



黄雨薇博士，西安交通大学基础医学院教授、博士生导师。2019年在清华大学获得细胞生物学博士学位。主要从事细胞膜及膜性细胞器的性质、形成机制及功能的研究。以第一作者或共同第一作者身份在*Nature Cell Biology*、*Cell Research*、*Nature Communication*等杂志上发表多篇论文。获得第九届中国科协青年人才托举工程项目资助，主持国家自然科学基金面上项目两项，同时参与重大及重点研究项目多项，并且多次获得国内、国际学术会议优秀报告人及优秀海报奖项。

迁移体生物发生的时空图谱

王维丝 黄雨薇*

(西安交通大学基础医学院, 西安 710049)

摘要 迁移体是2015年被发现的新型细胞器,是在细胞迁移后端收缩丝上生长起来的囊泡状结构。迁移体参与细胞与细胞间、细胞与微环境间的信息交流和物质交换,在胚胎发育、血管新生、线粒体稳态维持、病毒传播等生理病理过程中发挥着重要作用。近年来,研究者们针对迁移体的形成过程展开了系统探索,并逐步揭示了迁移体的生物发生及动态调控机制,为迁移体的功能探索奠定了理论基础,也为以迁移体为抓手的临床应用提供了切入点。该文将对迁移体发生及调控机制的相关研究进行系统梳理,绘制迁移体生物发生过程的时空图谱,以为迁移体领域的研究提供指导与参考。

关键词 迁移体;整合素;tetraspanin富集的微结构域;鞘磷脂;磷脂酰肌醇4,5-二磷酸盐

Spatio-Temporal Map of Migrasome Biogenesis

WANG Weisi, HUANG Yuwei*

(School of Basic Medical Sciences, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China)

Abstract Migrasome, a novel organelle discovered in 2015, is a vesicular structure that grows on the retraction fibers at the rear of migrating cells. It is involved in the communication and material exchange between cells and their micro-environment, and plays a significant role in physiological and pathological processes such as embryonic development, angiogenesis, maintenance of mitochondrial homeostasis, and viral transmission. In recent years, researchers have systematically explored the formation process of migrasomes, gradually revealing their biogenesis and dynamic regulatory mechanisms. This has laid the foundation for a deeper understanding of migrasomes and provided a theoretical basis for exploring their functions and potential applications. This article aims to provide a systematic review and summary of relevant studies on the occurrence and regulation mechanisms of

收稿日期: 2023-10-27

接受日期: 2023-12-18

国家自然科学基金(批准号: 32370734、32070691)资助的课题

*通信作者。Tel: 029-88965413, E-mail: huangyuwei@mail.xjtu.edu.cn

Received: October 27, 2023

Accepted: December 18, 2023

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.32370734, 32070691)

*Corresponding author. Tel: +86-29-88965413, E-mail: huangyuwei@mail.xjtu.edu.cn

migrasomes, and to depict a spatio-temporal map of their formation and regulation, serving as a reference for future research in this field.

Keywords migrasome; integrin; tetraspanin-enriched microdomain; sphingomyelin; phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate

迁移体(migrasome)是2015年清华大学俞立教授团队发现的一种依赖细胞迁移的新型细胞器^[1]。细胞迁移时,收缩丝(retraction fiber, RF)末端或交叉节点处逐渐形成的直径0.5~3.0 μm 的囊泡状结构,即为迁移体。迁移体内包含着诸多蛋白质、核酸等生物大分子,以及数量不一的小囊泡。迁移体在生长阶段通过收缩丝与细胞胞体连通,而成熟后同收缩丝断开。迁移体在体内体外系统中均可以稳定存在数小时,最终被其他细胞吞噬或破裂消失,这个过程被命名为“迁移性胞吐”^[1]。成熟的迁移体甚至会脱离收缩丝及黏附基底成为胞外囊泡,参与细胞间的远距离通讯^[2-3]。迁移性胞吐可介导细胞间物质与信息的传递以及细胞微环境的构建,从而奠定了迁移体发挥生物学功能的基础。

迁移体广泛存在于多种属、组织、器官及各类细胞中^[1,4-9],基于目前已有的研究,迁移体的主要功能可分为三个方面。(1)迁移体是细胞排出胞内废旧物质和结构的途径。细胞会通过产生迁移体丢弃轻度受损的线粒体,从而维持线粒体稳态,这一过程被命名为“线粒体胞吐”,其对于迁移细胞的活力维持至关重要^[2]。(2)迁移体是细胞间物质和信息横向传递的渠道,或可介导病毒的传播。供体细胞会通过迁移体向受体细胞横向传递如*Pten* mRNA及PTEN蛋白质等物质,进而调控受体细胞中相应的生物学过程^[10]。已有研究表明,基孔肯雅病毒(Chikungunya virus, CHIKV) nsP1可以诱导迁移体形成^[11]。病毒感染细胞所产生的迁移体内存在病毒^[12-13],并且从迁移体中分离出的HSV-2可传播至未感染的细胞并引发新一轮感染^[12]。(3)迁移体是细胞微环境构建的方式。在斑马鱼原肠发育阶段,研究者观察到大量迁移体的产生,并且迁移体内所释放的趋化因子等信号分子起到确保斑马鱼器官正常发育的关键作用^[5]。在鸡胚绒毛尿囊膜中,单核/巨噬细胞通过产生富含血管生成因子(vascular endothelial growth factor A, VEGFA)及趋化因子CXCL12(C-X-C motif chemokine ligand 12)的迁移体,指导毛细血管网络的形成,保障了鸡胚的正常

发育^[6]。有研究表明,间充质干细胞(mesenchymal stromal cells, MSCs)会产生含有活化的白细胞黏附分子和趋化因子的迁移体以吸引造血细胞,从而影响骨髓造血微环境^[7]。此外,研究者已在人的血清中发现迁移体的存在^[14],这些结果暗示着迁移体或许在循环系统中发挥着重要作用,循环系统的迁移体可能作为某些血液或心血管疾病的指证^[15]。

