

文章编号:1004-7220(2015)02-0185-07

· 综 述 ·

# 剪切力条件下血管内皮细胞与平滑肌细胞的相互作用

任长辉, 刘肖, 康红艳, 邓小燕

(北京航空航天大学 生物与医学工程学院, 生物力学与力生物学教育部重点实验室, 北京 100191)

**摘要:** 血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)与平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMCs)是血管壁的主要细胞,它们之间的相互作用在维持血管正常的生理功能以及心血管疾病的发生发展过程中至关重要。为真实模拟 ECs 与 SMCs 体内条件下的位置关系与生长状态,人们建立了多种共培养系统。介绍当前几种常用的能够加载流动剪切力的共培养系统,并分别比较其优势与不足;简要总结剪切力条件下 ECs 与 SMCs 相互作用对 ECs 与 SMCs 表型与分布、SMCs 生长与迁移、ECs 表面相关黏附分子表达的影响。研究表明,一氧化氮(NO)、细胞因子、microRNA 等可以作为信号分子介导 ECs 与 SMCs 之间的相互作用。

**关键词:** 内皮细胞;平滑肌细胞;细胞培养;相互作用;剪切力

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.3871/j.1004-7220.2015.02.185

## Interactions between vascular endothelial cells and smooth muscle cells under shear stress

REN Chang-hui, LIU Xiao, KANG Hong-yan, DENG Xiao-yan (*Key Laboratory for Biomechanics and Mechanobiology of Ministry of Education, School of Biological Science and Medical Engineering, Beihang University, Beijing 100191, China*)

**Abstract:** Endothelial cells (ECs) and smooth muscle cells (SMCs) are the most crucial components of the vascular wall, and the interactions between them are essential for the maintenance of normal vascular physiology, as well as the initiation and development of cardiovascular diseases. Various typical co-culture models have been developed to simulate the location and growth situation of ECs and SMCs *in vivo*. In this review, the co-culture systems combined with the device applying fluid shear stress were introduced with discussion on the strengths and limitations of each system. The influences of ECs-SMCs interaction on the phenotype and alignment of ECs and SMCs, growth and migration of SMCs, and adhesion molecules expression of ECs under shear stress were briefly reviewed. The established evidence indicates that nitric oxide (NO), cytokines and microRNA are the most important signal molecules mediating the interactions between ECs and SMCs.

**Key words:** Endothelial cells (ECs); Smooth muscle cells (SMCs); Cell culture; Interaction; Shear stress

心血管系统疾病是威胁人类生命健康的头号杀手,其患病率和死亡率均居各类疾病之首。据统计,全球每年因心血管系统疾病死亡人数占疾病致死总人数的30.4%,且呈逐年上升趋势。因此,通过研

究心血管疾病的发病机理寻求有效的治疗手段,已经成为当前生命科学领域研究的热点课题。

心血管疾病又称为循环系统疾病,主要包括高血压、血管瘤、血管栓塞、内膜增生、动脉粥样硬化

收稿日期:2014-04-01;修回日期:2014-04-25

基金项目:国家自然科学基金项目(11332003,31170904),北京市优秀博士学位论文专项资金资助项目(20131000601)。

通信作者:邓小燕,教授,博士研究生导师, E-mail: dengxy1953@buaa.edu.cn;刘肖,讲师, E-mail: liuxiao@buaa.edu.cn。

等<sup>[1]</sup>。心血管疾病有着共同的病理学基础和相似的病理过程,表现为血管壁细胞迁移、肥大、增殖、凋亡等,而且伴随细胞表型、形态结构与功能的改变<sup>[2]</sup>。因此,深入研究血管壁细胞在心血管疾病发生发展过程中生理生化特性的改变,成为揭示心血管疾病发病机理的关键。

