调节主要有 2 种方式:肌动蛋白依赖性调节和非肌动蛋白依赖性调节。既往大量研究充分展现了 WASP 通过肌动蛋白依赖性方式在免疫细胞的增殖、分化、活化及功能发挥调节的参与,而最新研究还提示 WASP 可通过调节 B 细胞共受体 CD19、炎症因子及肿瘤细胞的转录水平来影响免疫反应,即非肌动蛋白依赖性的免疫调节^[26, 28]。

2.1.1 WASP 的细胞免疫调节 WAS 患者及 WASP^{-/-}小鼠研究结果证明, WASP 对 T 细胞的早期前体细胞发育影响较小,其主要参与的环节是后期 T 细胞发育及终末分化细胞的存活和免疫稳态^[29]。因此本课题组首先收集了 WAS 患者血样,检测其 WASP 表达,验证 WAS 基因突变位点并分析其外周免疫表型和淋巴细胞形态,建立了临床 WAS 患者免疫筛查及基因型、蛋白验证的工作体系,然后分析患者移植前后对免疫表型的影响^[29-30],发现 WAS 患者 T、B 细胞免疫均存在不同程度的功能缺陷。分析 WAS 患者 TCR 组库多样性变化^[31]以及 WASP 对不同细胞亚型的影响^[32],发现 WASP 缺陷选择性影响 CD45RO⁺CD4⁺T 细胞和 CD8⁺Temra 细胞的 TCR

多样性,且 CD4 naive T 细胞、CD8 naive T 细胞和 B 细胞在 WASP 缺陷时显著减少,并与临床评分相关。

临床 WAS 患者明显的抗体缺陷也让本课题组对其特异性免疫反应缺陷尤其关注,因而利用 WASP 敲除小鼠对一群特殊的效应性 T 细胞,滤泡辅助性 T 细胞(T follicular helper cells,TFH)进行了深入研究,发现 WAS 患者循环内 TFH 减少且小鼠脾脏 TFH 结果与之一致,且 WASP 对 TFH 的分化和记忆调节与 BCL6 和 ICOS 表达相关^[33]。之后继续对 T 细胞的记忆进行研究,检测了 CD8⁺T 细胞对病毒感染的效应和免疫记忆维持,并证实了 WASP 具有 CD8⁺T 细胞固有的免疫维持和记忆调节机制^[34]。由此证明,WAS 患者对病原及疫苗的免疫反应缺陷与生发中心特异性免疫形成缺陷紧密相关,而这与 WASP 对 TFH 的调节相联系。除此外,WASP 是否影响生发中心(germinal center,GC)内趋化因子及 T 细胞定位等过程则尚不明确。

临床上 WAS 患者除了明显的免疫缺陷外,常见有自身免疫;除了缺陷的 Th 细胞效应功能以外,T 细胞的抑制性功能失调同样参与其中。为解释这一问题,大量研究聚焦于以调节性 T 细胞(regulatory T cell,Treg)和 T 细胞活性为主的领域,对此进行了探索。Treg 细胞在外周发挥抑制功能主要依靠以下几个途径:分泌抑制性细胞因子如 IL-10、IL-35、TGFB 等;通过表达表面抑制性分子,作用于抗原提呈细胞(antigen presenting cells,APC)继而抑制效应 T 细胞(T effector cell,Teff)的活化;通过分泌酶类物质发挥细胞溶解作用直接杀死 Teff;抑或通过代谢途径发挥抑制功能。WAS 的自身免疫表现同样与之相关,例如,WASP 被证实参与 Treg 细胞中颗粒酶 B 介导的 B 细胞杀伤功能调节^[35],且 WASP^{-/-} Treg 细胞缺乏组织归巢标志物如整合素 $\alpha 4 \beta 7$ 和趋化因子受体 CCR4,影响了 Treg 细胞在外周淋巴组织的定位^[36],WASP 也参与调节 Treg 分泌抑制性细胞因子。而 Th 细胞本身活性也与免疫失衡相关,例如小鼠研究发现,WASP^{-/-}可影响 TCR 活化诱导的 FasL 分泌及 CD4⁺T 细胞凋亡功能,从而异常维持 Naive CD4⁺T 细胞的活性^[37],WASP^{-/-} Th 细胞异常表达 BCL2 及 CD95 分子等。尽管如此,WASP 调节自身免疫及免疫耐受的研究仍然大部分局限于免疫表型的范围,WASP 如何具体参与到 Treg 细胞的信号如 IL2-IL2R 信号传导、抑制性分子的分泌,以及它和何种分子发生作用从而影响 Th 细胞 Fas-FasL 信号的分子机制,或者潜在的细胞生物学机制均未被明确阐释。

