

THE CELL AS A MIRACLE OF ARCHITECTURE

II. Cytoskeleton, able to sense and memorize

Yu. M. VASIL'EV

The paper examines basic mechanisms of cellular movement and, in particular, the mechanisms which determine the direction of pseudopod extension in response to external signals. The roles of two cytoskeletal systems (actin microfilaments and microtubules) in the stabilization of movement orientation are discussed. Importance of these mechanisms of cellular movements in the formation of tissue and organ structures of multicellular organisms is stressed.

В статье рассмотрены механизмы клеточных движений и в особенности механизмы ориентировки образования псевдоподий внешними сигналами, а также роль двух цитоскелетных систем, актиновых микрофиламентов и микротрубочек, в стабилизации ориентировки и поддержании направления движений. Показана определяющая роль таких механизмов в организации клеток и тканей многоклеточного организма.

КЛЕТКА КАК АРХИТЕКТУРНОЕ ЧУДО

II. Цитоскелет, способный чувствовать и помнить

Ю. М. ВАСИЛЬЕВ

Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

ВВЕДЕНИЕ. МОЛЕКУЛЫ И МОРФОЛОГИЯ

Изучение молекулярных механизмов морфогенеза — одна из основных, может быть, главная проблема биологии ближайшего будущего. Мы уже много знаем о генетических механизмах, определяющих природу химических компонентов клетки, и в особенности структуру белков. Вместе с тем, мы еще плохо понимаем, как особенности этих химических компонентов определяют сложнейшую структуру всего многоклеточного организма. Мы не знаем, как изменения генов и кодируемых ими белков реализуются в изменениях формы и размещения клеток, тканей и органов. Приведу только один наглядный пример: мы хорошо понимаем, как ДНК родителей определяет структуру любого белка их ребенка, но совершенно ничего не знаем о том, как эта ДНК определяет морфологические черты лица их ребенка, то есть форму его подбородка, губ, носа, ушей и т.д. А ведь о сходстве детей с родителями мы обычно судим именно по этим чертам.

Одним из наиболее перспективных подходов к этой проблеме является исследование механизмов изменений цитоскелета. В предыдущей статье¹ я рассказал о том, что цитоскелет — это основа подвижной архитектуры клеток животных и растений. Напомню, что цитоскелет образован тремя системами белковых нитей: микрофиламентами, состоящими из белка актина, микротрубочками, состоящими из белка тубулина и промежуточными филаментами, состоящими из разных белков. Эти нити собираются (полимеризуются) из соответствующих белковых молекул и вновь разбираются на отдельные молекулы. Благодаря такой полимеризации—деполимеризации цитоскелет непрерывно перестраивается, и эти перестройки являются основой изменений формы и движений клеток, лежащих в основе образования клеток и органов.

В этой статье мы разберем некоторые простейшие цитоскелетные механизмы таких движений и изменений формы. Конкретнее говоря, попытаюсь

¹ См. "Соросовский Образовательный Журнал", № 2, 1996 г.

объяснить, как клетка (или часть ее) ползет по твердой поверхности (так называемой подложке) и при том ползет в определенном направлении, проявляя зачастую поразительную способность выбирать определенную ориентировку и, когда надо, соблюдать эту ориентировку, а когда надо — менять ее. На примере двух разных клеточных типов фибробластов и нейронов попытаюсь показать, как разумные движения отдельных клеток приводят к образованию сложных многоклеточных структур.

ФИБРОБЛАСТЫ ПОЛЗУТ К ЦЕЛИ

Все клетки ползут, образуя на переднем крае динамичные выросты — псевдоподии разной формы. В псевдоподиях под мембраной клетки полимеризуются актиновые микрофиламенты, которые связываются с миозином и другими белками (см. предыдущую статью). Псевдоподии могут прикрепляться к поверхности подложки и, сокращаясь, тянут всю клетку вперед. Таков основной механизм движения. Очевидно, направление движения определяется тем, на каком краю клетки будут образовываться, прикрепляться и сокращаться псевдоподии.

