

影响细胞趋电性因素的研究

魏 喆¹ 赵三军¹ 赵 敏^{1,2} 高润池¹ 施利民¹ 王晓燕^{1*}

(¹云南师范大学再生生物学实验室, 昆明 650500; ²美国加州大学戴维斯分校医学院, 加州 95616, USA)

摘要 细胞在直流电场中因受电场诱导而做出的方向性迁移被称为细胞的趋电性。细胞的趋电性涉及胚胎发育、炎症反应、肿瘤转移、损伤修复以及组织再生等复杂的生物学过程。研究表明, 细胞的趋电性主要由细胞内外多方面因素共同影响。该文针对离子浓度、膜电位与电压门控离子通道、细胞外基质与血清、生长因子及其受体、蛋白激酶信号通路以及细胞骨架等因素对细胞趋电性的影响进行综述, 以期阐明细胞趋电性相应的机制提供参考。

关键词 细胞趋电性; 外源性电场; 影响因素

Advances on Influencing Factors for Cell Electrotaxis

Wei Zhe¹, Zhao Sanjun¹, Zhao Min^{1,2}, Gao Runchi¹, Shi Limin¹, Wang Xiaoyan^{1*}

(¹Regeneration Biology Research Section, Yunnan Normal University, Kunming 650500, China;

²School of Medicine, University of California at Davis, California 95616, USA)

Abstract Directional cell migration guided by small directed electric fields is known as electrotaxis/galvanotaxis. The electrotaxis is suggested to play an important role in embryonic development, inflammatory response, tumor metastasis, tissue repair and regeneration. Experimental evidences indicate that the electrotaxis is collectively affected by both intracellular and extracellular factors. Here we reviewed the research advances on the factors which might be involved in electrotaxis.

Keywords cell electrotaxis; extracellular electrical fields; influencing factor

细胞在直流电场中因受电场诱导而做出的方向性迁移被称为细胞的趋电性。早在19世纪, 研究人员已经观察到在电场中细胞向阴极运动的现象^[1-2]。大量研究表明, 细胞趋电性广泛存在于多种生物学过程中, 包括胚胎发育、炎症反应、肿瘤转移、损伤修复以及组织再生等^[3]。直流电场对细胞迁移的指向作用不仅在培养细胞中, 而且在活体细胞里也得到了证实^[4], 并且发现许多不同类型的细胞在电场中朝特定的方向迁移。当细胞的类型出现差异或者培养条件发生改变, 细胞则表现出不同的优先

朝向。大部分细胞朝向阴极迁移, 部分细胞朝向阳极迁移, 而少数细胞则随电场强度的改变呈现出迁移方向的变化^[5]。研究表明, 在电场强度相同的情况下, 人角膜上皮细胞和人角质细胞朝向阴极迁移, 角膜基质成纤维细胞朝向阳极迁移, 而黑色素细胞和皮肤成纤维细胞则没有趋电性^[6-7]。高尔基氏器被认为是细胞在电场中定向极化的标志。当没有外加电场时, 高尔基氏器的分布是随机的; 而当添加电场后, 细胞核与高尔基氏器的相对位置发生改变, 高尔基氏器朝向迁移方向聚集分布^[8]。细胞伪足是细胞

收稿日期: 2014-10-03 接受日期: 2014-11-21

国家重点基础研究发展计划(973计划)(批准号: 2012CB518100)和云南省高端科技人才引进项目(批准号: 2009CI127)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0871-65943723, E-mail: wxy5837@163.com

Received: October 3, 2014 Accepted: November 21, 2014

This work was supported by the National Basic Research Program of China (973 Program) (Grant No.2012CB518100) and the Yunnan High-end Talent Introduction (Grant No.2009CI127)

*Corresponding author. Tel: +86-871-65943723, E-mail: wxy5837@163.com

网络出版时间: 2015-02-05 10:52 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150205.1052.001.html>

表面形成的含有肌动蛋白的突出物,在细胞迁移的过程中起着至关重要的作用。当细胞处于电场中时,细胞极化程度、细胞外基质以及受体信号转导等多重因素与电场共同诱导伪足的产生以及调节伪足的稳定性和持续性^[9]。细胞的趋电性受细胞内外多方面因素的共同影响^[10-11]。目前,人们对其机制还未完全了解,研究影响细胞趋电性的因素对于阐明细胞趋电性的具体机制具有重要的生物学意义。实验研究显示,影响细胞趋电性的因素主要包括离子浓度、膜电位与电压门控离子通道、细胞外基质与血清、生长因子及其受体、蛋白激酶和信号通路以及细胞骨架等。近年来,国内外研究人员对影响细胞趋电性的因素进行了广泛地探索,以期解释其相应的生物学机制,本文主要对影响细胞趋电性的因素进行简要综述。

1 离子浓度对于细胞趋电性的影响

不同种类的离子对于细胞趋电性产生不同程度的影响,其中 Ca^{2+} 流是影响电场指导细胞趋电性迁移的重要因素之一。当细胞暴露在电场中时,细胞内的细胞液被电场极化,其中的 Ca^{2+} 从细胞阳极端向阴极端流动并在阴极端聚集,与此同时,细胞的阳极端吸引细胞外 Ca^{2+} 进入细胞以增加阳极端 Ca^{2+} 的浓度,使细胞产生趋电性^[12]。大量研究发现,在神经脊细胞、鼠胚胎成纤维细胞、鱼角化细胞以及人上皮细胞的趋电性反应中都可以观察到细胞外 Ca^{2+} 参与细胞趋电性迁移的现象^[13-18]。有研究发现,细胞外 Ca^{2+} 浓度升高会显著提高盘基网柄菌的趋电性,并且细胞内 Ca^{2+} 浓度升高是由电场诱导产生的^[19]。研究人员也在鼠颅顶细胞和人SaOS-2细胞中证明了细胞外 Ca^{2+} 浓度对于细胞趋电性的重要作用。将这两种细胞分别置于1 000~1500 mV/mm的电场中,电场触发细胞内 Ca^{2+} 浓度的快速升高并表现出明显的趋电性,但是在无 Ca^{2+} 的环境中,电场不会诱导细胞方向性迁移以及细胞内 Ca^{2+} 浓度升高^[20]。此外,为了进一步证明细胞外 Ca^{2+} 对于细胞趋电性的作用,Trollinger等^[18]在人上皮细胞中发现,细胞外 Ca^{2+} 耗尽时会抑制上皮细胞在电场中的迁移,而通过对细胞内 Ca^{2+} 通道阻塞剂阿米洛利的应用,发现阿米洛利并不能抑制细胞的趋电性。由此可知, Ca^{2+} 对于细胞趋电性的调控并非细胞内 Ca^{2+} 而是细胞外 Ca^{2+} 起作用的。

