

# 基质力学微环境对血管平滑肌细胞功能的影响

王谨<sup>1,2,3</sup>,朱娟娟<sup>1,2,3</sup>,周菁<sup>1,2,3,\*</sup>

<sup>1</sup>北京大学基础医学院生理学与病理生理学系;<sup>2</sup>教育部分子心血管重点实验室;<sup>3</sup>国家卫生健康委员会心血管分子生物学与 调节肽重点实验室,北京100191

**摘要**:血管平滑肌细胞是血管壁中的主要细胞类型,处于复杂的基质微环境中。微环境中的力学因素(包括基质刚度、基质微纳拓扑结构以及基质对细胞的几何约束等)可影响平滑肌细胞表型与功能。平滑肌细胞通过特定的机械力感受器感知基质微环境中的机械力刺激,并将机械信号转化为生物化学信号,调控下游基因表达与活性,从而影响平滑肌细胞的各种行为。血管平滑肌细胞行为的异常可破坏血管稳态,导致血管重塑。阐明平滑肌细胞如何感知与传导机械力刺激以及细胞外力学微环境如何调控平滑肌细胞的表型与功能,可为血管疾病的预防与治疗提供新的策略。

关键词:血管平滑肌细胞;细胞外基质;机械力感受器;机械信号转导;血管重塑 中图分类号: R33; R54; Q4; Q2; Q81

# New insights into vascular mechanobiology: roles of matrix mechanics in regulating smooth muscle cell function

WANG Jin<sup>1, 2, 3</sup>, ZHU Juan-Juan<sup>1, 2, 3</sup>, ZHOU Jing<sup>1, 2, 3, \*</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology and Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Peking University; <sup>2</sup>Key Laboratory of Molecular Cardiovascular Science, Ministry of Education; <sup>3</sup>Key Laboratory of Cardiovascular Molecular Biology and Regulatory Peptides, National Health Commission, Beijing 100191, China

Abstract: Vascular smooth muscle cell (vSMC) is the predominant cell type in the blood vessel wall and is constantly subjected to a complex extracellular microenvironment. Mechanical forces that are conveyed by changes in stiffness/elasticity, geometry and topology of the extracellular matrix have been indicated by experimental studies to affect the phenotype and function of vSMCs. vSMCs perceive the mechanical stimuli from matrix via specialized mechanosensors, translate these stimuli into biochemical signals controlling gene expression and activation, with the consequent modulation in controlling various aspects of SMC behaviors. Changes in vSMC behaviors may further cause disruption of vascular homeostasis and then lead to vascular remodeling. A better understanding of how SMC senses and transduces mechanical forces and how the extracellular mechano-microenvironments regulate SMC phenotype and function may contribute to the development of new therapeutics for vascular diseases.

Key words: vascular smooth muscle cells; extracellular matrix; mechanosensor; mechanotransduction; vascular remodeling

机体内的细胞处于复杂且动态变化的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 微环境中。ECM 成分、结构与功能多样,理化性质各异,对细胞的粘附、铺展、迁移、增殖、凋亡和分化等行为具有重要调

控作用。基质微环境的构成既包括 ECM 蛋白、生 长因子或是细胞与细胞之间的相互作用,也包括基 质力学因素,诸如基质刚度、微纳拓扑结构、几何 形貌等。基质力学微环境是细胞赖以生存的基础,

Received 2020-5-14 Accepted 2021-03-11

Research from the corresponding author's laboratory was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 91949112, 81974052, 91939302, and 81921001).

<sup>\*</sup>Corresponding author. Tel: +86-10-82801447; E-mail: jzhou@bjmu.edu.cn

在生理条件下可维持细胞正常功能,且不同的器官 与组织具有各自特殊的基质力学特性。例如生理状 态下血管刚度约为 2~5 kPa<sup>[1]</sup>。器官与组织的刚度 主要由 ECM 决定,次之是受细胞自身的力学特性 影响。在血管壁中,ECM 由胶原纤维、层粘连蛋白、 纤粘连蛋白、蛋白聚糖等组分构成,这些组分的沉 积、交联与空间排布影响了基质力学性质。

