

Received: 05.02.2016
Accepted: 10.08.2017
Published: 25.01.2018

Ruch ameboidalny komórek nowotworowych

Ameboid movement of cancer cells

Aleksandra Simiczjew, Anna Konopnicka, Dorota Nowak

Zakład Patologii Komórki, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski

Streszczenie

Migracja komórek jest podstawą wielu procesów, zarówno fizjologicznych, takich jak embriogeneza czy gojenie się ran, jak i patologicznych np. przerzutowania nowotworów. Sposoby poruszania się komórek są sklasyfikowane w oparciu o wiele parametrów. Wyróżnia się dwa typy indywidualnego ruchu: ameboidalny i mezenchymalny. Migracja grup komórek określana jest mianem ruchu kolektywnego.

Komórki poruszające się ameboidalnie cechuje zaokrąglony lub elipsoidalny kształt. Ruch ten jest regulowany przez białka z rodziny Rho. Stymuluje go aktywacja GTPazy Rho i kinazy ROCK. Komórki poruszające się ameboidalnie nie tworzą włókien naprężeniowych i nie wykazują obecności ognisk adhezyjnych. Tworzą natomiast swoiste wypustki migracyjne w postaci pęcherzyków (blebs). Wypustki te są strukturami wyjątkowo dynamicznymi. Powstają na krawędzi wiodącej komórki, która przesuwa się do przodu dzięki skurczom aktomiozyny występującym na jej przeciwległym końcu. W przeciwieństwie do ruchu mezenchymalnego, w tym modelu migracji aktywność proteolityczna nie odgrywa znaczącej roli, ponieważ komórki wykorzystują głównie skurcz aktomiozyny do przeciskania się przez przestrzenie obecne w obrębie macierzy pozakomórkowej.

Komórki mogą zmieniać fenotyp migracyjny, zatem ich sposób poruszania się może się przeobrazić w inny. Jednym z takich procesów jest przejście mezenchymalno-ameboidalne, które odgrywa główną rolę w tworzeniu przerzutów i inwazji nowotworowej. W pracy opisano mechanizmy odpowiedzialne za ruch ameboidalny, jak również podstawowe ścieżki sygnałowe regulujące ten proces.

Słowa kluczowe:

ruch ameboidalny • migracja komórek nowotworowych

Summary

Cell migration is a very complicated process essential for proper functioning of all living cells and organisms. It underlies numerous physiological processes as embryogenesis or wound healing as well as pathological processes such as cancer cell metastasis. The manner of cell locomotion was classified based on many parameters. There are two ways of individual migration: amoeboid and mesenchymal. The locomotion of groups of cells is known as collective type of movement.

Amoeboid migration refers to rounded or ellipsoid cells and is regulated by Rho family proteins. It is stimulated by GTPase Rho and kinase ROCK. Cells which migrate in amoeboid mode do not form mature focal adhesions or stress fibres composed of polymerized actin. These cells form very dynamic migratory protrusions called blebs. They are formed on the leading edge of the cell, which moves forward due to contractions occurring at opposite edge. In contrast to mesenchymal mode of movement, in amoeboid migration proteases activity is not required, because cells just squeeze through gaps present in extracellular matrix using actomyosin contractility.

| | |
|--------------------|--|
| Keywords: | Additionally cells are able to change their mode of migration. One of this possible transformation is mesenchymal to amoeboid transition, which is crucial in metastasis and cancer invasion. This paper describes mechanisms responsible for amoeboid movement and basic pathways regulating this process. amoeboid migration • migration of cancer cells |
| GICID: | 01.3001.0010.8134 |
| DOI: | 10.5604/01.3001.0010.8134 |
| Word count: | 6964 |
| Tables: | – |
| Figures: | 7 |
| References: | 100 |

Adres autorki: dr hab. Dorota Nowak, Zakład Patologii Komórki, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski, ul. F. Joliot-Curie 14a, 50-383 Wrocław, e-mail: dorotan@ibmb.uni.wroc.pl; dorota.nowak@uwr.edu.pl

Wykaz skrótów: **AMT** – przejście ameboidalno-mezenchymalne (amoeboid to mesenchymal transition), **ECM** – macierz pozakomórkowa (extracellular matrix), **ERM** – białka z rodziny ERM [ezryna, radyksyna/moezyna] (ezrin/radixin/moesin protein family), **GAP** – białko aktywujące GTPazę (GTPase activating protein), **GDI** – inhibitor dysocjacji nukleotydu guaninowego (guanine nucleotide dissociation inhibitor), **GEF** – czynnik wymiany nukleotydu guaninowego (guanine nucleotide exchange factor), **MAT** – przejście ameboidalno-mezenchymalne (mesenchymal to amoeboid transition), **MLC** – łańcuch lekki miozyny (myosin light – chain), **MLCK** – kinaza lekkich łańcuchów miozyny (myosin light – chain kinase), **MLCP** – fosfataza lekkich łańcuchów miozyny (myosin light – chain phosphatase), **PI3K** – kinaza 3-fosfatydyloinozytolu (phosphoinositide 3-kinase), **ROCK** – kinaza białkowa związana z białkami z rodziny Rho (Rho – associated protein kinase).

Migracja komórek jest procesem o ogromnym znaczeniu dla wszystkich organizmów, odgrywa fundamentalną rolę w rozwoju embrionalnym. Odpowiada także za poruszanie się komórek układu odpornościowego, gojenie się ran oraz regenerację tkanek. Ruch ma również istotne znaczenie w czasie tworzenia przerzutów nowotworowych [22,68]. Mechanizmy migracji, jak również szlaki sygnałowe regulujące ten proces, są szczegółowo badane. Ruch komórki jest skomplikowanym, wieloetapowym procesem obejmującym zjawiska polaryzacji komórki, reorganizacji jej cytoszkieletu, zmiany kształtu i adhezji [60]. Dla większości komórek, do których zalicza się komórki zrębu czy nerwowe, migracja występuje jedynie podczas embriogenezy. Jest niezbędna w czasie tworzenia listków zarodkowych i podczas kształtowania i rozwoju organów. Komórki grzebienia nerwowego przemierzają duże odległości w ciele zarodka i zasiedlają w nim różne miejsca tworząc m.in. melanocyty, zwoje nerwowe czy też ciało rzęskowe [27]. W przypadku niektórych komórek poruszanie się jest niezbędnym elementem ich funkcjonowania. Przykładem są leukocyty, które migrują przez ściany naczyń włosowatych w celu obrony organizmu przed patogenami [46]. Zdolności komórek do przemieszczania się wykorzystywane są również w procesie gojenia się ran. W miejscu zranienia dochodzi do intensywnych podziałów mitotycznych, czego następstwem jest gojenie i zabliznianie uszkodzonej tkanki, w którym uczest-

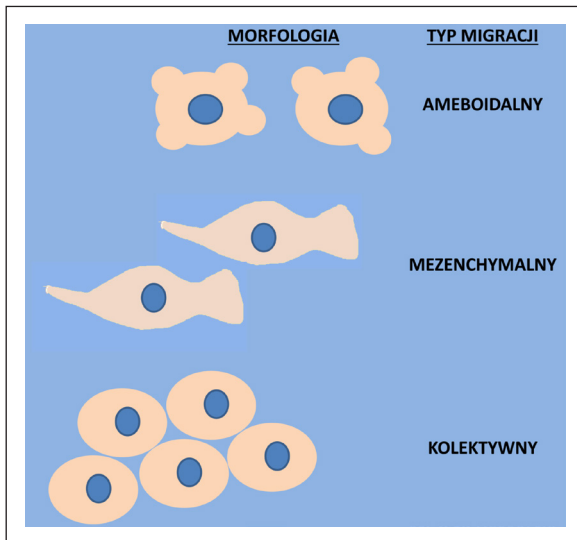
niczą fibroblasty i keratynocyty [58]. Ruch jest również nieodłącznym elementem tworzenia przerzutów. Rozprzestrzenianie się komórek nowotworowych zależy od ich zdolności do przenikania ścian naczyń krwionośnych i tkanki łącznej [45].

Znajomość mechanizmów odpowiedzialnych za migrację komórkową jest bardzo istotna dla współczesnej medycyny. Może bowiem posłużyć do badań nad procesami nowotworzenia, jak również do stworzenia terapii zapobiegającej powstawaniu przerzutów.

RODZAJE RUCHU KOMÓREK NOWOTWOROWYCH

Ruch komórek nowotworowych, leżący u podstaw przerzutowania, jest zjawiskiem wykazującym dużą różnorodność. W związku z różnymi mechanizmami sterującymi lokomocją komórek podjęto próbę ich klasyfikacji.

Sposób migracji zależy m.in. od rodzaju komórek i mikrośrodowiska guza. Początkowo był klasyfikowany wyłącznie na podstawie morfologii, którą komórki przyjmowały podczas ruchu. Z czasem rozróżnienie to poszerzono o inne parametry, takie jak organizacja cytoszkieletu, typ oddziaływań komórka-macierz pozakomórkowa (ECM) i modyfikacja struktury otaczającej tkanki przez migrujące komórki [47,78,87]. Można



Ryc. 1. Zależność między morfologią komórki a typem migracji (wg [27] zmodyfikowano)

wyróżnić kilka typów ruchu komórek nadzorowanych przez wiele mechanizmów molekularnych, których regulacja może zmienić sposób migracji [27,79]. Komórki przemieszczają się w grupach (migracja kolektywna) lub pojedynczo (migracja indywidualna). W obrębie migracji indywidualnej dodatkowo można wyróżnić migrację mezenchymalną i ameboidalną (ryc.1). Typ migracji definiowany jest na podstawie takich parametrów jak: aktywność proteaz, adhezja między komórką i ECM, siła oddziaływań międzykomórkowych, polarność komórki i sposób organizacji jej cytoszkieletu [27,64,78].

Ruch mezenchymalny komórek nowotworowych

Ruch mezenchymalny ma znaczący wpływ na migrację komórek prawidłowych, takich jak keratynocyty czy fibroblasty [22], a także wielu typów komórek nowotworowych (zwłaszcza wywodzących się z tkanki łącznej oraz tkanki nabłonkowej) [27,63]. Komórki poruszające się mezenchymalnie cechuje bardzo wydłużony kształt. Mogą przylegać do podłoża w postaci charakterystycznej płytki kontaktowej, która jest obecna na obu biegunach komórki. Przyleganie do ECM następuje dzięki integrynom tworzącym miejsca adhezji. Integryny to transbłonowe glikoproteiny zaliczane do białek adhezyjnych, które pośredniczą w mechanicznym wiązaniu komórki do macierzy pozakomórkowej, tworzeniu połączeń międzykomórkowych, a także w szeroko pojętej transdukcji sygnału [37]. Uważa się, że komórki migrujące mezenchymalnie poruszają się z prędkością 0,1-0,5 $\mu\text{m}/\text{min}$, natomiast szybkość migracji ameboidalnej jest wielokrotnie większa i wynosi nawet 15 $\mu\text{m}/\text{min}$ [23]. Głównym powodem tak małej prędkości komórek poruszających się mezenchymalnie są powolne zmiany w obrębie ognisk adhezyjnych (ich tworzenie i rozpad) podczas translokacji [63].