与之相对的是,也有研究显示,调节细胞趋电

性的关键因素之一是细胞内 Ca^{2+} 浓度,并且其浓度与细胞的趋电性成正比^[21]。有研究显示,细胞内 Ca^{2+} 浓度会在细胞迁移时频繁地、有梯度地升高,这一现象与细胞的迁移方向有着紧密的联系^[22-28]。也有研究人员发现,当使用 Co^{2+} 、D600等 Ca^{2+} 通道阻塞剂后,细胞在电场中的趋电性受到抑制^[29]。

Na^{+} 在调控细胞趋电性的过程中也扮演了重要的角色。通过对 Na^{+} 在内皮细胞骨架重新排列过程中作用的研究,研究者们发现在细胞质膜交换的过程中, Ca^{2+} 会受到 Na^{+} 的影响, Na^{+} 通过改变 Ca^{2+} 的浓度或细胞内的pH值,进一步调节细胞对 Ca^{2+} 的吸收和释放,最终影响细胞的趋电性^[30]。除此之外, Na^{+} 不仅会通过影响 Ca^{2+} 浓度来调节趋电性,同时也会激活细胞内的蛋白激酶A(protein kinase A, PKA),促进细胞骨架部分结构的磷酸化,从而增强细胞的趋电性^[31]。除了 Na^{+} 之外, Sr^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Gd^{3+} 都会显著抑制细胞的方向性迁移反应,但具体的生物学机制目前还不清楚^[18]。

2 膜电位与电压门控钠离子通道对于细胞趋电性的影响

细胞膜电位是由细胞内和细胞外各种离子自身的电化学梯度的扩散不均匀而形成的,膜电位的改变是由细胞膜表面上蛋白质的电荷以及自由离子聚集形成的电荷而产生的。膜电位变化对于各种离子通道和钠钾泵具有重要的调节作用^[15]。

Robinson^[32]和Mycielska等^[21]分别通过实验证实,当细胞处于外源电场中时,朝向阳极一端的细胞膜会被电场去极化,而朝向阴极一端的细胞膜会被电场超极化。该理论提出了细胞感知细胞外电场所做出的反应之一就是细胞膜电位的改变。基于这一观点,细胞具有趋电性迁移的重要原因之一是细胞膜电位发生了改变。随后的实验发现,降低膜电位会显著抑制细胞趋电性。Gao等^[33]通过改变盘基网柄菌细胞外pH、细胞外 K^{+} 浓度以及电穿孔这三种独立的方法来控制盘基网柄菌细胞的膜电位,发现膜电位改变后,细胞的趋电性发生明显的改变。当细胞外pH为5.0、6.5和9.0且无外加电场时,细胞迁移是随机的;当施加1 200 mV/mm电场后,pH为5.0和9.0的细胞趋电性不明显,而pH为6.5的细胞表现出明显的向阴极迁移的趋电性;当细胞外 K^{+} 浓度分别为5 mmol/L、25 mmol/L和50 mmol/L且无外加电

场时,细胞迁移也为随机,同样施加1 200 mV/mm电场后,趋电性随 K^+ 浓度的提高而明显降低;当使用电穿孔改变细胞膜电位后,细胞完全丧失趋电性,待细胞恢复原有的膜电位后,趋电性随之恢复。此外,还有研究者认为,膜电位的改变也会影响细胞内离子流的不对称,进而使细胞产生趋电性^[34-35]。

van Dujn等^[36]进一步研究了盘基网柄菌的膜电位的产生,通过乙烯雌酚、霉康唑和玉米烯酮质子泵抑制剂将细胞膜去极化,并以此证实盘基网柄菌细胞膜电位是由膜上的向外质子泵产生的,并推测细胞膜上的质子泵对于细胞的趋电性起了重要的作用。钠/氢离子交换(Na^+/H^+ exchanger, NHE3)是质子泵的形式之一,细胞膜表面 Na^+ 通道打开,细胞外 Na^+ 进入细胞内同时细胞内的 H^+ 排出细胞外。Perike等^[37]研究显示,NHE3对于细胞趋电性的影响并不是独立完成的,而是与其他生物分子协同作用来影响细胞的趋电性。在对人骨肉瘤细胞、鼠格根包尔氏细胞以及人胚肾细胞的实验中发现,通过RNAi敲除这三种细胞的NHE3以及使用NHE3抑制剂,磷酸化的NHE3与 β 肌动蛋白复合体被破坏,细胞膜电位下降,细胞的趋电性也随之下降。经过进一步地研究,磷酸化的NHE3依靠其生理活性和膜电位通过 β 肌动蛋白产生机械作用,产生牵引细胞在电场中迁移的力,并且有研究发现,磷酸化的NHE3与蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)的一种亚型PKC η 和 γ -微管蛋白组成的微管组织中心复合体对于细胞的趋电性是必不可少的^[38-39]。

电压门控 Na^+ 通道和 Ca^{2+} 通道是在细胞膜上分布的跨膜蛋白,同时也是细胞表现电生理现象主要的离子通道。有研究显示,电压门控 Na^+ 通道在生理电场强度下会调控细胞的趋电性^[40-41]。研究者使用电压门控 Na^+ 通道阻塞药物河豚毒素和促进药物藜芦定处理小鼠前列腺肿瘤MAT-LyLu细胞,并将其置于强度为400 mv/mm的电场中,发现采用通道阻塞药物时细胞趋电性被抑制,而采用通道促进药物则可提高趋电性^[42]。在角膜细胞、盘基网柄菌细胞中抑制 Ca^{2+} 信号通路后,发现 Ca^{2+} 电压门控的开关受到影响,并且在钙离子通道恢复后产生一个不对称的离子流^[33,43]。