位于健康血管中膜的平滑肌细胞呈梭状外形, 增殖缓慢,表达α-平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin,α-SMA)、平滑肌肌球蛋白重链(smooth muscle myosin heavy chain, SM-MHC)、平滑肌 22α (smooth muscle protein 22α, SM22α)等平滑肌特异性收缩蛋 白,通过细胞收缩和舒张而改变管径从而控制与分 配血流。近年来研究显示,在动脉粥样硬化、高血压、 糖尿病、慢性肾脏病、衰老等疾病条件下,管壁基 质力学微环境改变,可诱导平滑肌细胞表型转化: 收缩蛋白表达降低、细胞自身刚度增加、细胞被激 活后迁移与增殖能力增强、分泌基质蛋白及其酶类, 从而重塑 ECM。本文将综述基质力学微环境对于 平滑肌细胞表型的调控机理,总结相关研究进展。

#### 1 血管壁细胞所处的基质力学微环境

管壁 ECM 不仅为平滑肌细胞提供了结构上的 支撑作用,也可以将微环境中的力学刺激传递给细 胞。血管壁细胞可接受来自基质微环境中的多种机 械信号刺激,包括基质刚度、基质表面微纳拓扑结 构和三维几何尺寸等机械力信号<sup>[2]</sup>。

#### 1.1 基质刚度

血管壁刚度会随疾病的发生而变化。Rezvani-Sharif 等人检测到人冠状动脉斑块中,纤维帽刚度为(14.1±3.8) kPa,脂质区下方的纤维化组织刚度为(17.6±3.2) kPa,而钙化区域的刚度可达到(96.1±18.8) kPa<sup>[3]</sup>。Huynh等人在小鼠衰老模型中发现,血管 ECM 的平均刚度较低龄组升高了 2~3 倍,且 ECM 刚度增加导致了血管内膜的破损以及动脉粥样硬化的发生<sup>[4]</sup>。本研究组用拉伸实验及纳米压痕检测法测定血管刚度,发现急性血管损伤后小鼠的血管壁弹性模量由约 2.44 kPa 升高至 9.29 kPa<sup>[5]</sup>。本研究组还在行颈动脉内膜剥脱术患者的样本中发现,斑块内不同区域的刚度不等,其中严重钙化区高达约 23.94 kPa,而相对健康的斑块远端部分约为 2.30 kPa<sup>[5]</sup>。基质刚度的改变显著影响了血管病变部位平滑肌细胞的表型,我们将在 2.1 节平滑肌表

型转化的调控部分进行进一步探讨。

#### 1.2 基质的微纳拓扑结构

拓扑结构是指基质的微纳级结构,包括基质的 孔隙、颗粒、基质表面粗糙度等。不同组织具有特 定的微纳拓扑结构,表现为某一几何特征重复或规 律地排布,从而满足细胞特有的生理功能需求<sup>[6]</sup>。 通过电子显微镜,研究者们观察到了不同器官与组 织的基质拓扑结构特征,并发现不同拓扑结构可影 响细胞排列及形态。Liliensiek 等人曾表征了恒河猴 主动脉、颈动脉、隐静脉和下腔静脉血管的微纳拓 扑结构,发现血管基底膜是由亚微米和纳米尺度的 孔隙和纤维组成的复杂网状结构;根据血管的位置 和物理性质不同,基底膜厚度、孔隙和纤维直径有 显著差异,血管内皮细胞或上皮细胞在二维层面与 基底膜相接触,细胞的粘附与铺展会受到基底膜表 面凸起、孔洞、山脊状、凹槽等复杂形貌的限制<sup>[7]</sup>。 基质拓扑结构影响细胞形态的在体证据来自于 Bellail 等人的研究,在大脑中,脑肿瘤沿胼胝体移动,单 细胞的迁移也会沿着髓鞘纤维的走向进行<sup>[8]</sup>:Kim 等人研究显示,成年大鼠心肌层与基质纤维结构平 行排列<sup>[9]</sup>。血管中膜基质拓扑结构表征的研究较少, 然而血管平滑肌细胞表型会受其影响的离体证据已 指出了基质拓扑结构对平滑肌功能调控的重要性。 如 Taneja 等人发现当平滑肌细胞生长于表面带有沟 槽形貌的基底时,细胞增殖能力降低,而收缩表型 标志分子表达上调[10]。利用这一原理,在组织工程 中,研究者对血管支架材料表面进行微纳图案修饰, 发现可以缓解支架植入后由平滑肌细胞增殖所引起 的血管再狭窄<sup>[10,11]</sup>。可见基质拓扑结构对于血管平 滑肌细胞表型与功能的调控为心血管疾病的治疗提 供了新思路。