2.1.2 WASP 的体液免疫调节 从发育上看,既往研究提示,WASP 缺陷对骨髓内 B 细胞发育影响较小,且 WASP、N-WASP 双敲的小鼠模型也同样如此。直到最新一项研究提出了与 WASP 相关的,调节骨髓内 B 细胞发育的蛋白分子及潜在机制^[38]。而从成熟 B 细胞的免疫反应上看,为解释 WAS 患者的显著临床表现,我们将从 2 个方面来看。

一方面,患者严重的抗体缺陷,尤其是 T 细胞依赖性抗

体缺陷反应明显提示了 B 细胞生发中心(germinal center,GC)的反应缺陷。简单来说,GC 是 Naive B 细胞受抗原活化后大量增殖聚集形成的关键二级淋巴器官,GC 内通过阳性选择机制对细胞进行亲和力辨别,“筛选”出高亲和力的特异性 B 细胞进一步分化且发挥效应。因此外周 Naive B 细胞活化、功能发挥、GC 形成及 GC 内以明区为主的亲和力鉴别过程均与之相关。既往研究表明,WASP^{-/-} B 细胞对抗原刺激效应减弱、Naive B 细胞及记忆性 B 细胞活化减少,肌动蛋白辅助的免疫突触内 BCR 及其他信号分子的募集减少、WASP 对共刺激因子 CD19 的转录水平调控减少、负向调节分子 Fc γ RIIB 及 SHIP 磷酸酶增加^[39],继而影响大部分外周 B 细胞的功能发挥,可部分解释临床明显的免疫缺陷表现。但长久以来,由于研究方法和技术的限制,以及 GC 内细胞分选困难等多个难题,直接聚焦 GC 结构内的免疫分子调节机制,尤其是骨架蛋白的参与方式仍不清楚。因此本课题组利用绵阳红细胞免疫小鼠模型并体外磁柱分选 GC-B 细胞,探索 WASP 对 GC-B 细胞活化的分子调节机制^[40],结果发现在膜抗原刺激下,GC-B 活化后能形成以肌动蛋白支撑的胞膜突出结构,帮助 GC-B 细胞进行抗原“鉴别和筛选”。这些结构有利于 BCR 信号的激活和信号分子募集,这种 GC-B 细胞独特的免疫突触架构的形成和维持均需要 WASP 的调节。结合前文所述可知,WASP 可对 GC 内 TFH 细胞和 B 细胞同时进行调控,影响抗原来源的第一信号和 T 细胞来源的第二信号传导,继而影响 GC 内细胞选择等关键步骤。

另一方面,GC 内也通过程序性凋亡为主的方式对“不达标”的细胞进行阴性选择,从而维持 GC 内免疫稳态,由此可见 GC 反应失调同样可致自身免疫,骨架蛋白是否、如何参与调节 GC 内细胞凋亡,例如暗区内基因突变中移码突变及终止密码子的出现等调节机制也值得进一步探索。针对自身免疫,本课题组也对 WAS 背景下调节性 B 细胞进行了检测^[41],发现 WASP 缺陷时,分泌 IL-10 的 B 细胞与 Treg/Th1 失衡密切联系。除此以外,也有研究表示,B 细胞可通过非 GC 途径上调细胞活性及增殖能力,促使自身免疫发生,如 WAS 患者外周 CD21^{low} B 细胞异常增加且浆细胞 BAFF 表达增加^[42]等。

