PIBB 生物化学与生物物理进展
Progress in Biochemistry and Biophysics
2021，48（11）：1273~1281
www.pibb.ac.cn

隧道纳米管——一种新的细胞间连接*

孙艳丽[1,3)] Aleksey Yakovlev[2)] 刘丝丝[1)] 赵虎成[1)**] 冯西桥[1)]

（[1)] 清华大学航天航空学院工程力学系，生物力学与医学工程研究所，北京 100084；
[2)] *Department of Human and Animal Physiology Fundamental Medicine and Biology Faculty, Kazan Federal University, Kazan* 420008, Russia；
[3)] 新疆大学机械工程学院，乌鲁木齐 830046）

摘要 细胞间通讯和物质交换是多细胞生物发育、组织修复和细胞生存的重要环节. 最近发现细胞间存在隧道纳米管（tunneling nanotubes，TNTs）连接，并以此进行长距离通讯. TNTs是一种细胞间长距离的物理连接，能够在相连的细胞之间实现远程、定向的通讯. 研究表明，不同细胞间TNTs在结构、形成机制和功能特性上存在相当大的差异. 尽管这一新的研究领域取得了进展，但仍迫切需要进一步探索. 本文综述TNTs的结构形态特征、生物功能、形成机制及其在疾病传播和疾病治疗中的应用前景，并讨论由TNTs介导的电耦联的研究现状.

关键词 纳米隧道管，长距离连接，细胞间通讯，疾病治疗
中图分类号 Q26 **DOI**：10.16476/j.pibb.2020.0430

细胞间通讯在生物体、组织和器官重建、细胞分化、细胞分裂以及对外界刺激的响应都起着非常重要的作用[1-2]. 与细胞间通讯相关的基因或其表达产物异常都会引起疾病. 传统的细胞远距离通讯主要指细胞分泌的小分子化学物质通过远距离扩散并激活下游细胞上的受体来实现. 这些小分子分泌物包括含有神经递质的突触囊泡、外分泌体、激素等. 过去大量的研究显示细胞间直接接触可形成间隙连接（gap junctions，GJs）或者突触，这些连接通过对离子和水溶性小分子的转运介导细胞间电和代谢耦联，参与肌肉收缩、突触传递等生物学过程[3]. 2004年，Rustom等[4]在培养的肾上腺嗜铬细胞瘤细胞PC12首次发现存在TNTs连接. 他们的研究发现细胞间能形成一种长的桥梁——隧道纳米管（tunneling nanotubes，TNTs），且能够在相连的细胞间实现远程、定向的通讯. 随后，研究人员在T细胞、星形胶质细胞、肿瘤细胞等多种细胞中观察到了细胞间的TNTs[5]. 另外，在小鼠角膜、鸡胚胎神经嵴、人类间皮瘤细胞组织和活体上也观测到细胞间TNTs的存在[6-7]. TNTs的直径在20~500 nm范围内，长度为几个细胞的直径或更长，以单直线连接或成簇悬空形式存在[4]. 最近发现，悬浮T细胞间形成的膜纳米管还可以弯曲[8]. TNTs为瞬态结构，在T细胞间寿命从几分钟到一小时，在正常大鼠肾脏细胞可以维持到几个小时[8]. 此外，不同类型的细胞间也可以形成TNTs并进行通讯[5]. TNTs内除了细胞质外还含有细胞骨架成分，如肌动蛋白、微管蛋白和分子马达蛋白. 应用细胞松弛素B/D和Latrunculin B（红海海绵素B）等抑制肌动蛋白聚合，可以阻止TNTs形成[9]. TNTs与丝状伪足的区别在于其是一种与基底不接触的长距离细胞间连接[4]. 除了空间分布上的不同外，TNTs与丝状伪足的功能也不同. 丝状伪足作为一种重要的环境感受器在细胞迁移中起作用，TNTs为细胞间通讯的直接导管. 这一新的细胞间“纳米高速通讯公路”的发现，开启了对施莱登和施旺建立的学说的新认识[10].

TNTs作为一种细胞间长距离连接管道，可进行蛋白质、核酸、离子和小分子及细胞器的直接传

* 国家自然科学基金（12072176，12032014，11620101001，11772175，12011530059）资助项目.
** 通讯联系人.
Tel：010-62782771，E-mail：zhaohc@mail.tsinghua.edu.cn
收稿日期：2021-02-23，接受日期：2021-04-27

输. 最近的研究已经证实TNTs在胚胎形成和发育中起机械信号传递的作用，可作为从一个细胞向相连接细胞转移细胞成分的高效通路，进而促进细胞分化和重组[11-12]. TNTs也参与了细胞和组织的病理过程，最近的研究显示恶性肿瘤细胞与其周围的基质细胞之间形成TNTs可能促进肿瘤的发展、入侵和转移[13]. TNTs作为胞间细胞内容物的传播工具，通过运输疾病相关蛋白也会引起神经退行性疾病的快速发展. 此外，TNTs还可以在细胞之间转移病原微生物，包括细菌和病毒等. 因此，TNTs可加速疾病的传播与发展[14]. TNTs作为细胞间通讯的“高速公路”广受关注，有许多学者进行了大量的在体和体外实验来探究TNTs的特征和功能. 最近的研究还显示，TNTs可直接进行电信号传递，进而引起连接细胞间的电耦联. 本文将结合作者的工作综述TNTs的结构特点、形成机制、生物功能及其与疾病、健康之间的关系，并介绍TNTs介导的电耦联.

