



俞立博士, 现任清华大学生命科学学院教授。俞立实验室综合细胞生物学、生物化学、生物物理、免疫学等多学科手段, 以多种模式生物为模型, 对实验室发现的新型膜性细胞器迁移体(migrasome)的功能与机制进行深入研究。研究论文在 *Cell*、*Science*、*Nat Cell Biol*、*Cell Res*、*Cell Discov* 等期刊上发表。曾荣获谈家桢生命科学创新奖、中国细胞生物学学会杰出成就奖。

<https://life.tsinghua.edu.cn/info/1061/1377.htm>

迁移体的生物学功能

谢任翔^{1, 2, 3, 4#} 姜东^{1, 2, 3, 4#} 俞立^{1, 2, 3, 4*}

(¹膜生物学国家重点实验室, 北京 100084; ²清华大学-北京大学生命科学联合中心, 北京 100084;

³北京生物结构前沿研究中心, 北京 100084; ⁴清华大学生命科学学院, 北京 100084)

摘要 迁移体是细胞迁移过程中产生的新型膜性细胞器。细胞迁移时, 细胞尾端会产生收缩丝, 随后在收缩丝末端或节点处会长出直径为0.5~3.0 μm 的囊泡结构, 该囊泡结构即为迁移体。通过迁移体释放细胞内含物的过程被称为迁移性胞吐。迁移体内富含细胞因子等各类信号分子, 存在受损线粒体, 并可携带细胞内的蛋白质和核酸。迁移体在多种生命过程中发挥关键作用, 可通过携带趋化因子定位至特定空间形成区域信号中心, 进而调控胚胎器官形态发生; 可携带mRNA等通过吞噬作用在不同细胞间进行物质传递; 可吸纳受损线粒体将其排出到细胞外, 进而维持细胞稳态。近十年来, 研究者系统解析了迁移体在不同生物学过程中的功能, 并开发和建立了一系列迁移体研究的工具和方法。该文总结了过去十年里研究者发现的迁移体在信号传递、细胞稳态维持和物质传输方面的功能研究进展, 以及现有的迁移体研究工具和方法, 为深入理解迁移体和进一步拓展迁移体相关研究提供了参考。

关键词 迁移体; 迁移性胞吐; 生物学功能; 研究方法

Biological Functions of Migrasome

XIE Renxiang^{1,2,3,4#}, JIANG Dong^{1,2,3,4#}, YU Li^{1,2,3,4*}

(¹State Key Laboratory of Membrane Biology, Beijing 100084, China; ²Tsinghua University-Peking University Joint Center for Life Sciences, Beijing 100084, China; ³Beijing Frontier Research Center for Biological Structure, Beijing 100084, China;

⁴School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

收稿日期: 2023-11-29

接受日期: 2023-12-18

国家自然科学基金(批准号: 32030023、92054301)资助的课题

*共同第一作者

*通信作者。Tel: 010-62792880, E-mail: liyulab@mail.tsinghua.edu.cn

Received: November 29, 2023

Accepted: December 18, 2023

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.32030023, 92054301)

*These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel:+86-10-62792880, E-mail: liyulab@mail.tsinghua.edu.cn

Abstract Migrasomes are novel organelles produced during cell migration. Migrasomes, which are vesicle structures with diameters of 0.5-3.0 μm , grow at the end or the node of the retraction fibers as cells migrate. The process of releasing cellular contents through migrasome is termed as migracytosis. Migrasomes are enriched with signaling molecules and play vital roles in multiple biological processes, such as providing regional cues to regulate organ morphogenesis during gastrulation, transferring cellular materials to regulate surrounding cells, and disposing damaged mitochondria to maintain cellular homeostasis. In the past decade, researchers systematically explored the functions of migrasomes in various biological processes, and developed a series of tools and methods for migrasome study. This review summarizes the recent advances of migrasome functions in signal releasing, cellular homeostasis maintaining, and material transferring, as well as the methodology for migrasome study, which may provide insights for furtherly studying and understanding the potential functions of migrasomes.

