

电刺激促进细胞迁移及其在医学领域的应用*

梁珊珊¹ 罗薛峰¹ 范平¹ 白怀^{1,2}

生物电现象是生命活动的基本属性,机体的一切生活活动中都伴随着生物电的产生。例如在神经管发育、上皮伤口部位和肿瘤细胞表面均有电位差产生。内源性生物电场不仅在生物体形态发生和生长等生理过程具有重要作用,而且参与了机体重要的病理过程,如创伤愈合、组织再生和肿瘤侵蚀等。实验研究显示生理强度电刺激对多种细胞的细胞迁移等行为可产生重要影响。近年国内外学者对电场影响细胞迁移的机制进行了不断地探索,以期利用电场的生物学效应为一些临床疾病的治疗和诊断提供新的策略^[1]。本文就生理强度的电刺激对细胞迁移的影响及其在医学领域中的应用进展作一综述。

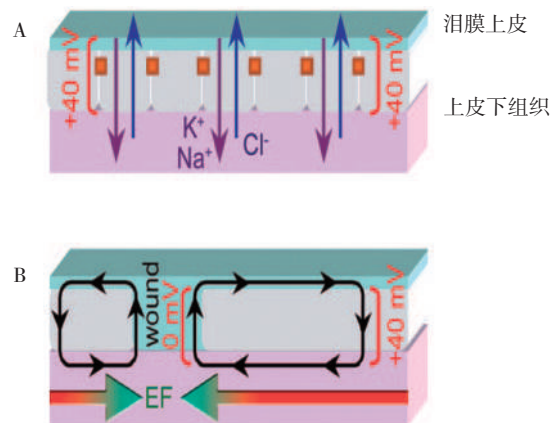
1 生理性电场的产生

细胞膜两侧存在的阴阳离子的流动,可产生电压梯度,形成跨细胞电势差。当某些生理或病理事件影响组织细胞的结构或电阻变化,即可改变原有的电势差,引起离子跨膜流动,产生生理性电场^[2]。

角膜损伤模型是分析组织损伤后产生生理性电场的理想模型^[3]。正常情况下,角膜上皮外层细胞紧密连接形成电阻屏障。完整的哺乳动物角膜上皮 Na^+ 和 K^+ 内流,而 Cl^- 外流,跨角膜的电荷分隔形成了跨角膜电势差(transcorneal potential difference, TCPD)^[4]。局部角膜的损伤使紧密连接出现破口,局部形成短路,损伤处TCPD降至0。距离损伤处0.5—1mm的角膜组织TCPD仍为正常,从而在损伤处侧面形成离子流,如图1所示。Song等研究证实,上皮细胞向创口的迁移,上皮细胞增殖、轴向分裂,向创口边缘的神经芽生都受到损伤局部产生的生理性电场调控^[2,5-6]。

研究证实,胚胎发育过程中生理性电场起源于胚胎上皮细胞将 Na^+ 泵入细胞内而产生的离子流^[7]。由于跨上皮电势差的存在,上皮细胞层能使离子跨过上皮层自身,产生离子流跨上皮细胞前流,然后经细胞间低电阻区回流。这种内源性电场矢量方向与胚胎的主轴一致,不同部位跨上皮电势差不一样,其电场强度和电流密度也不一样,正常发育的迁移中胚胎细胞均处于胚胎电场的包围中^[7]。

图1 角膜上皮细胞损伤处产生生理性电流(McCaig等^[2])



注:A.完整的角膜上 Na^+ 和 K^+ 内流,而 Cl^- 外流,跨角膜的电荷分隔形成跨角膜电势差;B.局部损伤处跨角膜电势差为0,而远处角膜组织TCPD仍为正常,从而在损伤处侧面形成离子流。

2 电刺激与细胞迁移

2.1 细胞迁移

细胞迁移指的是细胞在接收到迁移信号或感受到某些物质的浓度梯度后而产生的移动。迁移过程中细胞不断重复着向前方伸出突足,然后牵拉胞体。而电场中细胞定向迁移就是电场作用下细胞趋向于阳极或阴极的运动^[8]。

