DOI:10.16016/j.1000-5404.1995.01.006

tion of 21% oxygen. (2)When PASMC suspension in calcium-free medium was exposed to 0%, 3% and 5% oxygen for one minute, intracellular Ca^{++} level was increased significantly and the increase was more significant when the exposure was prolonged. (3)At the 1st minute of anoxia (0% oxygen), cAMP level of PASMCs was significantly increased and the elevation reached the peak at the 5th minute of exposure. At the 10th minute, cAMP level went down but remained higher than the normal control. These findings suggest that PASMCs can relatively withstand hypoxia of 2% oxygen, hypoxia along cannot result in hypertrophy or hyperplasia of PASMCs and hypoxia exerts influence directly on the second messenger system of the cultured PASMCs.

Key words anoxia; pulmonary artery; smooth muscle; calmcium; cAMP

膜脂质微环境改变对淋巴细胞功能及CD_{71}分子特性影响的研究

Influence of lipid microenvironment on lymphocyte function and CD_{71} molecule properties

糜浸天 朱锡华 (第三军医大学基础部免疫学教研室) 630038

细胞膜是细胞内外环境的屏障,众多研究显示膜脂质组成及膜生物物理特性(统称膜脂微环境)与细胞许多功能变化有关,它可控制不同的细胞膜特性、调节物质转运、配体与受体的结合、跨膜信号传递、细胞分化与细胞识别。膜脂微环境改变诱导的细胞功能的变化常常与它们影响了膜蛋白的结构和功能有关。

本实验通过磷脂酰胆碱/胆固醇(PC/Ch)摩尔比不同的小单片层人工脂双层膜(SUV)与淋巴细胞孵育,将外源性 PC 和 Ch 导入淋巴细胞,进而研究膜脂质组成及膜生物物理特性的变化,对淋巴细胞膜蛋白结构,Ca^{2+}通道蛋白活性,淋巴细胞增殖活化功能,CD_{71}分子表达、CD_{71}分子与配体亲和特性及内在化运动的影响;膜脂质微环境改变是否伴有 CD_{71}分子二级结构和空间构象的变化。实验结果显示:(1)SUVs 处理淋巴细胞经 ConA 或 TPA 活化后,细胞均出现超极化反应,膜内侧负电荷增加,膜电位(负值)平均增加9～30 mV,膜电位的变化随膜中磷脂/胆固醇(PL/Ch)摩尔比升高而降低,且加用20 μmol/L 异博定阻断 Ca^{2+}通道蛋白活性后,超极化反应减弱或消失。另外,胞浆膜中 Ch 增多可致$[Ca^{2+}]i$和$^{45}Ca^{2+}$内流增加,阻断 Ca^{2+}内流,可消除膜脂组成改变所诱导的$[Ca^{2+}]i$和$^{45}Ca^{2+}$内流的差异,提示膜脂组成改变,膜微粘滞性升高影响了 Ca^{2+}通道蛋白活性,后者与伴随的膜电位改变有关;(2)膜蛋白内源性荧光光谱扫描显示胞浆膜中 PL/Ch 的变化可以影响膜蛋白结构或其在膜上的分布,活化不同时间光谱图的差异,提示淋巴细胞活化,伴随着多种膜蛋白在膜上的激活,或重新分布,在不同活化阶段,它们在膜上的表达、结构与功能或膜上分布不同;(3)SUVs 处理淋巴细胞活化48 h 后,其膜表面 CD_{71}分子数量、CD_{71}分子与配体亲和特性及内在化运动均不同,胞浆膜 Ch 增加,PL/Ch 比降低,CD_{71}分子数量增加,其与配体亲和力下降,但内在化运动却加快。加用 HMG－CoA 还原酶抑制剂抑制内源性 Ch 合成,CD_{71}分子数量明显减少,CD_{71}与配体亲和力升高。斑点杂交,FCM 分析及细胞功能检测也显示 CD_{71} mRNA、CD_{71}阳性淋巴细胞和细胞增殖转化功能的变化与上述受体分析结果基本吻合,提示膜上 Ch 高低对膜表面 CD_{71}数量的影响主要与基因转录活性改变有关,而非 CD_{71}分子在膜上的重新分布或 CD_{71}配体可结合部位暴露明显变化所致。膜上 Ch 增加,CD_{71}与配体亲和力降低,可能是膜脂液相区减少,CD_{71}分子不易形成高亲和性配体结合位点结构的缘故。(4)将分离纯化的 CD_{71}分子与不同的合成磷脂、胆固醇构成的人工脂膜重组,结果不同脂双层膜对 CD_{71}分子二级结构及空间构象有明显影响,膜中 Ch 增加,可以诱导出更多的 α－螺旋结构和无规卷曲;另外 DMPC/Ch 膜对 CD_{71}分子结构影响较 DOPC/Ch 膜显著。TrP 内源性荧光光谱扫描及 KI 淬灭效应也提示,在 DMPC/Ch 膜上随 Ch 比例升高,CD_{71}分子胞外区结构可能变得疏松,推测后者与淋巴细胞胞浆膜中 Ch 改变所致 CD_{71}分子与配体结合特性变化有关。(5)SUVs 作用后胞浆膜中 PL/Ch 比增高,G_2＋M 期细胞减少,细胞增殖转化功能降低,反之,G_2＋M 期细胞增多,细胞增殖活跃,但 Ch 含量过多(膜中 PL/Ch 活化前达1∶0.826),G_2＋M 期细胞反而减少,用 Lovastatin 抑制内源性 Ch 合成后,淋巴细胞大部分受阻于 G_0/G_1期,细胞增殖受抑,且这种抑制作用不能被外源性 rIL－2有效逆转。另外,活化标志物 CD_{71}表达的分析也显示同样的变化趋势,提示静息淋巴细胞膜中 PL/Ch 高低与细胞活化有关,而后续内源性 Ch 的合成则是细胞大量增殖,分裂所必需的。

综上所述,本研究淋巴细胞功能活性的变化可能主要与不同膜脂质微环境影响了某些膜受体,离子通道蛋白(如 Ca^{2+}通道蛋白)等结构与功能,进而使淋巴细胞膜信号接收,跨膜信号传递及细胞功能活性改变。这些变化可能与脂质,尤其是胆固醇的直接作用有关,另外,膜特性如膜脂质流动性,跨膜电位等改变可能也起重要作用。

关键词 细胞膜;淋巴细胞;CD_{71};跨膜电位;细胞周期;Ca^{2+}通道

中图法分类号 R392.12

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net