Komórka poruszająca się mezenchymalnie zachowuje się według ściśle określonego schematu migracji. Po

otrzymaniu sygnału stymulującego ten proces, następuje aktywacja GTPazy Rac1, która wpływa na powstawanie lamellipodium – obszaru na krawędzi wiodącej komórki, budowanego przez rozgałęzioną sieć włókien filamentarnej aktyny. W czasie powstawania lamellipodium na krawędzi wiodącej są obecne filamente aktynowe, z szybko rosnącymi końcami (+) skierowanymi w stronę błony komórkowej. Proces tworzenia wypustki rozpoczyna się od sygnału zewnątrzkomórkowego, który uruchamia odpowiednią drogę transdukcji sygnału prowadząc do aktywacji białek WASP/Scar. Białka te łączą następnie monomer aktyny z kompleksem Arp2/3 w okolicy istniejącego filamentu, sprawiając, iż powstaje jego rozgałęzienie. Za nukleację i wydłużanie istniejących filamentów odpowiadają również białka z rodziny formin. Szybki wzrost filamentów powoduje tworzenie lamellipodium [59,66,75]. Następnie komórka wiąże się z elementami macierzy pozakomórkowej przez tworzenie miejsc adhezji, po czym następuje proteoliza – elementy ECM obecne w otoczeniu komórki ulegają degradacji, co powoduje powstanie przestrzeni umożliwiającej przemieszczenie się ciała komórki. Skurcz aktomiozyny prowadzi do powstania siły deformującej zarówno ciało komórki, jak i ECM, co w połączeniu z zerwaniem wiązań w tylnej krawędzi komórki, powoduje przesunięcie ciała komórki w kierunku jej frontu [21,26,54,63,68].

Temu typowi ruchu towarzyszy również powstawanie przejściowych struktur lokomotorycznych, takich jak filopodia i inwadopodia. Filopodia to wypustki sensoryczne, zbudowane z cienkich włókien składających się z równolegle ułożonej spolimeryzowanej aktyny [75]. Inwadopodia natomiast, powstają po spodniej stronie migrujących komórek, są bogate w aktywną filamentarną i wydzielają enzymy proteolityczne, takie jak metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej czy proteazy serynowe, które lokalnie degradują ECM, wytyczając komórkom nowotworowym ścieżkę inwazji [40,65,79].

Ruch kolektywny

Ruch kolektywny jest powszechny podczas gojenia się ran (komórki otaczają miejsce zranienia i zapewniają ciągłość przerwanej tkanki), migracji nabłonka podczas embriogenezy, a także podczas odnawiania błony śluzowej jelita. Może się również przyczyniać do rozwoju nowotworów, zwłaszcza pochodzenia nabłonkowego, przez lokalną inwazję. Ten typ ruchu obserwowano w nowotworach trzustki, jelita, piersi czy też czerniaku [23,24,27,84]. Komórki wykorzystujące ten rodzaj ruchu nie poruszają się pojedynczo, ale w grupach, w których są ściśle połączone [92]. W przeciwieństwie do komórek poruszających się mezenchymalnie, w ruchu kolektywnym nie dochodzi do likwidacji miejsc adhezji na tylnej krawędzi komórek, czyli dystalne części komórek nie ulegają retrakcji, dzięki czemu pozostają zachowane połączenia międzykomórkowe. Siła skurczu jest więc skupiona na komórkach położonych dalej od strefy frontalnej [24]. Ruch kolektywny jest stero-

wany przez zewnętrzne, chemiczne lub mechaniczne sygnały. Komórki poruszające się w ten sposób zachowują połączenia międzykomórkowe, stabilizowane przez kadheryny (głównie N, VE, E) – białka transbłonowe i adhezyjne. Oparte na kadherynach połączenia międzykomórkowe utrzymują podstawowe właściwości komórki, takie jak zdolność do polaryzacji, czy skurczu komórki. Są także niezbędne do przekazywania sygnałów. Oprócz kadheryn często występującymi stabilizatorami komórek są immunoglobulinowe receptory adhezyjne (NCAM, ALCAM) lub integryny (głównie β 1) [54,68]. Ruch kolektywny przeważnie zmienia i modyfikuje strukturę tkanki w czasie wędrówki komórek, powodując wtórne zmiany w macierzy pozakomórkowej [92].

Często wykorzystywanym przez komórki nowotworowe rodzajem ruchu jest ruch ameboidalny, który został szerzej opisany w następujących rozdziałach.

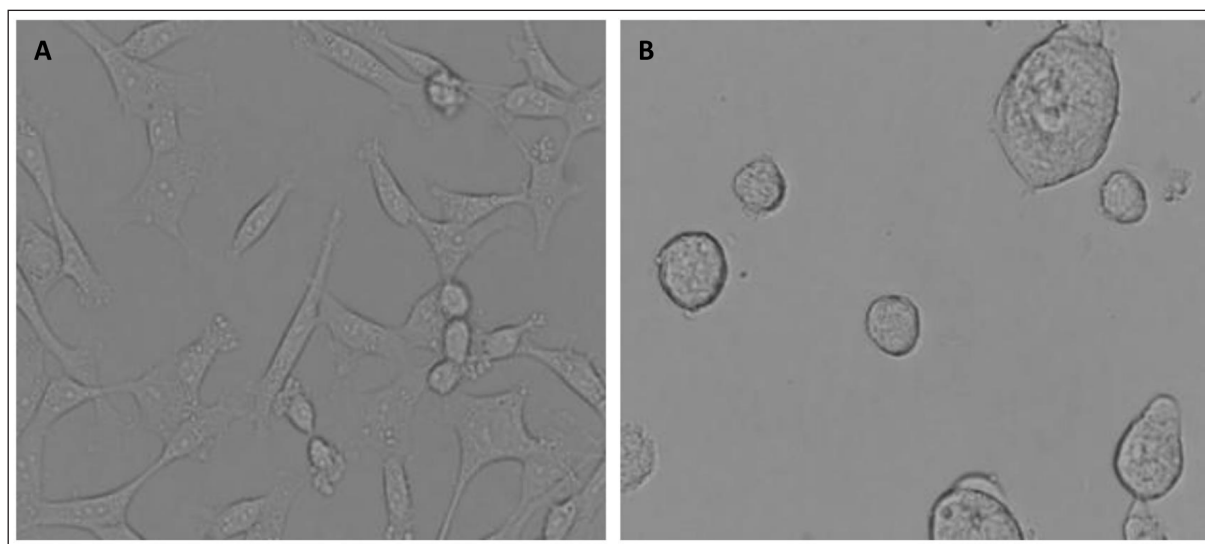
RUCH AMEBOIDALNY KOMÓREK NOWOTWOROWYCH

Ruch ameboidalny to sposób poruszania się charakterystyczny m.in. dla niższych eukariontów, do których zalicza się śluzowca *Dictyostelium discoideum* i ameby *Actanthamoeba castellanii* czy *Amoeba proteus*. Ameboidalny typ ruchu dotyczy także niektórych białych krwinek oraz wielu typów komórek nowotworowych zdolnych do tworzenia przerzutów, w tym komórek nowotworu: piersi, stercza, drobnokomórkowego nowotworu płuc, chłoniaka czy czerniaka [4,14,25,29,48,52,73,77,83]. Inicjowanie ruchu ameboidalnego odbywa się dzięki zależnej od białek Rho kinazie ROCK, niezależnie od szlaku PI3K [27,91]. Komórki nowotworowe poruszające się w sposób ameboidalny charakteryzują się dużą plastycznością kształtu, który zmieniają tak, by móc przedostać się przez sieć macierzy pozakomórkowej [27,63]. Znacznemu odkształceniu

ulega również jądro komórkowe ze względu na konieczność przeciskania się przez niewielkie przestrzenie obecne w obrębie macierzy [30,90]. Komórki nowotworowe migrujące ameboidalnie są zdolne do wytwarzania pęcherzykowatych wypustek błony komórkowej o charakterze pseudopodiów, które umożliwiają im przemieszczenie się przez warstwę śródbłonka naczyń krwionośnych lub przez ECM [22]. Jak już wspomniano ruch ameboidalny jest szybszy od mezenchymalnego, a komórki wykazują zdolność do gwałtownych zmian kierunku ruchu [9,35,44,53]. Cechuje je również zmniejszona adhezja do macierzy, związana z obniżonym poziomem ekspresji genów kodujących integryny. Komórki te zazwyczaj nie tworzą ognisk adhezyjnych, a jedynie słabe kontakty adhezyjne z podłożem [37,47]. W tym typie ruchu nie zachodzi proteoliza ECM. Niedługo się sądziło, iż komórki nowotworowe poruszające się ameboidalnie nie ekspresjonują genów kodujących metaloproteinazy [1,27,89]. W ostatnich latach pojawiły się jednak doniesienia, że komórki te również wydzielają proteazy, a enzym MMP-9 może wspierać migrację ameboidalną przez regulację skurczów aktomiozyny z udziałem receptora CD44 [61]. Morfologia komórek nowotworowych migrujących ameboidalnie jest całkowicie odmienna od morfologii komórek migrujących mezenchymalnie i łatwa do odróżnienia w warunkach *in vitro* (ryc. 2).

Rodzaje i morfologia komórek migrujących ameboidalnie

Uwypuklenia błony komórkowej typu pęcherzyków migracyjnych zaobserwowano już w latach dwudziestych XX w. Następnie powiązano ich istnienie z mechanizmami lokomotorycznymi komórki, a także ze zjawiskiem inwazji nowotworów [19]. Obecność wypustek w postaci pęcherzyków zaobserwowano również podczas rozprzestrzeniania się ludzkich komór-



Ryc. 2. Morfologia zdolnych do inwazji komórek nowotworowych; A – komórka pochodząca z linii nowotworu piersi MDA-MB-231 migrująca mezenchymalnie, B – komórka nowotworu jelita grubego linii LS174T poruszająca się ameboidalnie (badania własne)

rek spojówki, a także w czasie rozwoju zarodka u ryby *Fundulus heteroclitus*. Kryteria pozwalające na dopasowanie do modelu ruchu ameboidalnego spełniają także komórki układu odpornościowego – granulocyty, limfocyty i makrofagi oraz śluzowiec *Dictyostelium discoideum* i ameba m.in. *Amoeba proteus* [42,46,49,64]. U *A. proteus* za tworzenie krawędzi wiodącej odpowiada aktywność kurczliwa systemu aktomiozynowego. W pierwszym etapie powstawania pęcherzyka następuje zerwanie połączeń między filamentami i błoną, a następnie spadek ciśnienia hydrostatycznego i wypchnięcie błony przez napływającą cytoplazmę w tym właśnie kierunku. Prowadzi to do progresji frontu komórki z jednoczesnym przesunięciem warstwy korowej w głąb komórki i jej destrukcją. Następnie warstwa F-aktyny przy powierzchni błony jest odbudowywana [31,43]. Komórki *Dictyostelium* natomiast tworzą różne wypustki migracyjne w zależności od sztywności środowiska w którym się poruszają. Na ich krawędzi wiodącej mogą występować pseudopodia, zbudowane z rozgałęzionej sieci filamentów, powstające w wyniku polimeryzacji aktyny pod błoną komórki lub pęcherzyki migracyjne typu „blebs”. Pęcherzyki te powstają wskutek skurczu komórki z udziałem miozyny II, który następuje tuż po tym, jak błona komórkowa odłącza się od aktyny korowej. Proces ich tworzenia jest niezależny od polimeryzacji aktyny [56,93,94]. Migracja ameboidalna tych komórek może występować w odpowiedzi na stymulację czynnikiem chemotaktycznym i jest kontrolowana przez szlak przekazywania sygnału z udziałem kinazy PI3K. Komórki *Dictyostelium* tworzą czasem również na krawędzi wiodącej struktury łączące cechy obu typów opisywanych wcześniej wypustek – niewielkie pęcherzyki, obok których znajdują się pseudopodia, powstające w wyniku polimeryzacji aktyny [94].

