

文章编号:1004-7220(2011)02-0109-07

· 论 著 ·

## 高血压与低切应力对大鼠颈总动脉血管重建的影响

孔 翰, 张明亮\*, 严志强, 姜宗来

(上海交通大学 生命科学技术学院, 力学生物学与医学工程研究所, 上海 200240)

**摘要:** **目的** 研究高血压与低切应力对血管重建的影响及其机制, 这对于阐明血管疾病的发病机理以及提供诊断、治疗的一些基本原理都将有重要的理论和实际意义。**方法** 通过腹主动脉缩窄, 结扎左颈总动脉的部分分支建立高血压、左颈总动脉低切应力以及高血压伴有低切应力大鼠动物模型。几何形态学方法观测左颈总动脉的壁厚及壁厚/内径比的变化; 金属蛋白酶谱法分析 MMP-2 活性; 免疫印迹法检测信号通路分子 p-Akt 分子以及 Rho GDI $\alpha$  的表达变化。**结果** 高血压和低切应力均可诱导颈总动脉 MMP-2 活性和壁厚及壁厚/内径比显著增加; 当高血压伴有低切应力时, 两者的协同作用诱导颈总动脉 MMP-2 活性和壁厚及壁厚/内径比进一步增加, 从而促进血管重建。低切应力可诱导颈总动脉 p-Akt 的表达水平, 且与低切应力大小相关, 切应力低, p-Akt 的表达水平高。当高血压伴有低切应力时, 两者的协同作用诱导 p-Akt 的表达水平进一步增加。高血压和低切应力可诱导颈总动脉 Rho GDI $\alpha$  表达增加; 当高血压伴有低切应力时, 两者的协同作用诱导颈总动脉 Rho GDI $\alpha$  表达进一步增加。**结论** 高血压与切应力协同作用对血管重建的影响最为显著, Akt 和 Rho GDI $\alpha$  信号通路参与了高血压与低切应力诱导的血管重建过程。

**关键词:** 流体切应力; 高血压; 血管重建; 颈总动脉; 生物力学

**中图分类号:** R 318.01 **文献标志码:** A

## Effects of hypertension and low shear stress on common carotid remodeling in rats

KONG Han, ZHANG Ming-liang\*, YAN Zhi-qiang, JIANG Zong-lai (*Institute of Mechanobiology & Medical Engineering, School of Life Science & Biotechnology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China*)

**Abstract: Objective** To study the mechanisms of vascular remodeling induced by hypertension and/or low shear stress, which will be helpful in the prevention, diagnosis and treatment of cardiovascular diseases. **Method** The models of low shear stress in carotid artery or of hypertension were established by the ligation of partial distal branches of the left common carotid artery (LCA) or by the coarctation of aorta in SD rats, respectively. For some rats, the low shear stress in LCA was accompanied by the hypertension. The wall thickness and the ratio of wall thickness to inner diameter were determined by morphometrical approach. The MMP-2 activity was detected by gel zymography, and the expression of proteins, including p-Akt, Rho GDI $\alpha$ , was verified by Western blotting in LCA. **Results** When LCA was subjected to hypertension or low shear stress, MMP-2 activity, the wall thickness, and the ratio of wall thickness to inner diameter were all increased significantly. They were further enhanced when the hypertension and low shear stress were both existed, which would speed the vascular remodeling. Low shear stress induced the expression of p-Akt, and the lower shear stress, the higher p-Akt expression would be. However, the highest expression of p-Akt was observed in LCA of hypertension accompanied by low

收稿日期:2011-01-10; 修回日期:2011-01-28

基金项目:国家自然科学基金资助项目(10928206,10972141,10732070),综合性新药研究开发技术大平台资助项目(2009ZX09301-007)。

通讯作者:严志强, Tel: (021) 34204863; E-mail: zqyan@sjtu.edu.cn。

\* 共同第一作者

shear stress. The expression of Rho GDI $\alpha$  was upregulated in LCA by either low shear stress or hypertension. The highest expression of Rho GDI $\alpha$  was observed in LCA of hypertension accompanied by low shear stress.

**Conclusions** Vascular remodeling could be mostly influenced in LCA subjected to low shear stress accompanied by hypertension, which was also regulated through the changing expression of p-Akt and Rho GDI $\alpha$ .

