

文章编号:1004-7220(2022)02-0335-07

# 生理性周期性张应变通过激活 AMPK 磷酸化抑制血管平滑肌细胞迁移

范洋晶, 李之音, 姜宗来, 齐颖新, 韩悦  
(上海交通大学 生命科学技术学院, 力学生物学研究所, 上海 200240)

**摘要:**目的 探讨细胞能量代谢的关键调节因子 AMP 激活的蛋白激酶 AMPK 在血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 响应生理性周期性张应变力学刺激后对 VSMCs 迁移的影响。方法 采用 Flexcell-5000T 体外细胞张应变加载系统, 对大鼠原代培养的 VSMCs 施加 10% 幅度、1.25 Hz 频率的周期性张应变, 模拟 VSMCs 在体内的生理性力学环境; 以未加载周期性张应变的静态细胞为对照组, Western blotting 检测 VSMCs 的 p-AMPK 蛋白表达; 划痕实验检测 VSMCs 迁移功能。结果 与静态组的细胞相比, 生理性周期性张应变加载 24 h 后显著减少划痕愈合面积, 提示生理性周期性张应变抑制 VSMCs 迁移; 生理性周期性张应变加载 3 h 后, VSMCs 的 p-AMPK 蛋白表达显著升高, 而加载 24 h 后 p-AMPK 蛋白表达显著降低。在生理性周期性张应变加载条件下, 孵育 AMPK 抑制剂可以在张应变加载 3 h 后显著降低 p-AMPK 蛋白表达, 而在张应变加载 24 h 后显著促进 VSMCs 迁移; 在静态条件下孵育 AMPK 激活剂 AICAR 3 h 后显著诱导 p-AMPK 蛋白表达, 孵育 24 h 后显著抑制 VSMCs 迁移; 提示 p-AMPK 蛋白表达参与调控 VSMCs 迁移。结论 生理性周期性张应变能通过激活 p-AMPK 蛋白表达, 进而抑制 VSMCs 迁移, 提示生理性周期性张应变调控 VSMCs 迁移对维持血管稳态具有重要意义。

**关键词:**周期性张应变; 力学刺激; 血管平滑肌细胞; 细胞迁移

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2022.02.023

## Physiological Cyclic Stretch Inhibits Vascular Smooth Muscle Cell Migration via Activating AMPK Phosphorylation

FAN Yangjing, LI Zhiyin, JIANG Zonglai, QI Yingxin, HAN Yue

(Institute of Mechanobiology and Medical Engineering, School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

**Abstract: Objective** To explore the role of adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK), a key regulator of cellular energy metabolism, in vascular smooth muscle cell (VSMC) migration in response to physiological cyclic stretch. **Methods** The Flexcell-5000T mechanical loading system was applied with a physiological cyclic stretch at 10% amplitude and 1.25 Hz frequency to primary rat VSMCs, to simulate mechanical stimulation of VSMCs *in vivo*. The protein expression of p-AMPK in VSMCs was detected by Western blotting, and VSMC migration was detected by wound healing test. **Results** Compared with the static group, physiological cyclic stretch loading for 24 h significantly decreased the area of wound healing, indicating that physiological cyclic stretch inhibited VSMC migration. The protein expression of p-AMPK in VSMCs was increased

收稿日期: 2021-04-27; 修回日期: 2021-05-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (12072197, 11972232)

通信作者: 韩悦, 副研究员, E-mail: hanyue625@sjtu.edu.cn

significantly after physiological cyclic stretch loading for 3 h, and was decreased significantly after 24 h. Under physiological cyclic stretch loading conditions, incubating AMPK inhibitor could significantly reduce the protein expression of p-AMPK after 3 h, and promote VSMC migration after 24 h; incubating AMPK activator AICAR under static conditions significantly increased the protein expression of p-AMPK after 3 h, and weakened VSMC migration after 24 h. **Conclusions** Physiological cyclic stretch inhibits VSMC migration by increasing the protein expression of p-AMPK, indicating that VSMC migration regulated by physiological cyclic stretch is of great significance for maintaining vascular homeostasis.

