(*1. School of Basic Medical Sciences*; *Key Laboratory of Infectious Immune and Antibody Engineering of Guizhou Province*, *Guizhou Medical University*, *Guiyang 550025*, *China*; *2. School of Biology and Engineering* (*School of Modern Industry for Health and Medicine*); *Immune Cells and Antibody Engineering Research Center in University of Guizhou Province*; *Key Laboratory of Biology and Medical Engineering*, *Guizhou Medical University*, *Guiyang 550025*, *China*; *3. Department of Interventional Radiology*, *Affiliated Hospital of Guizhou Medical University*, *Guiyang 550004*, *China*; *4. Department of Medical Informatics*, *School of Big Health*; *Bioinformatics and Biomedical Big Data Mining Laboratory*, *Guizhou Medical University*, *Guiyang 550025*, *China*; *5. Department of Head and Neck Oncology*, *Affiliated Tumor Hospital of Guizhou Medical University*, *Guiyang 550000*, *China*)

Abstract: **Objective** To explore the differential expression of the key microfilament cytoskeleton-binding proteins in immature dendritic cells (imDCs) during antigen phagocytosis. **Methods** Monocytes (MOs) were isolated from peripheral blood of healthy individuals and cultured with recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor (rhGM-CSF) and recombinant human interleukin-4 (rhIL-4) for 6 days to obtain imDCs. ImDCs were co-cultured with low molecular weight (40 kDa) and high molecular weight (150 kDa) dextrans for 1, 3 and 6 hours, respectively. Flow cytometry was used to detect the percentage of imDCs phagocytosing dextran and the expression of immunophenotype molecules. The localization of filamentous actin (F-actin), PFN1, WASP, and α-actinin in cells were observed by immunofluorescence imaging. The differential expression of MCBPs at the mRNA and protein levels were respectively detected by q-PCR and Western blotting. Finally, the MCBPs with the highest component coefficients were identified based on the stepwise regression and principal component analysis method in systems biology algorithms. **Results** During the process of antigen phagocytosis, imDCs phagocytized low molecular weight antigens at a faster rate, with a phagocytic duration of approximately three hours. Their cell phenotypes and morphology gradually differentiated into mDCs, and F-actin remodeling was occurred significantly. The expression of MCBPs such as PFN1, CDM, WASP, CAPZB, Filamin A, α-actinin were downregulated, while the expression of WAVE1, Arp2/3 complex, and Fascin were upregulated. The mRNA expression of signaling protein Rac1 was upregulated, while the mRNA expressions of CDC42 and RhoA were downregulated. The immunofluorescence results showed that PFN1, WASP, and α-actinin were transposed during the antigen phagocytosis process of imDCs. The results of stepwise regression and principal component analysis showed that PFN1 had the highest component coefficient. **Conclusions** PFN1 may be a key MCBPs involved in the process of antigen phagocytosis of imDCs, which is of great significance for further understanding the relationship between changes in the cytoskeleton structure of imDCs and their immunological functions.

Key words: immature dendritic cells; phagocytosis; microfilament cytoskeleton; microfilament cytoskeleton-binding proteins; systems biology

树突状细胞(dendritic cells, DCs)是目前所知功能最为强大的抗原提呈细胞(antigen-presenting cells, APCs),是连接天然免疫应答和适应性免疫应答的桥梁。从功能上来说,DCs 分为未成熟树突状细胞(immature dendritic cells, imDCs)和成熟树突状细胞(mature dendritic cells, mDCs)两个分化阶段[1-2]。imDCs 的主要功能是在外周组织中识别、摄取和加工抗原。当 imDCs 获取抗原后,通过血管或淋巴管向二级淋巴组织迁移,并逐步分化为 mDCs,在淋巴结内向幼稚 T 淋巴细胞呈递抗原并诱导其发生特异性增殖,进而启动适应性免疫应答[3-5]。

研究表明,imDCs 在捕获抗原时,细胞膜的变形与细胞骨架重塑密切相关,在该过程中产生的力驱动膜的融合和断裂,进而发挥抗原吞噬功能[6]。一般来说,细胞骨架主要由微丝、微管和中间纤维组成,参与细胞吞噬、细胞运动、维持细胞形态以及力学信号传导等生物学过程,是真核细胞中功能最广泛、组成最复杂的结构[7]。其中,微丝具有高度的

可塑性,是由球状肌动蛋白(globular actin, G-actin)单体聚合而成的丝状肌动蛋白(filamentous actin, F-actin)[8-9]。现已知道,微丝骨架的结构和构象主要受微丝骨架结合蛋白(microfilament cytoskeleton binding proteins, MCBPs)的精密调控而发挥相应的生物学功能。根据 MCBPs 与 G-actin 或 F-actin 结合的作用方式及发挥的功能不同,可将 MCBPs 分为成核蛋白、单体稳定蛋白、加帽蛋白、交联蛋白、解聚蛋白和膜结合蛋白六大类,共 100 多个家族成员。但是,MCBPs 是如何影响 imDCs 发挥抗原吞噬的过程及其关键的 MCBPs 目前尚不清楚[10-11]。

