

文章编号:1004-7220(2010)05-0328-06

## 流体切应力梯度对血管内皮细胞排列和形状的影响

张鲁<sup>a</sup>, 严志强<sup>a</sup>, 李玉青<sup>a</sup>, 程彬彬<sup>a</sup>, 刘心悦<sup>b</sup>, 刘宾<sup>b</sup>, 陈斯国<sup>a</sup>, 姜宗来<sup>a</sup>  
(上海交通大学 a. 力学生物学与医学工程研究所, b. 工程力学系, 上海 200240)

**摘要:** **目的** 研究不同梯度切应力作用下,血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)排列和形状变化,旨在了解流体切应力梯度对 ECs 形态的影响,为进一步探讨其功能变化提供实验基础。**方法** 建立可对体外培养 ECs 施加梯度切应力的流动腔装置,并应用该装置对人脐静脉 ECs 加载了大小在  $15 \text{ dyn/cm}^2 \sim 6.6 \text{ dyn/cm}^2$  ( $1 \text{ dyn} = 10^{-5} \text{ N}$ ) 范围、梯度分别为  $1.5 \text{ dyn/cm}^2$  和  $3 \text{ dyn/cm}^2$  的切应力,加载时间均为 6 h。比较这两种不同切应力梯度对 ECs 的细胞方向角、细胞宽长比和细胞形态指数的影响。**结果** 在不同切应力梯度作用下,ECs 的细胞方向角分布散乱,细胞无排列规律。与  $3 \text{ dyn/cm}^2$  相比, $1.5 \text{ dyn/cm}^2$  切应力梯度下 ECs 的宽长比和细胞形态指数明显减少,趋向于拉伸状态。**结论** 在不同切应力梯度作用下,ECs 均排列紊乱,无规律可循。然而,在相对较小的切应力梯度作用下,细胞容易被拉伸,细胞形状趋向于伸长,而较大切应力梯度作用下,细胞形状则趋向于圆形。

**关键词:** 切应力; 血管内皮细胞; 细胞形态; 计算流体力学; 力学生物学

**中图分类号:** R318.01 **文献标志码:** A

## Effect of flow shear stress gradient on the arrangement and shape of endothelial cells

ZHANG Lu<sup>a</sup>, YAN Zhi-qiang<sup>a</sup>, LI Yu-qing<sup>a</sup>, CHEN Bin-bin<sup>a</sup>, LIU Xin-yue<sup>b</sup>, LIU Bin<sup>b</sup>,  
CHEN Si-guo<sup>a</sup>, JIANG Zong-lai<sup>a</sup> (a. Institute of Mechanobiology & Medical Engineering; b. Department of  
Engineering Mechanics, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

**Abstract: Objective** The effect of different flow shear stress gradient on the changes of arrangement and shape of endothelial cells was evaluated in order to investigate the effect of shear stress gradient on ECs morphology and function. **Method** A flow chamber system with gradient shear stress was established, in which the range of shear stress is from  $15 \text{ dyn/cm}^2$  to  $6.6 \text{ dyn/cm}^2$  ( $1 \text{ dyn} = 10^{-5} \text{ N}$ ), and the shear stress gradient is  $1.5 \text{ dyn/cm}^2$  and  $3 \text{ dyn/cm}^2$  respectively. After ECs were subjected to the gradient shear stress for 6 hours, cell angle, cell width length ratio, as well as cell shape index of ECs under the different shear stress gradient were examined. **Results** The cell angles of ECs were straggling under both  $1.5 \text{ dyn/cm}^2$  and  $3 \text{ dyn/cm}^2$  shear stress gradient. The cell width length ratio and cell shape index of ECs were decreased under  $1.5 \text{ dyn/cm}^2$  shear stress gradient compared with that of  $3 \text{ dyn/cm}^2$ -shear stress gradient. **Conclusions** The ECs show random orientation under the different shear stress gradient. The ECs are trending to stretch and elongate shape under smaller shear stress gradient, and to approach cycloid under larger shear stress gradient.

