

流体剪应力对血管内皮细胞的作用研究与应用

胡 江 综述 陈槐卿^① 审校

中国科学院力学研究所微重力室(北京 100080)

摘 要 血管内皮层具有重要的生理功能。血流剪应力作用影响内皮细胞的形态结构、功能、增殖和迁移过程,其作用是通过应力转导途径实现的。对应力转导的深入研究,不仅揭示了人体血管内的许多生理过程,解释动脉粥样硬化等心血管疾病的病理机理,而且可将其机理应用于改进临床治疗手段。

关键词 剪应力 内皮细胞 应力转导 内皮化

1 前言

血管内表面覆盖有一层内皮细胞,为血管提供一个光滑表面和相对屏障。血管内皮细胞的功能广泛而活跃。血管内皮细胞通过分泌多种活性因子,并调节这些因子的平衡来发挥其重要的生物学效应,其中包括保持血管的舒张与收缩平衡、抑制血细胞与血管内皮细胞的粘附作用、抑制血栓形成从而保持血流通畅、调节血管平滑肌的增殖等。因此,内皮细胞层对血管的结构与功能具有重要的调节和保护作用^[1]。

血管内皮细胞在体内不断地受到血流动力作用,这种血流动力环境对内皮细胞的结构与功能产生重要的影响。在一定程度上,血管内皮细胞具有调节自身结构与功能来适应血流动力的特性。血流产生的应力作用包括正应力和剪切应力,以及周向的拉伸应变^[2]。目前对血流剪应力的深入研究,揭示了剪应力对血管内皮层的影响及其作用机理,并已开始在此基础上将这些原理应用于临床治疗方法的改进。

2 流体剪应力对血管内皮细胞的影响

目前,利用平板流动腔等体外模拟装置,取得了大量的实验结果,并在体内得到了部分验证。根据效应发生的时间,可分为早期、中期和晚期效应。早期效应包括膜电位与第二信使的变化,中期效应主要是信号转导和基因表达的变化,晚期效应是细胞形态结构的改变。

在不同的剪应力作用下,血管内皮细胞表现出不同的形态结构^[3]。正常生理条件下,血管壁的剪应力大小范围为:静脉 0~0.5Pa,动脉 0.6~3Pa,狭窄血管 3~25Pa。在静脉中,通常是紊流、低剪应力作用,血管内皮细胞呈多角形,细胞骨架散在分布,细胞间连接较疏散。在动脉中,剪应力较高,内皮细胞呈与血管方向一致的细长流线型,细胞骨架成分表达高并有序排列成平行束状,方向与血流方向一致,细胞间连接紧密。在体外进行的平板流动腔实验表明,培养的内皮细胞在剪应力作用几小时内即发生张力纤维的重排。与之相比,静态培养的细胞张力纤维无定向排列。这种细胞骨架的变化与形态变化有很好的一致性,用使微丝解聚的细胞松弛素处理,破坏张力纤维的形成,结果发现在剪应力作用下细胞形态变化减小^[4]。

^① 华西医科大学生物医学工程研究室

剪应力对血管内皮细胞功能的影响是多方面的,包括细胞吞饮作用、血管活性因子的合成与释放、血细胞与内皮层的相互作用等等。剪应力显著影响内皮细胞的吞饮囊泡形成速率。高剪应力提高内皮细胞对低密度脂蛋白的结合、摄取和降解,但其具体调控途径尚不清楚^[5]。内皮层可分泌多种血管活性因子,其中,内皮衍生松弛因子和前列环素调节血管的舒张,血管紧张素-1与内皮素调节血管收缩。前列环素是血管内皮细胞分泌的强效血管扩张剂和血小板聚集抑制剂,可调节局部血流,防止血栓发生。体内和体外实验表明,多种血管活性因子的合成与分泌受到剪应力作用的调节^[6]。在剪应力作用下,血细胞与内皮层的相互作用也发生变化。特别是白细胞与内皮层的粘附具有重要的生理意义。剪应力可通过影响与粘附有关的粘附分子,如整合素家族、免疫球蛋白超家族、选择素家族成员等的表达,从而影响血细胞与内皮层粘附过程^[7]。

剪应力对内皮细胞的生长产生一定的影响。对于体外培养的未形成单层的牛主动脉内皮细胞,在剪应力作用下,并不刺激细胞从静止期进入有丝分裂期,生长速率与静态培养相同。而过大的剪应力作用会抑制细胞分裂过程,阻止细胞周期进程^[8]。体内研究表明,内皮层损伤再生受剪应力作用较大。内皮层的损伤再生通过内皮细胞的迁移和增殖来实现。剪应力作用可显著影响细胞的迁移过程^[9]。

