

Involvement of F-Actin Cytoskeleton for Microvilli Formation of Jurkat T Lymphocyte

Jae Seol Lee², Hae Young Kim⁵, Gi Ae Son¹, Ji Eun Kim¹, Kyoung Mi Moon², Kwang-Hyeon Kim⁴, Woo Bong Choi^{1,2,3} and Jong-Hwan Lee^{1,2,3*}

¹Department of Biotechnology & Bioengineering, College of Engineering, ²Department of Biomaterial control, ³Blue-Bio Regional Innovation Center, ⁴Department of Life Science & Biotechnology, College of Life Science, Dong Eui University, Busan 614-714, Korea

⁵Department of Nano Medical Science, Dankook University, Chungnam 330-714, Korea

Received June 29, 2011 / Revised October 5, 2011 / Accepted October 6, 2011

Morphological changes in immune cells occur due to pathogen infection and natural circulation. T cells produce uropod, filopodia, lamellipodia, and microvilli for inflammation, immunosurveillance, migration, and diapedesis. Short finger-like microvilli cover the surfaces of circulating mammalian immune cells. The surface features of monocytes and neutrophils are quite different, containing membrane ruffles as their predominant structure. In this study, we present the involvement of actin cytoskeleton regarding T lymphocyte microvilli. From analysis of scanning electron micrographs, Jurkat T lymphocyte microvilli was observed to rapidly disassemble when exposed to the actin-sequestering molecule, cytochalasin D. In contrast to cytochalasin D treatment, we found that median microvillar thickness was enlarged on Jurkat T lymphocytes treated with PMA via Lin-11, Isl-1, Mec-3 Kinase (LIMK) and cofilin signaling. In addition, actin cytoskeleton was involved in polarity formation in EL4 T lymphocytes. These results suggest that microvilli formation or polarity of T lymphocytes are involved in actin cytoskeleton dynamics.

Key words : Microvilli, Jurkat T cell, Actin, LIMK, Cofilin

서 론

면역세포들은 병원체의 인체 침입, 자연적인 순환을 하기 위해 수시로 몸의 형태를 변화 시켜야 한다. T세포는 염증반응, immunosurveillance, migration, extravasation를 하기 위해 몸의 외부적인 변화 즉 uropod, filopodia, lamellipodia, microvilli 형성 등을 수반한다. 세포의 표면은 매우 유동적이다. Microvilli는 림프구 세포표면에 손가락 모양의 세포막 연장 구조물이다[14]. 림프구에서 Microvilli의 정확한 기능은 아직 확립되지 못하였지만 microvilli는 순환하고 있는 림프구가 혈관으로부터 조직으로 빠져 나갈 때 매우 중요한 역할을 한다[6,18]. Microvilli에 있는 L-selectin [13]과 $\alpha 4\beta 7$ integrin [3]를 이용하여 endothelial cell과 접촉 및 구르기를 한다. 구르기 하는 림프구들이 케모카인에 의해 자극을 받으면 전이 상태에 도달하게 되고, integrin 중재 부착을 통해 궁극적으로 혈관벽을 가로질러 조직으로 침투해 간다. 림프구와 혈관세포와의 결합은 integrin과 부착분자와의 결합에 의해서 촉발되면서 이들의 결합은 궁극적으로 filamentous-actin (F-actin)에 연결되어있다. Microvilli와 관련인자들을 보면 ERM 단백질의 loss of function에 대한 연구결과 microvilli가 제거 되는 현상을 보였기 때문에 microvilli는 ezrin-radixin-moesin (ERM)에 의해 조절되어 진다[4,5]. ERM단백질은 세포막 신호 전달자들