#### 1.3 基质的几何形貌

基质中的纤维状生物大分子及间隙空间构成了 复杂的网格,使其局部形成了特有的形貌与空间结 构,对细胞产生几何限制,或可引导细胞按不同的 形状或者大小生长。血管中膜存在着丰富的 ECM, 在血管损伤与疾病发生时,这些 ECM 的合成与降 解失调引起了病变部位基质蛋白的异常沉积、降解 或者基质纤维的重排,从而改变了 ECM 的组分与 空间结构<sup>[12,13]</sup>。平滑肌细胞的形状与其功能高度相 关,基质几何限制相关的细胞形状的改变通常伴随 着功能与表型的变化。例如 Hao 等人构建了支架植 入诱导的猪冠状动脉再狭窄模型,在该模型血管中 膜发现了长梭形与上皮样两种形状的平滑肌细胞。 在增厚的内膜中,上皮样平滑肌细胞所占比例增加, 与长梭形细胞相比,具有更强的增殖与迁移能力, 而平滑肌收缩表型基因下调<sup>[14]</sup>。已有不断涌现的离 体实验证据指出基质的几何形貌对细胞表型具有决 定性影响。如 Ron 等人的研究显示,当使用微图案 化表面处理的材料对平滑肌细胞的形状进行制约, 使平滑肌按照特定形状生长时,细胞长宽比的增加 促进了其向收缩表型的转化<sup>[15]</sup>。基质几何形貌差异 调控细胞功能这一原理为组织工程材料优化提供了 思路,譬如对高分子材料人工血管的微结构的设计 以促进干细胞招募和平滑肌细胞浸润。

## 2 基质力学微环境对平滑肌细胞功能的调控

# 2.1 平滑肌细胞表型转化的调控

在健康的血管中膜, 平滑肌细胞表达其特有标 记物如 SM-MHC、SM22a、血清应答因子 (serum response factor, SRF)、钙调节蛋白 (Calponin) 等, 表现为收缩表型;血管损伤或疾病的发生会伴随着 这些表型标志分子表达的下调,细胞由高度分化状 态转变为去分化状态,其增殖、迁移、合成 ECM 能力增强,表达多种细胞类型的标志分子[16]。利用 平滑肌谱系示踪技术,研究者们标记了动脉粥样硬 化过程中平滑肌的表型转化以及在病变部位的分 布,发现新生内膜中80%的细胞都起源于平滑肌<sup>[17]</sup>。 更值得关注的是,在这些平滑肌来源的细胞中,有 高达 80% 的细胞不表达平滑肌特异性标志分子,而 表达其他如软骨样细胞、泡沫细胞、巨噬样细胞、 间充质干细胞样细胞、肌成纤维细胞以及脂肪细胞 样细胞的标志分子[17]。在小鼠的动脉粥样硬化模型 中,30%的平滑肌细胞向巨噬细胞转化,7%向间 充质转化, 12% 具有了成纤维细胞表型<sup>[16]</sup>。此外, 在斑块部位的泡沫细胞中,约有50%来源于平滑 肌细胞<sup>[18]</sup>。表型转化还可以使平滑肌细胞具有成骨 表型,从而参与血管的钙化<sup>[5]</sup>。上述研究证明了平 滑肌细胞的高度可塑性,其表型随生理和病理状况 而改变。