此外,迁移体还与多种疾病的病理机制相关。在急性缺血性中风(acute ischemic stroke, AIS)的疾病系统中,研究者发现高盐饮食所导致的AIS会促进脑组织中迁移体的形成^[4],而骨髓间充质干细胞所产生的迁移体,可增强巨噬细胞的细菌吞噬能力,从而起到预防AIS后肺炎的作用^[8],这两项研究指出了迁移体参与AIS病理机制及其成为潜在治疗靶点的可能性。足细胞(podocyte)受损后会在迁移过程中产生大量迁移体,而肾损伤患者尿液中迁移体含量较高,尿液迁移体作为足细胞损伤的非侵入性指标提示了其作为肾病临床诊断标志物的潜力^[16]。视网膜色素上皮细胞可以在增殖性玻璃体视网膜病变的微环境下产生迁移体,意味着迁移体与其病理机制可能相关^[17]。 β -淀粉样蛋白(amyloid- β , A β)40可以诱导巨噬细胞形成迁移体,同时巨噬细胞来源的迁移体可以引起脑淀粉样血管病小鼠模型中补体依赖性血脑屏障损伤^[9]。

在近十年的探索中,研究者们从迁移体的结构、产生过程及物理化学特性入手,逐步揭示了迁移体的形成机制。迁移体的形成与所有生物学过程一样,是否产生、何时产生以及在哪里产生,这一系列的环节都会受到细胞的精准调控。迁移体也是一个具有独特物理性质的结构,其形成过程遵循基本的生物物理原则。总的来说,迁移体的形成是一个受生物学调控的生物物理过程。已有研究表明,迁移体的产生高度依赖鞘磷脂合酶2(sphingomyelin synthase 2, SMS2)的细胞膜锚定以及原位鞘磷脂的合成,甚至在细胞迁移的前端就已经决定了迁移体是否形成^[18]。随后PIP2-Rab35调控轴发挥作用,通过调控产生磷脂酰肌醇4,5-二磷酸盐

(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate, PIP2), 招募 Rab35^[19], 进而招募决定迁移体黏附的整合素蛋白质, 形成与细胞外基质黏附的锚点^[20], 确定迁移体生长的位置。TSPAN(tetraspanin)-胆固醇富集的结构域会响应收缩丝膜上局部曲率的变化^[21-22], 在整合素锚点处逐渐高度富集, 增加局部膜结构的弯曲刚度, 使得迁移体结构最终得以形成^[23]。还有研究报告, 细胞迁移的路径呈直线持续或转向移行, 会通过塑造收缩丝来影响迁移体的形成^[24]。PD-L1也会促进迁移体的形成, 这提示迁移体在免疫检查点中具有潜在作用^[25]。本文将着重综述迁移体形成和调控机制的相关研究, 绘制迁移体生物发生的时空图谱, 为深入理解迁移体的结构和形成过程提供信息与思路, 也为进一步探索迁移体的功能及应用提供分子抓手和参考。

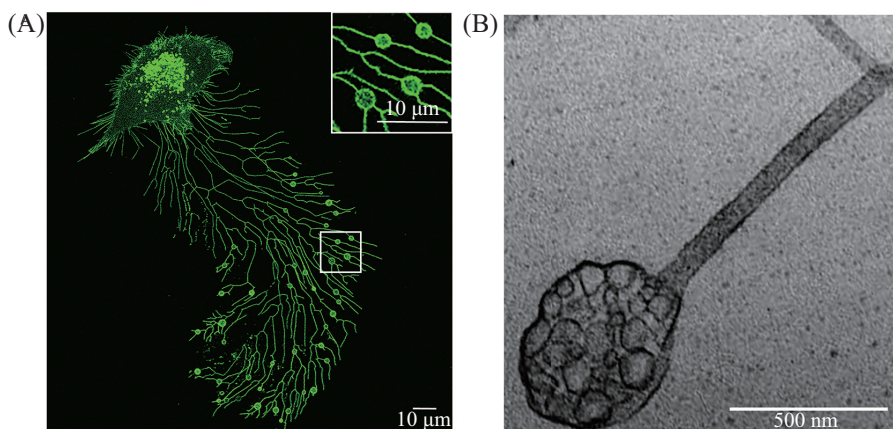
1 迁移体的形态描述及迁移体研究的方法学体系

细胞迁移后端会产生许多被称为收缩丝的长索状结构, 早在1963年, TAYLOR等^[26]便通过透射电镜观察到迁移细胞所产生的收缩丝。在近40年后, ZIMMERMANN等^[27]在迁移细胞中观察到了细胞产生的丝状结构分支处含有结节状肿胀和斑块, 但并未就此展开研究。直到2012年, 俞立教授团队^[1]在某亚细胞结构的分离纯化实验中, 意外看到了形态特殊的“丝-泡结构”, 并就此展开了针对迁移体的系统性探索。在筛选到迁移体标记性蛋白质 TSPAN4

后, 研究人员逐步实现了迁移体的可视化成像^[1]。如图1A中所示, 在体外培养的细胞中, 收缩丝展现出散尾状分布, 其上分布着诸多直径0.5~3.0 μm 的囊泡状结构, 这展示了细胞产生迁移体的经典光学图像。光-电联用显微成像技术的运用, 实现了迁移体的原位透射电子显微镜成像(图1B), 由此发现迁移体是单层膜包被的囊泡状结构, 其内部包含着数量不一、直径约50 nm的小囊泡。因其形态酷似石榴, 故迁移体又名“石榴体”。

基于实时动态可视化成像手段, 研究者们可以观测到迁移体产生的全过程, 并且在斑马鱼胚胎、鸡胚绒毛尿囊膜、小鼠脾脏血管等生物体内研究系统中, 也证实了迁移体的存在^[2-3,5-6]。在更加复杂多变的体内环境中, 迁移体的尺寸和形态或略有变化, 但是基本的“丝-泡结构”是判断迁移体的重要形态学指标。一系列标记蛋白、染料分子以及荧光标记抗体(表1)的应用进一步推进了迁移体的可视化。

