

WŁODZIMIERZ KOROHODA

Zakład Biologii Komórki
Instytutu Biologii Molekularnej im. Jana Zurzyckiego
Uniwersytet Jagielloński
Kraków

MIGRACJA KOMÓREK NABŁONKOWYCH

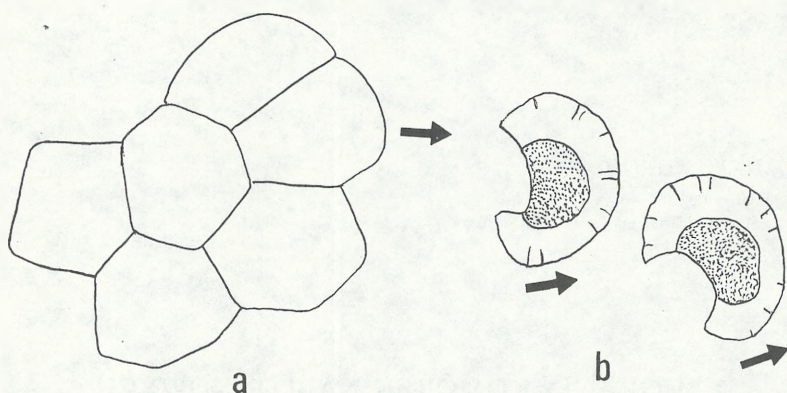
WSTĘP

Nabłonki są tkankami, które ograniczają i pokrywają powierzchnie jam ciała i zewnętrzne powierzchnie organizmów zwierzęcych. Zbudowane są z pojedynczych albo wielowarstwowych arkuszy komórek, które z jednej strony przylegają do leżących pod nimi tkanek lub błon podstawnych (swoją powierzchnią bazalną), zaś z drugiej, przeciwnej, mają wolne powierzchnie zwrócone do jam ciała lub do środowiska zewnętrznego (jest to ich powierzchnia apikalna). *In vivo* komórki nabłonków są zatem strukturalnie spolaryzowane, co ma duże znaczenie dla ich czynności.

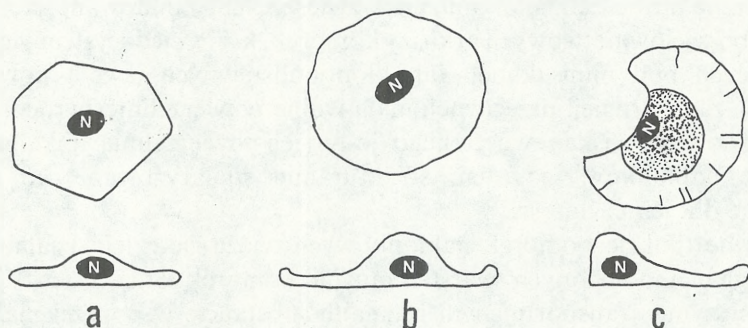
Główne funkcje komórek nabłonkowych wiążą się z ich działaniem jako osłony głębiej położonych warstw innych komórek oraz z ich działaniem wydzielniczym i transportującym rozmaite substancje w poprzek nabłonków. W nabłonkach jednowarstwowych pojedyncze komórki wykazują wyraźną polaryzację struktury i funkcji. Odpowiada temu polaryzacja składu chemicznego i organizacji budowy błony komórkowej. Inne właściwości ma błona po stronie apikalnej komórki, a inne po stronie bazalnej.

Po stronie apikalnej powierzchnia komórek może być gładka, mogą na niej wytwarzać się rozmaite dodatkowe osłony zbudowane najczęściej z keratyn, lub też mogą na niej być wytwarzane mikrokosmki (microvilli). Po stronie bazalnej natomiast występują hemidezmosomy, układy białek tworzących kontakty zogniskowane (ang. focal contacts) oraz receptory dla białek macierzy międzykomórkowej (dla laminin, kolagenów i fibronektyn). Powierzchnia apikalna komórek nie może wykazywać takiej samej adherencji jak powierzchnia bazalna, gdyż powodowałoby to zarastanie i zamykanie światła jam ciała i naczyń.

Również potrzeba zwartości warstwy komórek jako osłony wiąże się z występowaniem rozmaitych połączeń lateralnych między komórkami. Występują tutaj złącza międzykomórkowe typu tight junction, gap junctions, dezmosomy, zona adherens, a także połączenia, w których uczestniczą białka typu CAM (ang. cell adhesion molecules).



Ryc. 1. Morfologia komórek nabłonkowych w hodowli *in vitro*: a) grupa przylegających do siebie komórek nabłonkowych, w której tylko komórki brzeżne wykazują aktywność ruchową, b) pojedyncze migrujące komórki nabłonkowe. Strzałki wskazują na kierunek ruchu



Ryc. 2. Kształty komórek nabłonkowych w hodowli *in vitro*: a) wielokątna komórka nie wykazująca aktywności ruchowej (taką morfologię wykazują komórki położone wewnątrz kolonii lub bezpośrednio po izolacji z tkanki), b) niespolaryzowana komórka w formie „sadzonego jaja”, c) migrująca komórka nabłonkowa

W organizmie komórki nabłonkowe zazwyczaj nie wykazują aktywnej migracji. Odnowianie nabłonków odbywa się w wyniku aktywności proliferacyjnej ich komórek, a ubytki pojedynczych komórek uzupełnione są w wyniku podziału komórek sąsiednich. W nabłonkach wielowarstwowych następuje ciągle odnowianie komórek w wyniku podziałów mitotycznych w warstwie rozrodczej (przy powierzchni bazalnej nabłonka) i następnie wypychania kolejnych warstw komórek ku powierzchni apikalnej nabłonka.

