

本文引用: 施雯, 陈亨, 陈宇潇, 等. 心脏纤维化中力学信号转导的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(1): 24-33. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.01.004.

· 机械力信号与心血管疾病专栏 ·

[文章编号] 1007-3949(2023)31-01-0024-10

## 心脏纤维化中力学信号转导的研究进展

施雯, 陈亨, 陈宇潇, 杨剑, 郭晓纲

(浙江大学医学院附属第一医院心血管内科, 浙江省杭州市 310003)

**[摘要]** 心脏纤维化会引发心脏舒张和收缩障碍, 诱发心律失常, 增加心血管疾病患者的再入院率和死亡风险。成纤维细胞是维持和促进心脏组织细胞外基质沉积的主要细胞类型, 并且对力学微环境改变敏感。最近的研究揭示了力学因素影响成纤维细胞功能的具体力学信号转导通路。文章对此进行了综述, 并就体外力学模型和临床研究进展进行了适当讨论。

**[关键词]** 心脏纤维化; 力学信号转导; 成纤维细胞; 整合素

**[中图分类号]** R5

**[文献标识码]** A

### Research progress of mechanotransduction in cardiac fibrosis

SHI Wen, CHEN Heng, CHEN Yuxiao, YANG Jian, GUO Xiaogang

(Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310003, China)

**[ABSTRACT]** Cardiac fibrosis can cause cardiac diastolic and systolic disorders, induce arrhythmias, and increase the risk of hospital readmission and death in patients with cardiovascular disease. Fibroblasts are the main cell type that maintains and promotes extracellular matrix deposition in cardiac tissue and are sensitive to changes in the mechanical microenvironment. Recent studies have revealed the specific mechanical signal transduction pathways through which mechanical factors influence fibroblast function. In this review, mechanotransduction, vitro mechanical models and clinical advances are discussed.

**[KEY WORDS]** cardiac fibrosis; mechanotransduction; fibroblast; integrin

心脏纤维化是缺血性心脏病、高血压性心脏病等各种心脏疾病的重要病理改变, 其特征是心脏组织中细胞外基质的过度积累。心脏纤维化将对心脏的结构和功能产生广泛的不利影响, 包括引发心脏舒张和收缩障碍, 破坏心肌细胞的兴奋收缩偶联而导致心律不齐等, 最终增加心血管疾病患者的再入院率和死亡风险, 为社会和个人造成沉重的医疗负担。因此, 深入探索心脏纤维化病理机制, 寻找防治心脏纤维化的新靶点具有重要的理论和临床意义。

心脏驻留的成纤维细胞是产生胶原纤维的主要细胞类型。在生理稳态条件下, 相对静止的心脏成纤维细胞负责细胞外基质 (extracellular matrix,

ECM) 蛋白的动态更新。而在多种类型的心脏损伤中, 成纤维细胞被激活, 增殖并分化为肌成纤维细胞, ECM 蛋白分泌增多, ECM 重塑能力增强。因此, 成纤维细胞向肌成纤维细胞转变, 即成纤维细胞活化, 是心脏纤维化改变中的核心事件, 是抗纤维化治疗的关键靶点。

成纤维细胞活化过程与细胞微环境改变密切相关。细胞微环境的刺激通常包括生物化学刺激和力学刺激。既往针对生物化学信号的研究为阐明成纤维细胞活化的分子机制做出了重要贡献, 发现了包括转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor-beta, TGF- $\beta$ )、结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF)、血管紧张素 II (angiotensin II,

**[收稿日期]** 2022-04-27

**[修回日期]** 2022-08-15

**[基金项目]** 国家自然科学基金区域创新发展联合基金 (U21A20337); 国家自然科学基金面上项目 (82170331)

**[作者简介]** 施雯, 硕士研究生, 研究方向为生物力学与心脏纤维化, E-mail: swswswsw2021@163.com。通信作者郭晓纲, 博士, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为生物力学与心脏纤维化, E-mail: gxg22222@zju.edu.cn。

Ang II) 等在内的关键生物化学因子。然而仅关注生物化学因素不足以阐明成纤维细胞活化的完整机制。随着生物材料、生物制造和表征技术的发展,生物力学及力学生物学研究得到更多的关注并愈发成熟,对力学依赖性的分子机制的探究已成为破译细胞功能改变的新方法。

力学信号转导 (mechanotransduction) 是细胞通过激活细胞内特定的信号转导途径来对机械力产生应答过程。心血管系统的细胞通常暴露于各种

力学刺激,从压缩到应变和流动(剪切)应力<sup>[1]</sup>。成纤维细胞在力学刺激的影响下,通过力学信号转导通路发生增殖活化。本文回顾了力学信号导致心脏纤维化的最新知识。这些力学信号通过细胞膜力-化学信号换能以及细胞质骨架和细胞核力学信号传导,最终导致促纤维化基因的表达(图1)。同时本文也综述了模拟心脏力学微环境的体外细胞模型和靶向力学信号改善心脏纤维化的临床研究进展。