本课题组前期研究发现,不同分化阶段 DCs 中 MCBPs 的表达具有显著差异,且同一家族不同成员的表达也表现出较大的差异。其中,imDCs 向 mDCs 分化的过程中,促聚蛋白 1(profilin1, PFN1)、威奥综合征蛋白(Wiskott Aldrich syndrome protein, WASP)和 WASP 家族脯氨酸同源蛋白 1(WASP family verprolin homologous protein1, WAVE1)、加帽蛋白(capping protein)、成束蛋白(Fascin)和 α-辅肌动蛋白(α-actinin)的表达上调;钙调素结合蛋白(caldesmon, CDM)、丝切蛋白(cofilin)和血管扩张刺激磷蛋白(vasodilator-stimulated phosphoprotein, VASP)、细丝蛋白 A(Filamin A)的表达下调[12-13]。因此,MCBPs 在 DCs 的分化过程中具有重要的作用。为了更进一步探索 MCBPs 与 DCs 的免疫功能之间的关系,本文使用右旋糖酐模拟抗原分子,建立 imDCs 摄取抗原的细胞模型,研究 imDCs 吞噬不同大小抗原的时长和差异,观察吞噬状态下 imDCs 的免疫表型和细胞形态,检测主要 MCBPs 的 mRNA 和蛋白表达差异。本文旨在探索 imDCs 吞噬抗原过程中的关键 MCBPs,研究结果对于深入理解 imDCs 免疫学功能及分子机制具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 抗体与试剂

抗体 PFN1、CDM、VASP、WAVE1、Cofilin、CAPZB、Fascin、α-actinin 和 Filamin A 购自英国 Abcam,GAPDH 抗体购自北京博奥森生物技术有限公司,WASP 抗体购自英国 Affinity 公司,胎牛血清、RPMI-1640 购自美国 Gibco 公司,重组人粒-巨噬细胞集落刺激因子(recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor, rhGM-CSF)、重组人白介素-4(recombinant human interleukin-4, rhIL-4)购自美国 Perprotech 公司,不同分子量的异硫氰酸荧光素-葡聚糖(FITC-Dextrans,分子量 MW40000 和 MW150000,简称 FD40 和 FD150)购自德国 Sigma 公司,人外周血淋巴细胞分离液、罗丹明-鬼笔环肽购自北京索莱宝科技有限公司,BCA 蛋白质定量试剂盒购自上海雅酶生物医药科技有限公司,0.45 μm PVDF 膜购自美国 Millipore 公司,逆转录试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司,qPCR 特异性引物购自生工生物工程(上海)股份有限公司,新鲜健康人外周血由贵州省血液中心提供,志愿者知情同意,每次试验均用同型血液。

1.2 外周血来源 DCs 的诱导培养和鉴定

采用淋巴细胞分离液从新鲜健康人外周血中获取单核细胞(monocytes, MOs);用含 5% FBS 的 RPMI-1640 培养基重悬,放入 37 ℃、5% CO_2 细胞培养箱中培养 2 h,弃掉非贴壁细胞,获得贴壁的 MOs。MOs 采用含 GM-CSF、IL-4、10% FBS 的 RPMI-1640 培养 5~6 d,获得 imDCs。

1.3 吞噬实验

收集 imDCs 并调整细胞密度为 2×10^6 个/mL,分别加入终浓度为 500 μg/mL 的 FD40 和 FD150,分别培养 1、3、6 h,以正常培养的 imDCs 作为阴性对照。采用流式细胞仪检测 imDCs 吞噬 FD40 和 FD150 的阳性细胞率;将 imDCs 与 FD40 共培养 3 h,流式细胞仪检测 imDCs 的免疫表型分子表达情况。

1.4 免疫荧光检测

1.4.1 *微丝结构观察* 收集实验组和对照组细胞,常温固定 15 min,PBS 洗 3 次,0.5% Triton X-100 通透处理 30 min,PBS 洗 3 次;罗丹明-鬼笔环肽避光染色 30 min,PBS 洗 3 次;DAPI 避光复染,PBS 洗 3 次,滴加适量抗荧光淬灭剂,荧光显微镜下拍摄 F-actin 和细胞形态。

1.4.2 *微丝结合蛋白 PFN1、WASP 和 α-actinin 的定位观察* 细胞固定及通透处理后,使用 1% BSA 于 37 ℃条件下封闭 1 h,加入工作浓度的免疫荧光一抗 4 ℃孵育过夜,PBS 洗 3 次;加入工作浓度的荧光二抗常温孵育 2 h,PBS 洗涤 3 次。

DAPI 避光复染,PBS 洗涤 3 次,滴加适量抗荧光淬灭剂,荧光显微镜下观察 MCBPs 的定位情况。

1.5 MCBPs 的 mRNA 和蛋白表达检测

收集细胞,使用酚/氯仿法抽提细胞总 RNA,逆转录获取 cDNA,qPCR 检测 imDCs 和 imDCs-FD40 中 MCBPs 的 mRNA 表达水平。

取适量 RIPA 混匀细胞沉淀,冰上裂解,4 ℃、12 000 r/min 离心 15 min,收集上清液;使用 SDS-PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳,一抗 4 ℃孵育过夜,二抗室温孵育 2 h;使用 ECL 超敏化学发光液浸泡条带,化学发光仪下曝光,检测 imDCs 和 imDCs-FD40 中 MCBPs 的蛋白表达水平。