2.2 电刺激对细胞形态的影响

Nishimura等^[9]发现当细胞暴露于电场中时,在与电场平行的方向,面向阴极侧和阳极侧的突起同时回缩,故在电场方向细胞外径缩短;在与电场垂直的方向,突起出现延伸或发出新的突起,这两种方向的矢量和可使细胞形状变得狭长,细胞长轴按垂直于电场方向排列。McCaig CD^[10]研究发现,在未处理的角膜创伤处产生了它们自身的内源性电场,有丝分裂纺锤体与电场的方向大致平行,分裂的方向与电场方向垂直。

2.3 电刺激对细胞迁移的影响

外加电场可以影响细胞的定向迁移,这种作用是与细胞

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2012.08.024

*基金项目:国家自然科学基金资助项目(30872774)

1 四川大学华西第二医院遗传代谢性疾病及围生医学实验室,成都,610041; 2 通讯作者

作者简介:梁珊珊,女,硕士;收稿日期:2011-10-14

生长相关的一种主动行为,而不是细胞在电场作用下的被动的泳动^[11]。多种细胞在电场中具有明显的定向迁移性,但不同种类的细胞在电场中迁移的方向有所不同。例如,在外加直流电场中人脐静脉内皮细胞、人成纤维细胞、人平滑肌细胞、人角膜内皮细胞等向正极迁移,而人皮肤微血管内皮细胞、人神经脊细胞、人角膜上皮细胞、人视网膜色素细胞、牛主动脉内皮细胞等向负极迁移,也有少数细胞在直流电场中无明显迁移,如皮肤黑色素细胞等^[1,12-13]。此外,晶状体上皮细胞在直流电场中可以向正极迁移,也可以向负极迁移,这取决外加电场的强度大小^[14]。

关于细胞在直流微电场中定向迁移的机制,迄今尚未阐明。一些特定细胞的实验结果显示,可能与细胞在电场作用下其胞膜生长因子受体发生重新分布有关,电场刺激可促使胞膜表面一些生长因子受体表达和分布发生改变,如在电场中,表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)和转化生长因子 β (transforming growth factor beta, TGF β)受体聚集在角膜上皮细胞迁移方向的前缘(阴极侧),进而活化其下游的信号通路,促进细胞发生定向移动^[15-16]。不同细胞受到电场刺激后其胞内活化的信号通路有所不同,主要包括丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)/细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)1/2、蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)、蛋白激酶C(Protein kinase C, PKC)、磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI-3K)、Rho GTP 酶(rac1, rhoA, cdc42)等信号通路分子的激活,Zhao等近年发现PI3K γ 和人第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)的活化为细胞迁移和伤口愈合的重要机制^[17]。

3 医学领域的应用

3.1 在组织损伤修复方面

电刺激在皮肤伤口愈合、神经肌肉修复、伤痛控制和骨的愈合等过程中发挥着重要的作用^[18]。

3.1.1 创伤的愈合:目前研究^[19-20]发现内源性电场是创伤愈合的重要条件。完全随机对照研究结果显示电刺激可有效促进慢性伤口的愈合^[18]。组织损伤后伤口及其附近上皮存在的损伤电流场源是一种稳恒直流电场,具有促使损伤愈合等生物学效应^[21]。伤口附近上皮细胞离子流动产生的电信号,可持续数个小时,这种信号可作用于伤口边缘500 μm —1mm范围内的不同细胞,促进表皮再生^[10]。研究认为,电场在伤口愈合中作为最主要的诱导细胞迁移的因素,其作用远远超过预期^[17,22]。Ojingwa等^[18]的研究发现,在新生的人类角质形成细胞伤口模型上,当其暴露于100mV/mm的直流电场

时,与对照相比,实验组细胞迁移的速度要明显高于对照组细胞。

已经明确,创伤的愈合与电场关系紧密,但伤口的愈合速度往往并不随着局部电场强度的增大而加快,这可能是因为在健康个体自然选择使得细胞应答机制已达到最适,但是如存在某种疾病状态下出现损伤电流,在伤口附近增加局部电场可加快创伤愈合速度^[9]。Nuccitelli^[20]在用电场刺激哺乳动物伤口愈合的临床试验中,发现了愈合比率可显著增加达13%—50%。