血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)与平滑肌细胞(smooth muscle cells, SMCs)是血管壁最重要的细胞成分,在血管的生理病理活动中扮演极为重要的角色。它们之间的相互作用不仅与血管的生长发育、功能形成等生理过程密切相关,还与心血管疾病的发生发展密切相关,例如内膜增生<sup>[3]</sup>、动脉粥样硬化<sup>[4]</sup>。ECs与SMCs不仅能够通过分泌细胞因子相互影响,细胞之间还会通过基底膜或内弹性层上的窗孔样结构形成缝隙连接<sup>[5]</sup>。因此,人们在体外建立了ECs与SMCs共培养的系统,尽可能真实地模拟体内条件下ECs与SMCs的生长状态,从而更好地研究它们之间的相互作用。

血流动力学因素是心血管疾病发生发展中的另一个重要因素。心血管系统可以视为一个以心脏为中心的力学系统,血液循环过程中不断地对血管壁施加力学刺激。正常生理范围内的力学刺激,有助于维持血管稳态;非正常的力学刺激,则会导致心血

管疾病的发生。血液流动产生的壁面剪切力能够影响ECs的生物学功能,进而调控ECs与SMCs之间的相互作用,最终影响血管壁生理功能的稳定。

本文主要包括以下3个部分:首先,回顾ECs与SMCs共培养系统的发展历程,重点介绍3种能够加载流动剪切力的系统,并分别比较它们的优势与不足;然后,总结一些前人开展的关于剪切力条件下ECs与SMCs相互作用的研究成果;最后,简要介绍引导ECs与SMCs相互作用的3类信号分子:一氧化氮(NO)、细胞因子、微小核糖核酸(microRNA)。

## 1 ECs与SMCs共培养系统的发展

为尽可能真实地模拟体内条件下ECs与SMCs的位置关系及其相互作用,人们先后建立了多种共培养系统。到目前为止,有报道的共培养系统大致有以下几种:混合培养系统、胶原凝胶共培养系统、毛细管共培养系统、微载体共培养系统、Transwell共培养系统、平行平板流动腔共培养系统和微流控芯片(见图1)。其中,毛细管共培养系统、平行平板流动腔共培养系统和微流控芯片结合流动加载装置,能够模拟体内的血流环境,从而广泛地用于细胞生物力学的研究。