1.6 数据处理

数据采用 Prism 8 统计分析软件进行处理,用 t 检验对不同数据之间进行统计分析,$P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

1.7 系统生物学分析

利用系统生物学中逐步回归和主成分分析法,分析本研究结果中在基因水平和蛋白水平表达趋势都一致的 MCBPs,满足 $|\log 2FC| \geqslant 1.5$ 且 $P \leqslant 0.05$,以蛋白表达量作为变量进行逐步回归分析,以贡献最大的蛋白所对应的回归方程为基础,逐步引入其余蛋白。其中,保留在模型中的蛋白表示既是重要的,又无严重多重共线性。为确保挖掘关键蛋白的准确性,联合主成分分析法,排列每个蛋白的贡献率,成分系数越大,表示贡献率越大[15],提示该蛋白可能是关键 MCBPs。

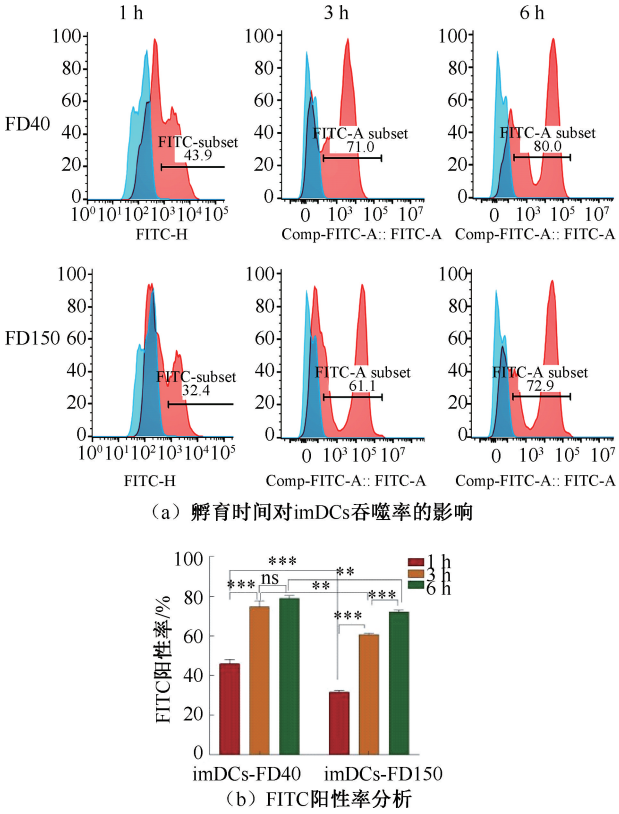
2 结果

2.1 imDCs 对不同大小分子量抗原的吞噬差异

imDCs 分别与 FD40 和 FD150 共培养后,吞噬右旋糖酐的细胞占比随着孵育时间的延长逐步增加。但是,imDCs-FD40 组在 3 h 和 6 h 的差异无统计学意义($P>0.05$)。此外,相同孵育时长情况下,imDCs-FD40 组的 FITC 阳性率大于 imDCs-FD150 组(见图 1)。

2.2 imDCs 吞噬抗原后免疫表型分子检测

通过流式细胞仪检测 imDCs 吞噬抗原后 3 h 的免疫表型分子,结果显示,CD86、HLA-DR 的表达上升,CD80、CD1a、CCR5 和 CD11c 的表达降低,CD40 和 CCR7 的差异无统计学意义(见图 2)。



（a）孵育时间对imDCs吞噬率的影响

（b）FITC阳性率分析

图 1 imDCs 对不同分子大小抗原的吞噬差异

Fig. 1 Differences in phagocytosis of imDCs to antigens with different molecular sizes (a) Effects of incubation times on the phagocytosis ratio imDCs, (b) Statistical analysis of FITC positivity rate

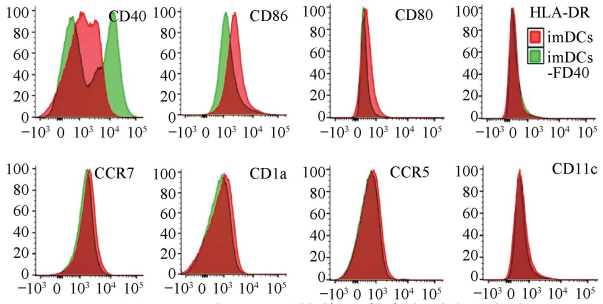
注:$^{**}P<0.01$,$^{***}P<0.001$,$^{ns}P>0.05$。

2.3 imDCs 吞噬 40 kDa 抗原后微丝骨架结构的观察

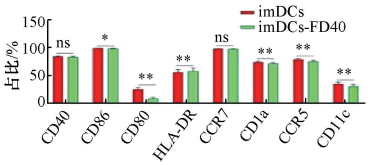
imDCs 在吞噬 40 kDa 抗原后,微丝骨架明显发生重塑,主要表现在微丝大多分布在细胞两极。同时,细胞形态也发生明显改变,主要表现在抗原吞噬功能未启动的 imDCs 形态呈球形,质膜表面有多而短的突起呈触须状,而发生抗原吞噬的 imDCs 则呈延长轴极化的椭球形,质膜表面的突起少而长(见图 3)。