1 TNTs的形态、分类和形成机制

1.1 TNTs的形态

到目前为止，还没有发现TNTs特异性蛋白标记物. 对这些结构的识别主要基于形态特征和有无细胞骨架存在来判断. 在体外，TNTs与其他类型的细胞突起最明显的区别是相互连接的细胞对之间形成的桥式结构. 体外成像显示，TNTs的长度有很大的差异，不同细胞之间形成的TNTs长度也不同. 例如，T细胞间的TNTs的平均长度为22 μm[8]，而在PC12细胞间形成的TNTs的平均长度要短得多[4]. TNTs的长度可以随着连接的细胞迁移和它们之间的距离而发生变化，这表明TNTs的长度可以动态调节. 研究表明，一些细胞的TNTs寿命与细胞迁移速度呈负相关[8]. TNTs的形成不仅仅局限于一对细胞之间，也可在多个细胞间形成比较复杂的网络结构. 此外，TNTs对长时间的光刺激、机械应力和化学应力（如多聚甲醛）都很敏感，这些都将会导致它们的断裂，但TNTs对胰蛋白酶-EDTA的处理具有抵抗力，当细胞间隙过大时也会导致它们发生断裂[4].

透射电子显微镜分析表明，TNTs在PC12细胞中的直径为50~200 nm[4]，长度可达几个细胞的直径，T细胞之间形成的TNTs直径为180~380 nm[8]. 共聚焦显微镜观察显示，一些细胞之间TNTs的直径超过700 nm，而且在细胞间形成的TNTs中含有微管[15]. 研究发现细的纳米管富含F肌动蛋白细丝，而直径大于700 nm的TNTs中不仅含有F肌动蛋白，也包含微管[15]. 不同的TNTs具有不同的功能，一般较粗的TNTs结构能够实现以微管依赖的机制双向运输囊泡和各种细胞器.

大多数细胞间的TNTs富含F肌动蛋白，化学或药物解聚F肌动蛋白可以有效地抑制TNTs的形成，这表明F肌动蛋白参与了TNTs的形成[4]. 但一些研究发现，在未成熟的海马神经元和星形胶质细胞之间的TNTs中并不都含有F肌动蛋白，且缺乏F肌动蛋白的TNTs比含有F肌动蛋白的TNTs要长[16]. 除了F肌动蛋白，在少数细胞间形成的TNTs中也检测到微管，如免疫细胞之间[15]、原代神经元和星形胶质细胞之间[16]以及在肿瘤中血管的内皮细胞间[17]. 一般微管的弯曲刚度要比微丝高很多，因此，含有微管的TNTs将具有更强的刚度和寿命. 研究发现，跨膜蛋白和膜结合蛋白如神经钙黏素（N-cadherin）和β连环蛋白（β catenin）是在TNTs形成过程中识别和附着靶细胞所必需的[18]. Rab35-GTP、ACAP2、ARF6-GDP和EHP1参与了神经元间TNTs的形成，且EHP1是TNTs形成所必需的，Rab35可促进TNTs介导的囊泡转移[19]. 作为突触小泡标记物的突触小泡蛋白（synaptophysin）、肌球蛋白Myosin-X和MyoVa也都存在于PC12细胞和免疫细胞的TNTs中[4]. 在人前列腺癌DU145细胞间形成的TNTs中也检测到了α微管蛋白[20]. 在M细胞间形成的TNTs中发现了肌动蛋白M-sec，推测肌动蛋白M-sec参与了TNTs的形成，且M-sec蛋白和Ral、GTPase之间的相互作用对促进膜纳米管的形成至关重要[21]. 此外，肌球蛋白Myo10对TNTs的形成也发挥着重要作用[22]. 目前仍不清楚是否还有其他蛋白质参与了TNTs的形成、稳定维持和物质运输.

1.2 TNTs的分类

按照TNTs的形成、稳定性及细胞骨架成分的差异性可以将其分为两种类型：I型TNTs和II型TNTs[11]. 一般将含有肌动蛋白细丝的纳米管归类为I型TNTs，它们开始以丝状足形式向外延伸30 μm，当伪足与另一个细胞接触时，它们之间相连的TNTs就形成了. 这时，即使用细胞松弛素D分解肌动蛋白丝，该类膜纳米管仍能保持稳定. I型TNTs一般含有若干个管簇. II型TNTs一般含有角蛋白丝，它们由接触的细胞分离来形成. 在纳米管的形成初期，一些肌动蛋白仍然存在于纳米管的

入口处，随着纳米管的伸长，肌动蛋白逐渐消失，只剩下角蛋白丝，这类纳米管具有更高的力学性能，可以防止细胞迁移和外力作用而造成膜纳米管的断裂. II型TNTs的长度可达100 μm. 综上所述，I型TNTs比II型TNTs更短、更具有活力，而II型TNTs比I型TNTs更长、更稳定.

对于巨噬细胞之间形成的膜纳米管，按照它的粗细及组成不同也可将其分为两类：细纳米管和粗纳米管. 细纳米管一般富含F肌动蛋白细丝. 直径大于700 nm的较粗纳米管，它们不仅含有F肌动蛋白也包含微管. 这种结构上的不同使得不同类型TNTs具有不同的功能. 细菌和分子等可通过细TNTs进行运输[15]，细胞内囊泡、溶酶体和线粒体等可通过含有微管的粗TNTs进行运输[15]. 因此，对于巨噬细胞，不同结构类型的TNTs具有不同的功能特性.

1.3　TNTs的形成机制

TNTs的形成有多种机制，不同的细胞类型之间可以形成不同种类的TNTs. 长时程显微摄像显示TNTs通过两种不同的机制从头形成. 第一种TNTs形成机制是依赖于丝状伪足的延伸形成，其基础是参与细胞间接触的一个或两个细胞诱导丝状突起生长的能力，即通过富含细胞骨架纤维的丝状伪足向邻近细胞延伸形成细胞间桥连（图1，模式B和C）[23-24]，突起伸长之后建立接触和膜融合. 研究发现，在HeLa细胞伪足依赖型TNTs的形成中，可通过激活Ral-exocyst通路进一步刺激Fas信号通路，最后激活Rho GTPase促进伪足形成[21]. 第二种TNTs形成机制为细胞移位，这种情况多发生于免疫细胞（如巨噬细胞和T淋巴细胞）之间. 细胞首先接触，当接触的细胞彼此分离时，它们之间将出现桥状连接，细胞同时向相反的方向迁移，从而形成细胞间TNTs（图1，模式A）[23]. 以这种机制形成TNTs取决于细胞间的接触时间. 例如，T淋巴细胞之间短暂接触几分钟很难形成TNTs，增加细胞间接触时间可提高TNTs的形成率[8]. 目前还不清楚通过这两种机制形成的TNTs是否为不同的连接类型. 涉及肌动蛋白重塑、Ras GTPases、M-sec、Rab蛋白以及p53、EGFR等在不同的细胞环境中可促进TNTs的形成[21, 25-29].

