

文章编号:1004-7220(2022)03-0385-04

# 细胞核与应力信号转导

齐颖新

(上海交通大学 生命科学技术学院,力学生物学研究所,上海 200240)

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2022.03.001

力学生物学关注力学因素在生命体发生、发展、衰老和病变过程中的重要作用,而细胞如何感知力学刺激并将力学信号转化为生物化学信号、进而调控细胞功能是力学生物学的关键科学问题。深入探讨这一问题对于了解机体生理稳态的本质、揭示病理重建(重塑)的机制和疾病的临床防治均具有重要的理论意义和转化价值。研究显示,细胞膜表面存在多种力学感受器(mechanosensor),受到应力(应变)刺激后通过翻译后修饰或构型变化开启细胞内级联的信号网络,将机械信号传递入细胞核调控基因转录。其中,新的力学感受器和应力信号转导机制的不断探索和发现已成为力学生物学研究的前沿和热点之一。例如,2021年诺贝尔生理学或医学奖获得者 David Julius 和 Ardem Patapoutian 揭示的阳离子通道 Piezo,可能通过由细胞膜曲率、张力等变化诱导的 force-from-lipids 以及由细胞骨架诱导的 force-from-filament 两种模式感知力学刺激发生构型变化,介导  $\text{Ca}^{2+}$  这一重要的胞内第2信使内流,进而调控细胞功能<sup>[1]</sup>;近年来,研究还报道了血管内皮细胞表面切应力和张应变共同的应力感受器 semaphorin 家族成员丛蛋白 D1,与跨膜糖蛋白 neuropilin-1 以及 2 型血管内皮细胞生长因子受体形成复合体,磷酸化激活 AKT 和 ERK 信号通路,调控核内炎症相关基因转录<sup>[2]</sup>。除位于细胞膜表面的机械应力感受器外,细胞核这一细胞内刚度(stiffness)最高的细胞器和细胞内遗传物质

储存、复制以及基因转录发生的中心,其在应力信号转导和细胞功能调控中的作用日益引起研究者的重视。

真核细胞的细胞核由内、外两层磷脂双分子膜结构包裹。哺乳动物细胞核每层磷脂双分子膜厚度为 4~5 nm,两层膜间具有 20~50 nm 间隙;每个细胞核的核膜上有 3 000~5 000 个嵌入内核膜和外核膜融合处的核孔复合体(nuclear pore complex, NPC),通过其中央的环形通道介导了胞质与核内物质选择性交换;除 NPC 外,核膜上还有以 nesprin 和 SUN 蛋白为主体的跨膜蛋白复合体——核-细胞骨架连接(linker of nucleus and cytoskeleton, LINC),其中镶嵌在外核膜上具有 KASH 结构域的跨膜蛋白 nesprin 向外与胞浆的细胞骨架相连接,向内通过 SUN 蛋白锚定在内核膜下致密的细胞核纤层(nuclear lamina)上(见图 1)<sup>[3]</sup>。细胞骨架-LINC 复合体-核纤层这一系列物理连接结构,为胞外应力直接传入细胞核提供了重要的结构基础。2014 年,Guilluy 等<sup>[4]</sup>的研究为细胞核直接感受应力(应变)刺激提供了重要的证据,应用包被 nesprin-1 抗体的磁珠对 HeLa 细胞分离出的细胞核直接施加应力刺激,在引起细胞核形态变化的同时迅速通过 Src 激酶引起核纤层蛋白 emerin 酪氨酸磷酸化、调控核自身刚度变化。近年来,细胞核相关组分及其相互作用在应力信号转导和细胞功能调控中的重要作用已引起广泛关注。

收稿日期:2022-05-22;修回日期:2022-05-24

基金项目:国家自然科学基金项目(12032003)

