

细胞铺展动力学的研究进展¹⁾

李建军 赵亚溥²⁾

(中国科学院力学研究所非线性力学国家重点实验室, 北京 100190)

摘要 细胞与细胞外基质之间的相互作用在细胞的迁移、分化、凋亡等生理过程中起着重要的作用, 细胞铺展作为细胞与细胞外基质作用的第一步, 受到了人们的广泛关注. 首先阐述了细胞铺展的关键生物动力学过程, 对铺展 3 个不同阶段的特点进行了总结和归纳, 并运用力学的观点阐明了细胞铺展的驱动力及驱动机制, 详细讨论了聚合力、黏附力以及细胞张力等 3 种主要作用力在细胞铺展过程中的作用规律以及相应的物理模型. 在此基础上, 从细胞的黏性流动及力学平衡两个方面出发, 简要综述了已有相关研究结果的不足之处, 介绍了当前建立细胞铺展动力学模型的主要思路, 并探讨了今后面向细胞生物学需求的相关细胞动力学的研究方向.

关键词 细胞铺展, 肌动蛋白丝, 黏着斑, 牵拉力, 膜张力, 黏性流动

中图分类号: O33 文献标识码: A 文章编号: 0459-1879(2012)05-0807-17

引言

细胞铺展的动力学过程是细胞与细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 相互作用的第一步, 在细胞迁移^[1]、细胞生长^[2]及组织形成^[3]等重要生理过程中起着关键的作用, 因而引起了人们越来越多的研究兴趣. 已有研究表明, 细胞生化信号 (如生长因子) 与生物力学信号 (如细胞骨架的收缩力) 的产生, 都是与细胞外基质相互作用的结果^[4]. 细胞能够通过感知细胞外基质的刚度、形貌以及表面蛋白种类和密度等性质, 自适应地改变细胞膜表面与细胞内部相关蛋白的构象及表达能力, 最终实现调节细胞行为的功能. 本文针对细胞铺展过程涉

及的力学问题, 就细胞铺展的生物动力学过程、铺展过程中的主要作用力以及细胞铺展的理论模型等 3 个方面进行讨论.

1 细胞铺展的生物动力学过程

细胞铺展一般是指在体外实验中, 处于悬浮状态的球形细胞与基底相接触, 进而形成黏附的过程. 这一过程中细胞形状随时间发生变化, 最终达到稳定的贴壁状态. 整个细胞铺展过程一般包括以下几个步骤: (1) 细胞与基底之间形成初始黏附; (2) 细胞周边伪足伸出; (3) 伪足尖端部分与基底形成新的黏附位点; (4) 细胞铺展的驱动力与阻碍力之间达到平衡, 细胞不再向前铺展, 如图 1 所示.

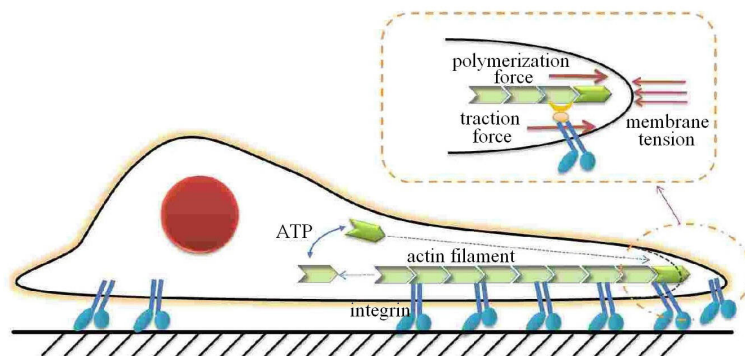


图 1 细胞铺展过程示意图. 在细胞铺展方向的前缘, 由肌动蛋白丝聚合产生的聚合力, 整合素与细胞外基质结合产生对肌动蛋白丝的牵拉力驱动铺展过程, 细胞膜的表面张力则起到阻碍作用

Fig.1 Schematic of cell spreading over a substrate. Forces induced by actin polymerization and integrin-ECM binding drive the protrusion process of cell spreading, against membrane tension that impedes the process

2012-04-18 收到第 1 稿, 2012-08-14 收到修改稿.

1) 中国科学院重点部署项目 (KJZD-EW-M01) 和中国科学院科研装备研制项目 (Y2010031) 资助.

2) E-mail: yzhao@imech.ac.cn

细胞铺展过程受细胞类型、胞外基质性质等因素影响,表现有多种形式,但目前的理论及实验研究较多地集中于各向同性的铺展 (isotropic spreading) 形式^[5-10],也就是说细胞沿各个方向铺展的情况都大致相同. 一般情况下,细胞骨架的组成、结构及相关动态过程非常复杂,很难清晰地理解骨架重组过程中各种力及其他因素的影响;而在细胞铺展这一特定过程中,细胞骨架重组过程较为简单,一维铺展又是其中最简单的形式,因此一旦对铺展过程了解清楚,就对理解细胞迁移、分裂等更为复杂的行为打下基础.

随着现代显微技术的发展,特别是微分干涉差显微镜 (differential interference contrast microscope, DIC) 与全内角反射荧光显微镜 (total internal reflection fluorescence microscope, TIRF) 的使用,人们已可以在实验中对单个细胞的铺展行为进行量化分析,其中最典型的观察就是细胞铺展面积随时间的变化规律. Sheetz 研究组^[7-8]通过研究小鼠成

纤维细胞 (mouse fibroblast cell) 在纤维连接蛋白 (fibronectin, FN) 修饰的基底上的铺展行为,考察了铺展面积与时间的关系,发现整个铺展过程存在 3 个明显不同的铺展速率,因此可将整个过程划分为 3 个不同阶段. 如图 2(a) 中所示,铺展初始过程的速率很慢 (E),随后阶段铺展速率明显加快 (I),最终细胞形状不再发生明显的改变,达到一个相对稳定的状态 (L). 细胞在不同铺展阶段内表现出的不同行为,是由于相应的铺展机理不同所导致:各个阶段起主导作用的驱动力类型不同,作用形式也不同. 例如^[10],利用牵拉力显微镜 (traction force microscope, TFM) 的研究发现:在细胞铺展的不同时期,细胞对基底产生的作用力有明显的差别. 如图 2(b) 所示,细胞与基底的相互作用力大小在铺展的第 2 阶段产生一个明显的增加,并在之后的第 3 阶段维持在较高的水平,说明牵拉力在细胞铺展的中后期产生的作用更大. 在细胞面积快速增加阶段 (I),细胞伪足不仅向前伸出,同时还存在周期性的收缩现象. Sheetz

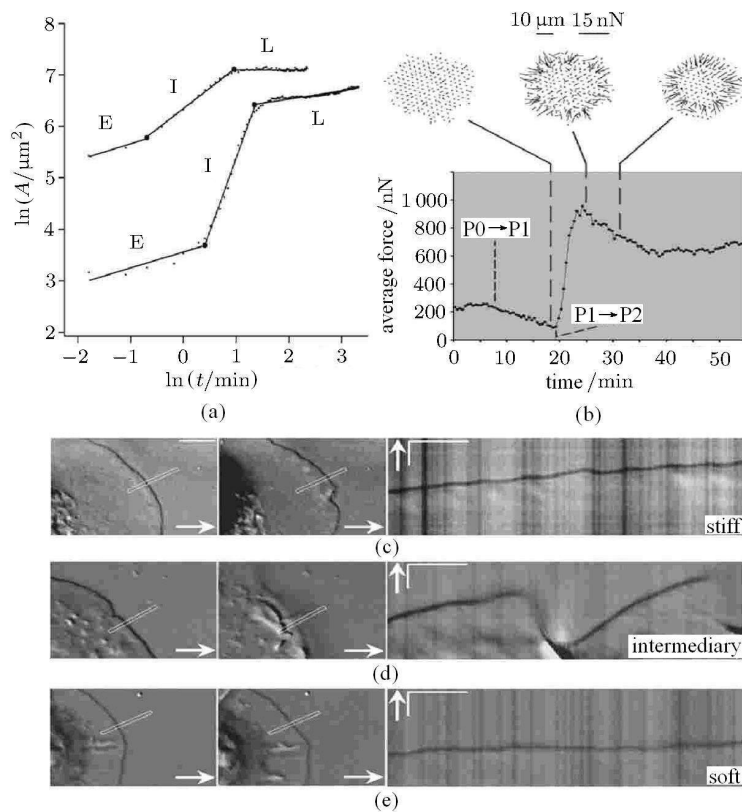


图 2 (a) 细胞铺展的 3 个阶段 E/I/L 由不同的铺展速率所区分^[7]; (b) 牵拉力随铺展进行的变化过程, P0/P1/P2 分别对应于 E/I/L 3 个阶段; (c),(d),(e) 细胞铺展前缘处伪足的收缩频率与基底的刚度相关^[5], 刚度越大, 伪足收缩频率越高 (FN: 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

Fig.2 (a) Three phases in cell spreading distinguished by spreading velocity^[7]; (b) Traction force in cell spreading, P0/P1/P2 equal to E/I/L phases respectively in (a); (c),(d),(e) Periodic lamellipodial contractions correlated with substrate stiffness^[5]. The cell shows higher contraction frequencies on stiffer substrate (FN: 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

等^[5]发现这种周期性的收缩现象与基底的刚度、细胞与基底的黏附及相关激酶有关, 受到细胞与基底相互作用的影响. 如图 2(c) ~ 图 2(e) 所示, 细胞伪足收缩的频率随着基底刚度的增加而减小, 伪足周期性收缩时间与肌动蛋白丝跨过伪足所需的时间相关. 研究表明^[5], 伪足的这种周期性伸出与收缩是细胞铺展与迁移的基础.

1.1 细胞铺展早期

细胞铺展早期一般包括 2 个重要事件: 首先是细胞与基底相接触, 其次是细胞与基底之间形成早期的黏附位点. 对细胞而言, 细胞与基底的初始接触主要是一个被动的过程, 只取决于细胞与基底的物理性质^[9], 如细胞的黏弹性、细胞膜的张力、基底的刚度等. 因此, 细胞早期的铺展过程可类比于黏性液滴在固体表面上的浸润现象, 可暂不考虑细胞内部的生物化学过程. 细胞与基底间形成早期的黏附位点涉及多种蛋白质, 其中整合素 (integrin) 起主要作用, 早期黏附位点的形成不仅是细胞铺展早期阶段的标志, 而且是下一阶段细胞铺展的重要基础. 整合素通过与细胞外基质上的配体相结合, 通

过信号传导激发下游反应^[11], 从而影响细胞骨架的动态重组以及初始黏附点的成熟. 当整合素与基底的结合达到阈值时, 细胞骨架的动态平衡被打破, 细胞铺展将进入下一阶段. 这一阶段, 细胞与基底间的牵拉力处在一个较低的水平上, 如图 2(b) 所示.