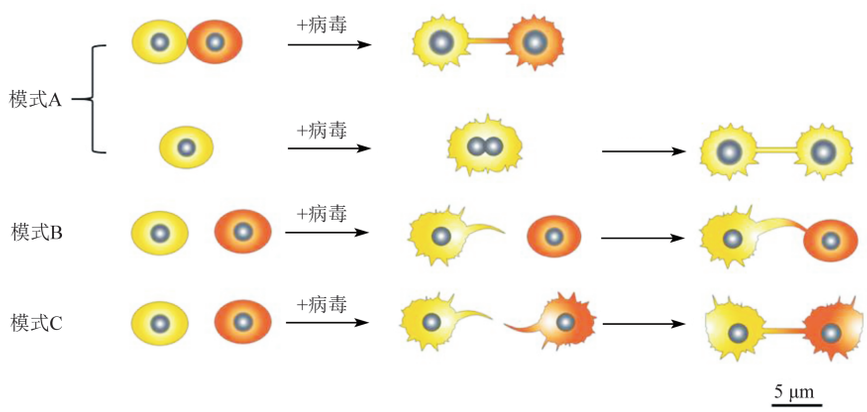

Fig. 1　Formation patterns of TNTs[30]

图1　TNTs的形成模式[30]

三对细胞通过三种不同的方式形成TNTs. 当两个相邻的子细胞分离时可形成TNTs（模式A）；当一个细胞的突起延伸到附近的细胞可形成TNTs（模式B）；对于不同的细胞间的两个突起随机相遇连接形成TNTs（模式C）.

2　TNTs的物质运输

细胞间通讯对于多细胞生物至关重要，没有细胞间的交流，组织和器官的重塑、发育、生长、细胞分裂和对刺激的反应等过程则难以进行. TNTs作为一种新的细胞间通讯方式，可使大分子、细胞器在细胞间转运[30-33]，也可以介导远距离细胞之间信号和成分的运输，并影响细胞的生物学功能. 首先，TNTs允许线粒体和囊泡的运输，这表明TNTs的内径足够大，可以运输这些细胞器. 研究发现，它们在TNTs中的传输是单向的，且不受外部渗透扩散的影响[2, 4]. TNTs也可以介导Ca^{2+}长距离传递，如视网膜周细胞依赖TNTs与局部神经血管偶联来协调相邻毛细血管之间的光诱发反应，去除

TNTs后将影响细胞间的Ca^{2+}传播，损伤血管流动和神经血管偶联[34]. 其次，病毒、朊病毒和蛋白质聚集体可通过TNTs进行运输，如病毒可从感染细胞通过TNTs传播到非感染细胞[35]. 感染细胞中的病毒包膜糖蛋白（Env）与靶细胞中的受体分子紧密结合，形成一座稳定的TNTs桥梁，然后病毒沿着丝状桥向目标细胞移动. 有证据表明，α突触核蛋白（α-synuclein）聚合体可通过TNTs有效地从供体细胞转移到受体细胞，α-synuclein聚合体在细胞间的传播有助于神经病理的发展[25]. 最后，TNTs还可以在细胞间传递化学信号，用荧光显微镜检测DU145细胞之间形成的TNTs，由于DU145细胞缺乏缝隙连接，细胞间的TNTs可能在这些细胞之间的化学信号传递中起着重要作用[20]. 与此同时，TNTs在自然界中代表着细菌交流的一种主要形式，比如TNTs可在枯草杆菌和大肠杆菌之间形成，为细胞之间物质交换提供一种途径[36]. 溶酶体也可通过TNTs在祖细胞和内皮细胞之间进行转移[37]. 此外，TNTs也成为细胞间microRNAs转移的途径，如在癌细胞和周围肿瘤微环境的正常细胞之间观察到microRNAs的转运[38].

3 TNTs、疾病与健康

TNTs在多种细胞和疾病中扮演着重要的角色，参与了生物体内发育过程、组织再生、病毒感染、病原体转移、干细胞分化以及神经退行性疾病和癌症的启动和发展等. 首先，TNTs为传播致病物质提供途径，它在癌症的发病机制中发挥着重要作用. TNTs在肿瘤细胞间可以进行小分子运输，从而加速疾病的传播，它可能导致肿瘤细胞对手术、放疗和化疗等治疗产生抗性[39]. 其次，膜纳米管的形成与病理、生理和不利的环境条件（如氧化应激）之间有直接联系. 研究发现在未感染的细胞中TNTs很少. 相反，在疾病组织中，TNTs的数量显著增加，如病毒感染、癌症、脊椎病和朊病毒感染等相关疾病的组织中有大量TNTs形成[14, 30, 39-45]. 在不同的癌细胞、间质细胞和癌细胞-间质细胞系之间可以形成TNTs，在膀胱癌RT4细胞和T24细胞之间可形成TNTs，促进这两种细胞间线粒体的运输，增加膀胱癌细胞的侵袭能力[46]. 在炎症条件下TNTs形成的数量会增加，如用单核细胞增多性李斯特氏菌和牛分枝杆菌感染细胞[47-48]. 在过氧化氢处理的星形胶质细胞和C6胶质瘤细胞中观察到TNTs数量的增加[8]. 用HIV感染淋巴细胞与巨噬细胞、在人恶性胸膜间皮瘤中，血清耗尽可以诱导TNTs的形成和囊泡、蛋白质和线粒体的双向转移[49]. 在正常的造血细胞和白血病细胞中形成大量的TNTs结构[50]. 最后，病毒可以通过TNTs进行有效传播，如朊病毒、阿尔茨海默病和帕金森病等可能与TNTs介导的扩散有关[51-53]. 朊病毒和α-synuclein等在神经元间通过TNTs进行传输[25, 53]. 研究已证实，在病理条件下，细胞间TNTs的数量会增加，并促进病毒在细胞间的传播. 且随着病毒浓度和感染时间的增加，含有TNTs的细胞数量和长TNTs的比例也随之增加[30]. 这表明病毒感染可以诱导细胞间TNTs的形成. 因此，抑制TNTs也可以阻止或减少多种疾病的扩散，比如HIV感染、帕金森病、多系统萎缩和自闭症等[14, 53-54]. 越来越多的证据支持TNTs和间隙连接在发育、免疫反应和疾病中的关键作用[55].