3 剪应力信号转导机理

剪应力信号转导包括传递与传导过程。内皮细胞的质膜上镶嵌有大量的跨膜蛋白,细胞内的微丝与跨膜蛋白之间存在多种形式的连接。磁扭曲实验表明,与跨膜蛋白连接的骨架结构变化对施加于膜蛋白上的应力作用呈线形关系^[10]。张力整合模型对应力传递过程有较好的解释,认为细胞内的骨架结构一旦形成,即可维持一个稳定的细胞内张力状态存在,这种张力状态是细胞赖以生长、分化的重要的内应力环境,外界应力环境的改变,可传递到骨架结构上,引起细胞张力状态的破坏与重建^[11]。在流体剪应力作用下,内皮细胞发生骨架结构的重排,这种重建是针对新的应力环境的适应性过程,调整了张力在整个细胞内的分布。骨架结构在细胞内一些特殊位点富集,在应力传递过程中,这些位点张力变化明显,是应力作用的特殊响应点^[12]。

应力作用被细胞感受后,通过偶联生化过程,沿信号通路进行传导和响应。目前对应力的感受器仍存在着争论,虽然细胞膜上存在有应力敏感的离子通道,在应力作用下对阳离子的通透性发生变化,但尚未证实这些应力敏感离子通道是直接感受应力的作用,还是其他应力受体的下游效应^[13]。应力的传导途径与一般的化学信号传导通路有共同之处,应力作用可改变细胞内的信号分子,通过级联反应在细胞内传播,最终调控特异基因的表达^[14]。在一些应力响应基因的启动子上游序列中,确定了 6bp(碱基)的剪应力响应元件(SSRE)序列 GAGACC,利用突变技术改变这一序列时,剪应力响应基因对应力作用的反应减低^[15]。

传递与传导过程是偶联在一起进行的。细胞骨架可将应力作用传递到胞内各部分,使得与骨架密切联系的信号通路成分发生变化,引发信号传导过程;而信号传导过程,又会通过磷酸酶与磷酸激酶的作用,调节骨架蛋白的磷酸化/去磷酸化状态,从而影响骨架的聚合与解聚。在应力信号传递与传导研究中,由于二者是偶联作用的,因此很难确定各反应之间的次序与关系。

4 应用

剪应力作用下血管内皮细胞的变化是多方面的,对其研究不仅有利于阐明人体血管内的

许多生理过程,解释动脉粥样硬化等心血管疾病的病理机理,而且可将其机理应用于改进临床治疗手段。

动脉粥样硬化的早期发病通常具有特征性局灶的特点,首先发生并多发在动脉的分岔、开口、弯曲及血管狭窄段附近,表明局部血流作用比全身性的致病因素,如高血脂、高血压等更重要^[16]。在紊流、低剪应力下,易造成血管内皮细胞的结构与功能损伤,而内皮层的损伤在动脉粥样硬化等血管疾病的发病过程中起关键作用,表现为血管内皮细胞合成与释放一氧化氮、前列环素减少,内皮素、血小板衍生生长因子、血管间细胞粘附分子等表达增高,造成动脉血管收缩、血小板聚集、单核细胞粘附、血管平滑肌增生等效应。反之,相对较高的脉动层流剪应力对血管内皮细胞具有一定的保护作用^[17]。因此,改善全身或局部血流状况,发挥血管内皮层的自我血管保护功能,是解决问题的一个途径。另外一个方法是基因疗法,利用应力敏感的启动子来调节这些转入的基因的表达,实现在特定区域(受流场条件决定)下的特异基因表达。目前,已进入了探索性实验。在内皮细胞中以荧光酶为报告基因,启动子含 SSRE 序列,证实剪应力作用能诱导荧光酶的表达^[18]。

血栓和钙化是人工血管、心瓣等心血管装置植入体内后失效的主要原因之一,在其血流接触面种植内皮细胞层是解决问题的途径。而目前内皮化的主要困难在于体外种植的内皮细胞,在植入体内后,受到血流冲击作用易脱落,难以保持内皮层的结构与功能的完整性^[19]。在大多数研究中,内皮细胞是在体外静态条件下粘附、铺展、生长直至汇合成单层的。采用促进细胞粘附的基质蛋白成分,以及对材料表面进行粘附活性修饰,可大大促进内皮细胞的粘附效率,但仍不能完全解决抗血流冲击问题^[20]。由于在体条件下,血管内皮细胞是处于复杂的血液流体动力环境中,血管内皮细胞具有分化良好的粘附结构。而在体外静态培养条件下,血管内皮细胞失去这一分化特性,表现为细胞缺乏张力纤维和粘附结构。体外流动腔实验已证实,剪应力作用可促进内皮细胞张力纤维和粘附结构分化形成,并且剪应力作用调控多种生物学功能和细胞增殖,有助于维持完整内皮层的结构与功能的稳定。因此,可利用剪应力作用来促进内皮化过程。已有实验表明,在已内皮化的人工血管植入体内之前,给予一定的剪应力作用预处理,可减少植入后内皮细胞的脱落^[21]。在模拟血液流动的环境中,对培养和种植的内皮细胞进行处理,形成的内皮层在植入体内后能更好地维持结构与功能的完整^[22]。