通信作者:齐颖新,教授,E-mail: qiyx@sjtu.edu.cn

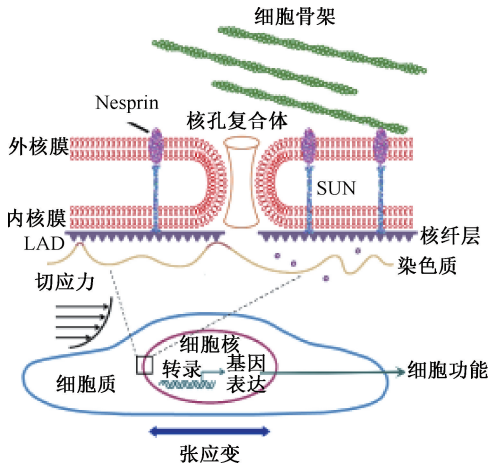


图1 细胞受力及细胞核应力信号转导相关结构模式

Fig.1 Mechanical stimuli on cell and nuclear mechanotransduction structures

## 1 核骨架蛋白与应力信号转导

细胞核骨架(nuclear envelope)是位于细胞核的蛋白纤维网架体系,包括跨核膜的 LINC 复合体、位于核浆内的致密网状核纤层及相关蛋白。细胞核骨架不仅为细胞核提供稳定的力学支撑,而且在细胞应力信号转导、基因转录调控中也具有重要作用。

位于外核膜的 Nesprin 蛋白,是 LINC 复合体的重要组成成分之一,包括 Nesprin1、Nesprin2、Nesprin3 和 Nesprin4 共 4 种亚型,它们与细胞骨架蛋白的结合能力和方式不同:Nesprin1 和 Nesprin2 通过 N 端结构域主要结合肌动蛋白丝,也可通过 Dynein 与微管连接;Nesprin3 通过 Plectin 蛋白连接中间纤维;Nesprin4 通过 Kinesin 连接到微管。通过上述结构,跨外核膜的 Nesprin 蛋白将胞浆中的细胞骨架结构和细胞核紧密连接在一起。Nesprin 蛋白向内与跨内核膜的具有 Sad1-UNC84 同源序列的 SUN 蛋白相互作用,而 SUN 蛋白的 N 端向核浆延伸,将 LINC 复合体锚定在内核膜下致密的核纤层纤维网架上<sup>[3]</sup>。Guilluy 等<sup>[4]</sup>研究亦证实,通过 LINC 复合体传递至细胞核的应力刺激能通过改变细胞核刚度而抵抗施加在细胞核上的压力,其中核纤层蛋白是核刚度改变的主要决定因素。

核纤层是位于内核膜下的第 5 类中间纤维

(type V intermediate filament)网络结构。组成核纤层的结构蛋白主要包括 A 型(lamin A, lamin C)和 B 型(lamin B1, lamin B2),其中 lamin A 和 lamin C 由 *LMNA* 基因编码, lamin B1 和 lamin B2 分别由 *LMNB1* 和 *LMNB2* 基因编码。各类核纤层蛋白基本结构较为相似,主要包括 N-端的头部、形成双螺旋的中心结构以及具有核定位序列和 Ig 折叠结构域的 C-端尾巴。研究表明,不同种类的核纤层蛋白形成的网络分布于核内不同层面, lamin B 紧贴内核膜,而 lamin A/C 位于其下层略靠近核质,且 lamin A/C 形成的网络密度远高于 lamin B, lamin B 形成的网络存在较大间隙;Lamin A 作为细胞核中密度最高,机械强度最大的中间纤维,是稳定细胞核刚性和维持完整核结构的关键分子<sup>[3,5]</sup>。

