

力学刺激对肌成纤维细胞转归的影响

刘英开 陆树良

成纤维细胞(fibroblast, FB)是创伤愈合中的主要修复细胞,不仅有旺盛的合成功能,还可以分化成一种类似平滑肌细胞、具有收缩功能的细胞亚型——肌成纤维细胞(myofibroblast, MFB)。MFB 表达有平滑肌细胞特有的 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA),其特征还包括双极型的细胞形态,大量的应力纤维及转膜连接的形成。MFB 的出现促进了伤口收缩,有利于创面愈合。MFB 可短暂地出现在正常愈合的伤口中(如手术切口),创面愈合后便很快消失,如果 MFB 持续存在,则导致组织的修复失控(如形成增生性瘢痕或其他器官的纤维化病变)。对于 MFB 的分化及其持续存在的原因,很多学者进行了不懈的研究。值得注意的是,机械张力对细胞增殖和基因表达的调节可能是影响 MFB 转归的重要因素,尽管其机械信号转换机制和信息通路还有待于进一步阐明。

一、张力与瘢痕增生的关系

皮肤张力的增加可导致瘢痕的异常增生。皮肤张力大小由以下因素决定:(1)皮肤组织缺损程度(2)皮肤组织固有张力^[1]。而且局部皮肤张力的大小与皮肤张力松弛线有关。动物实验证实,随着张力的增加,瘢痕的宽度及张力强度亦增加。伤口张力与瘢痕宽度的关系符合一种非线性方程^[2]。身体不同部位皮肤张力不同。皮肤张力大的部位往往成为病理性瘢痕的好发部位。如瘢痕疙瘩常出现在前胸和三角肌等皮肤张力高的部位。研究显示,张力作用下的 FB 产生更多的胶原,形成的胶原纤维则沿张力的方向排列^[3]。而通过“Z”形手术或皮肤移植缓解皮肤张力不失为一种治疗手段。老年人的增生性瘢痕发病率低的

因素之一在于老年人皮肤松弛,张力小,胶原纤维反应低下。

二、压力疗法及相关机制

很多研究证实,压力疗法对瘢痕有一定的疗效。胶原结节存在于增生性瘢痕和瘢痕疙瘩中,而在成熟瘢痕中则不存在。这种结节中含有高密度的 FB 及沿高张方向排列的同一方向的胶原纤维。Larson 等(1971)证实,在压力治疗下没有结节的产生,经治疗的烧伤后增生性瘢痕中可形成疏松的胶原束,间隙增加,FB 细胞数目减少。1975 年 Kischer 等经电子显微镜观察到,经压力治疗的烧伤后增生性瘢痕中胶原纤维间的黏着减少,囊状 FB 数目增加,4-硫酸软骨素水平较未经压力治疗的瘢痕组织低^[3]。早期研究发现,压力引起的局部血运障碍,可稳定肥大细胞,造成组织缺氧,局部血浆中抑制胶原酶活力的 α_2 -巨球蛋白相应减少,从而改变了胶原代谢率,胶原合成减少,降解加速,并使 MFB 退化,释放出能降解蛋白多糖的溶酶体酶,有利于胶原重塑。这可能是压力疗法减轻瘢痕形成的作用机制之一。

三、创面张力的产生

组织收缩是创面正常愈合的一部分。张力产生于细胞介导的组织收缩过程中。FB 具有收缩性,由于组织本身具有一定的张力(抗变形的能力),因此 FB 在收缩时会受到来自周围组织的阻力。阻力大小取决于细胞外基质的变形能力,又称为组织的顺应性。细胞外基质变形能力越差,组织顺应性也就越差,相应阻力也越大。而阻力大小决定着细胞内张力大小^[4]。

四、体外创面收缩——张力模型的建立

Bell 等(1979)在前人研究的基础上建立了体外创面收缩模型。该模型通过使胶原基质黏附或游离于培养基基底而改变基质的力学性质,使胶原基质重塑,

从而影响 FB 的形态和生物学性质。在利用该模型进行研究时,Grinnell^[5]发现:(1)游离基质(floating matrix),张力分布是各向同性的(isotropic),在 FB 作用下,基质呈向心性收缩,形成力学松弛组织(mechanically relaxed tissue)(2)锚着基质(anchored matrix),张力分布是各向异性的(anisotropic),发生等长收缩,形成应力组织(stressed tissue)(3)释放后基质(stress relaxation),当锚着基质由基底释放后,细胞由等长收缩转为等张收缩,基质由应力组织过渡到力学松弛组织。游离基质的情形类似于正常皮肤;锚着基质的情形类似于增生期瘢痕(肉芽组织),而基质的释放则模拟了瘢痕组织由发展到最后成熟的过程。组织修复中形成的张力最终通过 FB 的生物合成作用及创面收缩而缓解。但在体内,FB 所受机械张力的缓解是缓慢的、渐进的,为研究张力与 FB 的关系增加了难度。而体外创面收缩模型的建立,因其力学性质的可控性,为相关研究奠定了基础。

