

## 机械应激的血管生物学意义与动脉粥样硬化

李君牧 综述 廖端芳 审校

(南华大学药物药理研究所, 湖南 衡阳 421001)

**[摘要]** 机械应激在细胞的增殖、分化、凋亡、基因的表达以及组织的生长过程中起重要作用。血管细胞能感受血流机械力的变化,通过激活相应的信号通路调节血管内皮细胞和平滑肌细胞的结构和功能。血流机械力的形式与动脉粥样硬化的发生发展关系密切,阐明其相互关系及作用机制将对动脉粥样硬化的防治产生重大影响。

**[关键词]** 机械应激; 血管内皮; 血管平滑肌细胞; 信号转导; 动脉粥样硬化

**[中图分类号]** R541.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-2588(2008)03-0215-05

### Relationship between vascular biology significance of mechanical stress and atherosclerosis

LI Jun-mu, LIAO Duan-fang

(Institute of Pharmacy and Pharmacology, University of South China, Hengyang Hunan 421001, China)

**[Abstract]** Mechanical stress plays an important role in the cell proliferation, differentiation, apoptosis, gene expression and tissue growth. The mechanical stress can be detected by mechanosensors on vessel cells and converted into specific signaling pathways to mediate the structural and functional remodeling. Patterns of blood stream mechanical force may contribute to the focal distribution of atherosclerotic lesions, It would have great influence on the prevention and treatment of atherosclerosis to illuminate their relations and active mechanism.

**[Key words]** mechanical stress; endothelium; vascular smooth muscle cells; signal transduction; atherosclerosis

[Int J Pathol Clin Med, 2008,28(3):0215-05]

在人体血液循环系统中,血管壁对血流带来的各种刺激(如温度、化学物质、机械运动等)所发生的反应称为应激(stress),如熟悉的热应激(heat stress)、氧化应激(oxidative stress)等。而血液在血管中流动产生的血流机械作用力对血管壁的作用称为机械刺激(mechanical stimulus),血管壁对这种刺激所产生的反应即为机械应激(mechanical stress),机械应激与其他应激一样能够导致血管壁结构及功能发生改变<sup>[1]</sup>。

血流机械作用力包括血流对细胞表面沿切线的剪切力(shear stress)、血液对血管壁静压力(hydrostatic pressure)和血流对血管的牵张力(stretch),这

些作用力对调节细胞的功能和状态有重要影响。为系统地研究血流机械作用力对细胞的作用,目前在体外运用到细胞研究的主要力学装置有3种:(1)流体切应力系统:这种模型模拟体内流体环境,根据流变学原理建立流动小室,利用流动的培养液对附着于培养基质上的细胞产生剪切力。(2)静止压应力系统:这种模型是将细胞培养于一个密闭的容器中,通过气体或流体对此容器产生正性或负性压力。(3)牵张力系统:以弹性膜为基底材料,利用模板、液体或气体对基底膜施加可控的位移或压力作用,引起培养膜发生弹性变形,从而使黏附于膜上的细胞受到相应的牵张力作用。

收稿日期:2007-12-07 修回日期:2008-02-19

作者简介:李君牧(1978-),男,湖南郴州人,硕士研究生,主要从事心血管药理方面的研究。

通讯作者:廖端芳,E-mail:dfliao66@yahoo.com.cn

动脉局部白细胞和单核细胞的浸润,脂蛋白的摄取和代谢,平滑肌细胞的增殖和迁移,以及内皮细胞的功能状态,都是影响动脉粥样硬化发生的重要因素。动脉粥样硬化斑块的形成在血管床中不是随处发生的,它们多发生在动脉分叉和转弯处,而这些部位血流形成的流体动力学环境与直行部位血管内的血流动力学条件不同,其特点表现为湍流、低切应力和不稳定等现象共存;另有学者将发生了动脉粥样硬化病变的动脉血管移植到静脉血管上,发现动脉硬化病变的斑块面积减少;将静脉血管移植到发生动脉粥样硬化病变的血管上,发现该静脉也出现了动脉粥样斑块;这些都说明局部的血液动力学特性等物理因素在动脉粥样硬化的形成过程中发挥了重要作用。实验证据表明,内皮细胞和平滑肌细胞上的感受器能够感受到这些作用力的变化,通过激活特定的信号通路调节不同基因和蛋白质的表达影响内皮细胞和平滑肌细胞的结构和功能。因此,阐明血液动力学因素作用的分子机制将对机械应激所致的疾病如高血压和动脉粥样硬化的防治产生重大影响<sup>[2-3]</sup>。