近年来, 通过研究者们共同努力, 迁移体研究的方法学体系已基本建立^[28-29], 为迁移体结构的展现及判断提供了方法学基础, 也为迁移体领域的研究划定了基本的标准。目前针对迁移体研究的技术体系主要包括四个方面。(1) 迁移体的形态学观察。可通过光学及电子显微镜成像对迁移体进行观察、检测和特征分析。(2) 迁移体的分离纯化。研究者可通过差速离心法、密度梯度离心法及抗体标记筛选等方法, 从细胞、组织及体液中分离、纯化并富集迁移体, 为进一步的鉴定及功能研究奠定基



A: 表达TSPAN4-GFP的L929细胞产生的迁移体在共聚焦显微镜下的经典光学结构; B: 迁移体在透射电子显微镜下的超微结构。

A: classical optical structure of migrasomes produced by L929 cells expressing TSPAN4-GFP under confocal microscope; B: ultrastructure of migrasomes under transmission electron microscope.

图1 迁移体的光学结构和超微结构

Fig.1 Optical structure and ultrastructure of migrasome

表1 迁移体的标记物
Table 1 Markers of migrasomes

类别 Categories	标记物 Markers	参考文献 References
Marker proteins tagged with fluorescent proteins	Tetraspanins: TSPAN1, TSPAN2, TSPAN4, TSPAN9	[1,30]
	Integrins: $\alpha 5$, $\beta 1$	[20]
	NDST1, PIGK, CPQ, EOGT	[14]
	PLC δ (phospholipase C isoform delta) PH domain	[5,19]
	PIP5K1A, Rab35, PLCD3	[19]
	SMS2 (sphingomyelin synthase 2)	[18]
Fluorescence-conjugated antibodies	CD146, CD44, CD73, CD90, CD105, CD166, CD9, CD63, CD81, TSPAN2, TSPAN4	[7]
	Integrins: $\alpha 5$, $\beta 1$	[7,20]
	NDST1, PIGK, CPQ, EOGT	[14]
	PIP2 (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate)	[19]
	Ceramide, SMS2	[18]
	Fluorescence visualization dyes	WGA (wheat germ agglutinins)
	Filipin III	[23]
	FM4-64	[22]
	NT-lysenin	[18]

础。(3) 迁移体的生化指标检测。目前已建立针对迁移体的系列生化标记蛋白质检测指标体系^[14], 其中包括阳性标记蛋白质及阴性对照蛋白质, 可以通过多标记物的综合检测来进一步确定迁移体的丰度及纯度。(4) 迁移体生物发生的调控。通过对迁移体生物发生及调控的相关基因^[1,18-20,23]进行基因编辑或应用针对目标蛋白质的激动剂或抑制剂, 实现对迁移体数量的调节, 从而进一步推动迁移体形成机制及生物学功能的研究。

2 迁移体的理化性质

迁移体是一种重要的细胞器, 其化学组成包括蛋白质、脂质以及核酸等组分。MA等^[1]的研究工作展示出迁移体具有丰富的蛋白质组成。运用分离纯化的细胞迁移体进行蛋白质质谱分析可知, 迁移体蛋白质中约60%的蛋白质与膜相关, 约9%的蛋白质与细胞外基质相关。根据蛋白质的功能划分, 迁移体中的蛋白质包括细胞骨架蛋白、细胞黏附蛋白和囊泡运输相关蛋白等, 这些蛋白质可能指向了迁移体的形成机制以及内容物分选等过程。在运用定量质谱分析后, 我们看到相较于细胞胞体, 约577种蛋白质被检测到会在迁移体上富集^[14], 这些在迁移体中富集的蛋白质涉及细胞迁移、细胞基质黏附、脂质降解过程以及蛋白质糖基化和糖蛋白代谢等生物

过程, 且其蛋白质组成与细胞外囊泡, 如外泌体, 有较高的区分度。这说明迁移体具有独特的蛋白质组成, 且具有选择性富集某些蛋白质的能力。值得一提的是, 迁移体内还包含核糖体蛋白质, 并且具备核糖体的结构及功能, 这提示在迁移体内很可能发生着蛋白质的原位合成^[10], 这也会成为迁移体内蛋白质的一种补给途径。

迁移体是脂膜包被的结构, 且其内会包含数量不一的小囊泡, 因此脂质成分对迁移体的结构以及功能非常重要。据已有报道可知, 迁移体的脂质组成很有特点。相较于细胞膜及细胞整体脂质组成, 迁移体上含有更为富集的鞘磷脂以及神经酰胺, 这提示该两种类型的脂成分可能参与迁移体的形成^[18]。另外, 通过Filipin III染色及定量测算可知, 迁移体上还含有丰富的胆固醇^[23], 这是影响迁移体膜的物理特性及结构形成的关键。

迁移体内还包含有丰富的核酸成分。荧光染色结果展示迁移体内包含RNA, 进一步运用测序分析发现, 迁移体内所含的RNA主要是mRNA, 涉及细胞代谢、内膜运输、细胞黏连、囊泡融合以及亚细胞膜性结构组装等细胞生命活动过程, 同时通过迁移体传递给受体细胞的mRNA仍具有其生物学功能, 会参与受体细胞的生命活动^[10]。由于细胞可以通过产生迁移体来代谢受损的线粒体, 我们推测迁移体

