

文章编号:1004-7220(2009)01-0001-05

· 专家论坛 ·

细胞核结构与力学生物学

李 良^{1,2}, 陈槐卿²

(1. 四川大学华西医院 心血管疾病研究室, 成都 610041; 2. 四川大学华西基础医学与法医学院 生物医学工程研究室, 成都 610041)

摘要: 机体所有的组织都受到由细胞自身和细胞外环境所产生的生物机械力(Biomechanical force)的作用。生物机械力既可诱导细胞增殖,亦可诱导细胞死亡。而生理学水平的生物机械力是器官结构与功能发育和维持的必要条件之一,提高或降低生物机械力则可导致细胞死亡,引发机体一系列病理学变化。在真核细胞中,细胞核含有染色体组,是转录调节场所。细胞核是最大和最硬的细胞器。除了承受通过细胞骨架所传递的来自于细胞外部的生物机械力作用,细胞核内染色质结构的后天性修饰也会改变核的物理性质。在细胞发育、分化、成熟和衰老等基本生命过程中,细胞核的形状和结构组分均会发生变化,从而改变细胞核内基因表达,实现对生物机械力的应答反应。然而,细胞核自身如何感知力学信号并对其发生应答反应,仍不清楚。在这里,我们回顾了当前关于细胞核结构与细胞核力学生物学的相关文献以及它们的研究现状。讨论了细胞核和核结构蛋白的力学研究,诸如,核纤层蛋白(Lamins);细胞内与细胞外的生物机械力对细胞核形状和结构的影响;力诱导的变化如何转变为细胞信号传导和基因转录。但要更深入地了解核细胞核的形状、结构和核材料性质与细胞核力学生物学间的关系,了解生物机械力与基因组相互作用的直接机制,则需要进一步系统地深入地研究。

关键词: 细胞核;核纤层蛋白;基因调节;力学生物学

中图分类号: R318.01 **文献标志码:** A

Nuclear structure and mechanobiology

LI Liang¹, CHEN Huai-qing² (1. Laboratory Cardiovascular diseases, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Institute of Biomedical Engineering, College of Prichinical and Forensic Medicing, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: All tissues in the body are subjected to biomechanical force originating either from tension, created by cells themselves, or from the environment. Biomechanical force not only can induce cell proliferation, but also induce cell death. While biomechanical force at physiological levels is essential to develop and maintain organic structure and function, elevated or decreased mechanical stress may result in cell death leading to pathological conditions. In eukaryotic cells, the nucleus contains the genome and is the site of transcriptional regulation. The nucleus is the largest and stiffest organelle in the cell. In addition to these external forces transmitted through the cytoskeleton from outside the cell, epigenetic modifications of chromatin structure inside the nucleus could also alter its physical properties. In many fundamental processes including development, differentiation, mature and aging, the cell responds to biomechanical force by altering gene expression within the nucleus and changes in the shape and structural organization of the cell nucleus occur. However, how the nucleus itself senses and responds to such mechanical cues is not well understood. Here we review our current literatures in related to the structure and mechanobiology of cellular nucleus. We also discuss the mechanical studies of the nucleus and nuclear structural proteins, such as lamins and the effect of intra- and extracellular forces on nuclear shape and structure, as well as the effect of these force-induced changes on

收稿日期:2009-02-09; 修回日期:2009-02-16

作者简介:李良(1957-),女,医学学士,生物医学工程学博士。四川大学教授,博士生导师。研究方向:细胞生物力学;力学因素与骨质疏松和老年疾病发病机理相关性的研究。

通讯作者:陈槐卿,教授, E-mail: chq@scu.edu.cn

cell signaling and gene transcription. To achieve a better understanding the relationship between the mechanobiology of cell nucleus and the nuclear material properties, we need to do more research ranging from molecule to tissue.