## 1 机械应激感受器

血液动力学因素能通过内皮细胞或平滑肌细胞将机械刺激转化为生化信号,与剪切力作用于内皮细胞相比,牵张力和静压力对血管平滑肌细胞的作用机制仍未阐明,但它们有很多相似之处。目前已发现多种膜感受器分子能感知机械应激,包括整合素家族分子(integrins)、受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)、caveolin、G蛋白、离子通道、细胞骨架等都具有感受器的功能。

**1.1 整合素家族黏附分子(integrins)** 整合素家族黏附分子是由 $\alpha$ 和 $\beta$ 亚基组成的二聚体糖蛋白,主要介导细胞与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的相互作用,在细胞黏附、细胞迁移、细胞生长分化和炎症中发挥重要作用。实际上,它们也是重要的机械应激感受器分子。 $\alpha_v\beta_3$ 是血管内皮细胞中重要的整合素分子,血流剪切力能引起其与接头分子(adaptor) Shc的结合,进而通过Shc-Grb2-Sos激活Ras蛋白,上调ERK和JNK的活性,血管内皮中的整合素分子 $\beta_1$ 也参与了机械信号的转导。此外,整合素能感知血管平滑肌细胞中牵张力引起的力传导,使用抗体或RGD(一种人工合成的含有精氨酸-甘氨酸-天门冬氨酸的环八肽)阻断肽段阻断整合

素,对牵张力诱导的血管平滑肌细胞的增殖和凋亡产生了明显的影响,牵张力通过Shc诱导整合素的激活在体外实验中也得到了证实。

**1.2 受体酪氨酸蛋白激酶(receptor tyrosine kinases, RTK)** RTK是跨膜的受体蛋白,在配体刺激下它能发生自身酪氨酸残基的磷酸化并与多种下游信号分子如Shc等的SH2结构域结合而激活下游的信号通路,如Ras-JNK途径。血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial cell growth factor, VEGF)受体TLK是RTK的一种,除能被其化学配体VEGF活化外,血流剪切力也能独立激活FLK,引起FLK的寡聚化和自身磷酸化并激活下游信号通路。血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)受体是平滑肌细胞中另一种RTK,可被机械牵张力迅速激活。此外,牵张力也能诱导EGF受体(EGFR)磷酸化及衔接蛋白Shc, Grb2的恢复,从而激活ERK1/2。这些结果说明RTK在细胞感知机械应激方面起重要作用。

**1.3 离子通道** 实验表明机械牵张力能够激活内皮细胞中的钙离子通道,引起钙离子内流。同样在平滑肌细胞中,牵张力可激活非选择性的阳离子( $K^+$ ,  $Na^+$ 和 $Ca^{2+}$ )通道。另外牵张力也能刺激细胞内的钙离子库释放 $Ca^{2+}$ ,导致胞浆 $Ca^{2+}$ 增加。与正常血压的小鼠相比,自发性高血压小鼠(SHR)离体血管平滑肌细胞中 $Na^+$ 和 $Ca^{2+}$ 通道对牵张力的激活作用更敏感。这些结果说明离子通道可能是一种重要的机械应激感受分子。

**1.4 其他感受器分子** G蛋白分为小分子G蛋白(ras蛋白和ras超家族成员)、异源三聚体G蛋白( $G\alpha$ ,  $G\beta$ ,  $G\gamma$ ),越来越多的证据表明G蛋白在机械应激诱导的信号转导中发挥重要作用。Caveolae是细胞膜上一种富含胆固醇的局部凹陷结构,它与许多信号分子如Ras, G蛋白, PKC, Shc, Grb2, Sos等的关系十分密切,在信号转导中起重要作用。有实验表明通过胆固醇移除破坏caveolae,能阻碍牵张力诱导的ERK1/2的激活,有人认为牵张力诱导的ERK激活来自于caveolin-1易位到非caveolae区域,说明caveolin也参与了机械信号转导。

无论内皮细胞或平滑肌细胞都是一个有机联系的整体,细胞膜上的感受器分子能很快地感受到血流机械作用力的变化,然后通过细胞骨架将这些信号转导到细胞内的其他部位如细胞核乃至胞间连接

(cell-cell junction)等,引起细胞整体的生理反应。机械信号的转导并非由某一感受器介导的自上而下的单一通路,而是细胞内多种信号通路协调反馈的复杂整合过程。