1.2 细胞铺展中期

当整合素与基底的结合达到一定阈值后, 如图 3 所示, 细胞铺展进入第 2 阶段, 细胞骨架的状态将由静态的皮层肌动蛋白结构向动态的肌动蛋白聚合转变^[7,12]. 细胞外沿肌动蛋白丝的聚合作用将在细胞周边产生一个向外伸出的力 (protrusive force), 推动细胞向外铺展, 因此细胞与基底间的接触面积在此阶段迅速增加, 并成为这一阶段的主要标志.

在铺展面积迅速增长的同时, 细胞其他方面也将发生明显变化. 首先, 随着铺展面积的增加, 细胞与基底之间的接触面积越来越大, 整合素与胞外基质配体相结合产生的新黏附位点也越来越多. 其次, 由于细胞骨架的状态由静态的皮层肌动蛋白结构向动态的肌动蛋白聚合转变, 细胞骨架产生的收

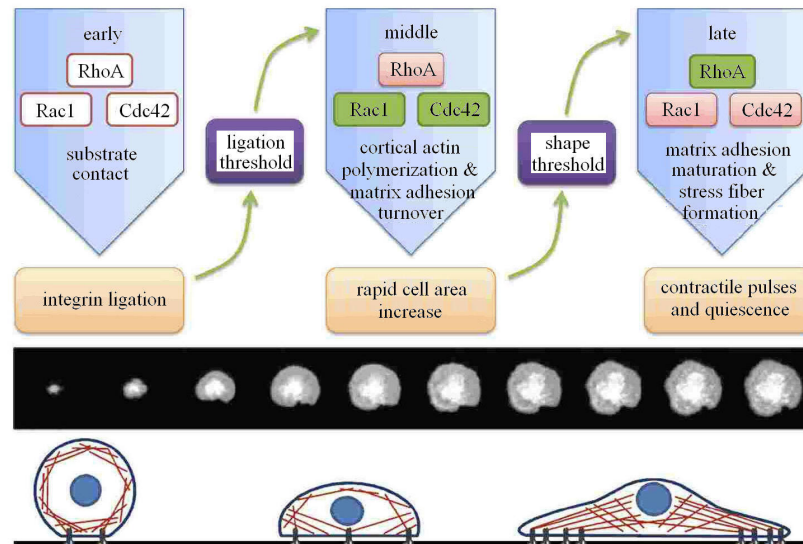


图 3 细胞各向同性铺展的 3 个阶段. 最上层表示在铺展的不同阶段, 起主要调控作用的蛋白质名称及各阶段的主要特征,

粉红色方框表示在此阶段该蛋白质处于激活状态, 绿色方框表示未激活状态; 中间一层为细胞铺展过程的俯视图;

最下层是细胞铺展过程的侧视示意图^[13]

Fig.3 A summary of the three phases of isotropic cell spreading. Top panel: Flowchart of spreading events; activated and inactivated Rho GTPases are indicated by pink and green boxes, respectively, and orange boxes indicate the events that directly lead to initiation of the next phase of spreading by crossing the threshold indicated in the purple boxes. Middle panel: TIRF microscopy images of the spread area of a mouse embryonic fibroblast over time. Bottom panel: Cartoon rendition of cell spreading events, viewed from the side^[13]

缩力大小随着铺展面积的增加而增大^[14]. 这一阶段最后, 细胞骨架收缩力的增大将引起黏附位点的再循环, 整合素从最初的黏附位置脱离, 向细胞边缘移动, 并与基底形成新的黏附.

1.3 细胞铺展晚期

当细胞铺展面积达到临界点时, 细胞铺展的驱动力与阻碍力处于接近平衡状态, 细胞骨架产生的收缩力此时也达到最大, 收缩力成为这一阶段的主要考察对象. 细胞骨架产生的收缩力通过整合素传递到基底, 引起基底的变形, 并以牵拉力的形式表现出来. 细胞与基底之间的黏附点受到这种收缩力的

作用, 将导致黏附分子的重塑与黏着斑的成熟^[15], 以及与成熟黏着斑相连接的应力纤维的形成.

2 细胞铺展的驱动力和阻碍力

细胞铺展作为一个动力学过程, 其背后驱动力与阻碍力的竞争机制一直备受人们关注. 文献中已有的实验及理论研究表明^[5,16-19], 细胞骨架的肌动蛋白丝聚合力在其中起主导作用, 细胞与基底的黏附力起到促进作用, 而细胞膜的张力则起到阻碍作用, 以上 3 种主要作用力控制了细胞的整个铺展过程. 下面主要对这 3 种作用及相关力学模型进行详细的讨论, 与之对应的特征量见表 1 所列.

表 1 与细胞铺展相关的力特征量
Table 1 Characteristic force scales in cell spreading

Force type	Magnitude	Technique/Model	Note
polymerization force (single filament)	$\approx 10\text{ pN}$	movement of listeria, using methylcellulose to slow its velocity ^[20]	this in vitro experiment supports tethered elastic ratchet model
membrane tension	$\approx 0.03\text{ pN/nm}$	optical tweezers, fibroblast ^[21]	
adhesion force (single bond)	$\approx 13 \sim 28\text{ pN}$	measurement of binding of fibroblasts to fibronectin using optical tweezers ^[22]	it depends on ligand-receptor species/loading velocity/theoretical model et al.
traction stress (traction force per focal adhesion size)	$\approx 5.5\text{ pN}/\mu\text{m}^2$	using PDMS (polydimethylsiloxane) microarrays ^[23]	the traction stress varies with cell types and measurement techniques

2.1 细胞骨架的聚合力

在铺展过程中, 细胞形貌的变化在很大程度上取决于细胞周边伪足的伸出, 这种伸出是一个非常复杂的过程^[16], 需要多种蛋白质协同作用, 但是普遍认为肌动蛋白丝的聚合作用是细胞周边伪足伸出的主要原因.

电子显微镜所观察到的单根肌动蛋白丝 (F-actin) 是直径约为 7 nm 的扭链, 呈双股螺旋状. 每条丝都由肌动蛋白单体 (G-actin) 头尾相连呈螺旋状排列而成, 螺距约为 36 nm. 肌动蛋白分子上存在裂口, 使得该蛋白本身在结构上具有不对称性, 而单根肌动蛋白丝上每一个单体上的裂口都朝向同一端, 从而使肌动蛋白丝在结构上具有极性: 具有裂口的一端为负极, 而另一端为正极. 通常肌动蛋白丝正极

的组装速度比负极快. 在一定条件下, 新的蛋白单体加到单丝末端, 使肌动蛋白丝延伸的过程, 称为聚合过程.

目前研究这种肌动蛋白丝聚合产生力的模型主要有两种: 布朗棘轮模型 (Brownian ratchet model) 和自催化模型 (autocatalytic model).

2.1.1 布朗棘轮模型

如图 4(a) 所示的刚性布朗棘轮模型中^[17], 肌动蛋白丝的聚合过程可以看作是肌动蛋白单体在束状蛋白丝尖端的受限扩散过程. 根据该模型, 束状蛋白丝的尖端由于热涨落产生一个与障碍物 (细胞膜) 之间的间隙, 如果这个间隙大到足够让肌动蛋白单体插入, 那么单体将聚合在蛋白丝的尖端, 从而增加蛋白丝的长度. 即使整个过程一直受到一个来自

障碍物的反向作用力, 细胞膜本身的热运动也足以产生一个足够容纳肌动蛋白单体的间隙, 使得整个扩散-聚合的过程不断进行, 也就是肌动蛋白丝的能够持续伸长的原因.

如图 4(b) 所示, 如果考虑肌动蛋白丝在力的作

用下的弹性变形^[18], 那么肌动蛋白丝的尖端与障碍物之间的间隙将主要由两部分 (肌动蛋白丝和细胞膜) 的热运动所形成. 增长后的蛋白丝与障碍物相接触时, 蛋白丝受到挤压将会产生弯曲变形, 由此形成对障碍物上的弹性作用反力, 称为聚合力.

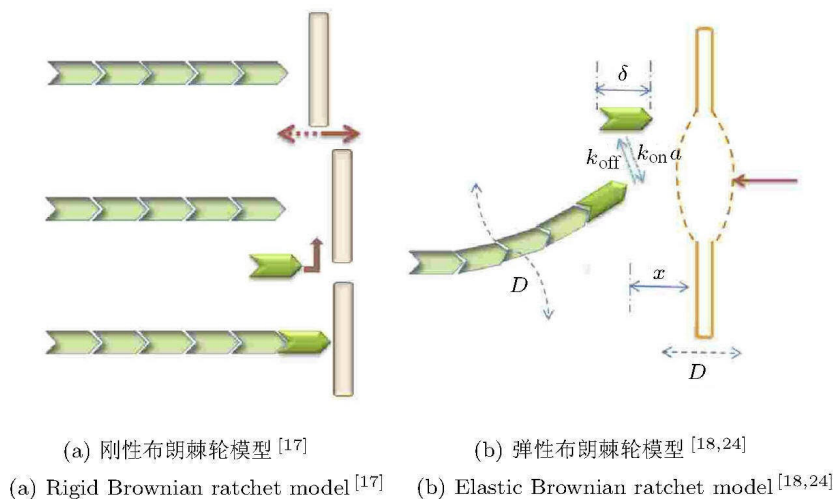


图 4 布朗棘轮模型

Fig.4 Brownian ratchet model

整个棘轮模型可由下面的偏微分方程描述^[17]

$$\frac{\partial p}{\partial t} = \underbrace{D \frac{\partial^2 p}{\partial x^2}}_{\text{热扩散}} + \underbrace{\frac{Df}{k_B T} \frac{\partial p}{\partial x}}_{\text{扩散偏移}} + \underbrace{\begin{cases} k_{\text{on}} a p(x + \delta) - k_{\text{off}} p(x), & x < \delta \\ k_{\text{on}} a [p(x + \delta) - p(x)] + k_{\text{off}} [p(x - \delta) - p(x)], & x > \delta \end{cases}}_{\text{蛋白单体的组装、去组装行为导致的间隙尺寸的改变}} \quad (1)$$

其中, $p(x, t)$ 为宽度为 x 的间隙随时间 t 变化的扩散概率密度函数; D 为扩散系数 (可由 Einstein 公式 $\zeta D = k_B T$ 得到, ζ 为黏性摩擦系数); f 为聚合过程中所受到的阻碍力; $k_B T \approx 4.1 \text{ pN} \cdot \text{nm}$ 为室温时热涨落的能量单位; $k_{\text{on}} \approx 10 (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{s})^{-1}$ 和 $k_{\text{off}} \approx 1 \text{ s}^{-1}$ 分别为蛋白单体的聚合速率和解离速率, 即单位时间内聚合或解聚的蛋白单体数量; $a = 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为蛋白单体在肌动蛋白丝尖端的典型浓度; δ 为蛋白单体的特征长度.