Что же определяет места образования псевдоподий? Для того чтобы лучше это понять, рассмотрим движения одной из клеток, чаще всего используемых в экспериментах, клеток соединительной ткани — фибробластов. Фибробласты, помещенные в культуру и распластавшиеся на плоской подложке, например, на дне чашки Петри со средой, приобретают форму веера или веретена. Они поляризованы, то есть образуют псевдоподии лишь на одном или двух полюсах. Эти клетки могут ползти направленно в сторону одного из активных полюсов. Их боковые края неактивны.

Благодаря динамике цитоскелета фибробласт может менять форму и направление движений в ответ на изменения окружающего внешнего мира: например, в ответ на изменения питательной среды и поверхности подложки. Ориентировка этих клеток начинается с того, что клетка получает направленный сигнал из внешнего мира. Например, поместим возле одного из краев клетки капилляр и будем из него выпускать в среду раствор веществ, который, попадая на поверхность клетки, вызывает в этом месте поверхности образование псевдоподий; в результате клетка начинает направленно двигаться в сторону сигнала. Это явление называется положительным хемотаксисом. Веществами, вызывающими такой хемотаксис у фибробластов, являются некоторые специальные белки, так называемые факторы роста. Хемотаксические вещества связываются со специальными белками — рецепторами в наружной мембране клетки и активизируют их. Такая активация через какие-то еще неясные промежуточные химические реакции вызывает полимеризацию актина под соответствующим местом мембраны и выпячивание псевдоподии. Если кон-

центрация активирующих веществ с разных сторон клетки различна, то на одном конце клетки будет образовываться и прикрепляться к подложке больше псевдоподий, чем на другом. Контакт с другой клеткой может действовать противоположно хемотаксису: если какой-то участок активного края фибробласта касается поверхности другой клетки, то образование псевдоподий в этом месте края немедленно прекращается; происходит “контактное торможение” или “контактный паралич” этого участка (рис. 1).

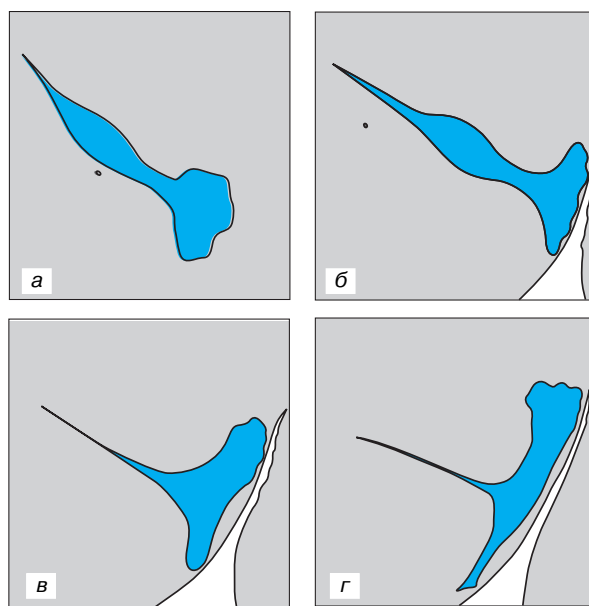


Рис. 1. Контактный паралич мышинного фибробласта при встрече с другой клеткой. В кадрах микросъемки обведены контуры клеток. Время между последовательными кадрами составляет 20 мин. *а* — фибробласт, ползущий направо: широкие псевдоподии на правом полюсе; *б* — правый активный полюс вступил в контакт с краем другой клетки; *в* — *г* — образование псевдоподий вдоль контакта почти прекратилось. Клетка сменила места образования псевдоподий, вытягивается и движется параллельно краю другой клетки.