参 考 文 献

- 1 Davies PF. Flow - mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev*, 1995;75:519
- 2 Fung YC, Liu SQ. Elementary mechanics of the endothelium of blood vessels. *J Biomed Eng*, 1993;115:1
- 3 Nerem RM, Levesgue MJ, Cornhill JF. Vascular endothelial morphology as an indicator of the pattern of blood flow. *J Biomech Eng*, 1981;103:172
- 4 Malek AM, Lzumo S. Mechanism of endothelial cell shape change and cytoskeletal remodeling in response to fluid shear stress. *J Cell Sci*, 1996;109(Pt 4):713
- 5 Sprague EA, Streinbach BL, Nerem RM. Influence of a laminal steady state fluid imposed wall shear stress on the binding, internalization, and degradation of low - density lipoproteins by cultured arterial endothelium. *Lab Invest*, 1987;76:648
- 6 Frangos JA, Eskin SG, McIntire LV, et al. Flow effects on prostacyclin production by cultured human endothelial cells. *Science*, 1985;227:1477
- 7 Mohan S, Mohan N, Valente AJ, et al. Regulation of shear flow - induced HAEC VCAM - 1 expression and monocyte adhesion. *Am J Physiol*, 1999;276:C1100

- 8 Ziegler T, Nerem RM. Effect of flow on the process of endothelial cell division. *Arterioscler Thromb*, 1994;14:636
- 9 Reidy MA, Schwarz SM. Endothelial regulation III. Time course of intimal changes after small defined injury to rat aortic endothelium. *Lab Invest*, 1981;44:301
- 10 Wang N, Butler JP, Ingber DE. Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton. *Science*, 1993;260:1124
- 11 Ingber DE. Tensegrity: The architectural basis of cellular mechanotransduction. *Ann Rev Physiol*, 1997;59:575
- 12 Shyy JY, Chien S. Role of integrins in cellular responses to mechanical stress and adhesion. *Curr Opin Cell Biol*, 1997;9:707
- 13 Olesen SP, Clapham DE, Davies PF. Hemodynamic shear stress activates a K^+ current in vascular endothelial cells. *Nature*, 1988;331:168
- 14 Papadaki M, Eskin SG. Effects of fluid shear stress on gene regulation of vascular cells. *Biotechnol Prog*, 1997;13:209
- 15 Resnick N, Collins T, Atkinson W, et al. Platelet derived growth factor - B chain promoter contains a cis - acting fluid shear - stress - responsive element. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993;90:4591
- 16 Caro CG, Fitzgerald JM, Schroter RC. Arterial wall shear and distribution of early atheroma in man. *Nature*, 1969;213(211):1159
- 17 Mitchell ME, Sidaway AN. The pathophysiology of atherosclerosis. *Semin Vasc Surg*, 1998;11:134
- 18 Shyy YJ, Li YS, Lin MC, et al. Multiple cis elements mediate shear stress - induced gene expression. *J Biomech*, 1995;28:1451
- 19 Zilla P, Fasoi R, Deutsch M. Endothelial cells seeding of PTFE vascular grafts in humans: A preliminary report. *J Vasc Surg*, 1987;6:535
- 20 Herring MB. Endothelial cell seeding. *J Vasc Surg*, 1991;13:731
- 21 Bellermann BJ, Ott MJ. Adhesion and differentiation of endothelial cells by exposure to chronic shear stress: A vascular graft model. *Blood Purif*, 1995;13:125
- 22 Dardik A, Liu A, Ballermann BJ. Chronic in vitro shear stress stimulates endothelial cell retention on prosthetic vascular grafts and reduces subsequent in vivo neointimal thickness. *J Vasc Surg*, 1999;29:157

(收稿日期:1999-07-13)

The Effect of Fluid Shear Stress on Vascular Endothelial Cells: Mechanism and Applications

Hu Jiang

Institute of Mechanics, Chinese Academy of Science, Beijing 100080

Abstract Vascular endothelium plays an important role in maintaining vascular morphology and biologic functions. Fluid shear stress influences the morphology, function, proliferation and migration of endothelial cells via mechanotransduction pathway. Knowledge on mechanism of mechanotransduction not only allows defining the physiological and pathological process in vascular system, but also has clinical applications for the development of new and effective treatments.

Key words Shear stress Endothelial cells Mechanotransduction Endothelialization