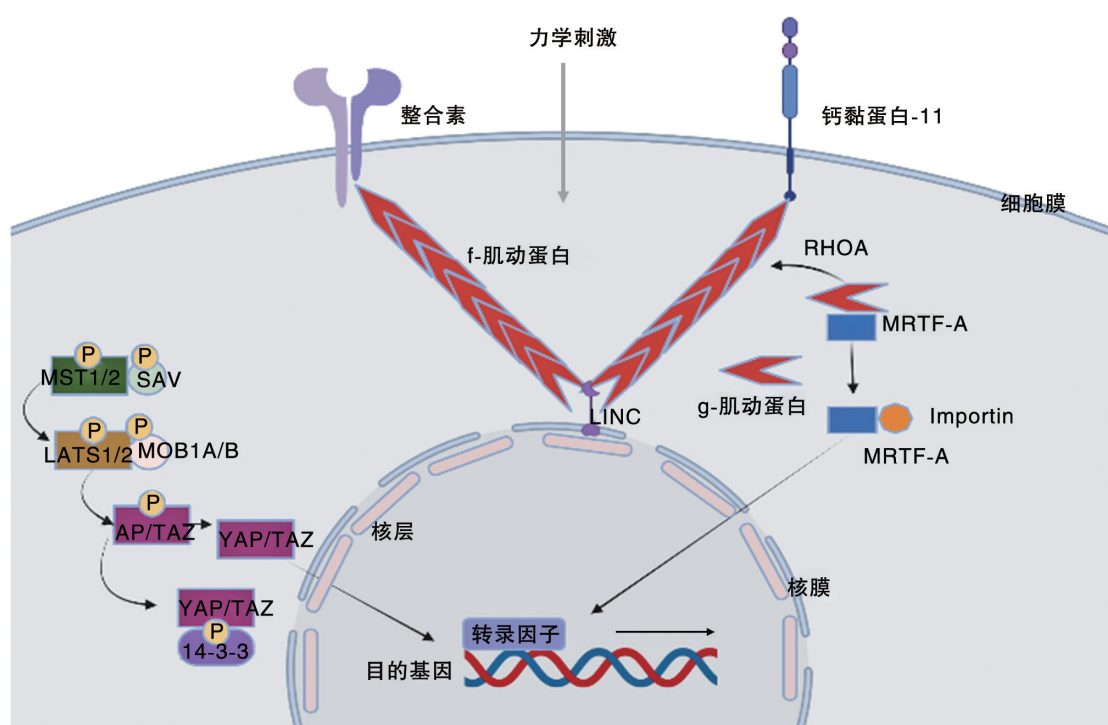


图 1. 力学信号转导示意图

SAV:Salvador,Hippo 通路中的辅助蛋白;MST1/2:哺乳动物 ste20 样蛋白激酶 1/2(mammalian STE20-like protein kinase 1/2),构成 Hippo 通路信号级联中的 Ser/Thr 激酶;MOB:Mps 一结合激酶激活因子样蛋白(Mps one binder kinase activator protein);LATS1/2:大肿瘤抑制激酶(large tumor suppressor kinase 1 and 2),可以磷酸化 YAP/TAZ 从而调节 YAP/TAZ 的核质定位和降解;14-3-3:一种蛋白,将 YAP/TAZ 滞留在细胞质中;MRFA:心肌素相关转录因子 A(myocardin-related transcription factors A),响应 RhoA 信号的关键下游因子;Importin:将蛋白或者 RNA 从胞质运输到胞内。

Figure 1. Diagram of mechanical signal transduction

## 1 心脏力学微环境

在人类平均寿命过程中,心脏会收缩和舒张超过 30 亿次。心脏成纤维细胞时刻受到不同类型机械力的影响,并对其做出不同的反应。疾病状态下,这些力学因素的变化将直接导致心脏成纤维细胞的功能改变。

基质硬度是心脏微环境研究中被广泛关注的力学因素。研究表明,健康心脏的基质硬度约在 10~20 kPa<sup>[1]</sup>。而在糖尿病心肌病中,过多的晚期糖

基化终产物会增加胶原纤维的交联,进而导致心脏硬度的增高<sup>[2]</sup>。高血压心脏病和慢性心力衰竭患者中,促进胶原纤维交联的赖氨酰氧化酶(lysyl oxidase, LOX)蛋白含量也显著上升,促进了基质硬度的增加。而基质硬度的增加则会导致成纤维细胞的活化<sup>[3]</sup>。活化成纤维细胞分泌的胶原蛋白,则会进一步提高基质硬度,使心脏纤维化进入正反馈性的不断加重过程。

心脏搏动产生的周期性拉伸改变也会对成纤维细胞产生影响。心脏组织中细胞所经历的非均

匀和多轴应变平均约在 10% 左右,频率约为 1 Hz。高血压中这些应变约增加了 15%。心肌梗死、心律失常等疾病状态下,心脏成纤维细胞所受到的周期性拉伸力也会有不同程度的改变。而研究表明即便是在生理基质硬度下,0.01 ~ 10 Hz 频率范围内进行 1% ~ 5% 的循环拉伸仍会促进成纤维细胞的生长,此外,拉伸的方向和程度也会对成纤维细胞的胶原分泌功能产生复杂的影响。如 10% 单轴应变状态下成纤维细胞 I 型、III 型胶原蛋白以及纤连蛋白的合成增加,而当应变达到 20% 时 III 型胶原蛋白以及纤连蛋白的合成反而减少。另一项研究表明,给成纤维细胞施加各向异性的应变将增加成纤维细胞的活化水平,与各向同性的等轴应变产生的影响不同<sup>[4]</sup>。

心脏组织中,成纤维细胞还受到血压透壁传导形成的壁应力<sup>[5]</sup>、细胞牵引力、压缩力、剪切力等,关于不同心脏疾病、不同心脏部位中各种力学刺激如何影响成纤维细胞功能和纤维化,仍然亟待研究。

## 2 细胞膜的力化学信号换能

在机械力的作用下,细胞膜中的力学敏感蛋白在力学信号转导过程中起着重要作用。它们连接了细胞外基质和细胞内骨架,响应细胞外局部力的变化,并将力学信号转化为化学信号,将其从细胞外部转导至细胞内。细胞膜力学感受器主要包括黏附受体和力学敏感离子通道两大类。黏附受体包括整合素和钙黏蛋白等。力学敏感离子通道主要包括 TRP 家族通道、Piezo、TREK-1、ATP 敏感钾通道等。

### 2.1 黏附受体

整合素是由  $\alpha$  和  $\beta$  亚基组成的异二聚体跨膜的力学信号受体,连接了细胞外基质和细胞内细胞骨架。在哺乳动物体内有 24 种不同的整合素受体,每一种受体都能识别一组特定的 ECM 配体。心脏成纤维细胞表达了 24 种已知的整合素中的几种,其中  $\beta 1$  整合素<sup>[6]</sup>、 $\alpha v$  整合素<sup>[7]</sup> 均在心脏纤维化的发展过程中上调,促进心脏纤维化。

与健康心脏相比,在心肌梗死后,成纤维细胞上的  $\alpha v \beta 5$  整合素表达上调<sup>[8]</sup>。此外,Perrucci 等<sup>[9]</sup> 发现自发性高血压大鼠的心脏成纤维细胞中, $\alpha v \beta 5$  整合素表达也出现上调,并且通过西尼肽体外抑制,可以有效阻止自发性高血压大鼠心脏成纤维细胞向肌成纤维细胞分化。提示整合素  $\alpha v \beta 5$  抑制剂西尼肽治疗心脏纤维化的可能性。

$\alpha v \beta 3$  参与心脏肌成纤维细胞的分化<sup>[8]</sup>,在急性心肌梗死后,心脏  $\alpha v \beta 3$  整合素的表达增加<sup>[10-11]</sup>。Sui 等<sup>[12]</sup> 发现,西仑吉肽(cilengitide, CGT)作为一种  $\alpha v \beta 3$  和  $\alpha v \beta 5$  的双重抑制剂,对多柔比星诱导的心脏纤维化小鼠模型具有减轻心脏纤维化的作用。因此,这也提示了 CGT 治疗心脏纤维化的可能性。

Zhang 等<sup>[13-14]</sup> 发现 MK0429 作为  $\alpha v$  整合素的抑制剂,可以降低在糖尿病肾病 ZSF1 小鼠模型中肾纤维化及降低博来霉素诱导的肺纤维化小鼠模型中肺纤维化程度。此外 Zhang 等<sup>[14]</sup> 还发现 Ab-31 也是一种有效的  $\alpha v$  整合素抑制剂。在细胞实验中,它可以降低特发性纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 患者肺成纤维细胞 TGF- $\beta$  信号,抑制纤维化。由于  $\alpha v$  整合素也存在心脏中,提示 Ab-31、MK0429 作为靶向  $\alpha v$  整合素抑制剂治疗心脏纤维化的可能性。

心肌梗死后, $\beta 1$  整合素在心脏成纤维细胞上调。相关研究表明,成纤维细胞上的  $\beta 1$  整合素调控肌成纤维细胞的活化<sup>[15]</sup>。但是大多数研究均为抑制心肌细胞上  $\beta 1$  整合素对心脏的影响,对于心脏成纤维细胞上  $\beta 1$  整合素抑制的研究较少,对这方面的认识还较为缺乏。