核纤层不仅起到维持细胞核形态结构的支撑作用,还直接参与核内染色质定位、DNA 复制和修复、基因表达等一系列核功能调控。Makhija 等<sup>[6]</sup>研究发现,生长基底约束可引起核纤层蛋白 lamin A/C 表达含量下降,导致细胞核变软,同时减少核周异染色质定位和增加端粒运动,而己知染色质向核周定位形成折叠紧密的异染色质是染色质结构和功能调控的重要内容,在基因转录、DNA 复制和修复中起重要作用。高分辨率显微成像结合测序结果显示,核纤层蛋白 lamins 突变的细胞核存在异染色质核周定位异常,其作用依赖于核纤层蛋白与具有核纤层相关结构域(lamina-associated domains, LADs)的染色质序列直接结合<sup>[7]</sup>。本研究团队的前期研究也发现,力学刺激调控 laminA/C 和 emerin 核骨架蛋白表达,通过与包含特定转录因子作用元件的 DNA 区域直接结合,网络性调控多种转录因子活性,进而影响血管平滑肌细胞增殖、凋亡等功能,参与高血压血管重建病理过程<sup>[8-9]</sup>。值得注意的是,核纤层蛋白存在复杂的剪切成熟和翻译后修饰变化。在 laminA 蛋白成熟过程中至少包含 C 端 Cys-Ser-Ile-Met 氨基酸序列 Cys 巯基的法尼基化修饰, Cys 甲基化和 CAAX 异戊二烯蛋白酶(Zmpste24)切割 C 端 15 个氨基酸 3 个步骤;而成熟后的 laminA 除形成经典的内核膜下致密蛋白纤维网架外,在多种激酶作用下可发生可逆性磷酸化

修饰,形成溶解态的二聚体或短的多聚体。已有研究显示,细胞可以通过 lamin A/C (Ser22) 的可逆性磷酸化修饰感知基质刚度等细胞外力学环境变化<sup>[10]</sup>。上述研究提示,核骨架蛋白感受应力(应变)刺激后,可能通过自身表达、翻译后修饰和结构变化直接调控核内染色质分布和基因转录,在应力信号转导中发挥重要作用。

## 2 NPC 与应力信号转导

NPC 是胞质与核内物质选择性交换的重要通道,尤其是分子量大于 50 kDa 的生物大分子,必须通过 NPC 进出细胞核,每个 NPC 由 500~1 000 个(约 30 种)核孔蛋白组成,总分子量约为 110 MDa,这使得 NPC 成为细胞中最大的大分子组装体之一。作为嵌入内核膜和外核膜融合处的蛋白质复合物,NPC 包括由多种核孔蛋白构成的跨膜结构以及核内的篮状结构。低温电子断层扫描结合同源建模揭示 NPC 的跨膜结构包含细胞质环(cytoplasmic ring)、内环(inner ring)和核质环(nucleoplasmic ring)3 个环状结构,通过中央的环形通道实现核-质分子转运并协调核-质间的信息交流。构成 NPC 中央通道的核孔蛋白富含疏水性苯丙氨酸-甘氨酸(FG)重复基序,这种高度拥挤的 FG 重复动态环境在 NPC 选择性屏障功能中具有重要作用<sup>[11]</sup>。

近年来研究显示,NPC 在力学刺激调控细胞功能中发挥了重要作用。Elosegui-Artola 等<sup>[12]</sup>研究发现,NPC 在不同刚度的细胞外基质上具有不同构型,硬基质上的细胞通过胞浆内应力纤维诱导 NPC 变得更为扁平,而基质刚度环境降低后 NPC 构型可维持并引起 YAP 核内保留参与应力记忆。最新的基于结构生物学的研究解析了 NPC 跨膜结构,并揭示渗透压等核膜张力变化调控的内环中央通道孔径变化在物质核-质运输过程中起到核心调控作用<sup>[11,13]</sup>。

更为有趣的是,NPC 的多种蛋白成分与核骨架蛋白 nesprin、SUN、A 型和 B 型核纤层存在广泛的相互作用,而上述核骨架蛋白的缺失突变和结构域突变会导致 NPC 分布异常或复合体篮状结构异

常<sup>[14]</sup>。虽然没有直接证据表明核骨架蛋白调控 NPC 构型参与应力信号感知和响应过程,但已有研究显示,单轴循环拉伸促进成纤维细胞胞浆内肌动蛋白、跨核膜结构 LINC 复合体和 NPC 沿垂直于拉伸方向共定位,并调控了 YAP 的核-质运输过程,提示应力(应变)可能影响细胞骨架蛋白、核骨架蛋白和 NPC 的相互作用进而参与细胞功能调控<sup>[15]</sup>。

