

# 树突状细胞迁移行为刚度感知关键分子研究

许喻钧<sup>1,2,3#</sup>, 刘洋<sup>2,3#</sup>, 安宸毅<sup>1,2\*</sup>, 曾柱<sup>1,2,3,4\*</sup>

(1. 贵州医科大学基础医学院, 贵阳 561113; 2. 贵州医科大学生物与工程学院, 贵阳 561113;

3. 贵州省感染免疫与抗体工程重点实验室, 贵阳 561113; 4. 贵州省细胞免疫治疗工程技术中心, 贵阳 561113)

**摘要:**目的 探索树突状细胞(dendritic cells, DCs)通过感知细胞外力学微环境变化动态调整其迁移行为的分子机制。方法 通过构建不同刚度水凝胶基底解析DC力学微环境对其迁移行为的调控作用;通过构建大鼠肝脏纤维化模型,并利用免疫组化实验,探究肝脏纤维化对DC迁移能力的影响;通过生信分析人/小鼠纤维化肝脏单细胞测序数据寻找介导DC迁移行为力学感知的关键分子,并利用RT-qPCR验证上述关键分子在不同刚度基底上小鼠DC中的表达量。结果 DC在硬基底上迁移能力显著低于较软基底;大鼠纤维化肝脏中的DC浸润增加;肝硬化患者与正常人肝脏浸润DC相比存在682个差异表达基因,进一步通过KEGG和GO通路富集分析并聚焦细胞骨架调控、迁移相关基因,筛选出12个可能介导DC迁移刚度感知的关键分子。其中,AIF1、GPR65、MYL12B、RAC1、RHOG基因在肝硬化患者中表达上调,而ACTB、ACTG1、ARF6、CDC42、COTL1、PFN1、TMSB10等基因表达下调。培养在硬基底上的小鼠DC中ACTB、CDC42表达量下调,与人体肝硬化患者肝DC情况中情况一致。结论 肝脏纤维化潜在导致DC迁移能力受损,进而导致DC浸润增加,ACTB、CDC42两种分子有可能是介导DC迁移行为刚度感知的关键调控分子。研究结果为改善DC介导的抗肿瘤免疫功能提供理论依据和新策略。

**关键词:** 树突状细胞; 肝硬化; 细胞刚度; 骨架调节蛋白

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2024.06.025

## Key Molecules for Stiffness Sensing of Dendritic Cell Migration Behavior

XU Yujun<sup>1,2,3#</sup>, LIU Yang<sup>2,3#</sup>, AN Chenyi<sup>1,2\*</sup>, ZENG Zhu<sup>1,2,3,4\*</sup>

(1. School of Basic Medical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang 561113, China; 2. School of Biology and Engineering, Guizhou Medical University, Guiyang 561113, China; 3. Key Laboratory of infectious Immunity and Antibody Engineering in Guizhou Province, Guiyang 561113, China; 4. Center of Cellular Immunotherapy Engineering Technology of Guizhou, Guiyang 561113, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the molecular mechanisms by which dendritic cells (DCs) detect variations in the extracellular mechanical microenvironment and dynamically adjust their migration behavior. **Methods** Hydrogel substrates with varied stiffness were constructed to investigate the influence of the mechanical microenvironment on the DC migration behavior. A fibrotic rat liver model was established in combination with immunohistochemistry experiments to investigate the effect of liver fibrosis on the DC migration capability. Furthermore, potential key molecules involved in the mechanical sensing cascade during DC migration were

收稿日期:2024-05-09; 修回日期:2024-06-09

基金项目:国家自然科学基金项目(12132006, 32371373, 12102389, 12362029)

通信作者:曾柱,教授,博士生导师,E-mail: zengzhu@gmc.edu.cn;安宸毅,教授,博士生导师,E-mail: anchenyi@gmc.edu.cn

#为共同第一作者,\*为共同通信作者

analyzed using single-cell sequencing data from human/mouse fibrotic livers. Moreover, RT-qPCR was used to examine the expression levels of these key molecules in mouse DCs on substrates of different stiffness. **Results** The migration capability of DCs on stiff substrates was significantly lower than that on soft substrates. The DC infiltration in fibrotic rat livers increased, and 682 differentially expressed genes (DEGs) were observed between liver-infiltrating DCs from cirrhosis patients and normal individuals. Furthermore, focusing on genes relevant to cytoskeleton regulation and migration based on KEGG and GO pathway enrichment analysis, 12 potential key molecules mediating stiffness detection during DC migration were identified. Among these, the expression levels of AIF1, GPR65, MYL12B, RAC1, and RHOG were upregulated in patients with liver cirrhosis, whereas those of ACTB, ACTG1, ARF6, CDC42, COTL1, PFN1, and TMSB10 were downregulated. Subsequently, the expression levels of ACTB and CDC42 were downregulated in mouse DCs grown on stiff substrates. This was consistent with the circumstance of liver-infiltrating DC in human cirrhotic patients. **Conclusions** Liver fibrosis potentially impairs DC migration and thereby, results in increased DC infiltration. ACTB and CDC42 are potential regulators of DC stiffness during migration. This study has provided a theoretical basis and an inspiring novel strategy for optimizing DC-mediated antitumor immune functions.