目前,整合素  $\alpha II b \beta 3$ 、 $\alpha 4 \beta 7$ 、 $\alpha 4 \beta 1$  和  $\alpha L \beta 22$  作为靶点已经分别在临床上用于急性冠状动脉综合征、炎症性肠病、多发性硬化症和干眼病的治疗<sup>[16]</sup>,观察这些药物的临床应用是否能同时改善患者的心脏纤维化将是非常有意义的。此外,目前的研究仍未完全阐明心脏成纤维细胞中力学信号对整合素的调控规律和机制。

钙黏蛋白是黏附连接中一种钙离子依赖的黏附蛋白。钙黏蛋白可以分为钙黏蛋白 I 型与钙黏蛋白 II 型,其中钙黏蛋白 II 型包括了 VE-钙黏蛋白、OB-钙黏蛋白(即钙黏蛋白 11)等,是心脏成纤维细胞中主要的表达类型<sup>[17]</sup>。有研究表明,在成纤维细胞活化过程中主要增加钙黏蛋白 11<sup>[18]</sup>。

钙黏蛋白 11 在相邻细胞之间形成同源二聚体。这些细胞间的连接通过与 p120 连环蛋白和  $\beta$ -连环蛋白结合,帮助细胞之间的力学信号传递到各自的细胞骨架。 $\beta$ -连环蛋白与  $\alpha$ -连环蛋白结合, $\alpha$ -连环蛋白与肌动蛋白细胞骨架连接。通过这些物理连接,钙黏蛋白 11 将力学信号传递到下游分子信号通路,例如 RhoA/ROCK 信号通路、MAPK 信号通路、TGF- $\beta$  信号通路、Wnt 信号通路,导致钙化主动脉瓣疾病、心肌梗死等疾病的纤维化<sup>[19]</sup>。

尽管钙黏蛋白 11 与纤维化的关系非常密切,但



是心脏纤维化过程中,钙黏蛋白 11 改变对成纤维细胞的影响及其机制尚不清楚,亟待阐明。通过钙黏蛋白导致心脏发生纤维化力学信号通路仍然不明确,需要进一步阐明。

## 2.2 力学敏感离子通道

成纤维细胞表达多个力学敏感离子通道。流体剪切力、细胞渗透膨胀、表面张力等会改变施加在细胞膜上的机械应力,并通过改变膜曲率、厚度、张力等激活力学敏感离子通道。现有研究表明,影响成纤维细胞存活和功能的力学敏感离子通道主要包括:瞬时感受器电位香草酸亚型 4 (transient receptor potential vanilloid 4, TRPV4)、Piezo1、瞬时受体电位通道 6 (transient receptor potential cation channel 6, TRPC6)、M 型瞬时受体电位通道 7 (transient receptor potential melastatin 7, TRPM7)、辣椒素受体 (transient receptor potential vanilloid subfamily member 1, TRPV1)、TWIK 相关的钾离子通道 (TWIK-related  $K^+$  channel, TREK-1) 和 ATP 敏感性钾离子通道 (ATP-sensitive potassium channels, KATP) 等<sup>[20]</sup>。

TRPV4 是被广泛研究的经典细胞膜力学感受器。研究表明,剪切、拉伸等细胞外力可以直接引起 TRPV4 的激活<sup>[21]</sup>,也可通过激活整合素或细胞内其他力学信号分子<sup>[22]</sup>而间接激活 TRPV4。TRPV4 激活已被证明与许多组织的纤维化有关<sup>[21]</sup>。在心脏中,Hatano 等<sup>[23]</sup>的研究表明 TRPV4 蛋白在心脏成纤维细胞中表达。Adapala 等<sup>[24]</sup>研究者进而证明 TRPV4 能够感受 ECM 硬度而诱导心脏成纤维细胞活化。最近,该研究团队接着利用 TRPV4 敲除小鼠模型,揭示了 TRPV4 的缺失能够改善心肌梗死后小鼠的心脏纤维化<sup>[25]</sup>。Jia 等<sup>[26]</sup>则证明 TRPV4 抑制剂能够降低糖尿病性心脏病大鼠心脏纤维化。这些研究均提示拮抗 TRPV4 能够抑制成纤维细胞的活化和治疗心脏纤维化。机制上,Adapala 等<sup>[25]</sup>研究表明 TRPV4 的激活和  $Ca^{2+}$  的内流将增加 Rho/ROCK 的活性,并通过 MRTF-A 诱导成纤维细胞活化。而 Ahn 等<sup>[27]</sup>则表明 TRPV4 的促成纤维细胞活化作用与 MAPK/ERK 途径通路有关。总体而言,TRPV4 导致成纤维细胞活化的直接分子机制仍有待进一步阐明,同时也需要成纤维细胞特异性的 TRPV4 敲除小鼠来明确 TRPV4 的作用。

Piezo1 是力学敏感离子通道,由 9 个跨膜螺旋单元、锚结构域、C 端胞外结构域、C 端结构域和束状结构组成的外周跨膜段构成<sup>[28]</sup>。Piezo1 在感受

力学信号刺激时,通过  $Ca^{2+}$  的信号通路与  $Ca^{2+}$  依赖的下游信号通路相互作用,从而支配着不同的细胞和生理反应。Blythe 等<sup>[29]</sup>研究者发现 Piezo1 在小鼠和人心脏成纤维细胞中表达,Piezo1 的激活能够促进成纤维细胞合成和分泌炎症因子 IL-6。Jakob 等<sup>[30]</sup>则进一步指出人心房成纤维细胞中,Piezo1 通道能够在循环拉伸刺激下被激活,而激活后的 Piezo1 会导致肌动蛋白数量、结构改变,细胞刚度增加,以及合成和分泌 IL-6 增多<sup>[31]</sup>。薛玉梅教授团队<sup>[32]</sup>利用课题组自制的离体组织细胞加压装置模拟高血压对心房各细胞的影响,发现高静水压会导致小鼠心房成纤维细胞 Piezo1 的表达增加,而 siRNA 干预或药物抑制 Piezo1 能够降低高静水压引起成纤维细胞的胶原蛋白合成增加,反之亦然。另一项研究也表明,全身 Piezo1 基因获得性突变会导致心脏纤维化和心肌肥厚,并且部分归因于成纤维细胞的 Piezo1 功能增强<sup>[33]</sup>。以上结果提示,心脏成纤维细胞 Piezo1 在力信号介导的心脏纤维化中可能具有重要作用。