3.1.2 神经修复:既往的研究显示,电刺激能促进神经的再生功能。近年,直流微电场应用于神经修复再生领域的探索,延续了过去的研究发现。在中枢神经部位,两栖动物神经发育活跃阶段,在其神经管表面可记录到100mV/mm的恒定电场,而在脑组织病理状态,如局灶性癫痫、局部脑缺血及创伤性脑损伤等也有约50mV/mm的电场存在,这些内生性电场可能是影响脑组织的行为和功能的重要信号。Yao^[23]等近年研究发现,神经元和神经节样的中枢海马细胞在电场中可发生定向排列和定向运动,后者的发生机制与神经轴突、微管相关蛋白(microtubule-associated protein, MAP-2)、高尔基体以及中心体向负极侧不对称排列有关,提示微电场可能参与调控神经前体细胞轴向分裂以及引导神经元定向迁移而与早期脑发育过程有关。此外,另一项研究发现^[24],人类胚胎干细胞来源的神经干细胞受电场(16mV/mm)的刺激可发生向负极的定向迁移,提示外加电场可能有助于引导人神经干细胞移行到中枢神经系统损伤区域,以改善多种神经系统相关疾病的结局。

电场对周围神经修复再生的作用,过去的很多实验已经获得了肯定的结果。Singh等^[25]近年利用外加电场对小鼠坐骨神经横断损伤处加以刺激,观察了数个与神经再生相关指标,发现其相关指标改善的幅度可高达30%—50%:如促进横断面轴索以及相伴的雪旺细胞的再生长、促进横断面区域的缝隙处再生神经纤维的成熟、促进神经轴索进入到其支配肌肉和皮下靶区域等;此外,在体外实验还发现,与上述相同大小的外加电场对培养的成体感觉神经元可促进其神经轴索的生长。这些实验结果支持外加电场可显著促进外周神经损伤的再生作用,并支持电刺激对特异性神经元损伤性应答反应进行再编程,而避免神经元发生损伤的假说。此外,Koppes等^[26]近年对体外原代培养的新生大鼠背根神经节神经元和雪旺细胞受外加电场的作用进行了研究,发现当用50mV/mm的电场对神经节神经元刺激8h或与雪旺细胞共培养,与不加电场作用的神经节神经元对照或未与雪旺细胞共培养对照相比,可使神经轴索长度增加2倍;当神经节神经元和雪旺细胞同时培养于电场中时,电场对轴索生长的促进作用更强,可使其长度较相应的对照增加3.2倍。这些结果

提示,对外周神经元直流微电场的刺激与雪旺细胞的联合作用可能提供协同的导向信号,促进周围神经系统神经损伤后相应神经的轴向生长。

现临床试验中开始应用直流电刺激来治疗人类的脊髓损伤^[10]。在体内,内源性的电场可显著地影响神经生长的速度和方向,从而引导神经的生长^[2,27]。此外,电场可以改善血液循环,从而提高神经的再生能力,当神经受损,应用电刺激治疗可促进轴突的进一步再生,加速轴突与远端效应器建立有效的联系,电场也被认为是神经的营养剂。作为一种物理治疗方法,电刺激疗法已经被证明在神经康复和脊髓损伤方面的临床试验中是安全的^[28]。

3.1.3 血管、肌肉和骨骼的修复:电刺激能够在体内促进血管生成,这是通过提高肌肉细胞血管内皮生长因子的表达来实现的^[29]。Brighton^[21]等认为,电流通过对微环境的作用间接影响细胞功能,如降低局部组织的氧张力和提高局部组织的pH值,而有利于骨的形成。电场可以促进离子穿过细胞膜,从而促使细胞迁移和移位,这可能是电场促进骨生成而应用于治疗方面的主要优势^[30]。Hammerick等^[31]发现细胞在受到电刺激时细胞骨架发生重排,电场在脂肪衍生间质细胞的骨生成中起了促进作用,使其参与到细胞为基础的骨骼再生的过程中。当前,在矫形外科领域,以电场刺激来促进难以愈合骨折的康复治疗仍为行之有效的办法。有研究者指出,为更好地在骨骼康复医学中应用电场刺激,有必要进行电场刺激对各型间充质干细胞进行系统的检测。而Pearce等^[32]指出,通过改变间充质干细胞的功能,会极大地预防和治疗由于年龄增长而引起的病理性的骨疾病(骨质减少和骨质疏松),而由电场诱导的骨重建可望会改善改变间充质干细胞的功能^[30]。