由此可见,对生发中心反应的直接观察和研究将非常有助于进一步阐释 WAS 背景下的严重抗体缺陷及自身免疫问题,双/多光子活体荧光显微成像技术的运用可有效对生发中心组织内细胞层面及分子层面的实时观察,可更准确地对骨架蛋白调节细胞选择过程进行深究。且 B 细胞如何绕开 GC 反应产生自身免疫性浆细胞及抗体也是非常值得关注的问题,这一过程是否同样需要 T 细胞信号参与,而骨架蛋白对这类 B 细胞的信号调控方式是否不同等问题均值得深入研究,这些也是其他多种 PID 所共同关注的关键问题。

2.1.3 细胞器介导的 WASP 免疫调节 WASP 除了介导肌动蛋白聚合作用发挥直接调节作用以外,还可以通过影响胞内关键细胞器形态及功能来参与机体免疫调节,如高尔基体

和线粒体。

最新研究显示,高尔基体的片段化和扩散活动参与调节细胞被辐射后的 DNA 损伤修复,称为高尔基体扩散反应(golgi-dispersal response, GDR),而该反应由 GOLPH3-DNA-PK-MYO18A-F-actin 信号通路介导。WASP 可促进核内 GOLPH3 的转移及其与 DNA-PKcs 的共定位,并且肌动蛋白解聚及 GOLPH3 去除后均未影响 GDR 作用,也就证明了 WASP 对高尔基体活动的重要调控作用^[43]。Rivers E 等^[44]的最新研究就是以单核细胞源的巨噬细胞(monocyte-derived macrophages, MDMs)为模型,探索 WASP 缺陷对雷帕霉素诱导的自噬小体的形成及其向溶酶体转运的影响,发现 WASP 参与自噬小体的形成与转运,能调节肌动蛋白形成环状架构包裹损伤线粒体,协调线粒体自噬从而维持其稳态,即一种依赖 Arp2/3-actin 骨架蛋白的线粒体自噬调节机制。结合生物化学和细胞生物学的知识可知,细胞器尤其是线粒体,是细胞能量代谢和氧化应激的重要场所。作为高度动态的细胞器,其形态的调节和功能的维持均与其代谢相关。骨架蛋白作为细胞及细胞器的重要支撑结构,参与其形态调节、定位及移动,是否也由此影响细胞代谢、活性及功能也都值得被关注。

2.1.4 WASP 的代谢免疫学研究 随着对免疫学研究的不断深入,基础免疫学与代谢、单细胞技术、蛋白组学、生物信息的多学科交叉已经逐渐成为近年研究的热点和重点,加上近年显微镜技术、测序及分析技术的更新,也为免疫学调节机制的深入研究提供了更为高效、便利的手段。而在这些新开拓的领域内,也不乏骨架蛋白的参与。

例如,细胞骨架结构可对糖酵解进行机械调控,这点不难理解。如前文所述,免疫细胞活化后对抗原的获取及配体分子结合均需要骨架蛋白依赖性的机械力辅助,以及细胞趋化、转移也需要伪足等骨架蛋白支撑结构产生机械支持,而这些细胞活动均对能量、营养需求增加,因此研究骨架蛋白重塑对细胞能量代谢、物质代谢的影响则成为一个新方向。Park JS 研究团队^[45]发现,细胞从僵硬的底物转移到柔软的底物时,可通过蛋白酶体降解限速代谢酶 PFK 来下调糖酵解代谢,而这一过程需要肌动蛋白、应力纤维等多种骨架蛋白参与。骨架蛋白对糖酵解、有氧代谢及脂代谢等多个领域的直接影响机制尚且不明。除了细胞的机械调控以外,能量代谢对细胞的存活能力及细胞活化同样有明显的影响,免疫细胞发挥功能所需的蛋白质、脂质合成也与物质代谢相关,因此细胞代谢中骨架蛋白扮演的角色究竟如何,也是非常值得探索的方向。

2.1.5 WASP 的核内免疫调节机制 除了传统的肌动蛋白依赖性免疫调节以外,近年研究还发现 WASP 具有调节核内转录因子的作用。本课题组研究了 WAS 患者的记忆性 B 细胞早期活化信号,发现患者的记忆性 B 细胞活化早期 BCR 成簇及细胞在膜抗原表面展开的能力减少,而这与 CD19-Btk

