

肌动蛋白等与非肌细胞的功能活动、胚胎发育 及皮肤电位差的关系

——细胞的运动(三)

何 泽 涌

(山西医学院)

在肌细胞内肌动蛋白等机械化学蛋白,与肌细胞的收缩运动有关。在非肌细胞内,这些机械化学蛋白除了参与各种细胞所共有的细胞分裂活动外,还参与各种细胞特有的功能活动,如神经细胞释放神经递质、腺细胞释放分泌物、过敏时肥大细胞释放组胺、血凝块血小板的收缩等。在胚胎发育过程中器官的形态形成也与肌动蛋白等的作用有关。有些鱼类、两栖类、爬行类动物的皮肤颜色能明暗变化,也是由皮肤黑色素细胞内的肌动蛋白等的作用来控制的。本文举一些例子,说明非肌细胞内肌动蛋白、肌球蛋白与细胞的某些特有功能的关系;并由此说明非肌细胞内肌动蛋白、肌球蛋白的研究,不只是生物学的一个重要基础理论问题,而且是一个与医学,如:肝内胆汁郁积、过敏、针灸穴位良导点等机理研究有关的问题。

一、神经递质释放与肌动蛋白和肌球蛋白

兴奋由一个神经细胞轴突传向另一个神经细胞或效应细胞时,轴突末梢释放出神经递质。神经递质激动另一个神经细胞或效应细胞的细胞膜上的相应受体。神经冲动沿着轴突向末端传播,是通过轴突细胞膜去极化的传播。但轴突末端细胞膜(突触前膜)的去极化,究竟是通过什么机转使轴突末端内的神经递质释放出来的呢?

轴突末端又称作突触体(Synaptosome)。电镜观察,在突触体内有微丝与微管存在。测定

突触体的各种蛋白质的含量,其中12%是肌动蛋白,3.5%是肌球蛋白,7%是原肌球蛋白,27%是管蛋白。(过去有人曾把神经细胞中的肌动蛋白称作神经蛋白 Neurin,神经细胞中的肌球蛋白称作收缩蛋白 Stenin)。目前认为:轴突末端神经递质的释放是通过肌动蛋白、肌球蛋白的作用引起的。轴突末端的神经递质,被贮存在由一层膜构成的触突小泡内。肌球蛋白存在于触突小泡的表面,肌动蛋白微丝,则存在于突触前膜的内表面。当神经冲动到达突触前膜时,引起细胞膜上蛋白质的构形变化,离子导体与钠泵蛋白质出现一过性的构形变化,使 Na^+ 进入细胞内, K^+ 逸出细胞外,亦即引起细胞膜的去极化乃至反极化。同时也引起钙离子导体蛋白质的一过性的构形变化,使 Ca^{++} 进入细胞内。有ATP存在的情况下,进入的 Ca^{++} 对肌动蛋白、肌球蛋白的相互作用起启动作用,引起微丝收缩,使突触小泡接靠突触前膜,突触小泡膜与突触前膜相接处的蛋白质发生构形变化,相接处出现小孔,神经递质经小孔排出细胞外。因此,神经递质在轴突末端的释放,和肌肉的收缩一样,是耗能过程。电镜观察,轴突末端有线粒体存在。由其产生ATP,供给肌动蛋白肌球蛋白相互作用时所需能量。实验证明:培养突触体,以 K^+ 刺激释放神经递质。若在培养基中加细胞松软素B,破坏突触体的肌动蛋白微丝,则神经递质的释放就受到抑制。突触体还含有多量的微管,微管在此起什么作用,还不清楚。