Aktywna migracja komórek nabłonkowych występuje:

a) podczas rozwoju zarodkowego organizmów, zarówno jego wczesnych stadiów (np. gastrulacji), jak i w trakcie kształtowania się narządów (organogenezy);

- b) podczas gojenia się ran;
- c) podczas rozwoju chorób nowotworowych, np. w trakcie lokalnej inwazji komórek carcinoma.

W hodowlach *in vitro* można obserwować migrację komórek w układach stanowiących uproszczone modele wyżej wymienionych trzech sytuacji. Migracja nabłonków przez wiele lat była badana mniej intensywnie niż migracja komórek mezenchymalnych (najczęściej fibroblastów), jednak w ostatnich latach lokomocja komórek nabłonkowych, szczególnie keratynocytów kręgowców (ludzkich, myszy, ropuchy *Xenopus*, ryb), badana jest w wielu pracowniach.

MIGRACJA KOMÓREK NABŁONKOWYCH *IN VIVO*

Podczas rozwoju organizmów w procesach morfogenezy nabłonki wielokrotnie przyjmują nowe kształty i formy dzięki aktywnym ruchom budujących je komórek. Trinka us (1976) rozróżnia dwa podstawowe typy rozprzestrzania się nabłonków:

- a) dzięki aktywnej migracji komórek położonych na wolnych brzegach arkuszy komórek nabłonkowych, tak jak to ma miejsce podczas epibolii w rozwoju ptaków i ryb kostnoszkieletowych (teleost and avain epiboly),

- b) ruch bez wolnego brzegu arkusza komórek nabłonkowych dzięki aktywności wszystkich komórek budujących arkusz tkanki nabłonkowej, tak jak to występuje podczas gastrulacji u płazów.

Pierwszy z typów ruchu charakteryzuje się dużą aktywnością komórek brzeżnych, które ciągną za sobą całość komórek arkusza wzajemnie ze sobą związanych, ale słabo przylegających do podłoża i mało aktywnych. Ten typ przesuwania się warstw komórek nabłonkowych po dwuwymiarowym podłożu występuje podczas zamykania się ran. Tylko brzeżne, aktywnie migrujące komórki silnie przylegają do podłoża, tworząc liczne wypustki o charakterze lamellipodiów. Wielokrotnie wykazywano za pomocą mikromanipulacji, że dalej od brzegu rany położone komórki łatwo jest oderwać od podłoża, podobnie jak podczas epibolii u płazów i ptaków (por. Trinka us 1988).

MIGRACJA KOMÓREK NABŁONKOWYCH *IN VITRO*

PRZYCZEPNOŚĆ KOMÓREK DO PODŁOŻA

Wzrost keratynocytów izolowanych ze skóry ludzkiej i tworzenie się dużych tzw. „megakolonii” hodowanych na warstwie zabitych promieniowaniem ultrafioletowym fibroblastów (ang. „feeder layer”) silnie zależy od obecności czynników wzrostowych w pożywce. Naskórkowy czynnik wzrostowy (EGF) powoduje, że komórki z brzegu kolonii migrują szybko odśrodkowo i kolonie rosnące w obecności EGF mają ośmiokrotnie większy promień niż kolonie pierwotne. Jeszcze silniej działa transformujący czynnik wzrostowy α (ang.

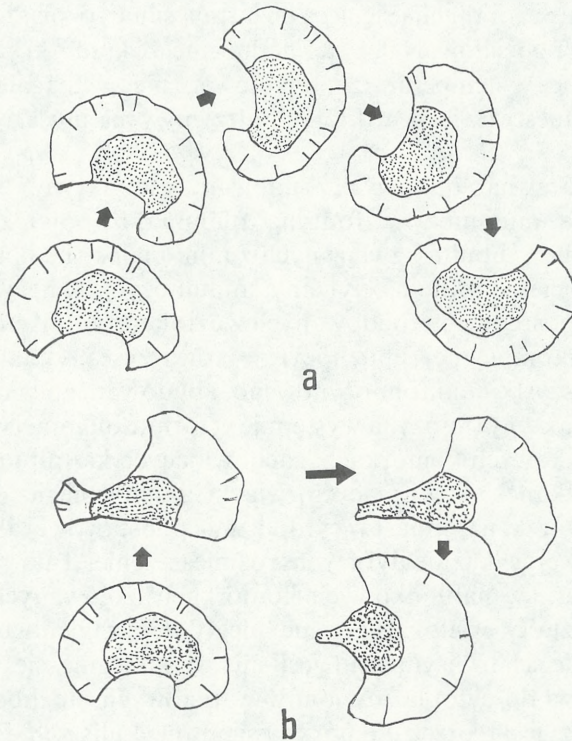
TGF- α), powodując dziesięciokrotny wzrost promienia kolonii, co odpowiada odpowiednio 30–50 razy większej ich powierzchni. Szybkość migracji w obecności tych peptydowych czynników wzrostowych wynosi około 1 mm/dobę (czyli ok. 40 $\mu\text{m/h}$).