Key words: Nucleus; lamins; Gene regulation; Mechanobiology

力学应答反应 (Mechanoreponsiveness) 是所有活组织和细胞的一个基本特征。细胞感知生物机械力并对其发生反应的能力在力转导 (mechanotransduction) 和继后组织内环境稳定的维持中具有重要作用^[1,2]。这些生物机械力既可以是细胞外环境加在细胞上的力,如压力、张力和流体切应力,也可以是由于细胞自身对细胞外基质刚度 (stiffness) 变化发生反应所产生的细胞内生物机械力。例如,细胞能够调节细胞内部的刚度以适应细胞外基质刚度的变化,清楚地表明了细胞与环境之间的力学反馈。在很多例子中,力学反应是急性的并且仅可能短暂地影响细胞骨架和局部黏着斑或细胞内信使,如钙浓度。然而,力转导常常涉及到细胞长期的表型改变,最常见的就是生物机械力诱导的基因表达变化。生物机械力能够刺激牵张敏感离子通道 (stretch sensitive ion channels), 改变细胞内离子浓度,产生不同的下游效应,包括活化导致基因转录变化的信号通道。同样,生物机械力也活化整合素和其他的黏着斑蛋白,调节和修饰细胞骨架交联蛋白和肌球蛋白的浓度与构象,或者通过改变肌动蛋白、中间丝和细胞微管结构的构象,对细胞骨架进行重新排序^[3-5],从而直接或间接地影响基因转录。最近,在很多实验中已发现,基因转录既受到细胞骨架活化元素的影响,也受到与细胞核骨架结构相关核蛋白的作用。R-Smad 蛋白通过配体结合的方式与转化生长因子- β 结合并活化,然后与核组织蛋白 (organizational protein) MAN-1 相互作用^[6]。核被膜蛋白 (nuclear envelope proteins) 中的核纤层蛋白 A 和 C 的丢失可导致由 NF- κ B 调节的转录障碍^[5,6]。在细胞核基因转录过程中,除了依赖核纤层蛋白的变化外,还有很多其他的假设机制,将细胞核的形状与细胞的力转导反应联系在一起。目前假设细胞核本身就是一个细胞力感受器。随着细胞核形状的变化,可引起染色质结构和组织构象改变并且直接影响转录调节^[7]。因此,我们回顾了细胞核和核结构蛋白的力学研究,以及生物机械力所诱导的细胞核结构

的改变和在细胞外基质、细胞骨架和细胞核之间力转导的假设机制;讨论生物机械力诱导的细胞核形状和结构变化如何调节细胞信号转导和细胞功能,以适应已变化的细胞外周自然环境。

1 细胞核结构

1.1 细胞核形状和结构 细胞核是机体内很多生物化学反应的场所,如复制、转录、剪接和核蛋白体生物合成等。根据结构与功能,细胞核至少可以分为2个独立的区域,核被 (nuclear envelope) 和核内部 (nuclear interior)。核被由两层磷脂双分子膜 (即,外层核膜和内层核膜;外层核膜与内质网相连续) 和核纤层 (nuclear lamina) 组成,其间镶嵌核孔复合体。在核孔复合体处,内层和外层核膜结合在一起,允许细胞核-细胞浆物质转运^[1,2]。在内层核膜下面是核纤层。核纤层是一层致密的蛋白网状结构,主要由核纤层蛋白和核纤层结合蛋白 (lamin binding proteins) 组成。而核纤层结合蛋白除了可将核纤层蛋白与染色质结构和基因调节元件连接在一起外,还有助于将核纤层与内层核膜连接在一起,稳定核纤层网状结构。最近发现几种蛋白质,如肌动蛋白、微管和中间丝等,可横跨双层核膜并将核膜的结构成分与细胞骨架连接在一起,证实了细胞骨架和细胞核之间存在机械连接。典型的细胞核为球形或椭圆形,是一个能承受连续形状变化的动态细胞器。在整个细胞周期,细胞核的形状经历了巨大的变化,从分裂间期的稳定、清晰的结构到有丝分裂期结构的完全分解、消失细胞核形状变化的程度取决于细胞核膜的组成成分,例如:精子细胞极度伸长的细胞核,中性白细胞的分叶核等,均与核膜中核纤层蛋白 A、C、B 的表达有关^[7]。细胞核内部主要由染色质纤维、核仁、核小体和几种核浆蛋白组成,但目前关于核内部的力学性能仍不清楚。

1.2 核层纤蛋白 核纤层蛋白是核纤层的主要成分,并且形成核内部的稳定结构。核纤层蛋白调节和支持核内特定的蛋白复合物,这些蛋白复合物与

基因表达, DNA 复制、转录和修复、核定位和老化有关^[2-6]。核纤层蛋白是 V 型中间丝蛋白, 可分为 2 种不同的亚型: A 型核纤层蛋白, 是 LMNA 基因选择剪接的全部产物; B 型核纤层蛋白由 2 个单独的基因编码, LMNB1 和 LMNB2。A 型核纤层蛋白属发育性调节蛋白, 最常见的是核纤层蛋白 A 和 C, 在几乎所有已分化细胞的各个水平均可发现这类蛋白, 在骨骼肌和心肌中有较高表达水平^[7,8]。缺乏核纤层蛋白 A 和 C 的小鼠 (Imna^{-/-}) 会发展成严重的肌肉萎缩症并在 6 到 8 周就过早死亡^[10-12]。核纤层蛋白 A 和 C 在核外周的核纤层与核内部之间维持一种动态平衡, 并且它们可以调节核外周和核内部的基因表达, 在维持核形状、核稳定性和结构方面也具有重要作用。研究表明, B 型核纤层蛋白突变可能导致胚胎期死亡^[10,11]。

