

肺动脉高压中血流剪切力对内皮细胞的作用

崔彩冰, 罗 鹏, 黄石安* (广东医科大学附属医院心血管内科, 广东湛江 525400)

摘要: 肺动脉高压是一种隐匿性发生的进展性病理生理状态, 其发生、发展与血流剪切力和内皮细胞之间相互作用密切相关。动脉内皮细胞可直接感受血流剪切力变化, 这种机械作用力改变可转化为生物信号调节内皮细胞功能如增殖、凋亡及分化等。内皮细胞功能改变介导一系列信号转导途径, 引起肺血管异常收缩、肺血管重建、肺血栓形成等病理状态, 这是肺动脉高压形成的主要原因。该文综述了肺动脉高压中血流剪切力对内皮细胞的作用。

关键词: 肺动脉高压; 血流剪切力; 内皮细胞

中图分类号: R543.2

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)02-0225-04

Effect of blood flow shearing force on endothelial cells in pulmonary hypertension

CUI Cai-bing, LUO Peng, HUANG Shi-an* (Department of Cardiovasculology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, China)

Abstract: Pulmonary artery hypertension (PAH) is an occult, progressive pathophysiological state that is correlated with interaction between blood flow shearing force (BFSF) and endothelial cells. Arterial endothelial cells can directly sense BFSF change, while BFSF can transform into biological signals to regulate endothelial function including proliferation, apoptosis and differentiation. Endothelial function change induces pathological conditions such as abnormal pulmonary vascular contraction, pulmonary vascular remodeling and pulmonary thrombosis through serial signal transduction pathways, which are the main causes of PAH. This article reviews the effect of BFSF on endothelial cells in PAH.

Key words: pulmonary artery hypertension; blood flow shearing force; endothelial cells

肺动脉高压(PAH)是一种慢性进行性疾病, 具有高发病率和高死亡率, PAH患者约占人口总数的1%, 且老年人占比增加^[1-3]。目前主流的观点是将静息时通过右心导管检查测得的静止状态下平均肺动脉压 ≥ 20 mmHg定义为PAH^[4]。正常生理状态下, 肺动脉内皮细胞间共同构成一层内皮细胞屏障, 从而对血管的稳定进行调节。血流剪切力直接作用于肺动脉内皮细胞, 导致其功能及表型改变。在PAH的发病机制中, 动脉内皮细胞功能障碍扮演了至关重要的角色^[5]。本文就PAH中血流剪切力对内皮细胞的作用机制作一综述。

1 肺动脉内皮细胞

动脉内皮细胞是指动脉血管腔最表层的细胞。

作为血管屏障, 内皮细胞直接接受来自血液的机械(压力、切应力)、生物化学(激素、细胞因子)和免疫(活化的白细胞、内毒素)等刺激, 能够起到保护作用^[6]。内皮细胞具有多种受体, 能够感知血液流动, 并通过机械敏感性信号通路向受体分子传递机械信号, 从而引起表型和功能的改变^[7-8]。内皮细胞介导的一系列信号传导途径是PAH患者发生肺血管异常收缩、肺血管重建及肺血栓形成的主要原因。血液的理化因素在诱导内皮细胞最初死亡后, 随着时间的流逝导致细胞过度增殖, 使血管重塑和PAH发展成为可能^[9]。此外, 机械张力和许多调节因子也能改变细胞形态, 使细胞间隙扩大, 损毁内皮细胞层的完整性, 血管内的机械力作用可以影响内皮细胞的增殖、分化、凋亡、信号传导、基因表达等一系列的生理功能^[10]。研究表明, 从细胞微环境发出的机械信号是细胞行为的基本调节器, 在宏观尺度上, 机械作用力的影响, 即由血液流动所产生的力, 是我们理解生理学和疾病发病机理的核心, 但是机械作用力是如何被内皮细胞感知并被转化成生物信号传导仍是目前待攻克科学问题^[11]。

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金项目(No.A2020310), 湛江市非资助科技攻关计划项目(No.180807151912381)

收稿日期: 2020-06-18; **修订日期:** 2020-09-13

作者简介: 崔彩冰(1995-), 女, 在读硕士研究生

通信作者: 黄石安(1969-), 男, 硕士, 主任医师, E-mail:

13922098717@126.com

2 血流剪切力

与血流动力学和血压一样,剪切力也是内皮细胞稳态的重要决定因素^[12]。作用于内皮细胞的剪切力主要分为两种:(1)在大血管中,血流冲击内皮细胞时摩擦而产生的血流剪切力;(2)在小血管中,由于血流较少,血细胞比容增加,剪切力主要是血细胞滚动时与内皮细胞摩擦产生。PAH患者中这两种剪切力均能产生作用。研究表明,内皮细胞含有机敏感受器,能够对机械负荷的变化迅速作出反应,处理信号,并产生针对特定环境的适应性反应,重新平衡细胞及血管的稳态^[13]。与生理状态相比,PAH患者动脉内皮细胞的血流剪切力显著增加,进而触发下游信号通路,引起一系列细胞生理功能改变^[14]。PAH是早期诊断困难的一类隐匿性疾病。Pektas等^[15]对儿童继发性PAH的横断面研究中发现,PAH患儿肺动脉的血流剪切力显著降低,并且在疾病诊断方面,<2.5 dyn/cm²的血流剪切力具有84.8%的敏感性和92.9%的特异性。血流剪切力在PAH的早期诊断中展露出巨大潜能。目前普遍认为血流剪切力作用于内皮细胞产生的表型改变对于PAH的发生、发展密切相关^[16]。

3 血流剪切力对内皮细胞的影响

3.1 血流剪切力对内皮细胞增殖和凋亡的影响

剪切力对动脉生长发育以及调控内皮细胞增殖起重要作用,Chang等^[17]在小鼠模型中发现动脉血流剪切力能够通过抑制CXCL12/CXCR4信号通路逆转DACH1的过表达而起到抑制内皮细胞迁移和冠状动脉生长的效果,实现抑制内皮细胞的增殖和生长、减少内皮细胞极化、不利于动脉发育,从而倾向于形成小的动脉。成熟的动脉血流剪切力(高,均匀的层流)能够下调DACH1的表达,而重塑的动脉型血流(低,可变)维持了DACH1的表达。这表明当血流状态处于稳态的层流时,血流剪切力的作用趋向于抑制内皮细胞的增殖功能;反之,血流状态处于紊乱的湍流状态时,血流剪切力趋向于抑制内皮细胞的凋亡功能。与静息状态下的内皮细胞相比,内皮细胞受持续血流剪切力作用时DNA合成速率相对下降,血流剪切力可以通过过表达细胞周期依赖性蛋白激酶抑制剂p21,从而使内皮细胞的细胞周期停止在G0/G1期,达到抑制细胞增殖的效果;相反,在受湍流作用时,内皮细胞高速增殖,DNA合成速率明显增加。Ohura等^[18]对内皮细胞分别施加湍流和层流的流体剪切力,随后对内皮细胞进行转录组测序,发现湍流组超过3%内皮细胞基因表达是原先的2倍以上。施加层流剪切力处理的内皮细胞的基因表达则出现明显下降,其中

与细胞增殖生长信号通路相关的基因尤为显著。同样,Brooks等^[19]发现在湍流状态下,内皮细胞TSP-1mRNA呈现过表达状态,并伴随着内皮细胞凋亡相关的表型激活。由此可见,血流剪切力的模式可影响动脉内皮细胞增殖、生长与凋亡的相关生物学功能,若能改善血流剪切力的流动模式,在一定程度上可对环境压力作用于内皮细胞引起的血管重塑等方面有积极意义。

3.2 血流剪切力对内皮细胞分化作用的影响

在内皮细胞祖细胞(EPCs)和胚胎干细胞(ESCs)中,剪切力可促进动脉内皮细胞标志物`ephrinB2`的表达,提示剪切力对血管内皮细胞的分化具有调节作用^[20]。这一发现证实ESCs在分化过程中同时受到两种力的作用,即血液流动产生的剪切力可使ESCs起源的血管内皮细胞生长因子受体2阳性细胞分化为胚胎细胞系;而在胚胎发育过程中,由于心脏跳动所产生的张力可使血管内皮细胞生长因子受体2分化为平滑肌细胞系^[21]。PAH在病理机制上存在一个重要的分化机制,即内皮细胞到间充质的过渡(EndoMT)。EndoMT是一种分化过程,是内皮细胞逐渐采用间充质细胞(包括平滑肌细胞和肌成纤维细胞)的表型特征。紊乱的血流剪切力、炎症和血管僵硬等相关的信号通路均参与EndoMT的转换过程。EndoMT与慢性肺部疾病发病相关,包括PAH和慢性肺纤维化。EndoMT的潜在机制是由于转化生长因子- β 、骨形态发生蛋白、无翼/整合或Notch信号通路的激活所致^[22]。在EndoMT的变化下,间充质细胞增加,其中平滑肌细胞数量的增加使得血管管壁厚,血管顺应性下降;肌成纤维细胞增加,细胞外基质合成增加,血管外膜胶原蛋白和弹性蛋白异常沉积,导致肺血管硬化,最终演变成为PAH^[23-24]。因此,有关血流剪切力与EndoMT间共同信号通路的研究可为PAH发病机制提供新的观点。