Механизмы такого паралича еще неясны, но его биологический смысл очевиден: благодаря параличу клетка не заползает на другую клетку, но, коснувшись ее, поворачивает туда, где есть свободная поверхность подложки. Двигаясь, клетки соблюдают взаимную вежливость. Третий внешний фактор, меняющий распределение псевдоподий — различная адгезивность (“липкость”) разных участков поверхности подложки. Например, посадим клетку не на широкое плоское стекло, а на узкий стеклянный цилиндр, диаметр которого (30 микрометров) лишь немногим больше диаметра самой клетки. Тогда

фибробласт начинает выбрасывать псевдоподии во все стороны. Но лишь те псевдоподии, которые выброшены вдоль, а не поперек цилиндра, смогут коснуться свободной поверхности стекла и прикрепиться к ней; псевдоподии, выброшенные поперек стекла, такой подложки не найдут, и клетка втянет их обратно (рис. 2, 3).

Таким образом, во всех случаях под влиянием внешних факторов у клетки возникает первичная поляризация образования и прикрепления псевдоподий. Однако такая поляризация часто очень неустойчива. Чтобы направленно двигаться, клетка должна запомнить и стабилизировать эффект внешних факторов. Эта стабилизация выражается в том, что клетка совсем перестает выбрасывать псевдоподии в тех направлениях, где их прикрепление было менее удачно, и начинает их выбрасывать более эффективно только в наиболее удачных направлениях, например, вдоль цилиндра или ближе к источнику химиотаксического вещества (рис. 3а).

Такая стабильная поляризация достигается благодаря перестройкам архитектуры двух цитоскелетных систем — актина и микротрубочек. Первой ее стадией является реорганизация актинового кортекса, то есть сети микрофиламентов, расположенной под мембраной всего тела клетки. Как мы знаем, прикрепленные псевдоподии содержат актиновые микрофиламенты, соединенные одним концом с подложкой через мембрану, а другим концом с микрофиламентами в кортексе тела клетки. Там, где

прикрепления к подложке прочны, микрофиламенты, пытаясь сократиться, будут тянуть в свою сторону весь кортекс. В тех местах, где прикрепленных псевдоподий больше, натяжение сильнее, и кортекс будет вытягиваться вдоль этого направления натяжений. При этом актиновые микрофиламенты в кортексе будут, натягиваясь, ориентироваться вдоль этого направления. Каким-то неизвестным еще образом ориентировка кортекса определяет места выбрасывания новых псевдоподий: клетка перестает их выбрасывать на тех боковых краях, которые параллельны натяжениям. Эта роль натяжения подтверждена прямыми опытами: если один из участков поверхности клетки растянуть механически микроиглой, то образование псевдоподий в таком участке прекращается. Стабилизация натяжением резко усиливает небольшие количественные различия в числе прикрепленных псевдоподий в разных участках поверхности: происходит качественное разделение поверхности на стабильные и активные участки. У фибробластов для стабилизации формы, кроме актинового кортекса, необходима еще и вторая цитоскелетная система, микротрубочки. Если разрушить микротрубочки колхицином или похожим веществом (см. предыдущую статью), то фибробласт теряет вытянутую форму, а его актиновые микрофиламенты в кортексе теряют общую ориентировку. Сосредоточить свои псевдоподии на одном участке края такая клетка не может, даже если имеется ориентирующий внешний фактор, например, цилиндрическая подложка или химиотаксический