在响应机械损伤时,例如血管支架或移植术, 血管壁中收缩表型的平滑肌细胞会转换为合成表型, 导致新生内膜增厚和再狭窄<sup>[19-21]</sup>。当基质刚度增加 时,平滑肌细胞内收缩表型基因 SM-MHC、SM22α、 Calponin 和 Smoothelin 表达下调;与此同时,成骨 表型基因骨形成蛋白 2 (bone morphogenetic protein-2, BMP2)、Runt 相关转录因子 2 (Runt-related transcription factor 2, RunX2) 和增殖 / 去分化表型基因细胞周期 蛋白 A (Cyclin A)、增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 表达上调,提示基质刚度的 增加诱导了平滑肌细胞的去分化以及向增殖与成骨 表型转化<sup>[5]</sup>。基质的拓扑结构也参与调控平滑肌细胞 电表型,如前所述,Taneja 等人发现当平滑肌细胞 生长于修饰有微沟槽结构的基底时,收缩表型标记 物 α-SMA 水平升高<sup>[10]</sup>。对平滑肌细胞的几何约束 亦改变了细胞表型,Ron 等利用不同长宽比的微图 案约束平滑肌细胞形状,发现当长宽比增大时,细 胞内平滑肌收缩表型标记物 α-SMA 与 Calponin 上 调<sup>[15]</sup>。综上,基质微环境传达的多种机械力信号均 被证实能够参与平滑肌细胞表型的调控。

## 2.2 细胞增殖与迁移的调控

血管损伤或病变后平滑肌细胞表型的改变常伴 有细胞增殖与迁移能力的改变。Klein 等人利用小 鼠导丝拉伤模型,在血管损伤部位检测到平滑肌细 胞增殖能力的增强与新内膜的增厚,并通过原子力 显微镜 (atomic force microscopy, AFM) 检测到血管 壁刚度的升高<sup>[22]</sup>,提示平滑肌细胞增殖与基质刚 度具有相关性。而基质刚度的增加可促进血管平滑 肌细胞增殖这一因果关系已经在多个研究中得到证 实<sup>[5, 23, 24]</sup>。Dieffenbach等人将肺动脉平滑肌细胞培 养于 0.1~25.6 kPa 基底, 检测 0~144 h 时间段内细胞 数变化,发现基质硬化诱导了平滑肌细胞增殖<sup>[24]</sup>。 Yu 等人将血管平滑肌细胞培养于 2~4 kPa 与 25 kPa 基底,模拟生理及病理状态下血管刚度,对其进行 转录组分析发现 5 818 种基因均对基质刚度的变化 敏感,其中长链非编码 RNA MALAT1 是参与调控 细胞增殖的关键因子<sup>[23]</sup>。在基质拓扑结构调控细胞 增殖的研究中, Thakar 等人发现对平滑肌细胞的宽 度进行约束,与未进行几何约束的细胞相比,细胞 宽度限制于 20 μm 或 30 μm 的平滑肌的细胞增殖能 力显著减弱<sup>[25]</sup>。

血管平滑肌细胞迁移能力的增强也是动脉粥样 硬化相关血管疾病发生的关键诱因之一。平滑肌细 胞在血管壁中的趋硬性已经被广泛报道<sup>[26]</sup>。血管壁 的刚度存在异质性,这种异质性就造成了血管刚度 梯度,可诱使平滑肌细胞由刚度较低向较高区域迁 移<sup>[26-28]</sup>,这一现象被归因于平滑肌细胞的趋硬性。 斑块中的刚度范围为 5~200 kPa<sup>[27]</sup>。根据这一异质 性,Hartman 等人利用聚丙烯酰胺水凝胶制备了刚 度呈梯度变化的基底材料,体外模拟了刚度渐变的 ECM,通过追踪平滑肌细胞的迁移轨迹而证实了细 胞的趋硬性行为<sup>[28]</sup>。在平滑肌细胞中,由肌动蛋白 参与构成的质膜折皱 (circular dorsal ruffles, CDRs) 结构与平滑肌的运动性相关<sup>[29]</sup>。Huynh等研究显示, 在血小板衍生生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF)刺激下,基底的硬化通过促进平滑肌细胞中 CDRs 结构的形成,促进细胞迁移<sup>[29]</sup>。另外,基质 刚度的增加还促进了细胞内应力纤维和粘着斑形 成,从而调控细胞的迁移。Peyton等推测其可能机 理,认为基底的刚度过高(细胞内张力过大)和过 低(细胞产生的牵引力过低)都不利于平滑肌细胞 的迁移,只有在适度的刚度下,使细胞前端粘附形 成,后端粘附不断周转,方有利于迁移<sup>[30]</sup>。