方程 (1) 右端第 1 项代表弯曲的蛋白丝与细胞膜的热扩散, 第 2 项表示细胞膜阻力所引起的扩散偏移, 第 3 项代表蛋白单体的组装、去组装行为导致的间隙尺寸的改变.

由于 $D/\delta^2 (\approx 10^4 \text{ s}^{-1}) \gg k_{\text{on}} a (\approx 100 \text{ s}^{-1})$, 也就是热扩散过程比蛋白组装过程快的多, 那么由正则摄动理论可以得到扩散概率的准静态分布

$$p \propto \exp\left(-\frac{f\delta}{k_B T}\right) \quad (2)$$

由此可得到聚合速率与阻碍力之间的关系为

$$V \approx \delta \left[k_{\text{on}} a \exp\left(-\frac{f\delta}{k_B T}\right) - k_{\text{off}} \right] \quad (3)$$

其中, V 为蛋白丝净生长速率.

当 $V = 0$ 时, 可估计得到使蛋白丝聚合停止的临界力的大小

$$f_{\text{stall}} \approx \frac{k_B T}{\delta} \cdot \ln\left(a \frac{k_{\text{on}}}{k_{\text{off}}}\right) \quad (4)$$

其中, 室温时聚合力大小在皮牛量级, $k_B T/\delta \approx 1 \text{ pN}$.

根据上述理论, 可预测到两个简单的现象. 首先, 为了抵抗细胞膜的阻碍作用, 肌动蛋白丝既不能太短 (当长度小于 70 nm 时, 蛋白丝刚度太大, 不易产生弯曲变形), 又不能太长 (大于 500 nm 时, 蛋白丝又太软, 容易屈曲). 此外, 蛋白丝的生长速率与角度有关. 若蛋白丝平行于细胞伸展尖端, 其生长速率最快, 但此时的蛋白丝并不能推动铺展的进行; 而垂直于细胞边缘的蛋白丝由于有效刚度太大, 不易产生足够的变形, 影响了生长速率.

如果考虑到一部分的肌动蛋白丝已经联接在细胞膜上,并非全部蛋白丝在作热运动作用,并考虑肌动蛋白丝的二维结构,可建立联接的布朗棘轮模型(tethered Brownian ratchet model)^[25]:将蛋白丝按照功能分为工作蛋白丝(working filaments)和联接蛋白丝(attached filaments),只有工作蛋白丝能产生聚合力,而联接蛋白丝附着在细胞膜上,起到阻碍作用.通过蛋白丝在细胞膜上的分离与联接,使得两种蛋白之间可以相互转化.基于以上假设,布朗棘轮模型进一步扩展到了二维情况.

2.1.2 自催化模型^[26-27]

如果考虑肌动蛋白丝的二维结构,即树枝状网络结构,细胞尖端伪足的伸出可认为是由树状蛋白丝的扩增所推动,相关的群体动力学模型(population-kinetics model)可用于解释这类组装过程.单根肌动蛋白丝的生命周期(扩增)包括:在其他蛋白丝上的树状成核反应(出生)、蛋白单体聚合所引起的蛋白丝伸长(生长)以及帽化蛋白(capping protein)所引起的蛋白丝在末端的阻断(停止).

图5中,沿竖直方向为旧的蛋白丝,倾斜的为新产生的蛋白丝,灰色半圆代表帽化蛋白,橙色三角代表促使新蛋白丝形成的肌动蛋白相关蛋白(Arp2/3),最上端为细胞铺展前缘, φ 为新蛋白丝与细胞边缘垂直方向的夹角, d 为分叉区域厚度.

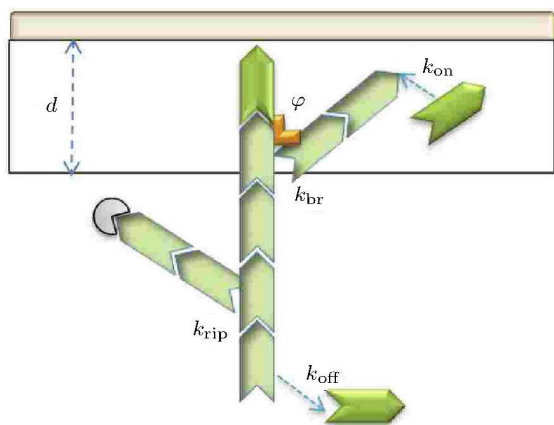


图5 细胞铺展前缘肌动蛋白丝网络结构的形成过程^[26]

Fig. 5 Formation of actin networks at cell periphery^[26]

如图5所示,自催化模型假定只有靠近细胞膜距离 d 内的旧蛋白丝能够有机会产生分叉行为(生长新的蛋白丝),同时,肌动蛋白丝的生长速率与生长方向有关 $v(\varphi) = V_{\max} \cos \varphi$,其中, $V_{\max}$ 为蛋白丝自由生长的速率,此时新蛋白丝的生长沿着旧蛋白丝的方向.在整个问题中,受到关注的是分叉区域

内新蛋白丝的形成,旧蛋白丝的帽化以及分叉区域内障碍物(细胞膜)与蛋白丝之间的相对运动.若用 $n(\varphi, t)$ 表示蛋白丝关于夹角 φ 和时间 t 的平均取向分布,则在 φ 到 $\varphi + d\varphi$ 的角度范围内,分叉区域中单位长度的蛋白丝终端数为 $n(\varphi, t)d\varphi$,基于简单的反应率方程,可建立如下的模型^[27]

$$\frac{\partial n(\varphi, t)}{\partial t} = k_{\text{br}} \int_0^{\varphi_{\max}} D(\varphi, \varphi') v(\varphi') n(\varphi', t) d\varphi' - k_{\text{cap}} n(\varphi', t) - H[V_{\text{obst}} - v(\varphi)] \cdot \left[\frac{V_{\text{obst}} - v(\varphi)}{d} + k_{\text{br}} v(\varphi) - k_{\text{cap}} \right] n(\varphi, t) \quad (5)$$

其中, k_{br} 和 k_{cap} 分别为蛋白丝分叉和帽化的速率, $D(\varphi, \varphi')$ 为新蛋白丝的取向分布函数; $v(\varphi')$ 为一常数,表征了新蛋白丝的长度与角度间的关系; V_{obst} 为障碍物速率, H 为Heaviside阶梯函数; $\varphi_{\max}$ 为新蛋白丝与细胞边缘垂直方向的夹角的最大值,计算时取 π .

求解上述微积分方程即可得到蛋白丝聚合所产生的力及聚合速率.

2.1.3 两种模型的区别与联系

当研究细胞的一维铺展问题时,布朗棘轮模型与自催化模型是一致的.这是因为在单根肌动蛋白丝聚合过程中,自催化模型假定负荷扩散以及蛋白单体聚合到蛋白丝尖端的概率包含 Boltzmann 分布因子 $\exp[-E_i/(k_B T)]$,整个模型基础与布朗棘轮模型的基础完全一致.

考虑肌动蛋白丝的空间结构时,即在二维铺展中,两个模型之间存在着以下显著不同^[19]:(1)在联接的布朗棘轮模型中,新蛋白丝的产生与已有的蛋白丝无关;而在自催化模型中,新蛋白丝只能产生在已有的蛋白丝之上.(2)在布朗棘轮模型中,只有工作蛋白丝产生抵抗负荷与联接蛋白丝作用的力;而在自催化模型中,蛋白丝的功能并不进行区分.这两点不同导致了两种模型预测的力-速率关系(力-速率关系容易从实验中得到,可作为模型的验证条件)的差别:在布朗棘轮模型中,铺展速率取决于工作蛋白丝与联接蛋白丝的比例,并跟载荷直接相关;而自催化模型中的铺展速率为一常数.两种模型在特定条件下都得到了相关实验的验证^[20,28-30],但是需要指出的是目前没有模型可以单独解释所有的实验数据.

关于肌动蛋白丝组装、去组装的模型还有尾端

追踪马达模型 (end-tracking motor model)^[31]、弹性推进模型 (elastic propulsion model)^[32] 等, 更详尽的介绍可参见综述^[33]. 由于目前细胞铺展的理论模型绝大部分还局限于一维范围内, 因此大多采用布朗棘轮模型, 但在数值模拟中, 可以充分考虑到细胞骨架结构的复杂性, 建立更加合适的模型体系.

2.2 细胞与基底的黏附力 (牵拉力)

在细胞铺展过程中, 细胞首先与基底相接触, 受体与配体分子相结合, 形成特异性的黏附位点. 这些黏附分子键的形成, 一方面使得细胞膜内张力发生变化 (细胞曲率的变化), 另一方面由于其和肌动蛋白丝相连接, 直接影响肌动蛋白丝的聚合过程, 从而影响细胞在基底表面的铺展程度. 当细胞的黏附蛋白 (如整合素) 与基底配体相结合后, 黏附分子键受到由肌凝蛋白 (myosin) 产生的收缩力的作用, 将产生构象变化. 这种收缩力经由跨膜蛋白传递到基底上, 以牵拉力的形式表现出来, 引起基底水平方向的变形. 牵拉力与黏附力都是细胞与基底间相互作用的表现形式, 在细胞铺展的研究过程中可认为两者是等价的.

细胞膜与基底的黏附过程可认为是细胞膜与

基底分离的逆过程, 用薄膜剥离这一已经得到深入研究的经典问题作为类比. 从能量角度出发, Kendall^[34] 提出了一维线弹性薄膜剥离理论模型. 假设黏附在基底上的单位宽度的弹性聚合体受外力 T_{ex} 的作用以 θ 角度剥离了一段虚位移 δa , 则此过程中势能的改变为 $T_{\text{ex}}(1 - \cos \theta)\delta a$ 、聚合体中弹性能的改变为 $T_{\text{ex}}^2 \delta a / (2dE)$ 以及剥离过程中黏着功的改变为 $\Delta w_a \delta a$, 其中 d 为薄膜厚度, E 为薄膜的杨氏模量, Δw_a 为单位面积的黏着功. 剥离发生的临界条件为^[34]

$$T_{\text{ex}}(1 - \cos \theta)\delta a + \frac{T_{\text{ex}}^2 \delta a}{2dE} - \Delta w_a \delta a = 0 \quad (6)$$

根据已有的弹性薄膜剥离理论, 并结合细胞膜的自身特点, 可利用连续介质力学的理论解决细胞膜与基底分离的问题. 如图 6 所示, 此类模型的基本思路为: 利用黏附区和自由区的连续性条件, 联立求解平衡方程, 从而确定临界剥离力. 若假定分子键是线弹性的^[35-38], 剥离的临界状态是黏附区与自由区交界处的分子键力达到阈值, 从而引起界面上类似裂纹区域的扩展和细胞黏附的失稳.