**Key words:** Flow shear stress; Hypertension; Vascular remodeling; Common carotid artery; Biomechanics

血管重建是指机体在生长、发育、衰老和疾病等过程中,血管为适应体内外环境的变化而发生的形态结构和功能的改变。血管重建受生物、化学和物理等多种体内外因素的影响,其中力学因素在血管重建中的作用尤为重要。研究发现,在血管的弯曲处、动脉窦和血管分叉处的血流动力学发生改变,表现为低切应力或振荡切应力。如果同时再伴有高血压等其他系统性危险因素,最终将导致动脉粥样硬化<sup>[1-2]</sup>。临床上,许多血管再狭窄性疾病或动脉粥样硬化患者即同时患有高血压等。已有研究表明,低切应力使血管壁的功能包括内皮源性一氧化氮合酶的产生、血管舒张和内皮修复等均受到抑制,导致活性氧增加,内皮对脂蛋白通透性增高,白细胞附壁、凋亡,血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)增殖和胶原沉积。高血压可导致 VSMCs 肥大和增殖,血管壁的中膜增厚甚至内膜的增厚,发生血管重建<sup>[3-4]</sup>。然而,高血压与低切应力的协同作用对血管重建的影响及其机制尚未阐明。因此,研究高血压与低切应力同时存在条件下的血管重建机制,对于了解动脉粥样硬化等心血管疾病的发病机制,探讨心血管疾病的防治策略具有重要意义。

本文应用大鼠腹主动脉缩窄高血压模型并同时对其颈总动脉部分分支结扎,造成大鼠结扎侧颈总动脉呈现高血压和低切应力状态,观察颈总动脉重建的形态学变化,初步探讨了高血压伴低切应力诱导血管重建的相关机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 大鼠腹主动脉缩窄性高血压模型和颈总动脉分支结扎低血流模型

雄性 SD 大鼠,体重 180 ~ 200 g,以 1% 戊巴比妥钠(50 mg/kg 体重)腹腔注射麻醉,开腹,在双侧肾动脉上方游离出腹主动脉后,用 3-0 型线将腹主动脉与 6 号针头一起结扎后,抽出针头。检查腹主动脉通畅后,关闭腹腔。对照大鼠行假手术,即除不

结扎腹主动脉外,其余处理同腹主动脉缩窄。

在上述手术完成后,大鼠即刻充分暴露左颈总动脉(left common carotid artery, LCA)远侧部、颈内动脉与颈外动脉起始部和枕动脉,再分别行颈内动脉和颈外动脉同时结扎术,使得 LCA 的血流全部流经枕动脉;或仅结扎颈外动脉;对照大鼠则行假手术,不结扎颈总动脉任何分支。

所有手术在无菌条件下进行,动物术后饲养 4 w,期间给予标准大鼠饲料,自由饮食,饲养室内照明保持黑夜/白昼各 12 h,室温 23 ~ 25 °C。

### 1.2 实验分组

依据上述腹主动脉缩窄和颈总动脉分支结扎两种模型的复制方式,将实验动物分为下列 6 组(见表 1)。

表 1 实验动物分组

Tab. 1 Grouping of the experimental animals

组别	术式	高血压	LCA 血流量减少/%
NT-NF	腹主动脉假手术 + 颈总动脉假手术(正常对照)	无	0
NT-40	腹主动脉假手术 + 颈外动脉结扎	无	40
NT-90	腹主动脉假手术 + 颈内动脉与颈外动脉同时结扎	无	90
HT-NF	腹主动脉缩窄 + 颈总动脉假手术	是	0
HT-40	腹主动脉缩窄 + 颈外动脉结扎	是	40
HT-90	腹主动脉缩窄 + 颈内动脉与颈外动脉同时结扎	是	90

上述每组 10 个动物,术后 4 w 测血压及血流量值。然后,颈总动脉取材,每组 5 例大鼠经 4% 多聚甲醛固定后得到颈总动脉用于形态学检测。另外,每组 5 例大鼠的颈总动脉新鲜取材后用于免疫印迹测定蛋白表达的变化。

### 1.3 颈总动脉的血流量和血压测定

术前、术后即刻及术后 4 w,用超声血流量仪(TS420, Transsonic 公司)测量大鼠颈总动脉血流量。解剖、充分暴露 LCA,在 LCA 周围涂上医用超声导胶,将动脉嵌入超声探头凹槽,致探头埋入超声导胶,调整探头位置使其与血管长轴方向垂直,同时观察计算机屏幕,待测量波形稳定后固定探头。探头所测信号经血流量仪和多通道生理记录仪(MP30B-CE, Biopac 公司)放大采集后,将血流数值波形输入计算机。打开生理信号记录仪所带软件(BSL PRO 3.6.7),设置通道参数、信号采样频率(500 点/s)和采样时间(5 min)。

