

文章编号:1000-582X(2005)01-0162-04

# 应力导致的细胞内信号转导和基因表达变化<sup>\*</sup>

尚娟芳,王远亮,唐丽灵,牛旭锋

(重庆大学 生物工程学院 生物力学与组织工程教育部重点实验室,重庆 400030)

**摘要:**阐述了应力与细胞的紧密关系。综述了应力作用细胞后引起的生化反应及其细胞骨架介导的信号转导和相关基因表达的变化,系统列举了一些应力诱导的基因表达变化,如即早基因、细胞因子、酶、胞外基质分子等;并针对细胞应力响应,提出了目前这一领域存在的一些问题,希望应力与细胞响应的分子机制得到进一步发展,为解决应力引起的生物体生理和病理变化提供理论基础。

**关键词:**应力; 基因表达; 信号转导

**中图分类号:**Q819

**文献标识码:**A

应力与生命体、细胞的生长的关系紧密。应力作用于细胞或细胞膜上的力传导器,通过对第二信使、生长因子、细胞基质、基因等的作用,促进细胞代谢。基因的核心启动子内存在着特异性剪切应力反应元件(shear stress response element, SSRE),转录因子与之结合调节基因表达。应力可以引起基因表达信号转导的级联反应,从而改变信号网络,影响细胞生理生化调节,改变细胞增值率,起始分化。目前比较活跃的领域为骨细胞、血管平滑肌细胞、内皮细胞、肾小球系膜细胞以及肺上皮细胞、成纤维细胞。但细胞如何识别应力信号并作出相应反应的机制尚不十分清楚。文中综述研究细胞的信号转导及基因表达,有助于搞清细胞受应力作用的分子机制。

## 1 应力与信号转导

力学信号的传导机制包括:激活力敏感的离子通道;直接或间接激活 G 蛋白、受体酪氨酸激酶、MAPK 等信号通路;通过粘附结构和细胞骨架介导的力信号传导。

### 1.1 应力引起生化反应的信号转导

应力由胞浆侧细胞膜上的离子通道偶联的受体、G 蛋白偶联的受体、酶偶联的受体分子感受,使第二信使激活,蛋白激酶活化,激活细胞内液中的转录因子,调控细胞核中的基因转录。

离子通道偶联的受体是由多亚基组成的受体-离

子通道复合体,本身既有信号结合位点,又是离子通道,其跨膜信号转导无需中间步骤。又称配体离子通道或递质门离子通道。G 蛋白偶联的受体,是指配体-受体复合物与酶或离子通道的作用要通过与 G 蛋白的偶联,在细胞内产生第二信使,从而将胞外信号跨膜传递到胞内影响细胞的行为,主要包括环化腺苷酸(cAMP)信号通路和磷脂酰肌醇信号通路。前者是通过 cAMP 水平变化而引起的细胞反应的信号通路,后者通过 G 蛋白激活磷酸酯酶 C $\beta$ (phospholipase C $\beta$ ),激活的磷酸酯酶 C $\beta$  水解位于质膜内层的 PIP<sub>2</sub>(phosphatidylinositolbiphosphat, 二磷酸磷脂酰肌醇),产生 2 个新的信号分子:IP<sub>3</sub>(三磷酸肌醇)和 DAG(二酰基甘油)。DAG 活化 PKC(蛋白激酶 C)家族蛋白激酶。活化的 PKC 可以通过 MAPK(有丝分裂原活化蛋白激酶)和 NF $\kappa$ B(核因子  $\kappa$  结合蛋白)通路促进基因转录。IP<sub>3</sub> 与内质网膜上的 IP<sub>3</sub> 受体结合,导致内质网内储存的钙离子释放。钙离子与钙结合蛋白(如钙调蛋白)结合,使后者的构象发生改变,从而导致下游分子如“钙离子/钙调蛋白依赖性蛋白激酶”家族和球蛋白轻链激酶的活化。CaM(钙调蛋白)激酶 II 可以磷酸化转录因子 CREB(cAMP 响应元件结合蛋白)。

成骨细胞既是机械生化信号传递的传感器,又是应力刺激骨组织再生的效应细胞。Chen 等<sup>[1]</sup>证明了流体剪切诱导的 MC3T3-E1 成骨细胞中肌动蛋白骨架重排和 c-fos、COX-2 的产生,它们是依赖于 IP<sub>3</sub> 介

\* 收稿日期:2004-09-25

基金项目:国家自然科学基金资助项目(19872080)

