

• 继续教育 •

血流影响下内皮细胞与平滑肌细胞的交互作用

姚王超¹ 洪涛¹

[摘要] 血管壁的内皮细胞(ECs)和平滑肌细胞(SMCs)的交互作用对维持血管功能和动脉粥样硬化(AS)的发生发展有着重要意义。局部血流动力学环境,尤其是流体剪切力(FSS)与血管壁之间的相互作用对AS斑块的分布起着重要作用。FSS下ECs和SMCs的交互作用会对ECs和SMCs的形态和表型、增殖和迁移、炎症细胞的黏附产生影响。本文主要对FSS下ECs和SMCs的交互作用作一综述。

[关键词] 动脉粥样硬化;内皮细胞;平滑肌细胞;剪切力;相互作用

doi:10.13201/j.issn.1001-1439.2020.03.022

[中图分类号] R318.01;R541.4 [文献标志码] A

Interaction between endothelial cells and smooth muscle cells under blood flow

YAO Wangchao HONG Tao

(Department of Cardiac Surgery, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai, 200032, China)

Corresponding author: HONG Tao, E-mail: hong.tao@zs-hospital.sh.cn

Summary The interaction of endothelial cells (ECs) and smooth muscle cells (SMCs) in the vessel wall plays an important role in maintaining vascular function and the development of atherosclerosis (AS). The local hemodynamic environment, especially the interaction between flow shear stress (FSS) and the vessel wall plays an important role in the distribution of AS plaques. The interaction of ECs and SMCs under FSS will affect the ECs and SMCs in the morphology and phenotype, proliferation and migration, and adhesion of inflammatory cells. This article is able to initiate the interaction of endothelial cells and smooth muscle cells under FSS.

Key words atherosclerosis; endothelial cells; smooth muscle cells; shear stress; interaction

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)在中国的患病率正逐年提高^[1],而血管内的异常血流动力学是AS发生发展的重要诱导因素之一。流体剪切力(flow shear stress, FSS)可对内皮细胞(endothelial cells, ECs)、平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMCs)之间的交互作用产生影响。生理性FSS有助于维护血管稳态,而异常的FSS则会导致AS的发生^[2]。本文综述了目前FSS对AS中ECs-SMCs间交互作用的影响及机制的研究进展,对于研究AS的相关药物研发、模型构建和个体医疗方面有着重要的意义。

1 FSS与AS

动脉内的FSS指血液流过血管内皮产生摩擦,从而作用于血管内壁的单位面积的力。按流动的形式,动脉内FSS分为层流和湍流,层流指血液呈现为与血管轴线方向一致的线型流动,而湍流指血液呈现为方向随时间随机变化的不稳定流动。血液流动形式的不同与雷诺系数(Re)有关,Re与流速、血液粘滞性成正比,与血管直径的3次方成反比。Re>2000时,血液为层流,<2000时则为湍

流。FSS生理大小为15~70 dyn/cm²,而低FSS指<10~12 dyn/cm²。低FSS被认为具有促AS作用^[3]。

AS的诱因除了全身性因素,还包括动脉微环境中FSS的差异,这使得AS易发生在动脉特定区域。在大中型血管如升主动脉、腹主动脉,分叉部位的血管外侧壁最容易发生AS^[4]。AS的易发部位与FSS的分布有关。当血流冲击到血管分叉处,分叉处内侧壁受到血流撞击而承受高FSS,与此同时,血流分成两路流入分支,分叉处的外侧壁承受了撞击内侧壁回返而形成的湍流或是低速的层流。因此,这些部位的血流呈现为低剪切力或是湍流。而在AS斑块形成后期,斑块正对血流流向的部位因承受高FSS而最易发生斑块破裂,另一侧则是斑块进行性发展的地方,因为此处承受着低剪切力或是湍流^[5]。

2 ECs-SMCs间的交互

ECs和SMCs分别构成动脉血管的内膜层和中膜层。二者之间有着密切的交互作用,共同维持血管壁的生理状态并参与心血管病变的发生和发展,如AS、炎症反应、血栓形成^[6]。

ECs和SMCs之间可通过细胞间直接接触进

¹复旦大学附属中山医院心外科(上海,200032)