近年来,研究者还揭示了其他的瞬时受体电位通道在成纤维细胞向活化中的作用。研究表明,抑制 TRPC3 活性可以降低压力超负荷小鼠的心脏纤维化,其机制与 ROS/GEF/H1/RHOA 途径有关<sup>[34]</sup>;TRPM7 可以在可溶性促纤维化因子存在情况下,诱导成纤维细胞增殖、活化、胶原蛋白合成和分泌增加<sup>[20]</sup>,然而 TRPM7 在机械力诱导的成纤维细胞分子和功能改变中的作用尚不清楚;Abraham 等<sup>[35]</sup>表明成纤维细胞特异性 TREK-1 敲除改善了主动脉弓缩窄手术诱导的小鼠心脏纤维化;而 Wang 等<sup>[36]</sup>表明,过表达 TRPV1 可以减轻异丙肾上腺素诱导的小鼠心脏纤维化。

## 3 细胞质骨架的力学信号转导

细胞骨架由肌动蛋白微丝、微管和中间丝构成,这对细胞力学有特殊意义。ECM 的刚度是细胞骨架预应力的重要调节因子。细胞骨架预应力(细胞骨架中等距张力的水平)根据 ECM 刚度不断调整,使得细胞骨架刚度与 ECM 刚度之间达到平衡。细胞骨架力学信号转导的机制涉及 YAP/TAZ 和 MRTF-SRF 信号转导通路。

### 3.1 YAP/TAZ

Yes 相关蛋白 (Yes-associated protein, YAP)、与 PDZ 结合基序转录共激活蛋白 (transcriptional coactivator with PDZ-binding motif, TAZ) 是 TEAD 家族转

录因子,通过调控核基因表达来影响成纤维细胞的增殖、代谢活化、ECM合成和分泌等多个生物学过程。心肌梗死后,心脏成纤维细胞中的YAP/TAZ被激活。YAP/TAZ的激活可以诱导心脏成纤维细胞活化<sup>[37]</sup>。Mia等<sup>[37-38]</sup>通过Col1a2Cre(ER)T小鼠,发现特异性缺失YAP/TAZ的成纤维细胞可以减少心肌梗死后纤维化和纤维炎症反应,并改善心脏功能。

YAP/TAZ是Hippo通路的转录共激活因子和下游效应因子。构成Hippo通路信号级联中的Ser/Thr激酶MST1和MST2与Salvador(SAV)/WW45结合形成一种活性酶复合物磷酸化LATS1/2-MOB1A/B蛋白。磷酸化后的MOB1A/B蛋白继而磷酸化YAP/TAZ。磷酸化的YAP/TAZ通过与14-3-3蛋白结合,而被滞留在细胞质中。当YAP/TAZ发生去磷酸化时,YAP/TAZ易位到细胞核,并与多种转录因子相互作用,包括TEAD1-4,诱导基因表达。

YAP/TAZ活性可响应于力学刺激和细胞质骨架变构而发生改变。Rho和细胞骨架肌动蛋白促进YAP/TAZ的转录活性。研究表明f-肌动蛋白聚合和应力纤维的形成促进了YAP/TAZ活性。但g-肌动蛋白单体的相对含量增加对YAP/TAZ的活性无明显影响。细胞骨架张力对YAP/TAZ核定位有影响。在没有细胞骨架张力的情况下,YAP/TAZ在细胞质和细胞核之间穿梭,而细胞骨架张力增高促进它们在细胞核内滞留<sup>[39]</sup>。这说明YAP/TAZ的活性与纤维化相关。

总的来说,YAP/TAZ导致心脏成纤维细胞活化和心脏纤维化的具体分子机制仍然不清楚,需要进一步阐明。

### 3.2 MRTF-SRF

心肌梗死后形成瘢痕组织,导致成纤维细胞的周围环境发生变化。当成纤维细胞周围环境发生变化后,血清反应因子(serum response factor,SRF)和心肌素相关转录因子(myocardin-related transcription factors,MRTF)作为细胞骨架、RHO家族控制的转录调节因子,会成为力学传导信号中的一部分。MRTF蛋白是响应RhoA信号的关键下游因子<sup>[39]</sup>。转录共激活因子MRTF家族包括心肌素、MRTF-A和MRTF-B。其中MRTF-A是介导心脏纤维化的关键因子。Small等<sup>[40]</sup>在MRTF-A缺失小鼠中观察到心脏成纤维细胞向肌成纤维细胞转化明显减少。Rho的激活通过ROCK/LIMK/cofilin途径诱导肌动蛋白聚合,稳定f-肌动蛋白,促进g-肌动蛋

白单体组装成f-肌动蛋白丝。MRTF-A和MRTF-B有多个保守结构域,包括N端RPEL结构域和双核定位标记信号(bipartite nuclear localization signal,NLS),有助于与肌动蛋白结合。当g-肌动蛋白组装成f-肌动蛋白聚合物,g-肌动蛋白含量下降,MRTF-A与g-肌动蛋白分离,暴露出NLS。Importin与NLS结合后,将MRTF-A转移到细胞核内。MRTF-A是一种转录共激活因子,它与MADS box转录因子SRF物理上相互作用,协同激活含有CArG box的基因亚群转录<sup>[41]</sup>。Small等<sup>[40]</sup>证明MRTF-A诱导部分ECM基因的激活,包括I $\alpha$ 2型胶原。MRTF-SRF复合物直接结合到I $\alpha$ 2型胶原的启动子内嵌的CArG盒,导致细胞外基质的I $\alpha$ 2型胶原增多。

相关研究表明MRTF-A与YAP/TAZ之间存在联系。YAP与TEAD1结合后促进MRTF-A基因的表达,增加心脏纤维化程度。Francisco等<sup>[42]</sup>发现,通过YAP表达缺失的小鼠,减少成纤维细胞中的YAP后,MRTF-A表达抑制从而减轻心脏纤维化和功能障碍。

## 4 细胞核的力学信号转导

细胞核由核质和核膜组成,核膜是一个连续的膜系统,由内外磷脂双层膜和位于膜内侧的核层组成。细胞骨架提供了从细胞表面局部黏附到核膜蛋白复合物的物理耦合。这种贯穿细胞的结构连接让力可以从ECM结构直接传到细胞核,从而使力学信号的传播比化学扩散或易位信号更快。

### 4.1 连接细胞核与细胞膜的细胞骨架复合体

细胞骨架网络通过细胞骨架复合体(linker of nucleoskeleton and cytoskeleton,LINC)连接细胞膜和细胞核,从而允许力学信号的直接传递<sup>[43]</sup>,力学信号调节细胞核内染色体,以调节基因表达程序。

LINC的外核膜上的KASH蛋白(Klarsicht,ANC-1,Syne Homology)与肌动蛋白、微管和中间丝物理连接。KASH蛋白通过SUN(Sad1p-UNC-84)结构域蛋白的二聚体连接到内层核膜,并进一步连接到核层和染色质。KASH有6种亚型:Nesprin1、Nesprin2、Nesprin3、Nesprin4、KASH5和淋巴细胞限制性膜蛋白(lymphocyte restricted membrane protein,LRMP)。其中只有Nesprin1~4和KASH5与细胞骨架连接。Nesprins1和Nesprins2与细胞质动力蛋白/动力蛋白复合物以及动力蛋白相互作用,影响核锚定和核运动。Nesprin3与连接蛋白Plectin、中间丝相互作用。Nesprin4通过运动蛋白激酶与微管