**Key words:** Shear stress; Endothelial cells; Cell morphology; Computational fluid dynamics (CFD); Mechano-biology

收稿日期:2010-08-01; 修回日期:2010-08-27

基金项目:国家自然科学基金资助项目(10772120; 10732070)。

作者简介:张鲁(1985-),男,硕士研究生,研究方向:血管力学生物学。

通讯作者:严志强, Tel: (021) 34204863; E-mail: zqyan@sjtu.edu.cn。

临床研究表明,体内动脉粥样硬化多发生于血管分叉和弯曲的部位。这些部位的血流呈现低或紊乱的状态,即扰动流<sup>[1]</sup>。血管分叉处的扰动流区存在较低的壁面切应力、较高的壁面切应力梯度、壁面切应力随时间振荡等特点<sup>[2-3]</sup>。用计算流体力学(computational fluid dynamics, CFD)的方法模拟分析体内动脉 T 型分叉处流场。结果显示,血管分叉处流场具有低切应力和高切应力梯度特点,并且切应力的变化和切应力梯度均随时间发生变化<sup>[4]</sup>。

血管内皮细胞(endothelial cells, ECs)衬于血管内壁,能够感受各种血流动力学信号<sup>[5]</sup>,其一侧完全暴露于血流中,对血流切应力的响应尤为敏感<sup>[6]</sup>。早在上世纪 70 年代,体内实验研究就发现<sup>[7]</sup>,在血管动脉分叉处,血流紊乱,切应力变化幅度较大,ECs 排列紊乱;而主动脉处,流场稳定,ECs 沿与切应力一致的方向排列。体外实验也表明,流体切应力对 ECs 的形态和功能等方面均有很大影响<sup>[8]</sup>。然而,流体切应力梯度对 ECs 形态和功能的影响及其机制尚未完全阐明,而这方面的研究对于解释动脉粥样硬化发生发展的力学生物学机制有重要意义。

本文拟设计具有切应力梯度的流动腔装置,而且在实验中排除低切应力和切应力随时间振荡的影响,仅对扰动流切应力梯度的作用进行研究,分析不同切应力梯度对 ECs 排列和形状的影响,为进一步研究切应力梯度对 ECs 功能的影响及其力学生物学机制提供一些实验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 血管内皮细胞培养

取健康产妇的新生儿新鲜脐带,在无菌条件下,采用酶消化法,用 0.125% 的胰酶消化、分离脐静脉 ECs,将 ECs 均匀接种至 30 mm 培养皿中,平置于 37 °C,5% CO<sub>2</sub> 培养箱内,待细胞贴壁后换液 1 次,以后隔天换液 1 次,大约 5~7 d 细胞长至融合状态,即可传代。在实验前,ECs 用含 1% 胎牛血清的 M199 培养基(Gibco-BRL 公司)同步化 12 h。

### 1.2 梯度切应力加载系统

本文建立的 ECs 加载切应力梯度的平行平板流动腔系统,包括培养有 ECs 的切应力梯度平行平板流动腔,液体灌流系统和温度及 pH 值控制装

置<sup>[9]</sup>,其核心部分为具有切应力梯度的平行平板流动腔。流动腔上下板之间的硅胶膜中央的流动腔内腔的形状的设计参考 Usami 等方法<sup>[10]</sup>(见图 1)。如图 1 所示, $w_1$  为切应力梯度区域的入口宽度, $L$  为整个切应力梯度区域的长度, $w$  和  $z$  之间的关系符合公式:

$$w = w_1 L / (L - z) \quad (1)$$

根据公式(1),当明确入口宽度  $w_1$  与流动腔总长度  $L$  时,整个流动腔的形状就可以确定下来,其中最大切应力  $\tau_{\max}$  出现在  $w_1$  处,而最小切应力  $\tau_{\min}$  出现在  $w$  最大值处:

$$w_{\max} = 2 \sqrt{\frac{w_1 L}{2}} \quad (2)$$

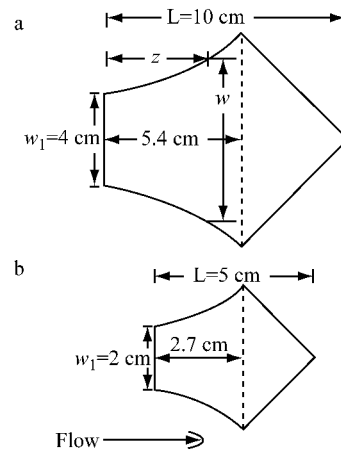


图 1 切应力梯度流动腔的内腔平面示意图 本文采用 a 和 b 两个切应力梯度流动腔。 $z$  为流动腔某一位置的长度, $w_1$  为切应力梯度区域的入口宽度, $L$  为整个切应力梯度区域的长度, $w$  为  $z$  值处流动腔的宽度。a. 切应力梯度为 1.5 dyn/cm<sup>2</sup>; b. 切应力梯度为 3 dyn/cm<sup>2</sup>。

Fig.1 Schematic diagram of the gradient parallel-plate flow channel  $z$  is the coordinate measured from the channel entrance,  $L$  is the total length of the channel,  $w$  is the width of the channel at any  $z$ , and  $w_1$  is the entrance width. a. The shear stress gradient is 1.5 dyn/cm<sup>2</sup>; b. The shear stress gradient is 3 dyn/cm<sup>2</sup>.

在流动腔内单位时间内流过的液体流量一定,所以, $\tau_{\max} w_1 = \tau_{\min} w_{\max}$  成立。通过流动腔的切应力的大小,采用下式进行计算,即:

$$\tau = 6\mu Q / wh^2 \quad (3)$$

式中  $\tau$  代表壁切应力, $Q$  为流量, $\mu$  为液体黏度, $w$  和  $h$  分别代表流动腔的宽和高; $h$  为恒定值 0.2

mm。实验中所用的流体均为含1%胎牛血清的M199培养基, $\mu$ 恒定为 $0.828\text{ g/cm}^2$ , $Q$ 值由流量仪读出。这样,切应力大小就可以通过改变上、下贮液瓶高度来调节,因此,切应力梯度 $\Delta\tau/\Delta L$ 为:

$$\begin{aligned}\Delta\tau/\Delta L &= (\tau_{\max} - \tau_{\min}) / L = 6\mu Q / h^2 w_1 L \\ &= w\tau_{\max} / w_1 L\end{aligned}\quad (4)$$

本实验中采用a、b两个切应力梯度流动腔模型(见图1a、b)。它们的内腔入口宽度 $w_1$ 分别为4 cm和2 cm,内腔长度 $L$ 分别为10 cm和5 cm,内腔高度 $h$ 均为0.2 mm,切应力梯度范围均为 $15\text{ dyn/cm}^2 \sim 6.6\text{ dyn/cm}^2$ ( $1\text{ dyn} = 10^5\text{ N}$ )。通过上述公式可以计算,模型a的入口宽度4 cm, $\tau_{\max}$ 为 $15\text{ dyn/cm}^2$ ,出口宽度9 cm, $\tau_{\min}$ 为 $6.6\text{ dyn/cm}^2$ ,切应力梯度 $\Delta\tau/\Delta L$ 为 $1.5\text{ dyn/cm}^2$ (见图1a);模型b的入口宽度2 cm, $\tau_{\max}$ 为 $15\text{ dyn/cm}^2$ ,出口宽度4.5 cm, $\tau_{\min}$ 为 $6.6\text{ dyn/cm}^2$ ,切应力梯度 $\Delta\tau/\Delta L$ 为 $3\text{ dyn/cm}^2$ (见图1b)。这样,本实验就实现了在切应力大小相同的范围内,对ECs施加了不同大小梯度的切应力。本实验将在处于同一切应力梯度区域内的所有ECs作为一个整体进行观察。