二、腺细胞分泌机转与肌动蛋白丝、微管、刺激-分泌连结、肝细胞的胆汁排泄

作肾上腺的灌流实验,若灌流液中没有 Ca^{++} ,刺激支配肾上腺的交感神经时,它的末梢虽释放神经递质乙酰胆碱,但肾上腺髓质的嗜铬细胞并不能分泌肾上腺素。用放射性同位素 $^{45}\text{Ca}^{++}$ 加在灌流液中进行追踪观察,当乙酰胆碱作用于嗜铬细胞膜相应受体时, $^{45}\text{Ca}^{++}$ 进入嗜铬细胞内,从而引起细胞的分泌。电镜观察,不论是外分泌腺还是内分泌腺,在腺上皮细胞内都有肌动蛋白微丝及微管存在。因此,认为腺细胞的分泌机能与细胞内的肌动蛋白、肌球蛋白的相互作用有关。而 Ca^{++} ,正如在肌肉收缩时所起的作用一样,对腺细胞内的肌动蛋白、肌球蛋白相互作用起启动作用。亦即 Ca^{++} 对腺细胞的分泌起启动作用。

腺细胞内微丝,受 Ca^{++} 启动而收缩时,分泌物怎样释放出细胞外,目前还不清楚。根据不同实验结果,有以下不同假说:第一种认为,微丝的网隔在分泌物小泡与细胞膜之间,当 Ca^{++} 进入细胞内时,微丝收缩,于是微丝网出现空隙(图 1.1),结果分泌物小泡与细胞膜结合,释放出分泌物。支持这种假说的实验是,当用

细胞松软素 B 破坏胰岛乙细胞内的微丝时,胰岛素分泌量增多。第二种认为(图 1.2),分泌物小泡存在于微丝与细胞膜之间,当 Ca^{++} 进入细胞内,使微丝收缩,微丝如弹弓似的,把分泌物小泡弹向细胞膜。第三种认为(图 1.3),分泌物存在于细颈瓶样的细胞膜凹陷内,瓶颈外有微丝,当 Ca^{++} 进入细胞时,微丝收缩,把瓶颈拉宽,促使释放出分泌物。支持后二假说的实验较多,如:甲状腺被促甲状腺素刺激后分泌甲状腺素、腮腺受肾上腺素刺激后分泌淀粉酶、Reuber 肝癌(H-35)细胞用胰岛素等刺激后分泌酪氨酸氨基转移酶等,当这些腺细胞内的微丝被细胞松软素 B 破坏时,分泌受抑制。

神经递质或激素激动了腺细胞膜相应的受体后,怎么引起细胞外 Ca^{++} 进入细胞,这机转目前还不明确。乙酰胆碱或激素激动腺细胞膜上相应受体后,细胞膜的环化酶被激活使细胞内形成 cAMP 或 cGMP。关于 cAMP 或 cGMP 与分泌的关系,不同的实验结果不一样。有人作猫胰腺灌流实验,当以乙酰胆碱或促胰酶素刺激胰腺时,外分泌部细胞内 cAMP 增高,腺的分泌功能亦随之增高。但最近有人作豚鼠胰腺外分泌部培养实验,当以乙酰胆碱或促胰酶素刺激胰腺时,发现 cAMP 与分泌间并无关系,而是细胞内 cGMP 增高,随之出现分泌反应。目前认为 cAMP 或 cGMP 是腺细胞受刺激引起分泌反应的一个中间环节。cAMP 或 cGMP,是直接对细胞膜钙离子导体起作用,还是通过激活蛋白激酶或别的机转对细胞膜起作用,从而使细胞外的 Ca^{++} 进入细胞内,尚待研究。

不只是肌动蛋白微丝与腺细胞的分泌有关,微管与分泌也有关。用秋水仙碱破坏腺细胞内的微管,对分泌作用产生的效应,实验材料不同结果也不同。肝细胞分泌血浆蛋白、极低密度脂蛋白,胰岛 β 细胞分泌胰岛素,甲状腺分泌甲状腺素,肾上腺髓质分泌肾上腺素等,用秋水