Podobne zjawisko zaobserwowano również w leukocytach. Można wśród nich wyróżnić zaokrąglone, pęcherzykowate komórki, które tworzą jedynie słabe kontakty adhezyjne z podłożem i go nie degradują, a podczas ruchu wykorzystują wyłącznie siłę napędową w postaci skurczu aktomiozyny. Drugą grupę tworzą komórki o zdecydowanie bardziej wydłużonym kształcie, które są zdolne do tworzenia bogatych w aktynę wypustek na wiodącym końcu komórki. Oddziałują nieco silniej z podłożem; typ wypustek tworzonych przez te komórki zależy od siły adhezji do podłoża i stopnia kurczliwości aktomiozyny. Przez zmianę parametrów komórki mogą adaptować swój typ ruchu do panujących warunków środowiska [47].

Ponadto Liu i wsp. opisali w ostatnich latach dwa typy ruchu migrujących ameboidalnie komórek zarówno prawidłowych jak i nowotworowych. Komórki reprezentujące typ nazywany A1 są okrągłe, z niewielką krawędzią wiodącą. Komórki typu A2 natomiast mają wydłużone ciało komórki, duży uropod i przypominają migrujący neutrofil. Komórki typu A2, których migracja opiera się głównie na skurczu aktomiozyny i wytwarzanym w jego wyniku ciśnieniu hydrostatycznym, poruszają się znacz-

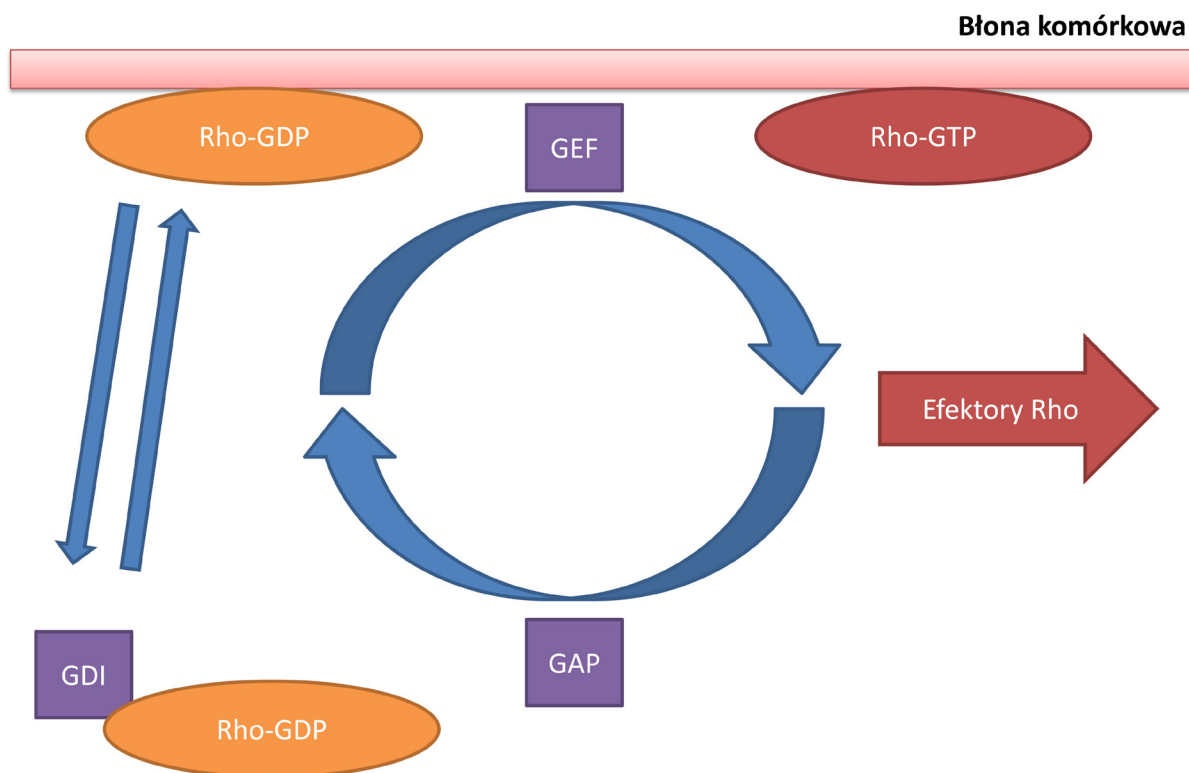
nie szybciej niż reprezentujące typ A1, ich ruch jest oparty na lokalnej polimeryzacji aktyny. Należy zaznaczyć, iż leukocyty i komórki nowotworowe poruszają się głównie szybszym ruchem ameboidalnym A2 [52]. Autorzy pracy uważają, iż ze względu na powszechność występowania tego typu ruchu i konserwatyzm jego cech wśród różnych organizmów (od ameb i śluzowców po kręgowce) można uznać go za pierwotny mechanizm ruchu komórek pełzających [52].

Tworzenie pęcherzyków migracyjnych na powierzchni komórki nowotworowej

Pęcherzykowate wypustki, typowe dla ruchu ameboidalnego, powstają i zanikają bardzo szybko, nawet w ciągu kilku minut. Są zatem strukturami wyjątkowo dynamicznymi. Pęcherzyk tworzy się na krawędzi wiodącej komórki, która przesuwa się do przodu dzięki skurczom aktomiozyny występującym na jej przeciwległym końcu [68]. Tworzenie wypustek w postaci pęcherzyków różni się od powstawania innych wypustek m.in. tym, że siła inicjująca ten proces nie wymaga polimeryzacji aktyny w pierwszej fazie wzrostu.

Pęcherzyk powstaje w odpowiedzi zarówno na wewnątrz- jak i zewnątrzkomórkowe sygnały. Są nimi m.in. chemoatraktanty, które oddziałują na komórki przez receptory znajdujące się na ich powierzchni i stymulują polaryzację, reorganizację cytoszkieletu, czy transport pęcherzykowy. Ruch ameboidalny komórek nowotworowych może być inicjowany przez czynniki wzrostu wydzielane przez te komórki lub pochodzące z mikrośrodowiska guza [48]. Zmiana organizacji cytoszkieletu jest kontrolowana na tym etapie przez małe GTP-azy z rodziny Rho, które aktywują ścieżkę przekazywania sygnału prowadzącą do powstawania bogatych w aktynę wypustek [19]. Najważniejszą rolę w inicjowaniu ruchu ameboidalnego komórek nowotworowych odgrywiają białka z rodziny Rho oraz kinaza ROCK [35,77,80]. Aktywność białek – Rho, Rac, Cdc42 zależy ściśle od obecności GTP. Przyłączenie do nich guanozynotrójfosforanu (GTP) aktywuje je, natomiast gdy jest z nimi związany guanozynomodulofosforan (GDP) pozostają nieaktywne. Białka regulujące wymianę nukleotydu modulują aktywność białek z rodziny Rho. GDI (guanine nucleotide dissociation inhibitor) hamuje dysocjację GDP, a białko GEF (guanine nucleotide exchange factor) powoduje wymianę GDP na GTP, aktywując białka Rho. Natomiast białko GAP (GTPase activating protein) inaktywuje białka Rho powodując hydrolizę GTP [42,59,72]; zależności przedstawiono na ryc. 3.

Rozpoczęcie tworzenia pęcherzyka wywołuje lokalny spadek przyczepności błony do aktyny i zlokalizowana destabilizacja i depolimeryzacja aktyny w części podbłonowej cytoplazmy zwanej częścią korową (korteksem). Czynnikiem mogącym wywołać zmiany w organizacji cytoszkieletu jest zwiększone ciśnienie, które powoduje naruszenie struktury filamentów aktynowych w korteksie. Zwiększone ciśnienie sprzyja miejscowemu wzro-

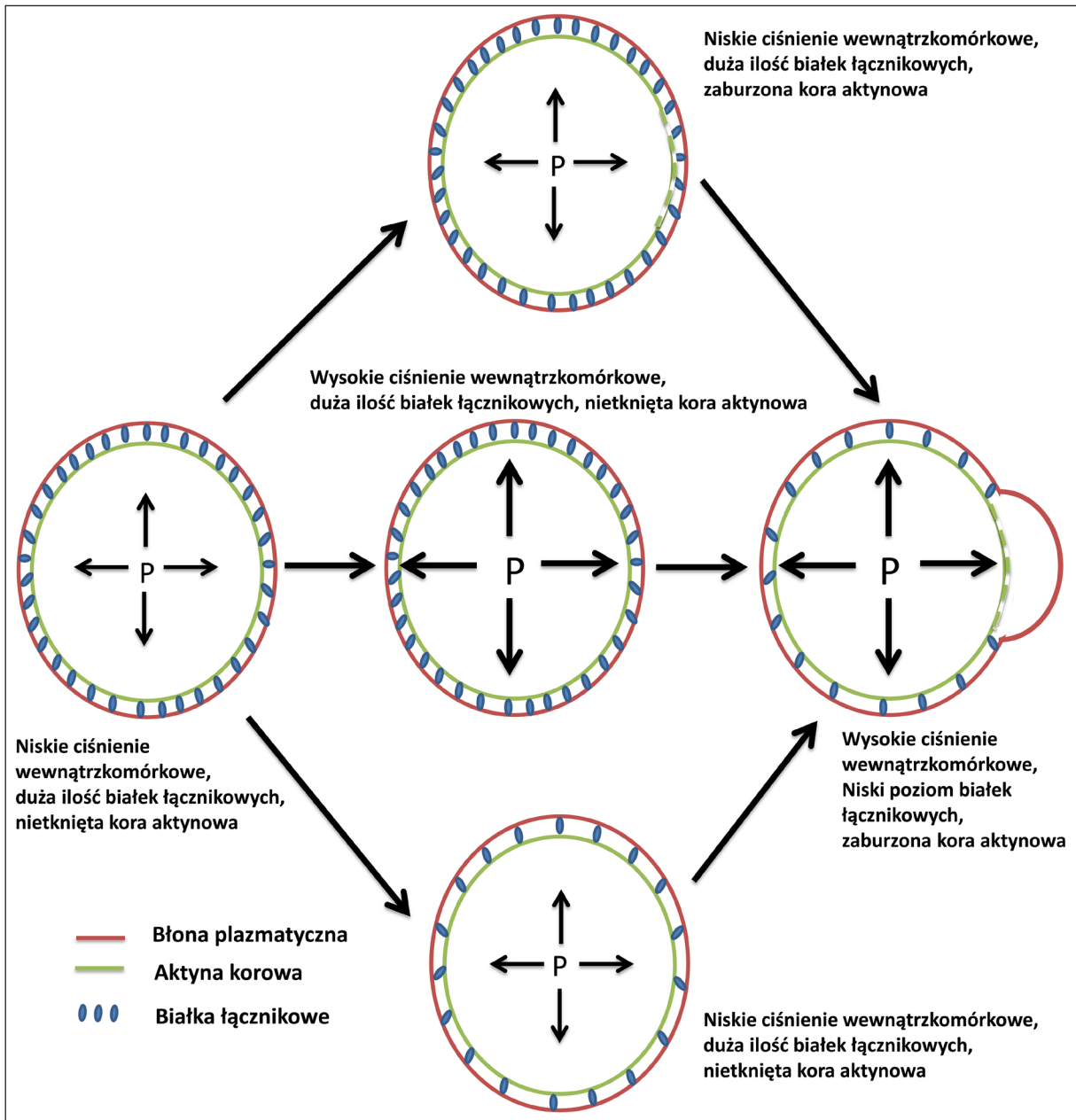


Ryc. 3. Schemat aktywacji i inaktywacji białek z rodziny Rho (wg [42] zmodyfikowano)