# 2.3 细胞对基质蛋白的合成、分泌、重排与降解作 用的调控

在血管壁的三层结构中, 血管内膜下的基底膜 主要由层粘连蛋白、IV 型胶原、纤粘连蛋白和蛋白 聚糖等构成,为内皮细胞提供了稳定的物理支撑并 有助于维持内皮稳态:由弹性纤维构成的弹力板以 及丰富的基质蛋白存在于血管中膜, 平滑肌与该层 的弹性纤维为血管壁提供了顺应性;血管壁的外弹 力板分隔了中膜与外膜,丰富的胶原与弹性纤维是 血管外膜基质的重要组分<sup>[31]</sup>。中膜平滑肌细胞是中 膜 ECM 的主要来源,由平滑肌细胞所分泌的细胞 因子或基质蛋白会对 ECM 的组成与结构产生显著 影响。ECM 的沉积与基质蛋白的水解需要达到动 态的平衡,从而维持基质微环境的稳态。在这个动 态平衡过程中,存在于微环境中的基质蛋白与细胞 因子能够引起平滑肌细胞膜表面多种受体及细胞内 信号途径的活化,诱导细胞进一步分泌基质蛋白或 蛋白水解酶,参与 ECM 的沉积与降解。

胶原是 ECM 主要成分。成年哺乳动物组织中的胶原蛋白稳态依赖于细胞的多种调控过程,这些过程包括胶原蛋白的合成和运输、胶原纤维的组装与交联、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 对胶原的降解、以及胶原纤维的重排<sup>[32]</sup>。在血管疾病中,胶原的合成与沉积增强是力学刺激下引起血管重塑的关键因素。Ding 等人研究表明,在吸烟诱导的动脉硬化中,尼古丁通过抑制血管平滑肌细胞中 YAP 蛋白的磷酸化而诱导了 YAP 通路的活化,进而促进了胶原与层粘连蛋白的合成,进一步加重血管的硬化<sup>[33]</sup>,明确了机械信号可通过影

响平滑肌细胞合成 / 分泌功能而重塑 ECM。

ECM 的降解依赖于基质蛋白酶。根据催化基团 的不同, 基质蛋白酶可分为五大类。其中, MMPs 是研究最为广泛的 ECM 蛋白水解酶,可被包括血 管平滑肌细胞、肿瘤细胞等在内的多种细胞合成、 并分泌至细胞外,参与 ECM 的水解<sup>[34, 35]</sup>,其活性 受到其抑制物组织型 MMPs 抑制剂 (tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, TIMPs) 的调控。MMPs 在水解胶原后,还能够使胶原暴露出其隐性表位, 而这些隐性位点参与调控血管与肿瘤的生成<sup>[36]</sup>。在 多种血管疾病中, MMPs 的表达及活性都会发生改 变,例如在冠状动脉粥样硬化斑块区域可检测 到 MMPs 表达水平的上调<sup>[37]</sup>;在血管内膜增厚的 患者中,其血浆 MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-7、 MMP-8 以及 MMP-9 水平上调<sup>[38]</sup>。在血管平滑肌细 胞中, MMPs 表达和活性受基质力学微环境的调控。 本研究组研究显示,当血管平滑肌细胞生长于较硬 (20 kPa) 基底时,细胞内 MMP-3 的表达水平相较 于生长于较软 (2 kPa) 基底时显著升高<sup>[5]</sup>。Tian 等 人则发现刚度较低 (1 kPa) 的 ECM 能够促进平滑肌 细胞中 MMP-2 的表达<sup>[39]</sup>。

在病理状态下,血管壁 ECM 中不仅存在着基 质蛋白合成与降解的失衡,也存在着蛋白纤维的交 联与重排。Ivanov 等人将血管平滑肌细胞培养于由 胶原形成的 3D 凝胶中,血管紧张素刺激导致平滑 肌收缩功能的改变,平滑肌细胞收缩产生的张力引 起基质中胶原纤维的重新排布,从而导致了凝胶的 收缩<sup>[40]</sup>。此外 Coelho 等人在成纤维细胞中发现, 胶原的刺激和基底的硬化能够促进细胞膜上盘状结 构域受体 1 (discoidin domain receptor 1, DDR1) 磷 酸化<sup>[41]</sup>,从而使活化的 DDR1 与肌球蛋白结合, 通过调控细胞骨架的收缩增强了细胞的收缩力,进 而使 ECM 中的胶原纤维发生重排:胶原纤维收缩、 胶原纤维强度增大、胶原纤维的取向发生改变<sup>[41]</sup>。 血管平滑肌细胞中是否存在上述机制未见报道。