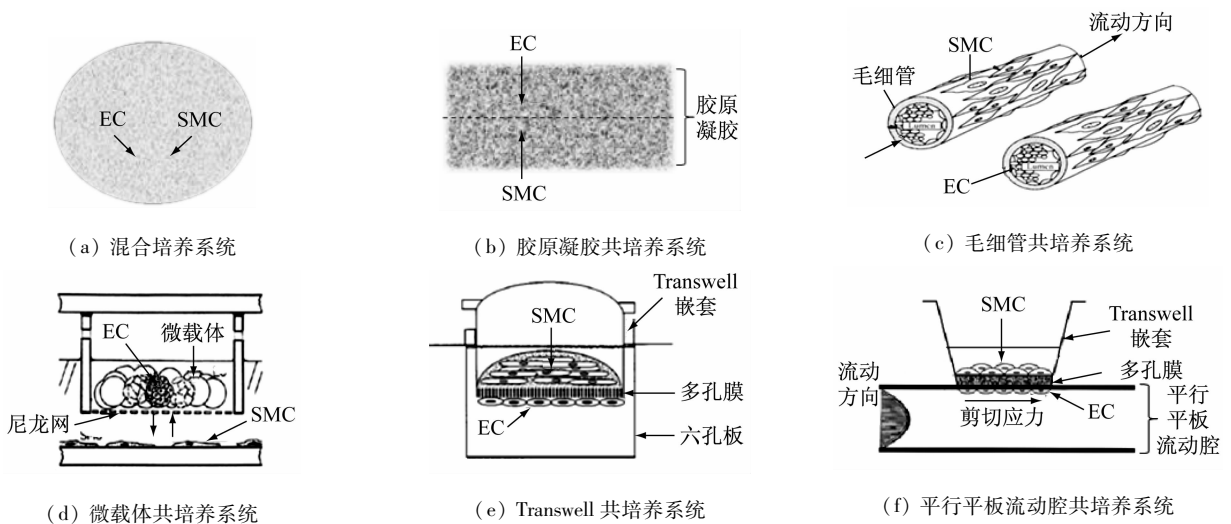


图1 共培养系统示意图

Fig.1 Schematic diagrams of the co-culture systems (a) Mixed co-culture system, (b) Collagen gel co-culture system, (c) Capillary co-culture system, (d) Microcarrier co-culture system, (e) Transwell co-culture system, (f) Parallel plate flow chamber co-culture system

### 1.1 毛细管共培养系统

为模拟血管的分层结构,Redmond 等<sup>[6]</sup>建立聚丙烯毛细管共培养系统。SMCs 接种在毛细管外侧,ECs 接种在管腔内侧。培养基通过循环管路灌注到毛细管中,并对内侧的 ECs 施加剪切力。

毛细管共培养系统不仅能够更加真实地模拟 ECs 与 SMCs 在体条件下的分层结构,还能够向毛细管中灌注培养基,从而模拟体内的血流环境。但是,该系统仍然存在两点不足:①毛细管壁厚度为 150  $\mu\text{m}$ ,远远大于动脉中内弹性膜的厚度,故细胞间的旁分泌作用不显著,且无法形成直接的物理接触;②ECs 与 SMCs 难以分离开来,实验完成后无法进行单独分析。

### 1.2 平行平板流动腔共培养系统

为模拟体内血流环境,丛兴忠等<sup>[7]</sup>将 Transwell 共培养系统嵌入平行平板流动腔系统中,构建平行平板流动腔共培养系统。ECs 接种在膜下侧,SMCs 接种在膜上侧。培养基沿着平行平板流动腔的管路循环流动,流经 Transwell 时对膜下侧的 ECs 施加剪切力。

平行平板流动腔共培养系统不仅能够通过培养基灌注模拟体内的血流环境,还具有许多优点:①SMCs 与 ECs 分别接种在膜的上下表面,能够很好模拟体内条件下两种细胞的分层结构与位置关系;②膜的厚度只有 10  $\mu\text{m}$ ,即 ECs 与 SMCs 之间的距离非常近,允许细胞之间形成直接的物理接触,且中间代谢产物的局部浓度也较高,旁分泌作用效果显著;③实验完成后,可以将 ECs、SMCs 分离开来单独研究。

### 1.3 微流控芯片

近些年来,随着组织工程的蓬勃发展,人们对细胞之间相互作用的研究也更加深入。然而,传统的共培养系统存在两点致命的缺陷:①无法真实地模拟体内的空间尺寸;②无法模拟细胞因子释放过程中形成的浓度梯度。因此,人们将微加工技术应用到生物学领域,开发出微流控芯片技术<sup>[8]</sup>。

微流控芯片采用光刻或软光刻等微加工技术,将多条  $\mu\text{m}$  级流体通道或网络刻划在一小块芯片上。因此,微流控芯片可用来模拟人体中微小血管的生理环境。此外,微流控芯片还有很多优点,包括:①尺寸达  $\mu\text{m}$  级,可真实模拟体内的空间尺寸;

②利用多通道可以模拟细胞因子释放过程中形成的浓度梯度;③样本和试剂消耗很少,经济节约;④可实现细胞的三维培养。因此,微流控芯片技术将打破人们对于传统共培养系统的认识,广泛地应用于组织工程与人体微循环系统的研究。

## 2 剪切力条件下 ECs 与 SMCs 的相互作用

ECs 与 SMCs 是血管壁最主要的细胞成分,它们之间的相互作用对于维持血管壁生理功能的稳定具有重要的意义。ECs 覆盖于血管内表面,直接感受血液流动产生的剪切力。通过 DNA 微阵列分析发现,剪切力能够影响 ECs 中 3% 的基因表达<sup>[9]</sup>。当 ECs 受到剪切力刺激后,会通过一系列复杂的高度有序的信号级联反应将力学刺激转化为细胞内化学信号,并通过分泌多种细胞因子影响 SMCs 的生理功能。因此,剪切力能够影响 ECs 与 SMCs 的相互作用,从而影响血管壁的生理功能。