作者简介:尚娟芳(1979-),女,山西运城人,重庆大学硕士研究生,主要从事细胞生物力学、组织工程学研究。

导的胞内钙释放,而不是通过膜上离子通道胞外钙的内流。Kawata A, Mikuni - Takagaki Y<sup>[2]</sup> 1996 年实验证明拉伸刺激 cAMP 水平升高、胰岛素样生长因子和骨钙素表达升高,1998 年又证明早期响应基因 c - fos 和 COX - 2 诱导性环氧化酶基因表达升高,它们都有不同的时相特征,推测先是 Ca<sup>2+</sup> 内流激活 PKA, PKA 又使 c - fos 和 COX - 2 转录,从而引起 IGF - 1、骨钙素等的表达。

研究表明剪切力诱导的内皮细胞中 c - fos 的激活是通过 Ca<sup>2+</sup> 依赖的 Rho 介导的<sup>[3]</sup>。剪切力诱导人脐静脉内皮细胞 (HUEC) 血小板衍生生长因子表达 (PDGF), 其机理可能是通过磷脂酶 C 使 PIP<sub>2</sub> 水解为 DAG; DAG 是蛋白激酶 C (PKC) 的激活剂, 激活的 PKC 途径使 PDGF 基因表达<sup>[4]</sup>。流体剪切应力调节内皮细胞功能, 是通过激活几种胞内激酶, 特别是 MAPK 家族成员。Berk BC 等<sup>[5]</sup> 提出了一种力转导模型, 分为 Ca<sup>2+</sup> 依赖蛋白激酶途径和 Ca<sup>2+</sup> 非依赖蛋白激酶途径。前者包括磷脂酶 C 的激活、PIP<sub>2</sub> 水解、胞内 Ca<sup>2+</sup> 的升高和钙离子与钙调蛋白结合、PKC 激活。后者包括小分子 GTP-结合蛋白的激活和 Ca<sup>2+</sup> 非依赖的 PKC、MAPK 的激活。前者刺激快速瞬时响应, 如一氧化氮合成酶和离子通道的激活, 后者调节较慢的响应, 如持续 NOS (NO 合成酶) 的激活和细胞形态、基因表达的变化。粘着斑复合物使两条途径联系起来。粘着斑复合物间接调节 PIP<sub>2</sub> 水平, 直接调节 P<sub>125</sub> 粘着斑激酶 (FAK), FAK 磷酸化与细胞骨架蛋白相互作用。内皮细胞响应流体剪切产生胞内信号的这两条途径使粘着斑复合物的整合素分子与力转导的膜变化联系起来。

在心血管系统中, 应力是细胞形态和功能的一个重要调节因素。血管平滑肌细胞肥大和增长造成动脉粥样硬化、高血压、再狭窄突变, 病变处于血液扰动处。平滑肌细胞感应及传导胞外力信号到细胞核, 造成基因表达数量和质量上的变化。机械紧张快速诱导血小板衍生生长因子受体磷酸化, 整合素受体激活。拉伸激活阳离子通道、G 蛋白, 它们都是力感应器, 一旦机械力被感应, 蛋白激酶 C 和丝裂原活化蛋白激酶被激活, 导致 c - fos 和 c - jun 基因表达增加, 增强转录因子 AP - 1 结合 DNA 活性。同时发现机械力使 MAPK 磷酸酶 - 1 表达, 它能使 MAPK 失活。

## 1.2 应力与细胞骨架介导的信号转导

细胞通过整合素和细胞骨架相连接, 该结构是信号转导的结构基础。细胞通过整合素响应应力。由于细胞骨架既离散又相互连接, 应力的振荡可有选择的传到细胞质和细胞核内的不同构件上, 包括粘着斑复合物中的信号分子、核糖体、染色体, 甚至单个基因, 从而实现信号转导, 调节细胞生理功能<sup>[6]</sup>。