중 actin cytoskeleton에 직접 결합 하지 않고 세포막과 actin cytoskeleton 사이에 cross-linker 역할을 하는 accessory protein으로 특히, ERM단백질의 C-terminal 인산화/탈 인산화 도메인의 인산화에 의한 형태적인 변화는 microvilli formation에 영향을 미치는 것으로 관찰되었다[20]. Microvilli의 형성조절에는 signal molecule로 small GTPase인 RhoA [1]와 Rac1 [11]이 관여하고 있다고 알려져 왔다. Microvilli와 유사한 구조를 띠는 filopodia의 경우를 보면 Arp2/3 복합체가 actin filament의 nucleation, branch filament, bundle, elongation화에 중요한 영향을 미치는 것으로 사료된다[8]. Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASp)은 Arp2/3 복합체 형성을 유도하는 activator로 filopodia 형성에 간접적으로 영향을 미치는 것 같다[19]. 하지만, 림프구의 경우 WASp중후군과 WASp 결손 쥐로부터 분리된 림프구의 표면에는 정상적인 microvilli가 형성되는 것으로 보아 filopodia와 microvilli 형성에는 다른 조절 기작이 존재하는 것으로 사료되며[16] 관련인자들의 동정이 필요한 부분이라 하겠다. F-actin은 신호전달 과정을 받아 세포의 형태, 표면 구조, 세포 부착, motility 등의 작용에 근원적 골격을 형성하며 filopodia와 microvilli를 포함하여 세포표면 구조물 형성에 지대한 영향을 미친다. 따라서, 본 연구에서는 T세포의 microvilli의 기능을 이해하기 위해서는 microvilli 형성 과정을 이해하는 것이 중요할 것으로 사료되어 세포 표면에 많은 microvilli를 함유하고 있는 Jurkat T 세포주를 통해서 이 세포주의 microvilli가 가장 기본적인 골격을 제공하는 actin과의 관련성에 대하여 조사하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-51-890-2280, Fax : +82-51-890-2632

E-mail : jonghwanlee@deu.ac.kr

재료 및 방법

세포 배양 및 시약

Human Jurkat T 세포와 마우스 T 세포주인 EL4 T 세포를 RPMI 1640 배지에서 배양한다. 10% FCS 및 penicillin/streptomycin을 함께 넣어 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. RhoA 활성화를 위한 10 µM phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA, AG scientific Ins., CA, USA)는 37°C에서 12시간, 18시간 처리하였고 10 µM cytochalasin D (CytD, Nacalai Tesque, Japan)는 1시간 동안 37°C에서 처리하였다.

면역 염색

EL4 T lymphocyte는 trichloroacetic acid (TCA, ICN) 고정 방법을 이용하여 고정한 후 0.2% Triton X-100을 처리하고 PBS로 washing한 후 FITC-p-ezrin antibody (Cell Signaling Technology, MA, USA)와 rhodamine phalloidin으로 염색하고 laser scanning confocal microscope (MRC-1024; Bio-Rad, Osaka, Japan)를 이용하여 이미지를 촬영하고 이미지는 Adobe Photoshop software을 이용하여 분석하였다.

Western blot

1×10⁸세포를 1 ml lysis buffer (50 mM Tris-HCl, pH7.5, 0.5 M NaCl, 1% Triton X-100, full set protease inhibitors)에 넣고 30 분 동안 4°C에서 반응시킨다. 원심분리 후 상등액을 회수하였고 단백질 농도는 BCA 단백질 정량 방법을 이용하여 동일 양을 SDS-PAGE gel에 로딩하였다. 1차 항체로 rabbit anti-p-Lin-11, Isl-1, Mec-3 Kinase (LIMK) antibody, rabbit anti-p-cofilin antibody를 1/1,000로 희석하여 사용하였고 2차 항체로 HRP-conjugated goat anti-rabbit antibody (Jackson ImmunoResearch Laboratoires)는 1/10,000로 희석하여 Westernblot을 수행하였다.

전자현미경 관찰(SEM)

3% glutaraldehyde, 0.1 M cacodylate, 7.5% sucrose, 0.05% CaCl₂로 세포를 37°C에서 1시간 동안 고정하고 PBS로 wash-

ing을 행한다. 이후, 세포를 1% OsO₄로 1시간 동안 상온에서 postfixation을 행한 후 0.1 M cacodylate buffer로 washing하고 graded ethanol로 탈수 반응을 수행하며 tetramethylsilane에 담건 후 상온에서 건조를 한다. 샘플을 진공상태에서 gold-palladium으로 코팅을 한 후 SEM을 통해서 관찰하였다.