3 细胞外基质与血清对于细胞趋电性的影响

已往的研究证实,影响细胞趋电性的因素并不

局限于细胞内。近年来,研究者们对细胞外基质以及血清对于细胞的趋电性迁移的作用进行了深入的探索。细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的主要成分是蛋白和多糖。细胞外基质中有多种非胶原蛋白,这些蛋白具有多个结构域,提供了细胞外基质中其他大分子和细胞表面受体的特异性结合位点,其中纤连蛋白的每个亚基有数个识别并结合细胞外基质分子的结构域,这些与细胞表面受体结合的结构域中含有RGD(Arg-Gly-Asp)三肽序列,从而有助于细胞黏连在细胞外基质上^[44-45],进一步促进细胞在电场中的迁移。研究表明,细胞底层的黏连在细胞迁移过程中起着重要的作用^[46]。Sheridan等^[47]发现,胶原蛋白I、IV(collagen I、IV)、连接蛋白(fibronectin, FN)和层黏连蛋白(laminin, LAM)通过增强人类上皮细胞的黏连而对其趋电性迁移发挥促进作用, FN和LAM这两种ECM对于细胞底层黏连直至最终的细胞迁移都是至关重要的^[48]。在电场里迁移的过程中,细胞与基质之间相互作用并影响细胞的趋电性行为^[49]。Ulrich等^[50]通过对神经胶质瘤细胞的研究发现,细胞的趋电性与细胞外基质的硬度成正比,且较为平滑的基质表面更有利于细胞在电场里的迁移^[45]。

除此之外,细胞趋电性也会受到血清的影响^[7,51-52]。Zhao等^[53]发现,角膜上皮细胞(corneal epithelial cells, CECs)在生理电场中的趋电性受到血清和基质的共同调节,CECs细胞在添加血清的FN或LAM的底物中朝阴极迁移的速率更快且方向性更强。CECs在电场中表现出趋电性迁移的同时,细胞长轴还会与电场的矢量方向垂直,这一现象被称为重新取向(reorientation)。当使用10%的胎牛血清时,细胞在小于100 mV/mm的电场中即会表现出显著的趋电性和细胞长轴的重新取向,而不使用血清时直至250 mV/mm才会出现细胞长轴重新取向,提示血清会提高CECs在电场中的迁移速率和迁移距离^[53]。Nuccitelli等^[51]发现,成纤维细胞的趋电迁移速率受到含有角质细胞的血清的影响,在无角质细胞的血清中的迁移速率要快于含有角质细胞的血清。细胞对血清中的表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)具有趋化作用。在外加电场中,细胞既会受到EGF的影响发生趋化性迁移,也会受到电场的影响发生趋电性迁移,其本质是细胞如何平衡趋化性和趋电性。有研究表明,在电场中,EGF趋化性信号通

路受到来自电场的竞争,细胞根据不同调控信号的强弱来平衡各种趋向性^[54]。当电场信号竞争过趋化性信号时,EGF受体(epidermal growth factor receptors, EGFRs)会沿电场方向产生不对称分布^[4,54]。Wu等^[54]在对乳腺癌细胞MDA-MB-231的研究中发现,EGF和电场信号会同时影响细胞内Ca²⁺,使Ca²⁺对这两种外界信号刺激作出不同反应来调节EGFRs的分布,进而平衡细胞的趋化性和趋电性。

4 生长因子及其受体对于细胞趋电性的影响

生长因子与电场都会对细胞迁移产生影响,二者既相互竞争,也相互协同。研究显示,即使在无血清的条件下添加生长因子,同样会增强细胞的趋电性。Pullar等^[55]用人类上皮细胞来研究EGF对于细胞趋电性的影响,发现在100 mV/mm的生理电场中,EGF会增强上皮细胞的趋电性。Fang等^[17]的研究也显示,添加EGF的上皮细胞在100 mV/mm电场强度下的迁移速率为1 mm/min,不添加EGF时,这种趋电性迁移速率下降,但方向性不变。EGF不仅会增强细胞的趋电性,同时也会在低电压中恢复细胞在趋电性迁移中的重新取向,除此之外,bFGF和TGF- β 1也有相同的作用^[7]。不仅在体细胞中,在干细胞中EGF和FGF也会增强细胞的趋电性。

Meng等^[56]研究发现,不对称分布的生长因子及其受体同样会影响细胞的趋电性。在电场的诱导下,EGFRs和肌动蛋白在CECs的阴极面积累并重新分配。另一方面,也有研究结果显示,CECs细胞暴露在150 mV/mm的生理电场中约10 min以内会出现这种积累和重新分配^[52]。在EGFRs重新分配后,肌动蛋白丝被极化,电场激活细胞膜阴极端的信号通路,细胞伪足在EGFRs积累的阴极端产生,从而调控细胞的趋电性迁移^[57-58]。不仅在CECs细胞中,Wang等^[59]也在肺癌细胞中证实了这一现象。EGFRs和肌动蛋白在细胞膜阴极面的积累不会在无血清的情况下出现,增加血清后这种现象会重新出现。此外,TGF- β 受体和bFGF受体在存在血清的情况下也促使细胞在电场中向阴极迁移,与之不同的是,TGF- β 受体和bFGF受体与肌动蛋白的不对称分布需要更长时间的电场刺激^[52]。Fang等^[60]为了更加深入地探索EGF和EGFRs调节趋电性迁移的机制,使用PD158780这一酪氨酸蛋白激酶抑制剂来抑制EGFRs激酶的活