**Key words:** cyclic stretch; mechanical stimulation; vascular smooth muscle cells (VSMCs); cell migration

血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 位于血管壁中膜层, 其主要功能是调节血压并维持血管壁的生理功能<sup>[1]</sup>。因此, VSMCs 的增殖、迁移等细胞功能在维持血管稳态中发挥着重要作用。正常生理状态下, VSMCs 主要承载由血流脉动而产生的周期性张应变, 这种力学刺激对血管细胞发挥正常的生理功能至关重要<sup>[2]</sup>。深入研究力学刺激在 VSMCs 维持血管稳态中的作用, 对揭示心血管正常生理活动的分子机制以及心血管疾病的发生、发展和防治均具有重要意义。

在体血管持续受到力学刺激, 以启动细胞内的信号转导途径, 从而改变细胞行为和功能<sup>[3]</sup>。细胞对力学信号响应异常诱导动脉粥样硬化、高血压等血管疾病的发生。当血管因病理或术后机械摩擦发生损伤后, VSMCs 从血管中膜层迁移进入内膜层, 从而促进血管病变的形成。在血管损伤的动物模型中, 内膜和中膜的增厚被认为是由于 VSMCs 增殖以及从中膜向内膜层的过度迁移造成<sup>[4-6]</sup>。关于 VSMCs 迁移的研究表明, 抑制细胞异常迁移可能有助于预防、减少血管生成或减少血管损伤后的后遗症。AMP 激活的蛋白激酶 AMPK 是一种能量调节剂, 存在于复杂的代谢网络中。已有研究表明, AMPK 是能量代谢的关键调节因子, 参与调节 VSMCs 增殖、迁移和分化等功能, 维持血管稳态、抑制血管重建和多种心血管疾病的进程<sup>[7]</sup>。AMPK 在动脉粥样硬化过程中起保护作用, AMPK $\alpha$ 2 缺失诱导收缩表型 VSMCs 转换为合成表型, 促进斑块不稳定性<sup>[8]</sup>。Zhang 等<sup>[9]</sup>研究证实, AMPK/Nox4 信号通路参与二甲双胍和利格列汀对糖尿病大鼠颈动脉内膜增生的保护作用, 并通过抑制 VSMCs 重构发挥作用。血管紧张素 II 的 1 型受体拮抗剂具有显著的心血管保护作用, 可以通过激活 AMPK 抑制活

性氧的产生, 从而减弱 VSMCs 增殖和迁移<sup>[10]</sup>。AMPK 在维持血管稳态中发挥重要作用, 但生理性周期性张应变对 AMPK 参与调控 VSMCs 迁移的作用仍不完全清楚。

本文通过 Flexcell 体外细胞张应变加载系统对大鼠胸主动脉 VSMCs 进行周期性张应变加载, 加载条件为 10% 幅度、1.25 Hz 频率, 模拟生理条件下 VSMCs 的力学环境。通过蛋白免疫印迹 (Western blotting) 实验和划痕实验研究生理性周期性张应变对 VSMCs 的 AMPK 蛋白磷酸化表达和迁移功能的影响, 使用 AMPK 抑制剂和激活剂确定 p-AMPK 参与生理性周期性张应变对 VSMCs 迁移的调控。本文通过研究生理性周期性张应变调控 VSMCs 迁移的分子机制, 为深入探讨维持血管稳态的力学生物学机制提供一些新的实验依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞培养

通过组织贴块法获得大鼠原代 VSMCs。取新鲜分离 SD 大鼠 (180~200 g) 胸主动脉, 剪碎并放入含 10% 小牛血清 FCS (Gibco 公司, 美国) 的 DMEM 培养基 (Gibco 公司, 美国) 中, 置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养, 传代, 取第 4~8 代细胞用于后续实验。

### 1.2 细胞生理性张应变加载

用 Flexcell-5000T (Flexcell 公司, 美国) 细胞张应变加载系统对 VSMCs 进行周期性张应变加载<sup>[11]</sup>。将 VSMCs 种在 Flexcell 板上 (Flexcell 公司, 美国), 贴壁后更换成无血清的 DMEM 培养液同步化处理 24 h。以未加载张应变的 VSMCs 为静态对照组 (ST 组); 加载 10%、1.25 Hz 周期性张应变为实验组 (CS 组), 以此模拟生理性的周期性张应变。