通信作者:洪涛, E-mail: hong.tao@zs-hospital.sh.cn

行交互作用,如通过 Notch、Eph/ephrin、Connexin 通路^[7]。内皮型一氧化氮合酶/一氧化氮(endothelial nitric oxide synthase/nitric oxide, eNOS)可通过调节血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)途径参与 ECs-SMCs 的交互,从而进行动脉的血流依赖性重塑^[8]。细胞外基质(extracellular matrix, ECM)被认为是维持血管机械性质的基础,其在 AS 中的过量增殖和分泌会改变 ECs-SMCs 间的相互作用。细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)是含双层磷脂的膜囊,包括外泌体、微粒和凋亡小体,可携带生物分子如蛋白质、DNA、mRNA 和非编码 RNA 等,参与 ECs-SMCs 间的调控^[9]。miRNA 是保守的非编码 microRNA,从细胞中分泌并被其他细胞摄取,介导 ECs-SMCs 之间的 AS 保护性交互作用^[10]。最近研究表明,miR-126 可被 ECs 分泌到 SMCs,促进 SMCs 增殖^[11-12]。血小板源性生长因子 B/血小板源性生长因子受体 β (platelet-derived growth factor B/platelet-derived growth factor receptor β , PDGF-B/PDGFR- β)、血管生成素 1/酪氨酸激酶 2(angiotensin-1/tyrosine kinase-2, Ang1/Tie2)、1-磷酸鞘氨醇(sphingosine-1-phosphate, S1P)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)也参与 ECs 与 SMCs 之间的信号传递^[7]。

3 FSS 对 ECs-SMCs 间交互作用的影响

生理性 FSS 直接作用于 ECs,对 ECs 的增殖、迁移、凋亡、细胞内信号传导、基因表达等产生影响。低 FSS 可引起 ECs 的炎症、内皮间质转化、自噬,从而导致 AS^[5,13]。当内膜结构破坏,露出 SMCs 层时,FSS 则直接作用于 SMCs,对 SMCs 的收缩-分泌型转换、增殖和迁移、凋亡等产生影响^[14]。血流动力学作为 AS 发生发展的重要因素,不但直接作用于 ECs 或 SMCs,而且能进一步调控 ECs 与 SMCs 之间的交互作用。

3.1 FSS 下 ECs、SMCs 的形态和表型

动脉血管中 ECs 和 SMCs 形态规则、有序排列。在正常 FSS 下,ECs 的形态更瘦长;SMCs 倾向于与 FSS 方向垂直。在低 FSS 下,ECs 更多表现成多边形,似鹅卵石样;SMCs 的取向更随机且不协调^[15]。2011 年 Sakamoto 等^[16]研究发现,ECs 在静态条件下降低了收缩型 SMCs 中 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)的表达,而对 ECs 侧施加生理性 FSS 则可维持 SMC 中 α -SMA 的表达。这进一步提示 ECs 侧 FSS 会通过 ECs 影响收缩型 SMC 的状态。

2019 年 Han 等^[17]发现在 FSS 下 ECs 表达的 TGF- β 1 参与 SMCs 收缩型-增殖型的转化,并能调节 SMCs 中的基质金属蛋白酶-2(matrix metalloprotein-2, MMP-2)表达量。MMP-2 对于 ECM 的

生成和降解起着重要作用。这提示 ECs 侧 FSS 通过 TGF- β 1 参与 SMC 的收缩型-增殖型转化和血管重塑。此外,FSS 通过 ECs 释放的前列环素(prostacyclin, PGI₂)来激活过氧化物酶体增殖剂激活受体 α/δ (peroxisome proliferators-activated receptors α/δ , PPAR- α/δ),从而调控 SMC 向收缩型转化^[18]。

另一方面,2018 年 van Engeland 等^[19]研发了可同时施加 FSS 和牵张力的共培养微流控装置。在 FSS 为 1~1.5 Pa 且牵张力为 5%~8% 的动态培养过程中,SMC 呈现出垂直于 FSS 方向的应变,并倾向于收缩型。其进一步比较了直接共培养和间接共培养,发现 ECs 和 SMCs 之间的直接接触可能通过 JAG1、NOTCH3 和 HEY1 参与 FSS 对 ECs-SMCs 的形态改变及 SMCs 的收缩型-增殖型转换。

3.2 FSS 下 ECs、SMCs 的增殖与迁移

在正常动脉中,SMCs 在 ECs 和 FSS 影响下表现为收缩型,维持血管张力。当血管受损时,SMCs 转换为增殖型,对血管进行修复。当 EC 损伤修复后,SMCs 回到收缩型。

