

## 基因调控

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000153

# 转化生长因子- $\beta$ 1 以浓度依赖的方式重组人成熟树突状细胞的细胞骨架丝状肌动蛋白

郑勤妮<sup>1</sup>, 许筱莉<sup>1</sup>, 姚伟娟<sup>2</sup>, 田克诚<sup>3</sup>, 曾 柱<sup>1</sup>

(1. 贵州省贵阳医学院生物技术教研室, 贵阳 550004; 2. 北京大学基础医学院血液流变学研究中心, 北京 100083;  
3. 贵州省疾病预防控制中心传染病防治研究所检验科, 贵阳 550004)

**【摘要】目的:**探索转化生长因子  $\beta$ 1 (transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1) 对人成熟树突状细胞 (mature dendritic cells, mDCs) 骨架丝状肌动蛋白 (filament actin, F-actin) 及其部分骨架结合蛋白表达的影响, 为深入理解树突状细胞 (dendritic cells, DCs) 的生物学行为和提高基于 DCs 的抗肿瘤免疫治疗的临床效率提供线索。**方法:**不同浓度的 TGF- $\beta$ 1 处理 mDCs 后, 用激光共聚焦显微镜和免疫印迹实验分别研究细胞骨架 F-actin 的结构和部分细胞骨架结合蛋白表达水平的变化。**结果:**(1) 与对照组相比, TGF- $\beta$ 1 处理后的 mDCs 的 F-actin 出现了明显重排, F-actin 的表达量在 3 ng/ml 组下调 ( $P=0.000$ ), 在 5 ng/ml 组上调 ( $P=0.000$ )。 (2) mDCs 表面丝状突起长度和数量的变化, 长度在 3 ng/ml 和 5 ng/ml 组较对照组细、短 ( $P=0.001, 0.000$ ); 数量在 1, 3 ng/ml 和 5 ng/ml 组较对照组少而稀疏 ( $P=0.000$ ); 在 7 ng/ml 组 mDCs 表面丝状突起长度和数量的变化均无统计学意义 ( $P=0.114$ ); 通过回归分析细胞丝状突起长度和数量与 F-actin 表达量之间存在非线性相关性 ( $R^2$  分别为 0.828 和 0.746,  $P=0.000$ )。 (3) 细胞骨架蛋白结合蛋白的表达, fascin1 在所有实验组中均出现了下调 ( $P=0.001, 0.000$ ); p-cofilin1 与总 cofilin1 的表达水平比在 1 ng/ml 和 3 ng/ml 组均下调 ( $P=0.000$ ); profilin 的表达在 1, 3 ng/ml 和 5 ng/ml 组均上调 ( $P=0.001, 0.001, 0.013$ )。**结论:**TGF- $\beta$ 1 以浓度依赖的方式影响 mDCs 的细胞骨架 F-actin 结构及其部分结合蛋白的表达, 提示在临床上施行基于 DCs 的抗肿瘤免疫治疗时, 需以适当的方式阻断 TGF- $\beta$ 1 的信号转导通路, 这对进一步深入理解 DCs 的生物学行为和肿瘤的免疫逃逸机制具有重要意义。

**【关键词】**成熟树突状细胞; 转化生长因子- $\beta$ 1; 细胞骨架**【中图分类号】**Q66**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2013-05-02

## Reconstruction of cytoskeleton filament actin of human mature dendritic cells by transforming growth factor- $\beta$ 1 in a concentration-dependent manner

Zheng Qinni<sup>1</sup>, Xu Xiaoli<sup>1</sup>, Yao Weijuan<sup>2</sup>, Tian Kecheng<sup>3</sup>, Zeng Zhu<sup>1</sup>

(1. Teaching and Research Section of Biotechnology, Guiyang Medical College;