2.4 imDCs 吞噬抗原过程中 MCBPs 的 mRNA 和蛋白的表达变化

通过基因转录水平的分析,与 imDCs 组相比,imDCs-FD40 组的单体稳定蛋白 PFN1 和 CDM 的表达下调;解聚蛋白中 WASP 和 VASP 的表达下调,WAVE1 的表达上调,Cofilin 的表达差异无统计学意



（a）imDCs与FD40共培养3 h免疫表型分子表达

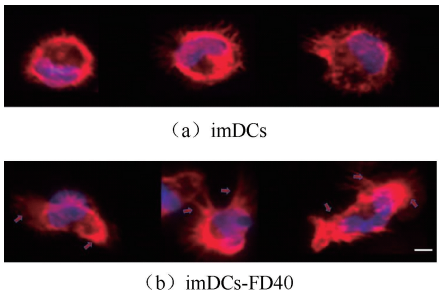


（b）各分子表达统计

图 2　imDCs 吞噬抗原前后免疫表型分子的表达情况

Fig. 2　Expression of immunophenotype molecules on imDCs before and after antigen phagocytosis　(a) Expression of immunophenotype molecules co-cultured with FD40 for 3 hours, (b) Statistics for expression of immunophenotype molecules

义;加帽蛋白 CAPZB 的表达下调;成核蛋白 Arp2/3 复合体的表达上调;交联蛋白 Fascin 的表达上调,α-actinin 和 Filamin A 的表达下调;信号蛋白 Rac1



（a）imDCs

（b）imDCs-FD40

图 3　imDCs 吞噬抗原前后的微丝骨架结构

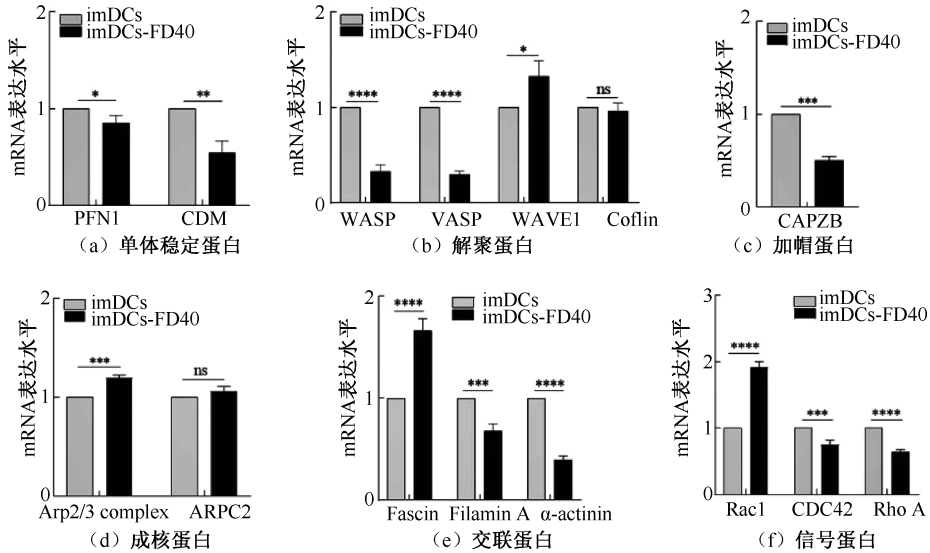
Fig. 3　Microfilament cytoskeleton structure of imDCs before and after antigen phagocytosis

(a) imDCs, (b) imDCs-FD40

注:红色为微丝,蓝色为细胞核;红色箭头指示 F-actin;标尺为 5 μm。

的表达显著上调,Cdc42 和 RhoA 的表达显著下调(见图 4)。

为了验证 qPCR 的研究结果,从蛋白水平分析有显著性差异的 MCBPs,结果显示 PFN1、CDM、WASP、WAVE1、CAPZB、Arp2/3 复合体、Fascin、α-actinin 和 Filamin A 的蛋白表达趋势与基因水平的结果一致(见图 5)。