stowi kurczliwości sieci aktomiozynowej i wypukleniu błony komórkowej [19]. Odłączenie aktyny od błony może wystąpić w wyniku fizycznego przerwania ciągłości korteksu lub przez zmniejszenie adhezji między błoną i aktyną korową. Istnieją doniesienia mówiące o tym, iż adhezja korteksu do błony jest w dużej mierze zależna od stężenia bisfosforanu fosfatydyloinozytolu – PIP2 [69,81]. Zmiany stężenia tego związku mogą regulować adhezję cytoszkieletu do błony przez zmianę oddziaływań między PIP2 a białkami kotwiczącymi cytoszkielet lub przez regulację polimeryzacji aktyny z udziałem białek z nią oddziałujących, takich jak żelsoлина czy kofilina. Stan spolimeryzowania aktyny w części korowej komórki i liczba oddziaływań między PIP2 i białkami cytoszkieletu określają siłę adhezji. Kiedy lokalne stężenie PIP2 i tym samym siła adhezji słabnie, wysokie ciśnienie wewnątrzkomórkowe sprawia, iż dwuwarstwa lipidowa zostaje oddzielona od cytoszkieletu i powstaje pęcherzyk migracyjny [69]. Zmniejszenie ilości tego fosfolipidu powoduje również przejście komórki z mezenchymalnego na ameboidalny sposób migracji [19,85].

Komórki, u których jednocześnie kora aktynowa jest nienaruszona, poziom białek utrzymujących połączenia błona-kora jest wysoki, a ciśnienie wewnątrzkomórkowe niskie, nie wykazują zdolności do tworzenia pęcherzyków. Dopiero, gdy ciśnienie wewnątrzkomórkowe jest znacznie podwyższone, kora „ulega dezorganizacji”, a kurczliwość zależna od miozyny jest wysoka, możemy

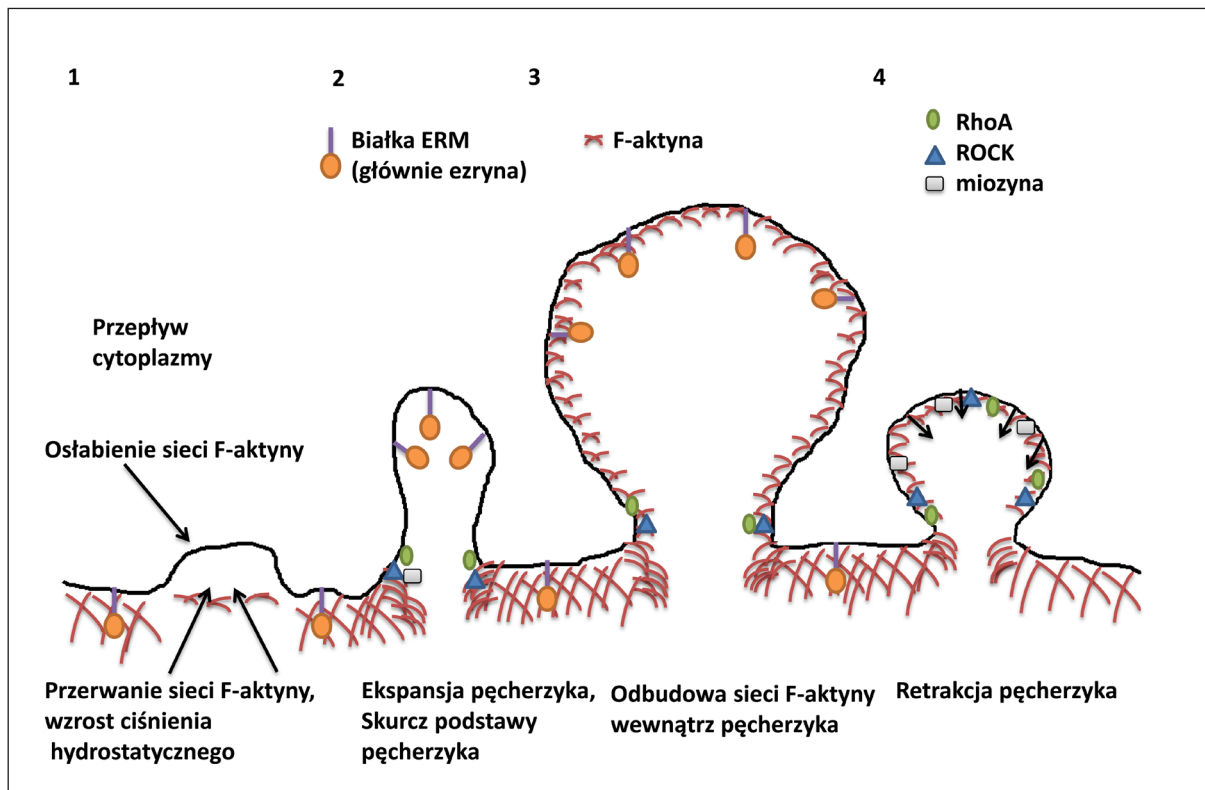
zaobserwować formowanie pęcherzyków migracyjnych na powierzchni komórki [62] (ryc. 4). Kolejne fazy powstawania i zanikania pęcherzyka przedstawiono na rycinie 5. Rosnący pęcherzyk nie jest połączony z korową aktyną, a powstała przestrzeń jest wypełniana napływającą cytoplazmą [19]. Faza ekspansji trwa około 30 s. Powstały „bąbelek” rośnie, wypełnia się cytoplazmą i tworzy występ o średnicy 1-10 μm [11]. Elongacja pęcherzyka może zachodzić dzięki jednemu z kilku mechanizmów. Pierwszym z nich jest dalsze oddzielenie się błony komórkowej od aktyny korowej. Zaobserwowano, iż w czasie wzrostu pęcherzyka sukcesywnie następuje rozszerzanie się podstawy tej wypustki [10]. Inny mechanizm pozwalający na wzrost „bleba” polega na rozfałdowaniu błony komórkowej. Komórki zawierają znaczny nadmiar błony i w określonych warunkach mogą zwiększyć objętość 10-krotnie; nadmiar błony jest przechowywany w postaci fałd i mikrokosmków. W związku z tym wzrost pęcherzyka może następować również przez rozfałdowanie błony [33]. Zjawiskiem mogącym odpowiadać za powiększanie się wypustki jest masowy napływ lipidów z innych miejsc błony komórkowej do wnętrza pęcherzyka. Przypuszcza się, że powstawanie wypuklenia błony może być następstwem fuzji pęcherzyków pochodzących z aparatu Golgiego z błoną w pobliżu rosnącego „bleba” [10,11,68]. Każdy spośród opisanych mechanizmów może być potencjalnie zaangażowany w proces wzrostu pęcherzyka, jednak ich realny udział w tym procesie nie jest jeszcze poznany.



Ryc. 4. Parametry wpływające na tworzenie pęcherzyków migracyjnych w komórce (wg [62] zmodyfikowano)

Mimo iż w początkowej fazie wzrostu pęcherzyk jest pozbawiony aktyny filamentarnej, jest otoczony przez białka z rodziny ERM (ezryna, moezyna, radyksyna), głównie ezrynę, przytwierdzające aktynę do błony [19]. Rola przypisywana tym białkom w komórkach nowotworowych polega głównie na odtwarzaniu sieci aktynowej. Biorą również udział w szeroko pojętej adhezji komórkowej i mechanizmach ruchu, a także w progresji nowotworów [10,34,57]. Białka z rodziny ERM są ściśle kontrolowane przez kinazę ROCK, która aktywuje je, a także stymuluje wypuklanie pęcherzyków migracyjnych z błony [68]. Zatem w pierwszym etapie pęcherzyk wymaga obecności wspomnianych wcześniej białek łącznikowych, a w późniejszym białek

regulujących polimeryzację aktyny [10]. Odbudowywanie struktury mikrofilamentów aktynowych w regionie korowym zatrzymuje tworzenie wypuklenia i przejście do fazy statycznej. Nowo powstała, podbłonowa sieć aktyny na poziomie ultrastrukturalnym przypomina „klatkę” utworzoną z filamentów z oczkami wielkości około 200 nm [11]. Retrakcja, czyli wycofanie pęcherzyka zachodzi z udziałem białek motorycznych, takich jak miozyna II występująca na jego obrzeżach [19], dzięki jej interakcji z filamentami aktynowymi [11,13]. Proces jest kontrolowany przez szlak sygnalizacyjny Rho-ROCK-miozyna [19], czas tej ostatniej fazy wynosi około 2 min. Miozyna II jest aktywowana przez fosforylację łańcuchów lekkich (MLC) z udziałem kinazy



Ryc 5. Powstawanie błonowych wypustek plazmatycznych o charakterze pęcherzyków charakterystycznych dla ruchu ameboidalnego (wg [19] zmodyfikowano)

łańcuchów lekkich (MLCK), która jest zależna od jonów Ca^{2+} i kalmodyliny [67,71]. Kinaza MLCK fosforyluje łańcuch lekki miozyny wywołując w nim zmiany konformacyjne ułatwiające oddziaływanie z aktyną, czego następstwem jest skurcz. Zaobserwowano, że wraz ze wzrostem stężenia jonów wapnia w komórce, zwiększa się proporcjonalnie zdolność do tworzenia naprężeń w cytoszkielecie i skurczu sieci aktomiozynowej. Fosforylacja lekkich łańcuchów miozyny jest procesem odwracalnym, za ich defosforylację odpowiedzialna jest fosfataza lekkich łańcuchów miozyny (MLCP). W wyniku jej działania zahamowana zostaje aktywność ATPazowa aktomiozyny. Dezaktywacja MLCP następuje przez fosforylację jednej z jej podjednostek. Pobudzenie kinazy ROCK w wyniku związania RhoA rozpoczyna proces fosforylacji MLCP, a to powoduje jej inaktywację i prowadzi do aktywacji aktomiozyny i jej skurczu [70]. Kinaza ROCK fosforyluje również te same reszty aminokwasowe lekkich łańcuchów miozyny, co MLCK [67,86]; opisany proces przedstawiono na ryc. 6.