实验组分别加载 3、24 h 后,收取 VSMCs 的蛋白样品,检测其 p-AMPK 蛋白表达;VSMCs 加载 0 h(即加载的起始点)和 24 h 后,通过倒置显微镜(Olympus 公司,日本)观察 VSMCs 迁移。

### 1.3 药物孵育

细胞同步化结束前预孵育 10  $\mu\text{mol/L}$  的 AMPK 抑制剂 Compound C(Selleck 公司,美国)1 h,然后对 VSMCs 进行周期性张应变加载,命名为 CS + IN 组。静态条件下,在同步化结束前将 VSMCs 分别预孵育 10  $\mu\text{mol/L}$  的 AMPK 抑制剂 Compound C 或 1 mmol/L AMPK 的激活剂 AICAR(MCE 公司,美国)1 h,然后将 VSMCs 放置于静态条件,命名为 ST+IN 组或 ST+AICAR 组。药物预孵育 1 h 结束后,同样,对静态或张应变加载 3 h 后的 VSMCs,检测其 p-AMPK 蛋白表达;静态或张应变加载 0、24 h 后,通过倒置显微镜观察 VSMCs 迁移。

### 1.4 蛋白免疫印迹

使用蛋白裂解液收集不同组别蛋白样品,100  $^{\circ}\text{C}$  变性 5 min,每孔加样 15~20  $\mu\text{L}$ ,然后将电压调至 80 V 进行电泳。蛋白电泳结束后,采用 PVDF 膜转膜 2 h。转膜结束后,将条带放入 5% 脱脂牛奶中封闭 1 h。封闭完成后使用抗 p-AMPK(1:1 000)、AMPK(1:1 000)和 GAPDH(1:1 000)的一抗 4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。第 2 天 TBST 漂洗 3 次后,将目的条带与相应的二抗室温孵育 2 h。TBST 漂洗 3 次后,使用 ECL 发光法进行显色。最终的目标蛋白灰度信号通过 Image Studio 软件进行量化。

### 1.5 细胞迁移划痕实验

将 VSMCs 接种于 Flexcell 板中,使用 20  $\mu\text{L}$  枪头在每孔的相同位置画两条十字交叉的直线。划痕后,使用配备相机的倒置显微镜分别在 0、24 h 捕获图像,评估对照组和实验组 VSMCs 迁移能力。研究 AMPK 抑制剂对 VSMCs 迁移的影响时,将 10  $\mu\text{mol/L}$  Compound C 与 VSMCs 预孵育 1 h 后,再创建划痕;在 0、24 h 捕获图像,评估 ST+IN 组和 CS+IN 组 VSMCs 迁移能力。研究 AMPK 激活剂 AICAR 对 VSMCs 迁移的作用时,将 1 mmol/L AICAR 与 VSMCs 预孵育 1 h,再创建划痕。在 0、24 h 后捕获图像,静态条件下评估对照组和 ST+AICAR 组对 VSMCs 迁移能力的影响。每组分别随机采集 5 个视野,通过 Image J 软件测量划痕愈合

面积,评估细胞的迁移能力。

### 1.6 数据分析统计

所有数据采用均值 $\pm$ 标准差表示。数据间的比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 生理性周期性张应变抑制 VSMCs 迁移

应用 Flexcell-5000T 体外细胞张应变加载系统,对体外培养大鼠 VSMCs 施加 10%、1.25 Hz 周期性张应变,模拟正常生理状态的周期性张应力学刺激。应用划痕实验观察生理性周期性张应变对 VSMCs 迁移的影响。划痕愈合示意图显示,与静态组细胞相比,10%、1.25 Hz 周期性张应变加载 24 h 后,VSMCs 细胞迁移被显著抑制[见图 1(a)]。统计结果显示,静态组划痕愈合了 56%,而 10%、1.25 Hz 周期性张应变加载 24 h 后划痕愈合了 34%,相比于静态组,周期性张应变加载组划痕愈合能力显著降低[见图 1(b)]。上述结果表明,生理性周期性张应变加载显著抑制 VSMCs 的迁移能力,提示生理性周期性张应变参与维持 VSMCs 的功能稳态。