2. Hemorheology Center, School of Basic Medical Sciences, Health Science Center of Peking University;

3. Laboratory Department, Guizhou Provincial Center for Disease Control and Prevention)

**【Abstract】Objective:** To explore the effects of transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) on the cytoskeleton filament actin (F-actin) and expression of some binding proteins in mature dendritic cells (mDCs) in order to further understand the biological behaviors and find the clue of improving the clinical efficiency of DCs-based therapy against cancer. **Methods:** mDCs were treated with different concentrations of TGF- $\beta$ 1 and the organization of cytoskeleton F-actin and expression of some cytoskeleton-binding proteins were respectively observed and measured by laser confocal microscopy and Western blot. **Results:** (1) F-actin organization was reconstructed in mDCs treated with various concentrations of TGF- $\beta$ 1 compared with that in control group. F-actin expression quantity in 3 ng/ml

作者介绍: 郑勤妮, Email: 278670930@qq.com,

研究方向: 树突状细胞与肿瘤相互作用的分子机制。

通信作者: 曾 柱, Email: zengzhu100@sina.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 11162003、31260227、31170886); 教育部科学技术研究重点资助项目 (编号: 210196); 贵州省优秀青年科技人才支持计划资助项目 (编号: 2011-24); 贵州省社会发展科技攻关资助项目 (编号: 黔科合 SY 字 [2011]3065); 贵州省省长专项基金资助项目 (编号: 黔省专合字 [2009]-79); 贵州省科学技术基金资助项目 (编号: 黔科合 J 字 2008-2274); 贵阳市科学技术资助项目 (编号: 2010-筑科农合同字第 1-社-12)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13406/j.cnki.cyxh.000153.html>

group was significantly down-regulated ( $P=0.000$ ) and expression quantity of F-actin in 5 ng/ml group was significantly up-regulated ( $P=0.000$ ). (2) Length of cell membrane protrusions in 3 ng/ml and 5 ng/ml group was thinner and shorter than that in control group ( $P=0.001, 0.000$ ). Number of cell membrane protrusions in 1, 3, 5 ng/ml groups was sparser than that in control group ( $P=0.000$ ). Non-linear correlation between expression of F-actin and characteristics of cell membrane protrusion (length and number) was observed ( $R^2=0.828, 0.746$  respectively,  $P=0.000$ ). (3) Expression of cytoskeleton-binding proteins and expression quantity of F-actin in all groups was significantly

down-regulated( $P=0.001, 0.000$ ). Phosphorylation of cofilin1 in 1 ng/ml and 3 ng/ml group was significantly down-regulated( $P=0.000, 0.000$ ). Expression quantity of profilin in 1,3,5 ng/ml group was significantly up-regulated( $P=0.001, 0.001, 0.013$ ). **Conclusions:** Organization of cytoskeleton F-actin and some of its binding proteins in mDCs are affected by TGF- $\beta$ 1 in a concentration-dependent manner, indicating that the signal pathway of TGF- $\beta$ 1 should be blocked in appropriate way before performing DCs-based immunotherapy against cancer. It's of great significance to understand the biological behaviors and immune escape mechanism of tumor. **[Key words]** mature dendritic cells; transforming growth factor- $\beta$ 1; cytoskeleton

树突状细胞(dendritic cells, DCs)是一种特化的抗原呈递细胞(antigen presenting cells, APCs),具有强大的抗原摄取和处理能力,能够向幼稚的 T 细胞呈递肿瘤抗原,从而诱导对肿瘤细胞具有特异性的免疫应答<sup>[1-2]</sup>。基于 DCs 的抗肿瘤免疫治疗已经取得了令人瞩目的成绩,但是,该疗法的临床治疗效果还不尽人意,还有许多问题需要解决<sup>[1]</sup>。有研究发现肿瘤浸润部位有 DCs 存在,而且 DCs 的数量与肿瘤浸润程度呈负相关<sup>[3]</sup>。现已知道,肿瘤的发生发展往往伴随着其对宿主免疫系统功能的显著抑制,恶性肿瘤宿主体内的 DCs 功能发生了紊乱,肿瘤可以通过多种方式逃脱免疫系统的监视<sup>[4]</sup>,并且不同的肿瘤对 DCs 功能的影响机制还不尽相同<sup>[5]</sup>,包括血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)和白介素-10(interleukin-10, IL-10)等在内的肿瘤微环境来源的抑制性细胞因子对 DCs 功能的抑制和损伤是其中的一个关键问题<sup>[1]</sup>。本课题组以前的研究发现肿瘤细胞及其培养上清能够损伤 DCs 的细胞骨架结构和免疫学功能<sup>[6-9]</sup>,但是这些结果只是研究了肿瘤来源因素对 DCs 的综合影响,而单一细胞因子对 DCs 细胞骨架结构的作用还不得而知。