相互作用, KASH5 与动力蛋白结合<sup>[44]</sup>。SUN 蛋白有 SUN1 亚型与 SUN2 亚型。SUN2 亚型可以促进 RhoA 的激活, 从而促进纤维化<sup>[45]</sup>。Stewart 等<sup>[46]</sup>发现缺乏 SUN2 的 LINC 复合物的老鼠, 由于阻断了 AKT 和 MAPK 通路后, 导致心肌肥厚而无间质纤维化。

LINC 复合成分也能对力学应激反应引起基因转录和复制的变化。在力学信号转导早期反应时, 核因子  $\kappa$ B (nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) 信号激活。在第一个 60 min 里, NF- $\kappa$ B 从细胞质转位到细胞核, 然后又转回细胞质。LINC 复合体功能受损, 导致 NF- $\kappa$ B 持续定位在细胞核内, 导致 NF- $\kappa$ B 活性延长。所以, 完整的 LINC 复合体能有效地促进 NF- $\kappa$ B 从细胞核向细胞质转移。Wang 等<sup>[47]</sup>发现, 在黑腹果蝇幼虫肌肉中, 去除核骨架和细胞骨架连接器 (LINC) 复合物的成分, DNA 的复制被破坏。

LINC 复合体也与纤维化相关。在 Nesprin2 敲除小鼠的成纤维细胞中, TGF- $\beta$  诱导的转录因子 Smad3 的核易位受阻, 导致纤维化水平下降。

#### 4.2 核的形状与硬度

细胞核的力学特性由细胞骨架细胞核之间的相互作用、核层的完整性和组成以及 DNA 包装变成染色质的程度决定。

核周肌动蛋白可以对细胞核施加力学应变, 并决定其大小和形状。在硬度高的基质上, 顶端肌动蛋白应力纤维将细胞核压缩成一个扁平的椭球体, 而在硬度低的基质上, 更松弛的肌动蛋白解聚结构导致机械张力丧失, 从而形成球形细胞核。微管和中间丝也可以通过重组来调节核的形态和变形能力。肌动蛋白和微管之间的微妙平衡, 决定了核的形态, 从而影响基因表达。核的变形能力在很大程度上取决于它的刚度。最近的研究表明, 核层蛋白 (Lamin A/C 和 Lamin B) 的水平, 特别是 Lamin A/C 蛋白, 与核刚度有关。Lamin A/C 蛋白直接结合内层核膜蛋白, 而 Lamin B 是高阶染色质结构的组成部分。干细胞有低水平的核层蛋白 A/C, 是柔软的, 而体细胞有较高水平的核层蛋白 A/C, 导致组织特异性核刚度。核力学性质的第三个决定因素是 DNA 包装到染色质的程度。真核细胞的典型大小在 10 ~ 50  $\mu$ m 范围内, 取决于细胞类型和染色质对核膜施加向外的压力。这种压力被组蛋白尾部的一些翻译后修饰所平衡, 这些修饰促进染色质浓缩。不同翻译后修饰的类型, 如乙酰化或甲基化会影响 DNA 的开放和浓缩程度。因此, 染色质凝聚

的水平决定了细胞核的大小, 以及它的力学性能<sup>[48-49]</sup>。

最近的研究表明, 细胞核的物理变形可以通过直接影响染色质结构迅速 (小于 15 s) 调节基因表达。细胞核形状和硬度的改变导致基因表达和细胞分化状态的改变。因此, 这个物理参数可能在心脏成纤维细胞向肌成纤维细胞分化中发挥作用。相关实验表明, Lmna 敲除小鼠在 8 周龄前死于心室壁变薄和实质性纤维化为特征的心力衰竭<sup>[50]</sup>。

## 5 模拟心脏力学微环境的体外模型

生物化学的研究进展无疑推动阐明了细胞内可溶性力学信号如何导致细胞行为和功能改变。但这离不开体外生物力学模型的构建和完善。生物工程和生物材料学方面的创新将有利于成纤维细胞力学信号转导的研究突破。接下来我们将从体外模型所模拟的各个要素入手, 描述该方向近年来的研究进展。

通常, 心脏纤维化的体外力学模型首先需要模拟体内环境中的基质刚度和黏塑性, 从而反映细胞-ECM 间的相互力学作用。而人体组织 ECM 在本质上是一种水凝胶, 即水溶性的聚合物网络<sup>[51]</sup>。因此, 水凝胶成为探究细胞力学反应的重要工具之一。研究者已开发了不同类型具有可调节的力学性能的水凝胶底物, 用于在体外环境下再现真实的力学微环境。根据生物材料的不同, 它可以分为胶原蛋白等哺乳动物 ECM 衍生的水凝胶、海藻酸盐等非哺乳动物 ECM 衍生的水凝胶, 以及以聚丙烯酰胺水凝胶为代表的人工合成水凝胶。哺乳动物和非哺乳动物 ECM 衍生的水凝胶都具有贴近体内环境、生物相容性好的优点, 然而其主要缺点在于刚度调控范围有限, 成本也相对较高; 而基于合成材料的水凝胶则在参数控制上更具灵活性, 如可以分别单独调节基质的力学性能和生物化学组成。而近年来, 研究者为了更好地模拟心脏微环境, 还通过改进材料加工技术, 如电流体动力印刷和静电纺丝等, 使得模型具有更加贴近体内状态的纤维状结构特征<sup>[52]</sup>。研究者还通过构建硼酸盐-PEG 水凝胶系统, 来控制模型中的黏塑性, 从而得以研究黏塑性对心脏成纤维细胞活化的影响<sup>[53]</sup>。

然而, 常规的水凝胶培养体系与细胞的自然力学微环境仍然具有较大区别, 其中一个重要方面就是, 在体内细胞通常存在于 3D 基质环境中。目前已有较多研究表明细胞在 2D 和 3D 培养环境中所



表现的细胞行为具有很大差别<sup>[54-56]</sup>。因此,构建3D的体外力学模型是该领域研究的重要方向之一。研究者已经开发了基于胶原蛋白、透明质酸、聚乙二醇水凝胶材料的3D培养模型,用于调节生物力学性能,进而控制心脏成纤维细胞的活化等过程。最近,Sadeghi等<sup>[57]</sup>则利用明胶甲基丙烯酸酯(gelatin methacryloyl, GelMA)构建了包含心肌细胞的可收缩3D培养模型,并通过调节参数成功模拟了生理心脏组织基质刚度,具体体现为该模型中成纤维细胞在无额外刺激条件下维持了静止状态,而无自我活化。然而,目前3D模型与天然组织相比,普遍缺乏ECM的多样性<sup>[58]</sup>。使用脱细胞心肌ECM可能是理想的策略,但其主要限制在于该体系的力学性能可调性非常有限。