性。实验结果显示,在低浓度情况下,PD158780可改变角蛋白细胞迁移的方向性,但不影响迁移的速率;而高浓度则会同时影响迁移速率。细胞处于电场中的阴极面在加电5 min后出现EGFRs的聚集,而PD158780则会消除这种聚集。Pu等^[61]使用EGF受体-ErbB对乳腺癌细胞趋电性的作用进行了研究,发现EGFRs对于乳腺癌细胞的趋电性迁移也是必需的,并且EGFRs对于高转移性细胞比低转移性细胞的作用更加明显,在人肺癌细胞以及鼠脂肪基质细胞中也得到了相似的结论^[62-64]。

5 蛋白激酶及其信号通路对于细胞趋电性的影响

研究表明,作为影响细胞趋电性的重要分子,磷酸肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-OH kinase, PI3K)是蛋白激酶中的主要研究对象^[51,65]。Guo等^[66]在鼠皮肤伤口出现几小时后检测到伤口处产生的生理电场激活了成纤维细胞内的PI3K/Akt信号通路,并且使其向阳极迁移。在同样的条件下,P110 γ (一种PI3K参与催化反应的产物)缺失的鼠皮肤成纤维细胞的趋电性迁移明显降低。PI3K/Akt信号通路不仅调控已分化的体细胞^[51],在未分化的干细胞中也具有调节细胞趋电性的重要作用^[65]。胚胎和人神经干细胞在电场中表现出明显的趋电性,研究人员发现,神经干细胞的趋电性依赖于PI3K/Akt信号通路,使用PI3Ks抑制剂会明显削弱其趋电性^[55]。Li等^[67]利用神经胶质瘤细胞对PI3K/Akt信号通路进行了更加深入的研究,发现线粒体超氧化物歧化酶(mitochondrial superoxide dismutase, MnSOD)可以激活PI3K/Akt信号通路,进一步调节细胞的趋电性。在盘基网柄菌细胞中,PI3K通路涉及细胞在直流电场中向阴极的迁移。但当可溶性胍基环化酶(soluble guanylyl cyclases, sGC)和鸟苷酸磷酸结合蛋白C(cyclic guanosine monophosphate binding protein C, GbpC)与PI3K抑制剂结合后,会改变盘基网柄菌细胞在电场中的迁移方向。当可溶性胍基环化酶蛋白的N-端与PI3Ks和鸟苷酸磷酸的抑制剂结合时,会调节细胞向阳极迁移的信号通路,这也表明细胞内有多种信号通路来调节细胞向不同的方向迁移。一条是PI3Ks-sGC催化结构域-GbpC通路,它调控细胞向阴极迁移;另一条是sGC的N-端-cAMP通路,它调控细胞向阳极迁移^[68]。在电场中,细胞的趋电性迁移需要细胞发

生极化,而高尔基体极化是细胞极化过程中的重要事件^[6]。Pu等^[8]通过实验证实,在中国仓鼠卵巢细胞(Chinese hamster ovary, CHO)中,Src、PI3K以及肌动蛋白的聚合体对于调控高尔基体和细胞在电场中的极化都是必需的。PI3K γ 蛋白以及 $pten$ 基因也是在分子水平上被证明影响细胞趋电性的生物分子^[69-71]。研究人员在敲除鼠PI3K γ 基因后发现,PI3K对于细胞的趋电性是必不可少的,在此基础上又使用PI3K抑制剂证明了PI3K的缺失确实会显著影响细胞的趋电性。如果表皮细胞中的PI3K γ 被敲除,会降低细胞所接收的电场诱导信号并且消除细胞对于电场信号诱导所作出的方向性迁移^[71]。PI3K的同源磷酸酶-张力蛋白(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)也是影响细胞趋电性的重要分子。在定向敲除 $Pten$ 基因后发现,Akt的磷酸化被增强,直接增强了细胞的趋电性。

蛋白激酶C(PKC)是另一种对细胞趋电性具有重要调控作用的激酶,Besson等^[72]在对神经胶质瘤细胞趋电性迁移进行的过程中发现,PKC的不同亚型分别调控在细胞内不同区域分布的细胞外信号调控激酶(extracellular-signal regulated kinase, ERK)的活性,后者是促进细胞迁移的重要激酶。其中PKC- α 诱导核ERK的激活,PKC- ϵ 则将细胞黏附部位的ERK激活,二者共同促进细胞的迁移。Cao等^[73]在CHO趋电性实验中添加PKC抑制剂后,发现CHO细胞趋电迁移的方向性受到明显的抑制。

蛋白激酶A也是一种对细胞趋电性有重要调控作用的激酶。在角质细胞以及神经嵴中,研究人员发现,环腺苷单磷酸cAMP和Rho small GTPases对于细胞的趋电性有着十分重要的调控作用^[74-76]。Pullar等^[75]对人角质细胞中使用了50 nmol/L的cAMP依赖蛋白激酶A的抑制剂KT5720,阻断了“cAMP-cAMP依赖蛋白激酶A-基因调控蛋白”这一反应链,发现人角质细胞在100 mV/mm电场中的趋电性下降了53%。Pullar等^[76]在研究cAMP对于趋电性影响的同时,发现在上皮细胞中表达的 β 2-肾上腺素受体(β 2-AR2)也会使上皮细胞在100 mV/mm的电场中丧失趋电性迁移和随机性迁移的功能,细胞对于所有方向性诱导因素都表现出“致盲”,但这种“致盲”的现象在使用cAMP类似物rp-cAMP预处理之后则不会出现,这也证明了上皮细胞的趋电性迁移的变化是受cAMP调控的。Finkelstein等^[74]将3T3成纤维细

胞中的GTPase活性抑制后也观察到细胞的趋电性下降。Cao等^[73]在研究中国仓鼠卵巢细胞(CHO)中PKC对于细胞趋电性影响的同时,发现肝糖合酶激酶-3 β (GSK-3 β)被抑制时会完全消除电场对于高尔基体的极化,并最终显著地抑制细胞趋电性迁移。除此之外,嘌呤受体P2Y1在调控鼠大脑室管膜下区的成神经细胞趋电性的过程中有促进作用^[77]。