Keywords migrasome; migracytosis; biological function; methodology

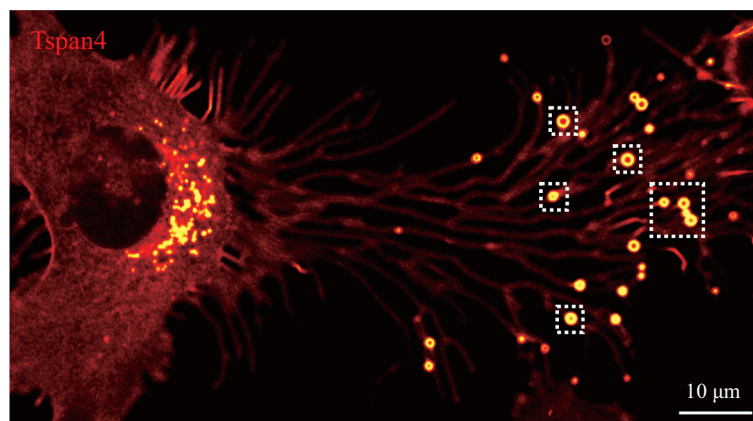
迁移体(migrasome)是清华大学俞立课题组于2014年发现、命名并首次报道的新型细胞器(图1)^[1]。在细胞迁移过程中,迁移体形成并生长在细胞尾部收缩丝的末端或分叉处。迁移体前期阶段通过收缩丝与细胞相连,是细胞的一部分,且具有相对独立的结构特征,并在细胞稳态维持过程中发挥重要作用。因此,前期阶段迁移体是附属于细胞且具有特定生物学功能的膜性细胞器。随着收缩丝的断裂,迁移体与胞体分离形成游离型迁移体。迁移体同时具备细胞器和细胞外囊泡的特性,在胚胎发育、血管新生和线粒体质量控制等许多重要的生理及病理过程中发挥关键作用。细胞通过迁移体释放细胞内容物的过程被称为迁移性胞吐(migracytosis)。由于迁移体内部含有大量更小的分泌囊泡,在电子显微镜下呈现出类似于石榴的形态,因此迁移体在发现之初也被称为“石榴体”。

迁移体研究通常需要建立在迁移体观察的基础上,而适当的标记方式是观察迁移体的必要前提条件。迁移体发现之初,研究者从体外培养细胞系中分离纯化获得了迁移体,通过蛋白质组学分析和过表达荧光标签偶联蛋白的方式鉴定出了迁移体的第一个标志蛋白:四次跨膜蛋白4(tetraspanin 4, Tspan4),为迁移体研究提供了有力的工具^[1]。然而受限于外源表达,Tspan4无法满足在不同系统中快速、高效、特异地检测迁移体的需求。随后,研究者鉴定出荧光标记的小麦胚芽凝集素(wheat germ agglutinin, WGA)可以通过结合N-乙酰神经氨酸和N-乙酰葡萄糖快速高效地标记迁移体^[2],大大提高了体外系统中迁移体标记、检测的效率。然而WGA在斑马鱼和小鼠等活体内标记迁移体的效果始终不尽如人意,且

没有细胞特异性^[3]。此外,由于鞘磷脂富集于迁移体及其生成位点,与细胞膜鞘磷脂特异性结合的无毒胞溶素(non-toxic lysenin, NT-Lys)能在体外系统标记迁移体^[4],但尚无其用于体内标记迁移体的研究。因此,研究人员进一步开发了利用偶联荧光分子的特异性抗体进行迁移体标记的方法。在小鼠体内,识别免疫细胞标志物的荧光抗体能够在体内标记免疫细胞来源的迁移体^[5-8]。

利用上述标记方式,结合基于激光共聚焦显微镜、转盘共聚焦显微镜、扫描光场显微镜、双光子显微镜的活体成像技术,研究者在斑马鱼、鸡胚和小鼠等动物模型的活体成像过程中成功观察到了不同细胞来源的迁移体的产生^[6,8-9]。这说明了迁移体的产生并非体外培养皿中的假象,而是在体内真实发生的生物学过程,并提示迁移体可能在真实生命过程中发挥功能。

为探索迁移体的生理功能,研究人员一方面对迁移体进行了系统性生物学特征分析,包括扫描电子显微镜观察、超薄切片透射电镜观察、蛋白质组学分析、脂质组学分析、DNA测序、RNA测序、生化活性检测等;另一方面通过活体成像观察对活体内迁移体的产生过程及其时空动态分布图谱进行了全方位的描绘。蛋白质组学分析发现迁移体中富含信号分子,包括趋化因子、生长因子、细胞因子、形态发生素等^[7,9],提示迁移体可能在信号中心或微环境构建中发挥功能;原位细胞超薄切片透射电镜观察发现在特定应激条件下,迁移体内存在大量受损的线粒体,提示迁移体可能是细胞排出受损线粒体从而进行线粒体质量控制的途径^[5];RNA测序发现迁移体内含有mRNA,由于迁移体可被周围细胞



图中使用白色方框标记迁移体。

White boxes indicate migrasomes.