**Key words:** dendritic cells; cirrhosis; cell stiffness; skeleton regulatory proteins

树突状细胞(dendritic cells, DCs)作为专职抗原提呈细胞,在体内分布广泛,是连接机体先天性免疫反应和适应性免疫反应的桥梁<sup>[1-3]</sup>。基于 DC 的免疫治疗方案一直是生物医学领域的研究热点,然而其临床效果仍不理想<sup>[4-5]</sup>。研究表明,DC 迁移到肿瘤部位和肿瘤相关淋巴部位的能力是诱导抗肿瘤免疫应答的关键:增加 DC 向引流淋巴结的迁移能够使肿瘤病人的生存时间大幅延长<sup>[6]</sup>。由此可见,DC 肿瘤疫苗的迁移效率与肿瘤患者的生存率密切相关<sup>[6]</sup>。改善肿瘤患者体内 DC 的迁移能力,能够进一步提升基于 DC 的免疫治疗效果。

DC 在发挥其免疫功能的过程中经历复杂、剧烈的力学微环境变化。自其前体细胞出骨髓后,DC 就在皮肤、黏膜表面和机体大多数实体器官中存在<sup>[2,7]</sup>。而人体各组织的刚度范围跨越极大,从 0.5 kPa(脑组织)到 20 GPa(骨)<sup>[8-9]</sup>。此外,疾病同样可能导致 DC 的力学微环境发生剧烈变化<sup>[8,10-11]</sup>。例如,在人体纤维化肝脏与 CCl<sub>4</sub> 诱导的大鼠纤维化肝脏模型中,肝脏刚度均与纤维化程度呈正相关<sup>[12]</sup>。并且,肝纤维化可进一步发展为肝硬化甚至肝癌。研究显示,90% 以上的肝癌均由肝硬化发展而来,在这一过程中,肝组织刚度将进一步增加<sup>[13-14]</sup>。而 DC 迁移行为与其所处的力学微环境密切相关。Choi 等<sup>[15]</sup>研究发现,细胞外基质的刚度能够调控 DC 的迁移行为:随着环境刚度的增加,DC 运动变缓慢,持续时间变短。因此,随着肝

脏的纤维化进程,肝脏刚度增加很可能导致 DC 迁移能力受到抑制,DC 无法有效从肝脏迁移到淋巴结,以及将肝脏组织中摄取的抗原有效呈递给 T 细胞。组织刚度增加导致的 DC 迁移能力抑制,将是机体免疫系统抗肿瘤免疫功能发挥的关键瓶颈。然而,介导 DC 迁移行为力学感知的关键分子仍未明确。

为了解析 DC 迁移行为力学感知的关键分子,本文首先利用不同刚度水凝胶开展体外 DC 迁移实验,解析 DC 力学微环境对其迁移行为的调控作用;随后通过构建大鼠肝脏纤维化模型并利用免疫组化实验探究肝脏纤维化对 DC 迁移能力的影响;分别利用已发表的人、小鼠纤维化肝脏单细胞测序结果,分析纤维化肝脏和正常肝脏中 DC 的差异表达基因(differential expressed genes, DEGs);通过聚焦其中与细胞骨架调控相关的基因,并利用 RT-qPCR 验证,寻找调控 DC 迁移行为力学感知的关键分子。研究结果为调控体内 DC 迁移效率、改善 DC 介导的抗肿瘤免疫功能提供理论依据和新策略。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂及仪器

RPMI-1640 培养基(Gibco 公司,美国),胎牛血清(Vivacell 公司,美国),重组小鼠粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(rmGM-CSF)(Peprotech 公司,美国),脂多糖(LPS)(Peprotech 公司,美国),重组小

鼠白细胞介素-4 (rmIL-4) (Peprotech 公司, 美国), 重组小鼠 ICAM-1/CD54 蛋白 (武汉爱博泰克生物科技有限公司), 天狼猩红染色液 (北京索莱宝科技有限公司), 苏木素伊红 (HE) 染色试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司), Anti-rat OX62 抗体 (Santa Cruz Biotechnology 公司, 美国), 聚二甲基硅氧烷 (PDMS) (Dow Corning 公司, 美国), 3-氨丙基三乙氧基硅烷 (APTES) (上海阿拉丁生化科技股份有限公司), 戊二醛 (GA) (上海麦克林生化科技股份有限公司), 橄榄油 (上海麦克林生化科技股份有限公司),  $\text{CCl}_4$  (上海麦克林生化科技股份有限公司), MLCT-O10 探针 (Bruker 公司, 德国), 逆转录试剂盒 (北京天根生化科技有限公司), 实时荧光定量 PCR 系统 QuantStudio 3 (Thermo Fisher 公司, 美国), 激光共聚焦显微镜 (Nikon 公司, 日本), 原子力显微镜 (Bruker 公司, 德国)。