## 3 研究展望

从本文对近年来细胞核的力学生物学相关研究工作的述评可以看出,细胞核是细胞内遗传物质储存、复制和基因转录发生的中心,这一复杂且精密的亚细胞结构在应力信号转导中具有重要作用。应力(应变)刺激可能通过调控核骨架蛋白、NPC 和染色质在核内的时空动态分布、修饰模式和构型影响细胞功能,进而参与生命体生长、发育、病变等过程。然而,细胞核力学生物学作用机制仍存在非常多的空白领域未阐明。此外,核骨架蛋白、NPC 和染色质存在复杂的相互作用,其构成的互作网络更增加了细胞核应力响应的复杂性。深入和系统地开展细胞核在应力信号转导中的力学生物学机制研究,对于全面认知生命体生理稳态和病理重建的意义及分子机制,寻找疾病诊断、临床治疗和疗效评价的潜在靶点均具有十分重要的意义。

## 参考文献:

- [1] JIANG Y, YANG X, JIANG J, *et al.* Structural designs and mechanogating mechanisms of the mechanosensitive Piezo channels [J]. *Trends Biochem Sci*, 2021, 46(6): 472-488.
- [2] MEHTA V, PANG KL, ROZBESKY D, *et al.* The guidance receptor plexin D1 is a mechanosensor in endothelial cells [J]. *Nature*, 2020, 578(7794): 290-295.
- [3] KALUKULA Y, STEPHENS AD, LAMMERDING J, *et al.* Mechanics and functional consequences of nuclear deformations [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, doi: 10.1038/s41580-022-00480-z.
- [4] GUILLUY C, OSBORNE LD, VAN LANDEGHEM L, *et al.* Isolated nuclei adapt to force and reveal a mechanotransduction pathway in the nucleus [J]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(4): 376-381.
- [5] NMEZI B, XU J, FU R, *et al.* Concentric organization of

- A-and B-type lamins predicts their distinct roles in the spatial organization and stability of the nuclear lamina [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2019, 116(10): 4307-4315.
- [ 6 ] MAKHIJA E, JOKHUN DS, SHIVASHANKAR GV. Nuclear deformability and telomere dynamics are regulated by cell geometric constraints [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113 (1): E32-E40.
- [ 7 ] ULIANOV SV, DORONIN SA, KHRAMEEVA EE, *et al.* Nuclear lamina integrity is required for proper spatial organization of chromatin in Drosophila [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 1176.
- [ 8 ] QI YX, YAO QP, HUANG K, *et al.* Nuclear envelope proteins modulate proliferation of vascular smooth muscle cells during cyclic stretch application [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2016, 113(19): 5293-5298.
- [ 9 ] BAO H, LI HP, SHI Q, *et al.* Lamin A/C negatively regulated by miR-124-3p modulates apoptosis of vascular smooth muscle cells during cyclic stretch application in rats [J]. Acta Physiol, 2020, 228(3): e13374.
- [10] CHO S, VASHISTH M, ABBAS A, *et al.* Mechanosensing by the lamina protects against nuclear rupture, DNA damage, and cell-cycle arrest [J]. Dev Cell, 2019, 49: 920-935.
- [11] ZIMMERLI CE, ALLEGRETTI M, RANTOS V, *et al.* Nuclear pores dilate and constrict in cellulose [J]. Science, 2021, 374(6573): eabd9776.
- [12] ELOSEGUI-ARTOLA A, ANDREU I, BEEDLE AEM, *et al.* Force triggers YAP nuclear entry by regulating transport across nuclear pores [J]. Cell, 2017, 171(6): 1397-1410.
- [13] SCHULLER AP, WOJTYNEK M, MANKUS D, *et al.* The cellular environment shapes the nuclear pore complex architecture [J]. Nature, 2021, 598(7882): 667-671.
- [14] GUO Y, ZHENG Y. Lamins position the nuclear pores and centrosomes by modulating dynein [J]. Mol Biol Cell, 2015, 26(19): 3379-3389.
- [15] HOFFMAN LM, SMITH MA, JENSEN CC, *et al.* Mechanical stress triggers nuclear remodeling and the formation of transmembrane actin nuclear lines with associated nuclear pore complexes [J]. Mol Biol Cell, 2020, 31(16): 1774-1787.