## 2 机械应激引起的血管生物学效应与动脉粥样硬化

应力反应元件(stress responsive element, SRE)是存在于细胞基因的启动子内并且能够被应力所诱导的启动基因转录的顺式调控元件,它们能分别与多种转录因子如 NF- $\kappa$ B, Egr-1 (early growth response-1), AP-1 (activator protein-1) 和 SP1 (stimulatory protein-1) 等作用来调节基因的表达<sup>[4]</sup>。血液机械作用力对细胞的刺激通过感受器分子的转化和信号通路的转导影响到一系列转录因子如 AP-1, NF- $\kappa$ B 和 PPAR $\gamma$  等的表达,这些转录因子的变化则可引起与动脉粥样硬化相关的生物学效应。

**2.1 机械应激与细胞增殖** 机械应激与血管细胞增殖密切相关。在体内尤其是在内皮细胞受到损伤后,非层流剪切力能够刺激平滑肌细胞增殖,大量的体外实验证实了这一发现。此外,有实验发现周期性牵张力及剪切力可经 PDGFR-ras/raf/ERKs-API 信号通路诱导平滑肌细胞增殖<sup>[5]</sup>。机械牵张力也能激活静脉血管平滑肌细胞中的 IGF-1/IGF-1R 信号通路,导致平滑肌细胞增殖,在静脉移植中,这一信号通路能促使新内膜的生成<sup>[6]</sup>。应用 P38MAPK 抑制剂 SB203580 能部分地阻滞周期性牵张力诱导的平滑肌细胞的增殖,表明 P38MAPK 在机械应激诱导的平滑肌细胞增殖效应中起作用<sup>[7]</sup>。GPCRs-PLC-PKC 信号通路也介导了机械应激诱导的平滑肌细胞的增殖和迁移<sup>[8-9]</sup>。由此可见,在体内机械应激能够同时激活多条信号通路,导致细胞增殖。

**2.2 机械应激与细胞迁移** 机械应激能够导致平滑肌细胞迁移,这是动脉粥样硬化发生的重要因素。机械牵张力能够激活 PKC $\delta$  并使其易位到细胞骨架,平滑肌细胞的移行减少,这表明 PKC $\delta$  在机械应激和细胞迁移中是一个关键的信号转导蛋白<sup>[8]</sup>。此外,研究表明有一系列信号分子介导了机械应激诱导的平滑肌细胞的迁移<sup>[10]</sup>,在颈动脉结扎鼠中, $\beta_3$ -整合素介导了平滑肌细胞在内膜的聚集<sup>[11]</sup>,尿激酶和基质金属蛋白酶介导了脉压或周期性牵张力诱导的血管平滑肌细胞的移行<sup>[12]</sup>;相反,在体外剪切力经由下调 PDGFR $\beta$ 、基质金属蛋白酶-2 的表达

抑制了平滑肌细胞的侵袭和迁移<sup>[13-14]</sup>。不同机械应激导致平滑肌细胞的增殖和迁移存在差别,其分子机制仍需进一步研究。

**2.3 机械应激与细胞凋亡**  $\beta_1$ -整合素是机械牵张力诱导细胞凋亡的启动因子,机械应激诱导激活 P38MAPK 和 JNK,并能损伤细胞 DNA,最终导致平滑肌细胞凋亡<sup>[15]</sup>。机械应激诱导的平滑肌细胞凋亡依赖 P53, rac-P38MAPK 信号通路介导了这一过程<sup>[16]</sup>。有实验证明, ras/rac/-P38MAPK-NF $\kappa$ B 信号通路也与机械应激诱导的平滑肌细胞凋亡有关<sup>[9]</sup>;此外,机械应激经由 CBF-1/RBP-JK 依赖的 notches1 和 3 受体信号通路导致平滑肌细胞的生长、凋亡和迁移<sup>[17-18]</sup>。

**2.4 机械应激与细胞分化** 在动脉粥样硬化及血管成形术导致血管的机械损伤中,平滑肌细胞都参与了相关的炎症和分化过程。血流机械作用力影响平滑肌细胞的表型及其分化增殖的程度,机械牵张力对平滑肌细胞表型和增殖的影响尤为明显。动脉粥样硬化斑块中平滑肌细胞的表型与中膜的存在差异,这种差异是平滑肌细胞迁移和增殖的结果。实验发现,在细胞凋亡后,移植到颈动脉的静脉其新内膜中平滑肌细胞的出现要早于中膜<sup>[19]</sup>;静脉移植性动脉粥样硬化、动脉损伤后形成的新斑块和高胆固醇血症诱导的动脉粥样硬化中的平滑肌细胞主要来源于血管壁中的祖细胞。