图1 L929细胞系产生迁移体

Fig.1 L929 cell line produces migrasomes

所吞噬,因此迁移体可能介导不同细胞间的物质传递^[10]。细胞在体内迁移的过程中,能够以产生迁移体的方式,在特定的时间将内容物释放到特定的空间,从而在胚胎发育、血管新生、免疫细胞稳态维持等生理过程中发挥重要作用。在本文中,我们总结了目前已知的迁移体发挥功能的不同模式,包括信号传递、细胞稳态维持和物质传输等,并对迁移体生物学功能的研究工具和方法进行了阐述,并提出了对迁移体生物学的未来展望。

1 迁移体的生物学功能

1.1 迁移体介导信号传递

迁移体生理功能研究的前提条件是在活体动物模型中观察到迁移体的产生,活体成像观察是迁移体生理功能研究的一大限制因素。研究早期,在没有先进活体成像工具和系统的条件下,研究者只能优先选择易于活体成像观察的模式生物用于体内迁移体的观测。基于斑马鱼胚胎透明性高、繁殖快、易于获取且易于成像的特点,JIANG等^[9]利用斑马鱼胚胎建立了迁移体研究的第一个动物模型。透明的斑马鱼胚胎便于镜下观察,且胚胎发育过程中有大量细胞进行迁移,因此斑马鱼胚胎非常适合用于迁移体的观察研究。研究人员在斑马鱼胚胎中过表达荧光蛋白标记的Tspan4和PH结构域蛋白,并利用共聚焦显微镜活细胞成像技术进行动态观察,首次在活体情况下观察到了大量迁移体的产生^[9]。

为了研究迁移体具有何种生理功能,研究人员在斑马鱼内敲除了已知影响迁移体产生的基因

Itgb1b^[11]、*Tspan4a*^[11]和*Tspan7*^[12],并进行了连续自交繁殖获得母源突变体,随后进行了观察研究。研究者发现迁移体调控基因母源突变型斑马鱼胚胎中的迁移体数量显著减少,并且该斑马鱼在随后的发育过程中出现了严重的器官发育缺陷,包括器官双侧复制、部分器官缺失和器官位置反转等。突变体中器官发育缺陷表型是通过迁移体介导的,还是由基因本身通过非迁移体依赖的途径调控的?为回答该问题,研究人员设计并进行了迁移体回补实验,从野生型斑马鱼胚胎中分离纯化获得迁移体,并将其回输至突变型斑马鱼胚胎中,随后检测突变体胚胎中器官的发育情况。结果发现,迁移体回补可以成功地让斑马鱼胚胎器官正常形成,这表明斑马鱼胚胎器官的正确形成受迁移体调控^[9]。

为了研究迁移体调控胚胎器官发生的生物学机制,研究人员对从斑马鱼胚胎中分离纯化获得的迁移体进行了蛋白质组学分析,发现了迁移体中富含趋化因子、生长因子、细胞因子和形态发生素等^[9]。在原肠运动过程中,中内胚层细胞产生的迁移体从收缩丝上断裂后形成游离型迁移体,这些迁移体会自发汇聚到胚胎内的空腔中形成迁移体聚集的区域中心。富含趋化因子的迁移体汇聚到特定区域,即形成了天然的区域信号中心。进一步的研究表明,迁移体携带趋化因子Cxcl12(C-X-C motif chemokine ligand 12)大量汇聚到胚盾下方的空腔内形成天然信号中心,从而调控背部先驱细胞沿着背轴定向迁移到达胚胎的正确位置并分化为库氏囊泡。库氏囊泡是胚胎器官发育的重要调控结构,对于器官的正确发育是至关重要

的。基于上述结果,我们提出迁移体能够在正确的时间携带特定生物化学信号分子在正确的空间形成信号中心,从而在胚胎发育过程中发挥重要功能^[9]。

该研究首次证明并报道了迁移体是真实存在于动物体内且具有重要生理功能的细胞结构,建立了迁移体生物学研究的第一个动物模型,阐释了迁移体的第一个生理功能,将迁移体生物学研究从细胞层面提升到了生理层面,为后续迁移体生物学研究奠定了坚实的基础。