综上所述,电场可能通过激活细胞内的信号通路以及细胞膜表面的受体,由不同的通路组成一个信号传导网络^[9],从而影响细胞的趋电性。

6 细胞骨架的动态变化对于细胞趋电性的影响

细胞骨架的重排与调节参与细胞内多种生命活动。在细胞迁移过程中,细胞前缘的WASP蛋白家族的成员能够激活Arp2/3复合物,使肌动蛋白聚合形成伪足,细胞迁移是丝状伪足、板状伪足以及其他凸出共同参与的过程^[78]。Arp2/3复合物对细胞在基质上的黏附具有重要作用,Beckham等^[79]在对上皮细胞MCF10A使用50 μ mol/L的Arp2/3抑制剂CK-869后发现,细胞贴壁率下降50%。Huang等^[80]在盘基网柄菌中发现,Scar/Wave、Arp2/3以及肌动蛋白结合蛋白(actin binding proteins)只调控细胞边缘骨架在迁移过程中的快速振动和波形运动,而细胞迁移是细胞骨架与多重信号通路(包括Ras GTPases、PI3K和Rac GTPases等)共同作用产生的。细胞质肌动蛋白 β 亚型和 γ 亚型对于细胞功能是必不可少的,Simiczyjew等^[81]在人结肠癌细胞BE中过度表达 β -肌动蛋白和 γ -肌动蛋白,发现两种蛋白出现在细胞前缘以及伪足处,细胞骨架发生重排,细胞迁移速度增加,并且只过度表达 γ 亚型的细胞迁移速度高于只过度表达 β 亚型的细胞。B细胞淋巴瘤连结蛋白3(B-cell lymphoma interacting protein 3, BNIP3)是B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma-2, BCL-2)家族细胞凋亡的调控者,Maes等^[82]在黑色素瘤细胞B16-F10中将其沉默,与对照组相比,细胞形状扁平、细胞整体尺寸变大,这表明细胞骨架发生变化,BNIP3被沉默后细胞迁移能力也下降。RAC1和ROCK2是两个已知的调控细胞骨架中肌动蛋白的基因,Liu等^[83]在人CD4⁺T细胞中发现一种miRNA-142-3p会抑制这两种基因的表达,从而抑制肌动蛋白的聚合,进而影响细胞迁移。

某些分子对细胞骨架在电场中的极化有重要的影响,如MnSOD会影响细胞骨架的极化,从而调控细胞迁移。Li等^[84]分别将质粒空载体、线粒体过氧化氢酶(mitochondrial catalase, mCAT)和超氧化物歧化酶MnSOD的序列转染至HT-1080纤维肉瘤细胞中,形成空载体细胞(cell with empty vector, CMV)、mCAT细胞(CMV-mCAT)和MnSOD细胞(CMV-MnSOD)。不施加电场时,这三种细胞的F-肌动蛋白的分布是随机的,F-肌动蛋白的极化率为 $5.8\% \pm 3.5\%$ 、 $6.5\% \pm 2.2\%$ 和 $7.6\% \pm 3.2\%$;当外加200 mV/mm电场30 min后,CMV与CMV-mCAT极化率升高至 $98.5\% \pm 5.5\%$ 和 $94.2\% \pm 8.2\%$,而CMV-MnSOD极化率为 $8.2\% \pm 3.6\%$ 。在趋电性方面,CMV与CMV-mCAT相近,而CMV-MnSOD明显低于前两者。这一结果表明,mCAT对细胞骨架极化并无显著影响,而MnSOD会阻碍电场对细胞骨架的极化,降低细胞趋电性迁移。

在细胞趋电性迁移的过程中,细胞骨架自身结构的改变可以使其更好地适应细胞外基质的改变,调节细胞的黏附方式以有利于细胞的趋电性迁移^[85-86]。Bao等^[86]在成纤维细胞趋电性迁移中发现,在增加细胞外基质的硬度后,细胞黏附部位极化的肌动蛋白与基质改变前相比,分布的位置发生改变,以适应基质的变化来协调细胞的迁移。细胞骨架与多重信号通路共同调节细胞迁移,同时细胞骨架也在细胞内复杂信号通路建立的过程中扮演了重要的角色。当细胞骨架因切变力而发生扭曲时,细胞膜中离子通道的开关频率发生变化,导致离子流的改变并最终影响膜电位。与此同时,在迁移过程中微管的压缩与拉伸会使某些与信号传导有关的酶的空间结构发生扭曲,影响酶与底物的结合程度,这些就为电场信号由细胞外至细胞内并引起细胞的趋电性提供了一种信号传递方式^[87]。

7 结语与展望

借助现代细胞和分子技术对影响细胞趋电性因素的研究已进行了相当长的时间并取得了令人惊喜的进展。大量研究显示,细胞在电场中的迁移涉及到细胞分裂、肿瘤细胞转移、炎症反应和组织修复再生等生物过程。因此,彻底了解细胞感知电场诱导信号和调控趋电性迁移的影响因素以及相互作用的机制是至关重要的。

进一步从分子水平找出调控相应趋电性迁移

的基因是解释细胞如何感知电场信号及作出趋电迁移这个问题的重要突破口。总而言之,影响细胞趋电性的因素是一个极具研究潜力的领域,在治疗癌症以及促进组织修复等方面的指导意义和应用价值将逐渐显现出来。

参考文献 (References)