内包含线粒体DNA^[2], 而迁移体内的DNA具体组分及作用还有待进一步探索。

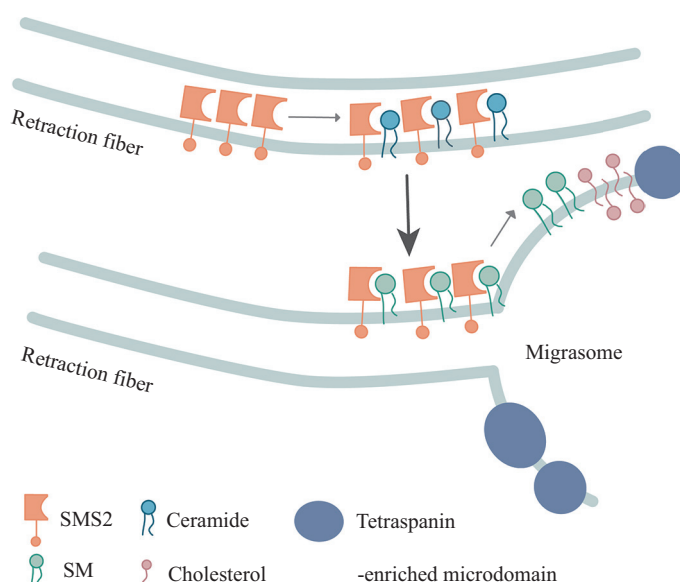
基于如上研究, 我们已知迁移体膜上会富集胆固醇、鞘磷脂、神经酰胺等脂成分以及TSPAN家族蛋白质。这些组分会倾向于形成TSPAN富集的微结构域^[32], 其具有流动性较差、弯曲刚度较高等独特的物理学特性。因此, 由TSPAN富集的微结构域进一步组装形成的迁移体具有了更高的弯曲刚度^[23]。这是迁移体的基本物理学特性, 为进一步理解其形成过程和作用功能奠定了基础。

3 SMS2聚集灶决定迁移体的产生

SMS2是哺乳动物细胞中主要的鞘磷脂合酶之一, 主要位于细胞质膜, 可以将到达质膜的神经酰胺(ceramide)转化成鞘磷脂(sphingomyelin, SM)^[33]。在迁移细胞中, SMS2蛋白质会锚定至细胞迁移前沿基底膜上并组装形成SMS2聚集灶。SMS2聚集灶形成后不会移动, 最终会滞留在收缩丝上, 随后在该聚集灶位置逐渐形成迁移体。SMS2聚集灶的形成是目前可观测到的迁移体形成事件的起始点, 可以说SMS2聚集灶的形成决定了迁移体的产生。细胞内SMS2聚集灶形成后黏附于细胞底面, 似乎与黏着斑^[34]相似。然而, 黏着斑的组成部分整合素 $\alpha 5$ 、整合素 $\beta 1$ 的活性形式或标志物桩蛋白(paxillin)并不与细胞内的

SMS2聚集灶共定位, 说明SMS2聚集灶的形成并不依赖黏着斑^[18], 而SMS2聚集灶的黏附机制还有待进一步探究。

SMS2对迁移体的生长和维持有重要作用(图2)。LIANG等^[18]研究表明, 敲低*Sgms2*基因或使用SMS2抑制剂几乎完全阻断了迁移体的形成, 而使用shRNA抗性*Sgms2*质粒或回补鞘磷脂则挽救了迁移体的形成。此外, SMS2-GFP的过表达显著增加了迁移体的数量和大小, 而在SMS2敲除细胞中回补缺乏鞘磷脂合成酶活性的显性失活突变体则显著降低了迁移体的数量和大小, 说明SMS2所依赖的鞘磷脂合成对迁移体的生长是必需的。外加鞘磷脂水解酶会直接瓦解迁移体的结构, 预示着鞘磷脂在维持和稳定迁移体结构方面发挥作用。对鞘磷脂与神经酰胺的染色结果显示, 二者都在迁移体膜上富集, 却展现出不同的模式。神经酰胺在不同迁移体上分布不均匀, 而迁移体上鞘磷脂水平随着迁移体生长不断增加, 表明神经酰胺可以在迁移体上主动转化为鞘磷脂^[18], 从而进一步推动迁移体的形成和稳定。在此过程中, 合成长链神经酰胺所需的神经酰胺合酶5(ceramide synthase 5, CerS5)和将神经酰胺从内质网转运至高尔基体的神经酰胺转运蛋白(ceramide-transporting protein, CERT)发挥正常功能也是迁移体形成的必要条件^[18]。



SMS2聚集灶在迁移细胞前沿组装, 决定迁移体的产生。

SMS2 foci assemble at the leading edge of migrating cells and determine migrasome formation.

图2 SMS2聚集灶决定迁移体的产生(根据参考文献[18]改编)

Fig.2 Migrasome formation is determined by SMS2 foci (adapted from reference [18])

早在迁移细胞的前沿, 迁移体形成与否已被决定, 这说明迁移体的形成是受细胞主动调控的生物学过程。然而在这个过程中仍留有诸多未知。研究者观测到SMS2聚集灶和神经酰胺斑点在迁移体形成位点上存在共定位, 这暗示了鞘磷脂的合成可能是由SMS2聚集灶和神经酰胺斑点的融合所触发的^[18], 但由于缺乏神经酰胺的活细胞成像监测手段, 无法对此猜想进行检验, 因此鞘磷脂合成的触发时机仍待进一步确定。此外, SMS2聚集灶的形成及组装机制、组装位点的特异性选择、SMS2聚集灶与基底如何黏附等都仍需进一步研究。