3.2 在干细胞方面的应用

干细胞作为未分化的祖细胞在组织和器官的修复方面有很大的潜能^[33]。Sauer等^[33]研究发现,治疗性电场能够提高活性氧分子(reactive oxygen species, ROS)水平来刺激血管的生成。电磁场、机械拉力和重力这些自然的信号能够活化潜在胚胎发育的生化信号通路,提供诱导干细胞定向分化的基础。Zhang等^[34]也证实了人诱导多能干细胞(human induced pluripotent stem cell)能够在外加电场的刺激下定向移动,这为在体内应用电场刺激诱导移植干细胞的定向迁移提供了依据。

以干细胞为基础的神经再生为患有脑卒中和神经变性疾病的患者带来了新的希望^[35]。大脑病理性的损伤会引起内源性神经元干细胞/祖细胞(neuronal stem/progenitor cells, NSPCs)的再生和向病损区域迁移^[36-37]。Meng等^[38]研究显示,神经元干细胞/祖细胞在生理性的外加电场中显示明显的趋电性,PI3K/Akt通路在诱导NSPCs定向迁移的过程中

起到了重要的作用,提示电场在神经修复治疗中,可能通过诱导NSPCs的迁移来发挥重要的作用。

Li等^[35]研究发现,电场刺激可以作为一种实用的基于细胞的大脑修复治疗方法,它通过使神经元干细胞/祖细胞向脑细胞缺失的损伤大脑区域定向移动来实现此目的。此外,还发现在电场诱导神经元干细胞/祖细胞定向移动的一个新的信号通路,即NMDAR/Tiam1/Rac1/Pak1通路。Rajnicek等^[39]发现电场诱导神经细胞生长锥定向生长,与Rho、Rac和Cdc42介导的信号通路的活化有关。

3.3 在肿瘤方面的应用

肿瘤的诊断和治疗一直是人们研究的重点,利用细胞的趋电性和电生理病理的性质可能有助于诊断。在恶性肿瘤组织,电特性可能会有所改变,发生肿瘤细胞趋电性转移,也可影响癌细胞血液循环中的转移^[8]。而细胞的这种趋电性改变在转移性前列腺癌和乳腺癌细胞中表现更为明显,与相对的较弱的转移性细胞相比,癌细胞向相反的方向移动。这在解释肿瘤转移的过程以及在前列腺癌和乳腺癌临床应用方面具有很大的意义^[8]。肿瘤细胞快速和无序的分化引起细胞表面电荷的改变,使肿瘤组织出现去极化产生电位差,如乳腺癌细胞表面分化和未分化的区域存在不同的电位差,已用于临床肿瘤诊断^[40]。

3.4 其他

有报道显示^[41-42],电刺激小脑顶核在治疗脑梗死、慢性脑供血不足和睡眠障碍具有明显的疗效。应用外加电场可刺激微生物的代谢^[43],此外电磁场对人体心肌缺血以及提升人体的免疫功能等也有报道。

4 小结

电信号作为生理性信号与生化和分子信号共同存在,或彼此相互作用。适宜参数的外电场在皮肤伤口愈合、神经肌肉修复、伤痛控制、骨的愈合、脊髓修复、神经元迁移、癌症治疗中的发展和新的方向,体现了科学中的这一领域与生物系统的完整性理论的有机结合^[27]。期待未来生物电刺激更多的应用于人类重大疾病的治疗,开创疾病治疗的新纪元。

参考文献

- [1] Funk RH, Monsees T, Ozkucur N. Electromagnetic effects: From cell biology to medicine[J]. Prog Histochem Cytochem, 2009, 43(4):177-264.
- [2] McCaig CD, Rajnicek AM, Song B, et al. Has electrical growth cone guidance found its potential?[J]. Trends in Neurosciences, 2002, 25(7):354-359.
- [3] Rajnicek AM, Foubister LE, McCaig CD. Alignment of corneal and lens epithelial cells by co-operative effects of substratum topography and DC electric fields[J]. Biomaterials, 2008, 29(13):2082-2095.
- [4] Candia OA. Short-circuit current related to active transport of chloride in frog cornea: effects of furosemide and ethacrynic