### 1.3 实验分组

按对ECs施加切应力梯度的大小,实验分为 $1.5\text{ dyn/cm}^2$ 组和 $3\text{ dyn/cm}^2$ 组,切应力梯度加载时间均为6 h。

### 1.4 切应力梯度加载及细胞取材

用75%的酒精对流动腔各个组成部分进行灭菌,然后用1.5~2%的明胶液对流动腔下板种植ECs的区域进行包被,12 h后吸出明胶包被液,用PBS清洗3次,备用。取生长状态良好的P2~P3代ECs,进行胰酶消化,将细胞用20%胎牛血清的M199悬浮均匀,并调整细胞浓度在 $5 \times 10^5$ 个/mL左右。将细胞悬液种植于已包被的流动腔下板,培养12 h。实验前,对ECs用1%胎牛血清的M199培养基同步化12 h,同步化结束后,将流动腔的上板、硅胶膜与下板组装在一起,然后连接到灌流系统中即可。

对ECs分别施加 $1.5\text{ dyn/cm}^2$ 和 $3\text{ dyn/cm}^2$ 的梯度切应力,切应力大小从 $15\text{ dyn/cm}^2$ 到 $6.6\text{ dyn/cm}^2$ 均匀梯度分布。加载6 h后,将培养有ECs的流动腔下板取出,(1)吸干细胞培养液,用 $1 \times\text{ PBS}$ 液洗2次,每次5 min;(2)4%甲醛固定液固定20

min,0.1% Triton X-100作用5 min;(3) $0.1 \times\text{ PBS}$ 液洗3次,每次5 min;(4)10%羊血清室温封闭1 h,罗丹明标记的鬼笔环肽(1:300, Molecular Probe公司)孵育1 h,DAPI(1:1000, Sigma公司)孵育10 min;(5) $0.1 \times\text{ PBS}$ 液洗3次,每次5 min;(6)荧光显微镜(BX71, Olympus公司)观察照相。

细胞形态观测取样时,分别在切应力大小为 $15\text{ dyn/cm}^2$ , $11\text{ dyn/cm}^2$ 和 $7\text{ dyn/cm}^2$ 处进行取样,如图2所示。对每个取样点的4个象限进行观察并照相,记录细胞形态,每个取样点就得到4幅细胞图像,所有实验重复3次。这样,每个取样点有12幅细胞图像。所有得到的细胞图像用Image-Pro Plus软件进行处理分析,每幅图像平均测量20个细胞的数据,最终每个取样点至少得到240个细胞的形态数据。

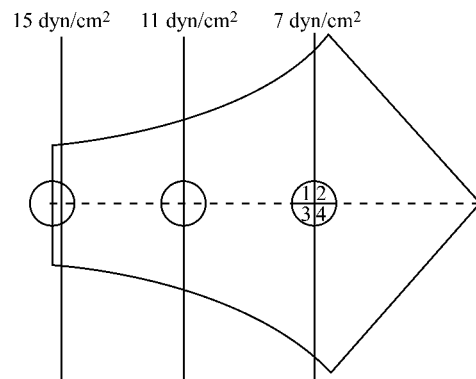


图2 切应力梯度作用下,不同切应力大小处细胞的取样点示意图  
Fig.2 Schematic diagram of cell sampling points under the different shear stress with shear stress gradient

### 1.5 细胞形态学指数

在研究细胞形态时,可以用面积、周长、长度、宽度、方向角、宽长比、轴交比和形状指数等8个参数来描述细胞的形态。细胞形态测量示意图,见图3。细胞面积(area)和周长(perimeter)是描述细胞形态的2个基本指标,反映细胞大小的变化。细胞长度(length)定义为轮廓线上距离最远的2个顶点之间的距离, $\text{length} = A + B$ 。细胞宽度(width)定义为轮廓线内与细胞长度方向垂直的最长线段的长度, $\text{width} = a + b$ 。细胞方向角(angle of orientation,  $\theta$ )定义为细胞长度方向沿顺时针方向转到流体流动方向所需要的角度。 $\theta$ 反映细胞对剪切流场的顺应程