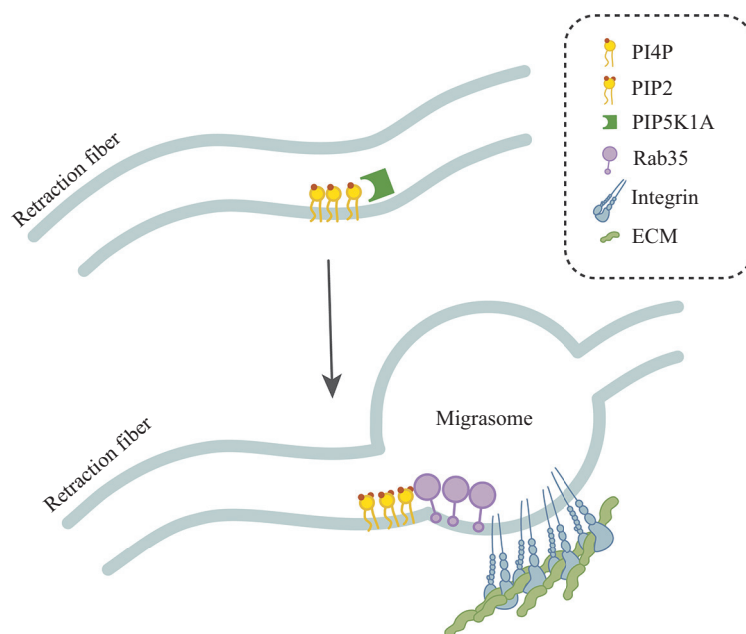
4 PIP2-Rab35轴调控迁移体的形成

PIP2是细胞膜上的一种重要的磷脂酰肌醇, 参与调节多种亚细胞过程^[35]。虽然细胞质膜上的PIP2含量较低, 但是其可以作为重要的信号分子发挥作用^[36]。细胞内, PIP2的生物合成主要是由I型磷脂酰肌醇4-磷酸5-激酶(type I phosphatidylinositol 4-monophosphate 5-kinases, PIP5Ks)催化磷脂酰肌醇4-磷酸(phosphatidylinositol 4-phosphate, PI4P)第五位上的磷酸化介导的。PIP5Ks主要包括3个亚型(α 、 β 、 γ)^[37]。在迁移体的早期研究中发现, 荧光蛋白标记的PIP2蛋白探针——来源于磷脂酶C(phospholipase C isoform

delta, PLC δ)的PH domain可以清晰标记迁移体, 并被用来实现了斑马鱼胚胎发育过程中的迁移体示踪^[5], 说明PIP2在迁移体上存在。随后的研究显示, PIP2不仅在成熟迁移体上富集, 甚至在迁移体形成早期已经出现PIP2的富集聚点。研究者通过基因编辑及筛选技术, 发现磷脂酰肌醇4-磷酸5-激酶1A(phosphatidylinositol 4-monophosphate 5-kinase 1A, PIP5K1A)定位于迁移体, 并且抑制其酶活性会显著影响迁移体的形成, 进而确认迁移体形成位点的PIP2是由PIP5K1A参与合成的。

那么, PIP2是如何参与迁移体形成的呢? 通过筛选定位于迁移体的PIP2结合蛋白质, 研究者们关注到了Rab35。Rab35是Rab GTPase的一种, 可以在内体循环等过程中起到调节PIP2和肌动蛋白的作用^[38]。DING等^[19]研究表明, Rab35可以在收缩丝的分支点集中分布, 而敲除或抑制PIP5K1A可以阻止Rab35定位到迁移体。进一步敲除Rab35基因会严重阻断迁移体的形成, 而回补野生型Rab35和GTPase缺陷的组成型活性突变体可以挽救这一表型, 但显性失活突变体或无法与PIP2相互作用的突变体则无法实现。这表明Rab35可以被PIP2招募到迁移体形成位点, 从而介导PIP2下游的迁移体生物发生^[19](图3)。

迁移体是细胞迁移高度依赖的细胞结构, 细



PIP2-Rab35轴调控迁移体产生, 并招募介导迁移体黏附的整合素蛋白质。

PIP2-Rab35 axis mediates migrasome formation and further recruits integrins to establish migrasome anchoring points.

图3 PIP2-Rab35轴调控迁移体的形成(根据参考文献[19]改编)

Fig.3 PIP2-Rab35 axis regulates migrasome formation (adapted from reference [19])

胞收缩丝及迁移体的产生依赖细胞与基底的黏附。Rab35可以通过招募整合素来实现迁移体的黏附,并进一步参与调控迁移体的生长。在富含整合素 $\alpha 5$ 的正常大鼠肾细胞(NRK细胞)中,整合素 $\alpha 5$ 富集在迁移体底部,而敲除Rab35则导致整合素 $\alpha 5$ 沿收缩丝均匀分布^[19]。前人研究发现,整合素 $\alpha 5$ 的近膜GFFKR基序可以介导其与Rab21的相互作用^[39]。用含有该基序的透膜肽处理细胞可以竞争性消除整合素定位和迁移体形成,表明Rab35介导的整合素募集是迁移体形成的关键步骤^[19]。然而,DING等^[19]无法通过免疫共沉淀证明Rab35和整合素 $\alpha 5$ 之间的直接相互作用,可能是由于检测膜蛋白的弱相互作用存在技术上的困难,也可能由于两种蛋白质之间的相互作用是间接的。这项研究不仅揭示了迁移体形成的信号调控机制,而且扩充了干预迁移体形成的手段,为迁移体病理生理研究提供了有力支持。

5 整合素与细胞外基质的互作参与迁移体的黏附

细胞黏附是实现细胞迁移的先决条件。整合素是跨膜受体的一类,可与不同的细胞外基质(extra cellular matrix, ECM)配对,实现细胞的黏附^[40]。当细胞迁移时,迁移体黏附在底部基质上,这意味着迁移体在其形成位点与基质之间存在相互作用。事实上,研究表明,整合素 $\alpha 5\beta 1$ 在迁移体底部富集,且整合素 $\beta 1$ 处于与配体结合的激活状态。通过实时荧光成像,可以看出在收缩丝上整合素的富集要早于迁移体标记蛋白TSPAN4,而在NRK细胞中,整合素 $\alpha 5$ 的敲低会抑制迁移体的产生,说明整合素在迁移体形成早期发挥重要作用。更有趣的是,研究者发现富含整合素 $\alpha 5$ 的NRK细胞在纤连蛋白包被的培养皿上产生更多的迁移体,而在NRK细胞中过表达整合素 $\alpha 3$ -GFP,则会使其在层黏连蛋白511包被的培养皿上产生更多的迁移体。同样,过表达整合素 $\alpha 3$ -GFP的中国仓鼠卵巢细胞(CHO细胞),更倾向于在IV型胶原蛋白包被表面上产生迁移体^[20]。这说明迁移体的形成取决于特定整合素-ECM的配对。已知细胞胞体是通过黏着斑内的整合素与ECM的相互作用来实现细胞黏附的^[34],但是黏着斑的标记物并不定位于迁移体上^[20],说明迁移体的黏附原理具有特殊性。而LU等^[41]发现,ROCK1可以通过与纤连蛋白黏附以产生牵引力的作用来调节迁移体的形成,进一步印证了这一点。