3.3 血流剪切力变化引起的内皮细胞信号传导机制

血管内皮细胞可将机械力转换成生物化学信号,并通过调节内皮细胞的增殖、分化、转移和凋亡,影响器官的发育以及保持机体稳态^[25]。内皮细胞将机械信号转变为生物信号在早年未发现有明显证据支持。近年来,Panciera等^[11]发现YAP蛋白和TAZ蛋白可以读取从剪切应力到细胞形状和细胞外基质刚性的各种机械线索,并将其转化为细胞特异性的转录程序。YAP蛋白和TAZ蛋白的机械转导对于驱动干细胞行为和再生至关重要,它的异常细胞力学有助于PAH的发生。机械力转换成生物化学信号过程中受多种蛋白和分子的影响,包括细胞连接受体、黏附分子、整合素等。转换过程的理论认为,内皮细胞的稳

态受细胞骨架元件和细胞粘附复合物之间的动态作用调节。细胞内部结构通过细胞骨架与细胞外基质相连接,血流剪切力刺激信号到来时,细胞骨架通过肌球蛋白肌丝的滑动产生张力,从而引起细胞骨架的重新排列和细胞形态的改变,从而使机械信号通过张力传导到整个细胞^[13,26]。Takahashi 等^[25]认为,当内皮细胞处于稳定的高剪切力环境时,信号蛋白 MMP1、Tie2、Flk-1 可以调节多种信号通路、基因表达调控细胞骨架和细胞外基质的进行,从而促进内皮细胞的迁移和损伤修复。这说明了针对内皮细胞信号传导通路的作用靶点进行研究,对改善血流剪切力引起的内皮细胞功能障碍具有指导意义。

4 内皮细胞功能改变与 PAH 的发生

内皮细胞功能障碍和血管重构是不同类型 PAH 的共同病理特征^[27]。血管重构是 PAH 的典型病理生理改变,主要表现为远端肺动脉血管重塑,以及炎症、纤维化、血栓、新血管的形成。上述这些过程导致血管腔阻塞,形成复杂的血管病变,称为丛状病变^[24]。此外,肺血管内皮细胞还出现增生、肥大、肿大及 EndoMT。血小板衍生生长因子(PDGF)主要是由血小板和巨噬细胞分泌而成,内皮细胞也有少量 PDGF 分泌。PDGF 是一种强烈的促有丝分裂剂,属于促进细胞增殖、分化和迁移的生长因子家族。PDGF 发挥生物功能主要通过 PDGF- PDGFR(PDGF 受体)轴。研究发现,PAH 患者中 PDGF 和 PDGFR 在远端肺小动脉均呈现高表达;在抑制 PDGFR 后,PAH 模型鼠的肺动脉重构得到改善,右心室肥厚也得到减轻^[28]。Rieg 等^[29]研究表明 PDGF-PDGFR 轴可激活 AKT/mTOR 信号通路,上调基质交感分子 1(STIM1),促进细胞外钙离子内流以及平滑肌细胞的增殖。血流剪切力可以通过多种激酶(包括蛋白激酶 A、AMP 激活蛋白激酶、AKT 和 Ca^{2+} /钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II)刺激内皮一氧化氮合酶(eNOS)活化和一氧化氮(NO)的生成^[30]。在血流剪切力稳定时,NO 能保护低氧引起的内皮细胞损伤,抑制平滑肌细胞由收缩表型向合成表型的转化以及平滑肌细胞的增殖,防止缺氧所致肺血管的结构重建^[31]。当血流剪切力紊乱时,抗细胞增殖因子 NO 水平降低,平滑肌细胞出现大量增殖和迁移,加重肺血管重构^[32]。此外,NO 作为舒血管物质的一种,其表达水平的降低也有利于 PAH 的发生。因此,内皮细胞多种功能出现障碍与 PAH 的发生、发展有密切的关系,我们需探索更多与 PAH 有关的生物分子,通过研究其与剪切力间的联系,以期使在 PAH 诊断和治疗中取得更大的进展。