Sakamoto 等^[20]研究发现,在静态条件下 ECs 与 SMCs 共培养可增强 SMCs 迁移能力。当施加 ECs 侧 FSS(15 dyn/cm²)后,SMCs 的迁移则被抑制。这提示生理性 FSS 抑制 SMCs 向增殖型转化,维持其收缩型,从而调控血管壁的稳态。ECs 和生理性 FSS 对 SMCs 的收缩型-增殖型转化有拮抗作用,在生理环境下 FSS 占优势,从而使 SMCs 在血管中保持收缩型^[21]。此后,Jacot 等^[22]通过共培养研究发现,受损或部分恢复的内皮区域中 SMCs 增殖和迁移显著高于去内皮化和未受损区域。同时,PDGF 在内皮受损区域显著增加。PDGF 是调节细胞生长及分裂的重要生长因子,在细胞增殖、血管新生中有重要作用。此研究支持受损 ECs 对 SMCs 的增殖和迁移起促进作用,表明由 ECs 损伤引发的共培养信号传导局部刺激从而促进 SMCs 增殖和迁移。

接着,Balcells 等^[23]发现在施加 FSS 的 ECs 中,雷帕霉素受体蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)通路下游的磷酸-S6 核糖体蛋白(phospho-S6 ribosomal protein, p-S6RP)显著增加,而共培养 SMCs 可抑制 ECs 中被 FSS 激活的 p-S6RP/mTOR 通路,表明 p-S6RP/mTOR 是 ECs-SMCs 间交互的信号通路之一。mTOR 通路对血管的反应性和新陈代谢有重要作用,激活此通路可加速受损血管内皮化,这提示不但 ECs 可调控 SMCs 的增殖,反过来 SMCs 也可调控 FSS 影响下的 ECs 增殖,因此 mTOR 通路可作为血管支架设计中局部抗增殖的新靶点。此外,涉及到增殖与迁

移的信号分子还有 PDGF-BB、TGF- β 1 等。低 FSS 通过促进 ECs 分泌 PDGF-BB 和 TGF- β 1, 增强赖氨酸氧化酶(lysyl oxidase, LOX)和磷酸化细胞外调节蛋白激酶(phospho-extracellular regulated protein kinases 1/2, pERK1/2)表达, 降低 ECs 和 SMCs 中的核纤层蛋白 A(Lamin A)而上调 ECs 和 SMCs 的迁移和增殖。ECs 分泌的 PDGF-BB 可促进 SMC 分泌 PDGF-BB 和 TGF- β 1, 而 ECs 分泌的 TGF- β 1 又可参与 SMCs 对 ECs 的反馈控制, 从而形成 ECs-SMCs 间的调控回路^[24]。

3.3 FSS 下炎性细胞的黏附

在早期 AS, 单核细胞被招募而黏附于 ECs, 迁入内皮下并吞噬脂质而转化为泡沫细胞, 从而启动 AS 病理进程^[25]。2018 年 Venugopal Menon 等^[26]通过气动控制微流控 AS 模型中的狭窄条件(0%、50%和 80%收缩)来表征 FSS 分布, 发现在血管的狭窄处白细胞滚动和黏附增加, 显示出血管几何形态对 FSS 的影响以及狭窄处血流在 AS 微环境中促白细胞黏附的作用。此研究还发现单核细胞(THP-1)在狭窄区域的 ECs 中黏附增加, 并且细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)在狭窄区域的表达上调。这提示血管内狭窄形态使炎性细胞黏附于 ECs, 推动斑块进展和炎症反应。

Sakamoto 等^[27]进一步发现, ECs-SMCs 共培养也可使 ICAM-1 上调, 并可促进白细胞跨内皮迁移, 而生理性 FSS 能抑制上述变化。这表明 SMCs 可刺激 ECs 表现炎症状态, 使炎性细胞黏附增加, 从而有助于单核细胞迁移到内皮下形成泡沫细胞。而生理性 FSS 抑制上述病理过程的发生, 具有 AS 保护作用。此外, VCAM-1、白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)、单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)等促炎表型被低 FSS 上调^[15]。

以上研究提示 SMCs 和病理性 FSS 具有促 AS 作用, 而生理性 FSS 有保护性的拮抗作用。当血管内稳态被打破, 使斑块形成并导致血管内狭窄, 将促进炎症的进行性发展。在炎症状态下, ECs 使 SMCs 分泌多种炎症因子, 破坏 ECM 的重塑, 使血管的屏障通透性显著降低, 加剧内皮下脂质沉积^[28]。