## 1.2 实验动物

C57BL/6J 小鼠, 雌雄均 6~8 周龄, SD 大鼠, 雌性 6~8 周龄, 均为 SPF 级, 购于贵州医科大学实验动物中心。本研究经贵州医科大学动物伦理委员会批准 (2302045)。

## 1.3 PDMS 水凝胶基底的制备

采用 PDMS (SYLGARD™ 527 A&B Silicone Dielectric Gel) 胶构建不同刚度的水凝胶基底: PDMS 胶 A、B 组分别按照不同比例混合制备出不同刚度的 2D 迁移基底。软基底比例 A:B=1.2, 硬基底比例 A:B=0.3。将 PDMS 按上述比例混合, 60 °C 聚合 8 h。将制备好的 PDMS 水凝胶底物浸泡在 10% APTES 中, 50 °C 处理 2 h, 随后浸入 2.5% 戊二醛溶液中室温处理 1 h 进行改性。改性好的 PDMS 水凝胶用 75% 乙醇在超净工作台进行无菌处理后, 浸泡在 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 ICAM-1 中, 4 °C 过夜。去除蛋白溶液, 用 PBS 洗涤样品两次, 进行细胞培养。

## 1.4 PDMS 水凝胶基底的刚度检测

利用原子力显微镜对 PDMS 水凝胶的刚度进行检测。使用 MLCT-O10 探针 (Bruker 公司, 德国), 在 PBS 溶液中对 PDMS 样品进行测量, 利用赫兹模型对所得到的“力-距离”曲线拟合, 得到水凝胶的刚度。

## 1.5 骨髓来源的树突状细胞分离和培养

从 C57BL/6J 小鼠的股骨和胫骨中提取骨髓细

胞, 使用红细胞裂解液去除红细胞。剩余细胞经 200 目滤网过滤后置于含 10% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素、20 ng/mL rmGM-CSF 和 10 ng/mL rmIL-4 的 RPMI 1640 培养液中培养 7 d 获得 imDC, 随后利用 100 ng/mL LPS 刺激 24 h, 使其定向诱导分化为成熟树突状细胞 (mDC) (本文均以 mDC 为研究对象, 以下简称 DC)。

## 1.6 细胞迁移行为分析

DC 在 PDMS 水凝胶基底上培养 12 h 后, 用活细胞成像系统记录 DC 的迁移行为, 观测时间 2 h, 每隔 30 s 取 1 张图片, 并利用 FIJI 软件进行迁移轨迹追踪。随后利用 Chemotaxis and Migration Tool 软件分析细胞的迁移速度, 累计迁移距离。

## 1.7 大鼠肝纤维化模型构建及 DC 浸润检测

将  $\text{CCl}_4$  与橄榄油 1:3 混合以 0.1 mL/100 g 剂量腹腔注射 SD 大鼠, 每周两次, 连续 8 周后将其麻醉处死, 取肝组织进行石蜡包埋。对肝石蜡切片进行 H&E 与天狼星红染色进行肝纤维化鉴定, 随后对肝石蜡切片进行 DC 浸润检测。肝石蜡切片抗原修复后, 放入 0.3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液中, 室温避光孵育 25 min; 滴加 3% BSA 室温封闭 30 min, OX62 一抗 4 °C 孵育过夜; 辣根过氧化物酶偶联二抗室温孵育 50 min; 滴加 DAB 显色液, 自来水冲洗切片终止显色; 复染细胞核、脱水封片; 最后置于显微镜下进行结果判读。

## 1.8 单细胞转录组 scRNA-seq 分析

肝硬化患者与肝纤维化小鼠原始 scRNA-seq 数据分别来自基因表达综合 (gene expression omnibus, GEO) 数据库 GSE136103、GSE216836 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gds>)。选取  $\text{CD45}^+$  肝白细胞的单细胞转录组数据进行分析。首先排除基因数小于 500 或大于 6 000 的细胞, 以及线粒体基因表达超过 10% 和红细胞基因表达超过 1% 的细胞。采用“SCTransform”方法对单细胞样本进行归一化处理。随后应用主成分分析确定重要的主成分, 并使用“RunHarmony”函数进行样本整合。使用“FindClusters”与 Seurat “FindAllMarkers”函数对细胞进行聚类及注释。利用每种细胞类型中分化程度最高的 10 个基因 (由 Seurat “FindAllMarkers”函数识别) 确认免疫细胞类型的分类是否正确。对于人肝硬化患者, 使用  $\log_2\text{FC}=0.25$  的 Seurat “FindMarkers”

函数识别健康对照组和肝硬化患者 DC 之间的 DEGs。随后,对这些 DEGs 进行 GO 和 KEGG 富集分析。

### 1.9 实时荧光定量 PCR 体外验证

用 Trizol 提取不同刚度基底上 DC 总 RNA,并使用逆转录试剂盒反转录为 cDNA,在实时荧光定量 PCR 系统(QuantStudio 3)进行 RT-qPCR 分析。