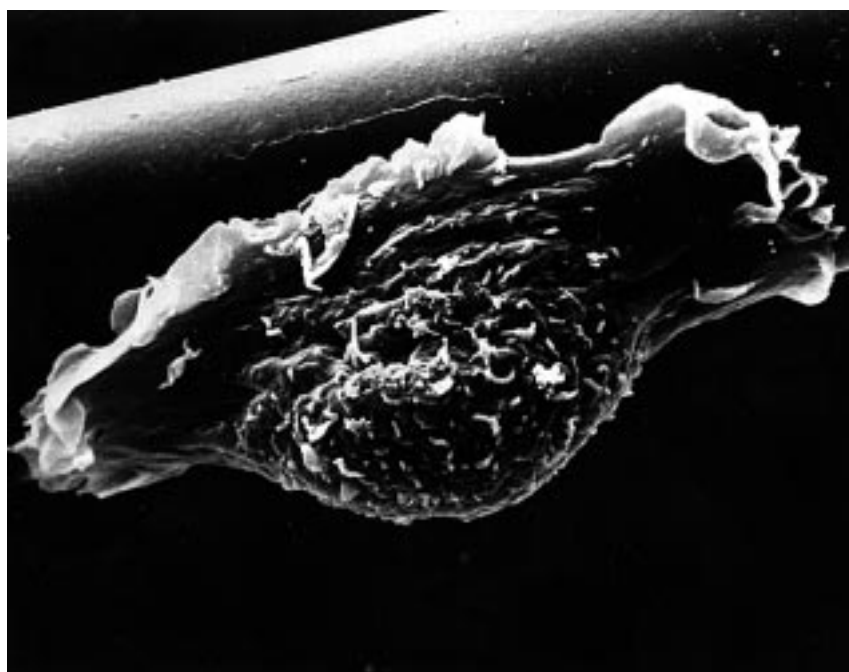


Рис. 2. Фибробласт, начавший вытягиваться на цилиндрической подложке. Псевдоподии прикрепляются вдоль оси подложки, но не поперек ее. Сканирующий электронный микроскоп.