在体外,机械应激能够促进骨髓基质细胞中平滑肌特异性骨架蛋白的表达;此外,切应力也可以诱导胚胎干细胞转化为内皮细胞;动脉粥样硬化是由特定区域的内皮细胞死亡引起的病理生理过程,在血流分叉处内皮性祖细胞取代了死亡的内皮细胞;非内皮细胞分化到成熟的内皮细胞需要几天或几周时间,在此期间 LDL 会沉积在内膜,血液中的单核细胞也会黏附到非内皮细胞上并迁移到内皮下,同时血液中的祖细胞从外膜迁移到内膜并增殖和分化成新的平滑肌细胞<sup>[20]</sup>。总的来说,新内膜中的平滑肌细胞来源于两种类型的细胞,一是来源于中膜的平滑肌细胞,另一种来源于祖细胞。目前,关于机械应激激活中膜平滑肌细胞和祖细胞并诱导其分化到新内膜平滑肌细胞的分子机制仍然不清楚。

**2.5 机械应激与细胞炎症** 动脉粥样硬化与炎症的关系十分密切,与动脉直部相比,动脉弯曲和分枝部位不仅对 LDL 具有高通透性,而且也是内皮下

巨噬细胞聚集的好发部位,这说明在动脉粥样硬化的发生过程中炎症发挥了重要作用。NF- $\kappa$ B 是重要的致炎和致动脉粥样硬化的转录因子,其靶基因如 MCP-1, ICAM-1 和 VCAM-1 的高表达能促进白细胞的聚集和炎症反应。IL-6 是一种致炎细胞因子,静脉旁路移植术中动脉粥样病变区 IL-6 高表达,这与生物机械应激变化相关;有实验表明,机械牵张力经由 ras/p38MAPK/NF- $\kappa$ B /NF-IL-6 通路诱导 IL-6 的表达,从而促进动脉粥样硬化的发生<sup>[9]</sup>。

### 3 结语

血液机械作用力是调节动脉血管细胞(内皮细胞和平滑肌细胞)结构和功能的重要因素,血流变化等机械信号通过血管细胞上的感受器分子转化为生化信号并激活特定的信号通路调节细胞的结构和功能。不同形式的机械应激对细胞的影响不同,目前对于血流切应力的研究较为深入,其与动脉粥样硬化的发生发展之间的密切关系也已经有了一定了解;其实血流牵张力及静压力对动脉粥样硬化的发生发展的影响同样不能忽视,尤其是在病理情况下(如经皮血管成形术后),内皮受损、中膜的平滑肌细胞受趋化因子的作用迁移至内膜下,能直接与静压力发生相互作用,此时的静压力对促进动脉粥样硬化的发生起重要作用,另外人体血压不是恒定的,而是在一定范围内波动,即具有血压波动性(blood pressure variability, BPV),这种血流动力学形式比在体外单纯采用某一模式要复杂的多,而它对血管功能的影响也较大,这些方面研究都相对较少。在体内内皮细胞和平滑肌细胞是同时存在的,两者相互影响,内皮细胞对调节平滑肌细胞的功能起重要作用,因而在体外的实验中,血流机械作用力对单层培养的细胞及共培养细胞的影响也存在着差别,了解这些差异有助于进一步探讨血流机械作用力的分子机制。研究血流变化与动脉粥样硬化形成之间的关系以及作用机制,对于进一步揭示动脉粥样硬化的本质,探索预防和治疗动脉粥样硬化的新方法有重要意义。目前已有研究试图通过改变血流剪切力来促进血管再生;在人造血管的设计和构建中已开始考虑到血流动力学的作用,运用血流作用力对人造血管进行预处理。总之,关于血流机械作用力对血管生物学作用的研究有着广阔的应用前景。

### 参 考 文 献

[1] Dajnowicz D, Sabatini PJ, Van Rossum TC, et al. Force-induced

polarized mitosis of endothelial and smooth muscle cells in arterial remodeling[J]. *Hypertension*, 2007, 50(1):255-260.