介导的信号转导减少和 FcγRIIB-SHIP1 介导的信号转导增加相关,并且发现 WASP 不仅能够促进 CD19 的募集,还可以上调 CD19 的转录因子水平^[46]。在 WAS 患者辅助性 T 细胞(Th cell)的 Th1/Th2 失衡研究中,发现核内有部分 WASP 表达,且它可被募集到 Th1 细胞的调节基因 TBX21 的近端启动子位点,而该现象在 Th2 细胞调节基因 GATA3 或 Th17 细胞调节基因 RORc 中并未发现^[46],后在 Th1 细胞研究中发现 WASP 具有一个功能性核定位(functional nuclear localizing, NLS)和核退出(nuclear exit, NES)序列,可通过控制核孔进入和退出核的水平对转录进行调控,支持核内 RNA 聚合酶 II 依赖的转录。由此可知,WASP 在 T 细胞核内的免疫调控作用也非常关键,但其核内调控在体液免疫的作用如何、其是否对免疫细胞的活性调节也有影响等也均尚未可知。

2.2 DOCK8 的免疫调节

DOCK8 缺陷是另一种以骨架蛋白缺陷致病的 PID,临床上导致常染色体隐性遗传的高 IgE 综合征(AR-HIES),该疾病在 2004 年被首次报道。DOCK8 属于一类鸟嘌呤核苷酸交换因子(guanine nucleotide exchange factors, GEFs),可调节 p 鸟嘌呤三磷酸水解酶(pGTPase)的活性,虽然 DOCK8 没有 GEFs 中常见的 DBL 同源结构域,但它可以与 CDC42 结合,通过 DOCK 同源区域 2(DHR2)介导 GTP-GDP 交换活动。多项临床研究显示 DOCK8 缺陷与 WAS 患者有多种相似的临床表型,如较高的感染易感性、过敏、自身免疫等,而这与 WASP 与 DOCK8 蛋白的分子机制密切相关。本课题组收集了 DOCK8 缺陷患者的血样,检测了 CD19 转录水平,同样分析了记忆性 B 细胞的早期活化,发现 DOCK8 可通过调节 CD19 分子转录水平影响 BCR 活化,而这也与 WASP 作用相关,因而提示 WASP 与 DOCK8 协调作用的可能^[47]。

总的来说,DOCK8 对免疫细胞的调节作用主要包括以下几方面:一是 IS 形成。在 T 细胞中,DOCK8 蛋白可通过 WIP 与 WASP 和肌动蛋白相连形成复合物,共同参与肌动蛋白聚合作用及 TCR 介导的 WASP 活化调节^[48]。在 Treg 细胞活化形成 IS 中,DOCK8 位于层状肌动蛋白环形机构区域,促进 IL-2 诱导的 STAT5 磷酸化,参与调节 IL-2 信号传导及肌动蛋白动态性^[49]。且 DOCK8 可以促进维持 Treg 细胞稳定性、限制接触性超敏反应^[50]。B 细胞活化时,DOCK8 可促进 LFA-1 在 IS 中极化,从而助力 IS 形成,这一作用同样在 NK 细胞中体现。二是免疫细胞迁移。这一作用在 DC 和巨噬细胞研究中较多体现,巨噬细胞中 DOCK8 可与 LRAP35 相互作用,调节活化 CDC42,从而调节细胞迁移^[51]。一种新发现的蛋白 LRCH1 可与 CDC42 竞争性结合 DOCK8,继而限制 T 细胞的迁移^[52]。三是维持细胞稳定性和持续性。这与 DOCK8 调节下,细胞活化时最佳 TCR 信号激活密切相关,也与细胞活性调节相关,如 NK 细胞内 BCL2 表达水平^[53]。四是 Th2/Th17 细胞稳态及炎症反应。DOCK8 促进 STAT3 入核,继而上调 Th17 相关基因转录,DOCK8 缺陷时,Th17 细胞分化减少,