TGF- $\beta$ 1 是 TGF- $\beta$  超家族的一个重要成员,具有复杂的生物学功能,是肿瘤逃脱免疫攻击的一个关键性因素,它可以直接或间接地调控细胞的生长、增殖、分化、黏附、转移和凋亡等<sup>[10]</sup>。肿瘤微环境中的 TGF- $\beta$ 1 以环境依赖的方式调节肿瘤的发生发展<sup>[10]</sup>。当细胞暴露于 TGF- $\beta$ 1 时,可触发细胞产生许多不同的应答,包括抑制细胞生长、迁移、分化和凋亡。而且, TGF- $\beta$ 1 能抑制正常角化细胞的生长和分化,然而,它又能刺激肿瘤细胞增殖,使肿瘤细胞比其他非转化细胞更具生长优势。在肿瘤形成早期, TGF- $\beta$ 1 是一个潜在的细胞增殖抑制剂,阻止肿瘤生长;在肿瘤晚期,肿瘤细胞通常能够逃避生长抑制,并且提高 TGF- $\beta$ 1 的分泌促进转移<sup>[10]</sup>。 TGF- $\beta$ 1

能够通过上调核因子- $\kappa$ B 抑制蛋白(nuclear factor- $\kappa$ B inhibitor proteins, I $\kappa$ B- $\alpha$ )的表达来抑制核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)的功能,而 NF- $\kappa$ B 是许多重要细胞信号转导路径的通用转录因子<sup>[11]</sup>。而且,肿瘤细胞表达的 TGF- $\beta$ 1 可将浸润于肿瘤的 DCs 束缚于肿瘤组织内,阻止其迁移出肿瘤组织并向引流淋巴结运动<sup>[12]</sup>,并影响其分化方向<sup>[13]</sup>。而细胞的增殖和迁移均依赖于细胞骨架系统的有效重组和延伸,本研究利用不同浓度的 TGF- $\beta$ 1 在体外处理成熟树突状细胞(mature dendritic cells, mDCs)后,用激光共聚焦显微镜和免疫印迹实验分别研究细胞骨架丝状肌动蛋白(filament actin, F-actin)的结构和部分细胞骨架结合蛋白表达水平的变化,结果发现 TGF- $\beta$ 1 以浓度依赖的方式影响 mDCs 的细胞骨架 F-actin 结构及其部分结合蛋白的表达,提示在临床上施行基于 DCs 的抗肿瘤免疫治疗时,需以适当的方式阻断 TGF- $\beta$ 1 的信号转导通路,这对进一步深入理解 DCs 的生物学行为和肿瘤的免疫逃逸机制具有重要意义。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂

重组人 TGF- $\beta$ 1, 重组人粒-巨噬细胞集落刺激因子(recombinant human granulocyte-macrophage factor, rhGM-CSF), 重组人白介素 4(recombinant human interleukin-4, rhIL-4)和重组人肿瘤坏死因子- $\alpha$ (recombinant human tumor necrosis- $\alpha$ , rhTNF- $\alpha$ )购自美国 pepco 公司;淋巴细胞分离液(ficol, 1.07 g/ml)购自北京索莱宝试剂公司;RPMI1640 购自美国 GIBCO 公司,胎牛血清(fetal bovine serum, FCS)购自美国 HyClone 公司,100 mg/L 链霉素,100 U/ml 青霉素购自华北制药厂,Hepes 购自美国 Roche 公司;FITC 或 PE 标记的抗人 CD1a、CD11c、CD14、CD40、CD80、CD83、CD86 和 HLA-DR 单克隆抗体购自美国 Sigma 公司;人 CD14<sup>+</sup>单核细胞阴性选择免疫磁珠试剂盒(Monocyte Isolation Cocktail Kit)购自德国 Miltenyi 公司;罗丹明标记的鬼笔环肽购自美国 Invitrogen 公司;牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)购自美国 Roche 公司;Triton-X100 购自美国 Sigma 公司;多甲醛购自北京化