### 2.1 剪切力条件下 ECs、SMCs 的表型与分布

剪切力是决定 ECs 形状和排列取向的主要因素。体内研究发现,在血液流动较快且呈单向流动的区域,ECs 呈长梭形,且长轴平行于血流方向排列;在血流受到扰动或停滞的区域,ECs 呈卵圆形,且无特定方向性。体外研究发现,静态培养的 ECs 呈卵圆形,排列无方向性;对 ECs 施加剪切力,ECs 会伸长,并通过细胞运动使得长轴平行于流动方向<sup>[10]</sup>。

剪切力可调控 SMCs 的表型转化和排列取向。体内研究发现,在健康动脉中,SMCs 为收缩型,且垂直于血流方向排列。体外研究发现,在静态条件下,共培养系统中的 SMCs 均匀分布,且有转化为合成型的趋势;对 ECs 加载剪切力 24 h 后,SMCs 可保持收缩型,且垂直于流动方向排列<sup>[11]</sup>。

细胞表型转化与排列方式的改变,究其原因是细胞骨架的重塑。剪切力作用于细胞后,细胞会释放血小板衍生生长因子(PDGF)、转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ )、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、血管内皮生长因子(VEGF),并通过自分泌和旁分泌途径激活细胞骨架相关的信号事件,最终引起细胞内微丝、微管的解聚与重新排布<sup>[12]</sup>。

### 2.2 剪切力条件下 SMCs 的生长与迁移

在成熟的血管中,SMCs 的作用是维持血管张

力,几乎不表现增殖活性。但是当血管内皮受到损伤后,SMCs 会大量增殖;而当内皮损伤修复后,SMCs 又恢复到静默状态,不再表现增殖活性<sup>[13]</sup>。在体外通过共培养研究发现,ECs 在调控 SMCs 增殖中有双重作用,给 ECs 加载流动剪切力可以减少 SMCs 的增殖<sup>[14]</sup>。以上生理现象提示,剪切力能够通过 ECs 调控 SMCs 的增殖。

大量研究表明,ECs 能够合成多种细胞因子,调控 SMCs 的增殖。如 PDGF、bFGF、白介素 1(IL-1)、肝素结合性内皮生长因子(HB-EGF)、胰岛素样生长因子(IGF-1)起正调控作用,TGF- $\beta$ 、肝素/硫酸乙酰肝素起负调控作用<sup>[15]</sup>。在健康状态下,这些细胞因子相互平衡,从而调控 SMCs 处于静默状态;但是在病理状态下,这些细胞因子会失衡,导致 SMCs 大量增殖。

SMCs 从血管中膜向内膜迁移,在许多血管类疾病中起着非常关键的作用。大量研究表明,非正常的低壁面剪切力能够促进 SMCs 的增殖与迁移,而正常生理值的壁面剪切力能够很好抑制 SMCs 迁移<sup>[16]</sup>。王汉琴等<sup>[17]</sup>通过共培养研究发现,在静态条件下,共培养的 ECs 能够增强 SMCs 黏附和伸展,从而促进 SMCs 迁移;对 ECs 加载正常生理值的剪切力,则可以完全抑制上述过程<sup>[18]</sup>。以上研究结果表明,血流动力学因素与 ECs 的完整性对于维持血管正常的生理机能非常重要。