Alistair 等<sup>[7]</sup> 关于 NO 抑制周期拉伸对 MAPK 激活的研究、Isao 等<sup>[8]</sup> 关于机械拉伸通过多条信号通路调节 Cyr61 基因表达的研究均表明, 机械拉伸所引起的细胞响应与细胞骨架有关。WU - Z 等<sup>[9]</sup> 利用胶原包裹的磁性微球通过整合素对细胞施与拉伸刺激, 并用细胞松弛素 D 对微丝骨架进行处理, 结果发现, 用细胞松弛素 D 处理过的细胞在力刺激下的短时钙离子内流是正常 3 倍, 表明细胞骨架参与了对力敏感离子通道的调控, 尤其是力敏感 Ca<sup>2+</sup> 通道的开放细胞骨架重排的重要启动因素, 这样就可以推测二者间可能形成反馈调节。不仅是细胞松弛素 D 所引起的微丝骨架破坏可以引起力敏感 Ca<sup>2+</sup> 通道的过敏反应。WU-Z 等的研究表明对于那些新接种的, 尚未完全铺展, 微丝纤维还未充分建立的细胞, 也比微丝纤维发育成熟的细胞具有更高的力敏感 Ca<sup>2+</sup> 通道敏感性。Emel 等<sup>[10]</sup> 发现短期的周期拉伸显著促进 Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> 泵活性, 而细胞松弛素 D 处理可阻断这一效应, 但细胞松弛素 D 对静息状态下的 Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> 泵是无效的。这意味着周期拉伸激活 Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> 泵也通过微丝骨架系统。Okada. M 等<sup>[11]</sup> 的研究发现, 周期拉伸上调人内皮细胞 IL-8、MCAF、MCP-1 的作用能够被细胞松弛素 D 所阻断, 而不受力敏感通道抑制剂和微管解聚的影响。细胞骨架在细胞对机械拉伸响应的各个方面均扮演着重要的角色, 细胞骨架是传递机械拉伸力学信号的重要途径。N. E. Ajubi 等<sup>[12]</sup> 对胚胎鸡颅骨成骨细胞施加脉动流发现前列腺素水平升高也是通过肌动蛋白细胞骨架系统实现的, 细胞松弛素 B 破坏细胞骨架阻断了这一响应。

## 2 应力诱导基因表达的变化

目前已见报道的应力诱导的基因表达变化可分为 4 类: 1) 即早基因或立即早期基因; 2) 细胞因子; 3) 酶; 4) 胞外基质分子。

### 2.1 即早基因

Stula 等<sup>[13]</sup> 发现持续的应力诱导内皮细胞即早基因 c-fos 和 Egr-1 mRNA 的迅速上调, 10 min 后开始上升, 30 min 后就达到最高。这些因子可能会使细胞增殖, 导致血管的重建, 最终出现血管再狭窄病变。Raab-Cullen 等<sup>[14]</sup> 人报道, 机械刺激可使大鼠骨外膜细胞 c - fos 表达上调。随后的实验证据表明, 骨细胞在机械应变作用下 c-fos 表达同样出现增高趋势<sup>[15]</sup>。Chen 等<sup>[1]</sup> 证明成骨细胞在流体作用下, 增强了 c-fos 和环氧化酶 COX-2 两种即早基因的表达。这两种蛋白质与骨受在体机械刺激后合成代谢反应有关。c-fos/c-jun 异源二聚体即为转录因子 AP-1, 可结合于基因调控序列中的 AP - 1 结合位点从而启动相关的基

因表达。AP-1 与其结合位点的相互作用可能受到 PKC 的调节,这种调节是通过 PKC 对 c-jun 的磷酸化实现的。

利用内皮细胞流动小室方法对大鼠脑微血管内皮细胞在剪切力作用下细胞核内原癌基因 c-fos 蛋白的翻译水平的表达研究结果提示脑微血管内皮细胞在剪切力作用下,c-fos 蛋白有明显的表达且显示了剪切力水平的非依赖性和作用时间的依赖性。流动剪切力诱导的 c-fos 的适度表达可以导致内皮细胞伸展、细胞骨架蛋白合成、细胞骨架重排等,以适应流动剪切力的作用。但过度的剪切力作用可以引起内皮细胞皱缩、损伤、脱落,这时的 c-fos 会有过度的表达。如何控制 c-fos 蛋白的表达量,可能是阻断内皮细胞损伤的可能途径之一。

## 2.2 细胞因子

胰岛素样生长因子(IGF-1)是骨组织中最多的生长因子,它具有促进骨细胞增殖分化、骨基质合成的作用。Lean 等<sup>[16]</sup>发现大鼠骨细胞受应力刺激 6 h 后 IGF-1 mRNA 表达增高,48 h 后可见 I 型胶原和骨钙素表达的增加。