学试剂公司;4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)购自北京索莱宝试剂公司。fascin1(H-110),丝切蛋白 1(cofilin1),磷酸化的丝切蛋白(phospho-cofilin1,p-cofilin1),profilin-1 抗体购自美国 Santa 公司。

1.2 单核细胞和 DCs 的获得及鉴定

根据以前的实验方法获得单核细胞和 DCs 并对其表型和形态进行鉴定<sup>[6-9]</sup>。

1.3 不同浓度的 TGF-β1 处理 mDCs

将 mDCs 悬液浓度调为  $5 \times 10^5$  个/ml 并接种于 24 孔板,加入 5 ng/μl rhGM-CSF(终浓度为 150 ng/ml)、10 ng/μl rhIL-4(终浓度为 100 ng/ml)、10 ng/μl rhTNF-α(终浓度为 10 ng/ml) 和不同浓度的 TGF-β1(1、3、5 ng/ml 和 7 ng/ml),常规培养 24 h,未加细胞因子组为对照,TGF-β1 工作浓度根据参考文献<sup>[14]</sup>和预实验确定。

1.4 细胞骨架 F-actin 的观察

将细胞铺展于多聚赖氨酸包被过的盖玻片上,于 37 °C 孵育 30 min。4%的多聚甲醛固定后,用 0.1%Triton X-100 室温处理 5 min,1%的 BSA 孵育 30 min 后,用 5 U 罗丹明标志的鬼笔环肽于室温暗处理 20 min,并 100 ng/ml 的 DAPI 室温暗处理 5 min。用激光共聚焦显微镜上获得细胞骨架 F-actin 的三维结构。用莱卡 LAS 成像分析软件测定细胞 F-actin 的平均荧光强度以及膜突起长度和数量。每组至少选取 20 个细胞进行定量分析。

1.5 部分细胞骨架蛋白结合蛋白的表达

收集细胞( $5 \times 10^5$  个)于无菌 0.5 ml 的离心管中,加入 200 μl RIPA 裂解液[50 mmol/L Tris(pH 7.4),150 mmol/L NaCl,1% NP-40,0.1% SDS]快速裂解细胞,蛋白浓度用 ABC 法定量。每个样品取 20 μg 在 SDS 聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳,并将蛋白转至硝酸纤维膜上。用 5%的 BSA(含 0.1%Tween 20)封闭 2 h 后,一抗孵育,4 °C 孵育过夜。弃去一抗封闭液,磷酸盐缓冲液洗膜 3 遍(每次 10 min),二抗孵育(辣根过氧化物酶标记的山羊抗人 IgG,按 1:2 000 稀释)1 h。1 ml 超敏发光液暗处理 5 min 后进行曝光。Image J 软件测定蛋白条带的灰度值,以 β-actin 为内参。

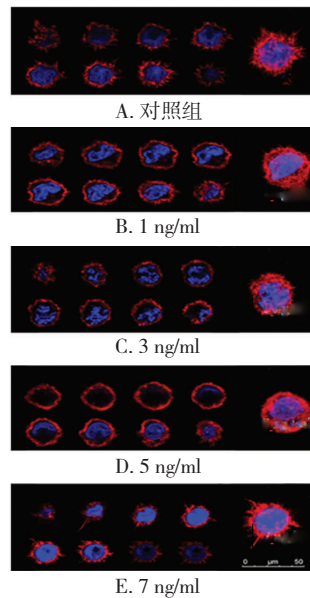
1.6 数据处理

所有数据用 SPSS 11.5 统计软件作统计分析。实验数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Dunnett-t 检验;回归分析细胞丝状突起长度和数量与 F-actin 表达量之间关系。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 细胞骨架 F-actin 的结构和表达量