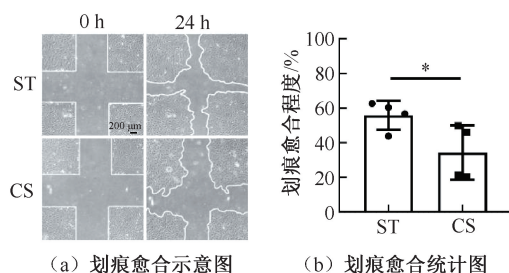


图1 周期性张应变对 VSMCs 划痕愈合的影响

Fig.1 Effects of cyclic stretch on wound healing of VSMCs (a) Images of wound healing, (b) Column statistical chart of wound healing

注:ST 为静态组,CS 为周期性张应变加载组;标尺 = 200  $\mu\text{m}$ ; \* $P < 0.05$ ,  $n = 4$ 。

### 2.2 生理性周期性张应变调控 VSMCs 的 p-AMPK 蛋白表达

与静态细胞相比,10%、1.25 Hz 生理性周期性张应变加载 3 h 后,VSMCs 的 p-AMPK 相对 AMPK 蛋白表达显著升高;而生理性周期性张应变加载 24 h 后,其 p-AMPK 相对 AMPK 的蛋白表达显著降低。使用 GAPDH 作为内参,对照组和实验组的总蛋白一致(见图 2)。

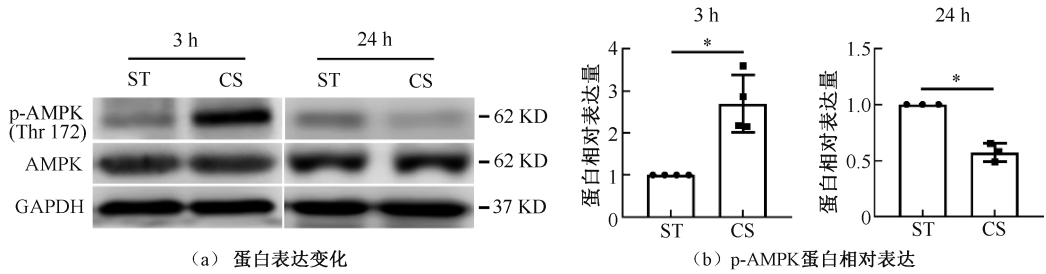


图2 周期性张应变对 p-AMPK 蛋白表达的影响

**Fig.2** Effects of cyclic stretch on the protein expression of p-AMPK (a) Changes in protein expression, (b) Relative expression of p-AMPK

注:ST为静态组,CS为周期性张应变加载组; \* $P < 0.05$ ,  $n \geq 3$ 。

上述结果表明,生理性周期性张应变在不同时相点调控 VSMCs 的 p-AMPK 蛋白表达,进而可能影响 VSMCs 的功能,提示 p-AMPK 可能参与生理性周期性张应变对 VSMCs 迁移的调控。

### 2.3 AMPK 参与生理性周期性张应变对 VSMCs 迁移的调控

为研究 AMPK 是否参与生理性周期性张应变对 VSMCs 迁移功能的调控,应用 AMPK 特异性抑制剂 Compound C,在生理性周期性张应变加载的条件下观察 Compound C 对 p-AMPK 蛋白表达和 VSMCs 迁移的影响。

Western blotting 结果显示,与 AMPK 抑制剂共孵育后,显著降低了生理性周期性张应变加载 3 h 后 p-AMPK 相对 AMPK 的蛋白表达。使用 GAPDH 作为内参,对照组和实验组的 GAPDH 蛋白表达稳定[见图 3(a)、(b)]。划痕愈合实验显示,在 AMPK 抑制剂存在的情况下,10%、1.25 Hz 生理性周期性张应变加载 24 h 后,VSMCs 的迁移能力显著高于无 AMPK 抑制剂的力学加载组[见图 3(c)、(d)]。上述结果提示,周期性张应变条件下,抑制 AMPK 的表达会显著促进 VSMCs 迁移。