결 과

Jurkat T 세포에서 PMA에 의한 LIMK 및 cofilin의 인산화 변화

이전 연구에서 RhoA의 활성화는 EL4 T세포의 표면에 microvilli의 형성을 유도하였다[12]. 이것은 Microvilli형성에 small GTPase RhoA가 관여한다는 것을 의미한다. 따라서 RhoA의 하류에 존재하는 신호전달자의 활성화가 microvilli 형성에 미치는 영향을 알아보려고 시도하였다. 여러 문헌 보고에 의하면 RhoA는 Rho-associated kinase (ROCK)를 활성화 하고 ROCK는 LIMK를 활성화 하며 LIMK는 cofilin의 활성화 조절을 통하여 actin cytoskeleton의 변화를 유도하는 것으로 알려 졌다[1,15]. 이러한 신호 전달이 Jurkat T cell에서도 영향을 미치는지 확인하였다. RhoA를 직접 활성화 시키는 RhoA 활성화제로 알려진 PMA를 처리하여 보았다. Cofilin은 actin depolymer로 작용을 하는데 이것은 LIMK의 작용을 받아서 p-cofilin이 되면 활성이 저해되고 cofilin이 되면 활성화가 되어 actin의 depolymer로 작용하여 F-actin cytoskeleton의 형성을 방해한다. PMA 처리 후 Jurkat T cell에 LIMK의 인산화가 증가하는 것을 확인하였고(Fig. 1A) cofilin의 경우에도 대조군에 시간 의존적으로 p-cofilin이 증가하는 것을 확인하였다(Fig. 1B). 이것으로 보아 PMA는 RhoA 및 ROCK를 통해서 인간 T 세포에도 LIMK, cofilin의 인산화에 영향을 미치는 것으로 사료되며 이러한 변화가 세포 생물학적 영향을 확인하기위해 microvilli의 변화를 관찰하였다.

Jurkat T 세포에서 PMA에 의한 강화된 microvilli formation

Fig. 1에서 보았듯이 PMA에 의한 신호전달은 LIMK와



Fig. 1. Western analysis of p-LIMK and p-cofilin in Jurkat T cell treated with PMA. Jurkat T cell (1X10⁸) was lysed with lysis buffer and BCA method was used for protein concentration. p-LIMK expression level was increased for 12 hr, 18 hr (A) and p-cofilin level was also increased for 12 hr and 18 hr (B).

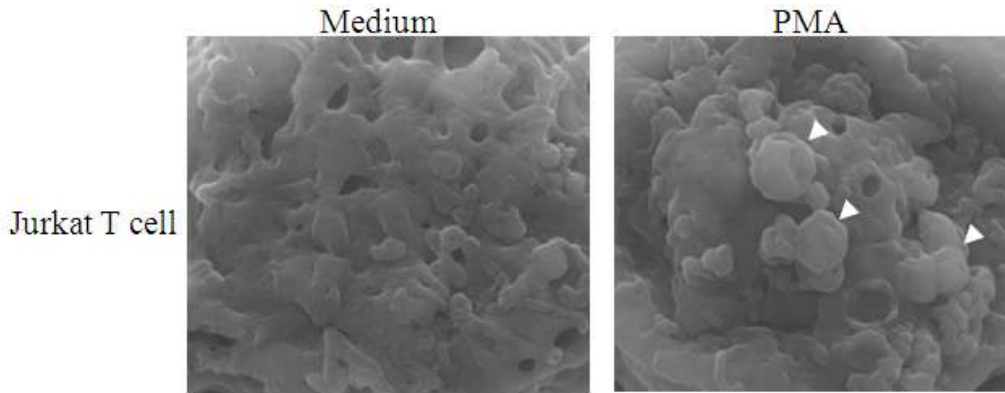


Fig. 2. Morphological features of Jurkat T cell treated with PMA. 10 μ M PMA was added in Jurkat T cell and fixed cells were examined with SEM (Mag., x30,000). The surface of single T cell was observed and enhanced thickness of microvilli was observed (arrowhead).