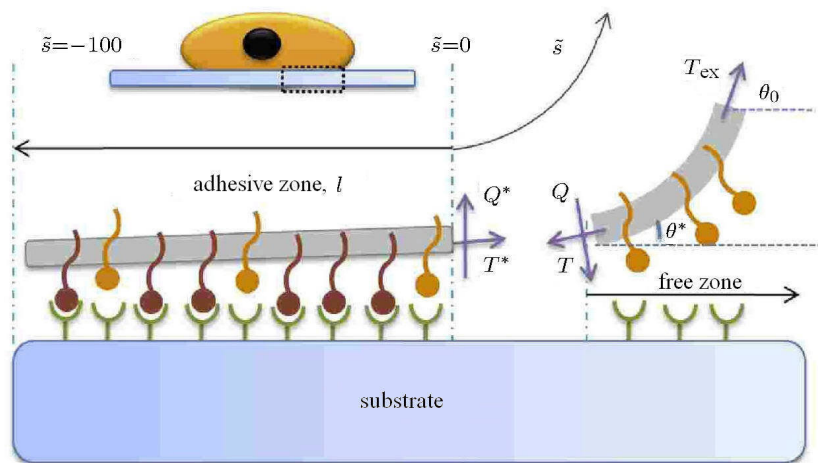


图 6 研究细胞黏附的一维剥离模型^[39]

Fig.6 One-dimensional peeling model in studying cell adhesion^[39]

细胞膜在黏附区的力学平衡方程为

$$\left. \begin{aligned} \frac{dT}{ds} - Q \cdot K &= 0 \\ T \cdot K + \frac{dQ}{ds} &= -f \cdot n \end{aligned} \right\} \quad (7)$$

其中, s 为沿着细胞膜轮廓的曲线坐标系, T 为细胞膜内沿轴向的张力, Q 为膜内剪切力, K 为细胞膜的局部曲率, f 为单个黏附分子键的作用力, n 为分

子键的密度.

在自由区, 细胞膜与基底之间没有黏附, $f = 0$, 则式 (7) 退化成为自由区的平衡方程^[37]

$$T = -\frac{d^2 T}{d\theta^2} \quad (8)$$

其中, θ 为细胞膜与基底的夹角. 由式 (8) 可以得到控制方程在自由区的解.

假设黏附分子键垂直于细胞膜, 细胞膜与基底的夹角 θ 与分子键的伸长 L 之间的几何关系为 [37]

$$\frac{dL}{ds} = \tan \theta \cdot \left(1 + L \frac{d\theta}{ds} \right) \quad (9)$$

考虑分子键是线弹性的, 其本构关系为

$$f = k(y - \lambda_0) \quad (10)$$

其中, k 为分子键的弹性系数, λ_0 为分子键的初始长度.

由以上剥离模型得到的平衡方程 (7)、几何方程 (9)、本构方程 (10), 并利用边界条件, 即可求解细胞膜与基底分离的问题.

在上面讨论的模型框架内, 人们逐步将分子键密度分布、分子键生化反应及力学性质等因素考虑进去, 使得剥离模型越来越贴近细胞-基底黏附的真实情况. 该模型的发展也大大加深了人们对细胞黏附过程的理解. 其中最简单的情况是不考虑分子键的分布 [40], 细胞膜与基底之间为黏着带, 也就是分子键密度无限大的情况, 由此可得到细胞膜中的切应力为指数衰减的形式 $\tau(x) = \tau(0)e^{-\lambda_T x}$, 其中 λ_T^{-1} 为包含基底刚度的特征长度. 将细胞膜看成连续体, Evans [35] 首先假定分子键的连续密集分布, 使用剥离模型验证了 Young 方程 [41-43]. 但由于分子键的连续密集分布模型有着很大的局限性, Evans 更进一步考虑了分子键的不连续稀疏分布, 使得理论模型与实验更好得匹配了起来. Evans [44] 的分析都是基于平衡状态的假设, 只能得到临界剥离力的大小, 而无法得到临界速率. Dembo 等 [38] 将黏附分子键的反应动力学考虑在内, 研究了细胞黏附的动力学过程, 确定了分子键力学性质和生化反应对整个黏附过程的影响. Ward 等 [36,45] 又在 Dembo 等工作的基础上, 分别考虑了受体聚集和配体密度对黏附动力学的影响. Ji 等 [39] 利用剥离模型, 研究了黏附分子键非线性效应对细胞黏附稳定性的影响, 发现分子键的边缘依赖性越强, 细胞黏附的稳定性越高. 这是因为在最边缘区域黏附分子键的承载是最有效的, 而这种边缘依赖效应要受到黏附分子键本构关系的调节. Xiong 等 [46] 利用经典的 Bell-Dembo 模型, 考虑了基底刚度的影响, 建立了关于细胞黏附的力学-化学耦合模型.

目前对细胞黏附的研究依然受到人们的广泛关注, 参考综述文献 [47] 可以对此有一个全面的认识. 在实际的细胞铺展过程中, 肌动蛋白丝的聚合与细胞-基底的黏附之间相互促进、相互影响, 两者之间

存在耦合关系, 目前的模型还不能考虑这种耦合作用. 此外, 细胞铺展过程中的黏附力模型大部分是基于薄膜剥离模型, 细胞膜与基底的分离过程与黏附铺展过程是不是完全可逆的、能不能直接等价等基本问题还需要进一步的讨论.

2.3 细胞膜张力

为保持细胞形状及内部渗透压稳定而存在于细胞膜表层的应力, 称为膜张力 (membrane tension). 实验表明 [21,48], 在细胞铺展过程中, 膜张力对伪足的伸出起到阻碍作用. 当增大细胞的膜张力时, 细胞铺展的速率将会随之降低; 反之细胞铺展的速率将会升高. 由于在细胞膜内侧, 通常存在一层与之紧密相连的细胞骨架, 因此细胞膜张力应包括细胞膜 (即磷脂双分子层) 和近邻细胞骨架两部分的影响. 在细胞铺展过程中, 是否考虑细胞骨架的动态发展是以下 2 种膜张力模型的主要区别所在.

2.3.1 细胞铺展过程中, 膜张力保持不变

在细胞铺展的初期, 细胞与基底相接触, 形成初始黏附位点, 此时细胞内部应力纤维还未形成, 细胞的铺展主要由细胞与基底的黏附能所驱动, 此时在模型中可以不考虑细胞骨架的变化情况 [49], 铺展过程就非常类似于黏性液滴在平面上的润湿行为 [41], 膜张力在整个铺展过程中基本不发生改变 [50], 膜张力与单位面积黏着功的竞争关系可由经典的 Young 方程得到 [41-43]

$$w_a = \gamma(1 + \cos \theta) \quad (11)$$

其中, w_a 为细胞铺展过程中的单位面积黏着功 (等同于剥离单位面积的薄膜所要做的功), γ 为膜张力, θ 为接触角.

2.3.2 细胞铺展过程中, 膜张力发生变化

由于膜张力包含了来自细胞膜及近邻细胞骨架两部分的贡献, 细胞骨架所引起的膜张力与细胞的铺展面积有关 [51-52]. 在细胞铺展过程中, 一般假定细胞的体积保持不变 (由细胞的渗透压所决定), 细胞表面积的变化将导致膜张力也相应的发生变化. 此时细胞铺展过程中的膜张力变化就等价于细胞表面积的变化, 铺展半径的变化与液滴铺展过程完全一致 [46,50,53]

$$\frac{R}{R_0} = \left[\frac{4 \sin \theta (1 + \cos \theta)}{(1 - \cos \theta)(2 + \cos \theta)} \right]^{\frac{1}{3}} \quad (12)$$

其中, R_0 为细胞处于悬浮状态时的半径, R 为细胞铺展过程中与基底的接触半径, θ 为接触角 (如图 7(c) 和图 7(d) 所示).

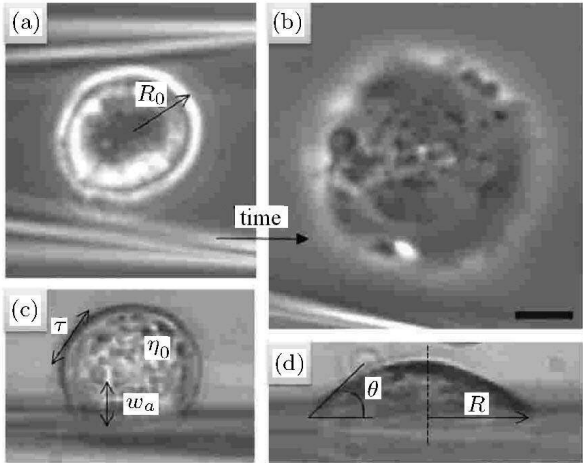


图 7 鸡胚胎成纤维细胞铺展过程的侧视图 [41]
Fig.7 Image of chick embryo fibroblasts spreading over a substrate (side view) [41]

同时细胞膜张力可确定为

$$\gamma = \gamma_0 \left(1 + C \frac{\Delta A}{A_0} \right) \tag{13}$$

其中, γ_0 为初始时的膜张力 (见表 1), C 表示每增加单位面积的细胞骨架与细胞膜连接所引起的膜张力变化, 通常为一常量, 其典型取值约为 $50 \text{ pN/nm}^{[54]}$. A 为细胞的表面积. 式 (13) 中细胞表面积的变化为

$$\frac{\Delta A}{A_0} = \left(1 + \cos^2 \frac{\theta}{2} \right) \left[\left(1 + 2 \cos^2 \frac{\theta}{2} \right) \sin \frac{\theta}{2} \right]^{-\frac{2}{3}} - 1$$

2.3.3 现有模型的不足之处

在细胞铺展的中后期, 伪足的伸出是细胞铺展的主要驱动形式, 而由于伪足 (包括片状伪足和丝状伪足) 的高度只有 $0.1 \sim 0.3 \mu\text{m}$, 长度或宽度却达到 $1 \sim 10 \mu\text{m}$ 的量级 [55] (类似于液滴铺展中的前驱膜), 此时用宏观接触角表征的细胞膜张力变化被低估, 需要加以修正.