6 TSPAN富集的巨结构域实现迁移体的形成

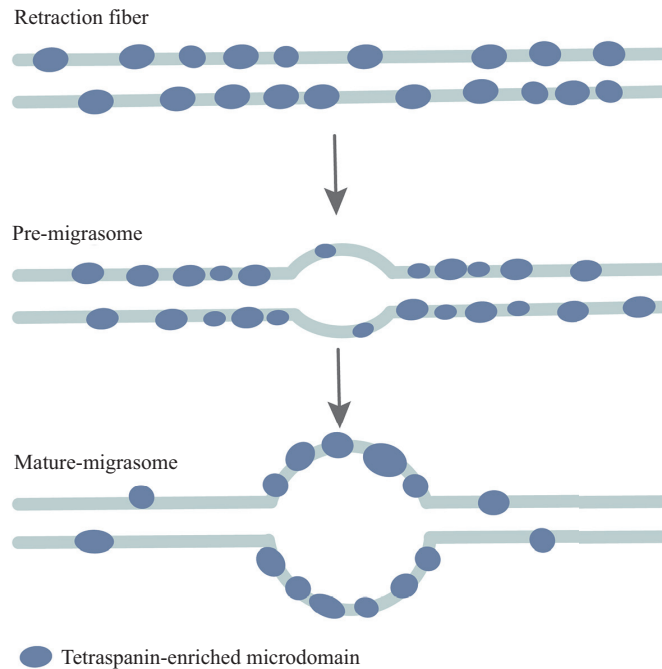
TSPAN(tetraspanin)是四次跨膜蛋白质家族,在哺乳动物细胞中包括33个家族成员,具有保守的四级结构。TSPAN蛋白质会招募如整合素等其他蛋白质,以及胆固醇等脂成分形成TSPAN富集的微结构域(tetraspanin-enriched microdomain, TEM)^[32],这是具有特殊物理特性的结构单元。

在早期迁移体的研究中,TSPAN4就被筛选鉴定为迁移体的分子标记物^[1]。后续研究进一步发现,TSPAN4会伴随迁移体的形成和生长在其上高度富集,并且敲除Tspan4基因会显著降低迁移体的数量,这说明TSPAN4蛋白质参与了迁移体的形成。并且TEM的关键脂成分——胆固醇在迁移体上高度富集,去除胆固醇后细胞迁移体几乎无法形成^[23]。以上结果说明TSPAN4和胆固醇对于迁移体的形成至关重要。

共振扫描模式的共聚焦显微成像进一步展示出了TEM在迁移体上高速动态运动并逐渐富集的过程,提示迁移体形成过程中的TEM会进一步组装成微米级的TSPAN富集的巨结构域(tetraspanin-enriched macrodomain, TEMA),甚至可以说迁移体就是TEMA的具体呈现。迁移体体外重构系统的建立和应用进一步聚焦TSPAN4蛋白质和胆固醇,研究者发现基于基本的膜脂成分,只要存在适量的TSPAN4蛋白质及胆固醇就可以重构出迁移体结构,因此说明了TSPAN4及胆固醇对于迁移体形成的充分性,同时体外重建过程中实时观测到的TEM局部富集组装也印证了TEM进一步组装为TEMA的过程介导了迁移体的形成^[23]。

然而为什么TEM的进一步组装会促使迁移体结构的形成?研究者通过生物物理模拟和计算,提出了TEM的局部富集和组装提升了膜的弯曲刚度,诱发了膜的自发弯曲膨大从而形成了迁移体的理论模型,并进一步通过实验测量弯曲刚度对该模型进行了验证,从根本上解释了迁移体结构产生的分子基础^[23]。

DHARAN等^[22]运用活细胞成像和巨大质膜囊泡(giant plasma-membrane vesicle, GPMV)仿生系统对TSPAN4参与的迁移体形成过程进行研究,发现迁移体的形成可分为两个阶段(图4)。在第一阶段,RF上形成小的局部肿胀,此时肿胀区域很大程度上不



TSPAN-胆固醇富集的微结构域感知收缩丝上的微小曲率变化, 富集组装成巨结构域的过程实现了迁移体的形成。

TSPAN-cholesterol enriched microdomains assemble into macrodomains via curvature sensing, which mediates migrasome formation.

图4 TSPAN富集的巨结构域实现迁移体的形成(根据参考文献[22-23]改编)

Fig.4 Migrasome formation is realized by TSPAN-enriched macrodomains (adapted from references [22-23])

含TSPAN4, 在GPMV系统中由膜张力跳跃介导。在第二阶段, TSPAN4向肿胀处迁移并富集, 这些肿胀的尺寸增大到几微米成为成熟迁移体。DHARAN等^[21-22]进一步认为TSPAN4组装成TEMA可以降低TSPAN4的固有曲率, 导致其迁移到具有较小曲率的膜肿胀上, 从而有效稳定膜肿胀并促进迁移体的成熟。以上研究证实了TEM组装成TEMA的过程能够驱动迁移体的形成, 并且从生物物理学角度进行了进一步阐释, 为迁移体形成机制研究打开了新的思路。此外, LIANG等^[18]研究表明, SMS2的敲低可以抑制胆固醇的募集, 而添加鞘磷脂则可以挽救这一表型, 可能意味着SMS2介导的鞘磷脂合成可以促进TEMA的组装。