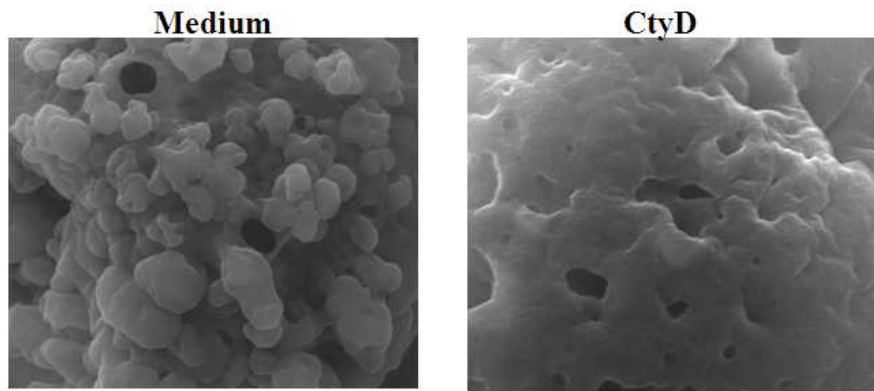


Fig. 3. Surface features of Jurkat T cell treated with CytD. 10 μ M CytD was treated in Jurkat T cells and fixed cells was observed under SEM. Actin depolymer, CytD disrupted microvilli from surface of Jurkat T cell.

cofilin의 활성화에 영향을 미쳤다. 이러한 활성화가 microvilli에 나타나는 영향을 관찰하기위해 PMA처리 후 세포의 표면을 SEM을 통해서 관찰 하였다. PMA처리 후 세포표면에 나타난 microvilli는 대조군과 비교하여 훨씬 크기가 강화된 microvilli가 나타난 것이 관찰되었다(Fig. 2, arrowhead). 이것은 p-cofilin의 양의 증가로 상대적으로 F-actin 파괴자인 cofilin의 양이 줄어들어 F-actin의 양이 대조군에 비해 많아졌고 이것이 microvilli의 크기를 강화 시키는데 영향을 미쳤을 것으로 사료된다.

Actin cytoskeleton은 microvilli형성에 필요하다.

CytD는 F-actin cytoskeleton의 형성을 방해하는 저해제로 actin cytoskeleton이 직접적으로 microvilli의 형성에 관여하는지 확인해 보기 위해 CytD를 처리한 Jurkat T 세포의 표면을 SEM으로 관찰 하였다. 그 결과 Fig. 3에서 보듯 CytD 처리 세포 표면에서 microvilli가 사라지는 것을 관찰 할 수 있었다. 이것은 microvilli형성에 있어 cytoskeleton이 필요하다는 것

을 의미한다.

CytD의 처리는 cofilin의 인산화를 감소시킨다.

Fig. 3에서처럼 CytD 처리 후 microvilli가 사라지는 것을 알았는데 이것이 cofilin의 인산화와 관련성을 알아보하고자 하였다. Fig. 4에서 보듯이 p-cofilin은 대조군에 비해 시간이 지

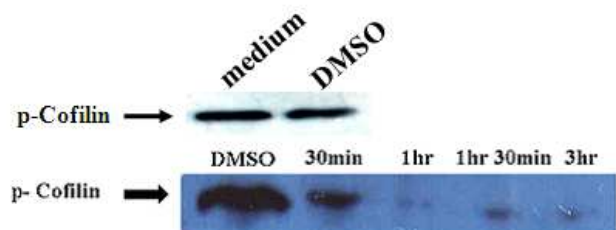


Fig. 4. Western blot of Jurkat T cell treated with CytD. 10 μ M CytD was treated in Jurkat T cells and protein was extracted from cell. BCA method was used for protein concentration. p-cofilin level was reduced by time dependent manner.

날수록 인산화가 사라지는 것을 알 수 있었으며 p-cofilin의 감소는 활성형 cofilin의 상대적 증가를 유도하는 것으로 활성형 cofilin에 의해서 F-actin cytoskeleton의 감소로 이어져 전체적으로 microvilli 형성에 영향을 미쳤을 것으로 사료된다.

CytD는 T세포 극성을 사라지게 한다.