五、力学刺激对 FB 生物学性质的影响及相关机制

1. 不同力学性质下 FB 生物学性质的变化:当 FB 分别培养于三种基质中时,其形态学和生物性质表现出很大差异。游离基质中 FB 呈长条星状,具有网状的细胞骨架系统,基质收缩后 FB 的 DNA 合成明显下降,细胞停滞于 G₀ 期,细胞退化开始。而外源性的力学刺激可促进游离基质中 FB 的再生长^[5]。除增殖活性外,与锚着基质相比,游离基质中 FB 胶原合成下降,胶原酶释放增加^[6]。锚着基质中的情况则相反,FB 表现出 MFB 的某些特征,细胞呈双极型,且沿张力线方向排列^[7],细胞内出现大量应力纤维和纤维连接(fibronexus junctions)结构^[8,9],基质收缩后,FB 的 DNA 合成继续,细胞数增加。随着基质的释放,作用力的缓解,FB 表现出短暂的胞外溶解附

着物肌动蛋白,附着蛋白(annexins)II和VI及 $\beta 1$ 整合素受体[处胞膜囊泡的现象]^[10]释放细胞表面的纤维连接蛋白^[8]和失活的血小板源性生长因子(PDGF)受体^[11],DNA和蛋白质合成明显下降,尤其是纤维连接蛋白和I型前胶原的合成^[8]。因此,组织应力改变产生的刺激有可能激活了细胞内的某些信号转导过程,最终使细胞的形态和生物合成功能改变。

2.力学刺激影响FB生物学性质的相关机制:研究显示,张力可调节MFB的分化,影响其对生长因子的反应性。有学者认为,FB开始转化为MFB表型的时间至少部分依赖于伤口抵抗收缩的程度,随着伤口收缩过程的开始和阻力的增加,迁移中的FB转化为MFB,表达出 α -SMA,形成应力纤维,并且MFB及其肌动蛋白细胞骨架沿着最大阻力线方向形成^[12]。TGF- $\beta 1$ 可促进 α -SMA的表达,TGF- $\beta 1$ 等生长因子对MFB分化的调节依赖于细胞外基质的抗变形能力,细胞内张力的产生是调节具有收缩性细胞骨架蛋白基因表达的中心环节^[4]。应力纤维具有很强的收缩性,体外实验证实其只出现在处于等长收缩状态的FB中^[13]。游离基质中FB低水平的增殖能力可能与FB对生长因子的反应性下降有关。研究显示,与锚着基质相比,游离基质中FB的PDGF受体表达及其细胞表面的水平变化不大,但在PDGF的刺激下,PDGF受体的自身磷酸化水平低下,锚着基质释放后,细胞表面受体的自身磷酸化能力在1~2h内下降并保持低水平^[11]。同样,EGF受体也可发生如此变化。由此说明力学刺激在引发细胞与细胞外基质的相互作用并产生调节细胞因子受体自身磷酸化和细胞增殖的信号中发挥了重要作用。MFB的生物学性质依赖于应力纤维的完整和血清因子的存在^[9],一旦阻力缓解,MFB中应力纤维将缩短以至消失,同时对细胞因子的反应能力下降。体外实验发现,机械张力的缓解可在3~6h内激发细胞的凋亡反应,应力纤维解聚和生长因子受体低反应性均可分别诱发细胞凋亡,但其细胞凋亡指数均较释放后基质低,只有当两种因素同时存在时,细胞凋

亡指数才能达到释放后基质的水平(约占15%)。由此可见,张力缓解引起的应力纤维(微丝束)解聚及生长因子受体低反应性对于细胞凋亡都是必需的^[14]。

研究发现,张力对MFB生物学行为的调节与分裂素活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)有关。MAPK的活化可出现在不同的阶段。细胞外信息调节激酶(extracellular signal regulated kinase,ERK)和P38同属于MAPK家族。将FB植入基质之初及基质释放后的快速收缩中均伴有ERK和P38的激活^[13]。基质释放后的快速收缩伴随着c-fos及其他早期即刻基因转录的活化,细胞由此开始经凋亡而退化,而ERK和P38在激活c-fos转录方面有协同作用^[15]。游离基质及释放后基质中机械力学调节的DNA合成的下降都有赖于ERK信息通路的失活^[13]。研究显示,ERK的活化伴随着机械负荷的增加;而处于等长收缩的FB收缩时伴随的ERK和P38的活化则导致机械负荷的下降^[14]。因此,MAPK的活化在细胞应答机械力学变化中发挥着主要作用,调节着因收缩引起的基因表达的改变,但不影响细胞收缩^[15]。另有报道称,压力缓解后,FB最早反应(5~10min)之一是环磷酸腺苷/蛋白激酶A(cAMP/PKA)信号转导通路的激活^[5]。