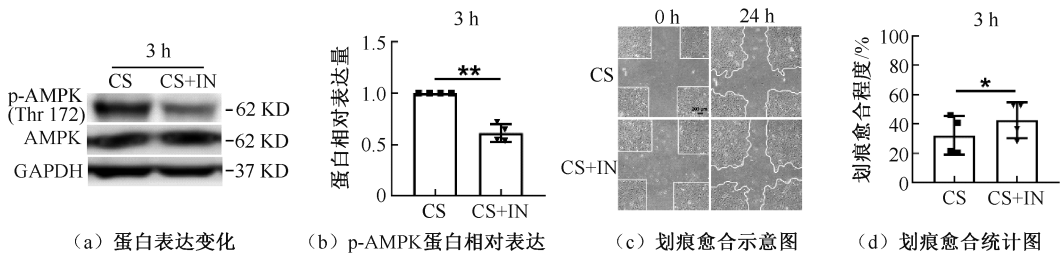


图3 周期性张应变条件下 Compound C 对 p-AMPK 蛋白表达和划痕愈合的影响

**Fig.3** Effects of Compound C on p-AMPK protein expression and wound healing under cyclic stretch (a) Changes in protein expression, (b) Relative expression of p-AMPK, (c) Images of wound healing, (d) Column statistical chart of wound healing

注:CS为周期性张应变加载组,CS+IN为周期性张应变加载 +AMPK 抑制剂组;标尺=200  $\mu\text{m}$ ; \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ,  $n = 4$ 。

### 2.4 静态条件下 AMPK 抑制剂对 VSMCs 迁移无明显影响

为了研究静态条件下 AMPK 抑制剂对 VSMCs 的 p-AMPK 蛋白表达和迁移能力的调控,分别在静态条件下添加和不添加 AMPK 抑制剂。

Western blotting 结果显示,在静态条件下,与对照组细胞相比,3 h 后添加 AMPK 抑制剂的 VSMCs

的 p-AMPK 相对 AMPK 蛋白表达显著降低。使用 GAPDH 作为内参,对照组和实验组的 GAPDH 蛋白表达稳定[见图 4(a)、(b)]。划痕愈合实验显示,静态条件下,与未添加 AMPK 抑制剂的细胞相比,添加 AMPK 抑制剂的 VSMCs 划痕愈合能力无显著差异[见图 4(c)、(d)]。上述结果表明,静态条件下 p-AMPK 对 VSMCs 迁移能力的调控作用较小。

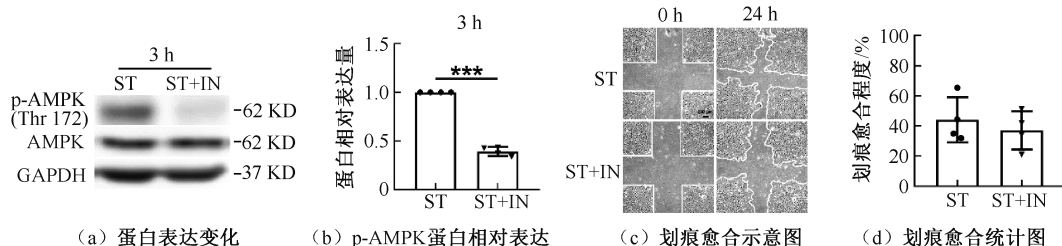


图4 静态条件下 Compound C 对 p-AMPK 蛋白表达和划痕愈合的影响

**Fig.4 Effects of Compound C on p-AMPK protein expression and wound healing under static state** (a) Changes in protein expression, (b) Relative expression of p-AMPK, (c) Images of wound healing, (d) Column statistical chart of wound healing

注:ST 为静态组,ST+IN 为静态 +AMPK 抑制剂组;标尺=200  $\mu\text{m}$ ;\*\*\* $P<0.001, n=4$ 。

## 2.5 AMPK 激活剂显著降低 VSMCs 的迁移能力

为了进一步研究生理性周期性张应变对 VSMCs 迁移的调控,应用 AMPK 激活剂 AICAR 在静态条件下激活 AMPK,从而模拟生理性周期性张应变力学刺激。

Western blotting 结果表明,静态条件下,与 AMPK 激活剂共孵育 3 h 后,p-AMPK 相对 AMPK 的蛋白表达显著升高。使用 GAPDH 作为内参,对照组和实验

组的 GAPDH 蛋白表达稳定[见图 5(a)、(b)]。划痕愈合实验显示,与 AMPK 激活剂共孵育后,显著减弱了 VSMCs 划痕愈合能力,即静态条件下,AMPK 磷酸化蛋白表达增加能够抑制 VSMCs 迁移[见图 5(c)、(d)];这一结果与张应变加载条件下 p-AMPK 的表达与 VSMCs 迁移的负调控作用趋势一致。上述结果均提示,在生理性周期性张应变对 VSMCs 迁移的调控过程中,p-AMPK 发挥着关键作用。