在后续的研究中,ZHANG等^[7]在鸡胚绒毛尿囊膜血管生成过程中观察到了更有意思的现象。研究人员建立了鸡胚绒毛尿囊膜活细胞观测系统,利用WGA染色观察发现了鸡胚绒毛尿囊膜中一群具有旺盛迁移能力并能产生迁移体的细胞。通过单细胞测序和细胞生物学实验分析,发现这群细胞是单核细胞。相应地,单核细胞来源的迁移体内富含趋化因子(如Cxcl12)和生长因子(如Vegfa和Tgfb3)。在体外,单核细胞来源的迁移体能够诱导内皮细胞成管发生。在体内,清除单核细胞或通过敲除 *Tspan4* 抑制单核细胞产生迁移体,都能显著抑制鸡胚绒毛尿囊膜内毛细血管新生,而迁移体回补能够挽救毛细血管形成缺陷的表型,说明了迁移体在毛细血管生成过程中具有重要作用。进一步研究发现,鸡胚发育过程中单核细胞会从血管内迁出,通过产生迁移体的方式规划新生血管生成路径,即单核细胞作为胚胎发育过程中血管新生的先锋者和领路人,其通过产生迁移体规划血管新生路径,构建促血管形成的微环境,从而调控后期毛细血管形成。

通过上述的两个例子,我们认识到信号分子能够被包裹在迁移体中,在特定的时间和空间释放,从而发挥其生理功能。值得注意的是,游离迁移体聚集在胚盾空腔中且可以长时间维持背部先驱细胞的定向迁移,说明迁移体并非瞬间释放所有信号分子,而是能够缓慢而持续地释放信号,从而更好地发挥信号传递的作用。细胞能否通过迁移体选择性释放特定的信号分子?迁移体如何实现信号的缓慢释放?上述问题仍待未来进一步的研究。

1.2 迁移体调控细胞稳态

线粒体是细胞进行有氧呼吸的能量工厂。在正常生理状态下,线粒体通过动态调节能量供应来调控细胞稳态。当线粒体功能出现障碍时,则会导致代谢性疾病、心血管疾病、神经系统疾病以及

衰老的发生。因此,细胞及时发现并清除损伤线粒体,避免炎症通路的激活和细胞死亡的发生,对于调控细胞自身稳态具有重要作用。线粒体自噬是一种已知的细胞稳态调控方式,即真核细胞通过自噬机制选择性清除损伤和多余的线粒体^[13]。当线粒体去极化失去膜电位时,活化的Pink1招募E3泛素连接酶Parkin,使得线粒体外膜的蛋白发生泛素化,启动泛素依赖的自噬过程。与此同时,微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated protein light chain 3, LC3)可以与线粒体外膜的自噬受体直接结合,通过非泛素依赖途径启动线粒体自噬。在生理情况下,是否还存在其他的细胞稳态调控机制呢?

JIAO等^[5]的研究发现,在轻度线粒体应激情况下,受损线粒体会通过迁移体被运送到细胞外,实现线粒体的质量控制,从而维持细胞稳态,这个过程被命名为线粒体胞吐(mitocytosis)。该现象最早被发现于L929细胞系,研究者用MitoDsRed标记其线粒体,并用线粒体氧化磷酸化解偶联剂CCCP(carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazone)处理该L929细胞,发现其迁移体内会出现大量线粒体的信号。用线粒体膜电位荧光探针四甲基罗丹明甲基酯(tetramethylrhodamine, methyl ester, TMRM)标记线粒体后,发现迁移体内的线粒体已经失去了线粒体膜电位。在电子显微镜下进行观察,发现迁移体中存在的大部分线粒体都出现了线粒体基质浓缩和线粒体嵴肿胀的异常情况。进一步的实验表明,当一个细胞内部同时存在两种线粒体(一种是正常的野生型线粒体,另一种是电子传递链基因缺失的突变线粒体)时,其突变线粒体会被选择性地分配到迁移体中,并排出到细胞外。过表达 *Tspan4* 和 *Tspan9* 可以促进迁移体产生和线粒体胞吐,并在CCCP刺激下更好地维持细胞稳态。上述研究结果表明,迁移体是线粒体应激调控过程中的重要部分。

更进一步的生物学机制研究表明,轻度线粒体应激会导致线粒体与向内运输的动力蛋白的结合能力减弱,而与向外运输的Kif5b(Kinesin family member 5b)的结合能力增强,使得线粒体被运输至细胞质膜。线粒体在Myosin19的作用下与质膜上的皮质肌动蛋白结合,最后经过动力相关蛋白1(dynamin-related protein 1, Drp1)介导的裂变被转运至迁移体。

在生理功能方面,研究人员通过活体成像观察到中性粒细胞可在血液中快速迁移并产生迁移体。

中性粒细胞高速的迁移模式要求其线粒体能够产生更多的能量, 因此其线粒体更可能在氧化应激的条件下发生轻微损伤。研究发现血液中中性粒细胞来源的迁移体的确含有受损线粒体。*Tspan9*基因敲除小鼠的中性粒细胞迁移体产生减少, 导致中性粒细胞的受损线粒体无法排出到胞外而累积在胞内, 并使中性粒细胞整体的线粒体膜电位降低。最终, *Tspan9*^{-/-}小鼠外周血中性粒细胞的线粒体胞吐能力受损, 导致其活力下降和细胞死亡, 表现为外周中性粒细胞数量减少。类似地, *Tspan9*^{-/-}小鼠的巨噬细胞也出现了线粒体膜电位消失的表型。综上所述, 线粒体胞吐是迁移体调控细胞稳态, 发挥生理功能的重要途径。