度。细胞宽长比(width / length ratio)定义为细胞宽度( $a + b$ )与细胞长度( $A + B$ )之间的比值。细胞形状指数(shape index, SI)定义为  $(4\pi * \text{area}) / (\text{perimeter})^2$ 。SI 的范围从 0 到 1,反应细胞被拉长的程度,SI 越接近 1,细胞越接近圆;SI 越接近 0,细胞形状越接近直线。

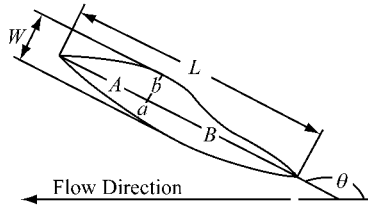


图3 细胞形态指数测量示意图  
 Fig.3 Schematic diagram of cell morphology index

### 1.6 统计学方法

所有实验独立重复至少 3 次。各组间实验数据以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm sd$ ) 表示。两组数据间的差异用  $t$  检验。\*  $P < 0.05$  为差异具有显著性, \*\*  $P < 0.01$  为差异具有高度显著性。

## 2 结果

### 2.1 切应力梯度流动腔数值模拟

用 Fluent 软件对本文建立的切应力梯度为  $1.5 \text{ dyn/cm}^2$  和  $3 \text{ dyn/cm}^2$  的流动腔进行壁面切应力数值模拟,结果如图 4 和图 5 所示。流动腔入口处预设  $2 \text{ cm}$  的长度确保流场充分发展为层流,入口切应

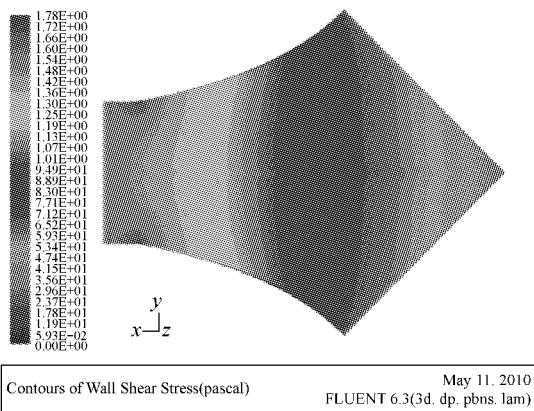


图4 Fluent 软件模拟切应力梯度  $1.5 \text{ dyn/cm}^2$  的流动腔的壁面切应力分布  
 Fig.4 Distribution of wall shear stress in  $1.5 \text{ dyn/cm}^2$  shear stress gradient flow chamber by Fluent

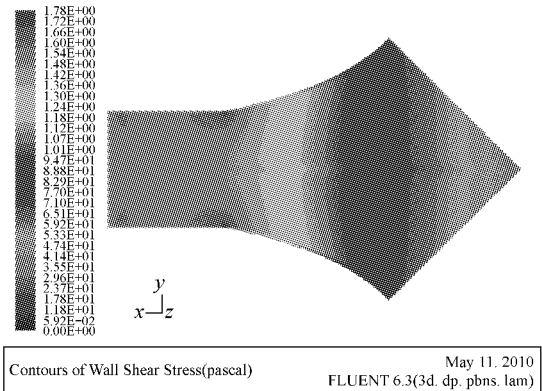


图5 Fluent 软件模拟切应力梯度  $3 \text{ dyn/cm}^2$  的流动腔的壁面切应力分布  
 Fig.5 Distribution of wall shear stress in  $3 \text{ dyn/cm}^2$  shear stress gradient flow chamber by Fluent