### 1.10 统计学分析

实验结果以(均数 $\pm$ 标准误)的形式表示,两组间比较采用配对或非配对  $t$  检验对数据进行统计学分析。利用 Prism 9.5(GraphPad 公司,美国)对数据进行分析及统计图绘制。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

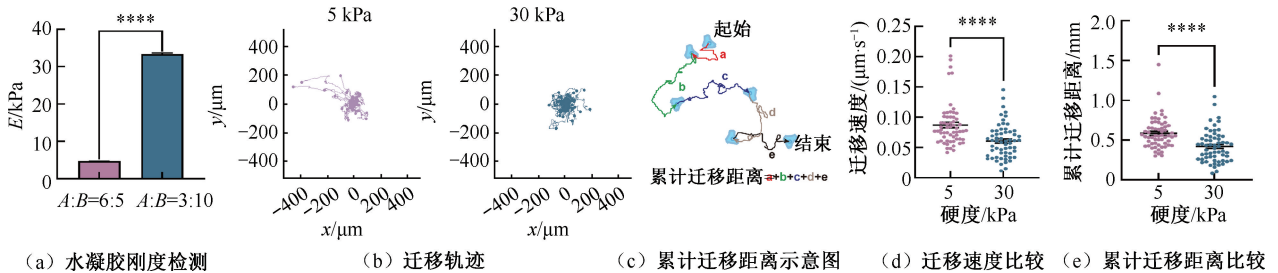


图1 DC在硬基底上迁移能力受损

**Fig. 1 DC migration is impaired on stiff substrates** (a) Hydrogel stiffness measurements, (b) Migration trajectories, (c) Schematic of accumulated distance, (d) Comparison of migration velocities, (e) Comparison of accumulated distance

注: $n=60$ ; \*\*\*\* $P < 0.0001$ 。

### 2.2 纤维化大鼠肝脏 DC 浸润增加

体外迁移实验表明,DC 在硬基底上迁移能力受损,即 DC 在体外可响应基底刚度变化动态调控其迁移行为。为了进一步验证 DC 迁移行为是否受到体内病理刚度变化的调控作用,本研究通过构建

## 2 结果

### 2.1 DC 在硬基底上迁移能力受损

DC 启动和协调适应性免疫反应的能力依赖于它们在组织内的定位及其独特的迁移能力,而细胞迁移的效率取决于两个基本参数:速度和距离。为了研究力学微环境变化对 DC 迁移行为的调控,分别模拟正常肝脏和纤维化肝脏刚度,检测 DC 在 5、30 kPa 刚度水凝胶上的迁移行为<sup>[16]</sup>。结果显示,与硬基底相比,软基底上的 DC 迁移范围更广。硬基底上的 DC 迁移速度、累计迁移距离均有所下降,表明 DC 在硬基底上的迁移能力受到抑制(见图 1)。

大鼠肝纤维化模型,观察 DC 的浸润情况。通过对比 DC 在正常和纤维化大鼠肝脏中的分布,发现纤维化大鼠肝脏中的 DC 浸润显著增加(见图 2)。该结果提示,纤维化肝脏组织中 DC 的迁移能力下降,与 DC 体外迁移实验结论一致。

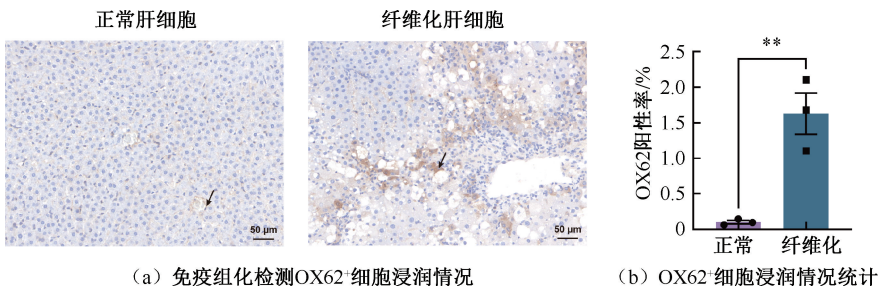


图2 大鼠肝纤维化诱导 DC 浸润增加

**Fig. 2 DC infiltration increased in fibrotic rat livers** (a) Immunohistochemical results of OX62<sup>+</sup> cells, (b) Percentage of OX62<sup>+</sup> cells

注:比例尺 = 50  $\mu\text{m}$ ; 箭头所指为 OX62<sup>+</sup> DC;  $n=3$ ; \*\* $P < 0.01$ 。

### 2.3 人体肝脏纤维化 DC 浸润检测

为了进一步探索人体肝脏纤维化对 DC 浸润的调控作用,通过肝硬化患者单细胞转录组数据,对比正常人和肝硬化患者肝脏中浸润 DC 的比例。选

取 CD45<sup>+</sup> 肝脏白细胞作为分析对象,对样本进行质控过滤以及数据合并后,使用“FindClusters”函数将肝脏 CD45<sup>+</sup> 肝白细胞分为 32 个簇,并将这 32 个聚类注释为 9 个免疫细胞群(见图 3)。