Grinnell i współpracownicy zaobserwowali, że świeżo izolowane keratynocyty ze skóry ludzkiej wykazują małą zdolność do migracji po powierzchniach pokrytych fibronektyną lub kolagenem I. Dopiero po kilku dniach „aktywacji” komórek w hodowli *in vitro* podejmują one migrację. Aktywacja ta związana jest z wytwarzaniem się dopiero po kilku dniach hodowli kontaktów zogniskowanych (ang. „focal contacts”) oraz zwiększeniem ilości integryny w błonach komórkowych (łańcucha $\beta 1$), po stronie spodniej, kontaktującej się z podłożem stałym i na brzegach migrujących komórek. Badania te wiążą się z analizą procesów gojenia się ran w skórze, gdzie migracja keratynocytów zaczyna się zazwyczaj 24 h po zranieniu. Również *in vivo* aktywacja keratynocytów następuje w gojących się ranach i izolowane z takich ran keratynocyty wykazują zwiększoną przyczepność do podłoża.

MORFOLOGIA MIGRUJĄCYCH KOMÓREK NABŁONKOWYCH

Migrujące epitelocyty, podobnie jak fibroblasty, wykazują polaryzację struktury — wiodące lamellipodium jest wytwarzane tylko przy jednym biegunie komórki. Ten typ funkcjonalnej polaryzacji migrujących komórek nie odpowiada spolaryzowaniu struktury komórek w gruczołach i w wielowarstwowych tkankach nabłonkowych. Różne komórki epitelialne różnią się między sobą trwałością funkcjonalnej polaryzacji kształtu migrujących komórek. O ile np. komórki upigmentowane siatkówki oka zarodków kurczęcia nie wykazują polaryzacji i są bardzo silnie rozplaszczone, to w wypadku komórek, np. epitelium rógówki, widoczna jest wyraźna polaryzacja morfologii (Brown i Middleton 1985). Wyjątkowo wyraźną i trwałą polaryzację kształtu wykazują podczas migracji keratynocyty ryb, płazów i ssaków (Cooper i Schliwa 1985; Bereiter-Hahn i in. 1990). Wędrują one po podłożu stosunkowo szybko, z prędkością do ok. 30 μm na minutę (w temperaturze pokojowej), zachowując kształt wachlarza z rozległym lamellipodium w kształcie półksiężyca i znacznie grubszy, też w kształcie półksiężyca ciałem komórki. Lamellipodium jest zawsze wytwarzane po stronie wiodącego frontu komórki i zmiana kierunku migracji następuje najczęściej tak, jak gdyby komórki wędrowały „po łuku”. Znacznie rzadziej obserwuje się zmianę kierunku przez podział wiodącego lamellipodium na dwa mniejsze, w wyniku lokalnego skurczu i wycofania części lamellipodium, a następnie dominację jednego z tych lamellipodiów podczas gdy drugie szybko jest wycofywane i przekształcane w tzw. „retraction fibres”. Towarzyszy temu przebudowa organizacji morfologicznej całej komórki. Lamellipodium ma grubość około 1 μm , natomiast ciało komórki około 5–7 μm . W wypadku, gdy mikrochirurgicznie zostanie

odcięty fragment komórki zawierający jądro komórkowe, następuje odtworzenie polaryzacji i kształtu komórki przez bezjądrowy cytoplazm.



Ryc. 3. Zmiany kierunku migracji komórek nabłonkowych, a) migracja „po łuku” — zmiana kierunku następuje bez zmiany polaryzacji organizacji struktur komórkowych, b) zmiana kierunku w wyniku przebudowy organizacji lamellipodium komórki

ORGANIZACJA CYTOSZKIELETU W MIGRUJĄCYCH KOMÓRKACH NABŁONKOWYCH

Do badań organizacji cytoszkieletu (aktyny, tubuliny) bardzo dogodnym materiałem okazały się komórki epitelialne słodkowodnych gąbek (*Spongilla lacustris*, *Porifera*), a także komórki ustalonej linii wyprowadzonej z endotelialnych komórek serca kijanki ropuchy południowoafrykańskiej *Xenopus laevis* (linia XTH-2). Ze względu na to, że komórki te bardzo silnie rozplaszczają się na podłożu i grubość ich wynosi mniej niż jeden mikrometr, można stosować do badań zarówno techniki obserwacji struktur trójwymiarowych za pomocą mikroskopii elektronowej, jak i układu Allenowskiego wzmocnienia obrazu z mikroskopu z kontrastem różnicowym (ang. AVEC — Allen's video enhancing contrast) lub też techniki mikroskopii akustycznej. Mała grubość komórek pozwala na rozróżnianie poszczególnych struktur cytoplazmy i bezpośrednie

obserwacje ruchów pojedynczych mitochondriów lub pojedynczych mikrotubul w żywych, migrujących komórkach epitelialnych. Również fakt, że komórki te, w odróżnieniu od innych prawidłowych komórek kręgowców, podczas mitozy nie zaokrąglają się, lecz pozostają silnie rozplaszczone, pozwala na obserwacje ich podziałów. Należy też nadmienić, że komórki gąbek i ropuchy, migrując i rosnąc w temperaturze pokojowej, nie wymagają prowadzenia obserwacji w pomieszczeniach, w których utrzymywana musi być temperatura 37°C.