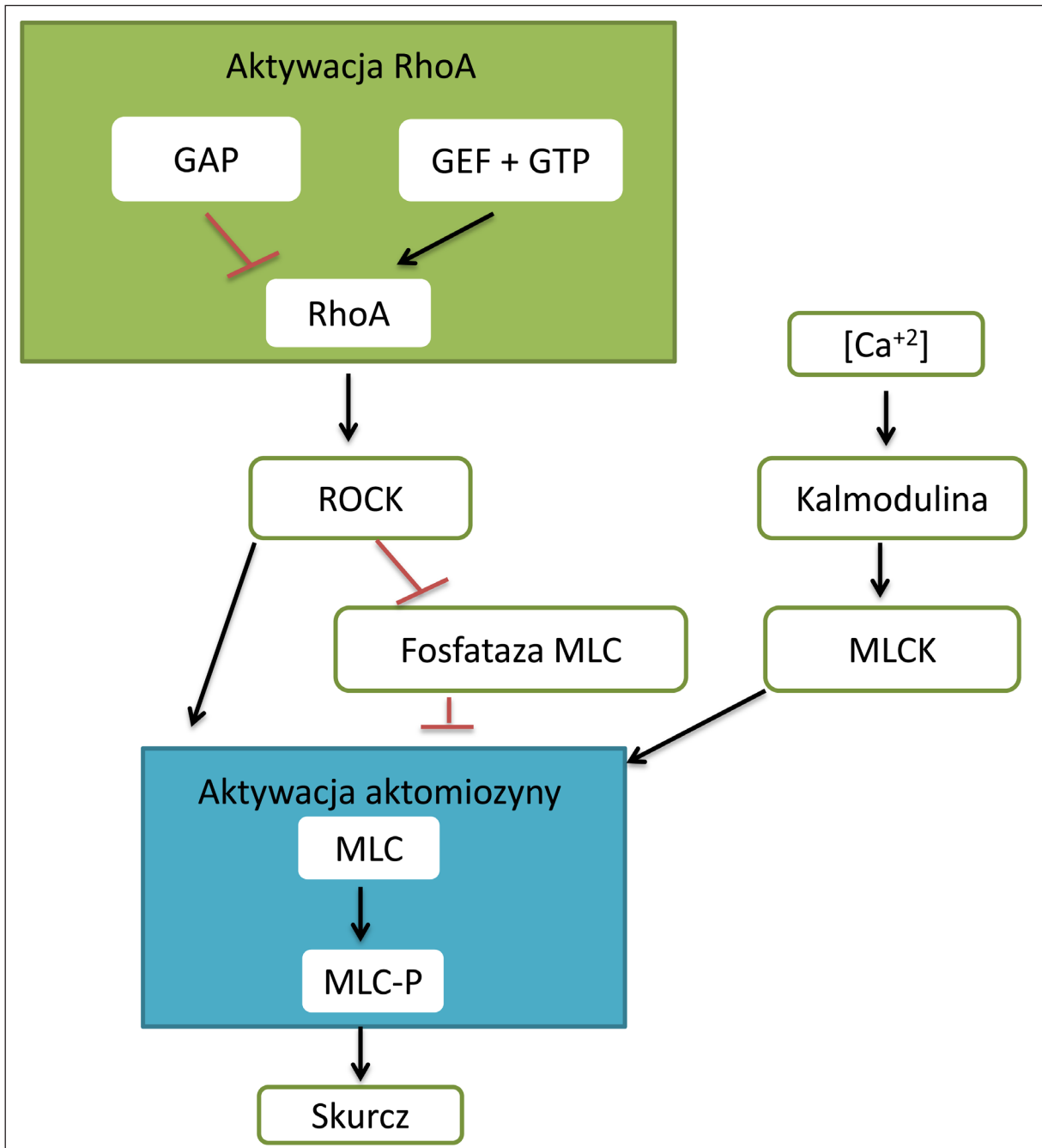
Wpływ białek oddziałujących z aktyną na mechanizm ruchu ameboidalnego

Rola białek oddziałujących z aktyną w ruchu ameboidalnym nie jest jeszcze dokładnie poznana. Istnieją doniesienia dotyczące udziału kompleksu Arp2/3 w tym procesie. Kompleks jest zbudowany z dwóch podstawowych białek o podobnej masie i z pięciu dodatkowych podjednostek. Inicjuje nukleację, czyli tworzenie zarodków nowych filamentów i odgałęzień od już istniejących

[16]. Nukleacja aktyny w obrębie korteksu, zachodząca z udziałem kompleksu Arp2/3 oraz białek z rodziny Scar/WAVE uczestniczy w ruchu ameboidalnym [2,7]. Jednak wyniki badań przeprowadzonych na komórkach nabłonkowych linii MCF10A sugerują, że zahamowanie tworzenia kompleksu Arp 2/3 zmniejsza ich zdolność do migracji mezenchymalnej, obniża oddziaływanie komórek z macierzą pozakomórkową, a także 8-krotnie zmniejsza adhezję komórki do podłoża na krawędzi wiodącej. Obniżenie poziomu białek kompleksu Arp 2/3 wpływa więc w tym przypadku na zmianę morfologii komórek na zaokrągloną i sprzyja powstawaniu wypustek typu pęcherzyków migracyjnych [3].

W migracji ameboidalnej biorą udział również białka z rodziny formin. Mogą wzmacniać szlaki przekazywania sygnału z udziałem Rho/ROCK, przyczyniając się tym samym do tworzenia pęcherzyków migracyjnych [19,20,41]. Formina mDia1 również bierze udział w nukleacji aktyny wchodzącej w skład korteksu, który odpowiada za skurcz generujący ruch komórki migrującej ameboidalnie [7].

Najistotniejszą rolę w tym typie migracji, w przypadku komórek nowotworowych, pełnią jednak białka z rodziny ERM – ezryna, radyksyna, moezyna, należące do białek adaptorowych. Za pośrednictwem połączeń z białkami błonowymi są zaangażowane w wiele procesów cytofizjologicznych. Wiedza dotycząca ezryny i moezyny jest dość rozległa: uczestniczą w wielu procesach związa-



Ryc. 6. Regulacja fosforylacji krótkich łańcuchów miozyny (wg [67] zmodyfikowano)

nych z polaryzacją komórki i ruchem. Ezryna, to jedno z pierwszych białek zaobserwowanych w początkowych etapach procesu powstawania pęcherzyków migracyjnych. Pojawia się przed polimeryzacją aktyny i napływem białek sieciujących, po czym wiąże cytoskielet aktynowy do błony komórkowej [10,19,62,68]. Dane dotyczące jej poziomu i umiejscowienia w komórkach tworzących pęcherzyki są jednak niejednoznaczne. Niektórzy badacze wskazują, że podczas formowania pęcherzyka ezryna jest obecna głównie w tylnej części komórki, co zmniejsza adhezję kortexu do błony w obrębie krawędzi wiodącej i wspiera powstawanie

„bleba” w tej części komórki [51,62,74]. Jednak badania naszego zespołu wykazały obecność ezryny w przedniej części komórek nowotworu jelita [57]. Wykazano również, że ezryna odgrywa istotną rolę w stabilizacji połączenia między aktyną korową i błoną w zanikającym pęcherzyku [11,12]. Wydaje się więc, iż ezryna jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania pęcherzyka na kolejnych etapach jego życia.

Zdecydowanie mniej wiadomo natomiast o radyksynie; wykazano, iż jest to białko niezbędne do migracji komórek raka stercza PC3, a jego brak wzmaga powsta-

wanie oddziaływań międzykomórkowych. Pozbawienie komórek radyksyny zwiększa poziom aktywnego białka Rac1, przy jednoczesnym zachowaniu stałego poziomu aktywnych GTPaz Cdc42 i RhoA, co obniża ich zdolność do migracji ameboidalnej [82]. Ponadto białka ERM ułatwiają dysocjację inhibitora GDI od białka Rho, wspomagając tym samym wymianę GDP na GTP w obrębie tego białka i zwiększając jego aktywność [38].

Badania nad komórkami czerniaka złośliwego linii M2, wykazały natomiast, że komórka pozbawiona białka wiążącego aktyne – filaminy A, ma większą zdolność do tworzenia pęcherzyków migracyjnych [15]. Taką samą prawidłowość zauważono w przypadku braku taliny, należącej podobnie jak filamina do białek ognisk adhezyjnych [85].

Badania nad ruchem ameboidalnym komórek nowotworowych wskazują również na udział akwaporyn, czyli kanałów uczestniczących w transporcie wody, w tworzeniu pęcherzyków. Zdjęcia z mikroskopu elektronowego obrazujące pęcherzyki migracyjne w komórkach mięsaka wykazały, że na krawędzi wiodącej komórki są obecne, bogate w potas, pseudowakuole. Wskazuje to na udział tych struktur w tworzeniu wypustek w postaci pęcherzyków przez wytwarzanie lokalnego wzrostu ciśnienia osmotycznego i pęcznienie komórki [62].