- Anderson JD. Galvanotaxis of slime mold. *J Gen Physiol* 1951; 35(1): 1-16.
- Ogawa N, Oku H, Hashimoto K, Ishikawa M. A physical model for galvanotaxis of *Paramecium* cell. *J Theor Biol* 2006; 242(2): 314-28.
- Li J, Nandagopal S, Wu D, Romanuik SF, Paul K, Thomson DJ, *et al.* Activated T lymphocytes migrate toward the cathode of DC electric fields in microfluidic devices. *Lab Chip* 2011; 11(7): 1298-304.
- Cortese B, Palamà IE, D'Amone S, Gigli G. Influence of electro-taxis on cell behaviour. *Integr Biol (Camb)* 2014; 6(9): 817-30.
- Wang E, Zhao M, Forrester JV, McCaig CD. Bi-directional migration of lens epithelial cells in a physiological electrical field. *Exp Eye Res* 2003; 76(1): 29-37.
- Grahn JC, Reilly DA, Nuccitelli RL, Isseroff RR. Melanocytes do not migrate directionally in physiological DC electric fields. *Wound Repair Regen* 2003; 11(1): 64-70.
- Sillman AL, Quang DM, Farhoud B, Fang KS, Nuccitelli R, Isseroff RR. Human dermal fibroblast do not exhibit directional migration on collagen I in direct-current electric fields of physiological strength. *Exp Dermatol* 2003; 12: 396-402.
- Pu J, Zhao M. Golgi polarization in a strong electric field. *J Cell Sci* 2005; 118(Pt 6): 1117-28.
- Petrie RJ, Doyle AD, Yamada KM. Random versus directionally persistent cell migration. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10(8): 538-49.
- Palamà IE, D'Amone S, Coluccia AM, Biasiucci M, Gigli G. Cell self-patterning on uniform PDMS-surfaces with controlled mechanical cues. *Integr Biol (Camb)* 2012; 4(2): 228-36.
- Hale NA, Yang Y, Rajagopalan P. Cell migration at the interface of a dual chemical-mechanical gradient. *ACS Appl Mater Interfaces* 2010; 2(8): 2317-24.
- Borys P. The role of passive calcium influx through the cell membrane in galvanotaxis. *Cell Mol Biol Lett* 2013; 18(2): 187-99.
- Cooper MS, Keller RE. Perpendicular orientation and directional migration of amphibian neural cells in dc electrical fields. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; 81(1): 160-4.
- Onuma EK, Hui SW. A calcium requirement for electric field-induced cell shape changes and preferential orientation. *Cell Calcium* 1985; 6(3): 281-92.
- Onuma EK, Hui SW. Electric field-directed cell shape changes, displacement, and cytoskeletal reorganisation are calcium dependent. *J Cell Biol* 1988; 106(6): 2067-75.
- Nuccitelli R, Smart T. Extracellular calcium levels strongly influence neural crest cell galvanotaxis. *Biol Bull* 1989; 176: 130-5.
- Fang KS, Farhoud B, Nuccitelli R, Isseroff RR. Migration of human keratinocytes in electric fields requires growth factors and

- extracellular calcium. *J Invest Dermatol* 1998; 111(5): 751-6.
- 18 Trollinger DR, Isseroff RR, Nuccitelli R. Calcium channel blockers inhibit galvanotaxis in human keratinocytes. *J Cell Physiol* 2002; 193(1): 1-9.
- 19 Shanley LJ, Walczysko P, Bain M, MacEwan DJ, Zhao M. Influx of extracellular Ca^{2+} is necessary for electrotaxis in *Dictyostelium*. *J Cell Sci* 2006; 119(Pt 22): 4741-8.
- 20 Ozkucur N, Monsees TK, Perike S, Do HQ, Funk RH. Local calcium elevation and cell elongation initiate guided motility in electrically stimulated osteoblast-like cells. *PLoS One* 2009; 4(7): e6131.
- 21 Mycielska ME, Djamgoz MB. Cellular mechanisms of direct-current electric field effects galvanotaxis and metastatic disease. *J Cell Sci* 2004; 117(Pt 9): 1631-9.
- 22 Taylor DL, Blinks JR, Reynolds G. Contractile basis of amoeboid movement. VII. Aequorin luminescence during amoeboid movement, endocytosis, and capping. *J Cell Biol* 1980; 86(2): 599-607.
- 23 Sawyer DW, Sullivan JA, Mandell GL. Intracellular free calcium localisation in neutrophils during phagocytosis. *Science* 1985; 230(4726): 663-6.
- 24 Brundage RA, Fogarty KE, Tuft RA, Fay FS. Calcium gradients underlying polarization and chemotaxis of eosinophils. *Science* 1991; 254(5032): 703-6.
- 25 Marks PW, Maxfield FR. Transient increases in cytosolic free calcium appear to be required for the migration of adherent human neutrophils. *J Cell Biol* 1990; 110(1): 43-52.
- 26 Mandeville JT, Ghosh RN, Maxfield FR. Intracellular calcium levels correlate with speed and persistent forward motion in migrating neutrophils. *Biophys J* 1995; 68(4): 1207-17.
- 27 Lee J, Ishihara A, Oxford G, Johnson B, Jacobson K. Regulation of cell movement is mediated by stretch-activated calcium channels. *Nature* 1999; 400(6742): 382-6.
- 28 Nuccitelli R, Lui K, Kreis M, Athos B, Nuccitelli P. Nanosecond pulsed electric field stimulation of reactive oxygen species in human pancreatic cancer cells is Ca^{2+} -dependent. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 435(4): 580-5.
- 29 Ishibashi H, Dinodom A, Harvey KF, Kumar S, Young JA, Cook DI. $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchange in salivary secretory cells is controlled by an intracellular Na^+ receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96(17): 9949-53.
- 30 Liu F, Verin AD, Borbiev T, Garcia JG. Role of cAMP-dependent protein kinase A activity in endothelial cell cytoskeleton rearrangement. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280(6): L1309-17.
- 31 McLaughlin S, Poo MM. The role of electro-osmosis in the electric-field-induced movement of charged macromolecules on the surfaces of cells. *Biophys J* 1981; 34(1): 85-93.
- 32 Robinson KR. The responses of cells to electrical fields: A review. *J Cell Biol* 1985; 101(6): 2023-7.
- 33 Gao RC, Zhang XD, Sun YH, Kamimura Y, Mogilner A, Devreotes PN, et al. Different roles of membrane potentials in electrotaxis and chemotaxis of dictyostelium cells. *Eukaryot Cell* 2011; 10(9): 1251-6.
- 34 Minc N, Chang F. Electrical control of cell polarization in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Curr Biol* 2010; 20(8): 710-6.
- 35 Morini R, Becchetti A. Integrin receptors and ligand-gated channels. *Adv Exp Med Biol* 2010; 674: 95-105.
- 36 van Duijn B, Vogelzang SA. The membrane potential of the cellular slime mold *Dictyostelium discoideum* is mainly generated by an electrogenic proton pump. *Biochim Biophys Acta* 1989; 983(2): 186-92.
- 37 Perike S, Özkucur N, Sharma P, Staroske W, Bläsche R, Barth K, et al. Phospho-NHE3 forms membrane patches and interacts with beta-actin to sense and maintain constant direction during cell migration. *Exp Cell Res* 2014; 324(1): 13-29.
- 38 Nishizuka Y. Intracellular signaling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. *Science* 1992; 258(5082): 607-14.
- 39 Ozkucur N, Song B, Bola S, Zhang L, Reid B, Fu G, et al. NHE3 phosphorylation via PKC η marks the polarity and orientation of directionally migrating cells. *Cell Mol Life Sci* 2014; 71(23): 4653-63.
- 40 Corry B, Thomas M. Mechanism of ion permeation and selectivity in a voltage gated sodium channel. *J Am Chem Soc* 2012; 134(3): 1840-6.
- 41 Leterrier C, Brachet A, Fache MP, Dargent B. Voltage-gated sodium channel organization in neurons: Protein interactions and trafficking pathways. *Neurosci Lett* 2010; 486(2): 92-100.
- 42 Djamgoz MBA, Mycielska M, Madeja Z, Fraser SP, Korohoda W. Directional movement of rat prostate cancer cells in direct-current electric field: Involvement of voltage gated Na^+ channel activity. *J Cell Sci* 2001; 114(Pt 14): 2697-705.
- 43 Allen GM, Mogilner A, Theriot JA. Electrophoresis of cellular membrane components creates the directional cue guiding keratocyte galvanotaxis. *Curr Biol* 2013; 23(7): 560-8.
- 44 Zhao Z, Watt C, Karystinou A, Roelofs AJ, McCaig CD, Gibson IR, et al. Directed migration of human bone marrow mesenchymal stem cells in a physiological direct current electric field. *Eur Cell Mater* 2011; 22: 344-58.
- 45 Raghunathan V, McKee C, Cheung W, Naik R, Nealey PF, Russell P, et al. Influence of extracellular matrix proteins and substratum topography on corneal epithelial cell alignment and migration. *Tissue Eng Part A* 2013; 19(15/16): 1713-22.
- 46 Palecek SP, Loftus JC, Ginsberg MH, Lauffenburger DA, Horwitz AF. Integrin-ligand binding properties govern cell migration speed through cell-substratum adhesiveness. *Nature* 1997; 385(6616): 537-40.
- 47 Sheridan DM, Isseroff RR, Nuccitelli R. Imposition of a physiologic DC electric field alters the migratory response of human keratinocytes on extracellular matrix molecules. *J Invest Dermatol* 1996; 106(4): 642-6.
- 48 Sage, EH. Regulation of interactions between cells and extracellular matrix: A command performance on several stages. *J Clin Invest* 2001; 107(7): 781-3.
- 49 Pathak A, Kumar S. Biophysical regulation of tumor cell invasion: Moving beyond matrix stiffness. *Integr Biol (Camb)* 2011; 3(4): 267-78.
- 50 Ulrich TA, Jain A, Tanner K, MacKay JL, Kumar S. Probing cellular mechanobiology in three-dimensional culture with collagen-agarose matrices. *Biomaterials* 2010; 31(7): 1875-84.
- 51 Nuccitelli R, Smart T, Ferguson J. Protein kinases are required for embryonic neural crest cell galvanotaxis. *Cell Motil Cy-*