5 小结与展望

PAH 作为一类早期诊断困难的进展型疾病,近年来,针对 PAH 发生、发展过程中的作用机制研究较深入,剪切力与内皮细胞之间的生物学联系在其中扮演了重要角色,不断有关于剪切力与内皮细胞之间新的共同作用分子和信号通路被挖掘,使研究者对 PAH 的病理生理过程有了更系统的评估,但目前仍然还没有明确的针对 PAH 靶向分子的生物标志物或治疗方案。从生物学行为上看,血流剪切力可以转换为生物电信号,通过影响内皮细胞内信号传导调控内皮细胞的增殖、分化、凋亡等生理功能,进而导致 PAH 的发生,这在大部分的研究过程中都得到了较明确的结果,但仍有一部分未能得到解释的病理生理现象。PAH 是一类较为复杂的病理生理状态,关于血流剪切力与 PAH 间的相互关系仍然有比较多的未知领域,如是否可通过已知的有关的信号传导通路提取出特异性高的有诊断或治疗价值的生物标志物;是否可利用血流剪切力的信号传导逆向促进血管再生等。总之,关于血流剪切力与内皮细胞的相互作用的研究仍然有比较广泛的空间。

参考文献:

- [1] HOEPER M M, HUMBERT M, SOUZA R, et al. A global view of pulmonary hypertension[J]. *Lancet Respir Med*, 2016, 4(4): 306-322.
- [2] PARIKH V, BHARDWAJ A, NAIR A. Pharmacotherapy for pulmonary arterial hypertension[J]. *J Thorac Dis*, 2019, 11 (Suppl 14): S1767-S1781.
- [3] LAU E M T, GIANNOULATOU E, CELERMAJER D S, et al. Epidemiology and treatment of pulmonary arterial hypertension [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2017, 14(10): 603-614.
- [4] SIMONNEAU G, MONTANI D, CELERMAJER D S, et al. Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension [J]. *Eur Respir J*, 2019, 53 (1): 1801913.
- [5] GUO J, YANG Z C, LIU Y. Attenuating pulmonary hypertension by protecting the integrity of glycocalyx in rats model of pulmonary artery hypertension[J]. *Inflammation*, 2019, 42(6): 1951-1956.
- [6] DAVEL A P, LEMOS M, PASTRO L M, et al. Endothelial dysfunction in the pulmonary artery induced by concentrated fine particulate matter exposure is associated with local but not systemic inflammation[J]. *Toxicology*, 2012, 295(1-3): 39-46.
- [7] DAVIES P F, CIVELEK M, FANG Y, et al. The atherosusceptible endothelium: endothelial phenotypes in complex haemodynamic shear stress regions in vivo[J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 99 (2): 315-327.

