

文章编号:1004-7220(2009)04-0237-09

· 专家论坛 ·

气道平滑肌生物力学与哮喘病理机制的研究进展

邓林红

(重庆大学生物工程学院,生物流变学科学与技术教育部重点实验室,重庆 400044)

摘要:哮喘病是危害人类健康的重要呼吸疾病,但其病理机制至今依然不完全清楚。由于呼吸依赖于各级肺组织在外力作用下的一系列力学过程,其力学因素必定在呼吸功能方面发挥着重要作用。其中,气道平滑肌细胞对物理环境很敏感,异常的力学因素刺激将可能改变气道平滑肌细胞的结构和/或功能,导致气道平滑肌过度收缩等病理变化。近年来,人们对气道平滑肌生物力学及其在哮喘的病理机制中的作用展开了大量研究,获得了许多重要的发现。本文将围绕气道平滑肌与肺中的力学环境介绍有关研究的最新进展,包括气道平滑肌收缩和骨架纤维的组织结构,气道平滑肌功能长度范围以及适应性,力学刺激引起的气道平滑肌细胞结构和功能的变化,气道平滑肌紧张度对应变诱导的响应的调控,细胞骨架软玻璃态动力学行为等,并探讨气道平滑肌生物力学与哮喘病理机制的关系。

关键词: 生物力学; 气道平滑肌; 气道高反应性; 细胞骨架; 哮喘病

中图分类号: R318.01 **文献标志码:** A

Progress of biomechanics of airway smooth muscle and its implication to asthma pathobiology

DENG Lin-hong.(MOE Key Lab of Biotheological Science and Technology, and Bioengineering College, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract: Asthma is an old and increasingly life-threatening disease. The mechanism of asthma is, however, not well understood. In asthma, the gas exchange as the primary function of the human lung can be seriously impaired. Since gas exchange is achieved through a series of respiratory acts that are operated via physical forces and stresses acting on each level of the lung structure, biomechanics of lung tissues including airway smooth muscle (ASM) must have an important role in asthma. In this article, we review latest advances in aspects associated with ASM biomechanics. We first discuss the mechanical environment in the lung structure, then introduce the latest findings of ASM structure and function including ASM contractile filament organization, functional length range and adaptation, cellular structure and functional changes in responses to mechanical perturbation, ASM tone as a mediator of strain-induced response, and a novel glassy cytoskeletal dynamics. These provide a multiscale view of the current understanding of ASM biomechanics, which may shed new light, and hopefully lead to a better approach in addressing fundamental issues in asthma pathophysiology.

Key words: Biomechanics; Airway smooth muscle; Airway hyperresponsiveness; Cytoskeleton; Asthma

哮喘作为一种慢性的呼吸道疾病正日益成为危害人类健康的重大问题。在西方发达国家,哮喘病

的发病率已高达总人口的8%~20%。据统计,美国有超过2千万哮喘病患者,每年有超过5千名儿

收稿日期:2009-04-14

作者简介: 邓林红,男,博士,“长江学者”特聘教授,重庆大学生物工程学院教授,重庆大学“985工程”生物流变学与基因调控新技术研究院院长,生物流变科学与技术教育部重点实验室主任。主要从事细胞与分子生物微流变学、力学生物学与哮喘病的机制与防治、生物医用材料工程、生物微纳米制作与检测技术、生物环境工程等方面的研究工作;哈佛大学公共卫生学院客座科学家,纽约科学院会员,中国生物材料学会会员等。E-mail: denglh@cqu.edu.cn

童死于哮喘病。其它西方国家的情况也基本相同^[1,2]。更令人担忧的是,哮喘病的发病率以每10年增长20%~25%的势头不断上升,尤其是在包括中国在内的发展中国家的上升势头更猛。中国哮喘病人数目目前已达34万人左右。尽管如此,哮喘病的病因和发展机制至今没有彻底解释清楚。已知的重要病理因素涉及气道的炎症、高反应性(AHR)和组织重构等诸多方面。其中,AHR导致气道平滑肌过度收缩并引发呼吸困难,被认为是哮喘病致命的原因。有证据表明,哮喘病人的AHR与气道炎症因素可能没有必然的因果关系^[3]。从这个意义上可以说哮喘病也是一种生物力学病,特别是气道平滑肌的生物力学有可能在哮喘病的病理机制中扮演着重要的角色。近年来,关于气道平滑肌生物力学的研究日益受到关注,大量的研究揭示了气道平滑肌一系列独特的生物力学现象,包括气道平滑肌收缩和骨架纤维的结构,气道平滑肌功能长度范围以及适应性,力学刺激引起的气道平滑肌细胞结构和功能的变化,气道平滑肌紧张度对应变诱导的响应调控,细胞骨架软玻态动力学行为等。本文将围绕这些研究探讨气道平滑肌生物力学与哮喘病病理机制的关系。

1 肺组织中的力学环境

肺的主要功能是气体交换,实现这个功能必须在宏观尺寸上对肺施加物理作用力并将其传递到小

气管、小血管、和肺泡等小尺寸结构,从而使其保持扩张和稳定而不塌陷。然后,作用力进一步传递到细胞、细胞核和分子水平。此外,肺里的大多数细胞还都能产生不同程度的收缩力。在这些最小的尺度,物理作用力在维持细胞骨架形态、控制细胞内部骨架重构、调控代谢反应和基因表达等方面都有重要作用。从结构力学的角度来看,肺组织结构的力学性能非比寻常。肺及其细胞在人的一生中必须经受由于静息呼吸导致的大约 10^9 次、最大幅度为4%的应变周期,和由于叹息、深呼吸、剧烈运动等导致的大约 10^7 次、最大幅度达25%的应变周期。这样的应变情况按常规工程材料的标准来说是非常极端的,承受如此大的载荷会需要相当厚实的组织结构,但气体交换又倾向于组织对扩散的阻碍最小。肺的结构是如何满足这样两个对立的要求呢?这涉及到对称构造原理。对称构造原理认为,肺在氧气传输的每一级都有足够、但仅够支撑所需要的氧通量的组织结构。也就是说,在氧气传输的生物学设计上没有结构上的浪费和过度设计。除了保证氧通量外,肺还必须要给存在其中的上皮细胞、平滑肌细胞等60多种细胞提供适宜的力学微环境,这些细胞许多都能感受和响应力学环境中的应力与应变信号(图1和表1)。