力大小为  $15 \text{ dyn/cm}^2$ ,出口切应力大小为  $6.6 \text{ dyn/cm}^2$ 。由图 4 和图 5 可知,在切应力  $15 \text{ dyn/cm}^2$  与  $6.6 \text{ dyn/cm}^2$  之间的区域,切应力均匀分布,即为均匀切应力梯度。本文实验中就对处于  $15 \text{ dyn/cm}^2$  与  $6.6 \text{ dyn/cm}^2$  之间均匀切应力梯度下的细胞进行研究。

### 2.2 切应力梯度作用下血管内皮细胞排列和形状的变化

对 ECs 施加了不同大小梯度的切应力后,ECs 行 F-actin 免疫荧光染色,结果如图 6 所示。ECs 细胞形态学分析结果如下:

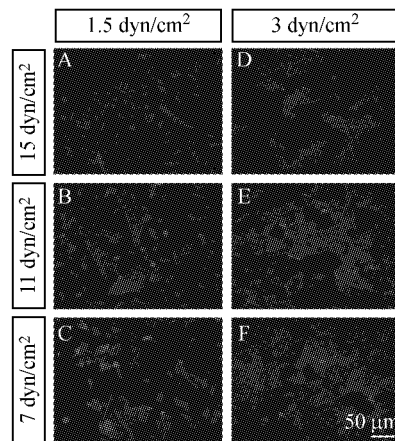


图6 不同切应力梯度作用下  $15 \text{ dyn/cm}^2$ 、 $11 \text{ dyn/cm}^2$  和  $7 \text{ dyn/cm}^2$  取样点 ECs 的形态, DAPI 和鬼笔环肽染色, 标尺 =  $50 \mu\text{m}$ 。  
 Fig.6 The morphology of ECs at the points of  $15 \text{ dyn/cm}^2$ ,  $11 \text{ dyn/cm}^2$ , and  $7 \text{ dyn/cm}^2$ - shear stress under different shear stress gradient. F-actin staining, Bar =  $50 \mu\text{m}$ .

(1) 细胞方向角:观测了相同切应力梯度、不同切应力大小条件下,以及不同切应力梯度、相同切应力大小条件下,ECs的细胞方向角变化。结果显示,1.5 dyn/cm<sup>2</sup>和3 dyn/cm<sup>2</sup>切应力梯度作用下,不同切应力大小处ECs的细胞方向角均分布散乱,细胞排列均无规律可循(图7)。

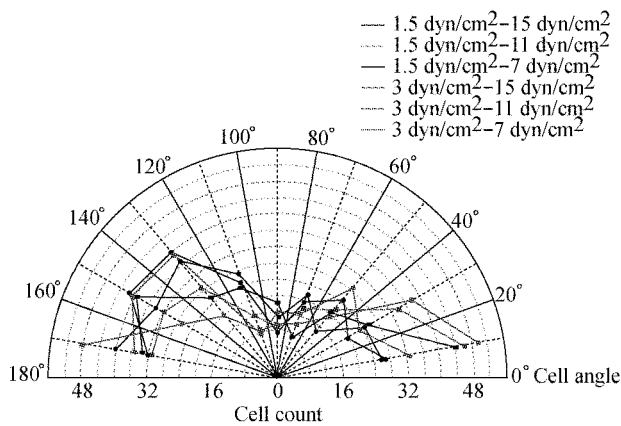


图7 不同切应力梯度作用下 ECs 的细胞方向角  
Fig. 7 The cell angle of ECs under different shear stress gradient

(2) 细胞宽长比:结果显示,在相同切应力大小的条件下,与3 dyn/cm<sup>2</sup>相比,1.5 dyn/cm<sup>2</sup>切应力梯度下ECs的宽长比明显减少(见图8)。可见,不同的切应力梯度对ECs的形态有明显影响。