3 细胞铺展的理论模型

在目前已经建立的关于细胞铺展的理论模型中, 主要从细胞铺展过程的黏性流动及细胞铺展的力学平衡两个方面入手, 从而得到细胞铺展半径与时间的幂律关系 (见表 2), 并与实验结果相互验证. 下面将对此类方法进行简单的回顾.

表 2 与细胞铺展相关的尺寸与时间标度律

Table 2 Power laws of size-time relation in cell spreading

Stages in cell spreading	Power laws α	Cell type	Mechanism	Note
early	0.5(initial spreading) 0.25 (the following period)	Hela/S180cell ^[9] (independent of cell types)	adhesion force vs viscous force	$R(t) \propto t^\alpha$
middle	0.015~0.06	Dictyostelium discoid cell ^[52]	adhesion force vs membrane tension	$\frac{A(t)}{A(\infty)} \approx \tanh(\alpha t)$
	0.5	mouse embryonic fibroblast cell ^[49]	polymerization force vs membrane tension	$R(t) \propto t^\alpha$

3.1 细胞铺展的水动力学模型

由于液滴在平面上的润湿铺展过程 (又称为 “移动接触线问题”) 已经得到了广泛深入的研究 [56], 因此当主要考虑细胞的黏性性质时, 细胞铺展模型可参考液滴铺展模型进行建立. 细胞铺展作为一个水动力学过程, 需要确定相关的驱动机制与耗散机制. 根据模型中驱动力及耗散形式的不同, 对下面 3

个典型模型分别进行分析.

3.1.1 将细胞视为黏性液滴

在细胞铺展过程中, Thoumine 等 [41] 认为 w_a 与 γ 均保持不变, 并且细胞表面弹性及细胞核的影响可以忽略. 由于细胞尺寸远远小于毛细尺度 (毛细尺度表示表面张力与重力的竞争关系, $l = \sqrt{\gamma/\rho g}$,

在 mm 量级), 并且 Reynolds 数远远小于 1, 因此不需考虑细胞重量及内部惯性项的影响. 当不考虑铺展前缘黏附分子的损耗时, 细胞与基底的黏着功主要由细胞边缘处中的剪切流动所耗散^[57], 据此可得到流动速率为

$$\frac{dR}{dt} = \frac{\gamma_0 \theta (\cos \theta_e - \cos \theta)}{3\eta_0 \ln(x_{\max}/x_{\min})} \quad (14)$$

其中, $x_{\max}/x_{\min}$ 分别为上、下分离点的位置, $\ln(x_{\max}/x_{\min}) \approx 9.2$, η_0 为细胞黏度, 式中表面张力与黏度之比即为毛细特征速度.

将 R 和 θ 的关系式 (12) 进行微分, 与方程 (14) 联立可得到

$$\frac{d\theta}{dt} = \left\{ \tau \theta (\cos \theta - \cos \theta_e) (2 + \cos \theta)^2 \cdot \left[\cos^2 \frac{\theta}{2} \cot \frac{\theta}{2} / (2 + \cos \theta) \right]^{\frac{2}{3}} \right\} / \left[3R_0 \eta_0 \ln(x_{\max}/x_{\min}) \cot^2 \frac{\theta}{2} \right] \quad (15)$$

上式即为宏观接触角与时间的隐性表达式, 再根据

接触角与接触半径的关系就可得到细胞铺展的规律. 式 (15) 的形式非常复杂, 一般需通过数值方式求解. 虽然上述工作还存在着很大的局限性, 对细胞内部的生化过程考虑不足, 但这是将研究液滴铺展的方法应用到细胞铺展上的首次尝试, 对后续的研究可能有很大的指导和帮助作用.

3.1.2 将细胞视为带壳的黏性液滴^[9]

如图 8 (a) 所示, 若考虑细胞表层 (包括细胞膜与部分细胞骨架) 具有一定厚度 w , 其黏度为 η , 细胞与基底接触面积的增加由细胞与基底间的黏着功所驱动; 与此同时, 细胞铺展过程中形状的变化将导致能量的耗散, 两者的竞争关系将决定细胞铺展的发展.

黏着功的变化率为 $w_a dA/dt \propto w_a R dR/dt$, 其中 w_a 为单位面积黏着功.

细胞与基底的黏性耗散主要包括两部分: 一部分为细胞表层分子的黏性耗散, 另一部分为细胞质的黏性耗散, 两者的耗散率与耗散特征体积不同. 能量耗散的变化率为 $\int \eta (\nabla u)^2 dV \propto \eta \left(\frac{1}{w} \frac{dR}{dt} \right)^2 V'$.

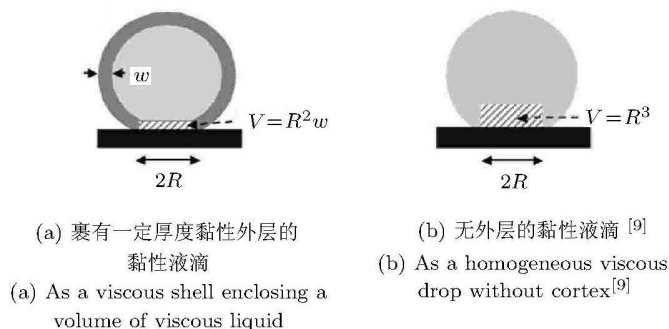


图 8 细胞示意图

Fig.8 Schematic of a cell

在细胞铺展的最初阶段, 只有细胞表层分子产生黏性耗散, 黏附项与耗散项相平衡, 得到铺展半径与时间的关系

$$R \propto \left(\frac{w_a w}{\eta} \right)^{\frac{1}{2}} t^{\frac{1}{2}}, \quad R \leq R_0 \quad (16)$$

其中 R_0 为细胞的初始半径.

当细胞质也发生流动时, 能量耗散的特征体积发生变化, 如图 8 (b), 可得

$$R \propto \left(\frac{w_a R_0^3}{\eta_c} \right)^{\frac{1}{4}} t^{\frac{1}{4}}, \quad R > R_0 \quad (17)$$

其中, η_c 为细胞的有效黏度, 既包含细胞表层黏度 η , 又包括细胞质的黏度.

从式 (16) 和式 (17) 可以得到, 细胞铺展半径与时间分别满足 $1/2$ 和 $1/4$ 的标度律关系. 但此模型中并没有考虑肌动蛋白丝的聚合在细胞铺展中的作用, 仅仅是对细胞铺展前期的行为进行了描述. 整个推导过程非常简洁, $1/2$ 和 $1/4$ 的标度律关系也分别被不同的实验所证实^[9], 是细胞前期铺展的一个普遍规律, 与细胞的种类和自身状态没有关系. 但需要再次指出的是, 整个模型只适用于细胞铺展前期, 而细胞铺展前期在整个细胞铺展过程中所占的比例很小, 大部分的研究还是更关注与细胞内部生

化过程相关的铺展中期和后期.

3.1.3 从膜厚演化方程出发^[49]

虽然细胞铺展的主要特征都表现在位于平行于基底的平面内 (细胞铺展半径随时间的变化), 但是由于整个铺展过程是三维的, 因此垂直于基底的细胞形状变化也应当考虑进去. 下面介绍从细胞的膜厚演化角度出发, 研究细胞铺展问题的一些近期工作.

与液滴铺展研究方法类似, 细胞铺展也常采用润滑近似 (lubrication approximation)^[58-59], 该近似通常假定:

- (1) 黏性流体流动处于层流状态;
- (2) 细胞膜的厚度远小于它的长度和宽度;
- (3) 惯性力和重力均忽略不计;
- (4) 细胞铺展是不可压缩牛顿流体的等温流动;
- (5) 在所述几何条件下可以忽略表面法线方向上的任何运动.

应用上述润滑近似, 细胞铺展过程可用两个物理量来描述: 膜的高度 h ; 细胞铺展速度 $\mathbf{u}$ 的水平分量 u^x 在垂直方向 z 上的平均量 U , 即 $\int_0^h u^x dz =$

hU . 两者可由细胞铺展中细胞膜的连续性方程联系在一起

$$\frac{\partial h}{\partial t} + \nabla(hU) = 0 \quad (18)$$

利用 Navier-Stokes 方程, 并应用无滑移边界条件和自由面上的无剪切边界条件, 则细胞铺展速度的水平分量 u^x 在垂直方向 z 上的平均量 U 为

$$U = \frac{\nabla \sigma}{3\eta} h^2 \quad (19)$$

其中, η 为动态黏性系数, 细胞铺展的驱动力 σ 为肌动蛋白丝聚合所产的聚合力, 这与液滴铺展的情况不同.

此时, 只需要得到驱动应力 σ 的大小, 即可得到膜厚演化方程. 然而, 由肌动蛋白丝产生的驱动力大小很难通过实验测量, 因此假定在铺展过程中, 细胞骨架与细胞膜处于平衡状态, 这样通过细胞膜张力可间接得到驱动力的大小. 如图 9(b) 和图 9(c) 所示, 根据力学平衡条件, 可得到

$$\nabla \sigma = \frac{2\gamma}{b} \left(\frac{1}{H} + \varepsilon \nabla^2 h \right) \quad (20)$$

其中, b 为伪足宽度, H 为细胞膜的总体曲率半径, ε 为比例参数.

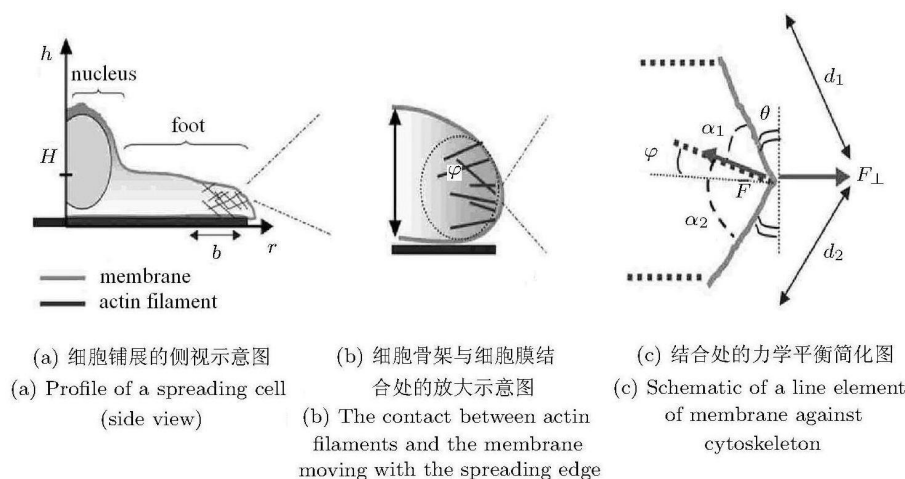


图 9 细胞骨架与细胞膜结合处力学平衡的示意图^[49]

Fig.9 Sketch to describe the equilibrium between the cytoskeleton and the membrane in cell spreading^[49]

由此可得到细胞铺展的膜厚方程如下

$$\frac{\partial h}{\partial t} + h^2 \frac{2\gamma}{b\eta} \left(\frac{1}{H} + \varepsilon \nabla^2 h \right) \frac{\partial h}{\partial r} = 0 \quad (21)$$

当 $\varepsilon \ll 1$ 时, 扩散项 $\varepsilon \nabla^2 h \frac{\partial h}{\partial r}$ 可忽略. 此时, 式 (21) 与液滴在斜平面上的铺展形式类似^[60-61].