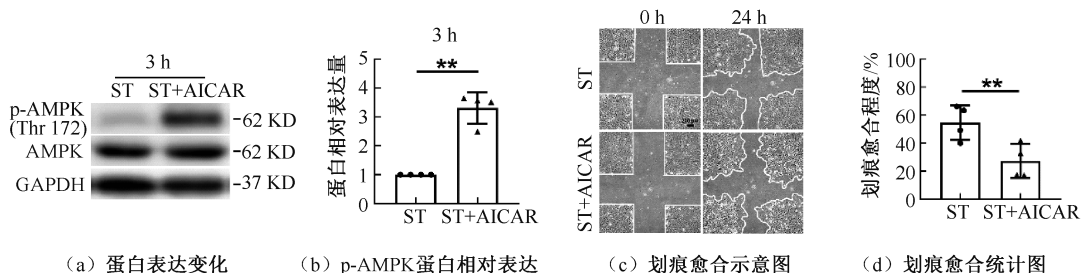


图5 静态条件下 AICAR 对 p-AMPK 蛋白表达和划痕愈合的影响

**Fig.5 Effects of AICAR on p-AMPK protein expression and wound healing under static state** (a) Changes in protein expression, (b) Relative expression of p-AMPK, (c) Images of wound healing, (d) Column statistical chart of wound healing

注:ST 为静态组,ST+AICAR 为静态 +AMPK 激活剂组;标尺=200  $\mu\text{m}$ ;\*\* $P<0.01, n=4$ 。

## 3 讨论

由于血流的脉动,血管会持续承受周期性张应变的力学刺激。在正常生理状态下,体内动脉血管壁受到的周期性张应变幅度是 5%~10%,保证血管的正常功能,从而维持血管的动态平衡<sup>[12]</sup>。位于血管壁中膜层的 VSMCs 主要承载着周期性张应变的作用。研究发现,VSMCs 可以通过响应力学刺激而改变其信号转导,最终改变 VSMCs 迁移,不仅有利

于维持血管生理稳态,还参与病变后的血管重建过程<sup>[13]</sup>。因此,研究驱动 VSMCs 迁移的关键分子并探讨其是否能够成为防治心血管疾病的有效新靶点,具有十分重要意义。

细胞迁移是能量需求过程。研究表明,VSMCs 迁移与细胞能量代谢密切相关;减少线粒体裂变可降低线粒体呼吸水平,从而抑制 VSMCs 迁移和病理性内膜增生<sup>[14]</sup>。抑制细胞糖酵解可逆转 PDGF 诱导的 VSMCs 迁移<sup>[15]</sup>。AMPK 调控细胞能量代谢,

由  $\alpha$ -催化亚基、 $\beta$ -调节亚基和  $\gamma$ -调节亚基组成,是 II 型糖尿病、癌症和其他以能量异常利用为特征疾病的有希望的治疗靶点<sup>[16-17]</sup>。在人类中,AMPK 有 2 个  $\alpha$  亚基, $\alpha 1$  和  $\alpha 2$ ,分别由 PRKAA1 和 PRKAA2 基因编码;2 个  $\beta$  亚基, $\beta 1$  和  $\beta 2$ ,分别由 PRKAB1 和 PRKAB2 基因编码;3 个  $\gamma$  亚基, $\gamma 1$ 、 $\gamma 2$  和  $\gamma 3$ ,分别由 PRKAG1、PRKAG2 和 PRKAG3 基因编码。在 AMPK $\alpha$  亚基的 N 末端有 1 个保守的 Ser/Thr 激酶区,该区域包含 1 个保守的苏氨酸(Thr-172)位点,该位点的磷酸化是激活 AMPK 所必需的。AMPK 通过三机制被完全激活。首先,AMP 或 ADP 与  $\gamma$  亚基的结合促进上游激酶对 AMPKThr-172 的磷酸化,响应能量压力,肿瘤抑制因子 LKB1 是 AMPK 激活的主要调节因子;其次,AMP 或 ADP 与  $\gamma$  亚基的结合诱导 AMPK 构象变化,从而防止蛋白磷酸酶对 Thr-172 的去磷酸化作用;CAMKK2 也可以诱导 Thr-172 磷酸化而激活 AMPK<sup>[18]</sup>。生理性周期性张应变加载 3 h 后,启动细胞内的信号转导通路,促使 AMPK $\alpha$  亚基 Thr-172 位点发生磷酸化,从而增加 VSMCs 的 p-AMPK(Thr-172)蛋白表达。AMPK 激活的作用是重新控制新陈代谢,可以通过葡萄糖和脂质代谢调节细胞内能量的稳态,减少合成代谢(即 ATP 的消耗)并增加分解代谢(即 ATP 的产生),以恢复更有利的能量平衡。细胞迁移需要 ATP 提供能量,AMPK 通过多种信号通路参与调节细胞迁移。研究表明,AMPK/JAK/STAT3 和 AMPK/GSK3 $\beta$ / $\beta$ -catenin 通路参与肝癌细胞和子宫内膜癌细胞的迁移和侵袭<sup>[19-20]</sup>。生理性周期性张应变力学刺激激活 AMPK 后,激活细胞内信号通路,减少 ATP 的消耗,从而抑制 VSMCs 迁移,研究 AMPK 对 VSMCs 迁移的调控机制对心血管疾病的防治具有重要意义。