CytD는 F-actin cytoskeleton의 형성 방해를 통해서 microvilli가 사라지는 것을 알았다. F-actin은 세포의 골격 형성에 기본 근간을 제공하는 것으로 microvilli와 세포 극성 등에 영향을 미치는 것으로 사료된다. 이러한 극성 형성에 F-actin의 관련성을 알아보기 위해 EL4 T세포를 이용하였다. EL4 T세포는 전형적으로 극성을 유지하는 세포로 Fig. 5A에서 보듯 세포의 앞 쪽 면에는 다량의 F-actin이 산재해 있으며 극성의 뒤 쪽 면(p-ezrin)에서는 약간의 F-actin이 존재하는 것으로 나타났다. 이러한 극성의 형성 유지는 CytD처리에서 알 수 있듯 세포 극성이 사라지고 round form을 형성하는 T세포를 관찰할 수 있었다(Fig. 5B). 뒤쪽에 축적되어 있던 p-ezrin은 세포막 전체적으로 확산되는 결과를 가져왔다. P-ezrin의 N-말단 도메인을 통해서 세포막 단백질인 ICAM-1, CD44, CD45 등과 결합하고 C-말단 부분은 F-actin과 결합을 형성하는 단백질인데 CytD에 의해서 F-actin이 분해되어 결과적으로 N-말단만이 세포막 단백질과 결합을 형성하여 세포막으로 확산되어진 것으로 사료된다. 이것은 T세포의 극성 형성에 F-actin이 필요하다는 것을 의미한다.

고 찰

T세포는 면역반응의 중심적 역할을 수행한다. 내재면역과 적응 면역의 중개자 역할을 하면서 생체를 병원체로부터 보호한다. 면역 세포는 면역반응을 위해서 용해성 인자의 분비, 탐식작용, 다른 세포들의 활성화 등 많은 반응을 수행한다. 또한, 면역세포의 가장 큰 특징은 세포가 스스로 움직일 수 있다는 것이다. 면역 T세포는 움직이면서 세포 자신의 형태적

변화를 가져온다. 이러한 형태적 변화 중 T세포는 세포 극성 형성을 할 수 있다. 극성 형성은 세포의 이동 속도를 증가 시키는 원동력이 된다는 것이 밝혀지고 있다[7,10]. 그리고 극성 외에 T세포는 세포의 표면에 microvilli 구조물이 존재하고 있다[14]. Microvilli는 세포가 이동 중에 다른 세포 혹은 세포외 기질과 접촉을 통한 세포 내부적 신호 전달 또는 이동 속도에 영향을 미치는 구조물로 인식되고 있다. 세포 내부적 관련 신호 전달자로는 small GTPase RhoA 및 Rac 1등이 관여하고 있다고 알려져 있다[2,11]. Small GTPase는 cytoskeleton의 조절자로 잘 알려져 왔다[17]. 세포생물학적 기능의 수행을 위해서는 세포의 기본 골격이 되는 cytoskeleton의 조절이 쉽게 이루어져야 한다. Microvilli도 기본적으로 세포의 표면 구조물을 형성하는 것으로 본 연구에서 actin 파괴자인 CytD의 처리 후 microvilli가 사라졌고 actin polymerization에 관여하는 cofilin의 인산화에도 영향을 미쳤다. 더불어 RhoA의 활성화제로 알려진 PMA 처리 결과를 보면 LIMK의 활성화를 통한 p-cofilin의 양의 감소는 microvilli의 굵기를 강화하는 결과를 가져왔다. 이상의 결과는 Jurkat T 세포에서의 microvilli는 F-actin cytoskeleton 의존적이라는 것을 확인하였다. 하지만, T세포에서 microvilli 형성에 대하여 actin의 전체적인 구조나 역동학 및 관련 단백질 인자들에 대해서는 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료되어진다. 다만, 림프구 microvilli 처럼 많은 진핵세포막의 일반적 특징 중 하나인 세포막의 finger-like protrusion 형태인 filopodia의 형성 기작에 대한 보고를 보면 formin이라는 core protein의 역할이 큰 것으로 사료된다[8]. Filopodia assembly을 보면 몇몇 activity가 필요하다는 것을 알 수 있다[9]. 첫째로 어떤 요소가 actin의 필라멘트를 핵화해야 한다. 두 번째로 어떤 요소가 아령 말단 형성 단백질이 있는 상태에서도 actin 필라멘트를 연장하도록 해야 한다. 세 번째로 어떤 요소가 이러한 필라멘트를 bundle 화해야 한다. 네 번째로 어떤 요소가 필라멘트 bundle을 유지하도록 해야 하며 세포막과의 연합이 이루어져야 한다. Filopodia 형성에서 Arp2/3 복합체는 actin의 핵화, bundle화, 신장을 시켜