TGF- $\beta$  是一簇具有多种功能的蛋白多肽,以骨组织和血小板中含量最为丰富。TGF- $\beta$  可刺激骨膜间充质细胞增殖分化为成骨细胞和成软骨细胞,促进 I 型胶原合成,诱导膜内成骨和软骨内成骨过程。牵张力刺激促进 TGF- $\beta$  的合成和分泌。TGF- $\beta$  可能在机械信号传递和细胞应答过程中扮演重要角色。

Christof 等<sup>[17]</sup>用基因芯片发现施加应力的成纤维细胞中结缔组织生长因子(CTGF) mRNA 水平显著升高(24 h 后升高 4~6 倍),而蛋白质水平相对较低(24 h 后,2~3 倍),结缔组织生长因子是一种自分泌生长因子,刺激结缔组织细胞的增殖和胞外基质分子的合成。应力刺激后 CTGF 表达有可能与应力刺激后 I 型胶原和其它基质蛋白合成增加有关。

血小板衍生生长因子(PDGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)和肝素结合上皮生长因子样生长因子可在内皮细胞中被剪切应力持续诱导瞬时表达。转化生长因子  $\beta$ -1(TGF $\beta$ -1)则被剪切应力持续诱导表达。

## 2.3 酶

流体剪切可以使内皮细胞和成骨细胞中的  $Ca^{2+}$  浓度升高,这已被确认与胞内 NO 的释放和前列腺素 PG 的生成有关。NO 是由一氧化氮合成酶以 L-精氨酸为底物催化合成。胞内  $Ca^{2+}$  浓度的升高可迅速短暂的激活一氧化氮合成酶。另一重要的酶是环氧化酶 COX,在机械刺激后表达立即升高。

## 2.4 胞外基质分子

拉伸诱导骨细胞中 IGF-1 和骨钙素水平升高,牵

张使成骨中细胞基质蛋白骨连接素、骨桥蛋白表达升高。I 型胶原是骨基质中的主要蛋白成分,是骨抗拉伸强度的主要因素。骨钙素则与骨基质中钙的沉积密切相关。

## 3 展望

细胞对应力的响应是一个十分复杂的过程,至今仍存在不少的问题需要作系统研究,主要表现在以下几个方面:

1)在细胞生物学中已经建立很多的信号转导系统,它们似乎与机械刺激相关,有一些转导途径尚未作研究。

2)信号转导的具体途径至今仍不完全清楚。力最初感受机制是什么,应力如何通过细胞骨架转化为生物学信号,力敏感离子通道开关机制如何等还在探讨中。

3)应力作用于细胞的研究是一个非常大的领域,虽然已见到对多种细胞大量的相关报道,但是,每一种细胞所生存的应力环境,电生理环境以及体液环境大相径庭,每一种细胞对应力的反应不完全一样。所以,应力作用于体外培养的细胞后所得到的理论,到底有多少是共性的,又有多少是个性的,尚不清晰。即使是同一种细胞,当该细胞回位到体内环境时,所得出的效应也不可能完全一样。不同的应力方式、作用频率,对细胞所造成的影响是不一样的,有时可能是完全相反的,显然,在这方面的研究同样重要。

4)基因表达变化机制有待确定。虽然内皮细胞、平滑肌细胞在基因水平已有进展,但其他细胞类型、不同的应力方式在基因水平研究还很少。

随着细胞生物学和分子生物学的发展,加上定量仪器和模型技术的进步,细胞对应力的感受器和产生应答的分子机制有望在不远的将来被揭示。应力诱导的细胞信号转导和基因调控之间相互作用关系的清晰,将有助于我们对细胞生理病理机制的了解。应用基因剔除技术,将应力敏感基因剔除的转基因动物可以有助于我们了解应力应答基因起的作用,而基因治疗技术可以通过对不同的应力敏感启动子的开/关有效地调控在不同应力场中的基因表达。

## 参考文献:

- [1] NEAL X, CHEN, KIMBERLY D, et al.  $Ca^{2+}$  Regulates Fluid Shear-induced Cytoskeletal Reorganization and Gene Expression in Osteoblasts[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2000, 278: 989-997.
- [2] KAWATA A, MIKUNI-TAKAGAKI Y. Mechanotransduction in Stretched Osteocytes - temporal Expression of Immediate Early and Other Genes[J]. *Biochem Biophys Res*