Th17 相关基因转录减少^[54-55],这一相关机制在 B 细胞研究中也证实^[56]。

由此可见,DOCK8 对免疫系统的调节主要也是通过 CDC42-WASP-Arp2/3 途径,且 DOCK8 同样可调节多种因子的转录水平。

3 尚存问题及未来研究展望

如前文所述,骨架蛋白作为支撑、维持细胞形态结构,调节细胞迁移及细胞器动态性的关键网状结构,可以通过肌动蛋白依赖/非依赖性途径同时对胞内和核内分子进行免疫调控,继而影响多种免疫细胞的活化、功能及活性,这也是目前所知骨架蛋白参与免疫调节机制的主要范围。

随着研究者们认知范围的不断提升以及研究技术的持续更新,多学科、多领域的结合逐渐成为当下研究的热点,如单细胞测序技术对免疫细胞功能的潜在应用、空间转录组的应用对分子定位调控的分析等均有助于对免疫调节机制的深入探讨。在此基础上,更多的问题被提出。以 WAS 为例,突破以往对 WASP 的认知,近年发现了其核内的表达和调节机制以及其出/入核的调控序列,但 WASP 在核内的表达及入核的调节是否协同还是竞争性发挥作用尚且不明;肌动蛋白除了对胞内、核内的调节以外,是否可通过如分泌囊泡的方式被分泌出胞参与循环内免疫调节,以及其是否反向被吸收入胞发挥作用也尚不清楚。综上,针对 PID 中常见的免疫失衡关键问题,诸多新的科学问题逐渐被提出,这些都值得研究者们深入探讨。

参 考 文 献

- [1] Pollard TD, Goldman RD. Overview of the cytoskeleton from an evolutionary perspective[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2018, 10(7):a030288.
- [2] Holmes K, Popp D, Gebhard W, et al. Atomic model of the actin filament[J]. Nature, 1990, 347:44-49.
- [3] Fujii T, Iwane A, Yanagida T, et al. Direct visualization of secondary structures of F-actin by electron cryomicroscopy[J]. Nature, 2010, 467:724-728.
- [4] Sweeney HL, Holzbaur ELF. Motor proteins[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2018, 10(5):a021931.
- [5] Goodson HV, Jonasson EM. Microtubules and microtubule-associated proteins[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2018, 10(6):a022608.
- [6] Monda JK, Cheeseman IM. The kinetochore-microtubule interface at a glance[J]. J Cell Sci, 2018, 131(16):jcs214577.
- [7] Brouhard GJ, Rice LM. Microtubule dynamics: an interplay of biochemistry and mechanics[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2018, 19(7):451-463.
- [8] Bugyi B, Carlier MF. Control of actin filament treadmilling in cell motility[J]. Annu Rev Biophys, 2010, 39:449-470.
- [9] Carlier MF, Shekhar S. Global treadmilling coordinates actin turnover and controls the size of actin networks[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2017, 18:389-401.
- [10] Rosenblatt J, Agnew BJ, Abe H, et al. Xenopus actin depolymerizing factor/cofilin(XAC) is responsible for the turnover of actin filaments in *Listeria monocytogenes* tails[J]. J Cell Biol, 1997, 136:1323-1332.
- [11] Mullins RD, Heuser JA, Pollard TD. The interaction of Arp2/3 complex with actin: nucleation, high affinity pointed end capping, and formation of branching networks of filaments[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(11):6181-6186.
- [12] Fowler VM, Dominguez R. Tropomodulins and leiomodins: actin pointed end caps and nucleators in muscles[J]. Biophys J, 2017, 112(9):1742-1760.
- [13] Dominguez R. The WH2 domain and actin nucleation: necessary but insufficient[J]. Trends Biochem Sci, 2016, 41(6):478-490.
- [14] Rivers E, Thrasher AJ. Wiskott-Aldrich syndrome protein: emerging mechanisms in immunity[J]. Eur J Immunol, 2017, 47(11):1857-1866.
- [15] Menotti M, Ambrogio C, Cheong TC, et al. Wiskott-Aldrich syndrome protein(WASP) is a tumor suppressor in T cell lymphoma[J]. Nat Med, 2019, 25(1):130-140.
- [16] Alekhina O, Burstein E, Billadeau DD. Cellular functions of WASP family proteins at a glance[J]. J Cell Sci, 2017, 130(14):2235-2241.
- [17] Sun XZ, Wei Y, Lee PP, et al. The role of WASP in T cells and B cells[J]. Cell Immunol, 2019, 2019:103919.
- [18] Todd EM, Deady LE, Morley SC. Intrinsic T- and B-cell defects impair T-cell-dependent antibody responses in mice lacking the actin-bundling protein L-plastin[J]. Eur J Immunol, 2013, 43(7):1735-1744.
- [19] Burbage M, Keppler SJ. Shaping the humoral immune response: actin regulators modulate antigen presentation and influence B-T interactions[J]. Mol Immunol, 2018, 101:370-376.
- [20] He M, Westerberg LS. Congenital defects in actin dynamics of germinal center B cells[J]. Front Immunol, 2019, 10:296.
- [21] Papa R, Penco F, Volpi S, et al. Actin remodeling defects leading to autoinflammation and immune dysregulation[J]. Front Immunol, 2021, 11:604206.
- [22] Saez A, Herrero-Fernandez B, Gomez-Bris R, et al. Lamin A/C and the immune system: one intermediate filament, many faces[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(17):6109.
- [23] Aseervatham J. Cytoskeletal remodeling in cancer[J]. Biology (Basel), 2020, 9(11):385.
- [24] Bousfiha A, Jeddane L, Picard C, et al. Human inborn errors of immunity: 2019 update of the IUIS phenotypical classification[J]. J Clin Immunol, 2020, 40(1):66-81.
- [25] Thrasher AJ, Burns SO. WASP: a key immunological multitasker[J]. Nat Rev Immunol, 2010, 10(3):182-192.
- [26] Sadhukhan S, Sarkar K, Taylor M, et al. Nuclear role of WASP in