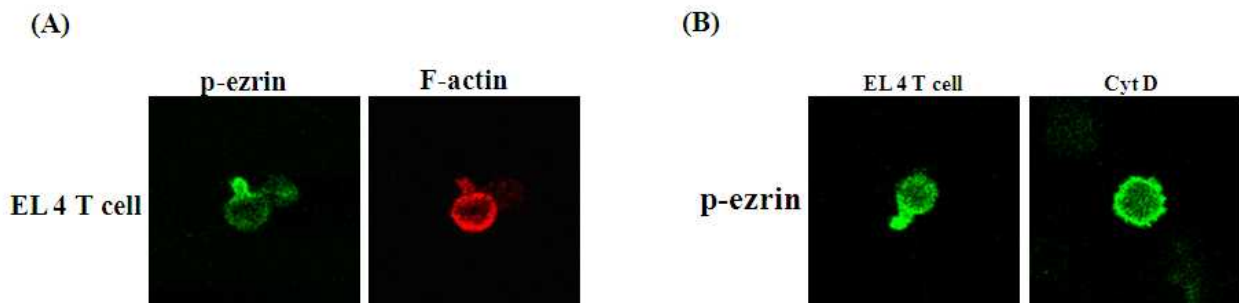


Fig. 5. Immunostaining of polarized EL4 T cells treated with CytD. To detect T cell polarity, cells were fixed with 10% TCA for 15 min at RT and permeabilized with 0.2% Triton X-100. Stained cells with p-ezrin and actin were examined with confocal microscope. CytD disrupted T cell polarity.

서 lamellipodium으로부터 세포막의 연장을 통한 filopodia를 형성하게 한다[8]. 따라서, 유사한 형성 기작을 가지고 있는 microvilli로 Arp2/3 복합체가 관여하고 있다고 사료된다. 하지만, WASp 단백질은 Arp2/3의 복합체 형성을 촉진 시키는 activator로 WASp 단백질의 결손이 야기되면 filopodia의 형성이 잘 되지 않는[8], microvilli 형성에는 별 영향을 보이지 않는다는 보고는[16] filopodia와 microvilli 형성과는 다른 부분도 존재하고 있다는 것을 시사한다. Jurkat T세포는 구형의 세포로 형태적인 변화 즉 T세포 극성 변화와 관련하여 microvilli 변화를 형광현미경을 통해서 관찰하기가 어렵다. Actin cytoskeleton이 microvilli 구성성분임을 본 실험을 통해서 알게 되었다. T세포 극성은 세포의 이동과 관련하여 중요한 작용을 한다. EL4 T 세포는 자연적인 상태에서 T세포의 극성을 보이는 세포로 세포표면 microvilli에 존재하는 F-actin cytoskeleton이 극성을 띤 세포에서는 세포의 극성 중 뒤쪽 부분 즉 uropod 부분으로 축적되는 것이 Fig. 5에서 관찰 되었다. 이것은 microvilli형성에 이용된 F-actin cytoskeleton이 세포의 극성 형성시 microvilli로부터 빠져 나와 uropod 형성에 일조를 하는 것으로 사료되어 진다. 세포의 표면은 외부와 세포내부와의 상호작용을 위한 출발점이다. 세포 표면으로 제시된 여러 돌출물들은 이러한 상호작용을 보다 효율적으로 하기 위한 장치이다. 상호작용의 예를 보면 세포가 이동할 때 세포의 기질과 접촉을 통해서 세포의 이동 속도를 빠르게 하거나 다른 세포와 접촉을 통해서 세포자신의 활성화의 변화가 수반되거나 아니면 용해성 인자와 결합을 통한 세포의 활성화 등을 볼 수 있다. 이러한 외부적 변화에 대한 세포의 적응은 세포 생물학적인 운동성을 이해 할 수 있으며 세포의 운동성 제어를 할 수 있는 토대가 마련 될 수 있으며 이것은 암 전이와 같은 세포 생물학적 이동성을 이해 할 수 있다.