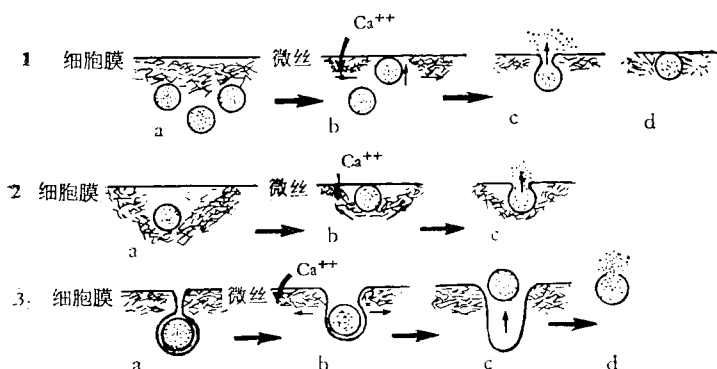


图 1 腺细胞分泌机转与肌动蛋白微丝关系的三种假说的模式图

1. a. 微丝隔开分泌物小泡与细胞膜 b. Ca^{++} 启动微丝收缩,微丝网层散开,分泌物小泡接近细胞膜。c. 分泌物小泡与膜接合后开口,释放分泌物。d. 微丝破坏,分泌物小泡接触细胞膜,非兴奋的分泌物释放。

2. 微丝起弹弓样的作用,微丝收缩,分泌物小泡弹向细胞膜。

3. 分泌物小泡盛在细胞膜的细颈瓶状凹陷内。微丝收缩,瓶颈样凹拉开扩大,分泌物小泡排出

仙硷破坏这些腺细胞的微管，都是起抑制分泌作用。但用秋水仙硷破坏微管后，胰岛 α 细胞膜高血糖素分泌反而增高。垂体前叶微管为秋水仙硷破坏后对促甲状腺素分泌没有显著影响。

当腺细胞受一定刺激，通过一系列中间过程，引起分泌物的排出。这种连结在刺激与分泌之间的中间过程，称作刺激-分泌连结(刺激-分泌耦联 Stimulus-Secretion Coupling)。目前对刺激-分泌连结，比对肌细胞的兴奋-收缩连结，了解差得多。参与刺激-分泌连结的有：cGMP或cAMP、微管、微丝、 Ca^{++} 等。 Ca^{++} 作用于腺细胞内的肌动蛋白、肌球蛋白，从而引起分泌物排出，这也许是一系列中间过程的末后一环节。腺细胞排出分泌物，和肌肉收缩一样，是需要ATP的耗能过程。

电镜观察，在正常胆小管中，肝细胞向管腔突出许多微绒毛。管的周围有微丝层。实验证明，若用细胞松软素B破坏微丝层，胆小管的微绒毛便消失，胆小管的管腔虽比正常增大，反而不能排泄胆汁。由此可见肝细胞排泄胆汁是依赖胆小管周围的肌动蛋白微丝的作用。肝细胞排泄胆汁可能与上述腺细胞的分泌有相似的机转。然而什么刺激促使胆汁分泌呢？从刺激到胆汁分泌有什么中间过程？目前还完全不了解。动物实验证明，当胆小管周围的微丝被细胞松软素B破坏时，可引起肝内胆汁郁积；胆小管周围微丝的功能障碍，可能是肝内胆汁郁积疾患的原因之一。

三、肥大细胞表面 IgE 与相应抗原结合时，细胞释放组胺的机转

组胺参与过敏反应。当肥大细胞表面 IgE 与相应抗原结合时，肥大细胞释放组胺。实验证明，若用细胞松软素B破坏肥大细胞内的微丝，这时肥大细胞表面 IgE 即使与相应抗原结合，也不能释放组胺。若用化合物 48/80(一种能使细胞膜 Ca^{++} 导体蛋白质构形变化，促使 Ca^{++} 进入细胞的物质)处理肥大细胞，使 Ca^{++} 进入细胞内，则表面 IgE 即使不与相应抗原结合，也能使肥大细胞释放组胺。但这时若加细胞松软

素B，破坏微丝，则释放组胺也即停止。这一系列实验说明：肥大细胞释放组胺是由于细胞内微丝的收缩，收缩是由于 Ca^{++} 的激发而引起的。细胞表面 IgE 与相应抗原结合，激动了细胞膜钙离子导体，使 Ca^{++} 进入细胞内，和腺细胞分泌机转相似在 ATP 存在的条件下，激发肌动蛋白微丝的收缩，使组胺颗粒被释放出。