术后 4 w,各实验组和对照组大鼠测量血压。方法如下:大鼠以 1%戊巴比妥钠溶液麻醉(50 mg/kg),四肢固定后,暴露右颈总动脉(right carotid artery, RCA)并游离;结扎 RCA 远心端,动脉向心方向插管(外径 0.7 mm),插管连压力传感器,再通过多通道生理信号记录仪,将血压数值波形输入计算机。打开生理信号记录仪所带软件(BSL PRO 3.6.7),设置参数、采样频率(200 点/s)和采样时间(5 min)。

### 1.4 颈总动脉平均切应力计算

颈总动脉是一段平直均匀的血管,其平均切应力  $\Gamma$  可以根据 Hagen-Poiseuille 公式计算,即

$$\Gamma = 4\eta Q / \pi r^3$$

式中:血液黏度系数  $\eta$  值取 0.035;  $Q$  为体积流量(mL/s);  $r$  为血管内半径(cm)。

### 1.5 颈总动脉的固定与取材

术后 4 w 的大鼠用 1%戊巴比妥钠(80 mg/kg)麻醉致死,开胸,暴露心,将灌流导管插入左心室或主动脉根部,通过调整灌流瓶液面高度,使灌注压力维持在 14.63 kPa,先用生理盐水冲洗血管系统,待右心房流出液体变得清澈后(约 5 min),改用 1%戊二醛、4%多聚甲醛的 0.1 mol/L PBS 原压灌流固定 15 min 后取材,其中部分颈总动脉用于制备冰冻切片(10  $\mu$ m),部分颈总动脉用于石蜡包埋。

### 1.6 颈总动脉切片与几何形态数据测量

取颈总动脉用 OCT 包埋后,冰冻切片(片厚 10  $\mu$ m, Leica RM 2135 切片仪),常规 HE 染色。正置荧光显微镜(Olympus BX51)下观察,CCD 摄取图像并输入计算机,用图像分析软件(Image Pro Plus,

v5.4, Media Cybernetics 公司)在血管横切面上,取径向对称的 4 个区(点),测量血管的内径、壁厚(即中膜与内膜厚度),取平均值并计算壁厚/内径比。

### 1.7 蛋白免疫印迹法检测 p-Akt 和 Rho GDI $\alpha$ 表达

新鲜取材的各组血管,经液氮研磨后,加入预冷的含蛋白酶抑制剂的组织裂解液裂解,于 4  $^{\circ}$ C, 15 000 r/min 离心 15 min 后,取上清,用紫外分光光度计定量测定血管组织总蛋白浓度,然后进行免疫印迹检测 p-Akt 和 Rho GDI $\alpha$  的表达,蛋白样品经 SDS-PAGE,半干转膜,NC 膜置于含 5%脱脂奶粉的 TBST 封闭缓冲液 37  $^{\circ}$ C 封闭 1 h,加一抗(鼠抗 Rho GDI $\alpha$  单克隆抗体(Santa Cruz 公司),兔抗 p-Akt 多克隆抗体(CST 公司),小鼠抗  $\beta$ -actin 单克隆抗体(Sigma 公司)) 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜;次日,用封闭缓冲液稀释碱性磷酸酶(AP)标记的马抗鼠 IgG、山羊抗兔 IgG(稀释倍数 1:1000),室温孵育 2 h;用新鲜配制 NBT / BCIP 显色液显色,扫描结果并应用全自动凝胶成像分析系统(Bio-Rad 公司)对结果进行分析。

### 1.8 明胶酶谱法检测 MMP-2

将颈总动脉蛋白裂解液加入到 SDS-PAGE 上样孔内进行电泳,电泳结束后将凝胶置入到洗脱液中振荡洗脱 2 次,再用漂洗液漂洗 2 次,然后将凝胶置于孵育液中 37  $^{\circ}$ C 孵育 42 h,孵育结束后用染色液染色 3 h 及脱色液脱色,显示出 MMP-2 为位于蓝色背景中的透亮带,用凝胶图像分析系统分析读取条带面积、宽度和灰度值,做统计分析。

### 1.9 统计学处理

各组间实验数据以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。两组数据间的差异采用  $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异具有显著性, $P < 0.01$  为差异具有高度显著性。

## 2 实验结果

### 2.1 术后 4 w 大鼠动脉平均血流量及血压

正常对照组和各实验组大鼠动脉血压、LCA 血流量和切应力的测量计算结果如表 2 所示。由表可见,腹主动脉缩窄的动物术后 4 w 呈现为高血压,对照组血压正常,颈内动脉与颈外动脉同时结扎术后即刻 LCA 血流量较术前减少 90%,血流量随术后时间逐渐有所增加,术后 4 w 流量较术前减少 60%左右,切应力较对照组明显减低;颈外动脉结扎术后即刻 LCA 血流量较术前减少 40%,血流量也随术后时间