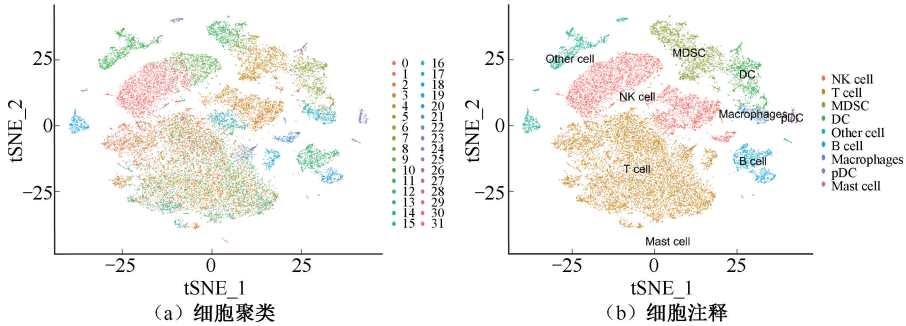


图 3 细胞聚类分析

Fig. 3 Cell clustering analysis (a) Cell clustering, (b) Cell annotation

随后,为了进一步验证上述免疫细胞类型分类的可靠性,使用“FindAllMarkers”函数,筛选出每种细胞类型中分化程度最高的 10 个基因[见图 4(a)]。结果表明,前述分群合理。进一步分析肝脏中免疫细胞群的分布情况发现,正常人肝脏中浸润 DC 比例略低于肝硬化患者[见图 4(b)、(c)],但可能由于样本量较少(5 例),组间无显著差异。肝纤维化小鼠的单细胞测序分析结果显

示,纤维化肝脏中 DC 浸润数量亦有增加趋势,对照组 DC 的占比为  $(5.272 \pm 1.996)\%$ ,而肝纤维化组为  $(15.80 \pm 3.320)\%$ [见图 4(d)]。由于该数据集的正常组只有 2 例,差异无统计学意义,但肝纤维化组仍呈现浸润增加趋势。上述结果均表明,肝纤维化发生时肝脏浸润 DC 数量有增加趋势,与前述大鼠纤维化肝脏中 DC 浸润情况基本一致。

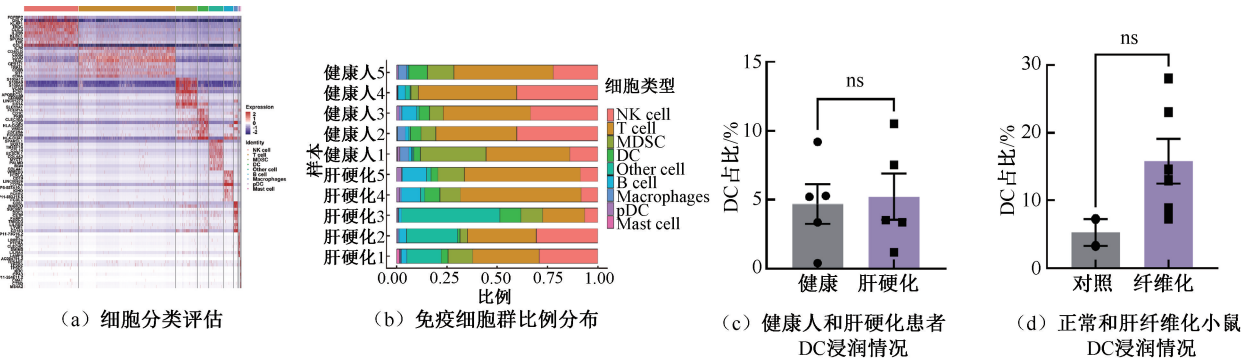


图 4 正常人和肝硬化患者肝脏免疫细胞群构成

Fig. 4 Constitutes of immune cell groups in normal and cirrhotic patients (a) Evaluation of cell type classification, (b) Ratio distributions of immune cell groups, (c) DC infiltration of healthy people and cirrhosis patients, (d) DC infiltration of normal and liver fibrosis mice

注:  $n_{\text{健康}}=5$ ,  $n_{\text{肝硬化}}=5$ ,  $n_{\text{对照}}=2$ ,  $n_{\text{纤维化}}=6$ ; ns 表示差异无统计学意义。

### 2.4 筛选潜在调控 DC 迁移的刚度感知分子

为了解析 DC 感知环境刚度动态调整其迁移行为的关键分子,进一步分析正常人和肝硬化患者肝脏中浸润 DC 的 DEGs<sup>[17]</sup>。分析得到了 682 个 DEGs,其中 428 个上调,254 个下调[见图 5(a)]。

由于细胞迁移行为与细胞骨架动力学密切相关,通过对这些 DGEs 进行 KEGG 和 GO 通路富集分析[见图 5(b)、(c)],并聚焦与细胞骨架调控、迁移相关基因,筛选出了 84 个关键 DGEs。随后,通过进一步排除两组样本中表达丰度较低的基因,筛选出