四、吞食作用的机转与肌动蛋白、肌球蛋白

吞食作用包括：吞食细胞对吞食对象的识别、细胞伸出伪足包围被吞食的物质，消化被吞食物质等。这里只涉及细胞伸出伪足包围被吞食物质的机转与肌动蛋白等的关系。目前实验结果认为：兔子的巨食细胞及棘变形虫(Acanthamoeba castellanii)，在肌动蛋白、肌球蛋白的收缩机转中， Ca^{++} 不起控制作用。兔巨食细胞肌动蛋白激活肌球蛋白头 ATP 酶活性时，需要一种辅助因子(Cofactor，分子量 90,000 的蛋白质)。兔巨食细胞还有一种分子量约 270,000 的蛋白质，称作“肌动蛋白结合蛋白”(Actin Binding Protein，有人认为它与以前所述丝蛋白

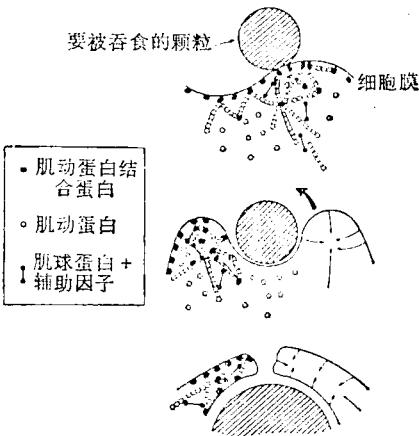


图 2 肌动蛋白、肌球蛋白等在吞食细胞吞食作用中的作用机转

a. 要被吞食的颗粒接触细胞膜相应受体时，于是受体激动附在细胞膜内面的“肌动蛋白结合蛋白”，引起其构形变化。变化后的肌动蛋白结合蛋白促使 G 肌动蛋白聚合为丝状的 F 肌动蛋白，并使其凝胶化。
b. 凝胶化的肌动蛋白(微丝)附着在细胞膜内面，它在附着因子协同下与肌球蛋白相互作用，引起收缩，使细胞膜皱褶(即形成伪足)，包围吞食的颗粒

可能是同一物)。“肌动蛋白结合蛋白”能促使G肌动蛋白聚合成F肌动蛋白,并使之凝胶化。根据以上巨食细胞内有关收缩的蛋白质的这种特点,对巨食细胞的吞食机转,最近提出一种假说,详见图2。

五、胚胎发育与肌动蛋白丝

各种器官的形成与细胞分化有关。胚胎发育时,平坦的内胚层、外胚层(上皮结构)一部分凸出来,形成腺体。需指出器官形成时,并不是形成无一定形态的分化了的细胞,而是胚层作凹下或凸出等运动,形成一定的器官形态。到底为什么会出现这种运动?器官形态形成的机转是什么?

胚胎发育初期,原始的神细胞(成神经细胞)是球形的,并没有细长的轴突,胚胎发育过程中,轴突逐渐长出来。试问神经细胞又是通过什么机转伸长出突起的?

鸡胚第五天的卵管,基本是管状,还没分化出能分泌蛋白的腺细胞。这时若给卵管以雌激素,则促使分化形成能分泌蛋白的卵管腺。未给雌激素前,卵管上皮细胞内没有肌动蛋白微丝。给雌激素12—18小时后,在将分化为卵管腺的上皮细胞内,邻近卵管管腔一侧出现微丝。24—30小时后,含有微丝的上皮细胞,向管周间充质凸出,形成卵管腺。给雌激素后36小时的卵管,若用细胞松软素B破坏细胞内的微丝,则已出现的卵管腺缩回到卵管壁。这时若除去细胞松软素B,则微丝又出现,随着上皮又向外凸出,形成卵管腺。实验说明:卵管腺自卵管壁凸出,即卵管腺的形态形成,依赖细胞内的肌动蛋白微丝。雌激素在此不仅引起细胞的分化,而且还促使细胞内出现形态形成所必需的肌动蛋白微丝。

唾液腺是口腔上皮经相邻间充质产生的蛋白质诱导形成的。口腔上皮开始分化成腺时,上皮细胞内出现肌动蛋白微丝。体外培养第13天小鼠胚胎的唾液腺,正常腺体形态呈分叶状。上皮细胞邻近腺腔一侧有环行的微丝,腺的叶状分叉逐渐增多。若在培养基中加细胞松软素