应用 Flexcell-5000T 体外细胞张应变加载系统,能够调节所加载的周期性张应变的幅度、频率和时间,有效模拟体内 VSMCs 受到的主要力学刺激。本文结果表明,10%、1.25 Hz 生理性周期性张应变力学刺激能够显著抑制 VSMCs 迁移,提示生理性周期性张应变可能对于 VSMCs 维持正常生理功能和血管维持正常生理稳态十分重要。生理性周期性张应变加载 3 h 后,与静态对照组相比,VSMCs 的 p-AMPK 相对 AMPK 的蛋白表达显著升高;而张

应变加载 24 h 后,p-AMPK 相对 AMPK 的蛋白表达显著降低,提示生理性周期性张应变可能参与调控 p-AMPK 相关的 VSMCs 功能。相对于 AMPK 磷酸化水平的快速改变,细胞功能的变化具有一定的滞后性。因此,在后续 AMPK 抑制剂或激活剂的研究中,选择在 3 h 时检测 p-AMPK 的蛋白表达,而在 24 h 时检测 VSMCs 迁移功能。由于周期性张应变加载 3 h 后 VSMCs 的 p-AMPK 蛋白表达会明显升高,故在张应变加载条件下就不需要考虑 AMPK 激活剂 AICAR 对 VSMCs 的作用。周期性张应变条件下,AMPK 抑制剂能够有效降低 p-AMPK 相对 AMPK 的表达,并能显著促进 VSMCs 迁移。然而,静态条件下,AMPK 抑制剂虽然能够有效降低 p-AMPK 相对 AMPK 的表达,但却未对 VSMCs 迁移功能有明显的影响。上述结果表明,周期性张应变加载在 p-AMPK 调控 VSMCs 迁移功能中具有重要作用。静态条件下,添加 AMPK 激活剂所诱导的 p-AMPK 相对 AMPK 蛋白表达升高可显著削弱 VSMCs 迁移,即表现出与周期性张应变加载后的相同结果。该结果同样证明,周期性张应变加载通过激活 p-AMPK 在 VSMCs 迁移过程中具有关键的调控作用。

## 4 结论

生理性周期性张应变可显著抑制 VSMCs 的迁移能力,在这个过程中 AMPK 的磷酸化起到非常关键的调控作用,其 p-AMPK 的蛋白水平被抑制能显著促进细胞迁移能力。在本研究中,p-AMPK 的上游调控因子以及 p-AMPK 如何靶向下游目标分子调控 VSMCs 迁移的进一步机制还未揭示,仍需要今后更深入的探讨。本文研究结果为血管生理稳态的维持和正常生理条件下调控 VSMCs 功能的分子机制提供新的实验依据。

## 参考文献:

- [1] OWENS GK. Regulation of differentiation of vascular smooth muscle cells [J]. *Physiol Rev*, 1995, 75(3): 487-517.
- [2] CHIEN S. Mechanotransduction and endothelial cell homeostasis: The wisdom of the cell [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 293(3): H1209-1224.
- [3] 杨少雄,龚晓波. 血管细胞在体力学微环境简析[J]. *医用生物力学*, 2020, 35(4): 502-507.