Zheng 等^[29]成功制造一种早期 AS 微流控模型。其用血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)诱发内皮炎症, 然后在低 FSS 和病理性血管牵张力下, 使活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生显著升高, VE-cadherin 的表达显著降低, 这与 AS 患者体内的血管早期炎症状态一致。接着, 铂纳米颗粒(platinum nanoparticles, Pt-NPs)被应用于此芯片上, 显著降低了 RO 血管内皮钙黏蛋白 S 的产

生。Pt-NPs 是一种治疗氧化相关病理过程的新型纳米药物材料。这为研发抗 AS 药物提供了新的体外模型和新的思路。

此外, miRNA 在调节 ECs 功能和 AS 的发展中有着重要作用^[11]。在体内生理性 FSS 下, miRNA-146a, -708, -451 和 -98 在损伤的动脉 ECs 中高度表达, 抑制受损动脉新生内膜形成, 但在流动停滞时不表达。体外静态 ECs-SMCs 共培养可使 ECs 中 miRNA-146a, -708, -451 和 -98 短暂性增加。而在共培养的 ECs 侧施加生理性 FSS 后, 与 SMCs 相邻的 ECs 可持续性增强其表达。其中, 共培养 ECs 中 FSS 诱导的 miR-146a 转录的关键转录因子是核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2)^[30]。miRNA 相关研究提示, 具有抗 AS 性的 miR-146a, -708, -451 和 -98 在由 AS 和再狭窄引起的血管疾病中可作为有效的分子靶点。

4 总结与展望

综上所述, ECs 和 SMCs 的交互作用以及 FSS 对其的调控在维持血管生理稳态以及 AS 的发生发展中起着不可忽视的作用。生理性 FSS、ECs 和 SMCs 三者相互拮抗、协同, 维持血管壁的正常功能。而在 AS 发生发展中, 血管由正常到进行性狭窄, 这其中每个阶段的血流动力学都会发生改变, 由此造成 AS 每个时期、斑块各个局部具有不同病理过程, 即具有时间和机制双面性, 从而影响血管壁细胞的形态分布、增殖迁移、炎症反应等。因此, 重视 FSS 在 AS 中对 ECs-SMCs 交互作用的影响, 对个体化医疗、新型靶向药物研发、改进血管介入技术有着重大意义。

参考文献

- [1] Zhou M, Wang H, Zeng X, et al. Mortality, morbidity, and risk factors in China and its provinces, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. *Lancet*, 2019, 394 (10204): 1145 - 1158.
- [2] Peiffer V, Sherwin SJ, Weinberg PD. Does low and oscillatory wall shear stress correlate spatially with early atherosclerosis? A systematic review [J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 99(2): 242 - 250.
- [3] Brown A J, Teng Z, Evans PC, et al. Role of biomechanical forces in the natural history of coronary atherosclerosis [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2016, 13(4): 210 - 220.
- [4] Thondapu V, Bourantas CV, Foin N, et al. Biomechanical stress in coronary atherosclerosis: emerging insights from computational modelling [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(2): 81 - 92.
- [5] Chatzizisis YS, Coskun A U, Jonas M, et al. Role of endothelial shear stress in the natural history of coro-