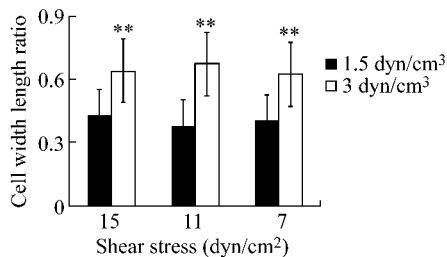


图8 不同切应力梯度作用下 ECs 的细胞宽长比, \*\*  $P < 0.01$ 。  
Fig. 8 Cell width length ratio of ECs under different shear stress gradient, \*\*  $P < 0.01$

(3) 细胞形态指数:结果显示,在相同切应力大小的条件下,1.5 dyn/cm<sup>2</sup>切应力梯度作用下ECs的细胞形态指数比3 dyn/cm<sup>2</sup>切应力梯度作用下明显降低(见图9)。结果提示,在低切应力梯度作用下,ECs呈现明显的拉伸状态。

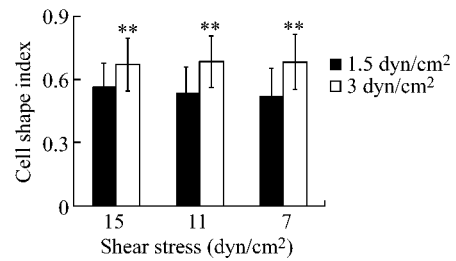


图9 不同切应力梯度作用下 ECs 的细胞形态指数, \*\*  $P < 0.01$   
Fig. 9 The cell morphology index of ECs under different shear stress gradient, \*\*  $P < 0.01$

### 3 讨论

血流切应力能够直接影响ECs的形态和功能。大量研究表明<sup>[11-13]</sup>,切应力的大小、脉动性、时间和切应力梯度等因素在动脉粥样硬化等心血管疾病的发生发展过程中发挥重要作用。近年的体内研究发现<sup>[14-16]</sup>,动脉粥样硬化斑块病灶多发生在血管分叉、弯曲等部位,这些部位的壁面切应力分布是不均匀的,具有切应力梯度的特征,有较大的切应力梯度,较低和振荡的切应力。低切应力及振荡的切应力对ECs的影响,已有较多研究<sup>[17-18]</sup>,但对于切应力梯度对ECs的影响,还有待探讨。为此,本文成功建立了具有切应力梯度的流动腔装置,实验中排除了低壁面切应力和壁面切应力随时间振荡的影响,仅针对扰动流切应力梯度的特点进行研究,实现了实验干扰因素的单一性,即切应力梯度的变化。在切应力15 dyn/cm<sup>2</sup>~6.6 dyn/cm<sup>2</sup>范围内,对体外培养的ECs分别施加了1.5 dyn/cm<sup>2</sup>和3 dyn/cm<sup>2</sup>的梯度切应力。研究不同切应力梯度对ECs细胞排列和形状的影响,为探讨切应力梯度在动脉粥样硬化发生发展机制作用提供一些基础资料。

本文研究发现,切应力梯度1.5 dyn/cm<sup>2</sup>和3 dyn/cm<sup>2</sup>下ECs的细胞形状呈现明显变化。在稳定的层流下,ECs排列整齐,细胞排列方向与切应力方向一致<sup>[11]</sup>。但是,在切应力梯度作用下,细胞朝向无明显规律,细胞方向角分布散乱,且1.5 dyn/cm<sup>2</sup>和3 dyn/cm<sup>2</sup>切应力梯度之间也无明显差异。在相对较小的切应力梯度作用下,细胞容易被拉伸,细胞形状趋向于伸长。而较大切应力梯度下,细胞趋向于圆形。细胞的形状与细胞的功能紧密联系,处于