- YANG SX, GONG XB. *In vivo* mechanical niches of vascular cells [J]. *J Med Biomech*, 2020, 35(4): 502-507.
- [ 4 ] CLOWES AW, CLOWES MM, FINGERLE J, *et al.* Regulation of smooth muscle cell growth in injured artery [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1989, 14 (suppl 6): S12-S15.
- [ 5 ] MAJESKY MW, SCHWARTZ SM. Smooth muscle diversity in arterial wound repair [J]. *Toxicol Pathol*, 1990, 18(4 Pt 1): 554-559.
- [ 6 ] REIDY MA. Factors controlling smooth-muscle cell proliferation [J]. *Arch Pathol Lab Med*, 1992, 116(12): 1276-1280.
- [ 7 ] SALT IP, HARDIE DG. AMP-activated protein kinase: An ubiquitous signaling pathway with key roles in the cardiovascular system [J]. *Circ Res*, 2017, 120(11): 1825-1841.
- [ 8 ] DING Y, ZHANG M, ZHANG WC, *et al.* AMP-activated protein kinase alpha 2 deletion induces VSMC Phenotypic switching and reduces features of atherosclerotic plaque stability [J]. *Circ Res*, 2016, 119(6): 718-730.
- [ 9 ] ZHANG WX, TAI GJ, LI XX, *et al.* Inhibition of neointima hyperplasia by the combined therapy of linagliptin and metformin via AMPK/Nox4 signaling in diabetic rats [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 143: 153-163.
- [10] ZHAO YS, SHANG FQ, SHI WL, *et al.* Angiotensin II receptor type 1 antagonists modulate vascular smooth muscle cell proliferation and migration via AMPK/mTOR [J]. *Cardiology*, 2019, 143(1): 1-10.
- [11] 陈远秀, 包晗, 阎靖, 等. 周期性张应变调控血管平滑肌细胞黏附血小板微体及其在自噬中的作用 [J]. *医用生物力学*, 2020, 35(1): 49-56.
- CHEN YX, BAO H, YAN J, *et al.* Cyclic stretch induces adhesion of VSMCs with platelet-derived microparticles and the role in autophagy [J]. *J Med Biomech*, 2020, 35(1): 49-56.
- [12] CHEN LJ, WEI SY, CHIU JJ. Mechanical regulation of epigenetics in vascular biology and pathobiology [J]. *J Cell Mol Med*, 2013, 17(4): 437-448.
- [13] GLAGOV S. Intimal hyperplasia, vascular modeling, and the restenosis problem [J]. *Circulation*, 1994, 89(6): 2888-2891.
- [14] WANG L, YU TZ, LEE H, *et al.* Decreasing mitochondrial fission diminishes vascular smooth muscle cell migration and ameliorates intimal hyperplasia [J]. *Cardiovasc Res*, 2015, 106(2): 272-283.
- [15] HEISS EH, SCHACHNER D, DONATI M, *et al.* Increased aerobic glycolysis is important for the motility of activated VSMC and inhibited by indirubin-3'-monoxime [J]. *Vascul Pharmacol*, 2016, 83: 47-56.
- [16] HERZIG S, SHAW RJ. AMPK: Guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(2): 121-135.
- [17] SINNETTA SE, BRENNAN JE. Past strategies and future directions for identifying AMP activated protein kinase (AMPK) modulators [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 143(1): 111-118.
- [18] GARCIA D, SHAW RJ. AMPK: Mechanisms of cellular energy sensing and restoration of metabolic balance [J]. *Mol Cell*, 2017, 66(6): 789-800.
- [19] WU X, YAN Q, ZHANG Z, *et al.* Acrp30 inhibits leptin-induced metastasis by downregulating the JAK/STAT3 pathway via AMPK activation in aggressive SPEC-2 endometrial cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2012, 27(5): 1488-1496.
- [20] PARK SY, LEE YK, LEE WS, *et al.* The involvement of AMPK/GSK3-beta signals in the control of metastasis and proliferation in hepato-carcinoma cells treated with anthocyanins extracted from Korea wild berry Meoru [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2014, 14: 109.