另外,前述体外模型都是内部相对均一的体系,这便于孤立性地调控单个或多个力学因素,并研究其对成纤维细胞的影响;而构建非均匀的、时空可调的体外力学模型,则能更好模拟心脏纤维化中复杂、异质、动态的病理改变,为药物筛选等提供更理想的平台。如心肌梗死后,梗死区基质刚度显著增高,而非梗死区的刚度较低,Zhao等学者<sup>[59]</sup>针对该现象,以聚乙二醇水凝胶为主要材料,使用光掩模方法构建了软硬交替的同心圆模型,并观察到了心脏成纤维细胞从柔软区向坚硬区的迁移,以及在坚硬区内活化增加。另一项研究则在时间尺度上对刚度进行了调节,以模拟瘢痕成熟的过程<sup>[60]</sup>。研究者使用紫外线照射透明质酸水凝胶从而渐进性增加基质刚度,发现心脏成纤维细胞出现 $\alpha$ -SMA合成增加,I型胶原蛋白增加而III型胶原蛋白减少的特征<sup>[60]</sup>。也有研究者开发了基于超声的时空调节力学性能的水凝胶材料,称为声响应支架(acoustically-responsive scaffold, ARS),弥补了光调节材料性能时穿透能力有限的缺陷<sup>[61]</sup>。进一步,Wang等<sup>[62]</sup>开发了3D的Biowire II平台,该心脏纤维化平台的特点在于:①组合了瘢痕和健康心肌细胞,模拟了心肌梗死区和邻近健康区域的区域异质性;②同时加入了心脏成纤维细胞和心肌细胞,为该系统引入旁分泌信号和电生理信号等细胞-细胞间相互作用;③能够高保真地量化模型中的收缩性能改变、胶原沉积情况、电生理学改变。为抗纤维化药物筛选提供了可靠的平台。

为了能够了解力学特性对心脏成纤维细胞的影响,未来体外模型需要整合多尺度的心脏力学特征;而利用hiPSC技术将患者心脏成纤维细胞与仿真ECM环境联用,使其能够更好地模拟病理改变;

此外利用计算模型将有利于在复杂系统中,破译力学信号对成纤维细胞行为的影响。

## 6 靶向力学信号改善心脏纤维化的治疗策略

靶向力学信号被认为是临床治疗纤维化的潜在重要策略。尽管该策略心脏纤维化治疗中的前景尚缺乏研究,但其在治疗肺纤维化等其他纤维化疾病中已取得了部分进展。部分临床前研究的结果已向临床治疗进行转化,如ROCK蛋白抑制剂KD025被认为能够阻止力学对黏着斑的激活,进而阻断力学信号转导和减轻纤维化<sup>[63]</sup>。目前,应用ROCK抑制剂治疗特发性肺纤维化疾病的II期临床试验正在开展(NCT02688647)。此外,应用FAK抑制剂Defactinib治疗胰腺癌患者纤维化也已通过I期临床试验,进入了II期(NCT02758587)。整合素相关的抑制剂PLN-74809和IDL-2965也正在特发性肺纤维化患者中进行临床试验(NCT04072315、NCT03949530)。而miR-21被认为负责维持成纤维细胞的长期力学“记忆”,使其在脱离力学刺激后仍保持肌成纤维细胞表型<sup>[64]</sup>。靶向miR-21的高度特异性反义寡核苷酸RG-012目前也正在接受临床试验的评估,以观察其是否能够用于治疗Alport综合征患者的肾纤维化(NCT03373786)。

另一方面,部分研究还表明除了干预力学信号的转导外,直接通过力学生物学手段干预成纤维细胞的力学微环境也具有有良好的抗纤维化作用。Le等<sup>[65]</sup>构建了具有生理刚度的透明质酸微棒,并将其注入大鼠心脏中,降低了心肌梗死后大鼠心脏纤维化的程度,其机制与调节成纤维细胞的力学传导途径有关。这种可注射的水凝胶有望在临床上被广泛使用,然而,在此之前需要广泛评估其在人体中应用的安全性。

## 7 总结和展望

心脏纤维化与心血管疾病中力学特征的改变密切相关。研究逐步揭示了细胞对力学刺激的具体反应规律,以及相关的信号转导通路。然而,分子网络非常复杂,全面理解特定的力学信号如何控制基因表达和心脏纤维化仍然充满挑战。力学信号系统模型提供了关于力学信号如何从多个力学传感器和生物化学刺激整合来调节基因表达。因此这种整合系统分析有望能整合不同实验背景下的数据,提高对多尺度关系的理解,并加速对力学

刺激如何重塑心脏疗法的发展。为了提高基于力学的疗法改善纤维化的精确度,未来的研究应集中在开发具有高特异性的上游力学敏感蛋白或相关基因的阻断剂或沉默,而不是更广泛地改变下游信号通路。

