

机械应力对皮肤细胞增殖分化影响的研究进展

刘虎仙 陶白江 贾赤宇 胡大海

在机械应力的作用下,受力细胞生长发生改变,细胞分裂增殖,这种现象在医学领域中很常见。如皮肤软组织扩张术、牵张术,肢体、颅颌骨牵引术等等,均通过外力刺激因素获得“额外”组织。在一些病理变化中也有类似现象,如肾小球高血压对系膜细胞的反复压力刺激使之增生等。近年来,机械应力对组织细胞的作用机制已备受关注,现就此作如下综述。

1 机械应力对角质形成细胞的影响

人们对机械应力刺激皮肤尤其是表皮的因果关系和机制知之较少,Takei 等^[1]在体外施以周期性(10 次/min)或持续性机械应力 20 kPa,对角质形成细胞的细胞表型和机械信号通路进行研究。结果表明,与无应力的对照组相比,角质形成细胞在周期性机械应力作用下细胞增殖率、延展性、DNA 和蛋白质合成显著增加;持续应力作用下细胞增殖率短暂增加。同时,应力作用下环腺苷一磷酸(cAMP)、蛋白激酶 A 和前列腺素 E₂ 的水平降低。说明机械应力在修饰细胞表型的同时,也调整了 cAMP 介导的信号通路。有研究表明,角质形成细胞受 20% 延长度的应力牵张 24 h 后,溴脱氧尿苷(BrdU)阳性细胞率增至 200%~220%,同时细胞外信号调节激酶 1/2(ERK1/2)活化^[2]。表皮生长因子受体(EGFR)激酶抑制剂、钙通道抑制剂可抑制 BrdU 的掺入、ERK1/2 的活化,由此认为机械应力诱导角质形成细胞产生增殖信号是通过诱导钙内流、EGFR 与 ERK1/2 的磷酸化而实现,从而产生表皮的高度增殖特性,使活化的角质形成细胞标记物角蛋白 6(K6)增加而抑制已分化的标记物 K10。目前,由于体内环境的复杂性和研究手段的局限性,有关机械

应力对在体皮肤干细胞影响的研究还有待进行。

2 机械应力对皮肤成纤维细胞及细胞外基质(ECM)的影响

机械应力对成纤维细胞及 ECM 具有重要作用,机体烧伤后某些高张力部位易形成瘢痕就是一例证,此与机械张力条件下成纤维细胞放大的转录反应有关^[3]。Mackley 等^[4]通过对肌腱、角膜和皮肤的成纤维细胞分离培养,观察到在机械应力作用下共有 350 个基因发生了显著的上调或下调,其中专职皮肤成纤维细胞基因变化最小,它们大多数与细胞黏附、ECM 及基质重构有关。由此表明,机械应力对不同来源的成纤维细胞有不同效应。传统的动物实验通过测算牵拉后皮肤扩张面积已证实,机械应力除导致皮肤弹力纤维拉长外,亦使细胞、ECM 的增殖与合成增加。

为揭示体外培养的细胞在机械应力作用下形态的变化,Grymes 和 Sawyer^[5]将皮肤成纤维细胞培养在弹性膜上,施以周期性(6.67 次/min)20% 延长度的应力牵拉,结果显示原来杂乱的排列方式变得有序(细胞的密度越高,排列越易受到影响),表明牵拉所造成的排列变化更多与细胞之间的相互作用有关,而与细胞和 ECM 关系不大。舒茂国等^[6]认为,40% 延长度的应力牵拉可改变细胞的增殖周期,加速细胞增殖。Skutek 等^[7]认为机械牵张可直接激活细胞内信号通路从而导致细胞凋亡;而随着牵张时间的延长,细胞凋亡率下降,其原因是细胞产生了应力耐受。范志宏等^[8]观察到,扩张刺激可致皮肤慢性损害,早期修复表现为成纤维细胞功能活跃,胶原合成增加;随着时间的延长,细胞结构渐趋稳定,细胞密体、密斑消失,胞质减少,微粒变小,基质内大部分胶原纤维恢复正常的网状结构(少许仍排列紊乱呈“漩涡状”)。ECM 的合成是成纤维细胞的重要功能。Busch 等^[9]观察到,周期性牵张对纤维黏连蛋白及 I、III 型胶原合成的调节存在着时间依赖性。当周期性牵张力作用于成纤维细胞时,前胶原蛋白的合成量及速度均增加。Parsons 等^[10]认为其机制