肺就像气球一样需要外部产生的扩张应力以保持其充盈的状态。扩张应力来源于胸腔壁和相连的呼吸肌的作用。如图1所示,设定气管开口处的压

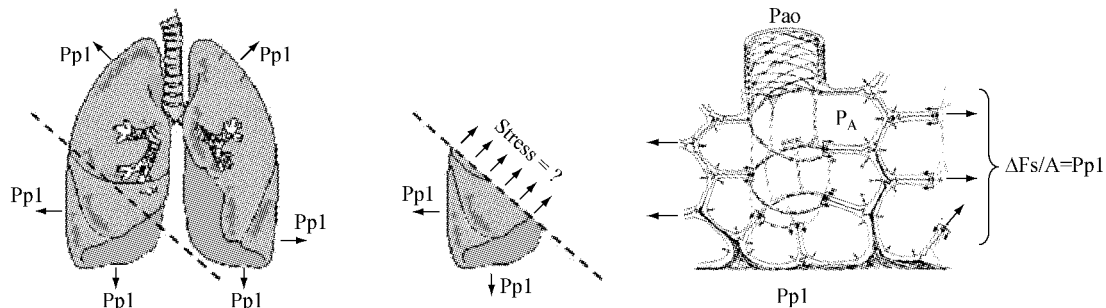


图1 为保持力学平衡,作用在肺组织切面(虚线所示)垂直方向上的总的正应力(Stress)必须等于胸内压(P_{pl})。由于胸内压通常是负压,因此箭头所指表明施加在胸腔膜上的是扩张应力(图示左边与中间部分);在肺的微观结构水平上,界面与组织间力的平衡决定了肺泡的几何形态与弹性回缩能力(图示右边部分)

Fig.1 Mechanical environment in the lung structure. To maintain force equilibrium, total amount of stress exerting on the cross-section of lung tissue must be equal to intrapulmonary pressure (P_{pl})(left). At the microstructure level, the equilibrium of stresses between lung tissue interfaces determines the geometry and recoil capacity of aveoli (right).

表1 肺组织结构受到的作用力或应力的特征值水平

Tab.1 Characteristic levels of forces or stresses in the lung structure

平衡态表面张力	2.5 $\mu\text{N}/\text{cm}$
跨肺压	0 ~ 3 kPa
血管壁剪切应力	1 Pa
细胞骨架拉伸应力	102 ~ 105 Pa
细胞膜粘斑应力	5 kPa
细胞收缩机构应力产生能力	105 Pa
机动蛋白产生的作用力	1 ~ 10 pN

力为 P_{ao} (通常为大气压), 胸内压力为 P_{pl} , 则肺所受到的充盈压力, 又称为跨肺压, $Pl = P_{ao} - P_{pl}$ 。肺的充盈程度决定于跨肺压, 而并不单独决定于 P_{ao} 或者 P_{pl} 。在肺组织的微观结构水平, 其作用为一个张力支持网格结构。来至于跨肺压的关键的扩张应力被传递到肺组织并扩张肺内的所有结构, 由此产生肺泡表面膜的应力和肺组织剪切刚度。这一扩张应力在各个层次对肺功能都是最基本的。它是肺稳定性、灌注和通气量分布, 通气量-灌注相互匹配, 气道阻塞等的主要决定因素。

2 气道平滑肌的组织结构

虽然气道平滑肌对气道的生理学作用仍然存在争议^[4,5], 有一些人甚至认为气道平滑肌是多余的^[6]。但有一点是肯定的, 即气道平滑肌能主动收缩而产生收缩力, 如果其收缩失控, 将可能给哮喘病患者带来严重的后果。从生物力学的角度来看, 人体呼吸器官中的应力与应变随着每次呼吸循环不断地变化, 当应力与应变的作用达到平衡时, 一方面调节细胞骨架(CSK)的扩张程度以维持正常的气道口径, 另一方面, 可能在亚细胞水平提供力学刺激, 从而在细胞内诱发相应的生物响应, 例如 CSK 的重构、反应速率和基因表达的调节等。如今, 应力、应变等力学信号在干细胞分化、癌细胞迁移、胚胎发育和生长等很多生理和病例过程中发挥的重要作用已广为人知^[7-10], 近来也已经证实气道平滑肌在应力与应变作用下表现出的独特而复杂的生物力学响应是哮喘病的重要机制之一^[11]。

尽管气道平滑肌收缩对决定气道口径非常重要, 令人惊讶的是其收缩的结构基础却还不完全清

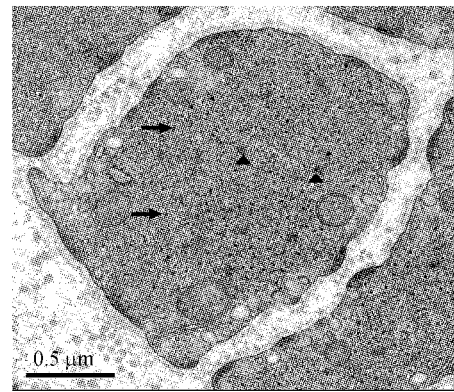


图2 气道平滑肌横截面的透射电子显微镜照片, 大箭头指示肌原蛋白粗肌丝, 小箭头指示肌动蛋白细肌丝区域, 三角形指示致密体。

Fig.2 Transmission Electron Microscopy (TEM) image of the cross-section of airway smooth muscle. Thick arrows point to myosin thick filaments, thin arrows point to actin thin filaments, triangles indicate dense bodies.