在体内正常脉动流条件下,剪切力相对较高。剪切力下调细胞外调节蛋白激酶(ERK1/2)与丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(AKT)表达,进而下调血小板衍生生长因子受体(PDGFR)与转化生长因子(TGF)表达,抑制 SMCs 增殖;下调基质金属蛋白酶(MMP)表达,抑制 SMCs 迁移;增加 NO 产生,促进 SMCs 凋亡。在血流受到扰动条件下,剪切力相对较低。剪切力上调 ERK1/2 与 AKT 表达,进而上调 PDGFR 与 TGF 表达,促进 SMCs 增殖;上调 MMP 表达,促进 SMCs 迁移;减少 NO 产生,抑制 SMCs 凋亡<sup>[19]</sup>。

### 2.3 剪切力条件下 ECs 表面黏附分子的表达

在动脉粥样硬化病变的初始阶段,单核细胞黏附于血管内皮细胞、并迁入内皮摄取脂质转化为泡

沫细胞。研究发现,SMCs 能够调控流动中的白细胞在 ECs 表面的黏附<sup>[20]</sup>。SMCs 使得 ECs 对肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 的敏感性增强,其浓度阈值下降 1 000 倍;ECs 表面捕获白细胞的主要黏附分子,也由 P 选择素转变为 E 选择素<sup>[21]</sup>。Chiu 等<sup>[22]</sup>利用平行平板流动腔共培养系统发现,SMCs 能够促进 ECs 表面相关黏附分子的表达,如细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)、E 选择素,剪切应力能够显著抑制 SMCs 诱导的黏附分子基因表达。

ECs 能够通过激活内皮型一氧化氮合酶(eNOS)产生 NO,NO 是一种松弛因子,具有扩张血管的作用。研究表明,NO 还能够抑制 ECs 中许多病理生理相关的基因表达,比如早期生长反应基因-1(Egr-1)、ICAM-1、VCAM-1 等。在共培养条件下,SMCs 能够抑制 ECs 中 eNOS 的表达,使得 ECs 中 NO 维持在较低浓度;而流动剪切力能够激活 ECs 中 eNOS,并上调它的基因表达,从而促进 ECs 产生更多 NO。

## 3 ECs 与 SMCs 相互作用的分子机制

ECs 与 SMCs 之间的相互作用在维持血管壁功能稳定方面具有重要作用。体内条件下,ECs 与 SMCs 之间的相互作用方式主要有 2 种:①旁分泌机制,即一种细胞释放的活性物质,被另一种细胞识别,从而引发细胞内的化学变化;②细胞连接,即小分子量的离子或代谢物通过细胞膜上的缝隙连接蛋白,在两种细胞间进行信息传递。ECs 位于血管壁内侧,直接受到血流产生的剪切力的刺激。因此,流动剪切力能够作用于 ECs,影响 ECs 与 SMCs 的相互作用,从而影响血管壁生理功能的稳定。研究发现,有许多信号分子参与这一调控过程,其中既包括 NO 这样的小分子,也包括 PDGF、TGF 这样的大分子;最近研究还发现,microRNA 也参与介导了这一过程。

### 3.1 NO 途径

NO 是细胞内源性产生的一种信号分子,在许多生理病理过程中起着非常重要的作用,比如血管扩张、神经传递、免疫调节、心脏收缩等<sup>[23]</sup>。在生物

体内,NO的半衰期很短,只有5~10 s,但NO极易扩散,可迅速作用于临近的靶细胞,完成细胞通讯。ECs通过eNOS催化L-精氨酸产生NO。

研究表明,剪切力能够激活eNOS,并上调它的基因表达,从而促进ECs产生更多NO<sup>[24]</sup>。NO能够激活鸟苷酸环化酶(GC),促使细胞产生更多环磷鸟苷(cGMP)。cGMP是第2信使,能够激活细胞内的蛋白激酶、调控离子通道、舒张平滑肌细胞、调控细胞凋亡等<sup>[25]</sup>。研究发现,在心血管系统中,NO能够起到多重保护作用,其中包括:①NO抑制SMCs增殖与迁移;②NO促进ECs增殖和迁移,抑制ECs凋亡;③NO抑制血小板聚集;④NO抑制血小板、白细胞和单核细胞在内皮上的黏附;⑤NO抑制血管损伤后的内膜增生<sup>[26]</sup>。