1.3 核纤层结合蛋白 内层核膜的核纤层蛋白结合蛋白, 如核纤层蛋白 B 受体, 伊默菌素 (emerin), LAP2 α 和 MAN1, 至少含有 1 个跨膜区域和 1 个核纤层蛋白结合区域。核纤层结合蛋白可与很多不同的配体相互作用, 进而在生物化学和生物机械力应答反应中, 为细胞核结构的变化, 提供机会^[8,9]。在体外与体内试验中 Emerin 均可与核纤层蛋白 A/C 结合, 可直接与很多其它的结构蛋白相互作用。因此, 假定由于大量核纤层结合蛋白和它们的相互作用, 在细胞核内构成一个与核纤层蛋白和转录调节相关的、复杂结构的网状系统。最近发现, 传统认为仅作为细胞骨架组分而存在的很多结构蛋白也在细胞核内得到证实, 尤其是核肌动蛋白。虽然目前对核肌动蛋白的功能了解很少, 但一些数据表明核肌动蛋白与转录有关。爪蟾卵母细胞核 (Xenopus oocyte nuclei) 的电子显微镜观察显示, 核肌动蛋白低聚体与核孔和核周围的 Cajal 小体相互作用。这些相互作用提示了核肌动蛋白在结构和力学方面的功能^[9-12]。

1.4 染色质 染色质主要是由 DNA 和组蛋白构成的一种复合物, 是核内部的主要组分。异染色质是一种致密的浓缩染色质形式, 通常反映 DNA、组蛋白和其它 DNA 结合蛋白的修饰, 不具有转录活性。相反, 常染色质是富含更多转录活性的基因, 常位于核内部很多开放的染色质结构中。最近的研究提出, 开放的常染色质结构比致密浓缩的异染色质结

构具有更大的变形性, 因此, 可以设想细胞外部或细胞内部的生物机械力, 可以相对更容易地改编富含基因的区域。

1.5 核仁和核小体 核仁是最大的亚细胞核结构, 也是产生核蛋白体的区域。核仁在核浆中表现出结构和力学的独特性, 它们比周围的核浆具有更高的刚度^[11]。Cajal 小体, 可与核内小分子核糖核蛋白和核仁相互作用, 并且很多刺激因子都可以导致 Cajal 小体在核浆内转移。典型的 PML 小体紧邻转录活性基因并与核结构蛋白结合。在细胞生物机械应力响应中, PML 小体数量和容量均增加, 认为 PML 小体是应力-敏感结构^[11,12]。

2 细胞核的力学特性

2.1 细胞核的力传递 一般而言, 细胞骨架由 3 种独特的组分组成: 肌动蛋白微丝, 微管和中间丝。肌动蛋白为细胞骨架提供了拉伸和收缩力, 而承载压缩性荷载的微管形成一个极化的网络结构, 允许细胞器和蛋白在细胞各处运动。中间丝提供了另外的结构强化作用。这些结构特征共同作用, 提供了细胞的形状和力学完整性, 也是细胞运动性和分裂必不可少的^[1,2]。细胞通过黏着斑附着在细胞外基质上, 黏着斑由跨膜整合素、黏着激酶、踝蛋白和黏着斑蛋白等组成, 允许细胞与细胞外基质的信息交流。因此, 细胞外基质的力学特征, 均可经黏着斑传递到一个细胞的细胞骨架网络结构中。而细胞骨架和核被膜之间的物理连接为传递细胞外和细胞骨架的力到细胞核, 提供了一个结构基础。SUN1 和 SUN2 是含有 Sad1-UNC 同源区域 (SUN) 的内层核膜蛋白, SUN 可延伸进入内层核膜和外层核膜间的核周间隙^[10-12]。在核胞浆侧, SUN 蛋白能与核纤层蛋白、核孔复合物和其它蛋白相互作用。核被膜蛋白 Nesprin 可与跨越核周间隙的 SUN 蛋白结合。近期的研究结果提示, nesprin-1 和 nesprin-2 的突变也可促进 Emery-Dreifuss 肌肉萎缩症发生。虽然一些较小的 nesprin 亚型局限于内层核膜并可直接与核纤层蛋白 A 结合, 但很多较大的 nesprin 亚型, 均为外层核膜蛋白。而 nesprin-3 含有与网格蛋白结合的位点, 可与中间丝稳定地连接。通过 SUN 蛋白和 nesprin 蛋白的综合作用形成的一种蛋白复合物, 被称为 LINC 复合物, 它允许细胞骨架中间丝/肌动蛋白