楚。这很大程度上要归咎于其组织结构没有确定的形态, 正如其命名中“平滑”两字所暗示的那样。早期曾以横纹肌作为参照范例的基础, 设想也可以将平滑肌细胞按收缩和骨架范畴进行划分^[12,13]。然而, 这样对平滑肌细胞内结构进行的归类化分在很大程度上是没有依据的。事实上, 通过电子显微镜可以看到平滑肌中存在大量、但却没有固定和规则构型的纤维结构(见图1)。这与横纹肌中每一条肌原蛋白纤维和六条环绕四周的肌动蛋白纤维的规则组织结构形成鲜明对照。

在分子水平上, 目前所采用的平滑肌收缩结构的模型是由两条肌动蛋白纤维和伴随其侧翼的一条全边长带极性的肌原蛋白纤维构成的^[14,15]。支持这一模型的证据来自于各种结构^[16]和平滑肌的功能研究结果。但这些纤维是如何组装成产生收缩力的结构或收缩元, 还不太清楚。例如, 传统的观点认为平滑肌细胞内肌动蛋白纤维是连接在类似于 Z-盘的致密体上的^[17,18]。但通过免疫标记平滑肌细胞内的 β -肌动蛋白, 却提示致密体可能并不是收缩装置的组成部分, 很可能归入收缩机构之外的部分。另一方面, 肌原蛋白纤维似乎与致密体平行排列, 也使人们对其在平滑肌收缩中的功能产生疑问。

3 气道平滑肌的长度适应性

气道平滑肌收缩装置的结构之所以难以揭示清

楚的原因还归咎于另一个不能直接套用横纹肌结构来解释的现象,即所谓的平滑肌的长度适应性或力学可塑性^[19,20]。长度适应性现象可以通过对平滑肌条施加周期性振荡拉伸后观察其收缩力的恢复来演示,具体实验如下。振荡拉伸之前将静止的平滑肌置于一定长度的等长状态,在此长度下该平滑肌可以产生与其长度相应的最大收缩力(F_{max})。然后,模拟人体在深吸气时气道平滑肌所受到的拉伸作用对被动状态的气道平滑肌施加一定的振荡应变。经受振荡应变后平滑肌在同样长度下能产生的最大等长收缩力将减小到 F_{max} 的 80%^[21]。如果长度维持不变,大约经过 30min 后该平滑肌可产生的最大收缩力可逐渐恢复到 F_{max} 。施加振荡拉伸后的瞬间,平滑肌所含的肌原蛋白粗纤维的密度也减小到初始密度的 80% 以下,并在 30min 内逐渐恢复,与收缩力的恢复过程大致相同(图 2)^[21]。

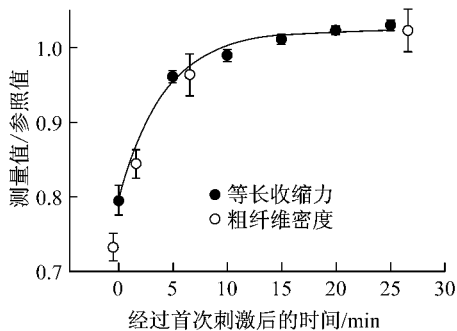


图3 按原位长度的 60% 为幅度(峰-峰值)振荡拉伸 10min 后,平滑肌等长收缩力(闭圆环)与粗纤维密度(开圆环)相对于拉伸前参照值的恢复过程,恢复过程中每隔 5min 刺激肌肉一次,误差指示为 SE (经授权摘自 Kuo *et al.* (2001)^[18])。

Fig.3 Recovery of force (open circle) and thick filament density (closed circle) in airway smooth muscle after exposure to a stretch with amplitude (peak-peak) at 60% of in situ length and 10 min duration. The muscle is stimulated every 5 min From Kuo *et al.* (2001)^[18].

气道平滑肌在受到长度改变的刺激时最初收缩能力显著下降,但随后却能完全或部分地恢复其收缩力的能力被定义为长度适应性或力学可塑性。气道平滑肌经长度适应后至少可以在超过其初始长度三倍以上的长度范围内产生同样大的最大收缩力,而且这一剧烈的适应过程可以在短短的几秒到数小时内完成^[20,22-25]。细胞有如此惊人的长度适应性提

示我们其内部组织必定是可以发生动态重构的,而不是固定不变的。近来的一些实验证据确实支持收缩装置和细胞骨架都具有可变性的细胞模型^[20,23,26-29]。这一可变性使细胞在不同肌长度下改变结构时可对骨架纤维施加动态调节以适应长度^[20,24,30-32]。气道平滑肌结构重构涉及快速的肌原蛋白纤维分解和分子重组^[21],肌动蛋白纤维的聚合和解聚、肌原与肌动蛋白纤维的空间重组、肌动蛋白纤维黏附在细胞膜位置的变化等许多分子事件的动力学过程^[23,27,29]。但对受载荷影响的究竟是肌原蛋白纤维结构,还是肌动蛋白纤维与其细胞膜上黏着斑之间的相互连接则存在不同见解^[26,33,34]。