Szkielet komórek nabłonkowych zbudowany jest z aktyny i białek towarzyszących (miozyna, minimiozyna, fodryna, filamina, tropomiozyna, profilina, kalmodulina i inne), tubulin i związanych z nimi białek (białka MAP — ang. mikrotubule associated proteins, dyneiny, minimiozyny, kinezyny) oraz szkieletu filamentów pośrednich (zbudowanych z cytokeratyn). Zmianom kształtu i aktywności lokomocyjnej epiteliocytów towarzyszą zmiany organizacji układu przede wszystkim aktomiozynowego, zbudowanego w odróżnieniu od mięśni głównie z aktyny (miozyna występuje w formie oligomerycznej i w małej ilości). W nabłonkowych komórkach, zachowujących kształt taki jak w zwartych arkuszach tkanek okrywających, wiązki aktyny biegną równolegle do powierzchni komórek, natomiast w cytoplazmie podstawowej aktyna w formie sieci anizotropowej wykazuje dyfuzyjne rozmieszczenie. Taki rozkład aktyny obserwujemy także w nabłonkowych komórkach izolowanych tak, aby zachowały one kształty wielokątne i nie uległy zaokrągleniu pod wpływem izolacji (np. podczas trypsynizacji, jeśli nie zapobiegnie się uszkodzeniom błony i napływowi do cytoplazmy jonów wapniowych, dochodzi do skurczu cytoplazmy i przyjęcia przez komórki kształtów kulistych). Z chwilą gdy komórki nabłonkowe przyczepią się do podłoża stałego, zmianie ulega układ aktyny w komórce. Początkowo obserwujemy oderwanie aktyny (i fodryny — nieerytrocytarnej spektryny) od błony i przemieszczenie ku obszarowi cytoplazmy perinuklearnej. Następuje wówczas jak gdyby obkurczenie ciała komórki, ziarnistej cytoplazmy otaczającej jądro komórkowe, i pozostawienie rozległego, niespolaryzowanego lamellipodium. Komórka nabłonkowa przyjmuje postać opisywaną jako forma „sadzonego jaja” (ang. „fried egg morphology”). Aktyna grupuje się pod powierzchnią błony ciała komórki i przy brzegach lamellipodium. Dopiero później zaczyna się proces polaryzacji komórki. Część lamellipodium zostaje wycofana, ciało komórki wraz z jądrem przesuwa się ku jednemu brzegowi i zaczyna się wykształcać spolaryzowana forma migrującej komórki w kształcie wachlarza lub półksiężyca. W tak migrującej komórce zazwyczaj nie obserwujemy tworzenia się wiązek aktyny zwanych włóknami naprężeniowymi (ang. „stress fibres”), a F-aktyna zorganizowana jest w formie anizotropowej sieci w cytoplazmie podstawowej. Włókna naprężeniowe zostają wykształcone zazwyczaj znacznie później, po kilku dniach w wypadku hodowli pierwotnych, i ich pojawienie się w cytoplazmie związane jest z równoczesnym wykształcaniem się kon-

taktów zogniskowanych (ang. focal contacts) z podłożem. Kontakty takie nigdy się nie tworzą w szybko migrujących komórkach keratynocytów w hodowlach pierwotnych. Dużą liczbę włókien naprężeniowych i kontaktów zogniskowanych obserwujemy natomiast w liniach komórek nabłonkowych oraz wtedy, gdy tworzą się w hodowlach większe kolonie komórek nabłonkowych ściśle do siebie przylegających i wędrujących w formie większego arkusza. Szczególnie wiele kontaktów zogniskowanych i włókien naprężeniowych obserwujemy wówczas w komórkach brzęznych, ciągnących za sobą pozostałą warstwę komórek (K o l e g a, 1986; B e r e i t e r - H a h n i n. 1990). Taka organizacja przestrzenna F-aktyny wskazuje na znaczenie punktów przyczepienia komórki do podłoża, przez integryny do białek macierzy międzykomórkowej (fibronektyn, kolagenów, laminin), warunkujących pojawianie się skurczów izometrycznych w cytoplazmie, niezbędnych do tworzenia się włókien naprężeniowych. Wykształcenie się tych włókien nie jest warunkiem niezbędnym do migracji komórek nabłonkowych. Dużą wagę przypisuje się im natomiast w regulacji metabolizmu i ekspresji genów. Zmiany w organizacji cytoszkieletu aktynowego są jednym z pierwszych objawów fenotypowych zmian w komórkach nabłonkowych ulegających transformacji nowotworowej. Brak możliwości tworzenia się zorganizowanych przestrzennie w cytoplazmie i przyczepionych do białek integralnych błon komórkowych włókien aktynowych jest uważany często za przyczynę tego, że komórki transformowane nowotworowo nie wykazują korelacji pomiędzy kształtem komórki i szybkością migracji a syntezą DNA i aktywnością mitotyczną. Również często uważa się, że jest to bezpośrednia przyczyna niewystępowania zjawiska naprowadzania przez kontakt (ang. contact guidance) w komórkach nowotworowych. Są jednak znane wyjątki, gdy komórki nabłonkowe transformowane nowotworowo za pomocą rakotwórczych substancji chemicznych zachowują się odmiennie i mimo charakteru nowotworowego *in vivo*, w hodowlach ich morfologia odpowiada komórkom prawidłowym. Dopiero po wszczepieniu do zwierzęcia zmieniają swoje cechy fenotypowe i ujawnia się wówczas ich charakter komórek rakowych.