B,破坏细胞内的微丝,则18小时后腺的分叶形态消失,上皮变薄,腺呈泡状。若除去培养基中细胞松软素B,则24小时细胞内又出现微丝,腺的形态又逐渐恢复正常(图3)。

目前认为,胚胎发育时,腺从平坦的被复上皮凸出,形成一定的分叶状形态,是由于上皮细胞内肌动蛋白微丝的收缩作用(详见图4)。

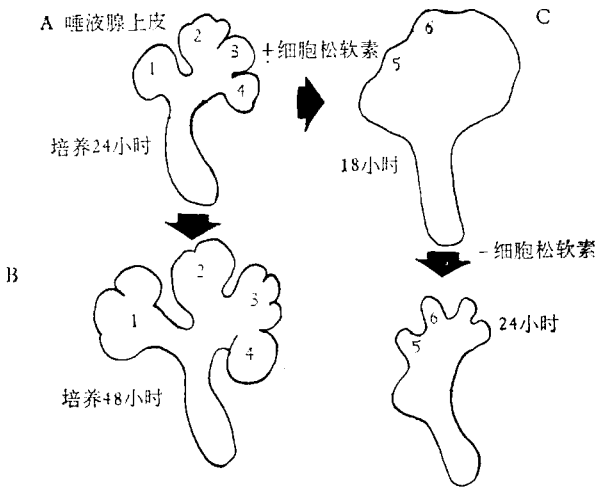


图3 唾液腺的形态形成与肌动蛋白丝的关系

- A、B: 唾液腺的正常形态形成。
- C: 加细胞松软素B破坏微丝后,腺的分叶形态消失。
- D: 除去细胞松软素B,腺的形态形成恢复

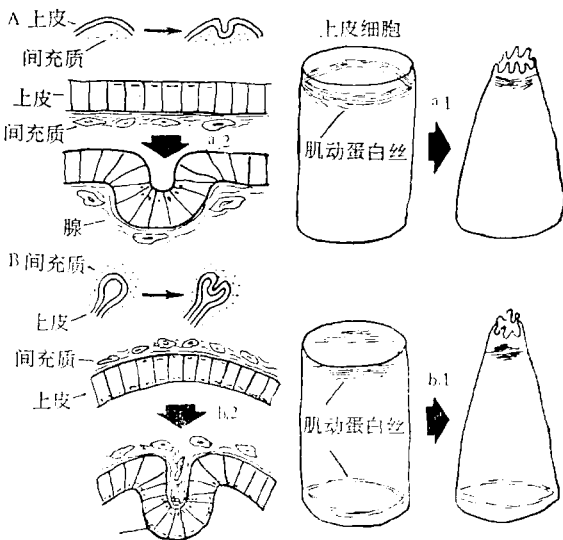
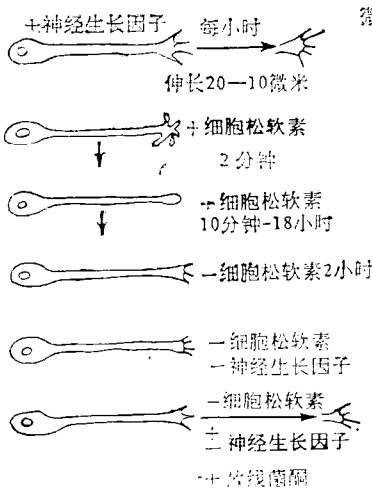


图4 腺的形态形成机转

- A: 上皮细胞靠近游离面的肌动蛋白丝收缩(a₁),导致上皮向间充质方向凸出(a₂)。
- B: 上皮细胞靠近基底部的肌动蛋白丝收缩(b₁),导致上皮向腺腔内凸出(b₂)