作者单位:100088 北京,解放军第二炮兵总医院烧伤整形科(刘虎仙、陶白江);解放军总医院第一附属医院全军烧伤研究所(贾赤宇);第四军医大学西京医院全军烧伤中心(胡大海)

通讯作者:贾赤宇,100037,Email:cyjburns@163.com,电话:010-66867840

是周期性牵张加强了前胶原蛋白 mRNA 的表达并缩短了其转录后的进程。周期性持续牵张 48 h 后,检测到实验组成纤维细胞前胶原蛋白的合成量明显高于对照组,非溶性胶原蛋白的沉积量亦更加明显。此外,机械应力还能引导成纤维细胞分泌生长因子及合成基质金属蛋白酶,它们在组织结构的重排过程中起重要作用。

3 机械应力刺激信号的细胞感受与转导

机械应力能促进培养细胞的分裂、繁殖,对细胞而言,机械刺激可以调节其功能,包括生长、分化、迁移、基因表达、蛋白质合成和凋亡。所以,揭示细胞如何感受和转导机械刺激,成为进一步研究机体如何对外界物理环境产生反应与适应的关键。

3.1 细胞器的应力感受与传递

机械刺激—膜分子细胞骨架—细胞核变形这一机械传递方式已得到公认。在外力的作用下细胞膜构象可以发生形变。伴随脂质双分子层厚度的变薄和局部曲度改变,多种构象的膜蛋白亦发生变化,从而使其活性发生改变,进一步激活多种信号转导途径^[11]。细胞膜变形可激活机械敏感离子通道^[12], Gillespie 和 Walker^[13]认为机械转导的一般结构与离子通道有关。细胞膜上的机械敏感离子通道在接受机械刺激后,通道开放并伴大量离子如 Ca^{2+} 的进出,实现信号放大及引起下游反应。此观点较好地解释了机械感受与转导的敏感快捷、适应现象,但尚未进行在体实验验证。

目前研究表明,细胞骨架介导的力学转导在机械刺激中起了关键的作用^[14]。单纯由细胞膜发生的化学信号扩散到细胞核(此距离平均为 10 μm)需要 10^{-2} s,通过细胞骨架蛋白及驱动蛋白介导信号传递则要迅速得多(理论上可达 $10^{-4} \sim 10^{-8}$ s)。当某一细胞骨架成分接受膜分子传递的机械刺激发生形变后,迅速由近膜区传递到近核区或细胞器,继而发生机械化学效应,引起细胞核变形,进一步造成染色体构象变化,调节基因表达。其机制有许多解释,较有影响的是张力完整性理论^[15-16]:细胞内细胞骨架蛋白被视为是由细胞膜及注入其中的黏性胞质所包绕的刚性结构,由多种成分形成网络,可作为机械信号(由胞膜到胞核)的主要转导通路。细胞膜上的黏附分子作为机械感受器,细胞骨架接受膜分子后,随着自身形变会引起结合在细胞骨架上的酶类及信号分子激活或失活,从而参与调节多个信号转导途径,产生化学效应,影响第二信使并在细

胞因子受体与其他信号转导通路之间发生作用。它既能把单一通路放大成多条途径,也能在必要的时候阻止不同通路之间的作用,同时还可以把信号转导分子局限在特定的位置。细胞骨架蛋白与细胞核之间存在直接联系,机械刺激作用于细胞膜(直接或间接)经过细胞骨架传递到细胞核使它变形^[17]。因此,基因表达的信号也可以通过机械传递来实现。

然而,对于细胞核变形或机械因素是如何引起基因表达的改变目前了解得还很少。有学者提出了如下可能:细胞核纤层是位于核膜上的胞核内细胞骨架成分,核纤层及其相关蛋白构成了包绕染色体的外壳。其外与胞质的中间丝蛋白在结构上相连,内与核基质相互联系,形成一个贯穿细胞核、细胞质的纤维网络体系,称为核基质-核纤层-中间丝体系。同时,核纤层及其几个相关蛋白与 DNA 直接相连^[18]。因此,作用在细胞核上的机械刺激可能就是通过核纤层被传递到了染色体。更有作者明确提出,细胞骨架及张力完整性介导的机械因素可能参与了染色体大规模协调运动^[19]。