7 总结与展望

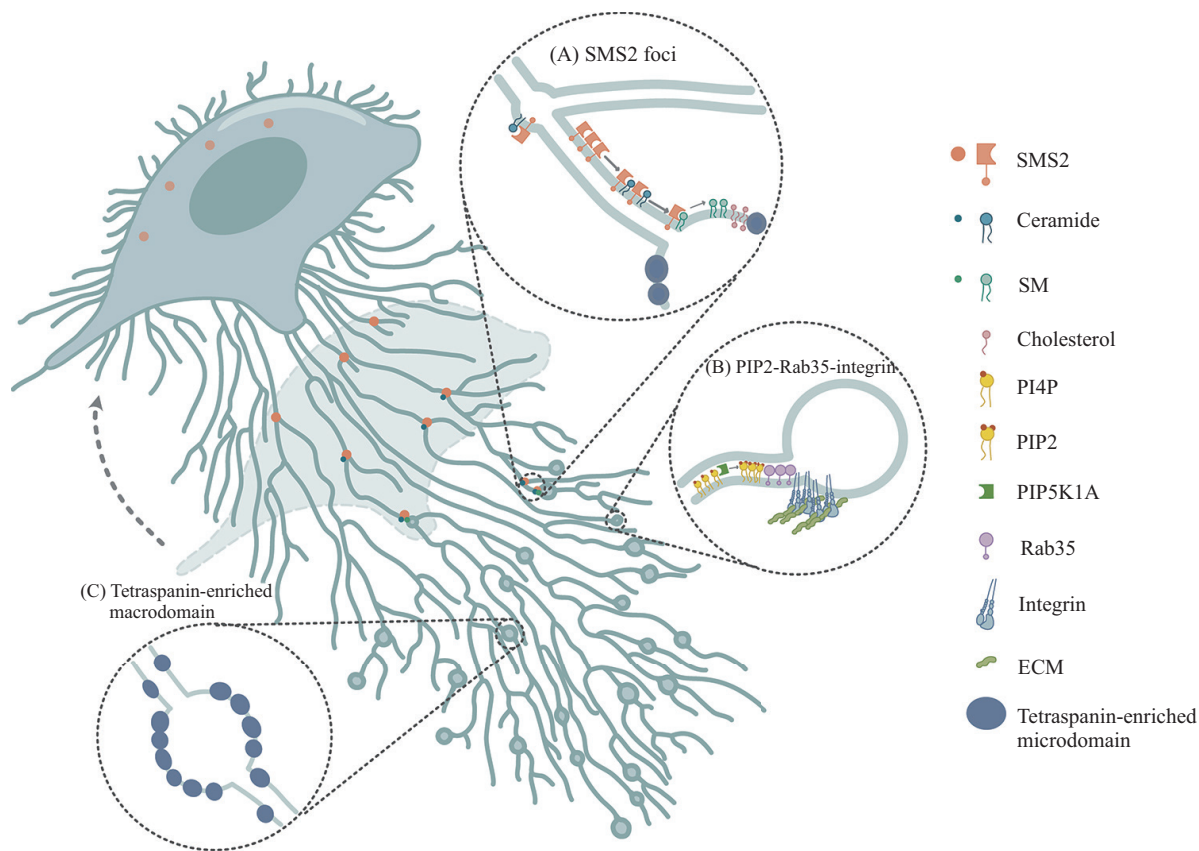
通过对迁移体形成和调控机制的相关研究进行梳理与总结, 本文初步描绘出了迁移体生物发生的时空图谱(图5)。在细胞迁移前端基底膜上SMS2聚集灶的形成以及原位鞘磷脂的生成决定了迁移体的产生。PIP5K1A在收缩丝上局部富集催化产生PIP2, PIP2通过与Rab35的相互作用进一步招募整合素蛋白, 整合素蛋白与细胞外基质的相互作用实现迁移体与

细胞外基质的黏附, 从而确定了迁移体的形成位点。TSPAN-胆固醇富集结构域响应曲率变化, 进一步富集并组装形成TEMA, 最终实现了迁移体的形成。

近年来, 关于迁移体的研究稳步推进, 使得人们对迁移体的结构、理化性质、形成机制及生物学功能有了基本的认知。然而, 由于迁移体的组成、发生机制和调控过程均极具复杂性, 其中有诸多关键环节仍然未知, 包括迁移体生物组成的异质性, 迁移体生物发生的周期性, 迁移体内含物的分选、装配及释放, 迁移体最终命运, 迁移体生物发生与细胞应激的关系等。期待通过研究者们共同努力, 能够在不久的将来绘制出更完整连贯的迁移体生物发生过程的时空图谱, 这将为进一步深入理解迁移体在胚胎发育、血管新生、免疫反应、神经退行性疾病及癌症发生发展等生理及病理过程中的生物学功能提供有力切入点, 为探索迁移体在更多生命活动中的生物学意义奠定基础, 也将为迁移体临床导向的应用转化打开思路。

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.



A: SMS2聚集灶在细胞迁移前沿决定迁移体的产生。B: PIP2-Rab35轴调控迁移体的发生, 并招募整合素分子介导迁移体黏附。C: TSPAN-胆固醇富集的巨结构域组装最终实现迁移体的形成。

A: SMS2 foci determine migrasome formation. B: PIP2-Rab35 axis modulates migrasome biogenesis and recruits integrins to mediate migrasome adhesion. C: assembly of TSPAN-cholesterol enriched macrodomain finally realize migrasome formation.

