



组装细菌“大杀器” 免疫系统避免“走火”有绝招

本报记者 张佳星

紧张有序的备战场景,每天在人体内的免疫系统轮番上演——

敌人触碰警戒线;警戒系统拉响紧急警报;信号兵就位发出组织防御反击的信号;基地提供物资保障;作战部队全员出动;整装之后,旋即发兵,与敌交火。

近日,《细胞》杂志在线刊登中国工程院院士、南开大学校长曹雪涛团队的重要发现,阐述了“基地”与“作战部队”配合的生命机制。

“就像炮弹上膛后,才给装配引线一样,我们发现免疫细胞迁移出血管时,才会在血管内皮细胞上结合一个特殊分子,进而‘引爆’免疫

细胞杀灭细菌的能力。”论文通讯作者曹雪涛通俗地解释道,机体用这一机制限制免疫细胞只有迁移到感染部位后才能“正当防卫”,以避免免疫系统的“走火”。

该研究的亮点在于揭示了宿主非免疫细胞与固有免疫细胞的相互作用,以调控免疫细胞的激活及成熟。“炎症刚一发生,血管中的血液从轴流的状态减速,免疫细胞在血管的内壁上滚动前进,不断地和血管内皮相互接触,我们首次发现这种接触是有生物学功能的。”论文第一作者、中国医学科学院基础医学研究所免疫治疗研究中心许小青博士接受科技日报记者采访时说。

常小鼠是不同的。”许小青说,有活性的巨噬细胞不仅从血管中流出了,它的活性还降低了。

一个正常携带E-selectin基因的小鼠在受到细菌感染发炎后,血液流动变慢,巨噬细胞打着滚地与血管的内表皮接触,并会从血管壁扩散出来,到达炎症发生地,开始杀灭细菌的工作。

但是一旦缺乏E-selectin的表达,小鼠的表现是抵达“战场”的部队人数少了,杀伤力也不行了。“E-selectin缺失小鼠在细菌感染后,巨噬细胞应该到达脾脏,引起脾脏肿大,但它的脾脏大小没发生任何变化。此外,我们的另一计数实验结果也表明巨噬细胞的数量大幅下降。”许小青说,“我们对于细胞活性分子的检测也证明了巨噬细胞的活化受阻。”

从细胞层面看,E-selectin是活化巨噬细胞必不可少的要素。“已有研究仅知道E-selectin能够介导免疫细胞从血管中游出来,到炎症部位抗菌,但是并不知道这个过程中,它还有活化免疫细胞的功能。”许小青说,课题组想在分子层面证明活化如何进行。

了,没有去刺激巨噬细胞活化。”许小青回忆,但是干扰素 γ 的检测试验却给了他们一个否定的答案——血清中干扰素 γ 的表达非但不

低,反而异常升高。

“我们就觉得很新奇,前端增加,后端减少,那应该是中间有环节出了问题。”许小青说,细胞通路犹如现实中的管路,“截流”或者“淤堵”点的前后就会出现汪洋和干涸的明显对比。“跷跷板”式的浓度揭示出“淤堵”发生在巨噬细胞的内部通路中。

那么究竟是什么造成了这个淤堵? “干扰素 γ 活化巨噬细胞时,会有一个非常特异的通路,叫做JAK-STAT通路。我们发现这个通路的活性下降了。”许小青说,对于这个通路的几个关键活性分子的活检,证实了通路活性下降的猜测。

一条路沿线的关键分子活性都不高,表明这条通路的淤堵发生在源头,就是整个通路从源头没有被激活,而不是在细胞内中断的。“我们据此怀疑是细胞膜上干扰素 γ 的受体出了

问题。”许小青说。

已经有研究证明细胞膜上的受体由两种亚基组成,这两种亚基分别是IFN- γ R1与IFN- γ R2。IFN- γ R1组成型表达于有核细胞表面,主要结合IFN- γ 。IFN- γ R2在细菌感染宿主后,易位于细胞膜并诱导型表达于细胞膜表面形成功能性IFN- γ 受体。

可以理解为,R1生而住在细胞膜上,作用是“外联”,接待来造访的干扰素 γ ,而R2是后来转运到膜上来的,作用是“内通”,外来的信号能不能转到细胞内部,诱发细胞内反应,要看R2工不工作。