4 TNTs介导的电耦联

4.1 TNTs介导电耦联的特征

TNTs本质上是一种质膜包覆的肌动蛋白和细胞质圆管. 细胞质电导是膜的10^8倍[56]，因此细胞间电流可沿着TNTs中的细胞质传递. 利用力刺激的方式诱导细胞去极化，检测到力刺激引起的电流可通过TNTs在其连接细胞间进行传递[57]. 最近的实验发现，力学刺激可引起TNTs连接肾NRK细胞的电位依赖性染料DiBAC4的荧光强度变化，但非TNTs连接细胞无此变化[57]. 这一结果表明由力刺激引起的去极化直接由TNTs介导，而非由刺激引起的化学物质扩散来介导细胞间电信号传递. 应用双电极膜片钳记录发现NRK细胞间TNTs的电导为（566±129）pS[57]，TNTs可以进行双向非整流电信号传导. 多个TNTs连接的细胞间电导明显高于单个TNTs连接，表明多个TNTs可平行进行电信号的传导. TNTs的电导随其长度的增加而降低，表明电流通过TNTs是一种被动的传播. 60 μm长的TNTs的电导是10 μm长TNTs的1/10[57]. 可见，TNTs传递电信号的有效距离为几个细胞的直径. TNTs的电导还与其直径相关，直径越大，电导越大，传递的有效距离越远. TNTs的电导明显低于其他类型的细胞间连接，在NRK细胞上仅为丝状伪足/片状伪足（filopodia/lamellopodia）（（8.8±2.1）nS）的1/15[57].

4.2 TNTs与间隙连接协同介导细胞间电耦联

TNTs能介导细胞间的电耦联，表明在传递电信号时细胞间TNTs中的细胞质是连续的. 对TNTs

的结构分析发现大部分TNTs只有一端是与细胞相通的，另一端为含有Cx43的细胞膜（图2）. 目前在多种类型的细胞间发现Cx43插入TNTs的一端，而且TNTs介导的电耦联依赖GJs[58-59]. 膜片钳分析进一步揭示，TNTs电导具有电压依赖性，和已经鉴定的由Cx43构成的GJs电压依赖性是一致的[59]. GJs阻断剂甲氯灭酸（meclofenamic acid）可抑制PC12细胞间TNTs介导的电耦联. 在神经嵴细胞TNTs的电耦联效率与GJs的表达量呈正相关. 结合免疫共定位检测，发现未含有Cx43的TNTs一般不具有电耦联功能，只有表达Cx43的TNTs才具有电耦联. 这表明，TNTs介导的细胞间电耦联依赖于GJs. 单个Cx43通道的电导为61 pS，NRK细胞间TNTs最大电导为1.3 nS，提示在TNTs一端至少存在20个左右的Cx43. 是否所有含有Cx43的TNTs都可以介导电耦联，尚需进一步研究.

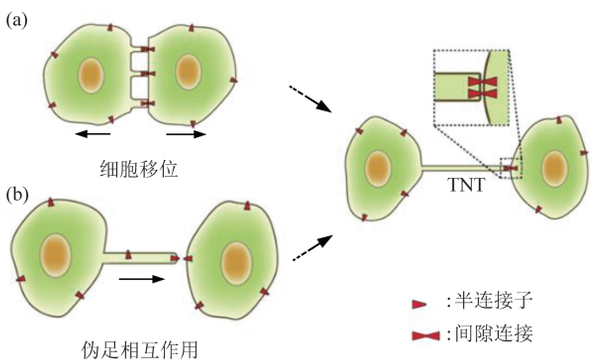

Fig. 2　The formation of TNTs with interposed gap junction channels[58]

图2　一端含有间隙连接的细胞间TNTs形成[58]

形成间隙连接的两个细胞分离时由拉伸形成一端含有间隙连接的TNTs（a）；含有半连接子的细胞突起与靶细胞含有半连接子部位接触形成一端含有间隙连接的TNTs（b）.

4.3　TNTs依赖的电耦联的高效与选择性

相比其他类型的细胞间通讯，TNTs协同GJs具有更大的优势. 和单纯的GJs相比，TNTs可进行100 μm左右的长距离电信号传递. 而且，多个细胞间可依赖GJs形成网络，因此，TNTs进行电信号传递较GJs更具有细胞选择性. 和通过分泌信号分子进行细胞间长距离的通讯相比，TNTs也更具有选择性和快速性（毫秒级别）. 与TNTs连接类似，在神经元间存在的电突触（electrical synapses）也可以进行长距离双向的电流传递. 电突触由轴突、树突构成长距离的膜管和GJs组成. TNTs与电突触在电信号传递效率方面存在差异. 轴突、树突的直径是TNTs的十倍以上，因此电阻明显偏小[60]. 另外，轴突产生动作电位以消耗能量的方式激活电压依赖性钠通道产生跳跃式的信号传播，而TNTs为被动传播. 因此，电突触可以进行长距离跨越组织和器官的电信号传递. 除了电信号传播方式的不同，通过TNTs与GJs之间的分子成分也不同. Cx43阳性的TNTs连接细胞间不能传递蓝色染料（blue dye，M=548 u），而蓝色染料可以在GJs连接的细胞间自由扩散[57]. 在一些细胞类型中钙离子不能通过Cx43阳性的TNTs连接[61]. Watkins等[62]发现髓系树突细胞或单核细胞间TNTs既可以通过染料也可以通过钙离子，这种传递是非GJs依赖型的. 研究表明，不同类型的细胞间形成不同特性的TNTs连接. TNTs可以传递细胞器，GJs不能.