（a）单体稳定蛋白　（b）解聚蛋白　（c）加帽蛋白

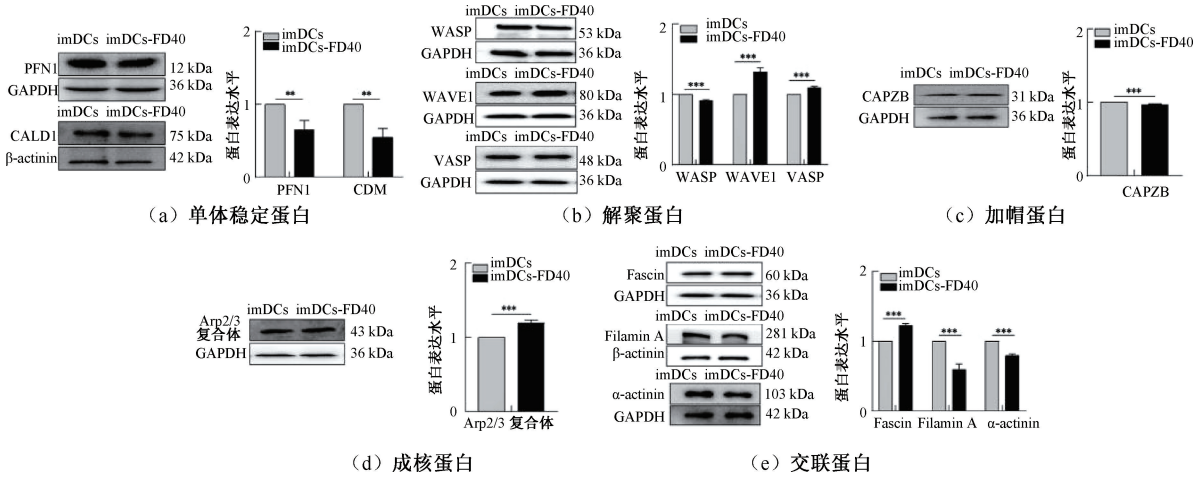
（d）成核蛋白　（e）交联蛋白　（f）信号蛋白

图 4　imDCs 吞噬过程中 MCBPs 的 mRNA 表达水平

Fig. 4　The mRNA expression levels of microfilament cytoskeleton-binding proteins in imDCs during phagocytosis

(a) Monomeric-stablizing proteins, (b) Depolymer proteins, (c) Capping protein, (d) Nucleating proteins, (e) Cross-linked proteins, (f) Signaling proteins

注:$^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$, $^{****}P<0.0001$, $^{ns}P>0.05$。



（a）单体稳定蛋白　（b）解聚蛋白　（c）加帽蛋白

（d）成核蛋白　（e）交联蛋白

图 5　imDCs 吞噬过程中 MCBPs 蛋白表达水平

Fig. 5　Protein expression levels of microfilament cytoskeleton-binding proteins in imDCs during phagocytosis

（a）Monomeric-stablizing proteins,（b）Depolymer proteins,（c）Capping protein,（d）Nucleating proteins,（e）Cross-linked proteins,（f）Signaling proteins

注：$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$。

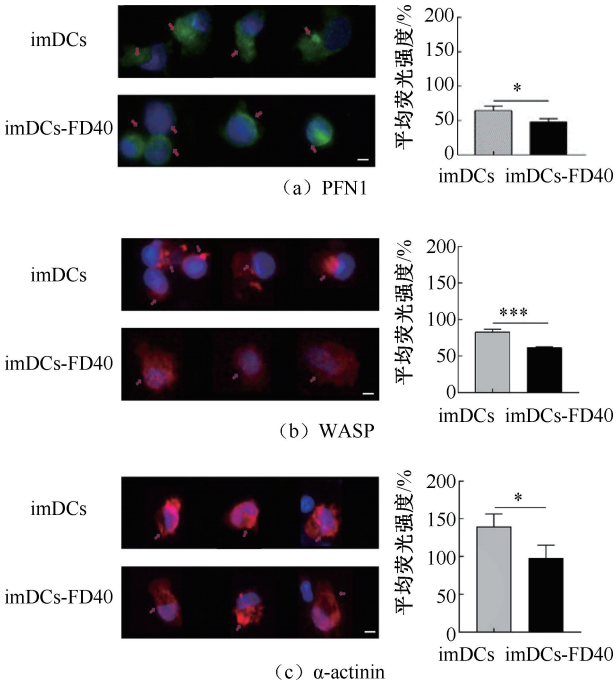
2.5　PFN1、WASP、α-actinin 的免疫荧光分析

将前期研究的 imDCs 经 LPS、IFNγ 诱导分化成 mDCs 后 MCBPs 的表达结果[14-15]与本实验结果进行比较分析，假设随细胞功能状态改变而表达水平改变的蛋白可能是影响该功能的重要蛋白，由此筛选出 PFN1、WASP、CAPZB 和 α-actinin。其中，CAPZB 目前已被证明在 DCs 吞噬过程中具有重要作用[20]。

基于以上的结果，使用细胞免疫荧光实验观察 PFN1、WASP、α-actinin 在细胞中的定位及表达变化。结果显示，imDCs 吞噬 40 kDa 的抗原 3 h，PFN1、WASP、α-actinin 均表达于细胞质。其中，PFN1 由聚集在核的一侧转移到核周围；WASP 从聚集在核一侧转向分散在胞质中；α-actinin 从聚集在核周围变成聚集在核一侧的细胞质中。此外，三者在细胞中的平均荧光强度统计分析结果与 qPCR 和 Western blotting 检测结果一致（见图 6）。

2.6　系统生物学分析

在 SPSS 25.0 中，逐步回归分析最终建立的模型中引入 9 个变量：PFN1、CDM、WASP、WAVE1、CAPZB、Arp2/3 复合体、Fascin、α-actinin 和 Filamin A。由主成分分析筛选结果可知 PFN1 的成分系数最大，推测 PFN1 可能在 imDCs 吞噬功能中起关键作用（见表 1）。