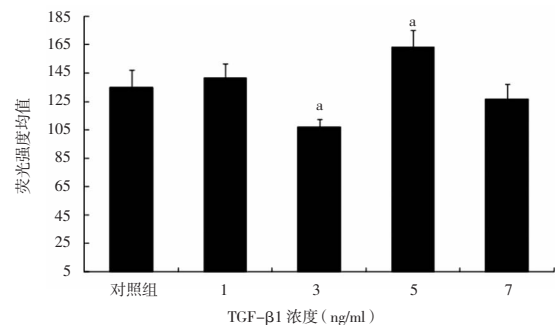
如图 1 所示,对照组 mDCs 的 F-actin 主要分布于质膜下,排列相对有序,而经 TGF-β1 处理后,70%~85% mDCs 的 F-actin 明显发生了重组,并且 F-actin 的表达发生变化,各组差异有统计学意义( $F=40.653, P=0.000$ ),组间采用 Dunnett-t 检验比较,与对照组( $134.17 \pm 30.30$ )相比,在 3 ng/ml 处理组 mDCs 的 F-actin 的表达下调(图 2)( $107.06 \pm 37.21, P=0.000$ ),5 ng/ml 处理组 mDCs 的 F-actin 表达上调( $163.05 \pm 24.34, P=0.000$ )。



左边为光切图,右边为三维重组图

图 1 不同浓度 TGF-β1 对 mDCs 细胞骨架 F-actin 的影响 (600 ×)

Fig.1 Effects of TGF-β1 with different concentrations on cytoskeleton protein F-actin of mDCs ( 600 × )



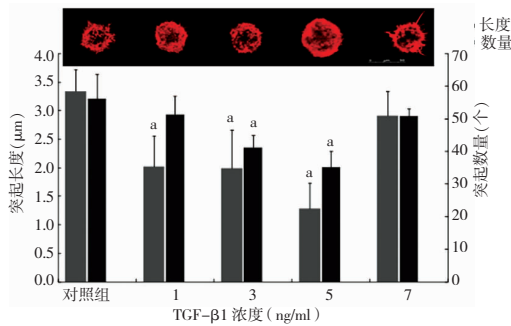
经 TGF-β1 处理后的 mDCs 的 F-actin 表达量与对照组的相比:a, P<0.05

图 2 不同浓度 TGF-β1 对 mDCs 细胞骨架 F-actin 表达量的影响

Fig.2 Effects of TGF-β1 with different concentrations on expression of cytoskeleton protein F-actin of mDCs

2.2 细胞膜表面丝状突起的变化

mDCs 的 FP 在其迁移和呈递抗原的过程中发挥着重要作用。不同浓度 TGF-β1 处理后 mDCs 表面 FP 长度和数量均发生了变化(F 值分别为 13.55 和 17.32, P 值均为 0.000)。组间比较,如图 3 所示,对照组 mDCs 表面的 FP 较长( $32.09 \pm 4.34$ )且突起数量较密集( $58.57 \pm 6.63$ )。经 TGF-β1 处理后,细胞膜表面的 FP 平均长度和数量(图 3)均发生了明显的变化,其长度在 3 ng/ml 和 5 ng/ml 处较短且较细(均值分别为  $23.63 \pm 2.08$  和  $20.09 \pm 2.76, P$  值分别为 0.001 和 0.000);数量在 1,3 ng/ml 和 5 ng/ml 处均较少而稀疏(均值分别为  $35.43 \pm 9.36, 34.86 \pm 11.73$  和  $22.57 \pm 7.81, P$  值均为 0.000),而在 7 ng/ml 处有所恢复(均值为  $51.00 \pm 7.50, P$  值为 0.114)。而且,通过回归分析(图 4)发现细胞 FP 长度和数量与 F-actin 表达量之间存在非线性相关性( $R^2=0.828, R^2=0.746, 均 P=0.000$ )。



经 TGF-β1 处理后的 mDCs 膜表面 FP 的长度和数量与对照组的相比: a, P < 0.05

图 3 不同浓度 TGF-β1 对 mDCs 膜表面 FP 的长度和数量的影响 ( 600 × )

Fig.3 Effects of TGF-β1 with different concentrations on the length and number of membrane surface protrusion of mDCs ( 600 × )