整个跨细胞线路的“排查”研究工作进行到这里,基本可以锁定目标——对于E-selectin缺失小鼠来说,问题出在巨噬细胞表面的干扰素 γ 受体,其R2部分没有进入正常的工作状态。

细胞内部探秘 严格的“排他”证明还原真相

锁定目标,课题组用时4年。接下来的4年将是最艰难的机制研究工作,需要探秘的地点也转移到细胞内部,以及对IFN- γ R2从诞生到转移的过程解析。

R2亚基的实质是蛋白质,课题组从它的翻译开始“寻根问底”。

资料显示,蛋白由核糖体翻译,需要易位的蛋白要到内质网、高尔基体进行修饰后再到达细胞膜。“有些到达细胞膜的蛋白还可能被细胞内吞,然后被消化掉。”许小青说,所有这些细胞中的循环都要在机制研究中进行证明和摸索,才能最终“排查”出一条IFN- γ R2的生命线,并证明该过程受到E-selectin影响。

“我们要探讨,E-selectin缺失小鼠中,这个循环中究竟哪一步受到了影响。”许小青说,研究每一个步骤,需要不同的方法。例如编码IFN- γ R2基因的转录有没有受到E-selectin的影响,课题组检测相关RNA,发现没有降低的影响。

“我们检测从翻译到修饰过程中,R2蛋白在不同阶段的产物,看在哪里浓度降低了。”许小青说,最终,通过将高尔基体分离出来,发现高尔基体上的R2亚基含量剧增,而

膜上却少了。

“跷跷板”浓度再次出现,目标锁定了,问题的症结就在“跷跷板”的支点上。“最终发现问题出在高尔基体到细胞膜的这一步。”许小青说。结合此前E-selectin分子对巨噬细胞酪氨酸激酶通路的影响,找到共同聚焦点,课题组最终得出结论:E-selectin分子影响了酪氨酸激酶分子对R2进行位点的选择性磷酸化,磷酸化后的R2与转运蛋白结合,促其从高尔基体转运到细胞膜。

可见,没有E-selectin,就没有R2与转运蛋白的结合,因此难以以上膜。

“在细胞内部,有很多可能的路径,我们都要一一证明,最终排查出这个路径。”许小青说,这也是《细胞》杂志能够接收的原因,所有的证明都要强有力。课题组甚至通过为小鼠进行骨髓干细胞移植的方法,排除血液中其他可能的因素,证明只有E-selectin能够产生该功能。

有分析认为,该研究从动态的角度对细胞膜上受体的表达进行了首次阐释,同时首次证实了炎症环境下,血管内皮细胞可以通过E-selectin来预先活化即将发挥重要吞噬功能的巨噬细胞。

一张“角色扮演表” 看懂巨噬细胞“吃”细菌线路

为了更好地理解这一复杂的跨细胞线路,先明确一下“角色扮演表”:

敌人,即胞内感染细菌,包括李斯特菌、结核杆菌等;

巡视系统,即T细胞、白细胞等,发现不同“敌人”会发出不同信号;

信号兵,可理解为干扰素,发现细菌发出干扰素 γ ,发现病毒会发出干扰素 α 或 β ,这里是 γ ;

接受炎症因子的信号后,基地(宿主体细胞,此次为血管内皮细胞)会表达大量的内皮细胞选择素(E-selectin);而作战部队(巨噬细胞)在之前是未活化状态,与血管内皮细胞选择素作用后,才被活化,履行“固有免疫”的职责,杀灭外源细菌。

“这是一个持续了8年的研究工作。”许小青介绍,其中分子机制的研究耗时最长,占了全部研究的一半时间。

“我们发现,一个敲除E-selectin基因的小鼠,被李斯特菌感染之后,巨噬细胞的表现和正

一边高一边低 “跷跷板”浓度提示通路“堵点”

“因为巨噬细胞的活化,意味着干扰素 γ 到达巨噬细胞表面与表面受体结合,才会引发活化,所以我们刚开始猜想是不是干扰素 γ 少

蛋白复合物Paf1:携带基因致病的奥秘

第二看台

本报记者 孙玉松 通讯员 吴军辉

一个人生病的因素有多种多样,但不外乎于内因和外因两类。内因因素中最根本的就是基因。医学研究表明,所有的疾病或多或少都和基因有一些关联,主要是由于基因表达发生突变造成。基因的表达调控如何控制生物体的发育,又是怎样影响人体的健康与疾病?这是世界各国科学家竞相研究的热门课题。