- gene transcription is uncoupled from its Arp2/3-dependent cytoplasmic role in actin polymerization[J]. *J Immunol*, 2014, 193:150–160.
- [27] Sarkar K, Sadhukhan S, Han SS, et al. Disruption of hSWI/SNF complexes in T cells by WAS mutations distinguishes X-linked thrombocytopenia from Wiskott-Aldrich syndrome[J]. *Blood*, 2014, 124:3409–3419.
- [28] Looi CY, Sasahara Y, Watanabe Y, et al. The open conformation of WASP regulates its nuclear localization and gene transcription in myeloid cells[J]. *Int Immunol*, 2014, 26:341–352.
- [29] Zhang ZY, Xiao HQ, Jiang LP, et al. Analysis of clinical and molecular characteristics of Wiskott-Aldrich syndrome in 24 patients from 23 unrelated Chinese families[J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2010, 21(3):522–532.
- [30] Chen N, Zhang ZY, Liu DW, et al. The clinical features of autoimmunity in 53 patients with Wiskott-Aldrich syndrome in China: a single-center study[J]. *Eur J Pediatr*, 2015, 174(10):1311–1318.
- [31] Wu J, Liu D, Tu W, et al. T-cell receptor diversity is selectively skewed in T-cell populations of patients with Wiskott-Aldrich syndrome[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 135(1):209–216.
- [32] Zhou L, Li W, Zhang X, et al. Abnormal distribution of distinct lymphocyte subsets in children with Wiskott-Aldrich syndrome[J]. *Hum Immunol*, 2017, 78(9):565–573.
- [33] Zhang X, Dai R, Li W, et al. Abnormalities of follicular helper T-cell number and function in Wiskott-Aldrich syndrome[J]. *Blood*, 2016, 127(25):3180–3191.
- [34] Liu Q, Zhang L, Shu Z, et al. WASP is essential for effector-to-memory conversion and for maintenance of CD8⁺ T cell memory[J]. *Front Immunol*, 2019, 10:2262.
- [35] Adriani M, Jones KA, Uchiyama T, et al. Defective inhibition of B-cell proliferation by Wiskott-Aldrich syndrome protein-deficient regulatory T cells[J]. *Blood*, 2011, 117:6608–6611.
- [36] Maillard MH, Cotta-de-Almeida V, Takeshima F, et al. The Wiskott-Aldrich syndrome protein is required for the function of CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cells[J]. *J Exp Med*, 2007, 204:381–391.
- [37] Nikolov NP, Shimizu M, Cleland S, et al. Systemic autoimmunity and defective Fas ligand secretion in the absence of the Wiskott-Aldrich syndrome protein[J]. *Blood*, 2010, 116(5):740–747.
- [38] Huang L, Sun X, Yang D, et al. WASP and Mst1 coregulate B-cell development and B-cell receptor signaling[J]. 2020, 4(9):1916.
- [39] Burns SO, Zafarova A, Thrasher AJ. Primary immunodeficiencies due to abnormalities of the actin cytoskeleton[J]. *Curr Opin Hematol*, 2017, 24:16–22.
- [40] Li YN, Bhanja A, Upadhyaya A, et al. WASP is crucial for the unique architecture of the immunological synapse in germinal center B-cells[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:646077.
- [41] Du HQ, Zhang X, An YF, et al. Effects of Wiskott-Aldrich syndrome protein deficiency on IL-10-producing regulatory B cells in humans and mice[J]. *Scand J Immunol*, 2015, 81(6):483–493.