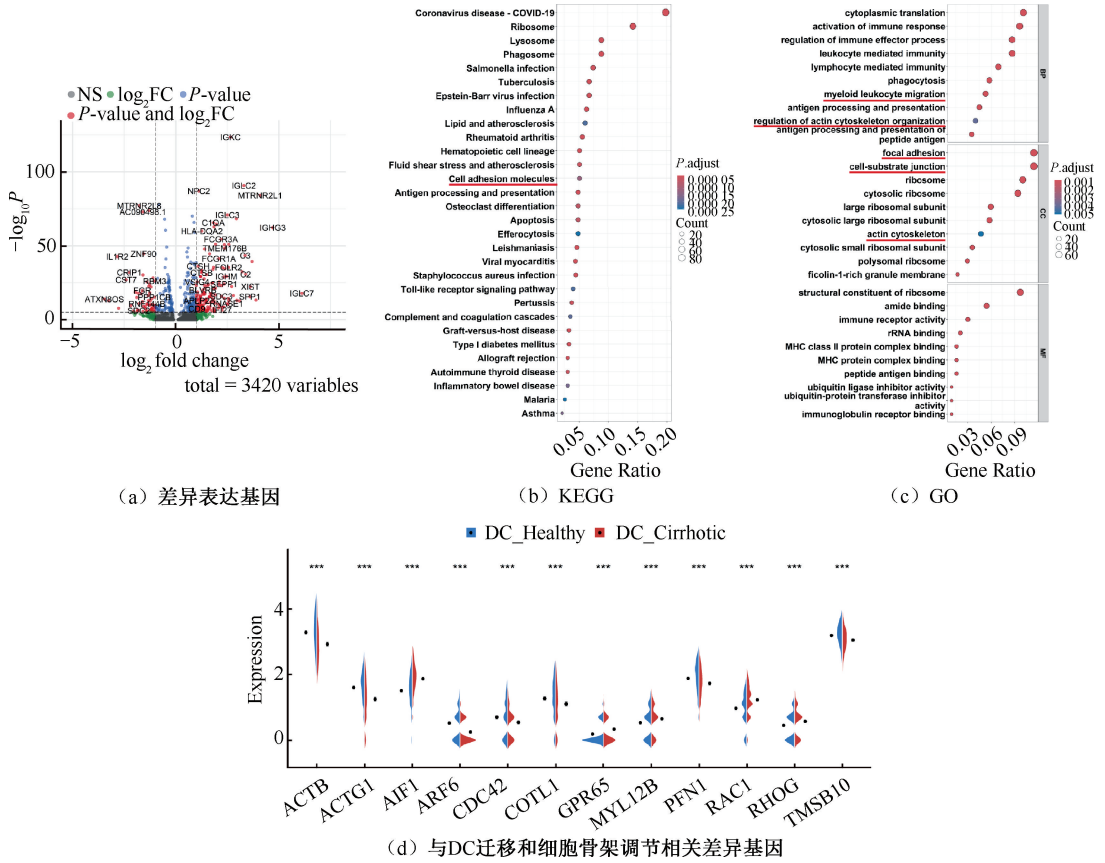


图 5 筛选潜在调控 DC 迁移的刚度感知分子

Fig. 5 Stiffness-sensitive molecules potentially regulating DC migration (a) Differentially expressed genes, (b) KEGG, (c) GO, (d) Contrast of expression differences of the genes related to both DC migration and cytoskeleton regulation

注:  $n_{\text{健康人DC}} = 961$ ,  $n_{\text{肝硬化患者DC}} = 721$ ;  $***P < 0.001$ 。

12 个可能调控 DC 迁移行为刚度感知的关键分子 [见图 5(d)]。其中, 在肝硬化患者中表达上调的差异基因有 AIF1、GPR65、MYL12B、RAC1、RHOG, 而表达下调的基因有 ACTB、ACTG1、ARF6、CDC42、COTL1、PFN1、TMSB10。

为了验证培养在不同刚度基底上的 DC 中关键分子受环境刚度的调控作用是否与人体肝硬化患者肝脏浸润 DC 情况一致, 将 DC 分别在软、硬基底上培养 12 h 后, 分析利用 RT-qPCR 实验检测筛选到的 12 个关键基因表达量的变化。结果显示, 仅 ACTB、CDC42 基因与人体肝硬化患者肝脏浸润 DC 情况生信分析结果一致 (见图 6)。

### 3 讨论

DC 在肿瘤患者体内迁移受阻是限制其抗肿瘤免疫治疗临床效果的关键瓶颈问题<sup>[2,6,18-19]</sup>。目前

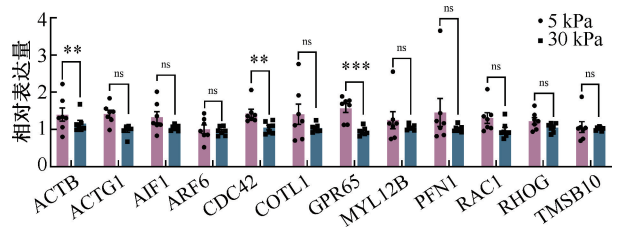


图 6 培养在不同刚度水凝胶基底上 DC 中不同基因表达量的 RT-qPCR 检测结果

Fig. 6 RT-qPCR results of different gene expression in DC cultured on hydrogel substrates with different stiffness