- [2] Li C, Xu Q. Mechanical stress-initiated signal transduction in vascular smooth muscle cells in vitro and in vivo[J]. *Cell Signal*, 2007, 19(5):881-891.
- [3] Li YS, Haga JH, Chien S. Molecular basis of the effects of shear stress on vascular endothelial cells[J]. *J Biomech*, 2005, 38(10):1949-1971.
- [4] Wang J, Su M, Fan J, et al. Transcriptional regulation of a contractile gene by mechanical forces applied through integrins in osteoblasts[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(25):22889-22895.
- [5] Hu Y, Bock G, Wick G, et al. Activation of PDGF receptor alpha in vascular smooth muscle cells by mechanical stress[J]. *FASEB J*, 1998, 12(12):1135-1142.
- [6] Cheng J, Du J. Mechanical stretch simulates proliferation of venous smooth muscle cells through activation of the insulin-like growth factor-1 receptor[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(8):1744-1751.
- [7] Li C, Hu Y, Sturm G, et al. Ras/Rac-Dependent activation of p38 mitogen-activated protein kinases in smooth muscle cells stimulated by cyclic strain stress[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000, 20(3):E1-E9.
- [8] Li C, Wernig F, Leitges M, et al. Mechanical stress-activated PKC-delta regulates smooth muscle cell migration[J]. *FASEB J*, 2003, 17(14):2106-2108.
- [9] Zampetaki A, Zhang Z, Hu Y, et al. Biomechanical stress induces IL-6 expression in smooth muscle cells via Ras/Rac1-p38 MAPK-NF-kappaB signaling pathways[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 288(6):H2946-H2954.
- [10] Goldman J, Zhong L, Liu SQ. Negative regulation of vascular smooth muscle cell migration by blood shear stress[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292(2):H928-H938.
- [11] Choi ET, Khan MF, Leidenfrost JE, et al. Beta3-integrin mediates smooth muscle cell accumulation in neointima after carotid ligation in mice[J]. *Circulation*, 2004, 109(12):1564-1569.
- [12] Redmond EM, Cahill PA, Hirsch M, et al. Effect of pulse pressure on vascular smooth muscle cell migration: the role of urokinase and matrix metalloproteinase[J]. *Thromb Haemost*, 1999, 81(2):293-300.
- [13] Palumbo R, Gaetano C, Melillo G, et al. Shear stress downregulation of platelet-derived growth factor receptor-beta and matrix metalloproteinase-2 is associated with inhibition of smooth muscle cell invasion and migration[J]. *Circulation*, 2000, 102(2):225-230.
- [14] Garanich JS, Pahakis M, Tarbell JM. Shear stress inhibits smooth muscle cell migration via nitric oxide-mediated downregulation of matrix metalloproteinase-2 activity[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 288(5):H2244-H2252.
- [15] Cheng WP, Hung HF, Wang BW, et al. The molecular regulation of GADD153 in apoptosis of cultured vascular smooth muscle cells by cyclic mechanical stretch[J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 77(3):

551-559.

[16] Mayr M, Hu Y, Hainaut H, et al. Mechanical stress-induced DNA damage and rac-p38MAPK signal pathways mediate p53-dependent apoptosis in vascular smooth muscle cells[J]. FASEB J, 2002, 16(11):1423-1425.

[17] Morrow D, Sweeney C, Birney YA, et al. Cyclic strain inhibits Notch receptor signaling in vascular smooth muscle cells in vitro [J]. Circ Res, 2005, 96(5):567-575.

[18] Sweeney C, Morrow D, Birney YA, et al. Notch 1 and 3 receptor

signaling modulates vascular smooth muscle cell growth, apoptosis, and migration via a CBF-1/RBP-Jk dependent pathway[J]. FASEB J, 2004, 18(12):1421-1423.

[19] Xu Q, Zhang Z, Davison F, et al. Circulating progenitor cells regenerate endothelium of vein graft atherosclerosis, which is diminished in ApoE-deficient mice [J]. Circ Res, 2003, 93(8):e76-e86.

[20] Xu Q. The impact of progenitor cells in atherosclerosis[J]. Nat Clin Pract Cardiovasc Med, 2006, 3(2):94-101.

# 《国际病理科学与临床杂志》

## 2008年征订启事

《国际病理科学与临床杂志》(原名《国外医学·生理、病理科学与临床分册》)创刊于1981年,为教育部主管、中南大学主办的国家级医学学术期刊,为"中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)",并被美国《化学文摘》(CA)等国内外多家重要数据库和检索系统收录,已成为病理科学与临床医学领域中颇具影响力的期刊。本刊主要栏目有"综述"、"研究论著"、"专家论坛"、"热点快讯"、"成果报道"等。

本刊为双月刊,逢双月末出版,16开,国内外公开发行人。期定价10元,全年定价60元,国内统一刊号:CN 43-1458/R,国际标准刊号:ISSN 1673-2588;国内邮发代号:42-35,国外邮发代号:BM6564;各地邮局(所)均可订阅,漏订者也可直接汇款至湖南省长沙市湘雅路110号湘雅医学院50号信箱《国际病理科学与临床杂志》编辑部,邮政编码:410078,订阅者请在汇款单附言注明所订刊物的年度、期号和册数。

编辑部电话:0731-4805495,4805496 转 809;传真:0731-4804351;E-mail:gwyxy@126.com;gwyxy@vip.163.com