增殖状态旺盛的细胞,其形态多为圆形。可以推测,处于不同切应力梯度下的 ECs,细胞形状差异显著,细胞生理功能也将有明显不同。因此,在后续的实验中,将应用该流动腔提供的不同切应力梯度,继续深入研究 ECs 在切应力梯度作用下细胞功能的变化及其细胞信号通路,以解释切应力梯度作用的力学生物学机制。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Dai GH, Kaazempur-Mofrad MR, Natarajan S, *et al.* Distinct endothelial phenotypes evoked by arterial waveforms derived from atherosclerosis-susceptible and-resistant regions of human vasculature [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(41): 14871-14876.
- [ 2 ] Noren D, Palmer HJ, Frame MD. Predicted wall shear rate gradients in T-type arteriolar bifurcations [J]. *Biorheology*, 2000, 37(5-6): 325-340.
- [ 3 ] Kute SM, Vorp DA. The effect of proximal artery flow on the hemodynamics at the distal anastomosis of a vascular bypass graft: computational study [J]. *J Biomech Eng*, 2001, 123(3): 277-283.
- [ 4 ] Younis HF, Kaazempur-Mofrad MR, Chung C, *et al.* Computational analysis of the effects of exercise on hemodynamics in the carotid bifurcation [J]. *Ann Biomed Eng*, 2003, 31(8): 995-1006.
- [ 5 ] Ando J, Yamamoto K. Vascular mechanobiology: endothelial cell responses to fluid shear stress [J]. *Circ J*, 2009, 73(11): 1983-1992.
- [ 6 ] Hsiai TK. Mechanosignal transduction coupling between endothelial and smooth muscle cells: role of hemodynamic forces [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2008, 294(3): C659-661.
- [ 7 ] Langille BL, Adamson SL. Relationship between blood flow direction and endothelial cell orientation at arterial branch sites in rabbits and mice [J]. *Circ Res*, 1981, 48(4): 481-488.
- [ 8 ] Dewey CF Jr, Bussolari SR, Gimbrone MA, *et al.* The dynamic response of vascular endothelial cells to fluid shear stress [J]. *J Biomech Eng*, 1981, 103(3): 177-185.
- [ 9 ] 丛兴忠,姜宗来,李玉泉,等. 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.
- [ 10 ] Usami S, Chen HH, Zhao Y, *et al.* Design and construction of a linear shear stress flow chamber [J]. *Ann Biomed Eng*, 1993, 21(1): 77-83.
- [ 11 ] Chien S. Mechanotransduction and endothelial cell homeostasis: the wisdom of the cell [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 292(3): H1209-1224.
- [ 12 ] Chiu JJ, Wang DL, Chien S, *et al.* Effects of disturbed flow on endothelial cells [J]. *J Biomech Eng*, 1998, 120(1): 2-8.
- [ 13 ] Blackman BR, Garcia-Cardena G, Gimbrone MA Jr. A new in vitro model to evaluate differential responses of endothelial cells to simulated arterial shear stress waveforms [J]. *J Biomech Eng*, 2002, 124(4): 397-407.
- [ 14 ] Chien S. Effects of disturbed flow on endothelial cells [J]. *Ann Biomed Eng*, 2008, 36(4): 554-562.
- [ 15 ] Hastings NE, Simmers MB, McDonald OG, *et al.* Atherosclerosis-prone hemodynamics differentially regulates endothelial and smooth muscle cell phenotypes and promotes pro-inflammatory priming [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 293(6): C1824-1833.
- [ 16 ] Chiu JJ, Chen CN, Lee PL, *et al.* Analysis of the effect of disturbed flow on monocytic adhesion to endothelial cells [J]. *J Biomech*, 2003, 36(12): 1883-1895.
- [ 17 ] Bao XP, Clark CB, Frangos JA. Temporal gradient in shear-induced signaling pathway: involvement of MAP kinase, c-fos, and connexin43 [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000, 278(5): H1598-1605.
- [ 18 ] LaMack JA, Friedman MH. Individual and combined effects of shear stress magnitude and spatial gradient on endothelial cell gene expression [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 293(5): H2853-2859.