逐渐有所增加,术后4 w 血流量较术前减少30%左右,切应力同样较对照组减低。总之,术后4 w 实验组大鼠的LCA 呈现为高血压和/或低切应力状态。

表2 结扎颈总动脉部分分支及缩窄腹主动脉对左颈总动脉血流量、切应力及血压的影响

Tab.2 Effect of the ligation of partial distal branches and coarctation of aorta on blood flow, shear stress and blood pressure in the left common carotid artery (LCA)

	血压/mmHg		流量/(mL · min <sup>-1</sup> )			切应力/Pa		
	术后4 w	术前	术后即刻	术后4 w	术前	术后即刻	术后4 w	
NT-NF	108 ± 14	4.05 ± 0.26	4.17 ± 0.24	4.62 ± 0.31	20.24 ± 2.45	21.69 ± 2.31	25.56 ± 3.31	
NT-40	104 ± 18	4.17 ± 0.41	2.51 ± 0.22*	2.75 ± 0.24*	22.37 ± 2.95	12.64 ± 2.42	13.54 ± 2.14*	
NT-90	110 ± 13	4.11 ± 0.22	0.48 ± 0.12*	1.48 ± 0.58*	22.34 ± 1.58	2.44 ± 0.56	7.41 ± 2.18*	
HT-NF	204 ± 12	4.06 ± 0.25	4.14 ± 0.19	4.54 ± 0.41	21.18 ± 2.13	22.54 ± 1.82	23.42 ± 4.21	
HT-40	214 ± 18	4.02 ± 0.37	2.40 ± 0.17*	2.84 ± 0.37*	20.37 ± 3.04	12.54 ± 2.81	14.43 ± 1.67*	
HT-90	210 ± 15	4.13 ± 0.23	0.40 ± 0.03*	1.54 ± 0.47*	21.57 ± 2.95	2.14 ± 0.31	8.14 ± 4.24*	

注:n = 10, \*P < 0.05 vs 结扎前

## 2.2 高血压与低切应力对颈总动脉组织结构和几何形态的影响

为了研究高血压与低切应力对颈总动脉组织结构和几何形态的影响,用各组动物LCA 的HE 染色的横切面切片(见图1),测量了各组动物LCA 的壁厚及内径,计算了壁厚/内径比,结果如表3 所示。

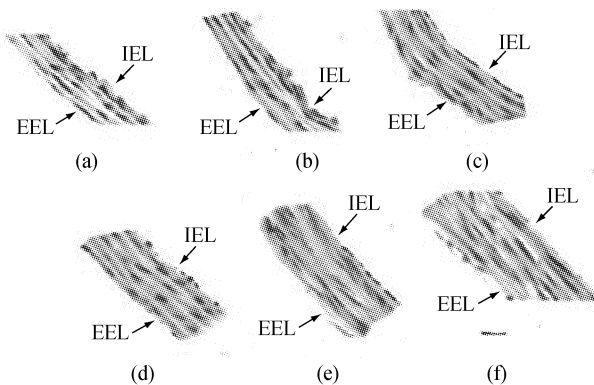


图1 术后4 w 大鼠颈总动脉横断面显示管壁结构的变化(HE 染色) (a) NT-NF, (b) NT-40, (c) NT-90, (d) HT-NF, (e) HT-40, (f) HT-90 (IEL: 内弹力膜; EEL: 外弹力膜。标尺 = 100 μm)

Fig.1 The cross sections of the common carotid arteries at 4 w after operation(HE staining) (a) NT-NF, (b) NT-40, (c) NT-90, (d) HT-NF, (e) HT-40, (f) HT-90 (IEL: internal elastic lamina; EEL: external elastic lamina. Bar = 100 μm)

如表3 所示,在正常血压大鼠,LCA 血流量减少40%的NT-40 组LCA 的壁厚、壁厚/内径比与正常对照组相比,无显著变化;而血流量减少90%的NT-90 组LCA 壁厚及壁厚/内径比与正常对照组相

比显著增加。在腹主动脉缩窄的高血压大鼠,LCA 血流量无变化的HT-NF 组LCA 的壁厚及壁厚/内径比与正常对照组相比显著增加;血流量减少40%的HT-40 组和血流量减少90%的HT-90 组LCA 的壁厚及壁厚/内径比,与正常对照组相比均显著增加。然而,HT-90 组与HT-40 组相比,LCA 壁厚及壁厚/内径比的增加更为显著。结果表明,高血压可以诱导动脉壁厚及壁厚/内径比显著增加;动脉血流量减少90%的低切应力状态也可诱导动脉壁厚及壁厚/内径比显著增加。当高血压伴有低切应力时,高血压与低切应力的协同作用诱导动脉壁厚及壁厚/内径比进一步增加。