求解方程 (21), 即可得到细胞铺展的标度律关

系 $R(t) \propto (t/T_0)^{\frac{1}{2}}$, 其中 $T_0 = b\eta/\gamma$ 为特征铺展时间, 大小在 100 s 的量级上.

以上讨论均基于牛顿流体的性质, 非牛顿流体的情况则会复杂的多. 由于非牛顿流体的液滴铺展已经得到了深入讨论, 应用到细胞上时可进行参考. 对于非牛顿流体来说^[62], $\mu = k\dot{\gamma}^{n-1}$, 其中 μ 为表

观黏性系数, k 为一致性系数, $\dot{\gamma}$ 为剪切率, 此时可得到如下幂律铺展标度律

$$\left. \begin{aligned} R(t) &\propto t^{\frac{n}{3n+5}}, \text{ 重力 vs 黏性力} \\ R(t) &\propto t^{\frac{n}{3n+7}}, \text{ 表面张力 vs 黏性力} \end{aligned} \right\} \quad (22)$$

对牛顿流体, $n = 1$, 式 (22) 可退化为 $R(t) \propto t^{1/8}$ (重力 vs 黏性力) 或 $R(t) \propto t^{1/10}$ (表面张力 vs 黏性力).

从上面的推导过程可以看出, 整个模型的思路来自于黏性液滴的铺展, 只是驱动力的形式不同: 液滴铺展的驱动力为分离压力和表面张力, 而细胞铺展的驱动力为肌动蛋白丝所导致的聚合力. 当在膜厚方程中考虑扩散项的作用时, 类似于指进式的细胞铺展方式也可以得到很好的解释 [49]. 模型的不足之处在于没有考虑细胞与基底之间的黏附及相关分子马达的作用. 此外, 润滑近似通常需要假定细胞膜厚度远远小于它的长度与宽度, 只有当细胞铺展完全由伪足伸出所控制时, 这一条件才能成立, 这是由于伪足的高度只有 $0.1 \sim 0.3 \mu\text{m}$, 而长度或宽度却达到了 $1 \sim 10 \mu\text{m}$.

3.2 细胞铺展的力学驱动模型

这一类模型主要从细胞膜与基底接触边缘的力学平衡角度出发, 根据铺展过程中驱动力及阻碍力的不同作用得到相应的结果.

3.2.1 细胞尺度

当考虑肌动蛋白丝的聚合作用时, 细胞铺展是一个主动的过程, Chamaraux 等 [51-52] 认为细胞铺展是由细胞膜与骨架的联接所控制, 而不仅仅是细胞被动的黏性流动所引起. 细胞膜与骨架之间存在黏着桥 (adhesive bridge), 它既包含了肌动蛋白丝聚合产生的向外的伸出作用, 又包括了细胞与基底之间的黏附作用. 因为控制细胞铺展的主要因素在不同的细胞种类以及细胞铺展的不同阶段之间存在显著差异, 因此 Chamaraux 等采用黏着桥的形式将两种驱动力加总起来, 也就不再区分哪种力起主要作用. 同时, Chamaraux 将钙离子的释放作为细胞铺展的起始 [63], 形成如下的反馈路线: 钙离子通道激活 $\rightarrow$ 钙离子浓度升高 $\rightarrow$ 细胞骨架重组 $\rightarrow$ 细胞铺展 $\rightarrow$ 细胞最前缘的应力进行重新调整、适应. 同时假定肌动蛋白丝的聚合过程总是发生在细胞最边缘处 (如图 10), 且蛋白丝的聚合与解聚速率是关于细胞边缘处的切应力敏感的.

根据上面的假定, 并考虑切应力与表面张力的关系, 细胞铺展速率可写为下列形式

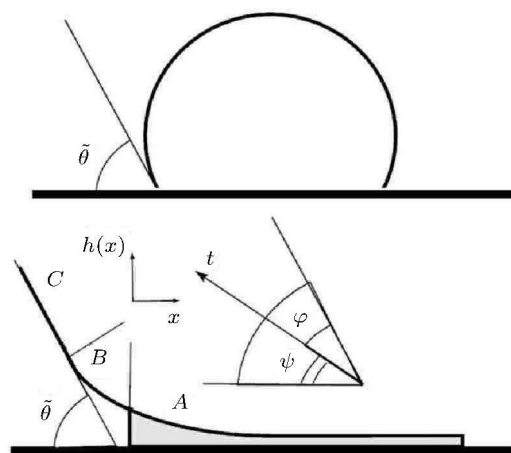


图 10 细胞铺展前缘的示意图 [52]

Fig. 10 Schematic of cell spreading at the cell periphery [52]

$$V_{\parallel} \approx \frac{dV^*}{d\gamma} \frac{\gamma(\tilde{\theta}) - \gamma_{\max}}{\psi(\tilde{\theta})} \quad (23)$$

其中, $\gamma(\tilde{\theta})$ 为切应力, $\psi(\tilde{\theta})$ 为任一点处切线与基底间的夹角, 且 $V_{\parallel}(\gamma(\theta_{\max})) = 0$.

边界处的角度 ψ_0 可由图 10 中的黏着接触区和临近区 (AB 区) 的力学平衡及连续性条件得到

$$\psi_0(\tilde{\theta}) = 2 \frac{\lambda(\tilde{\theta})}{\lambda_a} \sin \frac{\tilde{\theta}}{2} \quad (24)$$

其中, λ_a^{-1} 为肌动蛋白丝刚度的特征长度, λ^{-1} 为细胞膜的关联长度.

由此, 在极限状况下 ($V_{\parallel} = 0$) 可得到 $\tilde{\theta}$ 关于时间 t 的关系式

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{\tilde{\theta}^2}{\tilde{\theta}_{\max}^2} \right) = -\frac{\alpha}{\tilde{\theta}_{\max}^4} (\tilde{\theta}^4 - \tilde{\theta}_{\max}^4) \quad (25)$$

其中 α^{-1} 为细胞铺展的特征时间.

再对式 (25) 进行积分, 代入铺展面积与接触角之间的关系进行简化, 即可得细胞铺展面积随时间的变化关系

$$\frac{A(t)}{A(\infty)} \approx \tanh(\alpha t) \quad (26)$$

式 (26) 表明, 在整个铺展阶段 (包括前、中、后期), 细胞铺展面积与铺展时间之间依然存在着一个幂律关系, 并且式中 α^{-1} 包含了细胞种类及基底刚度的影响. 这个模型第一次从理论角度得到了这种幂律关系, 并且与相关实验结果之间进行了比对, 符合得很好. 但整个模型并不是非常完美, 许多假设依然存在疑问. 比如细胞膜张力与切应力之间是否存在着上面给出的确定关系? 以及细胞铺展由细胞膜与

骨架的联接所控制这个假设是否对实际铺展机理过度简化? 能不能进行进一步的扩展应用, 如应用到各向异性铺展的情况? 当然, 上面的些许疑问并不能否定 Chamaraux 的出色工作.

3.2.2 分子尺度

前期的研究表明, 细胞前期铺展主要由细胞与基底的黏附控制, 中期铺展则主要由肌动蛋白丝的组装、去组装所驱动, 为研究方便, Li 等^[53] 将细胞铺展的速率等价于产生驱动力的分子发展速率, 从分子尺度上得到了细胞一维铺展的规律.

肌动蛋白丝的一维聚合过程可以用“弹性布朗棘轮模型”很好地解释^[18], 那么单根蛋白丝的力-速率关系为

$$V \approx \delta \left[k_{\text{on}} a \exp \left(-\frac{f\delta}{k_{\text{B}}T} \right) - k_{\text{off}} \right] \quad (27)$$

实验研究表明^[64], 细胞黏附也可用上式来表示. 此时, 细胞铺展的前期和中期的铺展速率公式形式是一样的, 只是公式中各物理量的含义不同.

比如, 在细胞铺展前期, 驱动力主要由细胞与基底黏附力与细胞膜张力的竞争提供

$$F_d = N_b C_b k_{\text{B}}T - f \quad (28)$$

其中, N_b 为黏附分子键密度, $C_b k_{\text{B}}T$ 为单键结合能, f 是与膜张力相关的阻碍力.

由此可以得到

$$R = [2R_0 (V_+ - V_-)]^{\frac{1}{2}} t^{\frac{1}{2}} \quad (29)$$

即细胞前期铺展满足 $1/2$ 的标度律, 这一结果与 Cuvelier 等的结果^[8] 相同.

在细胞铺展中期, 细胞尖端的伸出主要由肌动蛋白丝的聚合所控制, 此时式 (27) 依然适用. 此时的拉伸力 f 由细胞膜与基底间的切应力 τ_x 所决定

$$f = \frac{1}{N} \tau(0) = \frac{F_d \lambda_T}{N} \quad (30)$$

其中 $\tau_x = F_d \lambda_T \exp(-\lambda_T x)$, 而此时阻碍力包括了两部分, 既有细胞膜的膜张力作用, 又有细胞膜变形的影响.

此时, 铺展半径与时间满足下列的关系

$$\frac{dR}{dt} = V_+ \exp \left[\frac{(N_b C_b k_{\text{B}}T - f_0 - KR) \lambda_T \delta}{N k_{\text{B}}T} \right] - V_- \quad (31)$$

其中 KR 为细胞膜变形的影响.