从生理学的角度而言,平滑肌能适应较大范围的长度变化对许多内脏器官是必须的。比如,肠道蠕动、膀胱排尿和产道生产等生理过程都要求平滑肌在很大的长度范围内保持收缩的能力。而对气道平滑肌来说,长度适应性最明显的功能意义就是平滑肌可能在缩短的长度上依然能产生过大的收缩力,进而引起气道过度缩窄^[22]。譬如,McParland 和同事们的研究表明,气道平滑肌在致痉原刺激下长时间处于收缩状态时将逐渐适应缩短的长度,并在此后受到二次收缩刺激时产生更大的收缩力、更快的收缩速度和更大的缩量^[37]。

4 应力与应变对气道平滑肌细胞骨架的影响

气道平滑肌的长度随呼吸周期而变化,并最终将其中的应力与应变传递给单个肌细胞^[35,38]。而这些应力与应变可能对气道平滑肌细胞骨架结构和功能施加强有力的调制。例如,对体外培养的气道平滑肌细胞施加局部应力刺激时,细胞骨架的肌动蛋白结构在应力作用部位发生聚集,从而造成细胞硬度的增加,其效应甚至比通过化学手段刺激最大收缩引起的肌动蛋白聚合和细胞硬化还要显著^[39-41]。对整个细胞底部施加长时间连续振荡拉伸也能使细胞骨架发生改变。在拉伸作用的过程中,细胞首先(1~4 d)平行排列成垂直于拉伸方向的状态^[42],随后(4~14 d)收缩蛋白的表达产生变化^[43,44],而收缩蛋白的增加与收缩力、钙离子敏感度、收缩速率和范围等收缩功能的增强相一致^[42,45]。细胞在应变的作用下平行排列在垂直于

应变的方向并聚集成束,从而导致气道平滑肌组织力学特性的各向异性以及收缩能力增加等显著的功能变化^[46]。所有这些在体外观察到的由应力与应力诱导产生的效应与体内气道高反应的特点相似,而且人类哮喘病患者和致敏动物的气道平滑肌中类似的变化也有所报道^[47-49],提示应力与应变可能在哮喘发病机制中扮演着重要的角色。

对上述的假说需要注意以下两点。一是气道平滑肌细胞的力学响应依赖于加载的类型或方式。以应变加载为例,过去的研究都没有明确地区分单轴和双轴应变加载方式^[40,41]。但现在我们知道单轴而非双轴加载的应变刺激才能促进气道平滑肌细胞的收缩和增殖功能^[50,51]。另一个值得注意的是关于气道平滑肌的基础收缩状态或者紧张度对哮喘病理学的作用。哮喘病人的气道平滑肌一直处于高紧张度,并且随着哮喘加剧不断反复收缩。高紧张度的存在可通过气道可逆性阻塞表现出来,其特征为吸入某种支气管扩张剂后哮喘病人的一秒钟用力排气量($FEV_{1.0}$)至少可增加20%,而 $FEV_{1.0}$ 是量化气道阻塞的标准测量方法^[52]。体外培养的气道平滑肌细胞也比松弛状态的细胞更接近于产生最大收缩力的状态,并能被多种松弛剂舒张,因此也处于相对的激活状态^[53-55]。无论体外培养或哮喘病人体内的气道平滑肌细胞都处于活跃的收缩状态,或者说有紧张度,这提示我们紧张度可能是促进应力与应变而引起气道平滑肌变化的重要因素。

Deng等(2005)研究表明,在施加应力前降低紧张度可以避免气道平滑肌细胞受局部应力作用后引起的骨架重组和硬化^[39]。然而,这只在短期(≤ 2 小时)和高度局部性的应力作用下得到证实。更近似地模拟体内环境需将气道平滑肌细胞培养在不同收缩刺激状态下并模拟不同的气道紧张度,同时,对其施加类似于潮式呼吸的长期单轴应力刺激或者类似于深吸气(DI)的短暂大幅度拉伸刺激并研究细胞结构与功能的变化。

模拟潮式呼吸拉伸实验是将人气道平滑肌细胞培养在硅胶膜上并分别在静止状态或接受模拟潮式呼吸的0.3 Hz、5%振幅的周期单轴应变(以下简称应变)状态下维持5 d,其间定时向培养的细胞分别加入含紧张度改变剂组胺($5 \mu\text{M}$),碳酰胆碱($100 \mu\text{M}$),福斯高林($5 \mu\text{M}$),或不含紧张度改变剂的对

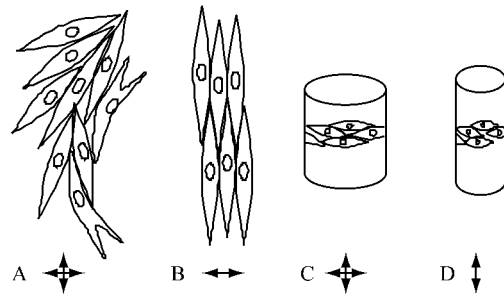


图4 气道平滑肌细胞在收到单轴和等双轴拉伸时的构型反应示意图,A. 等双轴拉伸时和无应变时,细胞呈现常见的无规则排列;B. 单轴拉伸时,细胞在垂直于应变的方向平行排列;C. 松弛气管内,气道壁轴向和周向两个方向随呼吸变形,为双等轴应变;D. 收缩的气道内(如哮喘病),由于气道变硬,周向变形受限,应变主要在轴向,为单轴拉伸。

Fig 4 Schematic presentation of airway smooth muscle reorganization in response to uniaxial and biaxial stretch