表3 各组大鼠颈总动脉的几何形态指标

Tab.3 Morphometrical index of common carotid artery of SD rats in each experimental group

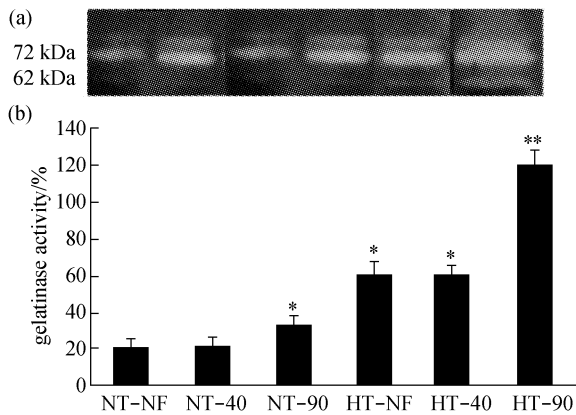
组别	壁厚/μm	内径/μm	壁厚内径比
NT-NF	154.5 ± 6.0	662.0 ± 6.1	0.24 ± 0.02
NT-40	162.0 ± 3.0	690.4 ± 5.5	0.23 ± 0.03
NT-90	232.5 ± 4.5*	572.2 ± 4.2*	0.41 ± 0.03*
HT-NF	268.5 ± 6.0*	721.5 ± 5.6*	0.37 ± 0.02*
HT-40	292.5 ± 7.5#	630.2 ± 6.6#	0.46 ± 0.04#
HT-90	352.5 ± 9.0*	571.5 ± 7.4*	0.68 ± 0.05*

注:n = 5, \*P < 0.05 vs NT-NF 组,#P < 0.05 vs NT-40 组,\*P < 0.05 vs NT-90 组

## 2.3 高血压与低切应力对颈总动脉壁MMP-2 活性的影响

MMP-2 在细胞外基质重建中起到关键的作用。

为了研究高血压与低切应力诱导的血管重建过程中细胞外基质合成与分解的改变,本文通过酶谱法检测 MMP-2 的酶原(72 kDa)及其活化形式(62 kDa)。酶谱定量结果如图 2 所示。



**图2 高血压与低切应力诱导的颈总动脉 MMP-2 活性增加** (a) 颈总动脉总蛋白在不同切应力及有无高血压时的明胶酶活性, (b) 颈总动脉明胶酶活性的定量分析 (\*  $P < 0.05$  vs NT-NF 组, \*\*  $P < 0.01$  vs NT-NF 组)

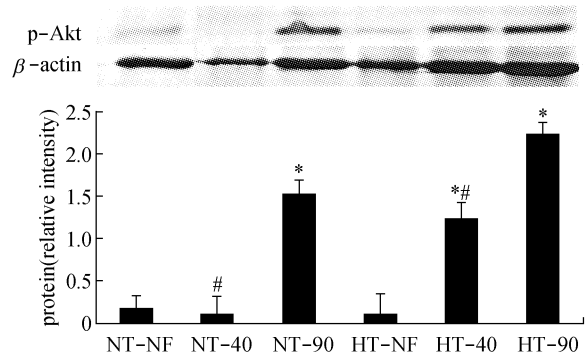
**Fig.2 Gelatinase activities of MMPs in carotid arteries induced by alterations of shear stress and hypertension** (a) Zymographic analyses of gelatinases from carotid artery extracts, (b) Quantification of gelatinase activity from carotid arteries (\*  $P < 0.05$  vs NT-NF group, \*\*  $P < 0.01$  vs NT-NF group)

由图 2 可见,术后 4 w,在正常血压大鼠,LCA 血流量减少 40% 的 NT-40 组 LCA,MMP-2 的活性与正常对照组相比,无显著性的变化;而血流量减少 90% 的 NT-90 组 LCA、MMP-2 的活性与正常对照组相比显著增加。在腹主动脉缩窄的高血压大鼠,LCA 血流量无变化的 HT-NF 组,LCA 的 MMP-2 活性与正常对照组相比显著增加;血流量减少 40% 的 HT-40 组和血流量减少 90% 的 HT-90 组 LCA 的 MMP-2 活性,与正常对照组相比均显著增加。而且,HT-90 组与 HT-40 组相比,MMP-2 的活性增加更为显著。结果表明,高血压可以诱导 MMP-2 的活性增加;动脉血流量减少 90% 的低切应力状态也可诱导 MMP-2 的活性增加。当高血压伴有低切应力时,高血压与低切应力的协同作用诱导 MMP-2 的活性进一步增加。