迁移体介导的细胞稳态调控适用于具有迁移能力的细胞, 而非不发生迁移的细胞。比如, *Tspan9*^{-/-}小鼠的骨髓中性粒细胞和肝脏细胞尚未迁移, 也未能检测到其线粒体膜电位消失。对于不发生迁移的细胞, 可能存在其他的线粒体稳态调控机制。如近期研究报道, 线虫的神经细胞和小鼠的心肌细胞可通过 *Exopher* 主动外排损伤线粒体, 维持自身神经系统和肌肉系统稳态^[14-15]。

在这项研究中, 研究人员还发现细胞在不同程度氧化应激的刺激下, 会主动选择不同的线粒体质量控制方法^[5]。在多种细胞系内, 用低浓度 2 mmol/L CCCP 刺激可以诱导轻度损伤的线粒体进入迁移体中; 而使用高浓度 10 mmol/L CCCP 则会严重损伤大量线粒体, 最终抑制细胞迁移, 使得细胞主要通过线粒体自噬途径清除受损线粒体。该结果说明, 线粒体胞吐和线粒体自噬很可能是线粒体质量控制和细胞命运决定的两种方式: 对于严重的线粒体损伤, 细胞倾向于通过线粒体自噬来清除损伤线粒体, 从而避免直接排出大量线粒体(含细胞色素c)所导致的细胞死亡和炎症反应; 而对于轻度损伤的线粒体, 细胞可能更倾向于通过线粒体胞吐来维持细胞稳态。在生理和病理情况下, 这两种线粒体质量控制途径是如何动态调控和相互转换的仍需要进一步研究。

1.3 迁移体介导物质传输

迁移体产生后的最终命运, 或破裂释放内含物, 或被周围细胞所吞噬, 提示迁移体内所含有的内容物可能通过以上途径直接传输到受体细胞中, 这可能是一种全新的细胞间物质交流的方式。在体外研究中, ZHU等^[10]发现了迁移体中含有完整且具有翻

译能力的 mRNA, 并证明了完整的 *Pten* mRNA 在迁移体中存在, 其可通过迁移体传递到受体细胞中并完成翻译过程。迁移体来源的 *Pten* mRNA 在肿瘤细胞内进行翻译并表达 *Pten* 蛋白, 最终通过抑制 AKT 蛋白磷酸化来抑制肿瘤增殖。在体内研究中, 通过扫描光场显微镜活体成像系统和双光子活体成像系统, 可以观察到中性粒细胞产生的迁移体可被其他细胞所吞噬^[6,8]。

然而, 尚无体内研究深入阐述迁移体物质传输对受体细胞所产生的影响。另一个重要的问题是, 迁移体被受体细胞吞噬后, 迁移体中的蛋白质和 mRNA 如何从内体中逃逸, 来避免被降解的命运? 有一种可能性是迁移体通过与内体发生膜融合, 将其内的物质释放到受体细胞的胞质中, 从而发挥一定的功能。此外, 在不同的刺激条件下, 细胞向迁移体中进行物质转运的机制是否会发生改变, 导致迁移体所携带的物质(包括蛋白质和 mRNA)发生变化? 除了蛋白和 mRNA 之外, DNA 是否也会出现在迁移体中? 上述问题仍有待进一步探索。

2 迁移体生理功能的研究手段

2.1 迁移体的标记方法

迁移体发现之初, MA等^[1]通过蛋白质组学分析和过表达荧光偶联蛋白的方法, 鉴定了四次跨膜蛋白 *Tspan4* 为迁移体标志蛋白。过表达 *Tspan4* 和荧光蛋白的融合蛋白能够有效标记细胞产生的迁移体。该工作具有三个方面的重要意义: (1) *Tspan4* 可以作为迁移体的标记蛋白, 这为迁移体研究提供了有力的观察工具; (2) *Tspan4* 作为四次跨膜蛋白家族的成员之一, 能够在迁移体上富集, 这为迁移体形成机制的研究提供了一个突破口; (3) 调控 *Tspan4* 蛋白的表达能够影响迁移体的产生, 这为研究迁移体的生理功能提供了工具。类似地, 表达 PH 结构域和荧光蛋白的融合蛋白能通过与细胞膜结合来标记迁移体。由于 *Tspan4* 和 PH 结构域的荧光标记依赖于过表达系统, 该方法的使用和推广具有一定的局限性。