PLASTYCZNOŚĆ MIGRACJI KOMÓREK NOWOTWOROWYCH

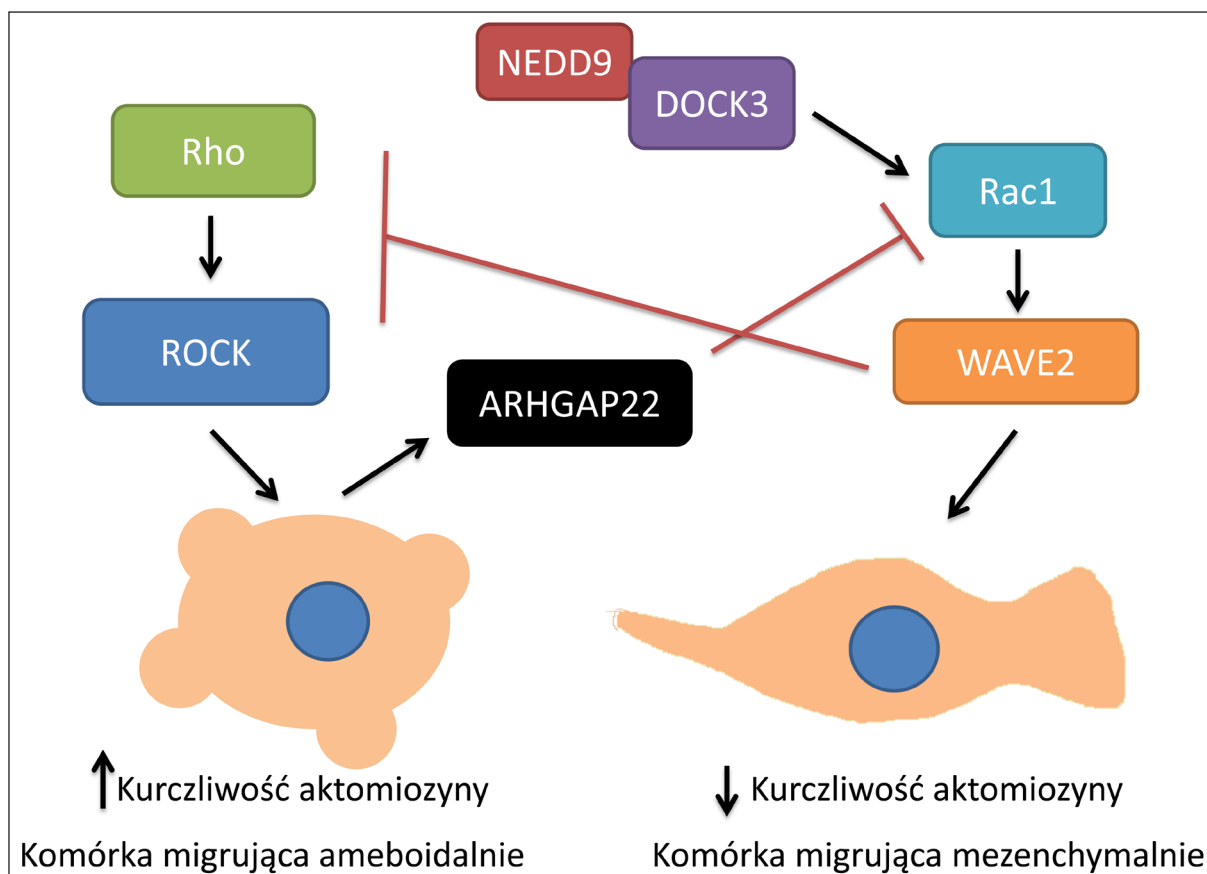
Zmiany typów migracji następują podczas trwania wielu procesów: począwszy od embrionalnego rozwoju organizmów, poprzez gojenie się ran, aż do tworzenia przerzutów nowotworowych. Plastyczność migracji objawia się zmianami fenotypowymi i adaptacyjnymi komórek nowotworowych wynikającymi z odpowiedzi na zmieniające się warunki środowiska [76,77,78,88]. Jednym z takich czynników może być stopień usieciowania macierzy pozakomórkowej. Komórki migrujące mezenchymalnie preferują gęstą, „sztywną” macierz, która zapewnia im odpowiednie warunki do silnych oddziaływań komórka-macierz. Komórki migrujące ameboidalnie natomiast sprawniej migrują w środowisku bardziej „miękkim” (o mniejszym stopniu usieciowania), ponieważ w takich warunkach mogą się przecisnąć przez istniejące w obrębie macierzy przestrzenie nie wykorzystując w tym celu metaloproteinaz [8,17]. Podczas zmiany typu migracji niejednokrotnie dochodzi do kompleksowych przeobrażeń strukturalnych w komórkach, z którymi często wiąże się zwiększenie inwazyjności. Plastyczność migracji ujawnia się przez: przejście epithelialno-mezenchymalne (EMT) i proces do niego odwrotny zwany przejściem mezenchymalno-epithelialnym (MET). Znana jest również zmiana sposobu migracji z mezenchymalnego na ameboidalny (MAT) i z ameboidalnego na mezenchymalny (AMT) oraz poznane w mniejszym stopniu przejście kolektywno-ameboidalne (CAT) [27,44]. Różne typy migracji są następstwem reakcji komórek na antagonistyczne działanie GTP-az Rho i Rac [36].

Przejście mezenchymalno-ameboidalne i ameboidalno-mezenchymalne

Przejścia mezenchymalno-ameboidalne i ameboidalno-mezenchymalne są ściśle zależne od kurczliwości aktomiozynowej, w której pośredniczy sygnalizacja Rho/ROCK. Często występującym związkem modulującym przejście MAT/AMT jest kinaza białkowa PDK1 (phosphoinositide-dependent kinase-1), która wpływa na aktywację ROCK w błonie komórkowej i prowadzi do zmiany typu migracji na ameboidalny [63]. Do przejścia MAT może również się przyczyniać obecność przeciwciał blokujących działanie integryn (np. integryny $\beta 1$) lub inhibitorów proteaz (w tym metaloproteinaz macierzy) [35,83,89].

Migracja mezenchymalna zależy głównie od GTPazy Rac, na jej aktywność wpływa również kinaza ROCK. Szlak sygnałowy z jej udziałem (ryc. 7), zmniejsza aktywność Rac za pośrednictwem, należącego do aktywatorów GAP, białka ARHGAP22. Skutkiem hamowania jest zwiększona kurczliwość sieci aktomiozynowej i przejście komórki do ruchu ameboidalnego [15,78]. Zmiana sposobu migracji komórki z mezenchymalnej na ameboidalną zachodzi również pod wpływem białka DOCK10, które aktywując GTPazę Cdc42, uruchamia drogę przekazywania sygnału, która zmienia sposób migracji komórek czerniaka na ameboidalny [30]. Aktywujący wpływ na GTPazę Rac ma natomiast kompleks białka DOCK3 (z rodziny GEF) i białka łącznikowego NEDD3. Dzięki stymulacji tej GTPazy wspiera migrację mezenchymalną [15,65,78]; białko WAVE 2 jest natomiast inhibitorem GTPazy Rho. Obniżając jej aktywność, powoduje zmniejszenie zdolności komórek do tworzenia pęcherzyków i kurczliwość sieci aktomiozynowej.

Na antagonistyczne oddziaływanie białek Rho i Rac mają również wpływ reaktywne formy tlenu (ROS) [78]. Białko Rac przyłącza się do oksydazy NADPH, powodując jej aktywację i powstawanie anionorodników ponadtlenkowych [81]. Wysoki poziom ROS powoduje inaktywację niskocząsteczkowej białkowej fosfatazy tyrozynowej (LMW-PTP). Ze względu na brak defosforylacji białko aktywujące GTPazę – p190RhoGAP pozostaje aktywne i zmniejsza poziom aktywnego Rho, hamując ameboidalny typ migracji. Odwrotnie, niski poziom reaktywnych form tlenu w komórce zwiększa liczbę komórek o zaokrąglonym kształcie, gdyż dochodzi do defosforylacji p190RhoGAP i stymulacji Rho z jednoczesnym hamowaniem białka Rac z udziałem białka ARHGAP2 [65]. Przejście MAT/AMT jest regulowane także poziomem wspomnianych wcześniej białek NEDD9, ARHGAP22 i DOCK3. Podwyższenie ekspresji genu kodującego ARHGAP22 sprzyja przejściu MAT, a wyciszenie ekspresji tego genu wywołuje proces odwrotny. Antagonistyczną sytuację obserwowano w przypadku wzrostu poziomu białek NEDD9 i DOCK3. Zmieniał typ ruchu komórek nowotworowych z ameboidalnego na mezenchymalny, a ich obniżenie powodowało z kolei przejście MAT [64].



Ryc. 7. Ścieżki sygnałowe determinujące różne sposoby migracji (wg [77] zmodyfikowano)

W proces regulacji aktywności białek z rodziny Rho są zaangażowane również receptory efryn (Eph), wykazujące aktywność kinazową. Po związaniu efryn receptory Eph aktywują ścieżki sygnałowe, w których główną rolę odgrywają białka z rodziny Rho. Przykładem takiego oddziaływania są receptory Eph klasy A (EphA3), których zwiększoną syntezę zaobserwowano w komórkach czerniaka. Stymulują białko RhoA, czego następstwem jest reorganizacja cytoszkieletu i zaokrąglenie komórki, charakterystyczne dla ruchu ameboidalnego [50,58,95]. Receptory Eph klasy B natomiast aktywują GTPazy Rac i Cdc42, wspierając tym samym mezenchymalny typ ruchu. W przemieszczających się komórkach glejaka efryna-B3 występuje z białkiem Rac w obrębie lamellipodium [58,59,96].

Przejście między fenotypami migracyjnymi kontroluje także nowotworowy supresor – p53. Komórki fibroblastów pozbawione p53 oraz komórki czerniaka zawierające zmutowaną wersję p53 zmieniały typ migracji z mezenchymalnego na ameboidalny, czemu towarzyszył wzrost poziomu GTPazy RhoA, zaokrąglony kształt komórek i tworzenie przez nie pęcherzyków migracyjnych [29,67].

Poruszające się ruchem mezenchymalnym komórki wykorzystują mikrotubule podczas ruchu. Ich funkcją jest m.in. podtrzymywanie, regulowanej przez

Cdc42, polarności komórek. Wśród białek normujących dynamikę mikrotubul jest m.in. statmina (znana jako Op18). Badania przeprowadzone na komórkach włóknika wskazały, że statmina destabilizuje mikrotubule, sprzyja ich depolimeryzacji i prowadzi do przejścia MAT [4,5]. Okazuje się również, iż hamowanie polimerizacji mikrotubul z użyciem winkrystyny, będącej alkaloidem o działaniu cytostatycznym, sprzyja inwazji ameboidalnej. Dochodzi do silnego pobudzenia białka GEFH1, które aktywuje ścieżkę RhoA/ROCK i przejścia mezenchymalno-ameboidalnego [19,57]. Na stabilizację mikrotubul wpływa formina DIAPH3. Badania wykazały, że wyciszenie ekspresji jej genu zmienia lokalizację miozyny w regionie podbłonowym, destabilizuje mikrotubule, zmieniając sposób migracji komórek na ameboidalny. W przypadku nadekspresji genu DIAPH3 dochodzi natomiast do podwyższenia poziomu N-kadherine i hamowania tworzenia pęcherzyków migracyjnych [33,57].

Zdolność komórek nowotworowych do zmiany sposobu migracji wiąże się również ze zmianą ich zdolności do tworzenia wypustek. Jak już wspomniano komórki migrujące mezenchymalnie tworzą zazwyczaj lamellipodia na wiodącej krawędzi komórki, natomiast komórki migrujące ameboidalnie poruszają się tworząc pęcherzyki migracyjne typu „blebs”. Jednak opisano również przypadki, gdy komórki poruszające się ameboidalnie

tworzyły raczej struktury typu lamellipodiów [48,99], natomiast komórki silnie adherujące do podłoża tworzyły wypustki typu blebs [40]. W związku z tym pojawiła się teza, iż typ wypustek migracyjnych tworzonych przez komórki może być regulowany w sposób odmienny niż typ ich ruchu, opisywany przez takie parametry jak morfologia komórki, jej spolaryzowanie czy typ kontaktów adhezyjnych z podłożem. Bergert i wsp. wykazali, iż zmniejszenie zdolności komórek do tworzenia rozgałęzionej sieci filamentów aktynowych (z udziałem szlaku białek Rac1 i kompleksu Arp2/3) oraz zwiększenie kurczliwości aktomiozyny powoduje, iż komórki te przestają tworzyć lamellipodia, natomiast inicjują powstawanie pęcherzyków migracyjnych. Zmianom tym nie towarzyszy zmiana kształtu komórek, ich polarność lub zdolności adhezyjnych, a więc typu ich migracji [6]. Powyższe dane wskazują, iż zmiana tworzonych przez komórki wypustek typu lamellipodiów lub pęcherzyków może

następować niezależnie od kompleksowych zmian związanych z przejściami MAT i AMT.