由于式 (31) 比较复杂, 需数值积分得到细胞铺展半径与铺展时间之间的标度律关系. Li 等^[53] 的模型非常简洁明了, 将细胞铺展的速率等价于产生驱动力的分子发展速率, 不需要太多的假设即可得到细胞铺展的规律. 但模型中的这种等价处理是否合理, 还值得进一步探讨. 比如, 在细胞铺展中期的驱动力应该包括两部分: 肌动蛋白丝的聚合及细胞的黏附, 但模型中并未考虑细胞黏附的影响. 当然, 从某种程度上, 这种简化可能是合理且必要的. 此外, 肌动蛋白丝聚合和细胞黏附的力-速率关系都可用式 (27) 表示, 为什么两者之间性质明显不同但表达式却相同, 作者并没有进行深入的讨论. 简洁有效的模型一直更容易被接受, 上述模型即是一个很好的例子.

4 总结及展望

关于细胞铺展过程的研究可借助于黏性液滴铺展的研究方法, 这是由细胞的流变性质及较长的观测时间所决定的. 群山在上帝面前流动, 细胞在小时量级上所表现的黏性性质也就不足为奇了. 从细胞铺展与液滴铺展之间的相似性和不同点出发, 本文首先描述了细胞铺展的生物学背景, 然后就铺展作为一个动力学过程, 将其背后的主要驱动力和阻碍力的竞争关系进行了介绍, 最后就当前典型的铺展模型进行了总结及评述. 需要指出的是, 计算机模拟在细胞铺展研究中也占有十分重要的地位. 由于本文主要侧重于理论研究的角度, 并未涉及相关的计算模型. 基于以上对细胞铺展的一般规律的了解和认识, 看到相关理论模型的发展与实验方面的进展之间仍然存在比较大的距离, 将来可能需要在以下几个方面进行更深入研究.

(1) 部分长梭形细胞的铺展并非各向同性, 需建立合适的二维模型来表征.

(2) 细胞在受限情况下, 其分化^[65]、凋亡^[66]等生理过程会受到显著影响, 受限情况下, 特别是几何受限情况下细胞铺展的理论模型亟待建立.

(3) 考虑细胞与周围细胞的相互作用, 细胞聚集体的铺展行为与单个细胞的铺展存在很大不同, 由于细胞聚集体的行为与体内细胞的生理条件更加相似, 建立相关理论模型能对细胞在生理条件下的铺展行为产生更深入的理解.

综上所述, 关于细胞铺展的研究是一项极具挑战性的工作, 其包含内容较多, 涉及对象面较广, 整个动力学过程跨多个时间空间尺度, 但是由于其潜

在的理论意义和应用价值,已经吸引了越来越多的研究人员在此方向展开探索.随着相关研究的不断深入,我们相信,会有更多普遍规律被揭示,从而对理解细胞迁移、细胞分化等重要生命现象产生深远影响.

参 考 文 献

- 1 Aplin AE, Hogan BP, Tomeu J, et al. Cell adhesion differentially regulates the nucleocytoplasmic distribution of active MAP kinases. *Journal of Cell Science*, 2002, 115(13): 2781-2790
- 2 Gumbiner BM. Cell adhesion: the molecular basis of tissue architecture and morphogenesis. *Cell*, 1996, 84(3): 345-357
- 3 Parker KK, Brock AL, Brangwynne C, et al. Directional control of lamellipodia extension by constraining cell shape and orienting cell tractional forces. *FASEB Journal*, 2002, 16(10): 1195-1204
- 4 Geiger B, Bershadsky A, Pankov R, et al. Transmembrane extracellular matrix-cytoskeleton crosstalk. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2001, 2: 793-805
- 5 Giannone G, Dubin-Thaler BJ, Dobereiner HG, et al. Periodic lamellipodial contractions correlate with rearward actin waves. *Cell*, 2004, 116(3): 431-443
- 6 Dubin-Thaler BJ, Giannone G, Dobereiner HG, et al. Nanometer analysis of cell spreading on matrix-coated surfaces reveals two distinct cell states and STEPs. *Biophysical Journal*, 2004, 86(3): 1794-1806
- 7 Dobereiner HG, Dubin-Thaler BJ, Giannone G, et al. Dynamic phase transitions in cell spreading. *Physical Review Letters*, 2004, 93(10): 108105
- 8 Dobereiner HG, Dubin-Thaler BJ, Giannone G, et al. Force sensing and generation in cell phases: analyses of complex functions. *Journal of Applied Physiology*, 2004, 98(4): 1542-1546
- 9 Cuvelier D, Thery M, Chu YS, et al. The universal dynamics of cell spreading. *Current Biology*, 2007, 17(8): 694-699
- 10 Dubin-Thaler BJ, Hofman JM, Cai YF, et al. Quantification of cell edge velocities and traction forces reveals distinct motility modules during cell spreading. *PloS One*, 2008, 3(11): e3735
- 11 Bhadriraju K, Yang M, Ruiz SA, et al. Activation of ROCK by RhoA is regulated by cell adhesion, shape, and cytoskeletal tension. *Experimental Cell Research*, 2007, 313(16): 3616-3623
- 12 Huveners S, Danen EHG. Adhesion signaling-crosstalk between integrins, Src and Rho. *Journal of Cell Science*, 2009, 122(8): 1059-1069
- 13 Carey SP, Charest JM, Reinhart-King CA. Forces during cell adhesion and spreading: implications for cellular homeostasis. *Cellular and Biomolecular Mechanics and Mechanobiology*, 2011, 4: 29-69
- 14 Wang N, Ostuni E, Whitesides GM, et al. Micropatterning tractional forces in living cells. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 2002, 52(2): 97-106
- 15 Schoenwaelder SM, Burridge K. Bidirectional signaling between the cytoskeleton and integrins. *Current Opinion in Cell Biology*, 1999, 11(2): 274-286
- 16 Pollard TD, Borisy GG. Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell*, 2003, 112(4): 453-465
- 17 Peskin CS, Odell GM, Oster GF. Cellular motions and thermal fluctuations: the brownian ratchet. *Biophysical Journal*, 1993, 65(1): 316-324
- 18 Mogilner A, Oster G. Cell motility driven by actin polymerization. *Biophysical Journal*, 1996, 71(6): 3030-3045
- 19 Ananthakrishnan R, Ehrlicher A. The forces behind cell movement. *International Journal of Biological Sciences*, 2007, 3(5): 303-317
- 20 McGrath JL, Eungdamrong NJ, Fisher CI, et al. The force-velocity relationship for the actin-based motility of *Listeria monocytogenes*. *Current Biology*, 2003, 13(4): 329-332
- 21 Raucher D, Sheetz MP. Cell spreading and lamellipodial extension rate is regulated by membrane tension. *Journal of Cell Biology*, 2000, 148(1): 127-136
- 22 Thoumine O, Kocian P, Kottelat A, et al. Short-term binding of fibroblasts to fibronectin: optical tweezers experiments and probabilistic analysis. *European Biophysics Journal*, 2000, 29(4): 398-408
- 23 Tan JL, Tien J, Pirone DM, et al. Cells lying on a bed of microneedles: an approach to isolate mechanical force. *Proceedings of National Academy of Sciences of United States of America*, 2003, 100(4): 1484-1489
- 24 Mogilner A. Mathematics of cell motility: have we got its number? *Journal of Mathematical Biology*, 2009, 58(1): 105-134
- 25 Mogilner A, Oster G. Force generation by actin polymerization II: the elastic ratchet and tethered filaments. *Biophysical Journal*, 2003, 84(3): 1591-1605
- 26 Carlsson AE. Growth of branched actin networks against obstacles. *Biophysical Journal*, 2001, 81(4): 1907-1923
- 27 Carlsson AE. Growth velocities of branched actin networks. *Biophysical Journal*, 2003, 84(5): 2907-2918
- 28 Wiesner S, Helfer E, Didry D, et al. A biomimetic motility assay provides insight into the mechanism of actin-based motility. *Journal of Cell Biology*, 2003, 160(3): 387-398
- 29 Footer MJ, Kerssemakers JWJ, Theriot JA, et al. Direct measurement of force generation by actin filament polymerization using an optical trap. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(7): 2181-2186
- 30 Kovar DR, Pollard TD. Insertional assembly of actin filament barbed ends in association with formins produces piconewton forces. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(41): 14725-14730
- 31 Dickinson RB, Caro L, Purich DL. Force generation by cytoskeletal filament end-tracking proteins. *Biophysical Journal*, 2004, 87(4): 2838-2854