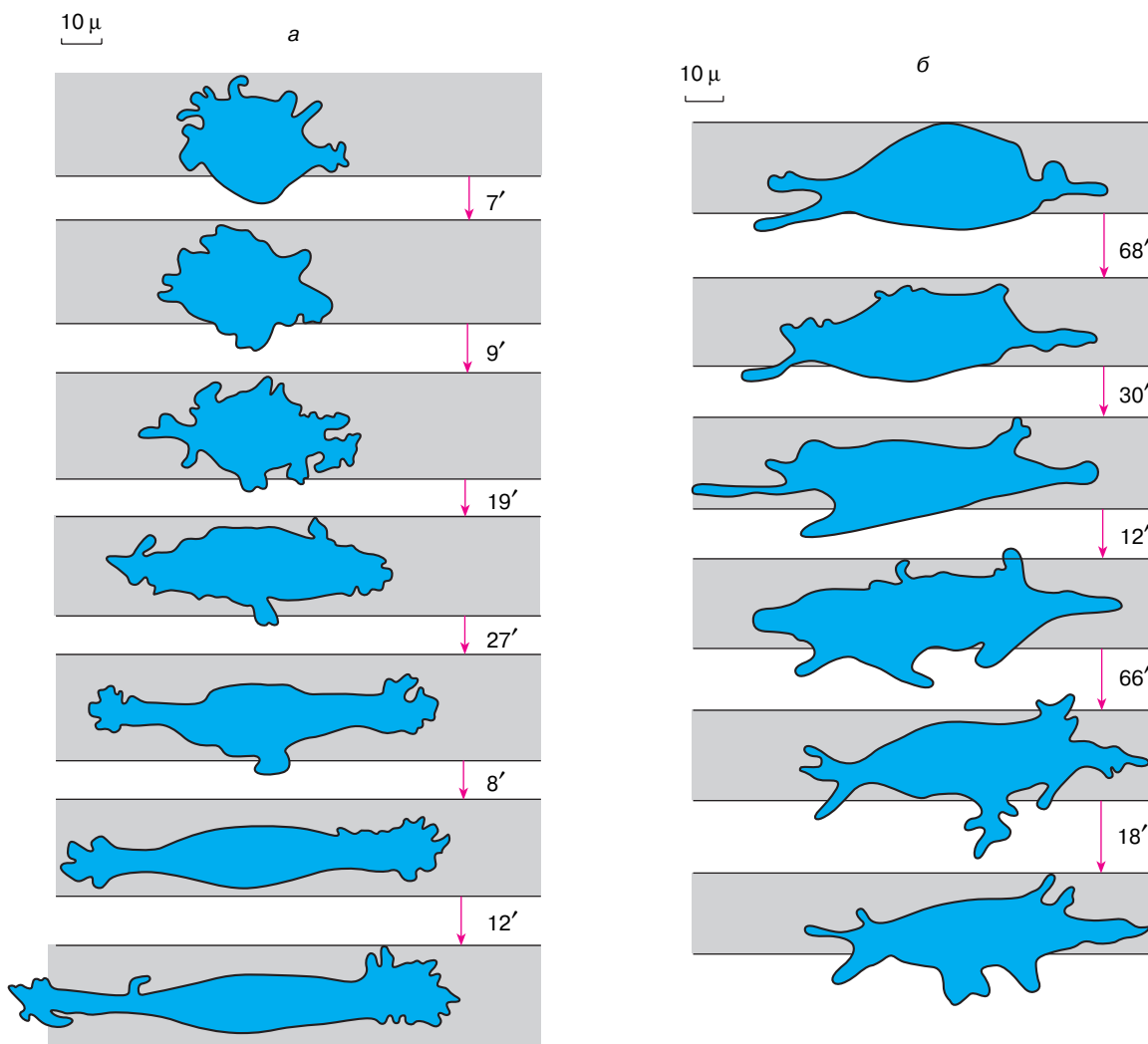


Рис. 3. Движения фибробласта, посаженного на узкую плоскую полоску стекла (параллельные линии). Сверху вниз контуры одной клетки, сделанные по последовательным кадрам кино съемки; цифры рядом со стрелками – время между кадрами. *а* – контроль. Клетка постепенно вытягивается вдоль полоски. Образование псевдоподий сосредоточивается на полюсах и прекращается на боковых краях клетки, параллельных длине полоски (стабилизация боковых краев); *б* – клетка в среде с колленидом, разрушившим микротрубочки. Клетка несколько вытянулась, но полной стабилизации боковых краев не происходит: псевдоподии образуются и вдоль и поперек длины полоски.

градиент (рис. 3б). Клетка без микротрубочек все время выбрасывает псевдоподии по всему краю во всех возможных направлениях. Разумеется, такая клетка теряет способность направленно двигаться, но совершает лишь бессмысленный “бег на месте”.

Таким образом, у фибробластов имеется две степени цитоскелетной стабилизации формы и движений – актиновая и микротрубочковая. В отличие от фибробластов, у некоторых клеток, слабо вытянутых, например, у лейкоцитов, разрушение микротрубочек почти не меняет форму и движения; очевидно, у таких клеток “работает” одна актиновая стабилизация. Лейкоцит меняет ориентировку и

направление движений гораздо чаще, чем фибробласт. Можно сравнить актиновую стабилизацию с кратковременной памятью, которая запоминает эффекты сигналов лишь на небольшое время, а микротрубочковую стабилизацию фибробласта – с долговременной памятью. Остается нерешенным еще вопрос о механизмах стабилизации: каким образом реорганизация цитоскелета определяет места выбрасывания псевдоподий? Вероятнее всего, актиновые нити и микротрубочки транспортируют на периферию, к определенным клеткам какие-то органеллы, индуцирующие в этих местах полимеризацию новых микрофиламентов и, следовательно,

выбрасывание псевдоподий. Действительно, стабилизацию мест образования псевдоподий можно нарушить у фибробластов агентами, нарушающими транспорт органелл, в особенности инъекцией антител к кинезину — известному нам мотору, везущему органеллы к микротрубочкам. Какие именно органеллы регулируют образование псевдоподий, остается пока неясным.