为了找到可更高效快速标记迁移体的方法, CHEN等^[2]通过对膜染料的筛选, 发现了 WGA 可以结合细胞膜和迁移体表面的 *N*-乙酰神经氨酸和 *N*-乙酰葡萄糖胺, 从而实现细胞和迁移体的高效、快速标记。在体外培养细胞系和鸡胚模型中, WGA 都能有效地标记迁移体。然而, WGA 在现有体系下并不适

用于斑马鱼和小鼠模型中迁移体的标记和观测^[3]。LIANG等^[4]发现鞘磷脂合成酶2(sphingomyelin synthase 2, SMS2)在细胞前沿形成了决定迁移体发生位点的SMS2斑点,且该位点可富集鞘磷脂。与细胞膜鞘磷脂特异性结合的NT-Lys能在体外系统有效地标记迁移体,但尚无其用于体内迁移体标记的研究。

为了在活体小鼠中标记观察迁移体, JINAG等^[16]利用荧光偶联流式抗体特异性标记目的细胞表面的蛋白分子,发现荧光偶联抗体可以实时快速标记迁移体,随后该方法被大量用于标记小鼠中特定细胞产生的迁移体。一方面,目前缺乏能够观察迁移体的基因编辑小鼠;另一方面,流式抗体具有特异性、便捷性和普及性,能够高效、特异地结合目的蛋白,并使其带上荧光,该方法大大提高了体内迁移体观测和研究的便捷性。

迁移体的研究需要建立在迁移体的动态示踪和观察基础上,因此开发和建立更高效、更便捷、更特异的迁移体标记观测方法是迁移体研究的一大难题,需要持续不断的探索和迭代。

2.2 迁移体的活体成像方式

为了探索迁移体在更多生物学过程中的功能,开发和建立小鼠活体成像系统观察迁移体的动态变化已经成为必须面对和解决的问题。利用传统共聚焦显微镜进行小鼠活体成像面临多个技术难点:(1)拍摄过程中荧光基团容易淬灭,无法进行长时程观测;(2)光毒性强,导致组织中细胞行为模式和细胞器功能发生改变,造成实验假象;(3)组织折射率不均匀,导致图像分辨率和信噪比下降;(4)成像速度慢,无法避免细胞迁移速度过快,或小鼠呼吸和心脏跳动导致的伪影;(5)成像深度较浅。

为解决上述问题,研究者前期使用了商业化的转盘共聚焦显微镜,在活体小鼠中使用荧光偶联抗体对目的细胞进行实时标记,对小鼠进行麻醉后,暴露目的器官,将其置于盖玻片上进行活体成像。转盘共聚焦显微镜成像速度快、激光强度低,在一定程度上解决了传统共聚焦显微镜在活体成像上的问题^[5,16],但在一些场景下,迁移体研究需要更高的时空分辨率和更低的光毒性。随后,俞立团队通过与清华大学戴琼海院士团队合作,利用其研制的数字自适应光学扫描光场互迭代层析成像技术(digital adaptive optics scanning light-field mutual iterative tomography, DAOSLIMIT)建立了具有更高时空分辨

率和更低光毒性的活体成像系统^[6]。扫描光场显微镜用极微弱光照激发整个三维体,可获得整体的三维信息,实现毫秒级的三维成像速度和极低的光毒性。其数字自适应光学框架有效解决了活体组织折射不均匀所导致的像差问题,极大提升了图像的空间分辨率和信噪比。利用扫描光场显微镜,研究者肝脏的观察窗口观测到了具有更高时空分辨率的中性粒细胞和肿瘤细胞产生迁移体的过程^[6]。

传统双光子显微镜具有更深的成像深度,但受到光毒性强、成像速度慢和成像分辨率低的制约。戴琼海院士团队^[8]近期建立的双光子合成孔径显微术(two-photon synthetic aperture microscopy, 2pSAM)使用针状光束进行高速扫描,对细胞的光毒性更低,分辨率更高。通过2pSAM技术,该团队成功观测到了中性粒细胞在创伤性大脑损伤小鼠脑皮层组织中产生迁移体的过程。综上所述,新开发的成像技术为活体观测迁移体产生提供了新的成像策略。