图5 迁移体生物发生的时空图谱

Fig.5 The spatio-temporal map of migrasome biogenesis

- [2] JIAO H, JIANG D, HU X, et al. Mitocytosis, a migrasome-mediated mitochondrial quality-control process [J]. *Cell*, 2021, 184(11): 2896-910, e13.
- [3] 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.
- [4] SCHMIDT-POGODA A, STRECKER J K, LIEBMANN M, et al. Dietary salt promotes ischemic brain injury and is associated with parenchymal migrasome formation [J]. *PLoS One*, 2018, 13(12): e0209871.
- [5] 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.
- [6] ZHANG C, LI T, YIN S, et al. Monocytes deposit migrasomes to promote embryonic angiogenesis [J]. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(12): 1726-38.
- [7] DENIZ I A, KARBANOVA J, WOBUS M, et al. Mesenchymal stromal cell-associated migrasomes: a new source of chemoattractant for cells of hematopoietic origin [J]. *Cell Commun Signal*, 2023, 21(1): 36.
- [8] LI T, SU X, LU P, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived dermcidin-containing migrasomes enhance LC3-associated phagocytosis of pulmonary macrophages and protect against post-stroke pneumonia [J]. *Adv Sci*, 2023, 10(22): e2206432.
- [9] 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.
- [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] ZHANG N, GAO S, ZHANG L. Chikungunya virus nsP1 induces migrasome formation [J]. *J Infect*, 2022, 85(5): 158-61.
- [12] LIU Y, ZHU Z, LI Y, et al. Migrasomes released by HSV-2-infected cells serve as a conveyance for virus spread [J]. *Virol Sin*, 2023, 38(4): 643-5.
- [13] LÜ L, ZHANG L. Identification of poxvirus inside migrasomes suggests a novel mode of mpox virus spread [J]. *J Infect*, 2023, 87(2): 160-2.
- [14] ZHAO X, LEI Y, ZHENG J, et al. Identification of markers for migrasome detection [J]. *Cell Discov*, 2019, 5: 27.
- [15] ZHANG Y, WANG J, DING Y, et al. Migrasome and tetraspanins in vascular homeostasis: concept, present, and future [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, doi: 10.3389/fcell.2020.00438.
- [16] 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.
- [17] WU L, YANG S, LI H, et al. TSPAN4-positive migrasome derived from retinal pigmented epithelium cells contributes to the development of proliferative vitreoretinopathy [J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 519.
- [18] 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.
- [19] DING T, JI J, ZHANG W, et al. The phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate-rab35 axis regulates migrasome formation [J]. *Cell Res*, 2023, 33(8): 617-27.
- [20] 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.
- [21] DHARAN R, GOREN S, CHEPPALI S K, et al. Transmembrane proteins tetraspanin 4 and CD9 sense membrane curvature [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(43): e2208993119.
- [22] DHARAN R, HUANG Y, CHEPPALI S K, et al. Tetraspanin 4 stabilizes membrane swellings and facilitates their maturation into migrasomes [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 1037.
- [23] 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.
- [24] FAN C, SHI X, ZHAO K, et al. Cell migration orchestrates migrasome formation by shaping retraction fibers [J]. *J Cell Biol*, 2022, 221(4): e202109168.
- [25] WANG M, XIONG C, MERCURIO A M. PD-L1 promotes rear retraction during persistent cell migration by altering integrin $\beta 4$ dynamics [J]. *J Cell Biol*, 2022, 221(5): e202108083.
- [26] TAYLOR A C, ROBBINS E. Observations on microextensions from the surface of isolated vertebrate cells [J]. *Dev Biol*, 1963, 7: 660-73.
- [27] ZIMMERMANN H, RICHTER E, REICHLER C, et al. Mammalian cell traces-morphology, molecular composition, artificial guidance and biotechnological relevance as a new type of "bionotube" [J]. *Appl Phys A*, 2001, 73(1): 11-26.
- [28] CHEN Y, LI Y, MA L, et al. Detection of migrasomes. In: *gautreau, A, eds. Cell migration methods in molecular biology* [M]. New York: Springer, 2018: 43-9.
- [29] JIANG D, LI Y, YU L. Detection, purification, characterization, and manipulation of migrasomes [J]. *Curr Protoc*, 2023, 3(8): e856.
- [30] HUANG Y, YU L. Tetraspanin-enriched microdomains: the building blocks of migrasomes [J]. *Cell Insight*, 2022, 1(1): 100003.
- [31] CHEN L, MA L, YU L. WGA is a probe for migrasomes [J]. *Cell Discov*, 2019, 5: 13.
- [32] ZUIDSCHERWOUDE M, GÖTTFERT F, DUNLOCK V M E, et al. The tetraspanin web revisited by super-resolution microscopy: I [J]. *Sci Rep*, 2015, 5(1): 12201.
- [33] HUITEMA K, VAN DEN DIKKENBERG J, BROUWERS J F, et al. Identification of a family of animal sphingomyelin synthases [J]. *EMBO J*, 2004, 23(1): 33-44.
- [34] WEHRLE-HALLER B. Structure and function of focal adhesions [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2012, 24(1): 116-24.
- [35] KOLAY S, BASU U, RAGHU P. Control of diverse sub-cellular processes by a single multi-functional lipid phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate [PI(4,5)P2] [J]. *Biochem J*, 2019, 473(12): 1681-92.
- [36] HAMMOND G R V. Does Ptdins(4,5)P2 concentrate so it can multi-task [J]? *Biochem Soc Trans*, 2016, 44(1): 228-33.
- [37] CHEN X, WAN J, YU B, et al. PIP5K1 α promotes myogenic differentiation via AKT activation and calcium release [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 33.
- [38] KLINKERT K, ECHARD A. Rab35 GTPase: a central regulator of phosphoinositides and F-actin in endocytic recycling and beyond [J]. *Traffic*, 2016, 17(10): 1063-77.
- [39] PELLINEN T, TUOMI S, ARJONEN A, et al. Integrin trafficking regulated by Rab21 is necessary for cytokinesis [J]. *Dev Cell*, 2008, 15(3): 371-85.
- [40] ZAIDEL-BAR R. Job-splitting among integrins [J]. *Nat Cell Biol*, 2013, 15(6): 575-7.
- [41] LU P, LIU R, LU D, et al. Chemical screening identifies Rock1 as a regulator of migrasome formation [J]. *Cell Discov*, 2020, 6(1): 51.