Y o n e d a i in. (1990) z Kyoto University prowadzili badania rozmieszczenia fodryny w linii Pam 212 mysich keratynocytów. Stosując przeciwciała związane ze złotem i kontrastowanie dodatkowe srebrem wykazali, że w hodowlach w pożywkach o niskim stężeniu jonów wapnia (0,06 mmoli) fodryna jest rozproszona w cytoplazmie podstawowej wzdłuż filamentów aktynowych. W pożywce o standardowym stężeniu wapnia (1,87 mmoli) koncentruje się pod błoną plazmatyczną. Natomiast w komórkach w niskim stężeniu wapnia, ale traktowanych przez dwie godziny TPA (12-oktotetradekanoylforbolu-13-octan — 10 ng/ml) fodryna także lokalizuje się pod błoną komórkową. Ponieważ TPA powoduje podobne rozmieszczenie fodryny jak wysokie stężenie jonów wapniowych („calcium switch”), autorzy przypuszczają, że położenie fodryny w cytoplazmie może zależeć od jej fosforylacji.

Szkielet zbudowany z cytokeratyn tworzących filamenty pośrednie (o średnicy 11 nm) zdaje się stanowić mechaniczny układ zapewniający pewną sprężystość cytoplazmy migrujących komórek. Nie zmienia się on wyraźnie przy zmianach kształtu komórek i filamenty pośrednie nie ustawiają się wzdłuż linii naprężeń mechanicznych cytoplazmy (K o l e g a 1986).

W przeciwieństwie do fibroblastów, polaryzacja migrujących komórek nabłonkowych nie jest związana z układem mikrotubuli w cytoplazmie. Jak wykazali Brown i Middleton (1985) oraz Middleton i in. (1988), kolcemid i nokodazol, które prowadzą do zaniku mikrotubul hamując ich odtwieranie (cząsteczki tych związków wiążą się z końcem „+” mikrotubul), nie mają większego wpływu na morfologię migrujących epitelioцитов z rogowki oka i ze skóry 12-dniowych embrionów kurzych. W komórkach epitelialnych, inaczej niż w fibroblastach, zanik mikrotubul nie prowadzi do dezorganizacji cytoszkieletu filamentów pośrednich. W fibroblastach filamenty pośrednie zbudowane są z wimentyny, natomiast w epitelioцитach — z cytokeratyn. Z drugiej jednak strony, sam zanik cytokeratynowych filamentów pośrednich w linii PtK1 i PtK2, bez rozbicia mikrotubul, także nie zmienia morfologii tych komórek epitelialnych (E c k e r t 1985).

WSPÓLZALEŻNOŚĆ KSZTAŁTU KOMÓREK I ICH MIGRACJI ORAZ AKTYWNOŚCI MITOTYCZNEJ

Castor w cyklu prac ogłoszonych w latach 1968–1972, badając wzrost i migrację komórek nabłonkowopodobnych linii wyprowadzonych ze śledziony, wykazał, że w komórkach tych występuje korelacja pomiędzy kształtem komórek a ich aktywnością podziałową oraz pomiędzy szybkością migracji komórek a ich aktywnością mitotyczną (C a s t o r 1968, 1970). Im bardziej komórki były rozplaszczane i im szybciej migrowały, tym aktywniej rosły i tym krótsze były ich czasy generacji. Korelacje te nie są jednak zachowane w komórkach nowotworowych (np. w komórkach raka HeLa). Wyniki te zostały wielokrotnie potwierdzone w następnych latach i wymienione korelacje są badane w wielu pracowniach, nie tylko w odniesieniu do komórek epitelialnych (F o l k m a n i M o s c o n a 1978).