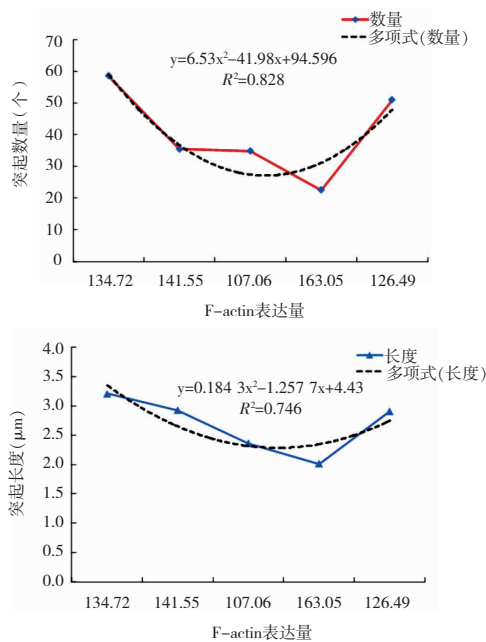


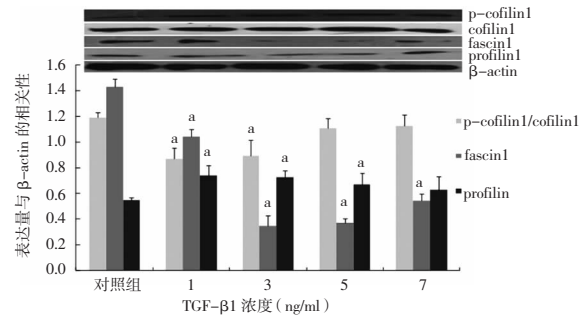
图 4 F-actin 的表达水平与 mDCs 膜突起的数量和长度的相关性分析

Fig.4 Analysis of correlation between F-actin expressions and the length and number of cell membrane protrusion of mDCs

2.3 细胞骨架蛋白结合蛋白的表达

细胞骨架 F-actin 是细胞结构和功能的基础,与细胞运动密切相关,其构象受到其 fascin1、cofilin1、profilin 等结合蛋白的严格调控。经 TGF-β1 处理后,如图 5 所示,fasin1 的表达发生变化 ( $F=99.690, P=0.000$ )。与对照组 ( $1.43 \pm 0.06$ ) 相比, mDCs 的 fascin1 在所有的实验浓度中均出现了下调(均值在 1、3、5 ng/ml 和 7 ng/ml 组分别为  $1.04 \pm 0.06, 0.35 \pm 0.08, 0.37 \pm 0.03$  和  $0.54 \pm 0.05, P$  值分别为 0.001 和 0.000); p-cofilin1 与总 cofilin1 的表达水平之比也发生变化 ( $F=4.943, P=0.018$ ), 与对照组 ( $1.19 \pm 0.04$ ) 相比, 在 1 ng/ml 和 3 ng/ml 处下调 (均值分别为  $0.87 \pm 0.08$  和  $0.89 \pm 0.12, P$  值均为 0.000); profilin 的表达也发生改变 ( $F=7.000, P=0.005$ ), 与对

照组 ( $0.55 \pm 0.04$ ) 相比, 而 1、3 ng/ml 和 5 ng/ml 组 profilin 的表达均上调(均值分别为  $0.74 \pm 0.05, 0.73 \pm 0.02$  和  $0.67 \pm 0.03, P$  值分别为 0.001、0.001 和 0.013)。



经 TGF-β1 处理后的 mDCs 的部分细胞骨架结合蛋白的表达水平与对照组的相比: a, P < 0.05

图 5 不同浓度 TGF-β1 处理组部分细胞骨架结合蛋白的表达

Fig.5 Expression of some cytoskeleton-binding proteins in mDCs after being treated by TGF-β1 conditioned media with different concentrations