照培养基,使培养细胞处于不同的收缩激活状态。之后,在对照培养基中以 $KCl(80 \mu\text{M})$ 刺激收缩并测量细胞基础硬度和急性收缩性^[39]。相对于对照培养基,组胺(收缩激活剂)刺激下培养的细胞的基础硬度提高了22% ($P < 0.05$),在福斯高林(舒缓剂)刺激下培养的细胞基础硬度降低14% ($P < 0.05$)。但是,细胞的急性收缩性并没有变化。与同样培养基下静止培养的细胞相比,应变刺激使组胺、碳酰胆碱、对照培养基中的细胞基础硬度分别提高了38%、25%、30% ($P < 0.05$),但福斯高林培养基中的细胞硬度没有发生变化。因此,与潮式呼吸相似,慢性应变刺激对收缩激活状态下的细胞有很强的硬化作用,但对于松弛状态细胞的硬度却没有影响。应变还使得细胞的急性收缩性依赖于收缩激活程度,而这种依赖关系在静止培养的细胞中是不存在的。

模拟深呼吸式(DI)拉伸实验是将细胞按以上所述的方法,但仅在对照培养基中培养。然后取单个细胞悬挂于微管两端,并以1 Hz的频率,相当于细胞静息长度的2%、4%、8%、10%的振幅下依次分别拉伸100次。10%的大幅度拉伸等于模仿一次DI,振荡拉伸过程中细胞的硬度通过力传感器测量。结果表明,细胞无论是否经过长期应变,当其受到像深吸气式的拉伸时都会立即软化,但经过应变作用

的细胞硬度却恢复得更加迅速。这个结果与 Pellegrino 等^[56]发现的哮喘性气道在深吸气后迅速地再度缩窄是一致的,并意味着如果长度允许变化的话,经过应变作用的细胞会更快地回缩。

一次简单的深吸气会引起不同的气道反应早已被公认为健康人和哮喘病患者之间存在的根本差别^[57]。对于健康人而言,深吸气是已知最有效的气道扩张剂。它既能化解,也能预防自发或受激发引起的支气管痉挛^[58-61]。形成鲜明对照的是,哮喘病患者在哮喘发作时做深吸气不仅毫无益处,有时还可能使症状恶化^[61-63]。虽然关于深吸气的有益作用如何在哮喘中消失殆尽目前还不清楚,但是有证据提示这些机制存在于气道平滑肌这个层次上^[48]。体外实验表明,正常气道平滑肌在收缩激活前受到逐步加大的拉伸和周期振荡应变时,都会发生肌肉松弛与收缩力形成能力降低的反应^[64-67]。这一现象导致了所谓的肌原蛋白结合的扰动平衡模型,其中肌长度是在动态而不是静止状态下达到平衡的^[59]。只要气道不断发生潮呼吸扩张和在足够大的拉伸下回牵,气道平滑肌对气道施加的收缩力和长度作用就会降低,拉伸越大,所产生的肌肉软化和变长效应也越大^[68-71]。然而,在收缩后,气道平滑肌变硬,其迟滞性也减小,反映出气道平滑肌更趋向稳定的弹性体,就像柔软的材料被渐渐冻僵。更有甚者,气道平滑肌在被激活时缩短并且能适应缩短后的长度^[20,61,62,72,73]。如果这与收缩速度、CSK 重组和肌原蛋白轻链激酶 (MLCK) 表达量等^[44,45,74]一起发生,将会使气道平滑肌变得既收缩迅速,又难以松弛。

5 气道平滑肌细胞骨架的软玻璃态动力学行为

近年来,光学磁力扭转细胞测量技术 (OMTC) 被用于气道平滑肌细胞骨架动力学研究^[39,75-77]。OMTC 利用不同频率 (f) 下周期振荡的磁力 $T(f)$, 扭转紧密黏附在细胞骨架肌动蛋白上直径约 4.5 微米的磁性微珠,并在显微镜下通过 CCD 镜头跟踪记录磁珠在周期振荡扭转运动过程中的移位 $D(f)$, 然后,通过

$$G(f) = T(f)/D(f) = G'(f) + jG''(f)$$

计算出反映细胞骨架动力学特征的复模量,其中复

模量的实部 G' 和虚部 G'' 分别代表细胞的弹性或硬度与细胞的黏滞损失, j 为虚数单位 ($j^2 = -1$)。

研究发现,气道平滑肌细胞表现出显著的无尺度流变行为特性。如图 5 所示,在新鲜分离的气道平滑肌细胞中测得的复模量在两个频率区间内随加载频率的两个不同幂函数而增长。在 0.1 ~ 100 Hz 频率范围内, $G' \propto f^\alpha$, 即,细胞硬度与频率的 α 幂次方成正比,而没有明显的特征时间尺度, α 是一个受包括细胞类型、细胞激活状态等影响的变量。对新鲜分离和松弛状态的气道平滑肌细胞, α 为 0.05 左右;而传代培养的气道平滑肌细胞的 α 值一般在 0.1 ~ 0.3 之间,远高于新鲜分离细胞中的测量值。当 $f > 100$ Hz 时,细胞硬度依然与频率幂次方成正比,但幂值恒定为 0.75^[78]。

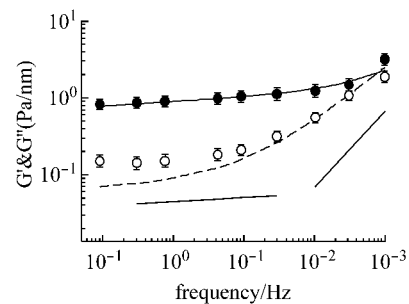


图5 新鲜分离的气道平滑肌细胞在不同加载频率下所测 G' (实心圆) 和 G'' (空心圆) 的对数中间值, 以及对其拟合所得幂率流变学规律 (实线和虚线分别为 G' , G'' 的拟合曲线) 引自 Deng 等^[78]。

Fig.5 Log-median values of G' (closed circle) and G'' (open circle) measured in freshly dissociated airway smooth muscle cells versus loading frequency. The solid line indicates power-law fitting with two frequency regimes from Deng *et al.*^[78].