Podsumowując, mechanizmy migracji komórek nowotworowych oraz prawidłowych poznaje się coraz bardziej szczegółowo. Nadal jednak nie zna się odpowiedzi na wiele istotnych pytań. Utrudnia to znacznie zaprogramowanie skutecznych terapii przeciwnowotworowych, które uwzględniałyby nie tylko czynnik oporności komórek na leczenie, ale także wpływałyby hamująco na zdolności migracyjne inwazyjnych komórek nowotworowych i eliminowałyby zjawisko „plastyczności” ruchu tych komórek. Jest to również istotne dla wyjaśnienia niektórych przyczyn zaburzeń procesu gojenia ran, czy też problemów z chemotaksją komórek układu immunologicznego. Dlatego konieczne jest szczegółowe poznanie molekularnych podstaw migracji komórkowej oraz sposobów jej regulacji.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Alexandrova A.Y.: Plasticity of tumor cell migration: acquisition of new properties or return to the past? *Biochemistry*, 2014; 79: 947-963
- [2] Álvarez-González B., Meili R., Firtel R., Bastounis E., Del Álamo J.C., Lasheras J.C.: Cytoskeletal mechanics regulating amoeboid cell locomotion. *Appl. Mech. Rev.*, 2014; 66: 050804
- [3] Beckham Y., Vasquez R.J., Stricker J., Sayegh K., Campillo C., Gardel M.L.: Arp2/3 inhibition induces amoeboid-like protrusions in MC-F10A epithelial cells by reduced cytoskeletal-membrane coupling and focal adhesion assembly. *PLoS One*, 2014; 9: e100943
- [4] Belletti B., Nicoloso M.S., Schiappacassi M., Berton S., Lovat F., Wolf K., Canzonieri V., D'Andrea S., Zucchetto A., Friedl P., Colombatti A., Baldassarre G.: Stathmin activity influences sarcoma cell shape, motility, and metastatic potential. *Mol. Biol. Cell*, 2008; 19: 2003-2013
- [5] Bellone G., Ferrero D., Carbone A., De Quadros M.R., Gramigni C., Prati A., Davidson W., Mioli P., Dughera L., Emanuelli G., Rodeck U.: Inhibition of cell survival and invasive potential of colorectal carcinoma cells by the tyrosine kinase inhibitor STI571. *Cancer Biol. Ther.*, 2004; 3: 385-392
- [6] Bergert M., Chandradoss S.D., Desai R.A., Paluch E.: Cell mechanics control rapid transitions between blebs and lamellipodia during migration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012; 109: 14434-14439
- [7] Bovellan M., Romeo Y., Biro M., Boden A., Chugh P., Yonis A., Vaghela M., Fritzsche M., Moulding D., Thorogate R., Jégou A., Thrasher A.J., Romet-Lemonne G., Roux P.P., Paluch E.K., Charras G.: Cellular control of cortical actin nucleation. *Curr. Biol.*, 2014; 24: 1628-1635
- [8] Brábek J., Mierke C.T., Rösel D., Veselý P., Fabry B.: The role of the tissue microenvironment in the regulation of cancer cell motility and invasion. *Cell. Commun. Signal.*, 2010; 8: 22
- [9] Carragher N.O., Walker S.M., Scott Carragher L.A., Harris F., Sawyer T.K., Brunton V.G., Ozanne B.W., Frame M.C.: Calpain 2 and Src dependence distinguishes mesenchymal and amoeboid modes of tumour cell invasion: a link to integrin function. *Oncogene*, 2006; 25: 5726-5740
- [10] Charras G.T.: A short history of blebbing. *J. Microsc.*, 2008; 231: 466-478
- [11] Charras G.T., Coughlin M., Mitchison T.J., Mahadevan L.: Life and times of a cellular bleb. *Biophys. J.*, 2008; 94: 1836-1853
- [12] Charras G.T., Hu C.K., Coughlin M., Mitchison T.J.: Reassembly of contractile actin cortex in cell blebs. *J. Cell Biol.*, 2006; 175: 477-490
- [13] Chi Q., Yin T., Gregersen H., Deng X., Fan Y., Zhao J., Liao D., Wang G.: Rear actomyosin contractility-driven directional cell migration in three-dimensional matrices: a mechano-chemical coupling mechanism. *J. R. Soc. Interface*, 2014; 11: 20131072
- [14] Condeelis J., Segall J.E.: Intravital imaging of cell movement in tumours. *Nat. Rev. Cancer*, 2003; 3: 921-930
- [15] Croft D.R., Olson M.F.: Regulating the conversion between rounded and elongated modes of cancer cell movement. *Cancer Cell*, 2008; 14: 349-351
- [16] Cunningham C.C., Gorlin J.B., Kwiatkowski D.J., Hartwig J.H., Janmey P.A., Byers H.R., Stossel T.P.: Actin-binding protein requirement for cortical stability and efficient locomotion. *Science*, 1992; 255: 325-327
- [17] Dominguez R.: Actin filament nucleation and elongation factors – structure-function relationships. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 2009; 44: 351-366
- [18] Ehrbar M., Sala A., Lienemann P., Ranga A., Mosiewicz K., Bittermann A., Rizzi S.C., Weber F.E., Lutolf M.P.: Elucidating the role of matrix stiffness in 3D cell migration and remodeling. *Biophys. J.*, 2011; 100: 284-293
- [19] Eitaki M., Yamamori T., Meike S., Yasui H., Inanami O.: Vincristine enhances amoeboid-like motility via GEF-H1/RhoA/ROCK/Myosin light chain signaling in MKN45 cells. *BMC Cancer*, 2012; 12: 469
- [20] Fackler O.T., Grosse R.: Cell motility through plasma membrane blebbing. *J. Cell Biol.*, 2008; 181: 879-884
- [21] Faix J., Grosse R.: Staying in shape with formins. *Dev. Cell*, 2006; 10: 693-706
- [22] Fife C.M., McCarroll J.A., Kavallaris M.: Movers and shakers: cell cytoskeleton in cancer metastasis. *Br. J. Pharmacol.*, 2014; 171: 5507-5523

- [23] Franz C.M., Jones G.E., Ridley A.J.: Cell migration in development and disease. *Dev. Cell*, 2002; 2: 153-158
- [24] Friedl P., Alexander S.: Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity. *Cell*, 2011; 147: 992-1009
- [25] Friedl P., Gilmour D.: Collective cell migration in morphogenesis, regeneration and cancer. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2009; 10: 445-457
- [26] Friedl P., Wolf K.: Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nat. Rev. Cancer*, 2003; 3: 362-374
- [27] Friedl P., Wolf K.: Proteolytic interstitial cell migration: a five-step process. *Cancer Metastasis Rev.*, 2009; 28: 129-135
- [28] Friedl P., Wolf K.: Plasticity of cell migration: a multiscale tuning model. *J. Cell Biol.*, 2010; 188: 11-19
- [29] Gadea G., De Toledo M., Anguille C., Roux P.: Loss of p53 promotes RhoA-ROCK-dependent cell migration and invasion in 3D matrices. *J. Cell Biol.*, 2007; 178: 23-30
- [30] Gadea G., Sanz-Moreno V., Self A., Godi A., Marshall C.J.: DOCK10-mediated Cdc42 activation is necessary for amoeboid invasion of melanoma cells. *Curr. Biol.*, 2008; 18: 1456-1465
- [31] Gerlitz G., Bustin M.: The role of chromatin structure in cell migration. *Trends Cell Biol.*, 2011; 21: 6-11
- [32] Grębecki A.: Dynamics of the contractile system in the pseudopodial tips of normally locomoting amoebae, demonstrated *in vivo* by video-enhancement. *Protoplasma*, 1990; 154: 98-111
- [33] Hager M.H., Morley S., Bielenberg D.R., Gao S., Morello M., Holcomb I.N., Liu W., Mouneimne G., Demichelis F., Kim J., Solomon K.R., Adam R.M., Isaacs W.B., Higgs H.N., Vessella R.L. i wsp.: DIAPH3 governs the cellular transition to the amoeboid tumour phenotype. *EMBO Mol. Med.*, 2012; 4: 743-760
- [34] Hamill O.P., Martinac B.: Molecular basis of mechanotransduction in living cells. *Physiol. Rev.*, 2001; 81: 685-740
- [35] Hodkinson P.S., Mackinnon A.C., Sethi T.: Extracellular matrix regulation of drug resistance in small-cell lung cancer. *Int. J. Radiat. Biol.*, 2007; 83: 733-741
- [36] Hoskin V., Szeto A., Ghaffari A., Greer P.A., Cote G.P., Elliott B.E.: Ezrin regulates focal adhesion and invadopodia dynamics by altering calpain activity to promote breast cancer cell invasion. *Mol. Biol. Cell*, 2015; 26: 3464-3479
- [37] Huang B., Lu M., Jolly M.K., Tsarfaty I., Onuchic J., Ben-Jacob E.: The three-way switch operation of rac1/RhoA GTPase-based circuit controlling amoeboid-hybrid-mesenchymal transition. *Sci. Rep.*, 2014; 4: 6449
- [38] Huttenlocher A., Horwitz A.R.: Integrins in cell migration. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2011; 3: a005074
- [39] Kaibuchi K., Kuroda S., Amano M.: Regulation of the cytoskeleton and cell adhesion by the Rho family GTPases in mammalian cells. *Annu. Rev. Biochem.*, 1999; 68: 459-486
- [40] Kardash E., Reichman-Fried M., Maître J.L., Boldajipour B., Pappusheva E., Messerschmidt E.M., Heisenberg C.P., Raz E.: A role for Rho GTPases and cell-cell adhesion in single-cell motility *in vivo*. *Nat. Cell Biol.*, 2010; 12: 47-53
- [41] Kelly T., Mueller S.C., Yeh Y., Chen W.T.: Invadopodia promote proteolysis of a wide variety of extracellular matrix proteins. *J. Cell. Physiol.*, 1994; 158: 299-308
- [42] Kitzing T.M., Sahadevan A.S., Brandt D.T., Knieling H., Hannemann S., Fackler O.T., Grosshans J., Grosse R.: Positive feedback between Dia1, LARG, and RhoA regulates cell morphology and invasion. *Genes Dev.*, 2007; 21: 1478-1483
- [43] Kłopocka W., Barańska J.: Rola białek z rodziny Rho w kontroli migracji komórek pełzających. *Postępy Biochem.*, 2005; 51: 36-43
- [44] Kłopocka W., Rędowicz M.J., Wasik A.: Regulacja dynamiki cytoszkieletu korykalnego podczas migracji swobodnie żyjących ameb. *Postępy Biochem.*, 2009; 55: 129-137
- [45] Krakhmal N.V., Zavalova M.V., Denisov E.V., Vtorushin S.V., Perelmuter V.M.: Cancer invasion: patterns and mechanisms. *Acta Naturae*, 2015; 7: 17-28
- [46] Lambrechts A., Van Troys M., Ampe C.: The actin cytoskeleton in normal and pathological cell motility. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2004; 36: 1890-1909
- [47] Lämmermann T., Germain R.N.: The multiple faces of leukocyte interstitial migration. *Semin. Immunopathol.*, 2014; 36: 227-251
- [48] Lämmermann T., Sixt M.: Mechanical modes of 'amoeboid' cell migration. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2009; 21: 636-644
- [49] Laser-Azogui A., Diamant-Levi T., Israeli S., Roytman Y., Tsarfaty I.: Met-induced membrane blebbing leads to amoeboid cell motility and invasion. *Oncogene*, 2014; 33: 1788-1798
- [50] Lawrenson I.D., Wimmer-Kleikamp S.H., Lock P., Schoenwaelder S.M., Down M., Boyd A.W., Alewood P.F., Lackmann M.: Ephrin-A5 induces rounding, blebbing and de-adhesion of EphA3-expressing 293t and melanoma cells by CrkII and Rho-mediated signalling. *J. Cell Sci.*, 2002; 115: 1059-1072
- [51] Lerchenberger M., Uhl B., Stark K., Zuchtriegel G., Eckart A., Miller M., Pühr-Westerheide D., Praetner M., Rehberg M., Khandoga A.G., Lauber K., Massberg S., Krombach F., Reichel C.A.: Matrix metalloproteinases modulate amoeboid-like migration of neutrophils through inflamed interstitial tissue. *Blood*, 2013; 122: 770-780
- [52] Liu Y.J., Le Berre M., Lautenschlaeger F., Maiuri P., Callan-Jones A., Heuzé M., Takaki T., Voituriez R., Piel M.: Confinement and low adhesion induce fast amoeboid migration of slow mesenchymal cells. *Cell*, 2015; 160: 659-672
- [53] Lorentzen A., Bamber J., Sadok A., Elson-Schwab I., Marshall C.J.: An ezrin-rich, rigid uropod-like structure directs movement of amoeboid blebbing cells. *J. Cell Sci.*, 2011; 124: 1256-1267
- [54] MacGrath S.M., Koleske A.J.: Invadopodia: RhoC runs rings around cofilin. *Curr. Biol.*, 2011; 21: R280-R282
- [55] Madsen C.D., Sahai E.: Cancer dissemination – lessons from leukocytes. *Dev. Cell.*, 2010; 19: 13-26
- [56] Mannherz H.G., Mach M., Nowak D., Malicka-Błaszkiwicz M., Mazur A.: Lamellipodial and amoeboid cell locomotion: the role of actin-cycling and bleb formation. *Biophys. Rev. Lett.*, 2007; 2: 5-22
- [57] Morley S., Hager M.H., Pollan S.G., Knudsen B., Di Vizio D., Freeman M.R.: Trading in your spindles for blebs: the amoeboid tumor cell phenotype in prostate cancer. *Asian J. Androl.*, 2014; 16: 530-535
- [58] Murai K.K., Pasquale E.B.: 'Eph'ective signaling: forward, reverse and crosstalk. *J. Cell Sci.*, 2003; 116: 2823-2832
- [59] Nakada M., Drake K.L., Nakada S., Niska J.A., Berens M.E.: Ephrin-B3 ligand promotes glioma invasion through activation of Rac1. *Cancer Res.*, 2006; 66: 8492-8500
- [60] Nichols J.M., Veltman D., Kay R.R.: Chemotaxis of a model organism: progress with *Dictyostelium*. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2015; 36: 7-12
- [61] Nowak D., Mazur A.J., Popow-Woźniak A., Radwańska A., Mannherz H.G., Malicka-Błaszkiwicz M.: Subcellular distribution and expression of cofilin and ezrin in human colon adenocarcinoma cell lines with different metastatic potential. *Eur. J. Histochem.*, 2010; 54: e14
- [62] Nowak D., Popow-Woźniak A., Raźnikiewicz L., Malicka-Błaszkiwicz M.: Aktyna w procesie gojenia ran. *Postępy Biochem.*, 2009; 55: 138-144
- [63] Nowak J.M., Grzanka A., Żuryń A., Stępień A.: Rodzina białek Rho i ich rola w cytoszkielecie komórki. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 110-117
- [64] Olson M.F., Sahai E.: The actin cytoskeleton in cancer cell motility. *Clin. Exp. Metastasis*, 2009; 26: 273-287