- [8] CHISTIakov D A, OREKHOV A N, BOBRYshev Y V. Effects of shear stress on endothelial cells: go with the flow[J]. *Acta Physiol(Oxf)*, 2017, 219(2): 382-408.
- [9] BOUCHERAT O, VITRY G, TRINH I, et al. The cancer theory of pulmonary arterial hypertension[J]. *Pulm Circ*, 2017, 7(2): 285-299.
- [10] DAVIES P F, CIVELEK M. Endoplasmic reticulum stress, redox, and a proinflammatory environment in athero-susceptible endothelium in vivo at sites of complex hemodynamic shear stress[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15(5): 1427-1432.
- [11] PANCIERA T, AZZOLIN L, CORDENONSI M, et al. Mechanobiology of YAP and TAZ in physiology and disease[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(12): 758-770.
- [12] GRAY K M, STROKA K M. Vascular endothelial cell mechanosensing: New insights gained from biomimetic microfluidic models[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2017, 71: 106-117.
- [13] FANG Y, WU D, BIRUKOV K G. Mechanosensing and mechanoregulation of endothelial cell functions [J]. *Compr Physiol*, 2019, 9(2): 873-904.
- [14] MCCORMICK S M, ESKIN S G, MCINTIRE L V, et al. DNA microarray reveals changes in gene expression of shear stressed human umbilical vein endothelial cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(16): 8955-8960.
- [15] PEKTAS A, OLGUNTURK R, KULA S, et al. Biomarker and shear stress in secondary pediatric pulmonary hypertension[J]. *Turk J Med Sci*, 2017, 47(6): 1854-1860.
- [16] ANDO J, YAMAMOTO K. Vascular mechanobiology: endothelial cell responses to fluid shear stress[J]. *Circ J*, 2009, 73(11): 1983-1992.
- [17] CHANG A H, RAFTREY B C, D'AMATO G, et al. DACH1 stimulates shear stress-guided endothelial cell migration and coronary artery growth through the CXCL12-CXCR4 signaling axis[J]. *Genes Dev*, 2017, 31(13): 1308-1324.
- [18] OHURA N, YAMAMOTO K, ICHIOKA S, et al. Global analysis of shear stress-responsive genes in vascular endothelial cells[J]. *J Atheroscler Thromb*, 2003, 10(5): 304-313.
- [19] BROOKS A R, LELKES P I, RUBANYI G M. Gene expression profiling of human aortic endothelial cells exposed to disturbed flow and steady laminar flow[J]. *Physiol Genomics*, 2002, 9(1): 27-41.
- [20] MASUMURA T, YAMAMOTO K, SHIMIZU N, et al. Shear stress increases expression of the arterial endothelial marker ephrinB2 in murine ES cells via the VEGF-Notch signaling pathways[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29(12): 2125-2131.
- [21] SHIMIZU N, YAMAMOTO K, OBI S, et al. Cyclic strain induces mouse embryonic stem cell differentiation into vascular smooth muscle cells by activating PDGF receptor beta[J]. *J Appl Physiol*, 2008, 104(3): 766-772.
- [22] LU X, GONG J, DENNERY P A, et al. Endothelial-to-mesenchymal transition: Pathogenesis and therapeutic targets for chronic pulmonary and vascular diseases[J]. *Biochem Pharmacol*, 2019, 168: 100-107.
- [23] XIAO L, TONG X. Advances in molecular mechanism of vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension [J]. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2019, 48(1): 102-110.
- [24] TUDER R M, ARCHER S L, DORFMULLER P, et al. Relevant issues in the pathology and pathobiology of pulmonary hypertension[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62(25 Suppl): D4-12.
- [25] TAKAHASHI K, KAKIMOTO Y, TODA K, et al. Mechanobiology in cardiac physiology and diseases [J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17(2): 225-232.
- [26] PEYRONNET R, TRAN D, GIRAULT T, et al. Mechanosensitive channels: feeling tension in a world under pressure[J]. *Front Plant Sci*, 2014(5): 558.
- [27] KE R, WU Y, WANG G, et al. Research progress in the correlation between insulin resistance and pulmonary arterial hypertension[J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2015, 35(2): 301-305.
- [28] De MENDONCA L, FELIX N S, BLANCO N G, et al. Mesenchymal stromal cell therapy reduces lung inflammation and vascular remodeling and improves hemodynamics in experimental pulmonary arterial hypertension [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 220.
- [29] RIEG A D, SULEIMAN S, ANKER C, et al. PDGF-BB regulates the pulmonary vascular tone: impact of prostaglandins, calcium, MAPK- and PI3K/AKT/mTOR signalling and actin polymerisation in pulmonary veins of guinea pigs[J]. *Respir Res*, 2018, 19(1): 120.
- [30] GHIMIRE K, ZARIC J, ALDAY-PAREJO B, et al. MAGI1 mediates eNOS activation and NO production in endothelial cells in response to fluid shear stress[J]. *Cells*, 2019, 8(5): 388.
- [31] ZHANG Y, DING J, XU C, et al. rBMSCs/ITGA5B1 promotes human vascular smooth muscle cell differentiation via enhancing nitric oxide production[J]. *Int J Stem Cells*, 2018, 11(2): 168-176.
- [32] PRADO C M, YANO L, ROCHA G, et al. Effects of inducible nitric oxide synthase inhibition in bronchial vascular remodeling-induced by chronic allergic pulmonary inflammation[J]. *Exp Lung Res*, 2011, 37(5): 259-268.