Движения фибробластов, как и движения других клеток, удобнее изучать в культуре, чем в организме, хотя бы потому, что только в культуре и подложка (дно чашки Петри), и среда прозрачны, и все детали движений можно наблюдать под микроскопом. Вместе с тем, закономерности, открытые в культуре, имеют общий характер и относятся и к движениям клеток в организме. Выберем только один пример — заживление раны: кожа ранена каким-то орудием, из поврежденных сосудов выходит кровь, которая свертывается в ране. При свертывании крови образуется сгусток фибриновых нитей, и из разрушающихся клеток крови — тромбоцитов выделяется тромбоцитарный фактор роста. По всей вероятности, градиент этого фактора в среде привлекает в рану фибробласты из окружающей соединительной ткани. Нити фибрина, подобно цилиндрическим подложкам в культуре, могут служить “рельсами”, направляющими дополнительно движение фибробластов в рану. Наконец, клетки, идущие в рану с разных сторон, благодаря контактному параличу, ориентируются упорядоченно друг относительно друга. Фибробласты, направленно мигрировавшие в рану, начинают там размножаться и делать коллагеновые волокна. Образуется рубец, и рана заживает. Заживление раны — лишь один из вариантов процессов, при которых направленные миграции фибробластов и близких к ним клеток, например, костных клеток, остеобластов или хрящевых клеток, хондробластов, восстанавливают поврежденную структуру соответствующих тканей нашего организма или меняют эту структуру в ответ на действие внешних факторов.

ОТРОСТОК НЕЙРОНА ПОЛЗЕТ К ЦЕЛИ

Рассмотрим теперь движения клеток, которые составляют основу самой сложной из существующих в природе организаций — нашего мозга, нашей нервной системы. Особая, наверное, главная черта этой организации — система сложнейших индивидуальных связей между клетками, по которым через особые межклеточные контакты, синапсы, сигнал передается от одной нервной клетки (нейрона) к другому нейрону или мышечной клетке. Для такого направленного проведения сигналов нейроны в процессе эмбрионального развития образуют отростки, которые растут к клетке-мишени. Иногда длина таких отростков может быть очень большой: отростки нейронов коры головного мозга, соединяющиеся с двигательными нейронами спинного

мозга, у человека могут превышать 1 м. Рост отростков очень точно направлен: они соединяются только с нужными клетками-мишенями, то есть с определенной группой нейронов или определенной мышцей. Важность такой точности соединений для правильной работы мозга очевидна: например, как бы мы двигали рукой, если бы отростки двигательных нейронов, заведующих движениями мизинца, соединялись не с мышцами мизинца, а с мышцами большого пальца или наоборот?

Как же осуществляется такой точно ориентированный рост отростков нейронов? Разберем кратко, как происходит такая ориентировка у эмбриональных нервных клеток, помещенных в культуру. Рост отростков нервных клеток внешне совершенно отличен от движений фибробластов: у нейрона ползет по подложке лишь маленький уплощенный фрагмент клетки — так называемый конус роста и прикрепляющийся на переднем крае псевдоподии (рис. 4). Конус роста очень похож на уменьшенную копию безъядерного фибробласта. Задний конец конуса роста соединен с телом клетки цилиндрическим стволом, богатым микротрубочками. Ни ствол, ни тело клетки псевдоподий не образуют. Двигаясь вперед, конус роста тянет за собой ствол, который при этом удлиняется. Иногда сравнивают тело нейрона с хозяином, который на удлиняющемся поводке (стволе) держит бегущую собачку (конус роста).

Направление движения конуса роста определяется внешними сигналами, меняющими образование и прикрепление псевдоподий: а) градиентами концентрации специальных белков, растворенных в среде (так называемого фактора роста нервов) и б) формой подложки: в частности, конус роста хорошо ползет вдоль разных цилиндрических поверхностей. Например, одним из факторов стабилизации эффекта внешних агентов является натяжение кортекса: микроигла, натягивающая отросток в сторону, может соответственно изменить направление его роста. Для ориентировки отростка необходима и система микротрубочек: при разрушении этой системы рост отростка прекращается, и сам отросток сокращается. Таким образом, несмотря на внешние различия, механизмы движений фибробластов и роста нервных отростков сходны по общим механизмам: они включают создание внешними факторами неравномерности прикрепления и стабилизацию этих различий двумя цитоскелетными системами.