由此可见,只要组织局部存在机械张力,细胞的增殖和生物合成就会继续;一旦张力缓解,即使是在生长因子持续存在的情况下,细胞也会转化为非增殖型,并开始退化。这一结果与前述的皮肤创面张力增加导致瘢痕形成增加一致,也可解释外源性压力在减少瘢痕挛缩中的作用。研究发现,全厚皮片或刃厚皮片移植可不同程度影响肉芽组织的增生,加速FB/MFB生活周期的快速完成^[16]。这种现象是否与皮片移植(尤其是全厚皮片移植)在一定程度上可促进张力的缓解有关,还有待于进一步证实。

参 考 文 献

- 王正国,主编. 创伤愈合与组织修复. 第1版. 济南:山东科学技术出版社,1998. 264.
- Burgess LP, Morin GV, Rand M, et al. Wound healing. Relationship of wound closing tension to scar width in rats. Arch Otolaryngol

- Head Neck Surg, 1990, 116:798-802.
- Rockwell WB, Cohen IK, Ehrlich HP. Keloids and hypertrophic scars: a comprehensive review. Plast Reconstr Surg, 1989, 84:827-837.
- Arora PD, Narani N, McCulloch CA. The compliance of collagen gels regulates transforming growth factor- β induction of α -smooth muscle actin in fibroblasts. Am J Pathol, 1999, 154:871-882.
- Grinnell F. Fibroblasts, myofibroblasts, and wound contraction. J Cell Biol, 1994, 124:401-404.
- Fukamizu H, Grinnell F. Spatial organization of extracellular matrix and fibroblast activity: effects of serum, transforming growth factor β , and fibronectin. Exp Cell Res, 1990, 190:276-282.
- Bellows CG, Melcher AH, Aubin JE. Association between tension and orientation of periodontal ligament fibroblasts and exogenous collagen fibres in collagen gels in vitro. J Cell Sci, 1982, 58:125-138.
- Mochitate K, Pawelek P, Grinnell F. Stress relaxation of contracted collagen gels: disruption of actin filament bundles, release of cell surface fibronectin, and down-regulation of DNA and protein synthesis. Exp Cell Res, 1991, 193:198-207.
- Tomasek JJ, Haaksma CJ, Eddy RJ, et al. Fibroblast contraction occurs on release of tension in attached collagen lattices: dependency on an organized actin cytoskeleton and serum. Anat Rec, 1992, 232:359-368.
- Lee TL, Lin YC, Mochitate K, et al. Stress-relaxation of fibroblasts in collagen matrices triggers ectocytosis of plasma membrane vesicles containing actin, annexins II and VI, and $\beta 1$ integrin receptors. J Cell Sci, 1993, 105(Pt 1):167-177.
- Lin YC, Grinnell F. Decreased level of PDGF-stimulated receptor autophosphorylation by fibroblasts in mechanically relaxed collagen matrices. J Cell Biol, 1993, 122:663-672.
- Petroll WM, Cavanagh HD, Barry P, et al. Quantitative analysis of stress fiber orientation during corneal wound contraction. J Cell Sci, 1993, 104(Pt 2):353-363.
- Rosenfeldt H, Grinnell F. Fibroblast quiescence and the disruption of ERK signaling in mechanically unloaded collagen matrices. J Biol Chem, 2000, 275:3088-3092.
- Grinnell F, Zhu M, Carlson MA, et al. Release of mechanical tension triggers apoptosis of human fibroblasts in a model of regressing granulation tissue. Exp Cell Res, 1999, 248:608-619.
- Lee DJ, Rosenfeldt H, Grinnell F. Activation of ERK and p38 MAP kinases in human fibroblasts during collagen matrix contraction. Exp Cell Res, 2000, 257:190-197.
- Rudolph R. Inhibition of myofibroblasts by skin grafts. Plast Reconstr Surg, 1979, 63:473-480.

(收稿日期 2001-11-29)

(本文编辑:何跃)