注:  $n = 7$ ;  $**P < 0.01$ ,  $***P < 0.001$ , ns 表示差异无统计学意义。

针对 DC 迁移相关的分子机制研究大多聚焦细胞骨架相关蛋白 (例如 Arp2/3、mDia1 及 myosin II 等) 或 DC 的其他免疫功能 (例如抗原捕获等) 与其迁移模式、迁移速度的相关性<sup>[20-21]</sup>。而 DC 如何感知体内复杂微环境的变化动态调整其迁移行为仍鲜有研

究。最近,有研究报道了 DC 迁移对 ECM 刚度的响应,均指出随着 ECM 刚度增加,DC 迁移速度减慢,迁移持续时间缩短<sup>[15,22]</sup>。然而,介导 DC 迁移刚度感知的关键分子仍不清楚。本文利用不同刚度的水凝胶基底,解析了刚度变化对 DC 迁移行为的影响,发现 DC 在硬基底上迁移能力受损,该结果与文献<sup>[15,22]</sup>中使用 2.5D 水凝胶或琼脂糖限制凝胶观察 DC 迁移行为的数据一致。而通过对比 DC 在正常和纤维化大鼠肝脏中的分布,本文发现,纤维化大鼠肝脏中的 DC 浸润显著增加,表明纤维化肝脏组织中 DC 的迁移能力受到抑制。此外,本文还分析了肝硬化患者和正常人肝脏浸润 DC 的 DEGs。由于细胞迁移行为与细胞骨架动力学密切相关<sup>[23]</sup>,本文从中筛选出 12 个关键骨架调控蛋白基因。结果发现, AIF1、GPR65、MYL12B、RAC1、RHOG 基因在肝硬化患者中上调,而 ACTB、ACTG1、ARF6、CDC42、COTL1、PFN1、TMSB10 等基因发生下调。进一步通过 RT-qPCR 对培养在软硬基底上的小鼠 DC 验证发现,仅有 ACTB、CDC42 基因与人体肝硬化患者肝脏浸润 DC 情况生信分析结果一致,其余均有不同。本文推测,该结果是小鼠与人 DC 的差异性以及体外迁移的实验系统与肝脏力学微环境不同所致。基于上述分析,ACTB、CDC42 两种分子更有可能是介导 DC 迁移行为刚度感知的关键调控分子。

DC 所处力学微环境的变化很可能是调控其体内迁移效率的关键因素。肝纤维化发生时,ECM 胶原蛋白和糖胺聚糖的异常沉积促进纤维化区域发展,最终导致组织硬化<sup>[24-25]</sup>。研究表明,与健康组织相比,肝组织在发生纤维化时弹性模量增加,并且肝脏刚度与纤维化程度呈正相关<sup>[24]</sup>。因此,纤维化大鼠肝脏中的 DC 浸润增加可能是由于肝脏组织刚度增加,DC 迁移能力受损导致的。更为重要的是,环境刚度增加导致的 DC 迁移能力受损并不仅出现在肝纤维化病理进程中。例如,动脉粥样硬化的发生发展伴随着组织刚度显著增加<sup>[8,26]</sup>;而 DC 在斑块组织中同样出现浸润增加,该结果可能也是 DC 向淋巴结迁移受阻所导致<sup>[27]</sup>。

## 4 结论

DC 在较硬基底上迁移能力受损,这可能是纤

维化大鼠肝脏中 DC 浸润增加的潜在原因;肝硬化患者和正常人肝脏浸润 DC 的 DEGs 中 ATCB、CDC42 等骨架调控蛋白基因可能是介导 DC 感知环境刚度变化动态调整其迁移行为的关键分子。基于上述关键分子的 DC 迁移调控手段,将为调控体内 DC 迁移效率,以及改善 DC 介导的抗肿瘤免疫功能提供理论依据和新策略。