# 3 血管平滑肌细胞对基质力学信号的感知

细胞对于基质力学微环境的感知与响应通常包 括如下几个过程:首先,位于细胞膜的机械力感受 器或质膜下细胞骨架感知到力学刺激;第二,机械 力信号转变为化学信号;第三,化学信号在细胞内 部的传递;第四,经信号通路转导后,细胞通过 对基因表达和活性的调控等方式对力学刺激做出响 应<sup>[42, 43]</sup>。机械刺激还可以不经过细胞质膜上受体换 能,而是通过细胞间连接、细胞与基质连接及细胞 骨架把力学信号直接向细胞核传递,引起核膜与核 骨架构型变化,从而调控细胞核内基因表达相关事 件<sup>[2, 44]</sup>。无论哪种方式,机械力感受器对于微环境 的感知是力学信号转导过程的关键步骤。目前为止, 平滑肌细胞中已被报道的机械力感受器主要包括整 合素 (integrin)、G 蛋白耦联受体 (G protein-coupled receptor, GPCR)、离子通道、受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinase, RTK)、细胞骨架与核骨架 等<sup>[2, 45-48]</sup>(表 1)。

# 3.1 整合素介导的基质力学信号感知

整合素是位于细胞膜表面的异源二聚体,由α 和β亚基构成, 它将粘着斑锚定于细胞膜, 既与细 胞内肌球蛋白等细胞骨架成分结合,也与 ECM 蛋 白或邻近细胞膜表面受体结合,起到整合信号分子 作用,从而介导基质微环境与细胞之间的交流<sup>[70,71]</sup>。 细胞可通过整合素感知 ECM 刚度或几何形貌的变 化,如Hays等发现在自发性高血压大鼠模型中, 血管尤其是管壁基质的硬化使平滑肌细胞内 β1 型 整合素表达水平及活化程度升高,从而通过对细胞 相应的调控进一步影响了 ECM 的合成<sup>[50]</sup>; Ron 等 研究显示,随着基质表面微图案长宽比的增加,平 滑肌细胞收缩表型标志分子 α-SMA 与 Calponin 水 平上调, 而β3型整合素功能的缺失阻止了平滑肌 细胞向收缩表型的转化<sup>[15]</sup>。作为较早发现的力学感 受器,整合素一直被认为是感知微环境力学刺激的 经典分子,也是力信号在细胞内转导的"关键节点", 因此整合素介导机械力信号感知过程已得到广泛认 可和关注,目前研究得比较透彻。

# 3.2 GPCR介导的基质力学信号感知

GPCR 是人体中最大的一类跨膜受体,其共有 特征为具有七次跨膜结构域<sup>[72]</sup>。在平滑肌细胞中, GPCR 途径参与了血管收缩与舒张的调控。例如, 促血管收缩因子内皮素、血管紧张素 II、去甲肾上 腺素可结合并活化 Gα<sub>q</sub>(1)</sub>/磷脂酶 C 耦联的 GPCR, 使细胞内 Ca<sup>2+</sup>浓度升高,调控血管收缩;促血管舒 张因子如腺苷能够与 Gα<sub>s</sub> 耦联的 GPCR 相互作用, 活化腺苷酸环化酶,产生环磷酸腺苷,从而导致平 滑肌细胞的舒张<sup>[73, 74]</sup>。

最早报道的 GPCR 类机械感受元件是 AT1R<sup>[75]</sup>。 AT1R 是血管紧张素 II 受体,在血管平滑肌细胞中,可感知机械牵张等血流动力学因素引起的机械刺 激<sup>[53]</sup>,从而表明 AT1R 可作为平滑肌细胞中的机械 力感受器。目前关于平滑肌当中的 AT1R 是否受到 基质中力学刺激的调控尚无报道。不过,在其他细 胞中,基质力学因素对于 AT1R 通路的调控已得到 证实。例如 Yong 等研究显示,基质刚度的增加可 促进心脏成纤维细胞中 AT1R 的表达<sup>[76]</sup>。除 AT1R 外,粘附 GPCR (adhesion GPCR, aGPCR) 也是参与 感受机械刺激的一大类 GPCRs<sup>[75]</sup>。