4.4　TNTs电耦联成分的形成

目前尚不清楚连接子（connexons，Cx）是如何插入到TNTs连接的，但发现细胞移位时TNTs在Cx聚集部位形成. 因此，目前普遍认为Cx存在是TNTs电耦联的必需条件. 当接触的细胞移动远离时，TNTs在GJs锚着处形成，然后在GJs分解过程中一些类型的GJs保留下来，整合到形成的TNTs中. 支持该模型的证据是在NRK、胶质细胞中TNTs总是在Cx阳性的细胞间形成. 尽管GJs可以有效地进入TNTs，但依然有20% GJs阴性的TNTs可进行电耦联. 这种类型的TNTs在细胞远离时可能没有细胞间隙连接（GJs），或在TNTs起始形成阶段存在，随后Cx被内吞到连接细胞中[63]. 单独的Cx可能不足以提供足够的黏附力来拉伸细胞间接触点形成TNTs，结合在此位点的钙黏素（cadherins）可协同完成[64]. 细胞间如通过伪足延伸形成TNTs，Cx可能位于向外生长的伪足的尖端，最后与连接细胞接触部位的半连接子形成GJs. 尽管GJs对具有电耦联功能的TNTs有重要的调控作用，但不一定是必需的[65]. 在未表达Cx的PC12细胞间也能形成具有电耦联功能的TNTs连接. 到目前为止，主要发现Cx43存在于TNTs中，Cx其他成员也可能表达于TNTs[66]. 另外一个未解决的问题是功能异型的Cx通道是否存在于TNTs连接细胞，这可能为不同细胞间长距离信息交流提供可能.

4.5　TNTs的双重功能

表达有Cx的TNTs可在细胞间进行细胞器转运，已在多种细胞上得到证实. 在NRK细胞间至少

有80%的TNTs可以进行电耦联，50%的TNTs可以进行细胞器转运[58]. 这表明有的TNTs既可进行电耦联，也可进行细胞器转运. 细胞器是如何穿过TNTs末端的细胞膜呢？以下几种模型可以解释. a. 膜快速融合模型，当细胞器到达有膜的TNTs一端，TNTs末端的膜与受体细胞膜以快速的“kiss and run”分泌颗粒胞吐方式进行转运（图3a）[67]. 在PC12细胞间发现不导电的TNTs（一端存在细胞膜）可以转运细胞器，支持这一模型. 最近通过扫描电镜发现，存在两端都有连续膜的TNTs[68]，因此，推测可能通过瞬间膜融合来进行细胞器转运. b. 多囊泡体融合模型，该模型认为转运囊泡里有多个细胞器，囊泡在TNTs一端被释放，连接细胞以内吞的形式将其吸收（图3b）[58]. c. 吞噬模型，该模型是细胞器在TNTs一端被接触细胞直接吞噬（图3c）[69]. 这些模型需要进一步验证并揭示其机制.

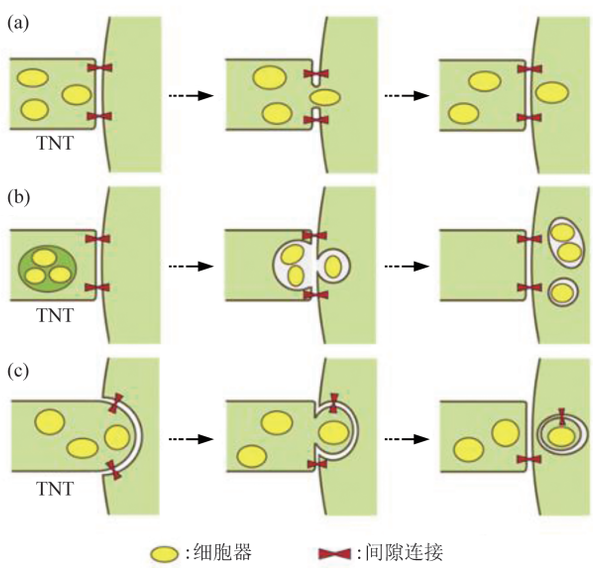

Fig. 3 Proposed models for the intercellular transfer of organelles *via* TNTs[58, 68-69]

图3 细胞器通过TNTs运输的模型[58, 68-69]

（a）膜快速融合模型：TNTs的前端与靶细胞质膜短暂融合使细胞器从TNTs运输到靶细胞；（b）多囊泡体融合模型：多囊泡体的膜与TNTs前端膜融合，释放细胞器，随后细胞器被靶细胞内吞；（c）吞噬模型：当TNTs附着在相邻细胞的质膜上时，会诱导其吞噬TNTs的末端的细胞器，细胞器以膜小泡的形式进入靶细胞.

4.6 TNTs电耦联的生理意义

跨膜电位可以调控细胞电压依赖型离子通道[28, 70]. 在HEK293细胞间已经发现TNTs电耦联可以激活受体细胞低电压敏感的钙通道（low voltage-gated calcium channels）. 这一发现提示TNTs介导的去极化也可能激活其他电压依赖型钙通道. 同样，TNTs介导的电耦联可以影响其他下游信号通路，包括调控小分子转运体的活性，电压敏感型磷酸酶的活性，磷脂酰肌醇激酶、蛋白激酶A[71-73]. 总之，长距离的电耦联可以启动各种化学信号进而影响细胞行为和功能.