（a）PFN1　（b）WASP　（c）α-actinin

图 6　不同蛋白在 imDCs 吞噬前后的细胞定位和表达量

Fig. 6　Localization and expression levels of different proteins in imDCs before and after phagocytosis

（a）PFN1,（b）WASP,（c）α-actinin

注：图 6（a）、（b）、（c）中红色箭头分别指示 PFN1、WASP、α-actinin。红色/绿色为目标蛋白，蓝色为细胞核。$^{*}P<0.05$，$^{***}P<0.01$，标尺为 5 μm。

表 1 系统生物学分析

Tab. 1 Systematic biology analysis

编号	参数	Pearson 相关性分析	主成分分析
VAR00011	PFN1	−0.945	−0.958
VAR00012	CDM	−0.821	0.812
VAR00013	WASP	−0.571	0.587
VAR00014	WAVE1	0.877	−0.892
VAR00015	CAPZB	−0.512	0.580
VAR00016	Arp2/3 复合体	0.602	0.574
VAR00017	Fascin	0.763	−0.730
VAR00018	α-actinin	−0.768	0.759
VAR00019	Filamin A	−0.413	0.444
VAR00020	因变量	1.000	0.995

3 讨论

在免疫应答过程中,外周血来源的 imDCs 吞噬抗原是适应性免疫应答的重要环节。目前已知,MCBPs 调控 F-actin 的结构并参与该过程[14-16]。本研究主要分析 imDCs 吞噬高分子量和低分子量抗原之间的差异,吞噬低分子量抗原前后免疫表型分子、F-actin、MCBPs 的 mRNA 和蛋白水平的表达差异,旨在探索 imDCs 吞噬抗原的部分特征及影响 imDCs 吞噬功能的关键 MCBPs。

目前,细胞吞噬抗原达到饱和的具体时间的研究很少。本研究使用右旋糖酐模拟抗原,将 imDCs 与低分子右旋糖酐(40 kDa)和高分子右旋糖酐(150 kDa)分别共培养 1、3 和 6 h,分析吞噬右旋糖酐的细胞比率,判断 imDCs 吞噬抗原的时长。本实验结果表明,与 FD150 相比,imDCs 对 FD40 的吞噬速度较快。由此推测,细胞对高分子抗原的内吞需要生成更多的细胞质膜来包被,故吞噬达到饱和的时长要比低分子的长,APCs 有充足的时间与 T 细胞和 B 细胞接触,这可能有利于免疫反应[29]。此外,imDCs 与 FD40 孵育 3 h 和 6 h 的数据结果无统计学意义,表明 imDCs 对 40 kDa 抗原的吞噬作用时间持续约 3 h。因此,本文后续实验以 imDCs 与 40 kDa 的抗原共培养 3 h 为研究对象。

当 imDCs 与 40 kDa 右旋糖酐孵育 3 h,免疫表型分子 CD86 和 HLA-DR 的表达上升,CD80、CD1a、CCR5 和 CD11c 的表达下调。其中,免疫表型分子 CD80、CD86、CD40 和 CD1a 表达越高,说明 DCs 刺激幼稚 T 细胞的能力越强。此外,CCR5 表达下调是 imDCs 向 mDCs 分化的特征之一,CD11c 表达下调提示细胞的迁移能力提高。由此推测,吞噬抗原的 imDCs 处于 mDCs 分化的早期阶段[4]。

Rac1、Cdc42 和 RhoA 是 Rho 鸟苷三磷酸酶(Rho-family GTPases, Rho-GTPases)家族的成员,在细胞的吞噬作用中主要调节细胞骨架动力学[17]。研究表明,免疫球蛋白 G 的 Fcγ 受体(immune globulin G Fcγ receptor, FcγR)介导的吞噬受 Rac1 和 Cdc42 的调控,αMβ2 整合素介导的吞噬受 RhoA 调控[17-18]。因此,DCs 成熟过程中,Cdc42 表达下调,而 Rac1 和 RhoA 等上调[19]。本研究结果显示 imDCs 吞噬抗原后逐渐向 mDCs 分化,Cdc42 的 mRNA 下调,Rac1 的 mRNA 上调,提示 imDCs 对低分子抗原的吞噬作用可能由 FcγR 介导。