- [65] Orgaz J.L., Pandya P., Dalmeida R., Karagiannis P., Sanchez-Laorden B., Viros A., Albrengues J., Nestle F.O., Ridley A.J., Gaggioli C., Marais R., Karagiannis S.N., Sanz-Moreno V.: Diverse matrix metalloproteinase functions regulate cancer amoeboid migration. *Nat. Commun.*, 2014; 5: 4255
- [66] Paluch E.K., Raz E.: The role and regulation of blebs in cell migration. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2013; 25: 582-590
- [67] Panková K., Rösel D., Novotný M., Brábek J.: The molecular mechanisms of transition between mesenchymal and amoeboid invasiveness in tumor cells. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2010; 67: 63-71
- [68] Parri M., Chiarugi P.: Rac and Rho GTPases in cancer cell motility control. *Cell Commun. Signal.*, 2010; 8: 23
- [69] Paz H., Pathak N., Yang J.: Invading one step at a time: the role of invadopodia in tumor metastasis. *Oncogene*, 2014; 33: 4193-4202
- [70] Pollard T.D., Borisy G.G.: Cellular motility driven by assembly and disassembly of actin filaments. *Cell*, 2003; 112: 453-465
- [71] Pomorski P.: Regulacja migracji komórek przez jony wapnia. *Postępy Biochem.*, 2009; 55: 163-170
- [72] Popow-Woźniak A., Nowak D., Malicka-Błaszkiwicz M.: Sposoby migracji komórek nowotworowych. *Postępy Biochem.*, 2009; 55: 113-120
- [73] Raucher D., Stauffer T., Chen W., Shen K., Guo S., York J.D., Sheetz M.P., Meyer T.: Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate functions as a second messenger that regulates cytoskeleton-plasma membrane adhesion. *Cell*, 2000; 100: 221-228
- [74] Redowicz M.J.: Rho-associated kinase: involvement in the cytoskeleton regulation. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1999; 364: 122-124
- [75] Redowicz M.J.: Regulation of nonmuscle myosins by heavy chain phosphorylation. *J. Muscle Res. Cell Motil.*, 2001; 22: 163-173
- [76] Ridley A.J.: Rho GTPases and cell migration. *J. Cell Sci.*, 2001; 114: 2713-2722
- [77] Rossy J., Gutjahr M.C., Blaser N., Schlicht D., Niggli V.: Ezrin/moesin in motile Walker 256 carcinosarcoma cells: signal-dependent relocalization and role in migration. *Exp. Cell Res.*, 2007; 313: 1106-1120
- [78] Rottner K., Stradal T.E.: Actin dynamics and turnover in cell motility. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2011; 23: 569-578
- [79] Sabeh F., Shimizu-Hirota R., Weiss S.J.: Protease-dependent versus -independent cancer cell invasion programs: three-dimensional amoeboid movement revisited. *J. Cell Biol.*, 2009; 185: 11-19
- [80] Sahai E., Marshall C.J.: Differing modes of tumour cell invasion have distinct requirements for Rho/ROCK signalling and extracellular proteolysis. *Nat. Cell Biol.*, 2003; 5: 711-719
- [81] Sanz-Moreno V., Gadea G., Ahn J., Paterson H., Marra P., Pinner S., Sahai E., Marshall C.J.: Rac activation and inactivation control plasticity of tumor cell movement. *Cell*, 2008; 135: 510-523
- [82] Sanz-Moreno V., Marshall C.J.: The plasticity of cytoskeletal dynamics underlying neoplastic cell migration. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2010; 22: 690-696
- [83] Schoumacher M., Louvard D., Vignjevic D.: Cytoskeleton networks in basement membrane transmigration. *Eur. J. Cell Biol.*, 2011; 90: 93-99
- [84] Sroka J., Madeja Z.: Udział reaktywnych form tlenu i reduktazy tioredoksyny w regulacji migracji komórek. *Postępy Biochem.*, 2009; 55: 145-152
- [85] Symons M., Segall J.E.: Rac and Rho driving tumor invasion: who's at the wheel? *Genome Biol.*, 2009; 10: 213
- [86] Tinevez J.Y., Schulze U., Salbreux G., Roensch J., Joanny J.F., Paluch E.: Role of cortical tension in bleb growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 18581-18586
- [87] Valderrama F., Thevapala S., Ridley A.J.: Radixin regulates cell migration and cell-cell adhesion through Rac1. *J. Cell Sci.*, 2012; 125: 3310-3319
- [88] van Zijl F., Krupitza G., Mikulits W.: Initial steps of metastasis: cell invasion and endothelial transmigration. *Mutat. Res.*, 2011; 728: 23-34
- [89] Wang X., Enomoto A., Asai N., Kato T., Takahashi M.: Collective invasion of cancer: perspectives from pathology and development. *Pathol. Int.*, 2016; 66: 183-192
- [90] Wang Y., Litvinov R.I., Chen X., Bach T.L., Lian L., Petrich B.G., Monkley S.J., Kanaho Y., Critchley D.R., Sasaki T., Birnbaum M.J., Weisel J.W., Hartwig J., Abrams C.S.: Loss of PIP5KIγ, unlike other PIP5KI isoforms, impairs the integrity of the membrane cytoskeleton in murine megakaryocytes. *J. Clin. Invest.*, 2008; 118: 812-819
- [91] Watanabe T., Hosoya H., Yonemura S.: Regulation of myosin II dynamics by phosphorylation and dephosphorylation of its light chain in epithelial cells. *Mol. Biol. Cell*, 2007; 18: 605-616
- [92] Wolf K., Friedl P.: Functional imaging of pericellular proteolysis in cancer cell invasion. *Biochimie*, 2005; 87: 315-320
- [93] Wolf K., Friedl P.: Extracellular matrix determinants of proteolytic and non-proteolytic cell migration. *Trends Cell Biol.*, 2011; 21: 736-744
- [94] Wolf K., Mazo I., Leung H., Engelke K., von Andrian U.H., Deryugina E.I., Strongin A.Y., Bröcker E.B., Friedl P.: Compensation mechanism in tumor cell migration: mesenchymal-amoeboid transition after blocking of pericellular proteolysis. *J. Cell Biol.*, 2003; 160: 267-277
- [95] Wolf K., Te Lindert M., Krause M., Alexander S., Te Riet J., Willis A.L., Hoffman R.M., Figdor C.G., Weiss S.J., Friedl P.: Physical limits of cell migration: control by ECM space and nuclear deformation and tuning by proteolysis and traction force. *J. Cell Biol.*, 2013; 201: 1069-1084
- [96] Wybieralska E., Łączna E., Madeja Z.: Rola efryn w regulacji migracji komórek nowotworowych. *Postępy Biochem.*, 2009; 55: 153-162
- [97] Wyckoff J.B., Pinner S.E., Gschmeissner S., Condeelis J.S., Sahai E.: ROCK - and myosin-dependent matrix deformation enables protease-independent tumor-cell invasion *in vivo*. *Curr. Biol.*, 2006; 16: 1515-1523
- [98] Yamazaki D., Kurisu S., Takenawa T.: Regulation of cancer cell motility through actin reorganization. *Cancer Sci.*, 2005; 96: 379-386
- [99] Yoshida K., Soldati T.: Dissection of amoeboid movement into two mechanically distinct modes. *J. Cell Sci.*, 2006; 119: 3833-3844
- [100] Zatulovskiy E., Tyson R., Bretschneider T., Kay R.R.: Bleb-driven chemotaxis of *Dictyostelium* cells. *J. Cell Biol.*, 2014; 204: 1027-1044

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.