气道平滑肌细胞的另一个具有代表性的动力学行为是细胞的物理老化和再新。这一行为可以通过测量黏附在细胞表面的微珠的自发运动规律反映出来。如图 6 所示,黏附在细胞表面的微珠通过细胞膜上的整合素受体与细胞骨架紧密连接。因此,当细胞骨架发生自发运动时,黏附在细胞表面的微珠也会发生相应的位移,并且其平均移位平方值 (MSD) 随观测时间 t (s) 的延长而增加。同时,MSD 也会受每次开始测量前等待时间 t_w 的影响。等待时间越长,在同样长的观测时间内,细胞表面微珠的平均位移幅度越小。这反映出细胞骨架的重构活动

随时间的推移而减慢,也就是细胞具有所谓的物理性老化的特性。这种物理性老化过程可以用大幅度拉伸使其逆转,即所谓细胞的物理性再新。

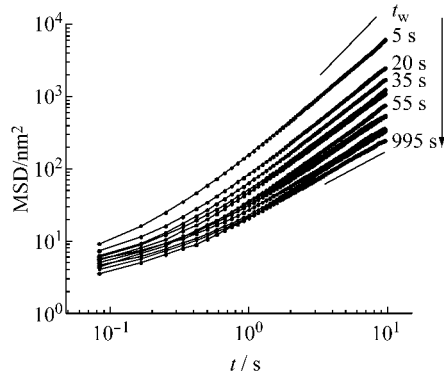


图6 气道平滑肌细胞表面黏附微粒自发运动的平均位移平方值(MSD)随时间 t (s)的变化关系

Fig.6 Mean square displacement (MSD) of microbeads attached to airway smooth muscle cells versus observation time, t (s). t_w is the waiting time at which observation begins after each large stretch.

图5和图6所示的无尺度流变行为、物理老化行为和再新能力是在气道平滑肌细胞中观察到的一系列新颖动力学行为中最具代表性的。传统细胞生物力学的理论框架无法解释这些细胞物理特性。但令人感兴趣的是,这些细胞动力学行为与许多惰性柔软物质,如泡沫和胶体等的动力学行为有着惊人的相似性。而这些惰性柔软物质的物理行为大多数情况下需要采用非平衡态物理学的理论框架和工具给予解释。这提示我们从现代非平衡态物理学的角度研究气道平滑肌细胞的动力学,特别是惰性柔软物质的软玻璃态流变学观点,将气道平滑肌细胞骨架视为高度动态、非常拥挤和不遵循传统平衡态热力学的系统。在大部分生理频率范围内,对细胞物理行为起主导作用的是软玻璃态动力学。只有在高于生理阈值的高频范围内,细胞骨架才表现为传统的半柔软的纤维系统,并受热驱动的经典动力学所主导。基于这种观点,我们有可能对气道病理生理学中一些最基本的现象得出新颖有效的解释^[72,79]。

6 总结

哮喘病是一种古老但日益威胁人类生命健康的疾病。摆在我们面前的难题是:我们并不充分地了

解哮喘病的病理机制。作为最后的共同通路,或者说是气道收缩的最终因素,气道平滑肌在决定哮喘病的严重性以及治疗的有效性上起到至关重要的作用。但我们仍然远不能破译气道平滑肌组织的精密结构及其与功能的相互关系。这导致许多有关哮喘病的基础问题长期悬而不解,比如气道高反应性的来源和在哮喘病中DI有益作用的丧失等。尽管如此,本文所介绍的一些新的研究发现也许可给我们以新的启迪,并有望以此为起点为解决这些问题找到更好的途径。从收缩纤维的结构构造,细胞力学,气道功能,到生物材料动力学所遵循的物理学定律,对气道平滑肌进行多尺度的广泛研究则是获得有关答案的最有希望的地方和手段。

参考文献:

- [1] American Lung Association. Epidemiology and Statistics Unit Research and Scientific Affairs[R]. Trends in Asthma Morbidity and Mortality,2004.
- [2] Statistics Canada[R]. CANSIM table. 2002. p105-0001.
- [3] Crimi E. Dissociation between Airway Inflammation and Airway Hyperresponsiveness in Allergic Asthma[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1998,157(1):4-9.
- [4] Fredberg JJ. Counterpoint: Airway smooth muscle is not useful[J]. J Appl Physiol, 2007, 102(4): 1709-1710.
- [5] Mead J. Point: Airway smooth muscle is useful[J]. J Appl Physiol, 2007. 102(4): 1708-1709.
- [6] Mitzner W. Airway Smooth Muscle: The Appendix of the Lung[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2004,169(7): 787-790.
- [7] Chen CS, Ostuni E, Whiteside GM, *et al.* Using self-assembled monolayers to pattern ECM proteins and cells on substrates[J]. Methods Mol Biol, 2000, 139: 209-19.
- [8] Chien S. Role of shear stress direction in endothelial mechanotransduction[J]. Mol Cell Biomech, 2008, 5(1): 1-8.
- [9] Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, *et al.* Matrix elasticity directs stem cell lineage specification[J]. Cell, 2006, 126(4): 677-89.
- [10] Ingber DE. Cancer as a disease of epithelial-mesenchymal interactions and extracellular matrix regulation[J]. Differentiation, 2002, 70(9-10): 547-60.
- [11] Maksym GN, Deng L, Fairbank NJ, *et al.*, Beneficial and harmful effects of oscillatory mechanical strain on airway smooth muscle[J]. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 2005, 83(10): 913-922.