Особенность нейронов заключается в чрезвычайно длительной и стойкой микротрубочковой стабилизации отростков, в длительной “долговременной памяти”. Приобретая определенную ориентировку, отростки сохраняют ее неопределенно долго, часто до конца жизни организма. Именно такая модификация цитоскелетного механизма стабилизации отростков обеспечивает правильную организацию нервной системы.

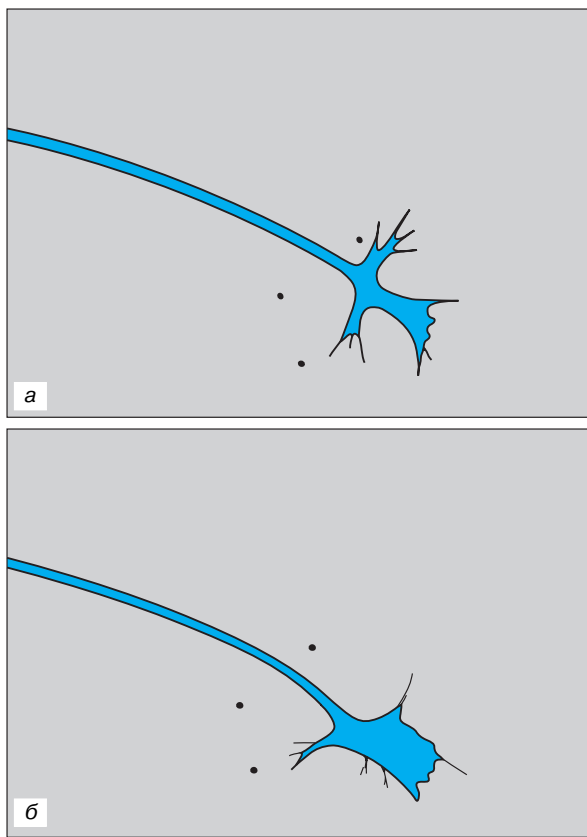


Рис. 4. Контуры отростка нейрона, растущего вправо. Справа – конус роста, слева – ствол отростка, тело нейрона – на левом конце ствола вне рисунка. Время между кадрами *а* и *б* – 5 мин. За это время на активном краю конуса роста вытянулось и сократилось несколько псевдоподий, тогда как контур стабильного края ствола не изменился. На стекле вне клетки – неподвижные точки; видно, как сдвинулся вправо конус роста за время между кадрами.

ЛОЖНЫЕ ВНУТРЕННИЕ СИГНАЛЫ АКТИВИРУЮТ НЕРЕГУЛИРУЕМЫЕ ДВИЖЕНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Нормальная система регуляции движений нормальных клеток может портиться в результате мутаций, и эта порча может иметь самые серьезные последствия для всего организма. Как мы видели, движения нормальных клеток, таких как фибробласты, вызываются и регулируются внешними сигналами, например, факторами роста, выделяемыми другими клетками, такими как тромбоциты. Эти приходящие извне молекулы активируют рецепторы мембраны фибробласта и через ряд промежуточных стадий реакций вызывают образование псевдоподий. В некоторых клетках могут произойти мутации генов, кодирующих белки, участвующие в такой системе проведения сигналов. В результате синтезируются белки, постоянно активирующие

клетку, независимо от внешних сигналов. Например, нормальный фибробласт не синтезирует тромбоцитарный фактор роста; ген, кодирующий этот белок, “молчит” в нормальном фибробласте. Однако, если этот ген мутирует и активируется, то фибробласт начинает синтезировать и выделять такой фактор. Сев на рецепторы мембраны, этот белок будет стимулировать ту же клетку, которая его выработала: эта клетка начнет двигаться независимо от внешних сигналов, активируя саму себя (рис. 5).