2.3 迁移体的纯化手段

从活体动物中分离纯化迁移体仍是一个巨大的挑战。在已有的文献报道中,研究者通过0.75 mg/mL蛋白酶K消化斑马鱼胚胎,或用0.2%胶原酶II和0.25%胰酶消化鸡胚尿囊膜,从而实现组织细胞和迁移体的解离。随后采用差速离心法,用低速离心(1 000 ×g、5 min; 2 000 ×g、10 min)去除胞体和较大的细胞碎片,用高速离心(20 000 ×g、60 min)获得粗提迁移体,还可采用密度梯度离心的方式进一步纯化迁移体^[16]。该分离方法能有效避免胞体、凋亡小体和外泌体的污染。但更多用于小鼠(或人)体液和组织中迁移体分离纯化的方法有待进一步开发。

3 未来展望

迁移体是细胞迁移过程中形成的具有特定形态和功能的新型细胞器。过去十年里,研究者对迁移体的生理功能进行了一定的探索,并总结了迁移体发挥生理功能的不同模式,包括信号传递、细胞稳态调控和物质传输(图2)。迁移体通过不同模式在胚胎发育、血管新生和免疫细胞稳态维持中发挥重要功能。在此过程中,研究者也开发了一系列迁移体的标记方法、成像技术以及分离纯化和鉴定手段,为迁移体生物学的研究奠定了基础。

通过迁移体在斑马鱼胚胎发育过程中的功能研究,我们知道迁移体可以在特定的发育时期产生,

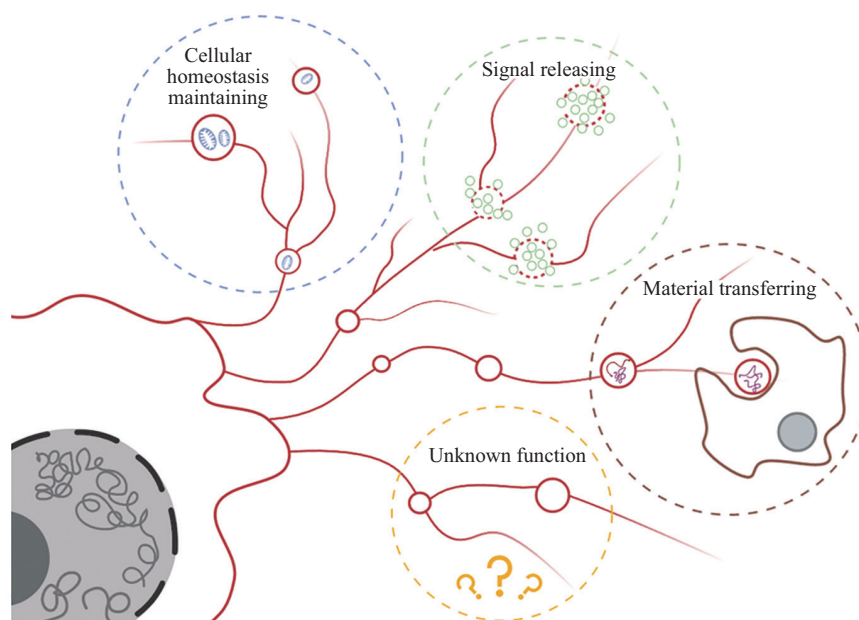


图2 迁移体的生物学功能

Fig.2 The biological functions of migrasomes

并携带特定的生物化学信号,定位到特定的空间位置形成区域信号中心,影响和调控周围细胞的命运,从而调控胚胎器官发育。即迁移体可以整合时间信息、空间信息和生化信息在复杂生命过程中发挥功能。基于此,我们推测除了胚胎发育之外,迁移体也很可能参与调控免疫反应、肿瘤转移、组织再生等,这些生理或病理过程都包含类似的逻辑:(1)大量的细胞迁移;(2)大量的信号分子参与;(3)异种细胞间的协同交流;(4)具有明确的时效性。此外,迁移体可能还具有其他发挥功能的模式,有待进一步深入探索。已有部分文献报道巨噬细胞的迁移体通过激活补体反应从而破坏血脑屏障^[17],尿液中足细胞来源迁移体数量在肾脏损伤期间增多^[18]。迁移体可能在肿瘤、感染性疾病、神经系统疾病、泌尿系统疾病、心血管疾病和其他病理过程中扮演重要角色,深入研究并系统性解析迁移体参与生理及病理过程的功能与机制,将助力于发掘全新的基于迁移体的诊断指标和潜在疗法。

截至目前,迁移体生物学的发展依然面临诸多基本问题,迁移体的研究手段、工具和方法依旧有限:(1)尚未找到更加特异性和普适性的迁移体标志蛋白,使得迁移体的观察、检测、纯化以及功能研究受到极大的限制,无法全面展开针对不同类型样本的迁移体的分析和检测。此外,目前针对动物活体的标记方法依赖于标记特定细胞的细胞膜,而难