当 imDCs 吞噬抗原后,其细胞形态发生明显改变且微丝骨架明显重排,细胞的形态特征说明 imDCs 吞噬抗原后开始向 mDCs 分化。其中,微丝结合蛋白 PFN1、WASP、CAPZB 和 α-actinin 等表达具有显著的差异,且 PFN1、WASP 和 α-actinin 在 imDCs 吞噬抗原前后发生转位。现已知 PFN1 与 G-actin 结合可调节 F-actin 的聚合,在细胞运动和侵袭中起着关键作用[21-22]。同时,PFN1 与 Formin、VASP 和 Cdc42 激活的 WASP 相互作用,产生负载 ATP 的 G-actin(ATP-G-actin),为细胞提供运动动力,还能将 G-actin 有效地组装到 F-actin 的末端,促进 F-actin 的延伸。本研究结果显示 PFN1 的表达下降,说明细胞处于吞噬状态下的运动能力可能降低,同时微丝在不停地延伸为细胞行使吞噬功能,在细胞中的定位发生变化可能与细胞加工处理抗原有关[11,23-24]。此外,WASP 与 F-actin 上的 Arp2/3 复合体相互作用可促进 F-actin 分支的形成。有研究显示,缺乏 WASP 的 DCs 的趋化迁移减弱,足体黏附结构的形成也减少。因此,WASP 与细胞迁移具有直接关系,但其在 DCs 吞噬功能中的作用尚不清楚。本研究发现 WASP 的表达下调、细胞定位发生改变,这可能提示 DCs 在抗原吞噬作用发生过程中趋化迁移变弱,与细胞的足体结构减少有关[25-27]。CAPZB 与微丝的生长端结合可阻止微丝解聚或过度组装,调节微丝的动力学性质。在胚胎发育过程中,CAPZB 的表达很重要,可调节细胞行为和组织形态发生。目前,CAPZB 已被证明在受体

介导的 DCs 胞吞中发挥关键作用,本研究中 CAPZB 的表达下调可能与细胞形态和功能改变密切相关[20,28-29]。α-actinin 的功能是其两端与两条 F-actin 结合,使得 F-actin 与 F-actin 连接成网状,发挥稳定分支肌动蛋白网络的作用,在调节细胞运动和细胞形状中发挥重要作用。本文发现 α-actinin 的表达下调,推测这是 DCs 形态改变的直接原因[9,30]。

最后,本研究使用逐步回归分析联合主成分分析方法对 9 个 MCBPS 的蛋白表达量进行分析,结果表明 PFN1 的成分系数最大。因此,该结果可支持 PFN1 可能是影响 imDCs 吞噬的关键 MCBPs。由此推测,PFN1 与 WASP、CAPZB 和 α-actinin 的协同作用可能是 imDCs 识别抗原后,激活由 Rac1 和 Cdc42 调控的 FcγR 介导的吞噬作用,并将信号传递给下游的细胞骨架系统;其中,Cdc42 的表达下调使得 PFN1 与激活的 WASP 相互作用减少,导致 ATP-G-actin 的产生减少,细胞的运动能力减弱,这种情况可能有利于细胞在有限空间内吞噬和加工处理抗原。此外,CAPZB 和 α-actinin 的表达降低与微丝重塑密切相关,这有利于微丝保持高度的可塑性,使细胞持续地补充质膜结构,用于抵消吞噬泡所消耗的质膜结构。

综上所述,细胞通过 Rho A 控制 PFN1 与 G-actin 结合,PFN1 和 WASP 直接作用两个途径调控微丝骨架,从而在 imDCs 的抗原吞噬过程中发挥作用;而 CAPZB 与 α-actinin 协同调控维持细胞质膜的动态平衡,并重塑细胞的形态结构。

4 结论

在 imDCs 吞噬抗原过程中,imDC 吞噬低分子抗原颗粒的速度较快,持续约 3 h 达到饱和状态;imDCs 吞噬抗原过程中微丝骨架重排,多种 MCBPs 的表达水平发生改变,其中 PFN1 可能是影响 imDCs 吞噬低分子抗原的关键 MCBPs,而 WASP、CAPZB 和 α-actinin 可能是 PFN1 的协同作用蛋白。

利益冲突声明:无。

作者贡献声明:曾柱、龙金华负责提出论文研究目的和思路;张帅、徐朴、吴翠芳、王赟、叶远浓、胡祖权负责论文的修改;李道红负责论文的撰写和修改;罗代琴、曾宪琳负责参考文献查阅。

参考文献:

[1] KANG BH, LEE HK. Dendritic cell-based immunotherapy in hot and cold tumors [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(13): 7325.

[2] 余鹏, 曾柱. 树突状细胞的生物力学与力学生物学研究进展 [J]. 医用生物力学, 2023, 38(3): 451-457.
YU P, ZENG Z. Progress in biomechanics and mechanobiology of dendritic cells [J]. J Med Biomech, 2023, 38(3): 451-457.

[3] KIM MK, KIM J. Properties of immature and mature dendritic cells: Phenotype, morphology, phagocytosis, and migration [J]. RSC Adv, 2019, 9(20): 11230-11238.

[4] HILLIGAN KL, RONCHESE F. Antigen presentation by dendritic cells and their instruction of $CD4^+$ T helper cell responses [J]. Cell Mol Immunol, 2020, 17(6): 587-599.

[5] LIU J, ZHANG X, CHENG Y, *et al*. Dendritic cell migration in inflammation and immunity [J]. Cell Mol Immunol, 2021, 18(11): 2461-2471.

[6] MYLVAGANAM S, FREEMAN SA, GRINSTEIN S. The cytoskeleton in phagocytosis and micropinocytosis [J]. Curr Biol, 2021, 31(10): R619-R632.

[7] 王欢欢, 曾柱, 胡祖权, 等. ω-3 多不饱和脂肪酸对树突状细胞生物物理学特性及迁移能力的影响 [J]. 医用生物力学, 2022, 37(3): 433-440.
WANG HH, ZENG Z, HU ZQ, *et al*. Effects of ω-3 polyunsaturated fatty acids on biophysical properties and migration of dendritic cells [J]. J Med Biomech, 2022, 37(3): 433-440.