- acid[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1973, 298(4):1011—1014.
- [5] Song B, Zhao M, Forrester JV, et al. Electrical cues regulate the orientation and frequency of cell division and the rate of wound healing in vivo[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(21):13577—13582.
- [6] Song B, Zhao M, Forrester J, et al. Nerves are guided and nerve sprouting is stimulated by a naturally occurring electrical field in vivo[J]. *J Cell Sci*, 2004, 117: 4681—4690.
- [7] Erickson CA, Nuccitelli R. Embryonic fibroblast motility and orientation can be influenced by physiological electric fields[J]. *J Cell Biol*, 1984, 98(1):296—307.
- [8] Mycielska ME, Djamgoz MB. Cellular mechanisms of direct-current electric field effects: galvanotaxis and metastatic disease[J]. *J Cell Sci*, 2004, 117(Pt9):1631—1639.
- [9] Nishimura KY, Isseroff RR, Nuccitelli R. Human keratinocytes migrate to the negative pole in direct current electric fields comparable to those measured in mammalian wounds[J]. *J Cell Sci*, 1996, 109(Pt1):199—207.
- [10] McCaig CD, Rajnicek AM, Song B, et al. Controlling cell behavior electrically: current views and future potential[J]. *Physiol Rev*, 2005, 85(3):943—978.
- [11] 刘志涛,张萍,何国祥,等.外加稳恒直流电场对血管球囊损伤后新生内膜增生影响的机制研究[J].*岭南心血管病杂志*,2010,增刊:223.
- [12] Grahm JC, Reilly DA, Nuccitelli RL, et al. Melanocytes do not migrate directionally in physiological DC electric fields[J]. *Wound Repair Regen*, 2003, 11(1):64—70.
- [13] Sillman AL, Quang DM, Farhoud B, et al. Human dermal fibroblasts do not exhibit directional migration on collagen I in direct-current electric fields of physiological strength[J]. *Exp Dermatol*, 2003, 12(4):396—402.
- [14] Wang E, Zhao M, Forrester JV, et al. Bi-directional migration of lens epithelial cells in a physiological electrical field[J]. *Exp Eye Res*, 2003, 76(1):29—37.
- [15] Zhao M, Agius-Fernandez A, Forrester JV, et al. Orientation and directed migration of cultured corneal epithelial cells in small electric fields are serum dependent[J]. *J Cell Sci*, 1996, 109(Pt6):1405—1414.
- [16] Zhao M, Dick A, Forrester JV, et al. Electric field-directed cell motility involves up-regulated expression and asymmetric redistribution of the epidermal growth factor receptors and is enhanced by fibronectin and laminin[J]. *Mol Biol Cell*, 1999, 10(4):1259—1276.
- [17] Zhao M, Song B, Pu J, et al. Electrical signals control wound healing through phosphatidylinositol-3-OH kinase-gamma and PTEN[J]. *Nature*, 2006, 442(7101):457—460.
- [18] Ojingwa JC, Isseroff RR. Electrical stimulation of wound healing[J]. *Dermatology Foundation*.2003, 121(1):1—12.
- [19] Song B, Zhao M, Forrester J, et al. Nerve regeneration and wound healing are stimulated and directed by an endogenous electrical field in vivo[J]. *J Cell Sci*, 2004, 117(Pt20):4681—4690.
- [20] Nuccitelli R. A role for endogenous electric fields in wound healing[J]. *Curr Top Dev Biol*, 2003, 58:1—26.
- [21] 阴小龙,程延,梅强.电刺激促进骨愈合[J].*生物骨科材料与临床研究*,2006,3(5):26—28.
- [22] Zhao M. Electrical fields in wound healing—An overriding signal that directs cell migration[J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2009, 20(6):674—682.
- [23] Yao L, McCaig CD, Zhao M. Electrical signals polarize neuronal organelles, direct neuron migration, and orient cell division[J]. *Hippocampus*, 2009, 19(9):855—868.
- [24] Feng JF, Liu J, Zhang XZ, et al. Guided migration of neural stem cells derived from human embryonic stem cells by an electric field[J]. *Stem Cells*, 2012, 30(2):349—355.