以观测没有特异膜标志物的细胞,这在一定程度上限制了迁移体的普及;(2)尚未找到更为特异和核心的迁移体调控基因,无法实现特异性完全阻断迁移体的产生,使得迁移体的生理及病理功能研究受到很大阻碍,无法快速检测迁移体在不同生理病理过程中的功能;(3)尚未描绘迁移体的机体分布全局图谱。活体成像观测迁移体产生的观察窗口依然有限,目前只能局限于容易暴露在外的组织器官内的成像,且成像观测深度十分有限,只能观测10 μm 深度内的迁移体,无法对迁移体的机体分布进行全局图谱描绘。

迁移体作为新发现的新型细胞器,其研究才刚刚开始,尚有许多重大且基本的核心问题有待解答。在未来,随着越来越多研究人员的加入、越来越多新兴技术的兴起、越来越多基本知识的积累,我们相信迁移体生物学研究会在不久的将来迎来全新的突破和全方位的进展,并有望产生一系列基于迁移体的新理论、新方法、新诊疗方案。

参考文献 (References)

- [1] MA L, LI Y, PENG J, et al. Discovery of the migrasome, an organelle mediating release of cytoplasmic contents during cell migration [J]. Cell Res, 2015, 25(1): 24-38.
- [2] CHEN L, MA L, YU L. WGA is a probe for migrasomes [J]. Cell Discov, 2019, 5: 13.
- [3] YU S, YU L. Migrasome biogenesis and functions [J]. FEBS J, 2022, 289(22): 7246-54.

- [4] LIANG H, MA X, ZHANG Y, et al. The formation of migrasomes is initiated by the assembly of sphingomyelin synthase 2 foci at the leading edge of migrating cells [J]. *Nat Cell Biol*, 2023, 25(8): 1173-84.
- [5] JIAO H, JIANG D, HU X, et al. Mitocytosis, a migrasome-mediated mitochondrial quality-control process [J]. *Cell*, 2021, 184(11): 2896-910,e13.
- [6] WU J, LU Z, JIANG D, et al. Iterative tomography with digital adaptive optics permits hour-long intravital observation of 3D subcellular dynamics at millisecond scale [J]. *Cell*, 2021, 184(12): 3318-32,e17.
- [7] ZHANG C, LI T, YIN S, et al. Monocytes deposit migrasomes to promote embryonic angiogenesis [J]. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(12): 1726-38.
- [8] ZHAO Z, ZHOU Y, LIU B, et al. Two-photon synthetic aperture microscopy for minimally invasive fast 3D imaging of native subcellular behaviors in deep tissue [J]. *Cell*, 2023, 186(11): 2475-91,e22.
- [9] JIANG D, JIANG Z, LU D, et al. Migrasomes provide regional cues for organ morphogenesis during zebrafish gastrulation [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(8): 966-77.
- [10] ZHU M, ZOU Q, HUANG R, et al. Lateral transfer of mRNA and protein by migrasomes modifies the recipient cells [J]. *Cell Res*, 2021, 31(2): 237-40.
- [11] WU D, XU Y, DING T, et al. Pairing of integrins with ECM proteins determines migrasome formation [J]. *Cell Res*, 2017, 27(11): 1397-400.
- [12] HUANG Y, ZUCKER B, ZHANG S, et al. Migrasome formation is mediated by assembly of micron-scale tetraspanin macrodomains [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(8): 991-1002.
- [13] ONISHI M, YAMANO K, SATO M, et al. Molecular mechanisms and physiological functions of mitophagy [J]. *EMBO J*, 2021, 40(3): e104705.
- [14] MELENTIJEVIC I, TOTH M L, ARNOLD M L, et al. *C. elegans* neurons jettison protein aggregates and mitochondria under neurotoxic stress [J]. *Nature*, 2017, 542(7641): 367-71.
- [15] NICOLAS-AVILA J A, LECHUGA-VIECO A V, ESTEBAN-MARTINEZ L, et al. A network of macrophages supports mitochondrial homeostasis in the heart [J]. *Cell*, 2020, 183(1): 94-109,e23.
- [16] JIANG D, LI Y, YU L. Detection, purification, characterization, and manipulation of migrasomes [J]. *Curr Protoc*, 2023, 3(8): e856.
- [17] HU M, LI T, MA X, et al. Macrophage lineage cells-derived migrasomes activate complement-dependent blood-brain barrier damage in cerebral amyloid angiopathy mouse model [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 3945.
- [18] LIU Y, LI S, RONG W, et al. Podocyte-released migrasomes in urine serve as an indicator for early podocyte injury [J]. *Kidney Dis*, 2020, 6(6): 422-33.