细胞骨架和核胞浆之间经 A 型核纤层蛋白形成一个物理连接。而内层核膜蛋白 Emerin, 也被认为是 LINC 复合物的有效成分。

2.2 生物机械力对细胞核的影响 施加在细胞表面的力可以导致一系列细胞反应,如细胞骨架组分的重组和细胞核结构远离力学负荷加载区域^[1,2]。虽然细胞核是最硬的细胞器,其刚度为其周围细胞骨架的 2-3 倍,但细胞外生物机械力仍可导致明显的可检测的细胞核变形。采用微量吸管吸引术和原子力显微镜的研究表明,与未受切应力作用的对照组比较,暴露于切应力的细胞核降低了高度,增加了刚度。提示在力学应答反应过程中,细胞主动改变细胞核结构元件以适应力学环境的变化。然而,切应力诱导细胞核结构刚度增大的分子机制仍不清楚。目前,一些有限的证据表明,在细胞外整合素与亚核元件连接在一起的区域,已观察到存在物理连接;细胞外的生物机械力可以跨越细胞骨架传递到细胞核,直接作用于 DNA 元件,导致 DNA 双螺旋结构或高阶染色质结构的构象改变,这样就可导致转录活性的变化。在单分子和高分子水平上的研究发现,有关纯化 DNA、染色质和染色体的实验研究显示生物机械力能够诱导基因转录必需的重建和分解过程发生^[1-2]。

3 核纤层蛋白病

核纤层蛋白病(Laminopathies)是由于编码核纤层蛋白 A 和 C 的 LMNA 基因突变所导致的一类疾病。这组疾病包括 12 种以上的各种病变,如 Emery-Dreifuss 肌肉萎缩症,肢带肌肉营养障碍,扩张性心肌病,家族性部分脂肪代谢障碍和 Hutchinson-Gilford 早老综合症(HGPS)等^[1,2,11-12]。迄今为止,LMNA 基因中的 200 多个突变已得到证实。从核纤层蛋白病患者获得的细胞常显示异常形状的细胞核和染色质结构的改变。目前提出的“结构假说”认为核纤层蛋白 A 和 C 的功能性缺失可能在承载力学应力的组织中,如肌肉内,增加细胞核脆性并导致细胞死亡。Emery-Dreifuss 肌肉萎缩症病人的肌肉活组织检查常常显示出细胞核碎片;lmna^{-/-}小鼠胚胎成纤维细胞的研究表明,这些成纤维细胞胞核的刚度降低,核脆性增加,对力学应变的敏感性增高^[7]。相反,由 LMNA 突变引发的 HGPS,则可导致细胞核

被膜上野生型和突变型核纤层蛋白 A 含量增加,进而导致细胞核刚度增加,顺应性降低。核纤层蛋白不仅仅在核结构和核稳定性方面具有重要作用,而且还可以直接或间接地与转录因子相互作用。通过这些相互作用,核纤层蛋白不仅可以进行转录调节,还可以促进染色质组建和表观遗传(epigenetic)改变。Lmna^{-/-}小鼠胚胎成纤维细胞的增殖发生改变,Lmna^{-/-}小鼠成肌细胞的分化出现障碍。同样,HGPS 的细胞核表现出核内部的染色质结构改变,异染色质浓缩作用丢失和 DNA 损伤堆积。所以,“基因调节假说”提出这些转录因子相互作用的变化与多种疾病的发生有关。重要地是,这种“结构假说”和“基因调节假说”并不互相排斥。事实上,通过细胞核力转导,可以将这两种假说联系在一起。有关 Lmna^{-/-}小鼠胚胎成纤维细胞的实验表明,在力学应变的应答反应中,这些细胞的力敏感基因活性降低,转录活性受损^[7]。因此,核结构和核功能的改变,可促进细胞对力学应变的敏感性增高并导致转录调节变化。此外,由于力学环境可以引导干细胞的分化方向,受损的力转导信号就可能促进在 Lmna^{-/-}小鼠成肌细胞中所见的分化障碍发生^[10-12]。