- Commun, 1998, 246(2): 404 - 408.
- [3] SHIU YT, LI S, YUAN S, et al. Shear Stress - induced c - fos Activation is Mediated by Rho in a Calcium - dependent Manner[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 303(2): 548 - 555.
- [4] HSIEH H J, LI N Q, FRANGOS JA. Shear - induced Platelet - derived Growth Factor Gene Expression in Human Endothelial Cells is Mediated by Protein kinase C [J]. Cell Physiol, 1992, 150(3): 552 - 558.
- [5] BERK B C, CORSON M A, PETERSON T E, et al. Protein Kinases as Mediators of Fluid Shear Stress Stimulated Signal Transduction in Endothelial Cells: a Hypothesis for calcium - dependent and Calcium - independent Events Activated by Flow [J]. J Biomech, 1995, 28(12): 1 439 - 1 450.
- [6] 唐丽灵. 周期性机械拉伸对大鼠成骨细胞生理活性和力学性质的影响 [D]. 重庆: 重庆大学生物工程学院, 2002.
- [7] ALISTAIR J INGRAM, LEIGHTON JAMEES, LU CAI, et al. NO Inhibits Stretch - induced MAPK Activity by Cytoskeletal Distruption [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2000, 275: 51.
- [8] ISAO TAMURA, JOEL ROSENBLOOM, EDWARD MACARAK, et al. Regulation of Cyr61 Gene Expression by Mechanical Stretch Through Multiple Signaling Pathways [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2001, 281: C1 524 - C1 532.
- [9] WU Z, WONG K, GLOGAUER. M, et al. Regulation of Stretch - activated Intracellular Calcium Transients by Actin Filaments [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1999, 261(2): 419 - 425.
- [10] EMEL SONGU - MIZE, NANCY SEVIEUX, XIANG LIU, et al. Effect of Short - term Cyclic Stretch on Sodium Pump Activity in Aortic Smooth Cells [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001, 281: H2 072 - H2 078.
- [11] OKADA M, MATSUMORI A, ONO K, et al. Cyclic Stretch Upregulates Production of Interleukin - 8 and Monocyte Chemotactic and Activating Factor/monocyte Chemoattractant Protein - 1 in Human Endothelial Cells [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1998, 18(6): 894 - 901.
- [12] TOSHIKO OGATA, FLUID. Flow - Induced Tyrosine Phosphorylation and Participation of Growth Factor Signaling Pathway in Osteoblast - Like Cells [J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2000, (76): 529 - 538.
- [13] MARTIN STULA, HANS - DIETER ORZECZOWSKI. Influence of Sustained Mechanical Stress on Egr - 1 mRNA Expression in Cultured Human Endothelial cells [J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2000, 210: 101 - 108.
- [14] RAAB CULLEN D M, THIEDE M A, PETERSON D N, et al. Mechanical Loading Stimulates Rapid Changes in Periosteal Gene Expression [J]. Calcif Tiss Int, 1994, 55: 473 - 478.
- [15] INAOKA T, LEAN J M, BESSHO T, et al. Sequential Analysis of Gene Expression After an Osteogenic Stimulus: c - fos Expression is Induced in Osteocytes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1995, 217: 264 - 270.
- [16] LEAN JM, JAGGER CJ, et al. Increase Insulin - like Growth Factor I mRNA Expression in rat Osteocytes in Response to Mechanical Stimulation [J]. Am J Physiol, 1995, 218: 318 - 327.
- [17] CHRISTO F, SCHILD C, TRUEB B. Mechanical Stress Is Required for High - Level Expression of Connective Tissue Growth Factor Christof Schild and Beat Trueb1 [J]. Experimental Cell Research, 2002, (274): 83 - 91.

## Effect of Mechanical Stress on Cellular Signal Transduction and Gene Expression

SHANG Juan-fang, WANG Yuan-liang, TANG Li-ling, NIU Xu-feng

(Key Laboratory for Biomechanics & Tissue Engineering Under the State Ministry of Education, College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China)

**Abstract:** The close relationship between stress and cell is summarized. Literatures at home and abroad are inspected. Biochemical reaction cause for stress acting on cell and changes of cytoskeleton signal transduction, correlation gene expression, are reviewed. Then, some gene expression changes induced by stress is systematically enumerated, such as immediate gene productions, cellular factors, enzymes, extracellular matrix molecules, etc. Finally, aiming at cellular stress response, some problems in the area are put forwarded, the molecular mechanism of stress and cellular response is expected to gain a step progress, and thoughts are offered to settle the physio-pathology changes of organism caused by stress.

**Key words:** stress; gene expression; signal transduction