5 总结与展望

尽管对膜纳米管的研究已经取得了一些进展，但仍有许多问题没有得到解答. 目前还没有发现特定的TNTs标志物，寻找特异性TNTs标志物将有助于我们了解纳米管的形成机制. 随着荧光显微镜和电子显微镜的发展，人们可以对不同类型细胞中TNTs的超微结构和成分有更多的了解，进而研究其是否与TNTs的各种功能有关，比如，TNTs通过传递一些分子信号，在许多病理和生理过程中发挥着重要的作用，而这些结果有助于了解TNTs是否在某些疾病的发生和发展中起一定作用.

细胞间TNTs探索还处于早期研究阶段，TNTs形成的机制和信号传递、TNTs的形态和详细的结构、TNTs的组成、TNTs的运输机制、TNTs如何消失、TNTs形成的生物标志物，以及这些因素如何与特定的细胞功能相关联，仍然是具有挑战性的问题，更好地理解这些问题可能会揭示疾病治疗的新靶点.

参 考 文 献

[1] Gurke S, Barroso J F V, Gerdes H H. The art of cellular communication: tunneling nanotubes bridge the divide. Histochem Cell Biol, 2008, **129**(5):539-550

[2] Gerdes H H, Bukoreshtliev N V, Barroso J F V. Tunneling nanotubes: a new route for the exchange of components between animal cells. FEBS Lett, 2007, **581**(11):2194-2201

[3] Khvotchev M, Kavalali E. Pharmacology of neurotransmitter release: measuring exocytosis// Südhof T C, Starke K. Pharmacology of Neurotransmitter Release. Switzerland: Springer, **2008**(184):23-43

[4] Rustom A, Saffrich R, Markovic I, *et al*. Nanotubular highways for intercellular organelle transport. Science, 2004, **303**(5660): 1007-1010

[5] Marzo L, Gousset K, Zurzolo C. Multifaceted roles of tunneling nanotubes in intercellular communication. Front Physiol, 2012, **3**:72

[6] Chinnery H R, Pearlman E, Mcmenamin P G. Cutting edge:

membrane nanotubes *in vivo*: a feature of MHC class II+ cells in the mouse cornea. J Immunol, 2008, **180**(9):5779-5783

[7] Lou E, Fujisawa S, Morozov A, *et al*. Tunneling nanotubes provide a unique conduit for intercellular transfer of cellular contents in human malignant pleural mesothelioma. PLoS One, 2012, **7**(3): e33093

[8] Sowinski S, Jolly C, Berninghausen O, *et al*. Membrane nanotubes physically connect T cells over long distances presenting a novel route for HIV-1 transmission. Nat Cell Biol, 2008, **10**(2):211-219

[9] Bukoreshtliev N V, Wang X, Hodneland E, *et al*. Selective block of tunneling nanotube (TNT) formation inhibits intercellular organelle transfer between PC12 cells. FEBS Lett, 2009, **583**(9): 1481-1488

[10] 孙毅霖. 试析施莱登与施旺创立细胞学说时对细胞生成的误解. 自然科学史研究, 2004, **23**(4):319-325
Sun Y L. Studies in the History of Natural Sciences, 2004, **23**(4): 319-325

[11] Veranič P, Lokar M, Schütz G J, *et al*. Different types of cell-to-cell connections mediated by nanotubular structures. Biophys J, 2008, **95**(9):4416-4425

[12] Hurtig J, Chiu D T, ONfelt B. Intercellular nanotubes: insights from imaging studies and beyond. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 2010, **2**(3):260-276

[13] Winkler F, Wick W. Harmful networks in the brain and beyond. Science, 2018, **359**(6380):1100-1101

[14] Gousset K, Schiff E, Langevin C, *et al*. Prions hijack tunnelling nanotubes for intercellular spread. Nat Cell Biol, 2009, **11**(3): 328-336

[15] Onfelt B, Nedvetzki S, Bennninger R K P, *et al*. Structurally distinct membrane nanotubes between human macrophages support long-distance vesicular traffic or surfing of bacteria. J Immunol, 2006, **177**(12):8476-8483

[16] Wang X, Bukoreshtliev N V, Gerdes H H. Developing neurons form transient nanotubes facilitating electrical coupling and calcium signaling with distant astrocytes. PLoS One, 2012, **7**(10): e47429

[17] Mineo M, Garfield S H, Taverna S, *et al*. Exosomes released by K562 chronic myeloid leukemia cells promote angiogenesis in a src-dependent fashion. Angiogenesis, 2012, **15**(1):33-45

[18] Lokar M, Iglic A, Veranic P. Protruding membrane nanotubes: attachment of tubular protrusions to adjacent cells by several anchoring junctions. Protoplasma, 2010, **246**:81-87

[19] Bhat S, Ljubojevic N, Zhu S, *et al*. Rab35 and its effectors promote formation of tunneling nanotubes in neuronal cells. Sci Rep, 2020, **10**(1):16803

[20] Vidulescu C, Clejan S, O'Connor K C. Vesicle traffic through intercellular bridges in DU145 human prostate cancer cells. J Cell Mol Med, 2004, **8**(3):388-396

[21] Hase K, Kimura S, Takatsu H, *et al*. M-Sec promotes membrane nanotube formation by interacting with Ral and the exocyst complex. Nat Cell Biol, 2010, **11**(12):1427-1432

[22] Gousset K, Marzo L, Commere P H, *et al*. Myo10 is a key regulator of TNT formation in neuronal cells. J Cell Sci, 2013, **126**(19): 4424-4435

[23] Delage E, Cervantes D C, Pénard E, *et al*. Differential identity of filopodia and tunneling nanotubes revealed by the opposite functions of actin regulatory complexes. Sci Rep, 2016, **6**:39632