日前,南开大学生命科学学院、药物化学生物学国家重点实验室龙加福教授团队的一项研究,揭示了一种影响基因表达调控的重要蛋白质复合物——Paf1复合物中Paf1-Ctr9亚复合物组装及功能调节的奥秘,为相关肿瘤治疗和药物开发奠定了分子基础。相关论文在线发表于国际知名学术期刊《自然·通讯》上。

解析Paf1和Ctr9亚复合物晶体结构

在酵母发酵、植物开花结果、受精卵发育成熟以及人的一生中,细胞的基因表达在时间、空

间上处于有序状态,并对环境条件的变化做出及时反应。基因转录延伸是细胞调节基因表达的一个高度有序而又极为复杂的调控过程,需要多种转录因子的参与。

在真核生物中,高度保守的聚合酶II相关因子1复合物被简称为Paf1复合物,其在调控基因转录延伸和染色质修饰方面起着重要作用。此外,Paf1复合物在细胞周期调控、干细胞多能性维持、DNA修复和信号转导等多个生物学过程中发挥着作用。因此,龙加福团队将研究重点聚焦于“剖析”Paf1复合物上。

“Paf1复合物由5个蛋白质亚基组成,在RNA聚合酶II转录的时候起到辅助功能,并参与染色质中组蛋白的甲基化修饰。”龙加福介绍,5个蛋白质亚基构成的完整复合物在细胞内的转录延伸中发挥功能,其中任意的两个或者多个蛋白质亚基组合在一起被称之为亚复合物。Paf1和Ctr9就是Paf1复合物中的两个重要蛋白质亚基,两者的突变会导致癌症等相关疾病的发生发展。

经过多年潜心研究,龙加福团队综合利用生物化学、结构生物学和细胞生物学等多学科交叉的手段及方法,同时解析了人源和酵母源

Paf1-Ctr9亚复合物的晶体结构。研究最终发现Paf1-Ctr9亚复合物对于整个Paf1复合物的组装非常重要,揭示了Paf1和Ctr9基因突变导致相关肿瘤的分子基础,也揭示了该亚复合物在组蛋白甲基化修饰和酵母活力方面的重要作用。

有助筛选药物靶标和小分子抗癌药

人体内大约有4万个基因,但并不是每个基因都有着正常功能,有些是所谓的缺陷基因,这些基因往往成为致病基因。每个看上去健康的人,身上都携带着5—6个致病基因,只不过其致病性暂时还潜伏着。

高度保守的多功能Paf1复合物最初是在芽殖酵母中被发现的,对它的研究已经有几十年的历史。龙加福介绍,目前,世界范围内对同种属来源的Paf1复合物结构信息的认知仍有一定局限性。在冷冻电镜技术迅猛发展的大环境下,此前德国的研究人员已经得到高分辨率酵母源Paf1复合物的结构信息,但分辨率远未达到原子水平的要求。在国内,北京师范大学的研究人员也通过对嗜热真菌中Ctr9-Paf1-Cdc73亚复合

物的晶体结构的解析,扩展了人们对Paf1复合物组装机制的认知。

以往研究报道称,基因中的Ctr9和Paf1表达异常或突变容易引发白血病、胰腺癌、卵巢癌、肾母细胞瘤以及乳腺癌等疾病。龙加福教授团队在解析出了人源Paf1-Ctr9晶体结构的基础上,通过生物化学以及细胞生物学等试验方法,进一步揭示了由Ctr9和Paf1的基因突变引发疾病的可能分子基础,即基因突变通过破坏Paf1复合物的组装进而影响组蛋白修饰(甲基化等),从而可能参与调节疾病发生发展过程中相关基因的表达,最终引发疾病。

“解析Paf1-Ctr9亚复合物的晶体结构,就是从原子水平看清了这两个蛋白的精细结构和构象,也为将来定向改造该亚复合物奠定了基础。同时解析人源和酵母源的结构可以对Paf1复合物在转录延伸中的作用机制有更深入的了解,阐明了从酵母等低等真核生物到高等哺乳动物的Paf1复合物在转录延伸中的分子机制是相当保守的。”龙加福教授介绍说,这项工作最大的作用是后续药物靶标的筛选及抗癌小分子药物的设计开发奠定了前期基础,很有可能成为相关癌症病人的福音。