[8] POLLARD TD. Actin and actin-binding proteins [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2016, 8(8): a018226.

[9] BURTON KM, JOHNSON KM, KRUEGER EW, *et al*. Distinct forms of the actin cross-linking protein α-actinin support macropinosome internalization and trafficking [J]. Mol Biol Cell, 2021, 32(15): 1393-1407.

[10] IZDEBSKA M, ZIELIŃSKA W, HAASWINIEWSKA M, *et al*. Involvement of actin and actin-binding proteins in carcinogenesis [J]. Cells, 2020, 9(10): 2245.

[11] BLAINE J, DYLEWSKI J. Regulation of the actin cytoskeleton in podocytes [J]. Cells, 2020, 9(7): 1700.

[12] 孙见飞, 胡祖权, 龙金华, 等. 不同分化阶段树突状细胞肌动蛋白微丝结合蛋白的表达变化 [J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(1): 166-175.

[13] 王佳, 邱炜, 叶远浓, 等. 树突状细胞分化过程中部分微丝结合蛋白表达差异 [J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(12): 5844-5850.

[14] PARK JS, BURCKHARDT CJ, LAZCANO R, *et al*.

Mechanical regulation of glycolysis via cytoskeleton architecture [J]. Nature, 2020, 578(7796): 621-626.

[15] ROY S, ESMAEILNIAKOOSHKGHAZI A, PATNAIK S, *et al*. Villin-1 and gelsolin regulate changes in actin dynamics that affect cell survival signaling pathways and intestinal inflammation [J]. Gastroenterology, 2018, 154(5): 1405-1420. e2.

[16] TARAU IS, BERLIN A, CURCIO CA, *et al*. The Cytoskeleton of the retinal pigment epithelium: From normal aging to age-related macular degeneration [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(14): 3578.

[17] MAO Y, FINNEMANN SC. Regulation of phagocytosis by Rho GTPases [J]. Small GTPases. 2015, 6(2): 89-99.

[18] KIM JG, MOON MY, KIM HJ, *et al*. Ras-related GTPases Rap1 and RhoA collectively induce the phagocytosis of serum-opsonized zymosan particles in macrophages [J]. J Biol Chem, 2012, 287(7): 5145-5155.

[19] GARRETT WS, CHEN LM, KROSCHEWSKI R, *et al*. Developmental control of endocytosis in dendritic cells by Cdc42 [J]. Cell, 2000, 102(3): 325-334.

[20] WANG D, YE Z, WEI W, *et al*. Capping protein regulates endosomal trafficking by controlling F-actin density around endocytic vesicles and recruiting RAB5 effectors [J]. eLife, 2021(10): e65910.

[21] KADIRVEL P, ANISHETTY S. Potential role of salt-bridges in the hinge-like movement of apicomplexa specific β-hairpin of Plasmodium and Toxoplasma profilins: A molecular dynamics simulation study [J]. Cell Biochem, 2018, 119(4): 3683-3696.

[22] ALLEN A, GAU D, ROY P. The role of profilin-1 in cardiovascular diseases [J]. J Cell Sci, 2021, 134(9): jcs249060.

[23] FERRON F, REBOWSKI G, LEE SH, *et al*. Structural basis for the recruitment of profilin-actin complexes during filament elongation by Ena/VASP [J]. EMBO J, 2007, 26(21): 4597-4606.

[24] DI DOMENICO M, JOKWITZ M, WITKE W, *et al*. Specificity and redundancy of profilin 1 and 2 function in brain development and neuronal structure [J]. Cells, 2021, 10(9): 2310.

[25] OLIVEIRA MMS, KUNG SY, MOREAU HD, *et al*. The WASp L272P gain-of-function mutation alters dendritic cell coordination of actin dynamics for migration and adhesion [J]. J Leukoc Biol, 2022, 111(4): 793-803.

[26] MALINOVA D, FRITZSCHE M, NOWOSAD CR, *et al*. WASP-dependent actin cytoskeleton stability at the dendritic cell immunological synapse is required for extensive, functional T cell contacts [J]. J Leukoc Biol, 2016, 99(5): 699-710.

[27] ALEKHINA O, BURSTEIN E, BILLADEAU DD. Cellular functions of WASP family proteins at a glance [J]. J Cell Sci, 2017, 130(14): 2235-2241.

[28] SOLÍS C, RUSSELL B. CapZ integrates several signaling pathways in response to mechanical stiffness [J]. J Gen Physiol, 2019, 151(5): 660-669.

[29] MUKHERJEE K, ISHII K, PILLALAMARRi V, *et al*. Actin capping protein CAPZB regulates cell morphology, differentiation, and neural crest migration in craniofacial morphogenesis [J]. Hum Mol Genet, 2016, 25(7): 1255-1270.

[30] SJÖBLOM B, SALMAZO A, DJINOVIĆ-CARUGO K. Alpha-actinin structure and regulation [J]. Cell Mol Life Sci, 2008, 65(17): 2688-2701.