### 3.2 细胞因子等大分子蛋白

剪切力能够调控ECs分泌多种细胞因子,比如内皮素-1(ET-1)、血管紧张素II(Ang II)、PDGF-A、PDGF-BB、TGF- $\beta$ 等。正常生理值的层流剪切力能够促进ECs分泌前列环素(PGI<sub>2</sub>),激活SMCs中的过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha/\delta$ (PPAR- $\alpha/\delta$ ),从而诱导SMCs由合成型向收缩型转化,抑制SMCs生长,防止内膜增生<sup>[27]</sup>。异常高的脉动流能够增加ECs中血管紧张素转化酶(ACE)、ET-1和TGF- $\beta$ 1表达,导致肺动脉ECs功能紊乱,从而引起SMCs功能异常与表型转化<sup>[28]</sup>。

低剪切力能够促进ECs与SMCs的增殖与迁移,从而诱导血管重塑。低剪切力能够增加ECs通过旁分泌途径分泌的PDGF-BB、TGF- $\beta$ 1。其中,PDGF-BB能够上调SMCs中PDGF-BB和TGF- $\beta$ 1表达,而PDGF-BB和TGF- $\beta$ 1反过来又会作用于ECs,从而形成一个反馈环路。TGF- $\beta$ 1不参与调控SMCs的旁分泌,但会通过旁分泌或自分泌影响ECs自身的增殖与迁移<sup>[29]</sup>。

### 3.3 microRNA

microRNA(miRNA)是一种非编码的单链RNA分子,由22个核苷酸构成。miRNA是一种非常重要的基因表达的调控分子,它能够与mRNA中的靶序列结合,从而调控mRNA的水解,或抑制mRNA的翻译<sup>[30]</sup>。近年来研究发现,miRNA不仅存在于

细胞内,还存在于组织液、血浆以及其他体液中<sup>[31]</sup>。循环系统中miRNA浓度水平与活性与许多心血管疾病密切相关,比如急性心肌梗塞、心力衰竭和冠状动脉疾病<sup>[32]</sup>。因此,细胞外的miRNA可能对心血管疾病的诊断与治疗有非常重要的意义。

研究表明,miRNA能够进入临近的细胞中,改变这些细胞的基因表达,从而参与细胞间通讯与细胞间信号转导。例如,miRNA-126是ECs中大量表达的、调控血管发育和血管新生的重要物质<sup>[33]</sup>。ECs分泌的miRNA-126能够通过旁分泌效应,调控SMCs的基因表达与细胞功能;当ECs受到流动剪切力刺激后,这种调控效应会受到抑制。因此,剪切力能够调控miRNA的分泌与传输。例如,当血管壁受到损伤后,miRNA-21表达显著上调,从而促进血管内膜增生,修复血管损伤<sup>[34]</sup>。

## 4 总结与展望

ECs与SMCs是血管壁结构中最主要的两种细胞成分,它们之间的相互作用在维持血管稳态、以及一些心血管疾病的发生发展中起着非常重要的作用。通过在体外建立ECs与SMCs共培养系统,人们能够真实地模拟ECs与SMCs体内条件下的位置关系与生长状态,从而更好研究它们之间的相互作用,为揭示心血管疾病的发病机理提供更加有价值的信息。

此外,血流动力学因素是心血管疾病发生发展中的一个重要因素。在人体动脉树的不同位置,血管的几何尺寸不尽相同,血液流动形式及其产生的流动剪切力也不同。在血管直行处,血流逐渐发展成单向高速的层流,血管壁面剪切力相对较高,血管壁生理功能处于稳态;在血管分叉、弯曲、狭窄处,血流受到扰动,产生的壁面剪切力较低,剪切震荡指数较高,脂质等致病物质与血管壁相互作用时间较长,更多地渗入血管壁内,诱发血管平滑肌细胞增殖、迁移,进而导致局部动脉粥样硬化的发生。