- nary atherosclerosis and vascular remodeling: molecular, cellular, and vascular behavior[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2007, 49(25): 2379–2393.
- [6] Li M, Qian M, Kyler K, et al. Endothelial-Vascular Smooth Muscle Cells Interactions in Atherosclerosis [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2018, 5(1): 151.
- [7] Lilly B. We have contact: endothelial cell-smooth muscle cell interactions[J]. *Physiology (Bethesda)*, 2014, 29(4): 234–241.
- [8] Yu J, Zhang Y, Zhang X, et al. Endothelium derived nitric oxide synthase negatively regulates the PDGF-survivin pathway during flow-dependent vascular remodeling[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e31495.
- [9] Lutter S, Xie S, Tatin F, et al. Smooth muscle-endothelial cell communication activates Reelin signaling and regulates lymphatic vessel formation[J]. *J Cell Biol*, 2012, 197(6): 837–849.
- [10] 梁鑫, 龚辉. 动脉粥样硬化炎症反应与 microRNA[J]. *临床心血管病杂志*, 2013, 29(6): 408–410.
- [11] Feinberg MW, Moore KJ. MicroRNA Regulation of Atherosclerosis[J]. *Circ Res*, 2016, 118(4): 703–720.
- [12] Zhou J, Li YS, Nguyen P, et al. Regulation of vascular smooth muscle cell turnover by endothelial cell-secreted microRNA-126: role of shear stress[J]. *Circ Res*, 2013, 113(1): 40–51.
- [13] 刘冰洋, 罗春, 廉姜芳, 等. 内皮-间质转化与动脉粥样硬化的研究进展[J]. *临床心血管病杂志*, 2018, 34(2): 113–115.
- [14] Shi ZD, Tarbell JM. Fluid flow mechanotransduction in vascular smooth muscle cells and fibroblasts [J]. *Ann Biomed Eng*, 2011, 39(6): 1608–1619.
- [15] Hastings NE, Simmers MB, McDonald OG, et al. Atherosclerosis-prone hemodynamics differentially regulates endothelial and smooth muscle cell phenotypes and promotes pro-inflammatory priming [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 293(6): C1824–1833.
- [16] Sakamoto N, Kiuchi T, Sato M. Development of an endothelial-smooth muscle cell coculture model using phenotype-controlled smooth muscle cells[J]. *Ann Biomed Eng*, 2011, 39(11): 2750–2758.
- [17] Han X, Sakamoto N, Tomita N, et al. Influence of TGF- β 1 expression in endothelial cells on smooth muscle cell phenotypes and MMP production under shear stress in a co-culture model[J]. *Cytotechnology*, 2019, 71(2): 489–496.
- [18] Tsai MC, Chen L, Zhou J, et al. Shear stress induces synthetic-to-contractile phenotypic modulation in smooth muscle cells via peroxisome proliferator-activated receptor α/δ activations by prostacyclin released by sheared endothelial cells [J]. *Circ Res*, 2009, 105(5): 471–480.
- [19] van Engeland NCA, Pollet A, den Toonder JMJ, et al. A biomimetic microfluidic model to study signalling between endothelial and vascular smooth muscle cells under hemodynamic conditions[J]. *Lab Chip*, 2018, 18(11): 1607–1620.
- [20] Sakamoto N, Ohashi T, Sato M. Effect of fluid shear stress on migration of vascular smooth muscle cells in cocultured model[J]. *Ann Biomed Eng*, 2006, 34(3): 408–415.
- [21] Wang HQ, Huang LX, Qu MJ, et al. Shear stress protects against endothelial regulation of vascular smooth muscle cell migration in a coculture system[J]. *Endothelium*, 2006, 13(3): 171–180.
- [22] Jacot JG, Wong JY. Endothelial injury induces vascular smooth muscle cell proliferation in highly localized regions of a direct contact co-culture system [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2008, 52(1): 37–46.
- [23] Balcells M, Martorell J, Olivé C, et al. Smooth muscle cells orchestrate the endothelial cell response to flow and injury [J]. *Circulation*, 2010, 121(20): 2192–2199.
- [24] Qi YX, Jiang J, Jiang XH, et al. PDGF- β 1 on cross-talk between endothelial and smooth muscle cells in vascular remodeling induced by low shear stress[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(5): 1908–1913.
- [25] Pothineni N V K, Subramany S, Kuriakose K, et al. Infections, atherosclerosis, and coronary heart disease [J]. *Eur Heart J*, 2017, 38(43): 3195–3201.
- [26] Venugopal Menon N, Tay H M, Pang K T, et al. A tunable microfluidic 3D stenosis model to study leukocyte-endothelial interactions in atherosclerosis [J]. *APL Bioeng*, 2018, 2(1): 016103.
- [27] Sakamoto N, Ueki Y, Oi M, et al. Fluid shear stress suppresses ICAM-1-mediated transendothelial migration of leukocytes in coculture model[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 502(3): 403–408.
- [28] Menon NV, Tay HM, Wee SN, et al. Micro-engineered perfusable 3D vasculatures for cardiovascular diseases [J]. *Lab Chip*, 2017, 17(17): 2960–2968.
- [29] Zheng W, Huang R, Jiang B, et al. An Early-Stage Atherosclerosis Research Model Based on Microfluidics[J]. *Small*, 2016, 12(15): 2022–2034.
- [30] Chen L J, Chuang L, Huang Y H, et al. MicroRNA mediation of endothelial inflammatory response to smooth muscle cells and its inhibition by atheroprotective shear stress[J]. *Circ Res*, 2015, 116(7): 1157–1169.