[24] Korenkova O, Pepe A, Zurzolo C. Fine intercellular connections in development: TNTs, cytonemes, or intercellular bridges?. Cell Stress, 2020, **4**(2):30-43

[25] Abounit S, Bousset L, Loria F, *et al*. Tunneling nanotubes spread fibrillar α-synuclein by intercellular trafficking of lysosomes. EMBO J, 2016, **35**(19):2120-2138

[26] Wang Y, Cui J, Sun X, *et al*. Tunneling-nanotube development in astrocytes depends on p53 activation. Cell Death Differ, 2011, **18**(4):732-742

[27] Zhu S, Bhat S, Syan S, *et al*. Rab11a-Rab8a cascade regulate the formation of tunneling nanotubes through vesicle recycling. J Cell Sci, 2018, **131**(19):jcs.215889

[28] Mattes B, Dang Y, Greicius G, *et al*. Wnt/PCP controls spreading of Wnt/β-catenin signals by cytonemes in vertebrates. Elife, 2018, **7**:e36953

[29] Vargas J Y, Loria F, Wu Y J, *et al*. The Wnt/Ca^{2+} pathway is involved in interneuronal communication mediated by tunneling nanotubes. EMBO J, 2019, **38**(23):e101230

[30] Xiao M, Xu N, Wang C, *et al*. Dynamic monitoring of membrane nanotubes formation induced by vaccinia virus on a high throughput microfluidic chip. Sci Rep, 2017, **7**:44835

[31] Abounit S, Wu J W, Victoria G S, *et al*. Tunneling nanotubes: a possible highway in the spreading of tau and other prion-like proteins in neurodegenerative diseases. Prion, 2016, **10**(5): 344-351

[32] Vignais M L, Caicedo A, Brondello J M, *et al*. Cell connections by tunneling nanotubes: effects of mitochondrial trafficking on target cell metabolism, homeostasis, and response to therapy. Stem Cells Int, 2017, **2017**:6917941

[33] Hekmatshoar Y, Nakhle J, Galloni M, *et al*. The role of metabolism and tunneling nanotube-mediated intercellular mitochondria exchange in cancer drug resistance. Biochem J, 2018, **475**(14): 2305-2328

[34] Alarcon-Martinez L, Villafranca-Baughman D, Quintero H, *et al*. Interpericyte tunnelling nanotubes regulate neurovascular coupling. Nature, 2020, **585**(7823):91-95

[35] Sherer N M, Lehmann M J, Jimenez-Soto L F, *et al*. Retroviruses can establish filopodial bridges for efficient cell-to-cell transmission. Nat Cell Biol, 2007, **9**(3):310-315

[36] Dubey G P, Ben-Yehuda S. Intercellular nanotubes mediate bacterial communication. Cell, 2011, **144**(4):590-600

[37] Yasuda K, Khandare A, Burianovskyy L, *et al*. Tunneling nanotubes mediate rescue of prematurely senescent endothelial cells by endothelial progenitors: exchange of lysosomal pool. Aging, 2011, **3**(6):597-608

[38] Thayanithy V, Dickson E L, Steer C, *et al*. Tumor-stromal cross talk: direct cell-to-cell transfer of oncogenic microRNAs *via*

tunneling nanotubes. Transl Res, 2014, **164**(5):359-365

[39] Cargnin S T, Vieira P D B, Cibulski S, *et al*. Anti-trichomonas vaginalis activity of hypericum polyanthemum extract obtained by supercritical fluid extraction and isolated compounds. Parasitol Int, 2013, **62**(2):112-117

[40] Eugenin E A, Gaskill P J, Berman J W. Tunneling nanotubes (TNT): a potential mechanism for intercellular HIV trafficking. Commun Integr Biol, 2009, **2**(3):243-244

[41] Abounit S, Zurzolo C. Wiring through tunneling nanotubes—from electrical signals to organelle transfer. J Cell Sci, 2012, **125**(5): 1089-1098

[42] Gerdes H H, Rustom A, Wang X. Tunneling nanotubes, an emerging intercellular communication route in development. Mech Dev, 2013, **130**(6-8):381-387

[43] Ady J W, Desir S, Thayanithy V, *et al*. Intercellular communication in malignant pleural mesothelioma: properties of tunneling nanotubes. Front Physiol, 2014, **5**:400

[44] Desir S, Dickson E L, Vogel R I, *et al*. Tunneling nanotube formation is stimulated by hypoxia in ovarian cancer cells. Oncotarget, 2016, **7**(28):43150-43161

[45] Osswald M, Jung E, Wick W, *et al*. Tunneling nanotube-like structures in brain tumors. Cancer Rep, 2019, **2**:e1181

[46] Lu J, Xheng X, Li F, *et al*. Tunneling nanotubes promote intercellular mitochondria transfer followed by increased invasiveness in bladder cancer cells. Oncotarget, 2017, **8**(9): 15539-15552

[47] Dramsi S, Cossart P. Intracellular pathogens and the actin cytoskeleton. Annual Rev Cell Dev Biol, 1998, **14**:137-166

[48] Wehland J, Carl U D. The sophisticated survival strategies of the pathogen *Listeria* monocytogenes. Int Microbiol, 1998, **1**(1):11-18

[49] Hashimoto M, Bhuyan F, Hiyoshi M, *et al*. Potential role of the formation of tunneling nanotubes in HIV-1 spread in macrophages. J Immunol, 2016, **196**(4):1832-1841

[50] Polak R, de Rooij B, Pieters R, *et al*. B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia cells use tunneling nanotubes to orchestrate their microenvironment. Blood, 2015, **126**(21): 2404-2414

[51] Delage E, Zurzolo C. Exploring the role of lipids in intercellular conduits: breakthroughs in the pipeline. Front Plant Sci, 2013, **4**:504

[52] Antanavičiūtė I, Šimatonis L, Ulčinas O, *et al*. Femtosecond laser micro-machined polyimide films for cell scaffold applications. J Tissue Eng Regen Med, 2018, **12**(2):e760-e773