#### [参考文献]

- [1] GAROFFOLO G, PESCE M. Mechanotransduction in the cardiovascular system: from developmental origins to homeostasis and pathology[J]. *Cells*, 2019, 8(12): E1607.
- [2] 邱俊霖, 罗说明, 周智广. 糖尿病性心脏病研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(8): 679-687.
- QIU J L, LUO S M, ZHOU Z G. Research advances in diabetic heart disease[J]. *Chin J Arterioscler*, 2020, 28(8): 679-687.
- [3] 李 丽, 吴立玲. 心脏间质细胞在心肌纤维化中的作用机制及研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(8): 652-660.
- LI L, WU L L. The mechanism and research progress of cardiac stromal cells in myocardial fibrosis [J]. *Chin J Arterioscler*, 2021, 29(8): 652-660.
- [4] GOULD R A, CHIN K, SANTISAKULTARM T P, et al. Cyclic strain anisotropy regulates valvular interstitial cell phenotype and tissue remodeling in three-dimensional culture[J]. *Acta Biomater*, 2012, 8(5): 1710-1719.
- [5] NGUYEN-TRUONG M, WANG Z. Biomechanical properties and mechanobiology of cardiac ECM [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1098: 1-19.
- [6] IEDA M, TSUCHIHASHI T, IVEY K N, et al. Cardiac fibroblasts regulate myocardial proliferation through beta1 integrin signaling[J]. *Dev Cell*, 2009, 16(2): 233-244.
- [7] MURRAY I R, GONZALEZ Z N, BAILY J, et al.  $\alpha$ v integrins on mesenchymal cells regulate skeletal and cardiac muscle fibrosis[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1118.
- [8] SARRAZY V, KOEHLER A, CHOW M L, et al. Integrins  $\alpha$ v $\beta$ 5 and  $\alpha$ v $\beta$ 3 promote latent TGF- $\beta$ 1 activation by human cardiac fibroblast contraction[J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 102(3): 407-417.
- [9] PERRUCCI G L, BARBAGALLO V A, CORLIANÒ M, et al. Integrin  $\alpha$ v $\beta$ 5 in vitro inhibition limits pro-fibrotic response in cardiac fibroblasts of spontaneously hypertensive rats[J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 352.
- [10] JENKINS W A, VESEY A T, STIRRAT C, et al. Cardiac  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin expression following acute myocardial infarction in humans[J]. *Heart*, 2017, 103(8): 607-615.
- [11] HIGUCHI T, BENDEL F M, SEIDL S, et al. Assessment of  $\alpha$ v $\beta$ 3 integrin expression after myocardial infarction by positron emission tomography[J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 78(2): 395-403.
- [12] SUI S, HOU Y. Dual integrin  $\alpha$ v $\beta$ 3 and  $\alpha$ v $\beta$ 5 blockade attenuates cardiac dysfunction by reducing fibrosis in a rat model of doxorubicin-induced cardiomyopathy[J]. *Scand Cardiovasc J*, 2021, 55(5): 287-296.
- [13] ZHOU X, ZHANG J, HAIMBACH R, et al. An integrin antagonist (MK-0429) decreases proteinuria and renal fibrosis in the ZSF1 rat diabetic nephropathy model[J]. *Pharmacol Res Perspect*, 2017, 5(5): e00354.
- [14] ZHANG J, WANG T, SAIGAL A, et al. Discovery of a new class of integrin antibodies for fibrosis[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 2118.
- [15] SCHROER A K, MERRYMAN W D. Mechanobiology of myofibroblast adhesion in fibrotic cardiac disease[J]. *J Cell Sci*, 2015, 128(10): 1865-1875.
- [16] SLACK R J, MACDONALD S F, ROPER J A, et al. Emerging therapeutic opportunities for integrin inhibitors [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, 21(1): 60-78.
- [17] YAN W, LIN C, GUO Y, et al. N-Cadherin overexpression mobilizes the protective effects of mesenchymal stromal cells against ischemic heart injury through a  $\beta$ -catenin-dependent manner[J]. *Circ Res*, 2020, 126(7): 857-874.
- [18] HINZ B, PITTET P, SMITH-CLERC J, et al. Myofibroblast development is characterized by specific cell-cell adherens junctions [J]. *Mol Biol Cell*, 2004, 15(9): 4310-4320.
- [19] RILEY L A, MERRYMAN W D. Cadherin-11 and cardiac fibrosis: a common target for a common pathology [J]. *Cell Signal*, 2021, 78: 109876.
- [20] STEWART L, TURNER N A. Channelling the force to reprogram the matrix: mechanosensitive ion channels in cardiac fibroblasts[J]. *Cells*, 2021, 10(5): 990.
- [21] ZHAN L, LI J. The role of TRPV4 in fibrosis[J]. *Gene*, 2018, 642: 1-8.
- [22] BERNA-ERRO A, IZQUIERDO-SERRA M, SEPÚLVEDA R V, et al. Structural determinants of 5',6'-epoxyeicosatrienoic acid binding to and activation of TRPV4 channel [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 10522.
- [23] HATANO N, ITOH Y, MURAKI K. Cardiac fibroblasts have functional TRPV4 activated by 4 $\alpha$ -phorbol 12, 13-didecanoate [J]. *Life Sci*, 2009, 85(23/26): 808-814.
- [24] ADAPALA R K, THOPPIL R J, LUTHER D J, et al. TRPV4 channels mediate cardiac fibroblast differentiation by integrating mechanical and soluble signals[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2013, 54: 45-52.
- [25] ADAPALA R K, KANUGULA A K, PARUCHURI S, et al. TRPV4 deletion protects heart from myocardial infarction-induced adverse remodeling via modulation of cardiac



- fibroblast differentiation [J]. *Basic Res Cardiol*, 2020, 115(2): 14.
- [26] JIA X L, XIAO C, SHENG D Q, et al. TRPV4 mediates cardiac fibrosis via the TGF- $\beta$ 1/Smad3 signaling pathway in diabetic rats [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2020, 20(5): 492-499.
- [27] AHN M S, EOM Y W, OH J E, et al. Transient receptor potential channel TRPV4 mediates TGF- $\beta$ 1-induced differentiation of human ventricular fibroblasts [J]. *Cardiol J*, 2020, 27(2): 162-170.
- [28] JIANG Y, YANG X, JIANG J, et al. Structural designs and mechanogating mechanisms of the mechanosensitive piezo channels [J]. *Trends Biochem Sci*, 2021, 46(6): 472-488.
- [29] BLYTHE N M, MURAKI K, LUDLOW M J, et al. Mechanically activated Piezo1 channels of cardiac fibroblasts stimulate p38 mitogen-activated protein kinase activity and interleukin-6 secretion [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(46): 17395-17408.
- [30] JAKOB D, KLESEN A, ALLEGRIINI B, et al. Piezo1 and BK<sub>Ca</sub> channels in human atrial fibroblasts: interplay and remodelling in atrial fibrillation [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2021, 158: 49-62.
- [31] EMIG R, KNODT W, KRUSIG M J, et al. Piezo1 channels contribute to the regulation of human atrial fibroblast mechanical properties and matrix stiffness sensing [J]. *Cells*, 2021, 10(3): 663.
- [32] 刘慧意, 饶芳, 叶兴东, 等. 机械力敏感离子通道 Piezo1 参与高血压诱导心房纤维化的机制研究 [J]. *中国病理生理杂志*, 2022, 38(3): 394-402.
- LIU H Y, RAO F, YE X D, et al. The mechanical force-sensitive ion channel Piezo1 is involved in the study of the mechanism of hypertension-induced atrial fibrosis [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2022, 38(3): 394-402.
- [33] BARTOLI F, EVANS E L, BLYTHE N M, et al. Global Piezo1 gain-of-function mutation causes cardiac hypertrophy and fibrosis in mice [J]. *Cells*, 2022, 11(7): 1199.
- [34] NUMAGA-TOMITA T, KITAJIMA N, KURODA T, et al. TRPC3-GEF-H1 axis mediates pressure overload-induced cardiac fibrosis [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 39383.
- [35] ABRAHAM D M, LEE T E, WATSON L J, et al. The two-pore domain potassium channel TREK-1 mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(11): 4843-4855.
- [36] WANG Q, ZHANG Y, LI D, et al. Transgenic overexpression of transient receptor potential vanilloid subtype 1 attenuates isoproterenol-induced myocardial fibrosis in mice [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(2): 601-609.
- [37] MIA M M, CIBI D M, GHANI S A, et al. Loss of YAP/TAZ in cardiac fibroblasts attenuates adverse remodelling and improves cardiac function [J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(7): 1785-1804.
- [38] MIA M M, CIBI D M, ABDUL G B, et al. YAP/TAZ deficiency reprograms macrophage phenotype and improves infarct healing and cardiac function after myocardial infarction [J]. *PLoS Biol*, 2020, 18(12): e3000941.
- [39] DORN T, KORNHERR J, PARROTTA E I, et al. Interplay of cell-cell contacts and RhoA/MRTF-A signaling regulates cardiomyocyte identity [J]. *EMBO J*, 2018, 37(12): e98133.
- [40] SMALL E M, THATCHER J E, SUTHERLAND L B, et al. Myocardin-related transcription factor-a controls myofibroblast activation and fibrosis in response to myocardial infarction [J]. *Circ Res*, 2010, 107(2): 294-304.
- [41] WANG D Z, LI S, HOCKEMEYER D, et al. Potentiation of serum response factor activity by a family of myocardin-related transcription factors [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99(23): 14855-14860.
- [42] FRANCISCO J, ZHANG Y, JEONG J I, et al. Blockade of fibroblast YAP attenuates cardiac fibrosis and dysfunction through MRTF-A inhibition [J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2020, 5(9): 931-945.
- [43] JAHED Z, DOMKAM N, ORNOWSKI J, et al. Molecular models of LINC complex assembly at the nuclear envelope [J]. *J Cell Sci*, 2021, 134(12): jcs258194.
- [44] AGRAWAL R, GILLIES J P, ZANG J L, et al. The KASH5 protein involved in meiotic chromosomal movements is a novel dynein activating adaptor [J]. *Elife*, 2022, 11: e78201.
- [45] THAKAR K, MAY C K, ROGERS A, et al. Opposing roles for distinct LINC complexes in regulation of the small GTPase RhoA [J]. *Mol Biol Cell*, 2017, 28(1): 182-191.
- [46] STEWART R M, RODRIGUEZ E C, KING M C. Ablation of SUN2-containing LINC complexes drives cardiac hypertrophy without interstitial fibrosis [J]. *Mol Biol Cell*, 2019, 30(14): 1664-1675.
- [47] WANG S, STOOPS E, CP U, et al. Mechanotransduction via the LINC complex regulates DNA replication in myonuclei [J]. *J Cell Biol*, 2018, 217(6): 2005-2018.
- [48] SCHREINER S M, KOO P K, ZHAO Y, et al. The tethering of chromatin to the nuclear envelope supports nuclear mechanics [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7159.
- [49] STEPHENS A D, BANIGAN E J, ADAM S A, et al. Chromatin and lamin A determine two different mechanical response regimes of the cell nucleus [J]. *Mol Biol Cell*, 2017, 28(14): 1984-1996.
- [50] FURUSAWA T, ROCHMAN M, TAHER L, et al. Chro-