那么,血管如何感知血流产生的剪切力及其变化呢?研究发现,细胞表面有许多力感受器,如整合素、黏着斑、细胞骨架、糖萼、小窝、G蛋白偶联受体等。血管内皮细胞覆盖于血管内表面,能够直接与

血流接触。它既是感应细胞又是效应细胞,不但能感受血液中的炎性信号、激素水平等化学刺激,而且能感受血液流动而产生的切应力、压力等机械刺激,还能通过分泌多种细胞因子影响其他细胞。因此,人们在内皮细胞与平滑肌细胞共培养的基础上,正在围绕内皮细胞的力传导及其信号通路开展相关研究,这对于揭示血流动力学因素影响血管生理病理的机制具有重要意义。

### 参考文献:

- [1] 姜宗来. 心血管生物力学研究的新进展[J]. 医用生物力学, 2010, 25(5): 313-315.  
 Jiang ZL. Recent advances in cardiovascular biomechanics [J]. J Med Biomech, 2010, 25(5): 313-315.
- [2] 姜宗来, 邓小燕. 心血管系统的发展趋势[J]. 透析与人工器官, 2011, 22(3): 32-46.
- [3] Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis [J]. Nature, 2011, 473(7347): 298-307.
- [4] Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis [J]. Nature, 2011, 473(7347): 317-325.
- [5] Segal SS, Bagher P. Regulation of myoendothelial junction formation bridging the gap [J]. Circ Res, 2010, 106(6): 1014-1016.
- [6] Redmond EM, Cahill PA, Sitzmann JV. Perfused transcapillary smooth muscle and endothelial cell co-culture-A novel in vitro model [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 1995, 31(8): 601-609.
- [7] 丛兴忠, 姜宗来. 用于内皮细胞与平滑肌细胞联合培养的流动腔系统[J]. 医用生物力学, 2001, 16(1): 1-5.  
 Cong XZ, Jiang ZL. A new flow chamber system for endothelial cells and smooth muscle cells co-culture model [J]. J Med Biomech, 2001, 16(1): 1-5.
- [8] Wong KH, Chan JM, Kamm RD, *et al.* Microfluidic models of vascular functions [J]. Annu Rev Biomed Eng, 2012, 14: 205-230.
- [9] Ohura N, Yamamoto K, Ichioka S, *et al.* Global analysis of shear stress-responsive genes in vascular endothelial cells [J]. J Atheroscler Thromb, 2003, 10(5): 304-313.
- [10] Ando J, Yamamoto K. Vascular mechanobiology: Endothelial cell responses to fluid shear stress [J]. Circ J, 2009, 73(11): 1983-1992.
- [11] Sakamoto N, Kiuchi T, Sato M. Development of an endothelial-smooth muscle cell coculture model using phenotype-controlled smooth muscle cells [J]. Ann Biomed Eng, 2011, 39(11): 2750-2758.
- [12] Lee AA, Karlon WJ, Graham DA, *et al.* Fluid shear stress-induced alignment of cultured vascular smooth muscle cells [J]. J Biomech Eng, 2002, 124(1): 37-43.
- [13] Thijssen DH, Green DJ, Hopman MT. Blood vessel remodeling and physical inactivity in humans [J]. J Appl Physiol, 2011, 111(6): 1836-1845.
- [14] Nackman GB, Fillinger MF, Shafritz R, *et al.* Flow modulates endothelial regulation of smooth muscle cell proliferation: A new model [J]. Surgery, 1998, 124(2): 353-361.
- [15] Hedin U, Roy J, Tran PK. Control of smooth muscle cell proliferation in vascular disease [J]. Curr Opin Lipidol, 2004, 15(5): 559-565.
- [16] Sakamoto N, Ohashi T, Sato M. Effect of fluid shear stress on migration of vascular smooth muscle cells in cocultured model [J]. Ann Biomedical Eng, 2006, 34(3): 408-415.
- [17] Wang HQ, Bai L, Shen BR, *et al.* Coculture with endothelial cells enhances vascular smooth muscle cell adhesion and spreading via activation of beta1-integrin and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt [J]. Euro J Cell Biol, 2007, 86(1): 51-62.
- [18] Wang HQ, Huang LX, Qu MJ, *et al.* Shear stress protects against endothelial regulation of vascular smooth muscle cell migration in a coculture system [J]. Endothelium, 2006, 13(3): 171-180.
- [19] Qiu J, Zheng Y, Hu J, *et al.* Biomechanical regulation of vascular smooth muscle cell functions: From in vitro to in vivo understanding [J]. J R Soc Interface, 2014, 11(90): 20130852.
- [20] Rainger G, Stone P, Morland CM, *et al.* A novel system for investigating the ability of smooth muscle cells and fibroblasts to regulate adhesion of flowing leukocytes to endothelial cells [J]. J Immunol Methods, 2001, 255(1): 73-82.
- [21] Rainger GE, Nash GB. Cellular pathology of atherosclerosis smooth muscle cells prime cocultured endothelial cells for enhanced leukocyte adhesion [J]. Circ Res, 2001, 88(6): 615-622.
- [22] Chiu JJ, Chen LJ, Lee PL, *et al.* Shear stress inhibits adhesion molecule expression in vascular endothelial cells induced by coculture with smooth muscle cells [J]. Blood, 2003, 101(7): 2667-2674.
- [23] Félétou M, Köhler R, Vanhoutte PM. Nitric oxide: Orchestrator of endothelium-dependent responses [J]. Ann Med, 2012, 44(7): 694-716.