- toskeleton 1993; 24(1): 54-66.
- 52 Zhao M, Dick A, Forrester JV, McCaig CD. Electric field-directed cell motility involves up-regulated expression and asymmetric redistribution of the epidermal growth factor receptors and is enhanced by fibronectin and laminin. *Mol Biol Cell* 1999; 10(4): 1259-76.
- 53 Zhao M, Agius-Fernandez A, Forrester JV, McCaig CD. Orientation and directed migration of cultured corneal epithelial cells in small electric fields are serum dependent. *J Cell Sci* 1996; 109(Pt 6): 1405-14.
- 54 Wu D, Ma X, Lin F. DC electric fields direct breast cancer cell migration, induce EGFR polarization, and increase the intracellular level of calcium ions. *Cell Biochem Biophys* 2013; 67(3): 1115-25.
- 55 Pullar CE, Baier BS, Kariya Y, Russell AJ, Horst BA, Marinkovich MP, *et al.* beta4 integrin and epidermal growth factor coordinately regulate electric field-mediated directional migration via Rac1. *Mol Biol Cell* 2006; 17(11): 4925-35.
- 56 Meng X, Arocena M, Penninger J, Gage FH, Zhao M, Song B. PI3K mediated electrotaxis of embryonic and adult neural progenitor cells in the presence of growth factors. *Exp Neurol* 2011; 227(1): 210-7.
- 57 Zhao M, Pu J, Forrester JV, McCaig CD. Membrane lipids, EGF receptors, and intracellular signals colocalize and are polarized in epithelial cells moving directionally in a physiological electric field. *FASEB J* 2002; 16(8): 857-9.
- 58 Nuccitelli R. A role for endogenous electric fields in wound healing. *Curr Top Dev Biol* 2003; 58: 1-26.
- 59 Wang CC, Kao YC, Chi PY, Huang CW, Lin JY, Chou CF, *et al.* Asymmetric cancer-cell filopodium growth induced by electric-fields in a microfluidic culture chip. *Lab Chip* 2011; 11(4): 695-9.
- 60 Fang KS, Ionides E, Oster G, Nuccitelli R, Isseroff RR. Epidermal growth factor receptor relocalization and kinase activity are necessary for directional migration of keratinocytes in DC electric fields. *J Cell Sci* 1999; 112(Pt 12): 1967-78.
- 61 Pu J, McCaig CD, Cao L, Zhao Z, Segall JE, Zhao M. EGF receptor signalling is essential for electric-field-directed migration of breast cancer cells. *J Cell Sci* 2007; 120(Pt 19): 3395-403.
- 62 Tsai HF, Huang CW, Chang HF, Chen JJ, Lee CH, Cheng JY. Evaluation of EGFR and RTK signaling in the electrotaxis of lung adenocarcinoma cells under direct-current electric field stimulation. *PLoS One* 2013; 8(8): e73418.
- 63 Yan X, Han J, Zhang Z, Wang J, Cheng Q, Gao K, *et al.* Lung cancer A549 cells migrate directionally in DC electric fields with polarized and activated EGFRs. *Bioelectromagnetics* 2009; 30(1): 29-35.
- 64 Hammerick KE, Longaker MT, Prinz FB. *In vitro* effects of direct current electric fields on adipose-derived stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 397(1): 12-7.
- 65 Arocena M, Zhao M, Collinson JM, Song B. A time-lapse and quantitative modelling analysis of neural stem cell motion in the absence of directional cues and in electric fields. *J Neurosci Res* 2010; 88(15): 3267-74.
- 66 Guo A, Song B, Reid B, Gu Y, Forrester JV, Jahoda CA, *et al.* Effects of physiological electric fields on migration of human dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol* 2010; 130(9): 2320-7.
- 67 Li F, Chen T, Hu S, Lin J, Hu R, Feng H. Superoxide mediates direct current electric field-induced directional migration of glioma cells through the activation of AKT and ERK. *PLoS One* 2013; 8(4): e61195.
- 68 Sato MJ, Kuwayama H, van Egmond WN, Takayama AL, Takagi H, van Haastert PJ, *et al.* Switching direction in electric-signal-induced cell migration by cyclic guanosine monophosphate and phosphatidylinositol signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106(16): 6667-72.
- 69 Zhao M. Electrical fields in wound healing-An overriding signal that directs cell migration. *Semin Cell Dev Biol* 2009; 20(6): 674-82.
- 70 Sun Y, Do H, Gao J, Zhao R, Zhao M, Mogilner A. Keratocyte fragments and cells utilize competing pathways to move in opposite directions in an electric field. *Curr Biol* 2013; 23(7): 569-74.
- 71 Huang CW, Chen HY, Yen MH, Chen JJ, Young TH, Cheng JY. Gene expression of human lung cancer cell line CL1-5 in response to a direct current electric field. *PLoS One* 2011; 6(10): e25928.
- 72 Besson A, Davy A, Robbins SM, Yong VW. Differential activation of ERKs to focal adhesions by PKC epsilon is required for PMA-induced adhesion and migration of human glioma cells. *Oncogene* 2001; 20(50): 7398-407.
- 73 Cao L, Pu J, Zhao M. GSK-3 β is essential for physiological electric field-directed Golgi polarization and optimal electrotaxis. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68(18): 3081-93.
- 74 Finkelstein E, Chang W, Chao PH, Gruber D, Minden A, Hung CT, *et al.* Roles of microtubules, cell polarity and adhesion in electric-field-mediated motility of 3T3 fibroblasts. *J Cell Sci* 2004; 117(Pt 8): 1533-45.
- 75 Pullar CE, Isseroff RR, Nuccitelli R. Cyclic AMP-dependent protein kinase A plays a role in the directed migration of human keratinocytes in a DC electric field. *Cell Motil Cytoskeleton* 2001; 50(4): 207-17.
- 76 Pullar CE, Isseroff RR. Cyclic AMP mediates keratinocyte directional migration in an electric field. *J Cell Sci* 2005; 118(Pt 9): 2023-34.
- 77 Cao L, Wei D, Reid B, Zhao S, Pu J, Pan T, *et al.* Endogenous electric currents might guide rostral migration of neuroblasts. *EMBO Rep* 2013; 14(2): 184-90.
- 78 Welf ES, Haugh JM. Signaling pathways that control cell migration: Models and analysis. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* 2011; 3: 231-40.
- 79 Yvonne Beckham, Robert J. Vasquez, Jonathan Stricker, Kareem Sayegh, Clement Campillo, Margaret L. Gardel. Arp2/3 inhibition induces amoeboid-like protrusions in MCF10A epithelial cells by reduced cytoskeletal membrane coupling and focal adhesion assembly. *PLoS One* 2014; 9(6): e100943.
- 80 Huang CH, Tang M, Shi C, Iglesias PA, Devreotes PN. An excitable signal integrator couples to an idling cytoskeletal oscillator to drive cell migration. *Nat Cell Biol* 2013; 15(11): 1307-16.
- 81 Simiczjew A, Mazur AJ, Popow-Woźniak A, Malicka-Błaszkiewicz M, Nowak D. Effect of overexpression of β - and γ -actin isoforms on actin cytoskeleton organization and migration of human colon cancer cells. *Histochem Cell Biol* 2014; 142(3): 307-22.
- 82 Maes H, van Eygen S, Krysko DV, Vandenabeele P, Nys K, Ril-