감사의 글

이 논문은 2008년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구(KRF-2008-313-C00670)임. 이 연구에 참여한 이재철과 문경미는 교육부의 2단계 BK21 사업의 지원을 받았습니다.

References

- Amano, T., K. Tanabe, T. Eto, S. Narumiya, and K. Mizuno. 2001. LIM-kinase 2 induces formation of stress fibres, focal adhesions and membrane blebs, dependent on its activation by Rho-associated kinase-catalysed phosphorylation at threonine-505. *Biochem. J.* **15**, 149-159.
- Aspenström, P., A. Fransson, and J. Saras. 2004. Rho GTPases have diverse effects on the organization of the actin filament system. *Biochem. J.* **377**, 327-337.
- Berlin, C., R. F. Bargatze, J. J. Campbell, U. H. von Andrian, M. C. Szabo, S. R. Hasslen, R. D. Nelson, E. L. Berg, S. L. Erlandsen, and E. C. Butcher. 1995. Alpha 4 integrins mediate lymphocyte attachment and rolling under physiologic flow. *Cell* **80**, 413-422.
- Brown, M. J., R. Nijhara, J. A. Hallam, M. Gignac, K. M. Yamada, S. L. Erlandsen, J. Delon, M. Kruhlak, and S. Shaw. 2003. Chemokine stimulation of human peripheral blood T lymphocytes induces rapid dephosphorylation of ERM proteins, which facilitates loss of microvilli and polarization. *Blood* **102**, 3890-3899.
- Bonilha, V. L., M. E. Rayborn, I. Saotome, A. I. McClatchey, and J. G. Hollyfield. 2006. Microvilli defects in retinas of ezrin knockout mice. *Exp. Eye Res.* **82**, 720-729.
- Campbell, J. J. and E. C. Butcher. 2000. Chemokines in tissue-specific and microenvironment-specific lymphocyte homing. *Curr. Opin. Immunol.* **12**, 336-341.
- Cannon, J. L., P. D. Mody, K. M. Blaine, E. J. Chen, A. D. Nelson, L. J. Sayles, T. V. Moore, B. S. Clay, N. O. Dulin, R. A. Shilling, J. K. Burkhardt, and A. I. Sperling. 2011. CD43 interaction with ezrin-radixin-moesin (ERM) proteins regulates T-cell trafficking and CD43 phosphorylation. *Mol. Biol. Cell* **22**, 954-963.
- Elizabeth, S. H., J. G. Timothy, G. H. Ernest, and N. H. Henry. 2010. Assembly of Filopodia by the Formin FRL2 (FMNL3). *Cytoskeleton* **67**, 755-772.
- Faix, J., D. Breitsprecher, T. E. Stradal, and K. Rottner. 2009. Filopodia: complex models for simple rods. *Int. J. Biochem Cell Biol.* **41**, 1656-1664.
- Jean-Mairet, R. M., C. López-Menéndez, L. Sánchez-Ruiloba, S. Sacristán, M. Rodríguez-Martínez, L. Riol-Blanco, P. Sánchez-Mateos, F. Sánchez-Madrid, J. L. Rodríguez-Fernández, M. R. Campanero, and T. Iglesias. 2011. The neuronal protein Kidins220/ARMS associates with ICAM-3 and other uropod components and regulates T-cell motility. *Eur. J. Immunol.* **41**, 1035-1046.
- Nijhara, R., P. B. van Hennik, M. L. Gignac, M. J. Kruhlak, P. L. Hordijk, J. Delon, and S. Shaw. 2004. Rac1 mediates collapse of microvilli on chemokine-activated T lymphocytes. *J. Immunol.* **173**, 4985-4993.
- Oh, J. Y., H. J. Seo, J. S. Lee, H. Y. Kim, K. M. Moon, W. B. Choi, B. W. Kim, and J. H. Lee. 2010. Involvement of Small GTPase RhoA for Microvilli Formation in Polarity T Cell and Non-polarity T Cell. *Cancer Prevention Research* **15**, 277-284.
- Pavalko, F. M., D. M. Walker, L. Graham, M. Goheen, C. M. Doerschuk, and G. S. Kansas. 1995. The cytoplasmic domain of L-selectin interacts with cytoskeletal proteins via alpha-actinin: receptor positioning in microvilli does not require interaction with alphaactinin. *J. Cell Biol.* **129**, 1155-1164.
- Polliack, A. 1981. The contribution of scanning electron microscopy in haematology: its role in defining leucocyte and erythrocyte disorders. *J. Microscopy* **123**, 177-187.
- Pritchard, C. A., L. Hayes, L. Wojnowski, A. Zimmer, R. M. Marais, and J. C. Norman. 2004. B-Raf acts via the