- 32 Marcy Y, Prost J, Carlier MF, et al. Forces generated during actin-based propulsion: a direct measurement by micromanipulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(16): 5992-5997
- 33 Mogilner A. On the edge: modeling protrusion. *Current Opinion in Cell Biology*, 2006, 18(1): 32-39
- 34 Kendall K. Thin-film peeling-the elastic term. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 1975, 8: 1449-1452
- 35 Evans EA. Detailed mechanics of membrane-membrane adhesion and separation. I. Continuum of molecular cross-bridges. *Biophysical Journal*, 1985, 48(1): 175-183
- 36 Ward MD, Dembo M, Hammer DA. Kinetics of cell detachment: peeling of discrete receptor clusters. *Biophysical Journal*, 1994, 67(6): 2522-2534
- 37 Martinez EJP, Lanir Y, Einaf S. Effects of contact-induced membrane stiffening on platelet adhesion. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 2004, 2(3): 157-167
- 38 Dembo M, Torney DC, Saxman K, et al. The reaction-limited kinetics of membrane-to-surface adhesion and detachment. *Proceedings of the Royal Society B*, 1998, 234(1274): 55-83
- 39 Kong D, Ji BH, Dai LH. Nonlinear mechanical modeling of cell adhesion. *Journal of Theoretical Biology*, 2008, 250(1): 75-84
- 40 Maugis D. Contact, Adhesion and Rupture of Elastic Solids. New York: Springer, 2000
- 41 Frisch T, Thoumine O. Predicting the kinetics of cell spreading. *Journal of Biomechanics*, 2002, 35(8): 1137-1141
- 42 Evans EA. Physical actions in biological adhesion. In: Lipowsky R, Sackmann E eds. *Handbook of Biological Physics*, Volume 1. Amsterdam: Elsevier, 1995. 723-754
- 43 Tang CC, Chu YP, Chen HY. Lifetime of ligand-receptor clusters under external force. *Physical Review E*, 2007, 76(6): 061905
- 44 Evans EA. Detailed mechanics of membrane-membrane adhesion and separation. II. Discrete kinetically trapped molecular cross-bridges. *Biophysical Journal*, 1985, 48(1): 185-192
- 45 Ward MD, Dembo M, Hammer DA. Kinetics of cell detachment: effect of ligand density. *Annals of Biomedical Engineering*, 1995, 23(3): 322-331
- 46 Huang JY, Peng XL, Xiong CY, et al. Influence of substrate stiffness on cell-substrate interfacial adhesion and spreading: a mechano-chemical coupling model. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2011, 355(2): 503-508
- 47 Bershadsky A, Kozlov M, Geiger B. Adhesion-mediated mechanosensitivity: a time to experiment, and a time to theorize. *Current Opinion in Cell Biology*, 2006, 18(5): 472-481
- 48 Raucher D, Sheetz MP. Characteristics of a membrane reservoir buffering membrane tension. *Biophysical Journal*, 1999, 77(4): 1992-2002
- 49 Fardin MA, Rossier OM, Rangamani P, et al. Cell spreading as a hydrodynamic process. *Soft Matter*, 2010, 6(19): 4788-4799
- 50 Thoumine O, Cardoso O, Meister JJ. Changes in the mechanical properties of fibroblasts during spreading: a micro-manipulation study. *European Biophysics Journal*, 1999, 28(3): 222-234
- 51 Chamaraux F, Ali O, Keller S, et al. Physical model for membrane protrusions during spreading. *Physical Biology*, 2008, 5(3): 036009
- 52 Chamaraux F, Fache S, Bruckert B, et al. Kinetics of cell spreading. *Physical Review Letters*, 2005, 94(15): 158102
- 53 Li Y, Xu GK, Li B, et al. A molecular mechanisms-based biophysical model for two-phase cell spreading. *Applied Physics Letters*, 2010, 96(4): 043703
- 54 Sokabe M, Sachs F, Jing ZQ. Quantitative video microscopy of patch clamped membranes stress, strain, capacitance, and stretch channel activation. *Biophysical Journal*, 1991, 59(3): 722-728
- 55 Loosli Y, Luginbuehl R, Snedeker JG. Cytoskeleton reorganization of spreading cells on micro-patterned islands: a functional model. *Proceedings of the Royal Society A*, 2010, 368: 2629-2652
- 56 赵亚溥. 表面与界面物理力学. 北京: 科学出版社, 2012 (Zhao Yapu. *Physical Mechanics of Surfaces and Interfaces*. Beijing: Science Press, 2012 (in Chinese))
- 57 Brochard-Wyart F, de Gennes PG. Dynamics of partial wetting. *Advances in Colloid and Interface Science*, 1992, 39: 1-11
- 58 Greenspan HP. On the motion of a small viscous droplet that wets a surface. *Journal of Fluid Mechanics*, 1978, 84: 125-143
- 59 Barenblatt GI, Beretta E, Bertsch M. The problem of the spreading of a liquid film along a solid surface: A new mathematical formulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1997, 94: 10024-10030
- 60 Huppert HE. Flow and instability of a viscous current down a slope. *Nature*, 1982, 300(5891): 427-429
- 61 Schwartz LW. Viscous flows down an inclined plane: instability and finger formation. *Physics of Fluids A: Fluid Dynamics*, 1989, 1(3): 443-445
- 62 Liang ZP, Wang XD, Lee DJ, et al. Spreading dynamics of power-law fluid droplets. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 2009, 21: 464117
- 63 Fache S, Dalous J, Englund M, et al. Calcium mobilization stimulates Dictyostelium discoideum shear-flow-induced cell motility. *Journal of Cell Science*, 2005, 118(15): 3445-3458
- 64 Brevier J, Vallade M, Riveline D. Force-extension relationship of cell-cell contacts. *Physical Review Letters*, 2007, 98(26): 268101
- 65 Kilian KA, Bugarija B, Lahn BT, et al. Geometric cues for directing the differentiation of mesenchymal stem cells.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(11): 4872-4877

66 Chen CS, Mrksich M, Huang S, et al. Geometric control of

cell life and death. *Science*, 1997, 276(5317): 1425-1428

DOI: 10.6052/0459-1879-12-104

(责任编辑: 周冬冬)

附 录

从膜厚演化方程出发的详细推导过程^[49,56]

由连续性方程可知

$$\frac{d}{dt} \int h(x) dx = 0 \quad (A1)$$

应用 Reynolds 输运方程, 上式变为

$$\int \left[\frac{\partial h}{\partial t} + \nabla(hU) \right] dx = 0 \quad (A2)$$

综合可得细胞铺展中细胞膜的连续性方程

$$\frac{\partial h}{\partial t} + \nabla(hU) = 0 \quad (A3)$$

Navier-Stokes 方程为

$$\rho \left[\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + (\mathbf{u} \cdot \text{grad}) \mathbf{u} \right] = -\text{grad} p + \eta \nabla^2 \mathbf{u} + \left(\zeta + \frac{1}{3} \eta \right) \text{grad}(\text{div} \mathbf{u}) \quad (A4)$$

其中, $\mathbf{u}$ 为液体铺展速度, ρ 为液体密度, p 为压强, ζ 为第 2 黏性系数. 为在润滑近似下, 可忽略惯性力 (上方程左边项), 再考虑铺展过程中的不可压缩性 $\text{div} \mathbf{u} = 0$, 则上述 Navier-Stokes 方程简化为

$$\text{grad} p = \eta \nabla^2 \mathbf{u} \quad (A5)$$

应用无滑移边界条件和自由面上的无剪切边界条件

$$u^x|_{z=0} = 0, \quad \frac{\partial u^x}{\partial z} \Big|_{z=h} = 0 \quad (A6)$$

并且不同于液滴, 细胞铺展的驱动力为肌动蛋白丝聚合所产生的聚合力, 则细胞铺展速度的水平分量 u^x 在垂直方向 z 上的平均量 U 为

$$U = \frac{\nabla \sigma}{3\eta} h^2 \quad (A7)$$

此时, 只需要得到驱动应力 σ 的大小, 即可得到膜厚演化方程. 然而, 由肌动蛋白丝产生的驱动力大小很难通过实验得到验证, 因此假定在铺展过程中, 细胞骨架与细胞膜处于平衡状态, 通过细胞膜张力间接得到驱动力的形式. 如图 9(b) 和图 9(c) 所示, 根据力学平衡条件, 可得到

$$\langle \sigma_{rr}(R) \rangle = 2\gamma \cos^2 \langle \varphi \rangle \langle \kappa \rangle \quad (A8)$$

其中, $\langle \kappa \rangle$ 为细胞膜的平均曲率, $\langle \varphi \rangle$ 为蛋白丝之间的平均夹角, 取 $\pm 35^\circ$.

如果在铺展过程中, 细胞膜的变形量很小, 那么细胞膜的曲率由两部分组成 $\langle \kappa \rangle = \langle \kappa_0 \rangle + \varepsilon \langle \kappa_1 \rangle$. 其中, $\langle \kappa_0 \rangle$ 表示细胞膜的总体曲率, $\langle \kappa_1 \rangle$ 表示由于热运动导致的细胞膜局部曲率的变化, ε 为相应的比例参数. 带入方程 (A8), 可得到

$$\begin{aligned} \langle \sigma_{rr}(R) \rangle &= 2\gamma (\langle \kappa \rangle + \varepsilon \langle \kappa_1 \rangle) = \\ 2\gamma \left(\frac{1}{H} + \varepsilon \nabla^2 h \right) &= 2\gamma \left(\frac{vR^2}{\Omega} + \varepsilon \nabla^2 h \right) \end{aligned} \quad (A9)$$

其中, H 为细胞膜的总体曲率半径. 细胞体积 $\Omega = vR^2H$, v 为细胞实际形状因子, H 为一特征高度, 表示伪足高度, 如图 9(a) 所示.

如果假定, 只在伪足处存在驱动应力, 并且在伪足尖端应力最大, 伪足后端最小为 0, 那么沿任意给定方向的应力梯度应为关于伪足宽度 b 的形式

$$\nabla \sigma = \frac{2\gamma}{b} \left(\frac{1}{H} + \varepsilon \nabla^2 h \right) \quad (A10)$$

由上式得到的驱动应力形式 (A10), 并结合连续性方程 (A3) 及方程 (A7), 可得到细胞铺展的膜厚方程如下

$$\frac{\partial h}{\partial t} + h^2 \frac{2\gamma}{b\eta} \left[\frac{vR(t)^2}{\Omega} + \varepsilon \nabla^2 h \right] \frac{\partial h}{\partial r} = 0 \quad (A11)$$

当 $\varepsilon \ll 1$ 时, 扩散项可忽略. 式 (A11) 与液滴在斜平面上的铺展形式类似^[60-61].

由于细胞铺展存在标度律, 将铺展半径写作以下形式 $R(t) \propto \Omega^{\frac{1}{3}} (t/T_0)^\alpha$, 其中 $T_0 = b\eta/\gamma$ 为特征铺展时间. 代入式 (31), 将膜厚方程可化简为

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial h}{\partial t} + h^2 \left(\frac{2\gamma}{b\eta} \right)^{2\alpha+1} \Omega^{-\frac{1}{3}} t^{2\alpha} \frac{\partial h}{\partial r} &= 0 \\ \frac{\partial h}{\partial t} + Bh^2 t^{2\alpha} \frac{\partial h}{\partial r} &= 0 \end{aligned} \right\} \quad (A12)$$

求解上述方程, 得到

$$h = \sqrt{\frac{B(R-r)}{t^{1+2\alpha}}} \quad (A13)$$

铺展半径 $R \propto h^{-\frac{1}{2}} \propto t^{\frac{1+2\alpha}{4}}$, 则 $(1+2\alpha)/4 = \alpha$, $\alpha = 1/2$. 即细胞以 1/2 的标度律形式铺展.

RESEARCH PROGRESS ON KINETICS OF CELL SPREADING¹⁾

Li Jianjun Zhao Yapu²⁾

(*State Key Laboratory of Nonlinear Mechanics, Institute of Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China*)

Abstract The interaction between cell and extracellular matrix (ECM) is essential in many cellular processes, such as cell migration, differentiation and apoptosis. As the first step of cell-ECM interaction, cell spreading has been widely investigated. In this review, the biological background of cell spreading process is first introduced, including a brief overview of involved genes and proteins. Polymerization force, adhesive force and membrane tension are introduced in a coherent framework of cell spreading dynamics from mechanics point of view. The existing physical and/or mechanical models are reviewed based on principles of either viscous flow of cells or mechanical equilibrium at cell periphery. We also discuss the modeling approaches, open questions, and potential opportunities of cell spreading dynamics.

Key words cell spreading, F-actin, focal adhesion, traction force, membrane tension, viscous flow

Received 18 April 2012, revised 14 August 2012.

1) The project was supported by the Key Research Program of the Chinese Academy of Sciences (KJZD-EW-M01) and the Instrument Developing Project of the Chinese Academy of Sciences (Y2010031).

2) E-mail: yzhao@imech.ac.cn