3.2 机械信号的分子转导

创面愈合过程中,邻近组织的回缩可能刺激创面表皮细胞向创基扩增。表皮细胞通过 ECM-整合素-细胞骨架系统及细胞膜上的应力敏感离子通道对机械应力即时响应,将此信号有选择性地转换到细胞和核内的不同结构部件上,实现力学信号向生物化学信号的转化,从而调节细胞的生理功能,调控细胞的增殖分化。

细胞膜表面蛋白受体家族中的整合素在机械信号转导中起着极其重要的作用。整合素在机械刺激下被激活,介导 ECM 及细胞骨架与多种信号转导分子相作用,产生一系列效应:激活局部非受体酪氨酸激酶即黏附斑激酶^[20],使其能与许多其他信号分子和结构蛋白结合,形成黏附斑复合物,成为外界机械应力、细胞骨架、细胞内的生化信号以及细胞黏附的交汇点^[21],触发一系列第二信使酶链反应;直接激活丝裂原激活蛋白激酶(MAPK)级联反应^[22],特别是对 ERK 激活具有关键作用。此外,受体酪氨酸激酶自身具有跨膜区段,所以细胞膜牵张有可能直接导致该酶构象变化而被激活。实验研究观察到,5 s 即可测得酪氨酸蛋白磷酸化显著增加,由此可见酪氨酸激酶的激活可能是细胞对机械刺激的最早反应之一^[23]。但具体是哪种或哪几种酪氨酸激酶在其中起作用至今仍未确定。丝裂原与 ERK1/2 抑制剂 U0126、磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)抑制剂渥曼青霉

素、EGFR 抑制剂 AG1478 及钙内流抑制剂钆元素等,均可抑制机械牵张诱导的角质形成细胞 BrdU 的掺入,表明机械应力诱导角质形成细胞进入合成期依赖于丝裂原激活蛋白激酶激酶 (MEK) 1/2、PI3K 通路、EGFR 及钙通道依赖的信号传导途径。表皮生长因子 (EGF) 活化 ERK1/2 仅通过 MEK1/2 通路,而机械应力激活它则同时需要 MEK1/2 及 PI3K 通路;钙内流对机械应力活化 ERK1/2 是必不可少的,而 EGF 刺激活化 ERK1/2 则并非如此。提示 EGF 与机械应力的下游信号转导途径不完全相同,机械应力活化 ERK1/2 首先需要将 EGFR 磷酸化,该磷酸化单位点是酪氨酸 845;EGF 诱导的 EGFR 磷酸化则是多位点 (酪氨酸 845、992、1045、1068)。同时它们下游信号转导途径及强度的不同,也说明机械应力信号的转导相对专一。此外,机械牵张通过激活 Akt 信号途径不仅对角质形成细胞产生增殖效应,而且活化抗凋亡信号^[24]。