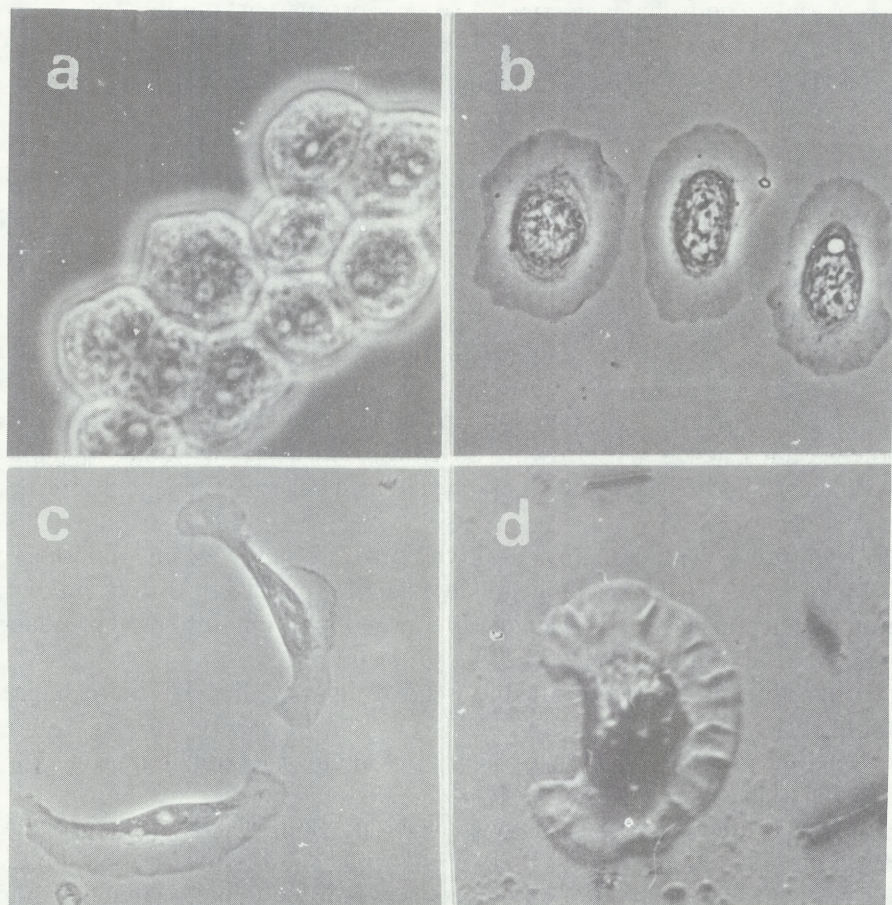
H e c k m a n i in. (1987) obserwowali zmiany kształtu komórek z nabłonków izolowanych z wątroby i z tchawicy szczura podczas transformacji nowotworowej komórek w hodowlach *in vitro*. Wykazali oni, że zachodzi wówczas wygładzenie konturów komórek i zmniejszenie obszaru przylegania do podłoża.

BADANIA DOTYCZĄCE WPŁYWU ROZMAITYCH CZYNNIKÓW NA MIGRACJĘ KOMÓREK NABŁONKOWYCH

Keratynocyty ryb i płazów są wyjątkowo dogodnym obiektem do badania mechanizmów elektrotaksji, chemotaksji i reakcji na bodźce mechaniczne. Migrując w temperaturze pokojowej ze znaczną stosunkowo prędkością oraz

wykazując wyraźną polaryzację struktury, pozwalają na obserwacje lokalnych zmian w komórce reagującej na bodźce zewnętrzne. I tak mikroiniekcja do nich małych ilości jonów wapniowych lub delikatne dotknięcie mikroigłą stymulują wytworzenie lamellipodium i migrację w kierunku bodźca. Silny bodziec powoduje lokalny skurcz i zmianę kierunku migracji lub zaokrąglenie się komórki (Korohoda i in. 1991; Mittal i Bereiter-Hahn 1985). W stałym polu elektrycznym keratynocyty migrują w kierunku katody (Cooper i Schliwa 1986, 1988). Podobnie jak fibroblasty i inne komórki prawidłowe, także prawidłowe epitelocyty wykazują wrażliwość na rzeźbę podłoża i naprowadzanie przez kontakt (contact guidance) (Brunette 1986).

Bereiter-Hahn i Voth (1988) badali wpływ jednowartościowych i dwuwartościowych kationów na migrację keratynocytów izolowanych



Ryc. 4. Keratynocyty kijanki *Xenopus laevis* w hodowli *in vitro*: a) grupa wielokątnych komórek naskórka bezpośrednio po izolacji z ogona kijanki, b) niespolaryzowane keratynocyty rozplaszczone na szkle, c) migrujące komórki; jedna z nich zmienia kierunek ruchu przez podział lamellipodium, d) migrujący keratynocyt widziany w mikroskopie z oświetleniem skośnym za pomocą oświetlacza ze światłowodami

ze skóry kijanek *Xepunus laevis*. Spośród jednowartościowych kationów niezbędne do migracji okazały się jony sodu — jeśli ich stężenie obniżono poniżej 4 mmoli, komórki przestawały migrować. Amylorid, inhibitor antyportu Na^+/H^+ , w pożywce o pH 7,2 zmniejszał szybkość migracji do jednej trzeciej wartości kontrolnej, natomiast przy pH 6,6 nieznacznie wpływał na ruchy komórek. Ouabaina (strofantyna G), inhibitor pompy Na^+/K^+ , niemal nie wpływa na lokomocję, natomiast potęguje efekt amyrolidu. Hyperpolaryzacja błony przez jonofor dla jonów sodu — monenzynę także obniża prędkość migracji do jednej trzeciej wartości kontrolnej już po 30 minutach, a po godzinie do około 12% wartości kontrolnej. Valinomycyna, jonofor dla jonów potasowych, całkowicie hamuje migrację.