[53] Abounit S, Delage E, Zurzolo C. Identification and characterization of tunneling nanotubes for intercellular trafficking. Curr Protoc Cell Biol, 2015, **67**:12.10.1-12.10.21

[54] Costanzo M, Abounit S, Marzo L, *et al*. Transfer of polyglutamine aggregates in neuronal cells occurs in tunneling nanotubes. J Cell Sci, 2013, **126**(16):3678-3685

[55] Dupont M, Souriant S, Lugo-Villarino G, *et al*. Tunneling nanotubes: intimate communication between myeloid cells. Front Immunol, 2018, **9**:43

[56] Jackson M B. Molecular and Cellular Biophysics. London: Cambridge University Press, 2007:512

[57] Wang X, Veruki M L, Bukoreshtliev N V, *et al*. Animal cells connected by nanotubes can be electrically coupled through interposed gap-junction channels. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, **107**(40):17194-17199

[58] Wang X, Gerdes H H. Long-distance electrical coupling *via* tunneling nanotubes. Biochim Biophys Acta, 2012, **1818**(8):2082-2086

[59] González D, Gómez-Hernández J M, Barrio L C. Molecular basis of voltage dependence of connexin channels: an integrative appraisal. Prog Biophys Mol Biol, 2007, **94**(1-2):66-106

[60] Valiunas V, Bukauskas F F, Weingart R. Conductances and selective permeability of connexin43 gap junction channels examined in neonatal rat heart cells. Circ Res, 1997, **80**(5):708-719

[61] Smith I F, Shuai J, Parker I. Active generation and propagation of Ca^{2+} signals within tunneling membrane nanotubes. Biophys J, 2011, **100**(8):L37-L39

[62] Watkins S C, Salter R D. Functional connectivity between immune cells mediated by tunneling nanotubules. Immunity, 2005, **23**(3): 309-318

[63] Berthoud V M, Minogue P J, Laing J G, *et al*. Pathways for degradation of connexins and gap junctions. Cardiovasc Res, 2004, **62**(2):256-267

[64] Prochnow N, Dermietzel R. Connexons and cell adhesion: a romantic phase. Histochem Cell Biol, 2008, **130**(1):71-77

[65] Pascoal P, Kosanic D, Gjoni M, *et al*. Membrane nanotubes drawn by optical tweezers transmit electrical signals between mammalian cells over long distances. Lab Chip, 2010, **10**(17): 2235-2241

[66] Laird D W. Life cycle of connexins in health and disease. Biochem J, 2006, **394**(3):527-543

[67] Burgoyne R D, Morgan A. Secretory granule exocytosis. Physiol Rev, 2003, **83**(2):581-632

[68] Miyazawa K, Emmerling K, Manuelidis L. Proliferative arrest of neural cells induces prion protein synthesis, nanotube formation, and cell-to-cell contacts. J Cell Biochem, 2010, **111**(1):239-247

[69] Piehl M, Lehmann C, Gumpert A, *et al*. Internalization of large double-membrane intercellular vesicles by a clathrin-dependent endocytic process. Mol Biol Cell, 2007, **18**(2):337-347

[70] Swartz K J. Sensing voltage across lipid membranes. Nature, 2008, **456**(7224):891-897

[71] Murata Y, Iwasaki H, Sasaki M, *et al*. Phosphoinositide phosphatase activity coupled to an intrinsic voltage sensor. Nature, 2005, **435**(7046):1239-1243

[72] Zhao M, Song B, Pu J, *et al*. Electrical signals control wound healing through phosphatidylinositol-3-OH kinase-γ and PTEN. Nature, 2006, **442**(7101):457-460

[73] Zhang C, Xiong W, Zheng H, *et al*. Calcium- and dynamin-independent endocytosis in dorsal root ganglion neurons. Neuron, 2004, **42**(2):225-236

Tunneling Nanotubes—A New Form of Intercellular Junction*

SUN Yan-Li[1,3], Yakovlev Aleksey[2], LIU Si-Si[1], ZHAO Hu-Cheng[1]**, FENG Xi-Qiao[1]

([1]*Institute of Biomechanics and Medical Engineering, Department of Engineering Mechanics, School of Acrospace Engineering, Tsinghua University, Beijing* 100084, China;

[2]*Department of Human and Animal Physiology Fundamental Medicine and Biology Faculty, Kazan Federal University, Kazan* 420008, Russia;

[3]*School of Mechanical Engineering, Xinjiang University, Urumqi* 830046, China)

Abstract Cell-to-cell communication is essential for the organization, coordination and development of multicellular systems. Intercellular communication and substance exchange are important links in the development, tissue repair and cell survival of multicellular organisms. Recently, it has been found that tunneling nanotubes (TNTs) connections are formed between cells for long-distance communication. TNTs are long cytoplasmic bridges that enable long-range, directed communication between connected cells. The proposed functions of TNTs are diverse and not well understood. It has been shown to include that there are considerable differences in the structure, formation process and functional properties of TNTs in cells of different types. Recent progress has been made in this new research field. However, the exact role of TNTs for intercellular communication and their impact on diseases are still uncertain, further research is urgently needed. The combined data from numerous laboratories indicate that some TNTs mediate a long-range communication to coordinate metabolism and signaling. This paper aims to describe the structure, morphology, characteristics and function of TNTs, the formation mechanism of TNTs and the application prospect of TNTs in disease transmission and disease treatment, and discusses the research advances of TNTs-mediated electrical coupling.

Key words tunneling nanotubes, long-distance connection, intercellular communication, disease treatment

DOI：10.16476/j.pibb.2020.0430

---

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China（12072176，12032014，11620101001，11772175，12011530059）.

** Corresponding author.

Tel：86-10-62782771，E-mail：zhaohc@mail.tsinghua.edu.cn

Received：February 23，2021 Accepted：April 27，2021