如上所述,机械应力作用下,物理与化学效应对细胞的调节机制并非独立,二者可以相互影响。机械信号途径由 ECM、细胞骨架、核骨架构成。该结构在细胞外周与核内染色质之间建立了结构和功能的联系,从而影响细胞周期及基因表达。化学信号例如 MAPK-ERK1/2 途径能够使多种激酶激活,调节转录因子、组蛋白、非组蛋白活性,改变染色体结构和基因表达。由此可见,机械及化学机制均参与了信息由胞外向染色体的传递过程,但尚未知机械信号的转导及向生物化学信号转化的机制,有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] Takei T, Rivas GC, Delling CA, et al. Effect of strain on human keratinocytes in vitro. *J Cell Physiol*, 1997, 173(1): 64 - 72.
- [2] Yano S, Komine M, Fujimoto M, et al. Mechanical stretching in vitro regulates signal transduction pathways and cellular proliferation in human epidermal keratinocytes. *J Invest Dermatol*, 2004, 122(3): 783 - 790.
- [3] Wang Z, Fong KD, Phan TT, et al. Increased transcriptional response to mechanical strain in keloid fibroblasts due to increased focal adhesion complex formation. *J Cell Physiol*, 2006, 206(2): 510 - 517.
- [4] Mackley JR, Ando J, Herzyk P, et al. Phenotypic responses to mechanical stress in fibroblasts from tendon, cornea and skin. *Biochem J*, 2006, 396(2): 307 - 316.
- [5] Grymes RA, Sawyer C. A novel culture morphology resulting from applied mechanical strain. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 1997, 33(5): 392 - 397.
- [6] 舒茂国, 郭树忠, 韩岩, 等. 机械应力作用皮肤成纤维细胞增殖的相关研究. *中国实用美容整形外科杂志*, 2004, 15(1): 47 - 50.
- [7] Skutek M, Van Griensven M, Zeichen J, et al. Cyclical mechanical stretching of human patellar tendon fibroblasts: activation of JNK and modulation of apoptosis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2003, 11(2): 122 - 129.
- [8] 范志宏, 崔磊, 钱云良, 等. 扩张后皮肤组织自身修复过程动态观察的实验研究. *中华医学美容杂志*, 1998, 4(2): 76 - 78.
- [9] Busch U, Zeichen J, Skutek M, et al. Effect of cyclical stretch on matrix synthesis of human patellar tendon cells. *Unfallchirurg*, 2002, 105(5): 437 - 442.
- [10] Parsons H, Kessler E, Laurent GJ, et al. Mechanical load enhances procollagen processing in dermal fibroblasts by regulating levels of procollagen C2 proteinase. *Exp Cell Res*, 1999, 252(2): 319 - 331.
- [11] Ingber DE. The mechanochemical basis of cell and tissue regulation. *Mech Chem Biosyst*, 2004, 1(1): 53 - 68.
- [12] Perozo E, Kloda A, Cortes DM, et al. Physical principles underlying the transduction of bilayer deformation forces during mechanosensitive channel gating. *Nat Struct Biol*, 2002, 9(9): 696 - 703.
- [13] Gillespie PG, Walker RG. Molecular basis of mechanosensory transduction. *Nature*, 2001, 413(6852): 194 - 202.
- [14] Craig DH, Zhang J, Basson MD. Cytoskeletal signaling by way of alpha-actinin-1 mediates ERK1/2 activation by repetitive deformation in human CaCO2 intestinal epithelial cells. *Am J Surg*, 2007, 194(5): 618 - 622.
- [15] Takai E, Landesberg R, Katz RW, et al. Substrate modulation of osteoblast adhesion strength, focal adhesion kinase activation, and responsiveness to mechanical stimuli. *Mol Cell Biomech*, 2006, 3(1): 1 - 12.
- [16] Ingber DE. Tensegrity II. How structural networks influence cellular information processing networks. *J Cell Sci*, 2003, 116(Pt 8): 1397 - 1408.
- [17] Maniotis AJ, Chen S, Ingber DE. Demonstration of mechanical connections between integrins, cytoskeletal filaments, and nucleo-plasm that stabilize nuclear structure. *Proc Nat Acad Sci U S A*, 1997, 94(3): 849 - 854.
- [18] Broers JL, Kuijpers HJ, Ostlund C, et al. Both lamin A and lamin C mutations cause lamina instability as well as loss of internal nuclear lamin organization. *Exp Cell Res*, 2005, 304(2): 582 - 592.
- [19] Bornfleth H, Edelmann P, Zink D, et al. Quantitative motion analysis of subchromosomal foci in living cells using four-dimensional microscopy. *Biophys J*, 1999, 77(5): 2871 - 2886.
- [20] Sanchez EJ, Wang Y, Filardo EJ. Integrins beta1, alpha6, and alpha3 contribute to mechanical strain-induced differentiation of fetal lung type II epithelial cells via distinct mechanisms. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2006, 290(2): 343 - 350.
- [21] Schwartz MA, Ginsberg MH. Networks and crosstalk: integrin signalling spreads. *Nat Cell Biol*, 2002, 4(4): 65 - 68.
- [22] Ingber DE. Tensegrity I. Cell structure and hierarchical systems biology. *J Cell Sci*, 2003, 116(Pt 7): 1157 - 1173.
- [23] Yamazaki T, Komuro I, Kudoh S. Mechanical stress activates protein kinase cascade of phosphorylation in neonatal rat cardiac myocytes. *J Clin Invest*, 1995, 96(1): 438 - 446.
- [24] Yano S, Komine M, Fujimoto M, et al. Activation of Akt by mechanical stretching in human epidermal keratinocytes. *Exp Dermatol*, 2006, 15(5): 356 - 361.

(收稿日期: 2007 - 06 - 19)

(本文编辑: 莫愚)