# 3.3 离子通道介导的基质力学信号感知

离子通道能够感知机械力刺激最早发现于鸡的 骨骼肌中<sup>[77]</sup>,随后,在多种细胞中都检测到离子通 道参与了机械力信号的感知<sup>[78,79]</sup>。压电型机械敏感 离子通道 Piezo、瞬时受体电位通道 (transient receptor potential, TRP)、上皮钠离子通道 (epithelial sodium channel, ENaC)、跨膜通道样 1/2 蛋白 (transmembrane channel-like-1/2, TMC1/TMC2) 等通道是报道较多的 力学感受器<sup>[75,79]</sup>。在大鼠平滑肌细胞中,TRP家族 中的 TRPM4 下调会抑制压力诱导下血管的收缩, 从而表明 TRPM4 是血管平滑肌细胞中的机械力敏 感离子通道<sup>[55]</sup>。Piezo1属于非选择性阳离子通道, 对 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>和 Ca<sup>2+</sup>具有渗透性。它在血管内皮和平 滑肌细胞中均有表达。在平滑肌细胞中, Piezo1 可 响应牵张刺激,并参与高血压引起的血管重塑<sup>[54,80]</sup>。 但是目前对于平滑肌细胞中的 Piezol 是否能够被来 源于基质的力信号(基质刚度和几何限制等)活化 还少有报道。不过, Piezol 对于基质刚度的感知己 经在其他多种细胞中得到证实,例如骨髓基质细 胞<sup>[81]</sup>、肿瘤细胞<sup>[82]</sup>、干细胞<sup>[83]</sup>等。平滑肌细胞中 Piezo1 的敲除减小了高血压小鼠尾动脉直径及管壁 厚度<sup>[54]</sup>;此外,Piezol 在平滑肌中的活化能够使胞 浆中 Ca<sup>2+</sup>浓度升高,进而活化转谷氨酰胺酶,参与 ECM 及细胞骨架的重构<sup>[54]</sup>,这些研究证据都提示 Piezol 很有可能也能在平滑肌细胞中扮演基质力学 信号感受器的角色。

#### 3.4 RTK介导的基质力学信号感知

RTK 属于酶联受体,它既是受体,也发挥着酶的作用,能够与配体结合,并将下游分子的酪氨酸 残基磷酸化。RTK 可在多种细胞中参与机械信号的 感知。Prager-Khoutorsky 等在成纤维细胞中对人体 表达的 85 种蛋白酪氨酸激酶 (protein tyrosine kinase, PTK)进行筛选,通过检测细胞在硬基底上的极化、粘着斑形成情况以及细胞收缩力的变化反映细胞对 于基底刚度的感知,发现其中有 18 种 PTK 都是细

References [50] [52] [54] [57] [59] [56] Upregulation/activation of neointimal hyperplasia in Piezo1 influences arterial Reduction of plaque area attenuates atherosclerotic Upregulation of PDGFR Integrin av 33 mediates Matrix accumulation; response to injury DDR1 deficiency Aortic stiffening; remodeling in hypertension calcification Integrin <a>β</a>1 Effects In vivo PASMCs Femoral Caudal Tissue artery artery Aorta Aorta Aorta mouse/hypertension artery wire injury atherogenic diet atherogenic diet mice placed on Mouse femoral Smooth muscle mice placed on idiopathic PAH specific Piezol Ddr1<sup>-/-</sup>;Ldlr<sup>-/-</sup> In vivo model Ddr1<sup>-/-</sup>:Ldlr<sup>-/-</sup> Patients with mouse model knockout SHR rats model References [49] [15] [51] [53] [55] [58] Substrate stiffness enhanced phenotypic switch of SMCs Integrin  $\alpha v\beta 3$  upregulation; PDGFR activity and VSMC Upregulation of Integrin β1 pressure induced SMCs TRPM4 contributes to Integrin \$3 mediates thrombin generation AT1R upregulation; depolarization proliferation proliferation Effects In vitro Culturing SMCs on Micropatterning for SMCs subjects to SMCs subjects to SMCs subjects to different stiffness SMCs cultures pressurized and hydrogels with Cerebral blood **TRPM4 ODNs** In vitro model vessels were cyclic strain cyclic strain cyclic strain treated with Mechanical Mechanical Changes of Mechanical Mechanical cell shape stretch Pressure stiffness stimuli Matrix stretch stretch Gene/protein Integrin <a>β</a>1 Integrin 33 Integrin TRPM4 PDGFR **Piezol** AT1R ανβ3 DDR1 mechanosensors Ion channels Type of Integrin GPCRs RTKs