- [24] Davis ME, Grumbach IM, Fukai T, *et al.* Shear stress regulates endothelial nitric-oxide synthase promoter activity through nuclear factor  $\kappa$ B binding [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(1): 163-168.
- [25] O'Sullivan S, Medina C, Ledwidge M, *et al.* Nitric oxide-matrix metalloproteinase-9 interactions: Biological and pharmacological significance: NO and MMP-9 interactions [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(3): 603-617.
- [26] Lei J, Vodovotz Y, Tzeng E, *et al.* Nitric oxide, a protective molecule in the cardiovascular system [J]. *Nitric Oxide*, 2013, 35: 175-185.
- [27] Tsai MC, Chen L, Zhou J, *et al.* Shear stress induces synthetic-to-contractile phenotypic modulation in smooth muscle cells via peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha/\delta$  activations by prostacyclin released by sheared endothelial cells [J]. *Circ Res*, 2009, 105(5): 471-480.
- [28] Scott D, Tan Y, Shandas R, *et al.* High pulsatility flow stimulates smooth muscle cell hypertrophy and contractile protein expression [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2013, 304(1): L70-81.
- [29] Qi YX, Jiang J, Jiang XH, *et al.* PDGF-BB and TGF- $\beta$ 1 on cross-talk between endothelial and smooth muscle cells in vascular remodeling induced by low shear stress [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(5): 1908-1913.
- [30] Bartel DP. MicroRNAs: Genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. *Cell*, 2004, 116(2): 281-297.
- [31] Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, *et al.* Characterization of extracellular circulating microRNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(16): 7223-7233.
- [32] Fichtlscherer S, Zeiher AM, Dimmeler S. Circulating microRNAs biomarkers or mediators of cardiovascular diseases [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(11): 2383-2390.
- [33] Zhou J, Li YS, Nguyen P, *et al.* Regulation of vascular smooth muscle cell turnover by endothelial cell-secreted MicroRNA-126 role of shear stress [J]. *Circ Res*, 2013, 113(1): 40-51.
- [34] Ji R, Cheng Y, Yue J, *et al.* MicroRNA expression signature and antisense-mediated depletion reveal an essential role of MicroRNA in vascular neointimal lesion formation [J]. *Circ Res*, 2007, 100(11): 1579-1588.