- ROCKII/LIMK/cofilin pathway to maintain actin stress fibers in fibroblasts. *Mol. Cell Biol.* **24**, 5937-5952.
16. Sonja, M, Z, Jinyi, N. D. Susan, L. Stefan, F. K. Wilhelm, A. Siminovitch, and N. H. Henry. 2004. Lymphocyte microvilli are dynamic, actin-dependent structures that do not require Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASp) for their morphology. *Blood* **104**, 1396-1403.
 17. Spiering, D. and L. Hodgson. 2011. Dynamics of the Rho-family small GTPases in actin regulation and motility. *Cell Adh. Migr.* **5**, 170-180.
 18. von Andrian, U. H., S. R. Hasslen, R. D. Nelson, S. L. Erlandsen, and E. C. Butcher. 1995. A central role for microvillus receptor presentation in leukocyte adhesion under flow. *Cell* **82**, 989-999.
 19. Svitkina, T. M., E. A. Bulanova, O. Y. Chaga, D. M. Vignjevic, S. Kojima, J. M. Vasiliev, and G. G. Borisy. 2003. Mechanism of filopodia initiation by reorganization of a dendritic network. *J. Cell Biol.* **160**, 409-421.
 20. Yamane, J., H. Ohnishi, H. Sasaki, H. Narimatsu, H. Ohgushi, and K. Tachibana. 2011. Formation of microvilli and phosphorylation of ERM family proteins by CD43, a potent inhibitor for cell adhesion: cell detachment is a potential cue for ERM phosphorylation and organization of cell morphology. *Cell Adh. Migr.* **5**, 119-132.

초록 : F-actin cytoskeleton이 Jurkat T 림파구의 microvilli 형성에 미치는 영향

이재설² · 김해영⁵ · 손기애¹ · 김지은¹ · 문경미² · 김광현⁴ · 최은봉^{1,2,3} · 이종환^{1,2,3}

(¹동의대학교 생명공학과, ²동의대학교 바이오물질제어학과, ³동의대학교 블루바이오센터, ⁴동의대학교 생명응용학과, ⁵단국대학교 나노의과학대학)

면역세포는 외부 병원체 감염, 자연적 순환에 대하여 형태변화를 수반한다. T세포는 염증, 면역 감시, 이동, 그리고 혈관통과를 위해 uropod, filopodia, lamellipodia, 및 microvilli를 생산한다. 짧고 손가락 처럼 생긴 microvilli는 순환하고 있는 포유동물 면역세포 표면을 덮고 있다. 단핵세포와 호중구의 세포표면은 많이 다른데 membrane ruffle을 함유하고 있다. 본 연구는, T세포의 microvilli에 대하여 actin cytoskeleton과의 연관성에 대하여 탐구하였다. Actin 파괴자인 cytochalasin D 처리 후 SEM관찰을 통해서, Jurkat T세포의 microvilli를 보면 빠르게 사라지는 것을 알 수 있었다. 이와는 대조적으로 RhoA의 activator인 PMA는 LIMK와 cofilin 신호 전달을 통해서 microvilli 두께가 확장되는 것을 관찰 하였다. 또한, cytochalasin D 처리는 EL4 T세포의 극성을 사라지게 하는 것으로 보아 F-actin은 T세포의 극성 유지에도 영향을 미친다. 이상의 결과는 Actin cytoskeleton은 T세포에서 microvilli와 극성 유지에 관여하고 있는 것을 제시한다.