封面故事

与克隆性造血临床相关 一种调节因子突变

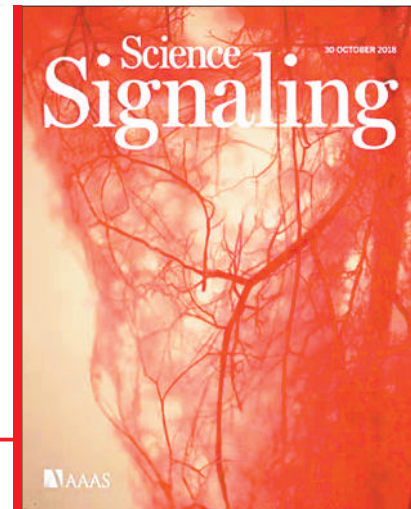
《细胞·干细胞》
2018.11.1



一般认为,以血液系统相关肿瘤基因突变为标志的克隆性造血(CH)是血液系统恶性肿瘤的重要特征之一。美国休斯敦贝勒医学院细胞和基因治疗中心的乔安妮·许等研究人员,发现在接受治疗的急性髓系白血病或骨髓增生异常综合征患者中,大约五分之一患者体内的DNA损伤反应调节因子PPM1D会发生突变,且这种突变与顺铂接触密切相关。在暴露于包括顺铂在内的细胞毒性DNA损伤剂后,PPM1D突变异常活跃的细胞系会扩张,逐渐在与正常细胞竞争中“获胜”。此外,含有PPM1D突变体的造血细胞,在暴露于顺铂和阿霉素后,数量会超过正常造血细胞,当进行骨髓移植治疗后期情况就会有所好转。这些发现证实了克隆性造血中PPM1D突变的临床相关性。

这种激酶或成新靶点 控制血压

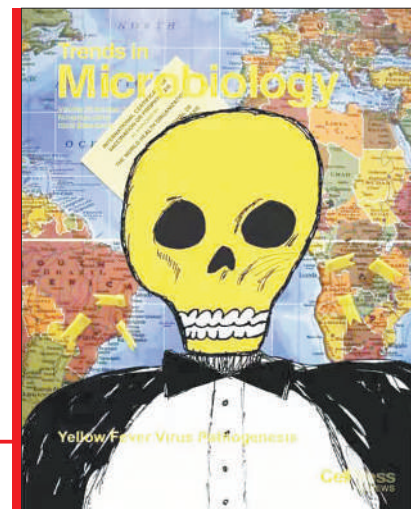
《科学·信号》
2018.10.30



肌球蛋白的磷酸化通常被认为是由肌球蛋白轻链激酶(MLCK)引起,能使平滑肌细胞收缩并引起血管收缩。然而,美国弗吉尼亚大学分子生理学和生物物理学系米哈伊洛·阿尔塔莫诺夫等研究人员发现,激酶RSK2的激活也能促进平滑肌肌球蛋白的磷酸化。此外,RSK2还能影响Na⁺/H⁺交换器,增加细胞内pH值,导致Ca²⁺浓度瞬间改变,从而激活肌球蛋白轻链激酶,促进血管收缩。动物实验显示,缺乏RSK2的老鼠动脉扩张和血压低于对照组。这些结果表明,RSK2是控制血压的潜在药物靶点。

这个老敌人又来了 黄热病

《微生物学》
2018.11



黄热病(YF)是18和19世纪最危险的传染病之一,曾在非洲和美洲造成大量死亡。其病因是感染黄热病病毒(YFV),接种减毒活疫苗YFV-17D仍然是迄今为止最有效的预防手段。在20世纪上半叶,接种疫苗和蚊虫控制相结合,根除了城市地区的黄热病病毒传播。然而,2016—2018年在黄热病病毒活动处于历史低点或没有活动的地区再次暴发疫情,导致这些地区大约4亿至5亿未接种疫苗的人处在高危之中。美国普林斯顿大学分子生物学系的亚历山大·普洛斯等研究人员强调,黄热病这种曾被遗忘的疾病,仍然对人类健康和经济构成非常现实的威胁。由于我们对黄热病病毒如何与人类宿主相互作用并导致疾病的理解仍有许多空白,因此迫切需要填补这些知识空白并推动黄热病病毒相关研究。

(本栏目主持人:陆成宽)

(本版图片来源于网络)

扫一扫
欢迎关注
生物圈1号
微信公众号