O ile energia wymagana do migracji fibroblastów może pochodzić zarówno z glikolizy jak i z oddychania tlenowego, o tyle w przypadku komórek epitelialnych niemal wyłącznym źródłem ATP jest glikoliza, a zasadniczym substratem dla cyklu Krebsa jest nie pirogronian, lecz glutaminian (Gibbins 1972).

HIPOTEZY DOTYCZĄCE MECHANIZMU RUCHU KOMÓREK NABŁONKOWYCH

Odpowiedź na pytanie, jaki jest mechanizm migracji komórek nabłonkowych, nie jest jeszcze pełna. Niemal wszyscy badacze zgodnie uważają, że podstawą ruchu są procesy mechanochemiczne zamiany energii chemicznej w kinetyczną, zachodzące z udziałem białek kurczliwych. Nie jest jednak wyjaśnione, jak procesy przebiegające na poziomie molekularnym są przekładane na zjawiska zachodzące na poziomie komórki. Spośród rozmaitych hipotez, odnoszących się zarówno do fibroblastów, jak i komórek nabłonkowych, a wzajemnie się nie wykluczających, na uwagę zasługują te, które kładą nacisk na znaczenie:

i) wydłużania się filamentów F-aktyny przez dobudowywanie monomerów do ich końca „+” przyczepionego do białek kompleksu powierzchniowego komórki, zachodzące przy wierzchołku pseudopodium lub przy wiodącym froncie lamellipodium (Condeelis i in. 1988),

ii) ślizganie się filamentów jednego po drugim wzdłuż kierunku migracji komórek (Huxley 1976),

iii) skurcz żelifikowanej cytoplazmy połączony z jej upłynnianiem (Taylor i Fechheimer 1982),

iv) rozciąganie się i rozbudowywanie błony komórkowej przy wiodącym końcu komórki (Bretscher 1988),

v) ciśnienie hydrostatyczne w komórce powodujące wybrzuszanie się komórki i odpływ cytoplazmy do miejsc najmniejszego naprężenia i skurczu kompleksu powierzchniowego komórki (Bereiter-Hahn 1990).

Większość badań dotyczących mechanizmów ruchów i migracji komórek prowadzono na fibroblastach i leukocytach. Dopiero w ostatnich latach, dzięki

opracowaniu metod umożliwiających szybkie uzyskiwanie hodowli migrujących epitelioctów, liczba badań na nich wykonanych zaczęła szybko wzrastać. Należy oczekiwać, że najbliższe lata przyniosą wiele nowych, znaczących wyników badań dotyczących molekularnej organizacji systemów ruchowych komórek nabłonkowych.

MIGRATION OF EPITHELIAL CELLS

Summary

The locomotory activity of fibroblasts cells has been studied extensively for many years. Recently also epithelial cells became an object of intensive research in many laboratories. These cells have appeared to represent a particularly suitable model for investigations concerned with the polarization of cell structure and function, functions of cellular cytoskeleton and cell membrane, and responses of cells to many external factors. Besides of epitheliocytes from warm blood animals the epitheliocytes (in particular skin keratinocytes) from fishes and tadpoles of *Xenopus laevis* become more and more broadly used as an excellent model system for the study of various aspects of cellular motile activity. These cells locomote at room temperature with relatively high speed (10–20 $\mu\text{m}/\text{min}$), are easy to isolate and already one–two hours after isolation show motile activity. Additionally, they have very thin and well polarized lamellipodia.

The article reviews the recent works concerning structure of epitheliocytes and their movement *in vivo*, adhesiveness of epithelial cells *in vitro*, the morphology and organization of cytoskeleton in cells migrating in tissue culture, a correlation between cell shape, migration and mitotic activity, responses of epitheliocytes to various extracellular factors and changes in cellular organization and activity associated with the neoplastic transformation of cells.