- [12] North AJ, Gimona M, Lando Z, *et al.*, Actin isoform compartments in chicken gizzard smooth muscle cells [J]. *J Cell Sci*, 1994, 107(3): 445-455.
- [13] Small J, Gimona M. The cytoskeleton of the vertebrate smooth muscle cell [J]. *Acta Physiol Scand*, 1998, 164: 341-348.
- [14] Craig R, Megerman J. Assembly of smooth muscle myosin into side-polar filaments [J]. *J Cell Biol*, 1977, 75(3): 990-996.
- [15] Craig R, Woodhead JL. Structure and function of myosin filaments [J]. *Current Opinion in Structural Biology Theory and simulation/Macromolecular assemblages*-Joel Janin and Michael Levitt/Edward H Egelman and Andrew GW Leslie, 2006, 16(2): 204-212.
- [16] XU JQ, Harder BA, Vman P, *et al.*, Myosin filament structure in vertebrate smooth muscle [J]. *J Cell Biol*, 1996, 134(1): 53-66.
- [17] Lowy J, Hanson J. Ultrastructure of invertebrate smooth muscles [J]. *Physiol Rev*, 1962, 5(Suppl.): 34-47.
- [18] Geiger B, Dutton AH, Tokuyasu KT, *et al.*, Immunoelectron microscope studies of membrane-microfilament interactions: distributions of alpha-actinin, tropomyosin, and vinculin in intestinal epithelial brush border and chicken gizzard smooth muscle cells [J]. *J Cell Biol*, 1981, 91(3): 614-628.
- [19] Bai TR, Cooper J, Koelmeyer T, *et al.*, The effect of age and duration of disease on airway structure in fatal asthma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 162(2 Pt 1): 663-9.
- [20] Pratushevich V, Seow C, Ford L. Plasticity in canine airway smooth muscle [J]. *J Gen Physiol*, 1995, 105(1): 73-94.
- [21] Kuo KH, Wang L, Paré PD, *et al.*, Myosin thick filament lability induced by mechanical strain in airway smooth muscle [J]. *J Appl Physiol*, 2001, 90: 1811.
- [22] Bosse, Y., *et al.*, Length Adaptation of Airway Smooth Muscle [J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2008, 5(1): 62-67.
- [23] Herrera AM, Martinez EC, Seow CY. Electron microscopic study of actin polymerization in airway smooth muscle [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 286(6): L1161-1168.
- [24] Gunst SJ. Effect of length history on contractile behavior of canine tracheal smooth muscle [J]. *Am J Physiol*, 1986, 250: C146-154.
- [25] Gunst SJ, Tang DD. The contractile apparatus and mechanical properties of airway smooth muscle [J]. *Eur Respir J*, 2000, 15(3): 600-16.
- [26] Gunst SJ, Meiss RA, Wu MF, *et al.*, Mechanisms for the mechanical plasticity of tracheal smooth muscle [J]. *Am J Physiol*, 1995, 268: C1267-C1276.
- [27] Oazo SA, *et al.*, Tension development during contractile stimulation of smooth muscle requires recruitment of axillin and vinculin to the membrane [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 286(2): C433-447.
- [28] Herrera AM, Brent EM, Bienkowska A, *et al.*, 'Sarcomeres' of smooth muscle: functional characteristics and ultrastructural evidence [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118(11): 2381-2392.
- [29] Zhang W, Gunst SJ. Dynamic association between {alpha}-actinin and {beta}-integrin regulates contraction of canine tracheal smooth muscle [J]. *J Physiol*, 2006, 572(3): 659-676.
- [30] Wang L, Paré D, Seow CY. Selected contribution: Effect of chronic passive length change on airway smooth muscle length-tension relationship [J]. *J Appl. Physiol*, 2001, 90(2): 734-40.
- [31] Silberstein J, Hai CM. Dynamics of length-force relations in airway smooth muscle [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2002, 132(2): 205-21.
- [32] Kuo H K, Ana MH, Wang L, *et al.*, Structure-function correlation in airway smooth muscle adapted to different lengths [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2003, 285: C384-90.
- [33] Seow CY. Myosin filament assembly in an ever-changing myofibrillar lattice of smooth muscle [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2005, 289(6): C1363-8.
- [34] Smolensky AV, Ragozzino J, Gilbert SH, *et al.*, Length-dependent filament formation assessed from birefringence increases during activation of oricine tracheal muscle [J]. *J Physiol*, 2005, 563(t 2): 517-27.
- [35] Uvelius B. Isometric and isotonic length-tension relations and variations in cell length in longitudinal smooth muscle from rabbit urinary bladder [J]. *Acta Physiol Scand*, 1976, 97(1): 1-12.
- [36] Smolensky AV, Ford LE. The extensive length-force relationship of oricine airway smooth muscle [J]. *J Appl. Physiol.*, 2007, 102(5): 1906-1911.
- [37] McParland BE, Tait RR, Paré PD, *et al.*, The role of airway smooth muscle during an attack of asthma simulated in vitro [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2005, 33(5): 500-504.
- [38] Fredberg JJ, Kamm RD. Stress transmission in the lung: pathways from organ to molecule [J]. *Annu Rev Physiol*, 2006, 68: 507-41.
- [39] Deng L, Fairbank NJ, Fabry B, *et al.* Localized mechanical stress induces time-dependent actin cytoskeletal remodeling and stiffening in cultured airway smooth muscle cells [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2004, 287(2): C440-448.
- [40] Hirshman CA, Emala CW. Actin reorganization in airway smooth muscle cells involves Gq and Gi-2 activation of