- laerts K, *et al.* BNIP3 supports melanoma cell migration and vasculogenic mimicry by orchestrating the actin cytoskeleton. *Cell Death Dis* 2014; 5: e1127.
- 83 Liu J, Li W, Wang S, Wu Y, Li Z, Wang W, *et al.* MiR-142-3p attenuates the migration of CD4⁺ T cells through regulating actin cytoskeleton via RAC1 and ROCK2 in arteriosclerosis obliterans. *PLoS One* 2014; 9(4): e95514.
- 84 Li F, Wang H, Li L, Huang C, Lin J, Zhu G, *et al.* Superoxide plays critical roles in electrotaxis of fibrosarcoma cells via activation of ERK and reorganization of the cytoskeleton. *Free Radic Biol Med* 2012; 52(9): 1888-96.
- 85 Janmey PA, McCulloch CA. Cell mechanics: Integrating cell responses to mechanical stimuli. *Annu Rev Biomed Eng* 2007; 9: 1-34.
- 86 Bao G, Suresh S. Cell and molecular mechanics of biological materials. *Nat Mater* 2003; 2(11): 715-25.
- 87 Ingber DE. Cellular mechanotransduction: Putting all the pieces together again. *FASEB J* 2006; 20(7): 811-27.

中国细胞生物学