#### 2.4 高血压与低切应力对颈总动脉壁 p-Akt 蛋白表达的影响

Akt 信号通路是否参与了高血压与低切应力诱

导的血管重建过程是本文关注的重要问题。应用 Western blot 法检测了 LCA 的 p-Akt 蛋白表达变化,结果如图 3 所示:术后 4 w,在正常血压大鼠,LCA 血流量减少 40% 的 NT-40 组 LCA,p-Akt 的蛋白水平与正常对照组相比,无显著性的变化;而血流量减少 90% 的 NT-90 组 LCA,p-Akt 的蛋白水平与正常对照组相比显著增加。在腹主动脉缩窄的高血压大鼠,LCA 血流量无变化的 HT-NF 组,LCA 的 p-Akt 的蛋白水平与正常对照组相比也无显著性的变化;血流量减少 40% 的 HT-40 组和血流量减少 90% 的 HT-90 组 LCA 的 p-Akt 的蛋白水平,与正常对照组相比均显著增加。而且,HT-90 组与 HT-40 组相比,p-Akt 的蛋白水平增加更为显著。结果表明,单独高血压时,颈总动脉 p-Akt 表达水平不高,p-Akt 的表达水平与血管重建中的低切应力大小相关,切应力低,p-Akt 的表达水平高。当高血压伴有低切应力时,高血压与低切应力的协同作用诱导 p-Akt 的表达水平进一步增加。结果提示,Akt 信号通路参与了高血压与低切应力诱导的血管重建过程。



**图3 高血压与低切应力诱导的颈总动脉 p-Akt 表达** (\*  $P < 0.05$  vs NT-NF 组,  $P < 0.05$  vs HT-90 组, NT-90 组)

**Fig.3 Protein expression of p-Akt induced by hypertension and low shear stress** (\*  $P < 0.05$  vs NT-NF group,  $P < 0.05$  vs HT-90 group, NT-90 group)

#### 2.5 高血压与低切应力对颈总动脉壁 Rho GDI $\alpha$ 蛋白表达的影响

为了研究 Rho GDI $\alpha$  在高血压与低切应力诱导颈总动脉重建过程中的作用,应用 Western blot 法检测了 LCA 的 Rho GDI $\alpha$  蛋白表达变化,结果如图 4 所示。

由图 4 可见,术后 4 w,在正常血压大鼠,LCA 血流量减少 40% 的 NT-40 组 LCA,Rho GDI $\alpha$  蛋白

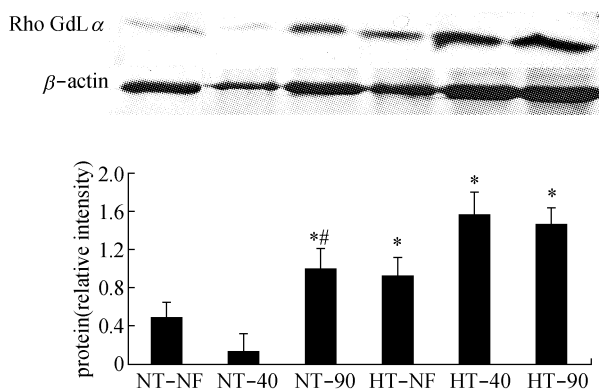


图4 高血压与低切应力诱导的颈总动脉 RhoGDI $\alpha$  的表达 (\* $P < 0.05$  vs NT-NF 组,  $P < 0.05$  vs HT-90 组)

Fig. 4 Protein expression of RhoGDI $\alpha$  induced by hypertension and low shear stress (\* $P < 0.05$  vs NT-NF group,  $P < 0.05$  vs HT-90 group)

的蛋白水平与正常对照组相比,无显著性变化;而血流量减少 90% 的 NT-90 组 LCA, Rho GDI $\alpha$  的蛋白水平与正常对照组相比显著增加。在腹主动脉缩窄的高血压大鼠, LCA 血流量无变化的 HT-NF 组, LCA 的 Rho GDI $\alpha$  蛋白水平与正常对照组相比显著性的增加;血流量减少 40% 的 HT-40 组和血流量减少 90% 的 HT-90 组 LCA 的 Rho GDI $\alpha$  蛋白水平,与正常对照组相比均显著增加。而且, HT-90 组与 HT-40 组相比, Rho GDI $\alpha$  蛋白水平增加更为显著。结果表明,高血压可以诱导颈总动脉 Rho GDI $\alpha$  蛋白显著增加;动脉血流量减少 90% 的低切应力状态也可诱导 Rho GDI $\alpha$  蛋白水平显著增加。当高血压伴有低切应力时,高血压与低切应力的协同作用诱导 Rho GDI $\alpha$  蛋白水平进一步增加。