- [42] Castiello MC, Bosticardo M, Pala F, et al. Wiskott-Aldrich syndrome protein deficiency perturbs the homeostasis of B-cell compartment in humans[J]. *J Autoimmun*, 2014, 50(100):42–50.
- [43] Wen KK, Han SS, Vyas YM. Wiskott-Aldrich syndrome protein senses irradiation-induced DNA damage to coordinate the cell-protective Golgi dispersal response in human T and B lymphocytes[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2020, 145(1):324–334.
- [44] Rivers E, Rai R, Lötscher J, et al. Wiskott Aldrich syndrome protein regulates non-selective autophagy and mitochondrial homeostasis in human myeloid cells[J]. *Elife*, 2020, 9:e55547.
- [45] Park JS, Burckhardt CJ, Lazcano R, et al. Mechanical regulation of glycolysis via cytoskeleton architecture[J]. *Nature*, 2020, 578(7796):621–626.
- [46] Bai X, Zhang Y, Huang L, et al. The early activation of memory B cells from Wiskott-Aldrich syndrome patients is suppressed by CD19 downregulation[J]. *Blood*, 2016, 128(13):1723–1734.
- [47] Sun X, Wang J, Qin T, et al. Dock8 regulates BCR signaling and activation of memory B cells via WASP and CD19[J]. *Blood Adv*, 2018, 2(4):401–413.
- [48] Janssen E, Tohme M, Hedayat M, et al. A DOCK8-WIP-WASP complex links T cell receptors to the actin cytoskeleton[J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(10):3837–3851.
- [49] Janssen E, Kumari S, Tohme M, et al. DOCK8 enforces immunological tolerance by promoting IL-2 signaling and immune synapse formation in Tregs[J]. *JCI Insight*, 2017, 2(19):e94298.
- [50] Wilkie H, Janssen E, Leyva-Castillo JM, et al. DOCK8 expression in regulatory T cells maintains their stability and limits contact hypersensitivity[J]. *J Invest Dermatol*, 2021, 146(6):1503–1511.e3.
- [51] Shiraishi A, Urano T, Sanematsu F, et al. DOCK8 protein regulates macrophage migration through CDC42 protein activation and LRAP35a protein interaction[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(6):2191–2202.
- [52] Xu X, Han L, Zhao G, et al. LRCH1 interferes with DOCK8-CDC42-induced T cell migration and ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *J Exp Med*, 2017, 214(1):209–226.
- [53] Crawford G, Enders A, Gileadi U, et al. DOCK8 is critical for the survival and function of NKT cells[J]. *Blood*, 2013, 122(12):2052–2061.
- [54] Yamamura K, Urano T, Shiraishi A, et al. The transcription factor EPAS1 links DOCK8 deficiency to atopic skin inflammation via IL-31 induction[J]. *Nat Commun*, 2017, 8:13946.
- [55] Keles S, Charbonnier LM, Kabaleeswaran V, et al. Dedicator of cytokinesis 8 regulates signal transducer and activator of transcription 3 activation and promotes TH17 cell differentiation[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2016, 138(5):1384–1394.e2.
- [56] Jabara HH, McDonald DR, Janssen E, et al. DOCK8 functions as an adaptor that links TLR-MyD88 signaling to B cell activation[J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(6):612–620.