- [25] Singh B, Xu QG, Franz CK, et al. Accelerated axon outgrowth, guidance, and target reinnervation across nerve transection gaps following a brief electrical stimulation paradigm[J]. *J Neurosurg*, 2011, [Epub ahead of print].
- [26] Koppes AN, Seggio AM, Thompson DM. Neurite outgrowth is significantly increased by the simultaneous presentation of Schwann cells and moderate exogenous electric fields[J]. *J Neural Eng*, 2011, 8(4):046023.
- [27] McCaig CD, Song B, Rajnicek AM. Electrical dimensions in cell science[J]. *J Cell Sci*, 2009, 122(Pt23):4267—4276.
- [28] Shapiro S, Borgens R, Pascuzzi R, et al. Oscillating field stimulation for complete spinal cord injury in humans: a phase 1 trial[J]. *J Neurosurg Spine*, 2005, 2(1):3—10.
- [29] Bai H, McCaig CD, Forrester JV, et al. DC electric fields induce distinct preangiogenic responses in microvascular and macrovascular cells[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24(7):1234—1239.
- [30] Isaacson BM, Bloebaum RD. Bone bioelectricity: what have we learned in the past 160 years?[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2010, 95(4):1270—1279.
- [31] Hammerick KE, James AW, Huang Z, et al. Pulsed direct current electric fields enhance osteogenesis in adipose-derived stromal cells[J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16(3):917—931.
- [32] Pearce D, Bonnet D. Ageing within the hematopoietic stem cell compartment[J]. *Mech Ageing Dev*, 2009, 130(1—2):54—57.
- [33] Sauer H, Bekhite MM, Hescheler J, et al. Redox control of angiogenic factors and CD31-positive vessel-like structures in mouse embryonic stem cells after direct current electrical field stimulation[J]. *Experimental Cell Research*, 2005, 304(2): 380—390.
- [34] Zhang J, Calafiore M, Zeng Q, et al. Electrically guiding migration of human induced pluripotent stem cells[J]. *Stem Cell Rev*, 2011, 7(4):987—996.
- [35] Li L, El-Hayek YH, Liu B, et al. Direct-current electrical field guides neuronal stem/progenitor cell migration[J]. *Stem Cells*, 2008, 26(8):2193—2200.
- [36] Kolb B, Morshead C, Gonzalez C, et al. Growth factor-stimulated generation of new cortical tissue and functional recovery after stroke damage to the motor cortex of rats[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27(5):983—997.
- [37] Lindvall O, Kokaia Z, Martinez-Serrano A. Stem cell therapy for human neurodegenerative disorders—how to make it work[J]. *Nat Med*, 2004, 10(Suppl):S42—50.
- [38] Meng XT, Arocena M, Penninger J, et al. PI3K mediated electrotaxis of embryonic and adult neural progenitor cells in the presence of growth factors[J]. *Experimental Neurology*, 2011, 227(1):210—217.
- [39] Rajnicek AM, Foubister LE, McCaig CD. Temporally and spatially coordinated roles for Rho, Rac, Cdc42 and their effectors in growth cone guidance by a physiological electric field[J]. *J Cell Sci*, 2006, 119(Pt9):1723—1735.
- [40] Cuzick J, Holland R, Barth V, et al. Electropotential measurements as a new diagnostic modality for breast cancer[J]. *Lancet*, 1998, 352(9125):359—363.
- [41] Rampello L, Chiechio G, Nicoletti G, et al. Prediction of the response to citalopram and reboxetine in post-stroke depressed patients[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2004, 173(1—2):73—78.
- [42] Narushima K, Robinson RG. The effect of early versus late antidepressant treatment on physical impairment associated with poststroke depression: is there a time-related therapeutic window?[J]. *J Nerv Ment Dis*, 2003, 191(10):645—652.
- [43] Thrash JC, Coates JD. Review: Direct and indirect electrical stimulation of microbial metabolism[J]. *Environ Sci Technol*, 2008, 42(11):3921—3931.