肌动蛋白丝与神经细胞轴突伸长的关系



微管与神经细胞轴突伸长的关系

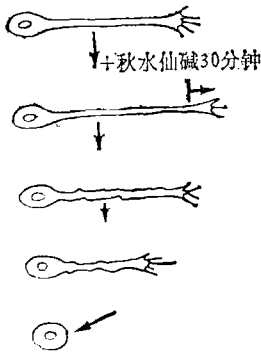


图5 神经细胞轴突的伸长与肌动蛋白丝及微管的关系

培养小鼠胚胎的脊神经节细胞,神经细胞轴突先端具有含有微丝的生长锥及微刺,在神经生长因子作用下,轴突以每小时20—40微米的速率伸长。若以细胞松弛素B破坏微丝,则微刺消失,生长锥变钝圆形,轴突停止伸长。若除去细胞松弛素B,则生长锥与微刺重新出现,轴突又恢复伸长。

若用秋水仙碱破坏轴突内的微管,则轴突逐渐缩短,最后全部消失

胚胎发育时,神经细胞伸出轴突是神经系统发生的重要环节。轴突伸长也靠肌动蛋白微丝的作用。(详见图5)根据这样的实验,认为轴突的伸长运动是靠生长锥微刺中肌动蛋白丝的作用;而微管则作为已经伸长了的轴突内的“骨骼”。

以上这些实验说明,胚胎发育时,器官的形态形成过程中,神经细胞轴突伸长过程中,肌动蛋白微丝起着重要的作用。不仅腺的形成如此,胚胎发育早期囊胚发育成原肠胚,外胚层视板凹陷成眼的晶状体泡等等,都是由于细胞内出现的肌动蛋白丝的作用而形成的。因此胚胎期有些生长快的非肌细胞,比肌细胞含有更多的肌动蛋白。至于为什么胚胎发育的一定时期,一定部位的细胞内出现肌动蛋白丝?引起细胞产生肌动蛋白丝的机制是怎样的?又通过什么机制使肌动蛋白丝收缩?这些都是胚胎学中要进一步研究的问题。

六、皮肤电位差与表皮上皮细胞内肌动蛋白丝、针灸穴位的良导点问题

蛙皮肤表皮的内外两侧之间有100毫伏左

右的电位差,称作皮肤电位。对皮肤电位形成的原因及影响电位差大小的因素,近几年才逐渐开始了解。皮肤电位的产生机制与细胞膜电位不同。膜电位中间只隔着一层细胞膜,而皮肤电位中间则隔着许多层活的细胞。因此要了解蛙皮肤电位差产生的机理,首先要了解蛙表皮的结构。蛙表皮分四层,自外而内为:角质层、颗粒层、棘层、生发层。各层上皮细胞之间有狭的细胞间隙;但角质层最表层上皮细胞之间没有间隙。用组织化学法,对各层上皮细胞膜上的钠泵进行定位,发现:除在角质层最表层细胞游离面的细胞膜、生发层向基底面的细胞膜及上皮细胞间相联结处外,各层上皮细胞向着细胞间隙的细胞膜上都有钠泵存在。颗粒层上皮细胞膜上的

钠泵尤其多。角质层上皮细胞游离面细胞膜有钠离子导体,钠离子可进入细胞内。这样使皮肤外表的 Na^+ 进入上皮细胞内,而后又由各层上皮细胞膜的钠泵,将 Na^+ 排入上皮细胞间隙内,而后通过细胞间隙向基膜排出。结果使 Na^+ 由皮肤外表向真皮方向流动。

使离体的活的蛙皮肤内外两侧分别和Ringer氏液接触,在皮肤两侧液内分别放置电极,中间连结电压表。这样测得皮肤两侧的电位差为60~120毫伏。若在皮肤两侧的Ringer氏液间另连结一电路,其中串连电池与电流表,调节此电路中电流量的大小,使皮肤两侧原有的电位差减少到零,这时所用的短路电流为35微安/厘米²。若用哇巴因抑制表皮上皮细胞膜的钠泵,短路电流便停止,亦即皮肤的导电性消失。若不加短路电流,用哇巴因抑制表皮上皮细胞膜的钠泵时,皮肤电位差也消失。这些实验说明:活的皮肤的导电性以及皮肤电位的产生,与表皮上皮细胞膜的钠泵功能有关,与 Na^+ 的自表皮外侧流向表皮内侧有关。