4 结论

综上所述,在很多生理学和病理学情形中,尤其涉及到力学作用的情形,细胞核形状、结构和/或刚度与细胞功能和表型具有高度的相关性。细胞核被膜的结构和力学生物学性质的改变,影响了细胞核的力学信号传递。核被膜蛋白的突变也可影响转录调节子的连接,进而影响基因表达的模式。然而,虽然已获得大量关于细胞内力承载元件连接性的有价值的信息,并且通过核纤层蛋白病、转基因和 RNA 干扰研究,获得了更多的知识,但关于生物机械力对细胞核力传导的直接作用仍然不十分清楚。生物系统的复杂性,这些蛋白与 DNA 的直接连接关系和我们关于细胞核核被膜蛋白功能和组织结构等知识的局限性,使得要解析这些力传导活动变得更为困难。为了更深入地了解细胞核的力学生物学,了解生物机械力如何通过细胞传递、细胞和组织如何对力学刺激物和周围的物理环境产生应答反应,了解与细胞核膜相关的疾病的发病机制,则需要从分子、细胞和组织水平进行更为广范和深入的研究。

参考文献:

- [1] Amy CR, Jan L, Harald H, *et al.* Towards an integrated understanding of the structure and mechanics of the cell nucleus [J]. *BioEssays*, 2008,30:226-236.
- [2] Kris ND, Alexandre JS, Jan L. Nuclear Shape, Mechanics, and Mechanotransduction [J]. *Circulation Research*. 2008,102:1307-1318.
- [3] Janmey PA, McCulloch CA. Cell mechanics: integrating cell responses to mechanical stimuli [J]. *Annu Rev Biomed Eng*. 2007,9:1-34.
- [4] Johnson CP, Tang HY, Carag C, *et al.* Forced unfolding of proteins within cells [J]. *Science*. 2007,317:663-666.
- [5] Vogel V, Sheetz M. Local force and geometry sensing regulate cell functions [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006,7:265-275.
- [6] Lammerding J, Schulze PC, Takahashi T, *et al.* Lamin A/C deficiency causes defective nuclear mechanics and mechanotransduction [J]. *J Clin Invest*. 2004,113: 370-378.
- [7] Mathur AB, Reichert WM, Truskey GA. Flow and high affinity binding affect the elastic modulus of the nucleus, cell body and the stress fibers of endothelial cells [J]. *Ann Biomed Eng*. 2007,35:1120-1130.
- [8] Hoffmann K, Sperling K, Olins AL, *et al.* The granulocyte nucleus and lamin B receptor: avoiding the ovoid [J]. *Chromosoma*. 2007,116: 227-235.
- [9] Pederson T. As functional nuclear actin comes into view, is it globular, filamentous, or both? [J]. *J Cell Biol*. 2008, 180:1061-1064.
- [10] Wolf CM, Wang L, Alcalai R, *et al.* Lamin A/C haploinsufficiency causes dilated cardiomyopathy and apoptotic triggered cardiac conduction system disease [J]. *J Mol Cell Cardiol*. 2008, 44:293-303.
- [11] Parnaik VK, Manju K. Laminopathies: multiple disorders arising from defects in nuclear architecture [J]. *J Biosci*. 2006,31:405-421.
- [12] Takamori Y, Tamura Y, Kataoka Y, *et al.* Differential expression of nuclear lamin, the major component of nuclear lamina, during neurogenesis in two germinal regions of adult rat brain [J]. *Eur J Neurosci*. 2007,25:1653-1662.

· 信 息 ·

关于肖正康一稿两投问题的处理意见

我刊于2007年6月收到西北工业大学肖正康,魏生民,汪焰恩,陈冰著作的论文《基于流-耦合模型的人工骨力学数值仿真》,作者在稿件中附有作者所在单位的介绍信,证明该稿无一稿两投。本刊在10月份向作者发出录用通知,通知作者该论文已经录用待发表。根据编辑部工作安排,肖正康等的论文定于2008年第一期刊登,并在2007年12月向作者发出清样通知,作者在1个月内没有任何回音。编辑部先后又再3月和4月份向作者挂号发出清样通知,并电话进行了联系,但作者没有给予任何答复。在2008年,经过编辑部审查,发现该文作者在2007年9月向我刊投稿的同时,向《机械科学》杂志投去相同一份稿件,并刊登在2008年该刊物上。

编辑部在2008年8月向肖正康所在单位通报了上述情况,在同年12月收到西北工业大学研究生院答复,他们已经对该同学的一稿两投现象进行了“校内通报批评”处分,谨向西北工业大学研究生院做出的积极回应表示感谢。

根据以上情况,编辑部处理意见如下:从2009年开始今后两年中,我刊将无条件拒绝接收肖正康和该文通讯作者来稿,以示警示。

《医用生物力学》编辑部
2009-02-25