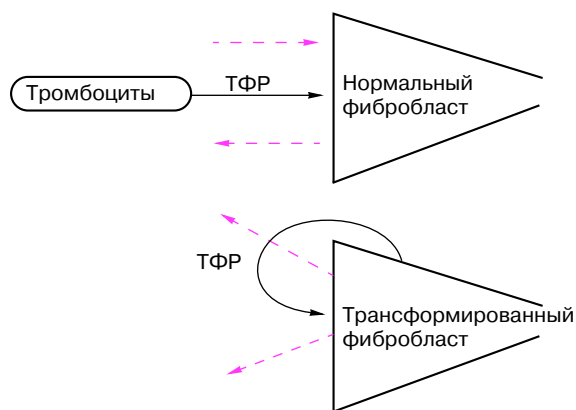


Рис. 5. Вверху – нормальный фибробласт движется по направлению к внешнему сигналу – градиенту тромбоцитарного фактора роста /ТФР/, выделяемого на расстоянии тромбоцитами. Внизу – опухолевый фибробласт, движущийся беспорядочно под влиянием ТФР, выделяемого им самим. Это один из многих вариантов стимуляции опухолевой клетки собственными “внутренними” сигналами.

Сейчас мы знаем, что опухолевые клетки – это клетки с мутациями генов, ответственных за проведение сигналов. “Самостимуляция” клеточных движений в результате некоторых из таких мутаций, по-видимому, является основой самых опасных для организма свойств некоторых опухолевых клеток: их способности к инвазии и метастазированию, то есть способности выйти из той ткани, где возникли, и двигаться в другие ткани и даже в другие органы, давая там начало новым колониям, разрушающим нормальные структуры организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. КЛЕТКА ПРОБУЕТ, ОЦЕНИВАЕТ, ЗАПОМИНАЕТ

Подведем теперь некоторые итоги. Выбрасывая псевдоподии в ответ на внешние сигналы, клетка пробует и оценивает свое окружение. Где можно лучше прикрепить эти псевдоподии? Куда можно и нужно ползти? Неравномерное образование, прикрепление и натяжение псевдоподий в разных участках поверхности клетки вызывает перестройку всего цитоскелета, сперва актинового, потом

микротрубочкового. Реорганизуя цитоскелет, клетки запоминают результаты предыдущих проб, предыдущих псевдоподиальных реакций и стабилизируют направления будущих реакций.

Таким образом, клетка все время исследует окружающий ее мир и меняет свое поведение в зависимости от результатов этого исследования. Один и тот же механизм в разных его модификациях обеспечивает и движение фибробластов при заживлении раны, и движения отростков нейронов при образовании нервной системы и, вероятно, множество других процессов морфогенеза, приводящих к формированию нашего многоклеточного организма. При этом поведение каждой отдельной клетки социально разумно: оно согласовано с поведением окружающих ее клеток через сигналы, поступающие от клетки к клетке через жидкую среду или прямой клеточный контакт. Каждый тип клеток реагирует на сигналы по-своему. Эти различия определяются химическими различиями белковых молекул реагирующих систем, например, рецепторов, цитоскелета и т.д. Разумеется, эти различия определяются особенностями кодирующих белки генов. Порча механизмов оценки социального окружения от-

дельных клеток приводит к тому, что эти клетки перестают разумно реагировать на внешние сигналы, но активируют сами себя. Такая злокачественная трансформация клеток может вызывать гибель всего организма. Мы не знаем еще точной природы всех нормальных и патологических вариантов этих механизмов морфогенеза, но можно надеяться, что мы уже начали понимать, где искать их единые принципы.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. *Ченцов Ю.С.* Общая цитология (Введение в биологию клетки). М.: Изд-во МГУ, 1995. 3-е изд.
2. *Албертс А., Брей Д., Льюис Р., Рафф М., Робертс К., Уотсон Дж.* Молекулярная биология клетки в 3 т. пер. с англ. М.: Мир, 1994.

* * *

Юрий Маркович Васильев, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, профессор кафедры вирусологии МГУ, зав. лабораторией Всероссийского онкологического научного центра. Автор 180 научных работ, включая 6 монографий на русском и английском языках.