LITERATURA

- Barrandon Y., Green H., 1987, *Cell migration is essential for sustained growth of keratinocyte colonies: The roles of transforming growth factor- α and epidermal growth factor*. Cell 50, 1131–1137.
- Bereiter-Hahn, J., 1987, *Scanning acoustic microscopy visualizes cytomechanical responses to cytochalasin* D. J. Microscopy 146, 29–39.
- Bereiter-Hahn, J., Vöth, M., 1988, *Ionic control of locomotion and shape of epithelial cells. II. Role of monovalent cations*. Cell Motility and Cytoskeleton 10, 528–536.
- Bereiter-Hahn J., Lück M., Miebach T., Stelzer H.K., Vöth M., 1990, *Spreading of trypsinized cells: cytoskeletal dynamics and energy requirements*. J. Cell Sci. 96, 171–188.
- Bereiter-Hahn J., Braun N., Vöth M., 1990, *Continuity of movement and preservation of architecture during cell locomotion*. W. Alt i G. Hoffmann (red.), *Lecture Notes in Biomathematics*, Biological Motion, Proceed. Königswinter 1989. Springer-Verlag, str. 68–82.
- Bretscher M. S., 1988, *Fibroblasts on the move*. J. Cell Biol. 106, 235–237.
- Brunette D. M., 1986, *Spreading and orientation of epithelial cells on grooved substrata*. Exp. Cell Res. 167, 203–217.
- Brown R. M., Middleton C. A., 1985, *Morphology and locomotion of individual epithelial cells in culture*. J. Cell Sci. 78, 105–115.
- Castor L. N., 1968, *Contact regulation of cell division in an epithelial-like cell line*. J. Cellular Physiology 72, 161–172.
- Castor L. N., 1970, *Flattening, movement and control of division of epithelial-like cells*. J. Cellular Physiology 75: 57–64.
- Cooper M. S., Schliwa M., 1985, *Electrical and ionic controls of tissue cell locomotion in DC electric fields*. J. Neuroscience Res. 13, 223–244.

- Condeelis J., Hall A., Bresnick A., Warren V., Hock R., Bennett H., Ogiwara S., 1988, *Actin polymerization and pseudopod extension during amoeboid chemotaxis*. Cell Motil. Cytoskel. 10, 77–90.
- Cooper M.S., Schliwa M., 1986, *Motility of cultured fish epidermal cells in the presence and absence of direct current electric fields*. J. Cell Biol. 102, 1384–1399.
- Eckert B.S., 1985, *Alteration of intermediate filament distribution in PtK1 cells by acrylamide*. Europ. J. Cell Biol. 37, 169–174.
- Folkman J., Moscona A., 1978, *Role of cell shape in growth control*. Nature 273, 345–349.
- Garrod, D.R., 1984, *The adhesions of epithelial cells*. Str. 43–105 [W:] H.J. Marthy, 1984, *Cellular and Molecular Control of Direct Cell Interactions*. Plenum Press, New York and London, pp. 376.
- Gibbins J.R., 1972, *Metabolic requirements for epithelial migration as defined by the use of metabolic inhibitors in organ culture*. Exp. Cell Res. 71, 329–337.
- Grinnell F., Toda K.I., Takashima A., 1987, *Activation of keratinocyte fibronectin receptor functioning during cutaneous wound healing*. J. Cell Sci. Suppl. 8, 199–209.
- Gueo M., Toda K.I., Grinnell F., 1990, *Activation of human keratinocyte migration on type I collagen and fibronectin*. J. Cell Sci. 96, 197–205.
- Harris A.K., 1973, *Cell surface movements related to cell locomotion*. [W:] Ciba Found. Symp. *Locomotion of Tissue Cells*. Elsevier North-Holland, str. 3–26.
- Heckman C.A., Campbell A.E., Wetzel B., 1987, *Characteristic shape and surface changes in epithelial transformation*. Exp. Cell Res., 169: 127–148.
- Kolega J., 1986, *Effects of mechanical tension on protrusive activity and microfilament and intermediate filament organization in a epidermal epithelium moving in culture*. J. Cell Biol. 102, 1400–1411.
- Kolega J., 1986, *The cellular basis of epithelial morphogenesis*, [W:] *Developmental Biology*, Vol. 2. L.W. Browder red., Plenum Publ. Co.
- Korohoda W., Vöth M., Bereiter-Hahn J., 1991, *Two-phase responses of human polymorphonuclear leukocytes and keratinocytes from tadpoles of Xenopus laevis to mechanical stimulation*. Protoplasma 147.
- Middleton C.A., Brown, A.F., Brown R.M., Roberts D.J.H.G., 1988, *The shape of cultured epithelial cells does not depend on the integrity of their microtubules*. J. Cell Sci. 91, 337–345.
- Mittal A.K., Bereiter-Hahn J., 1985, *Ionic control of locomotion and shape of epithelial cell. I. Role of calcium influx*. Cell Motil. 5, 123–136.
- Nelson W.J., 1989, *Development and Maintenance of Epithelial Polarity: A Role of the Submembranous Cytoskeleton*. [W:] *Functional Epithelial Cells in Culture*, str. 3–42, Alan R. Liss, Inc.
- Taylor D.L., Fechtmeier M., 1982, *Cytoplasmic structure and contractility: the solation-contraction coupling hypothesis*. Philos. Trans. R. Soc. London (Biol.) 299, 185–197.
- Trinkaus J.P., 1988, *Directional cell movement during early development of the teleost Blennius pholis. I. Formation of epithelial cell clusters and their pattern and mechanism of movement*. J. Expetl Zool. 245, 157–186.
- Wachtmann D., Stockem W., Weissenfels N., 1990, *Cytoskeletal organization and cell organelle transport in basal epithelial cells of the fresh-water sponge Spongilla lacustris*. Cell and Tissue Research 261, 145–154.
- Yoneda K., Hujimoto T., Imamura S., Ogawa K., 1990, *Fodrin is localized in the cytoplasm of keratinocytes cultured in low calcium medium: immunoelectron microscopic study*. Acta Histochem. Cytochem. 23, 139–148.