### 3 讨论

本文建立了颈总动脉高血压与低切应力共存的大鼠模型,探讨了在高血压与低切应力协同作用下颈总动脉的重建及其机制,包括颈总动脉形态学改变,如血管壁厚、壁厚/内径比的变化、MMP-2活性的改变以及信号通路分子 p-Akt 和 Rho GDI $\alpha$  的表达变化。

高血压血管结构重建主要表现在血管管腔、壁厚以及壁厚/内径比的变化,还有 VSMCs 增殖、肥大、凋亡和细胞外基质的异常<sup>[5]</sup>。本文观察了高血压与低切应力对颈总动脉组织结构和几何形态的影

响,结果表明,高血压可以诱导动脉壁厚及壁厚/内径比显著增加;动脉血流量减少 90% 的低切应力状态也可诱导动脉壁厚及壁厚/内径比显著增加。当高血压伴有低切应力时,高血压与低切应力的协同作用诱导动脉壁厚及壁厚/内径比进一步增加。

Fung<sup>[6]</sup>的“应力-生长”原理指出,包括细胞和细胞外基质的生长和消蚀在内的血管重建过程与血管中的应力状态密切相关,血管的生长决定于应力和应变。生理状态下的应力刺激使血管壁细胞的增殖和凋亡处于动态的平衡,以维持血管形态结构和功能的稳定。应力的异常改变将使血管壁结构和功能发生适应性改变。关于切应力与血管重建的关系已有很多研究<sup>[7-10]</sup>。血管内皮细胞与血液的接触,直接承受血流切应力,并将所感受的切应力信息传递到毗邻的 VSMCs,进而释放和激活某些血管活性物质以影响 VSMCs 和细胞外基质,促使血管壁结构发生变化,最终使血管与其所处力学环境相适应。本文结果表明,低切应力与高血压可以产生协同作用促进血管重建。而对于这一现象的力学生物学机制尚未见有报道。于是,本文进一步观察了 MMP-2、Rho GDI $\alpha$  和 Akt 信号通路分子在高血压与低切应力协同诱导血管重建中的作用。

血管重建时,细胞外基质的平衡被破坏,大量细胞外基质形成,而金属蛋白酶活化是导致细胞外基质变化的重要因素之一<sup>[11]</sup>。本文结果显示,在血压正常大鼠的 LCA 血流量减少 40% 时, MMP-2 几乎未发生变化;而 LCA 血流量减少达 90% 时, MMP-2 的活性才显著增加。在高血压大鼠, LCA 的 MMP-2 活性也发生了显著增加;尤其伴有低切应力时, MMP-2 的活性进一步提高。结果表明, MMP-2 在血管重建中起了非常重要的作用。高血压与低切应力的协同作用可以明显增加血管 MMP-2 的活性,从而促进血管发生明显的重建。

本文结果显示,高血压伴低切应力诱导的血管重建中, Akt 信号通路中 p-Akt 蛋白水平表达最高,此时血管壁最厚,血管重建最明显。这一结果提示, Akt 信号通路可能对于高血压与低切应力的协同作用诱导的血管重建有重要意义。研究表明, Rho 家族蛋白,主要是 RhoA、Cdc42 和 Rac1,在高血压血管中被活化并参与了血管重建过程<sup>[12]</sup>。RhoGDI $\alpha$  主要功能是在胞浆内和非活化的 RhoGTPase 形成复