- Rho[J]. *Am J Physiol*, 1999, 277(3 t 1): L653-61.
- [41] Mehta D, Gunst SJ. Actin Polymerization stimulated by contractile activation regulates force development in canine tracheal smooth muscle[J]. *J Physiol*, 1999, 519(t3): 829-840.
- [42] Smith PG, Roy C, Fisher S, *et al.*, Selected contribution: mechanical strain increases force reduction and calcium sensitivity in cultured airway smooth muscle cells[J]. *J Appl. Physiol.*, 2000, 89(5): 2092-2098.
- [43] Smith G, Tokui T, Ikebe M. Mechanical strain increases contractile enzyme activity in cultured airway smooth muscle cells[J]. *Am J Physiol*, 1995, 268(6 t 1): L999-1005.
- [44] Smith G, Moreno R, Ikebe M. Strain increases airway smooth muscle contractile and cytoskeletal proteins in vitro[J]. *Am J Physiol*, 1997, 272(1 t 1): L20-7.
- [45] Smith PG, Roy C, Dreger J, *et al.*, Mechanical strain increases velocity and extent of shortening in cultured airway smooth muscle cells[J]. *Am J Physiol*, 1999, 277: L343-8.
- [46] Smith PG, Deng L, Fredberg JJ, *et al.*, Mechanical strain increases cell stiffness through cytoskeletal filament reorganization[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2003, 285(2): L456-63.
- [47] Tran MU, Weir AJ, Fanucchi MV, *et al.*, Smooth muscle hypertrophy in distal airways of sensitized infant rhesus monkeys exposed to house dust mite allergen[J]. *Clin Ex Allergy*, 2004, 34(10): 1627-33.
- [48] An SS, Bai TR, Bates JH, *et al.*, Airway smooth muscle dynamics: a common pathway of airway obstruction in asthma[J]. *Eur Respir J*, 2007, 29(5): 834-860.
- [49] Ma X, Cheng Z, Kong H, *et al.*, Changes in biophysical and biochemical properties of single bronchial smooth muscle cells from asthmatic subjects[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 283(6): L1181-9.
- [50] Maksym GN, Deng L, Fairbank NJ, *et al.*, Beneficial and harmful effects of oscillatory mechanical strain on airway smooth muscle[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2005, 83(10): 913-22.
- [51] Wang L, Liu HW, McNeill KD, *et al.*, Mechanical strain inhibits airway smooth muscle gene transcription via protein kinase C signaling. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2004, 31(1): 54-61.
- [52] NIH National Heart Lung and Blood Institute, and World Health Organization, Global initiative for asthma, global strategy for asthma management and prevention [R]. 2002: NIH publication No 02-3659.
- [53] Hubmayr RD, Shore SA, Fredberg JJ, *et al.*, Pharmacological activation changes stiffness of cultured human airway smooth muscle cells[J]. *Am J Physiol*, 1996, 271(5 t 1): C1660-8.
- [54] Maksym GN, Fabry B, Butler JP, *et al.*, Mechanical properties of cultured human airway smooth muscle cells from 0.05 to 0.4 Hz[J]. *J Appl. Physiol.*, 2000, 89(4): 1619-32.
- [55] Shore SA, Laporte J, Hall IP, *et al.*, Effect of IL-1 beta on responses of cultured human airway smooth muscle cells to bronchodilator agonists[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1997, 16(6): 702-12.
- [56] Pellegrino R, Wilson O, Jenouri G, *et al.*, Lung mechanics during induced bronchoconstriction[J]. *J AI Physiol*, 1996, 81(2): 964-975.
- [57] Salter, H.H., *On asthma: its pathology and treatment*[M]. 1860, London: Churchill. XII, 372.
- [58] Kapsali T, Permutt S, Laube B, *et al.*, potent bronchoprotective effect of deep inspiration and its absence in asthma[J]. *J Appl. Physiol.*, 2000, 89(2): 711-20.
- [59] Fredberg JJ, Inouye DS, Mijailovich SM, *et al.*, Perturbed equilibrium of myosin binding in airway smooth muscle and its implications in bronchospasm[J]. *Am J Respir and Crit Care Med*, 1999, 159: 1-9.
- [60] Pellegrino, R., B. Violante, and V. Brusasco, Maximal bronchoconstriction in humans. Relationship to deep inhalation and airway sensitivity[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1996, 153(1): 115-21.
- [61] Salome CM, Thorpe CW, Diba C, *et al.*, Airway re-narrowing following deep inspiration in asthmatic and non-asthmatic subjects[J]. *Eur Respir J*, 2003, 22(1): 62-8.
- [62] Skloot, G. and A. Toghiani, Bronchodilation and bronchoprotection by deep inspiration and their relationship to bronchial hyperresponsiveness[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2003, 24(1): 55-72.
- [63] Lim T, Ride N, Ingram RJ. Effects of volume history during spontaneous and acutely induced air-flow obstruction in asthma[J]. *Am Rev Respir Dis*, 1987, 135: 591-596.
- [64] Fredberg JJ, Inouye D, Miller B, *et al.*, Airway smooth muscle, tidal stretches, and dynamically determined contractile states[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997, 156: 1752-1759.
- [65] Gunst SJ. Contractile force of canine airway smooth muscle during cyclical length changes[J]. *J Appl. Physiol.*, 1983, 55(3): 759-769.
- [66] Gunst SJ, Strop JQ, Service J. Mechanical modulation of pressure-volume characteristics of contracted canine airways in vitro[J]. *J Appl. Physiol.*, 1990, 68(5): 2223-9.
- [67] Sasaki H, Hopin FG. Hysteresis of contracted airway smooth muscle[J]. *J Appl. Physiol.*, 1979, 47(6): 1251-62.