在表皮上皮细胞内有肌动蛋白微丝,错综成网或成束状分布在细胞内。在颗粒层上皮细

胞内,颗粒为微丝所包缠。若加细胞松软素B破坏微丝,这时细胞内颗粒减少,细胞膜变得染色较深,细胞间隙变窄。这时 Na^+ 的流动减少,皮肤电位亦随之下降。细胞松软素B破坏微丝引起皮肤电位下降的原因目前还不明了。一种假说认为可能微丝的收缩使细胞间隙变宽,从而便于 Na^+ 及水向间隙内输送。微丝被细胞松软素B破坏后,使细胞膨胀,细胞间隙变窄,从而影响 Na^+ 的输送,使皮肤电位下降。另一种假说认为:颗粒层细胞内的颗粒为微丝所隔,不能接触细胞膜,当微丝破坏后,颗粒能接触细胞膜,影响细胞膜上钠泵蛋白的构形,减缓或抑制其排钠,从而使皮肤电位下降。

若对蛙皮肤给以 Ca^{++} ,则表皮上皮细胞内微丝束呈弯曲状,细胞间隙变宽。这时皮肤电位亦增高。

这些实验说明:蛙皮肤电位差及其导电是依赖表皮自外而内的 Na^+ 运输。而 Na^+ 的运输与上皮细胞膜的钠泵有关。而钠泵的功能活动则又与上皮细胞的肌动蛋白微丝有关。即皮肤的电位差与表皮上皮细胞内肌动蛋白微丝有关。

哺乳动物的皮肤,包括人类的皮肤,虽也有角质层、颗粒层、棘层、生发层等结构,但和蛙皮肤结构有差异,人的皮肤有毛,有与蛙皮肤不同的各种皮肤腺。因此,功能上人的皮肤与蛙皮肤也有差异。在针灸穴位上有所谓良导点或敏感点,即内脏某部位有疾病时,体表皮肤某点,易于通过电流。由此而有所谓经络测定仪,测定皮肤的导电情况。至于对电流通过活的皮肤的机转及良导的机转则没有解释。过去认为,由皮脂腺(毛囊腺)通导电流,但没有涉及导电

的机转。不论是表皮本身,还是腺,都是由许多上皮细胞构成的。不能设想,活的多层细胞构成的上皮组织,如同金属体或其他元生命物质那样导电。哺乳动物、人类及活的上皮组织,电流是怎样通过的?活组织导电的大小受什么调节?哺乳类表皮上皮的细胞膜上是否也有钠泵?倘若有的话,是否体表的 Na^+ ,汗腺所分泌的汗液中的一部分 Na^+ ,也可通过上皮细胞膜钠泵的作用而进入真皮呢?钠泵的功能是否也受细胞内肌动蛋白微丝的影响?是否良导点是由以下原因形成的呢?即当身体某内脏有疾病时,通过神经在表皮某点释放神经递质,递质作用于表皮上皮细胞膜相应的受体,影响膜上的钙离子导体,使 Ca^{++} 进入细胞内; Ca^{++} 启动细胞内肌动蛋白微丝与肌球蛋白的相互作用,从而进一步影响细胞膜上的钠泵功能,改变皮肤电位成为良导点。但也不可能人皮肤的导电机转与蛙皮肤的完全不同。但不会如无生命物质那样导电的。蛙皮肤上皮组织的电位差的产生及其调节机转的研究,对人类皮肤导电及其调节机转的研究,对针灸穴位良导点的研究,乃至对良导络以及经络的研究可作参考。

(待续)

参 考 文 献

- [1] Blitz, A. L. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **71**, 4472, 1974.
- [2] Holden, D. A. et al.: *Fed. Proc.*, **35**, 1767, 1976.
- [3] Orr, T. S. C. et al.: *Nature*, **236**, 350, 1972.
- [4] Phillips, M. J. et al.: *Gastroenterology*, **69**, 48, 1975.
- [5] Pratley, J. N. et al.: *J. Cell Biol.*, **56**, 859, 1973.
- [6] Stossel, T. P.: *J. Reticuloendoth. Soc.*, **19**, 237, 1976.
- [7] Wessells, N. K. et al.: *Science*, **171**, 135, 1971.