- matin decompaction by the nucleosomal binding protein HMGN5 impairs nuclear sturdiness [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6138.
- [51] CACOPARDO L, GUAZZELLI N, AHLUWALIA A. Characterizing and engineering biomimetic materials for viscoelastic mechanotransduction studies [J]. *Tissue Eng Part B Rev*, 2022, 28(4): 912-925.
- [52] LEI Q, HE J, LI D. Electrohydrodynamic 3D printing of layer-specifically oriented, multiscale conductive scaffolds for cardiac tissue engineering[J]. *Nanoscale*, 2019, 11(32): 15195-15205.
- [53] MA H, MACDOUGALL L J, GONZALEZRODRIGUEZ A, et al. Calcium signaling regulates valvular interstitial cell alignment and myofibroblast activation in fast-relaxing boronate hydrogels[J]. *Macromol Biosci*, 2020, 20(12): e2000268.
- [54] PEYTON S R, KIM P D, GHAJAR C M, et al. The effects of matrix stiffness and RhoA on the phenotypic plasticity of smooth muscle cells in a 3-D biosynthetic hydrogel system [J]. *Biomaterials*, 2008, 29(17): 2597-2607.
- [55] PEYTON S R, RAUB C B, KESCHRUMRUS V P, et al. The use of poly (ethylene glycol) hydrogels to investigate the impact of ECM chemistry and mechanics on smooth muscle cells[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(28): 4881-4893.
- [56] HUANG G, LI F, ZHAO X, et al. Functional and biomimetic materials for engineering of the three-dimensional cell microenvironment[J]. *Chem Rev*, 2017, 117(20): 12764-12850.
- [57] SADEGHI A H, SHIN S R, DEDDENS J C, et al. Engineered 3D cardiac fibrotic tissue to study fibrotic remodeling [J]. *Adv Healthc Mater*, 2017, 6(11): 10.1002.
- [58] BRACCO G L, STEIN J M, MUYLAERT D P, et al. Advanced *in vitro* modeling to study the paradox of mechanically induced cardiac fibrosis [J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2021, 27(2): 100-114.
- [59] ZHAO H, LI X, ZHAO S, et al. Microengineered *in vitro* model of cardiac fibrosis through modulating myofibroblast mechanotransduction[J]. *Biofabrication*, 2014, 6(4): 045009.
- [60] HERUM K M, CHOPPE J, KUMAR A, et al. Mechanical regulation of cardiac fibroblast profibrotic phenotypes[J]. *Mol Biol Cell*, 2017, 28(14): 1871-1882.
- [61] FARRELL E, ALIABOUZAR M, QUESADA C, et al. Spatiotemporal control of myofibroblast activation in acoustically-responsive scaffolds via ultrasound-induced matrix stiffening[J]. *Acta Biomater*, 2022, 138: 133-143.
- [62] WANG E Y, RAFATIAN N, ZHAO Y, et al. Biowire model of interstitial and focal cardiac fibrosis [J]. *ACS Cent Sci*, 2019, 5(7): 1146-1158.
- [63] ZHOU Y, HUANG X, HECKER L, et al. Inhibition of mechanosensitive signaling in myofibroblasts ameliorates experimental pulmonary fibrosis[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(3): 1096-1108.
- [64] LI C X, TALELE N P, BOO S, et al. MicroRNA-21 preserves the fibrotic mechanical memory of mesenchymal stem cells[J]. *Nat Mater*, 2017, 16(3): 379-389.
- [65] LE L V, MOHINDRA P, FANG Q, et al. Injectable hyaluronic acid based microrods provide local micromechanical and biochemical cues to attenuate cardiac fibrosis after myocardial infarction[J]. *Biomaterials*, 2018, 169: 11-21.
- (此文编辑 许雪梅)

~~~~~

(上接第 16 页)

- [44] DIRAIMONDO T R, KLOCK C, WARBURTON R, et al. Elevated transglutaminase 2 activity is associated with hypoxia-induced experimental pulmonary hypertension in mice [J]. *ACS Chem Biol*, 2014, 9(1): 266-275.
- [45] SLUIMER J C, DAEMEN M J. Novel concepts in atherogenesis; angiogenesis and hypoxia in atherosclerosis[J]. *J Pathol*, 2009, 218(1): 7-29.
- [46] KAWABE J, HASEBE N. Role of the vasa vasorum and vascular resident stem cells in atherosclerosis[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 701571.
- [47] XU J, LU X, SHI G P. Vasa vasorum in atherosclerosis and clinical significance[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(5): 11574-11608.
- [48] RANADE S S, QIU Z, WOO S H, et al. Piezo1, a mechanically activated ion channel, is required for vascular development in mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(28): 10347-10352.
- [49] KANG H, HONG Z, ZHONG M, et al. Piezo1 mediates angiogenesis through activation of MT1-MMP signaling[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2019, 316(1): C92-C103.
- [50] CHEN P, ZHANG G, JIANG S, et al. Mechanosensitive Piezo1 in endothelial cells promotes angiogenesis to support bone fracture repair[J]. *Cell Calcium*, 2021, 97: 102431.
- [51] ZHANG L, LI Y, MA X, et al. Ginsenoside Rg1-notoginsenoside R1-protocatechuic aldehyde reduces atherosclerosis and attenuates low-shear stress-induced vascular endothelial cell dysfunction[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 11: 588259.
- (此文编辑 曾学清)