**利益冲突声明:**无。

**作者贡献声明:**许喻钧负责研究实施、数据分析与论文撰写;刘洋负责单细胞转录组分析;安宸毅负责研究设计和论文修改;曾柱负责论文审阅及指导。

## 参考文献:

- [1] STEINMAN RM. Decisions about dendritic cells: Past, present, and future [J]. *Annu Rev Immunol*, 2012(30): 1-22.
- [2] WORBS T, HAMMERSCHMIDT SI, FORSTER R. Dendritic cell migration in health and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(1): 30-48.
- [3] 余鹏, 曾柱. 树突状细胞的生物力学与力学生物学研究进展 [J]. *医用生物力学*, 2023, 38(3): 451-457.  
YU P, ZENG Z. Progress in biomechanics and mechanobiology of dendritic cells [J]. *J Med Biomech*, 2023, 38(3): 451-457.
- [4] HERAS-MURILLO I, ADAN-BARRIENTOS I, GALAN M, et al. Dendritic cells as orchestrators of anticancer immunity and immunotherapy [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2024, 21(4): 257-277.
- [5] KANG BH, LEE HK. Dendritic cell-based immunotherapy in hot and cold tumors [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(13): 7325.
- [6] MITCHELL DA, BATICH KA, GUNN MD, et al. Tetanus toxoid and CCL3 improve dendritic cell vaccines in mice and glioblastoma patients [J]. *Nature*, 2015, 519(7543): 366-369.
- [7] MERAD M, SATHE P, HELFT J, et al. The dendritic cell lineage: Ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting [J]. *Annu Rev Immunol*, 2013(31): 563-604.
- [8] DU H, BARTLESON JM, BUTENKO S, et al. Tuning immunity through tissue mechanotransduction [J]. *Nat Rev Immunol*, 2023, 23(3): 174-188.
- [9] GUIMARAES CF, GASPERINI L, MARQUES AP, et al. The stiffness of living tissues and its implications for tissue engineering [J]. *Nat Rev Mater*, 2020, 5(5): 351-370.

- [10] LAMPI MC, REINHART-KING CA. Targeting extracellular matrix stiffness to attenuate disease: From molecular mechanisms to clinical trials [J]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(422): eaao0475.
- [11] NIA HT, MUNN LL, JAIN RK. Physical traits of cancer [J]. *Science*, 2020, 370(6516): eaaz0868.
- [12] CHEN G, XIA B, FU Q, *et al.* Matrix mechanics as regulatory factors and therapeutic targets in hepatic fibrosis [J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(12): 2509-2521.
- [13] FILLIOL A, SCHWABE RF. Contributions of fibroblasts, extracellular matrix, stiffness, and mechanosensing to hepatocarcinogenesis [J]. *Semin Liver Dis*, 2019, 39(3): 315-333.
- [14] 邓博文, 宋关斌, 罗庆. 细胞外基质刚度改变在肝细胞癌发生发展中的作用 [J]. *医用生物力学*, 2023, 38(5): 1044-1050.
- DENG BW, SONG GB, LUO Q. The role of altered extracellular matrix stiffness in occurrence and development of hepatocellular carcinoma [J]. *J Med Biomech*, 2023, 38(5): 1044-1050.
- [15] CHOI Y, KWON JE, CHO YK. Dendritic cell migration is tuned by mechanical stiffness of the confining space [J]. *Cells*, 2021, 10(12): 3362.
- [16] CHAKRABORTY M, CHU K, SHRESTHA A, *et al.* Mechanical stiffness controls dendritic cell metabolism and function [J]. *Cell Rep*, 2021, 34(2): 108609.
- [17] HE Z, PENG C, LI T, *et al.* Cell differentiation trajectory in liver cirrhosis predicts hepatocellular carcinoma prognosis and reveals potential biomarkers for progression of liver cirrhosis to hepatocellular carcinoma [J]. *Front Genet*, 2022(13): 858905.
- [18] LIU J, ZHANG X, CHENG Y, *et al.* Dendritic cell migration in inflammation and immunity [J]. *Cell Mol Immunol*, 2021, 18(11): 2461-2471.
- [19] PITTET MJ, DI PILATO M, GARRIS C, *et al.* Dendritic cells as shepherds of T cell immunity in cancer [J]. *Immunity*, 2023, 56(10): 2218-2230.
- [20] VARGAS P, MAIURI P, BRETOU M, *et al.* Innate control of actin nucleation determines two distinct migration behaviours in dendritic cells [J]. *Nat Cell Biol*, 2016, 18(1): 43-53.
- [21] CHABAUD M, HEUZE ML, BRETOU M, *et al.* Cell migration and antigen capture are antagonistic processes coupled by myosin II in dendritic cells [J]. *Nat Commun*, 2015(6): 7526.
- [22] GAERTNER F, REIS-RODRIGUER P, DE VRIES I, *et al.* WASp triggers mechanosensitive actin patches to facilitate immune cell migration in dense tissues [J]. *Dev Cell*, 2022, 57(1): 47-62. e9.
- [23] MOREAU HD, PIEL M, VOITURIEZ R, *et al.* Integrating physical and molecular insights on immune cell migration [J]. *Trends Immunol*, 2018, 39(8): 632-643.
- [24] MITTELHEISSER V, GENSBITTEL V, BONATI L, *et al.* Evidence and therapeutic implications of biomechanically regulated immunosurveillance in cancer and other diseases [J]. *Nat Nanotechnol*, 2024, 19(3): 281-297.
- [25] BHATTACHARYA M, RAMACHANDRAN P. Immunology of human fibrosis [J]. *Nat Immunol*, 2023, 24(9): 1423-1433.
- [26] WANG L, LUO JY, LI B, *et al.* Integrin-YAP/TAZ-JNK cascade mediates atheroprotective effect of unidirectional shear flow [J]. *Nature*, 2016, 540(7634): 579-582.
- [27] ANGELI V, LLODRA J, RONG JX, *et al.* Dyslipidemia associated with atherosclerotic disease systemically alters dendritic cell mobilization [J]. *Immunity*, 2004, 21(4): 561-574.