3 讨论

DCs 是机体内功能最强的专职 APCs, 其生物学功能与其发育成熟的程度有关, 它既可以启动免疫应答, 又可以诱导免疫耐受。基于 DCs 的抗癌免疫治疗被认为是最有可能攻克癌症的方法并成为全球研究的热点, 但是该疗法还有许多问题需要解决<sup>[1]</sup>, 特别是肿瘤微环境来源的、包括 TGF-β1 在内的抑制性细胞因子对 DCs 运动能力的损伤是一个值得高度关注的问题。TGF-β 是多功能的细胞因子家族, 在哺乳动物中, TGF-β 家族有 TGF-β1、TGF-β2 和 TGF-β3 3 个成员, 其中 TGF-β1 具有最强的生物学活性<sup>[15]</sup>, 其作用机制较复杂。现已知道, TGF-β1 是一种负性免疫调节因子, 可以抑制 B 细胞、NK 细胞、LAK 细胞/活化巨噬细胞的增殖以及 Th1 和 Th2 细胞因子的分泌<sup>[15]</sup>, 而且, 肿瘤细胞表达的 TGF-β1 可将浸润于肿瘤的 DCs 束缚于肿瘤组织内, 阻止其迁移出肿瘤组织并向引流淋巴结运动<sup>[12]</sup>。众所周知, 细胞骨架是指真核细胞质中的蛋白质纤维网架体系, 它对于细胞的形状、细胞的运动、细胞内物质的运输、染色体的分离和细胞分裂等起着重要的作用。微丝是细胞骨架结构中最细的, 主要由 F-actin 组成, 它在游离和聚合时分别以球形肌动蛋白 G-actin 和丝状 F-actin 的形式存在。由 F-actin 构成的微丝主要调控细胞的变形和细胞的运动能力, 并提供细胞运动所需要的机械力。基于此, 本文着重研究了 TGF-β1 对 mDCs 细胞骨架系统 F-actin 的结构及

其部分结合蛋白表达的影响,以探索其对损伤 mDCs 运动能力的原因,为进一步深入理解肿瘤免疫逃逸机制提供了理论基础。

研究结果发现, TGF- $\beta$ 1 能够重组 mDCs 的 F-actin 结构,以浓度依赖的方式调控其表达量和膜突起的数量和长度,并且 F-actin 的表达量与膜突起的数量和长度呈现出非线性相关性,由此可推测, TGF- $\beta$ 1 可能能够调控 mDCs 的 F-actin 的结合蛋白。因此,本研究选择了部分感兴趣的细胞骨架微丝结合蛋白进行检测,结果发现, fascin1 和 p-cofilin1 的表达下调,而 profilin1 表达上调,并呈现出浓度依赖性。有学者发现, fascin1 是一种免疫细胞特异表达的细胞骨架结合蛋白,在免疫细胞的成熟、抗原摄取和呈递、形态和运动能力等方面都发挥着重要作用,其表达水平与 mDCs 的丝状伪足和膜表面突起具有高度的相关性<sup>[16-17]</sup>,而 mDCs 的丝状伪足和膜表面突起在其发挥免疫学功能的过程中发挥着重要作用<sup>[18]</sup>。结合本研究的发现,可以推测 TGF- $\beta$ 1 可能是通过调控 fascin1 的表达来影响 mDCs 膜突起的数量和长度,进而影响其免疫学功能和运动能力,具体的机制还需要深入研究。丝切蛋白(cofilin)是存在于真核生物细胞中的一种低相对分子质量(21 kD)的 F-actin 结合蛋白,它能够将 F-actin 解聚为 G-actin(F-actin 的单体),通过 profilin 将 G-actin 装配至 F-actin 后末端,实现 F-actin 的向前延伸,与细胞运动、迁移和黏附等功能密切相关,即 cofilin 与 profilin 之间存在功能上的偶联和表达水平的动态平衡<sup>[19]</sup>,并且 cofilin 的切割活性可受其上游信号 Lim 激酶对其 N 末端丝氨酸 3 位点的磷酸化而失活<sup>[20]</sup>。结合本研究发现,可以推测,由于 TGF- $\beta$ 1 引起 mDCs 的 cofilin 和 profilin 异常表达,使细胞的 F-actin 不能有效延伸,从而导致其 F-actin 的非正常重组,损伤其迁移能力和相关的免疫学功能。