合体,防止其被活化;转运 Rho 蛋白到细胞膜特定位置并释放,使其受到活化从而参与相关信号通路;当与特殊效应因子或受到磷酸化后,RhoGDI 还能帮助 Rho 转运到特定的亚细胞器膜上<sup>[13]</sup>。本实验室的血管蛋白组学研究结果表明,与正常血压京都种大鼠比较,RhoGDI $\alpha$  在 18 w 自发性高血压大鼠显著高表达<sup>[14]</sup>。同时,在腹主动脉缩窄性高血压大鼠观察到,胸主动脉 RhoGDI $\alpha$  的表达也显著高于正常血压大鼠<sup>[15]</sup>。在高血压时,RhoGDI $\alpha$  的高表达可以帮助保持 Rho 蛋白的量,而后者与细胞异常增殖凋亡和迁移等现象有密切关系。Rho 蛋白的其他效应分子已被证实与心血管疾病有关<sup>[16-17]</sup>,RhoGDI $\alpha$  也参与了血管重建过程。从本文结果可知,在高血压与低切应力同时存在时,血管 RhoGDI $\alpha$  蛋白水平表达最高;而高血压或低切应力单独存在时,血管 RhoGDI $\alpha$  的表达水平也均较正常对照组增高,说明切应力也参与了 RhoGDI $\alpha$  表达的调控。然而,其具体机制有待于进一步的深入研究。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Resnick N, Yahav H, Shay-Salit A, *et al.* Fluid shear stress and the vascular endothelium: For better and for worse [J]. *Prog Biophys Mol Biol*, 2003, 81(3):177-199.
- [ 2 ] Gimbrone MA Jr, Topper JN, Nagel T, *et al.* Endothelial dysfunction, hemodynamic forces, and atherogenesis [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2000, 902:230-240.
- [ 3 ] Helderma F, Segers D, de Crom R, *et al.* Effect of shear stress on vascular inflammation and plaque development [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2007, 18(5):527-33.
- [ 4 ] Hayashi K, Naiki T. Adaptation and remodeling of vascular wall; biomechanical response to hypertension [J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2009, 2(1):3-19.
- [ 5 ] 姜宗来,冀凯宏,杨向群,等. 自发性高血压大鼠胸主动脉的结构重建及力学特性[J]. *生物医学工程杂志*,2000,17(1):77-81.
- [ 6 ] Fung YC. *Biomechanics: Motion, flow, stress, and growth* [M]. New York: Spring-Verlag, 1990: 499-537.
- [ 7 ] 姜晓华,姚庆苹,姜隽,等. 切应力与血管平滑肌细胞对上皮细胞增殖的影响及 TGF $\beta$ 1 与 p-Akt 信号通路在其中的作用 [J]. *医用生物力学*, 2010, 25(5):316-320.
- [ 8 ] Jiang XH, Yao QH, Jiang J, *et al.* Shear stress and vascular smooth muscle cells modulate the proliferation of endothelial cells via TGF $\beta$ 1 and p-Akt pathways[J]. *J Med Biomech*, 2010,25(5):316-320.
- [ 9 ] Chen CN, Chang SF, Lee PL, *et al.* Neutrophils, lymphocytes, and monocytes exhibit diverse behaviors in transendothelial and subendothelial migrations under coculture with smooth muscle cells in disturbed flow [J]. *Blood*, 2006, 107(5):1933-1942.
- [ 10 ] Hsiai TK. Mechanosignal transduction coupling between endothelial and smooth muscle cells: Role of hemodynamic forces [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 294(3):C659-61.
- [ 11 ] 郭子义,严志强,张明亮,等. 血流切应力变化导致颈总动脉重建及其对血管平滑肌细胞凋亡和分化的影响[J]. *医用生物力学*, 2008, 23(1):61-65.
- [ 12 ] Guo ZY, Yan ZQ, Zhang ML, *et al.* Common carotid remodeling induced by flow shear stress alteration and its effect on apoptosis and dedifferentiation of VSMC in rat [J]. *J Med Biomech*,2008,23(1): 61-65.
- [ 13 ] Lemarié CA, Tharaux PL, Lehoux S Extracellular matrix alterations in hypertensive vascular remodeling [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2010, 48(3):433-439.
- [ 14 ] van Nieuw Amerongen GP, van Hinsbergh V WM. Cytoskeletal effects of rho-like small guanine nucleotide-binding proteins in the vascular system [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, 21(3):300-311.
- [ 15 ] Sasaki T, Takai Y. The Rho small G protein family-Rho GDI system as a temporal and spatial determinant for cytoskeletal control [J]. *BBRC*, 1998, 245(3): 641-645.
- [ 16 ] Bian YL, Qi YX, Yan ZQ, *et al.* A proteomic analysis of aorta from spontaneously hypertensive rat: RhoGDI alpha upregulation by angiotensin II via AT(1) receptor [J]. *Eur J Cell Biol*, 2008, 87(2):101-110.
- [ 17 ] 张明亮,严志强,郭子义,等. 高血压大鼠胸主动脉 RhoGDI alpha 表达上调及其机制初探[J]. *解剖学报*,2009,40(4):625-629.
- [ 18 ] Riha GM, Lin PH, Lumsden LB, *et al.* Roles of hemodynamic forces in vascular cell differentiation [J]. *Ann Biomech Eng*, 2005, 33(6):772-779.
- [ 19 ] Custodis F, Eberl M, Kilter H, *et al.* Association of RhoGDI $\alpha$  with Rac1 GTPase mediates free radial production during myocardial hypertrophy [J]. *Cardiovasc Res*, 2006, 71(2): 342-351.