总之,本研究发现 TGF- $\beta$ 1 以浓度依赖的方式影响 mDCs 的细胞骨架 F-actin 结构及其部分结合蛋白的表达,进而损伤其迁移能力和免疫学功能,这可能是肿瘤免疫逃逸机制的一个方面,提示在临床上施行基于 DCs 的抗肿瘤免疫治疗时,需以适当的方式阻断 TGF- $\beta$ 1 的信号转导通路,这对进一步深入理解 DCs 的生物学行为和提高基于 DCs 的抗肿瘤免疫治疗的临床效率来说具有重要意义。

## 参 考 文 献

- [1] Steinman RM. Decisions about dendritic cells: past, present, and future[J]. *Annu Rev Immunol*, 2012, 30: 1-22.
- [2] Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine[J]. *Nature*, 2007, 449(7161): 419-426.
- [3] Tsujitani S, Kakeji Y, Watanabe A, et al. Infiltration of dendritic cells in relation to tumor invasion and lymph node metastasis in human gastric cancer[J]. *Cancer*, 1990, 66(9): 2012-2016.
- [4] Schreiber RD, Old LJ, Smyth M J. Cancer immunoeediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion[J]. *Science*, 2011, 331(6024): 1565-1570.
- [5] Gabrilovich D. Mechanisms and functional significance of tumour-induced dendritic-cell defects[J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4(12): 941-952.
- [6] Zeng Z, Xu X, Zhang Y, et al. Tumor-derived factors impaired motility and immune functions of dendritic cells through derangement of biophysical characteristics and reorganization of cytoskeleton[J]. *Cell Motil Cytoskeleton*, 2007, 64(3): 186-198.
- [7] Zeng Z, Yao W, Xu X, et al. Hepatocellular carcinoma cells deteriorate the biophysical properties of dendritic cells[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2009, 55(1): 33-43.
- [8] Xu X, Zeng Z, Yao W, et al. Biomechanical alterations of dendritic cells by co-culturing with K562 CML cells and their potential role in immune escape[J]. *J Biomech*, 2010, 43(12): 2339-2347.
- [9] 曾柱, 龙金华, 陈琳. 肝癌细胞微环境对不同分化阶段树突状细胞功能状态的影响[J]. *重庆医科大学学报*, 2010, 35(12): 1773-1778.
- [10] Ikushima H, Miyazono K. TGF $\beta$  signalling: a complex web in cancer progression[J]. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10(6): 415-424.
- [11] Belz GT, Nutt SL. Transcriptional programming of the dendritic cell network[J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(2): 101-113.
- [12] Weber F, Byrne SN, Le S, et al. Transforming growth factor- $\beta$ 1 immobilises dendritic cells within skin tumours and facilitates tumour escape from the immune system[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2005, 54(9): 898-906.
- [13] Sere K, Felker P, Hieronymus T, et al. TGF $\beta$ 1 microenvironment determines dendritic cell development[J]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(3): e23083.
- [14] Javelaud D, Alexaki VI, Denmler S, et al. TGF- $\beta$ /SMAD/GLI2 signaling axis in cancer progression and metastasis[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(17): 5606-5610.
- [15] Samarakoon R, Overstreet JM, Higgins PJ. TGF- $\beta$  signaling in tissue fibrosis: redox controls, target genes and therapeutic opportunities[J]. *Cell Signal*, 2013, 25(1): 264-268.
- [16] Yamashiro S. Functions of fascin in dendritic cells[J]. *Crit Rev Immunol*, 2012, 32(1): 11-21.
- [17] Yamakita Y, Matsumura F, Lipscomb MW, et al. Fascin1 promotes cell migration of mature dendritic cells[J]. *J Immunol*, 2011, 186(5): 2850-2859.
- [18] Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells[J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(4): 265-277.
- [19] Elam WA, Kang H, De la Cruz EM. Biophysics of actin filament severing by cofilin[J]. *FEBS Lett*, 2013, 587(8): 1215-1219.
- [20] Thirion AC, Speight P, Zulys M, et al. Hyperosmotic stress induces Rho/Rho kinase/LIM kinase-mediated cofilin phosphorylation in tubular cells; key role in the osmotically triggered F-actin response[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2009, 296(3): C463-C475.

(责任编辑:冉明会)