王 谨等: 基质力学微环境对血管平滑肌细胞功能的影响

(To be continued)

165

(Continued)								
Type of	Gene/protein		In	vitro				In vivo
mechanosensors		Mechanical stimuli	In vitro model	Effects	References	In vivo model	Tissue	Effects
		Mechanical stretch Mechanical	SMCs subjects to cyclic strain SMCs subjects to	Enhancing activity of PDGFRβ and MMP-2 PDGFRα activation	[60] [48]			
	IGF-1R	stretch Mechanical stretch	cyclic strain SMCs subjects to cyclic strain	IGF-1R upregulation; proliferation	[61, 62]	Vein grafts	Vein	IGF-IR deletion reduced neointima formation in the vein graft
YAP/TAZ	YAP	Matrix stiffness	Culturing SMCs on hydrogels with different stiffness	YAP nuclear translocation; SMCs proliferation, migration	[24]	Smooth muscle- specific YAP knockout mouse	Artery in YAP knockout embryo	Aberrant vascular development
		Mechanical stretch	SMCs subjects to cyclic strain	SMCs proliferation; inflammation	[64]	Rat carotid artery balloon injury model	Carotid artery	Upregulation of YAP; SMCs phenotypic switch
Cadherin	N-cadherin	Matrix stiffness	Culturing SMCs on hydrogels with different stiffness	N-cadherin upregulation	[66]	Femoral artery injury mouse model	Femoral artery	Upregulation of N- cadherin
Cytoskeleton	F-actin	Cell shape; Matrix	Micropatterning; Culturing SMCs on	Matrix nanotopography/stiffness	[67]			

SMCs, smooth muscle cells; SHR, spontaneously hypertensive rat; GPCR, G protein-coupled receptor; AT1R, angiotensin II type-1 receptor; TRPM4, transient receptor potential cation channel subfamily member 4; ODNs, oligodeoxynucleotides; DDR1, discoidin domain receptor 1; PDGFR, platelet-derived growth factor receptor; PAH, pulmonary arterial hypertension; PASMCs, pulmonary arterial smooth muscle cells; LDLR, low density lipoprotein receptor; IGF-1R, insulin-like growth factor-1 receptor; MLC, myosin light chain. SMCs apoptosis cyclic strain stretch

[29, 68]

MLC phosphorylation

Culturing SMCs on

different stiffness

hydrogels with

stiffness

and intensity

affects stress fiber aligment

[69]

Lamin A/C downregulation,

SMCs subjects to

Mechanical

Lamin A/C

different stiffness

hydrogels with

stiffness

Matrix

Myosin

References

[61]

[63]

[65]

[99]

胞感知基质刚度变化所必需的,属于 RTK 的包括 FGFR4、DDR2 等<sup>[84]</sup>。

盘状结构域受体 DDR 属于 RTKs 家族成员之 一,存在 DDR1 与 DDR2 两种亚型。DDR 较为经 典的配体为胶原,在识别并结合 I 型~ III 型胶原结 构中的氨基酸序列 GVMGFO 后被激活<sup>[85,86]</sup>。DDR 最早在上皮细胞中发现,随后在其他细胞如平滑肌 细胞、成纤维细胞、肿瘤细胞等中也发现了其广泛 的表达<sup>[87]</sup>。DDR 在血管疾病的发生过程中发挥着 重要作用。Bendeck 等对 DDR1 在动脉粥样硬化中 的作用进行了深入的研究,发现 DDR1 的酪氨酸激 酶活性对于平滑肌细胞迁移及 MMP 的合成具有重 要作用<sup>[88,89]</sup>。通过构建低密度脂蛋白受体 (lowdensity lipoprotein receptor, LDLR) 与 DDR1 双敲除 小鼠,Bendeck 等发现在动脉硬化斑块发生的早期, DDR1 能够调控纤维化及炎症的发生,DDR1 的敲除 会减弱动脉粥样硬化程度,并抑制血管的钙化<sup>[56,57]</sup>。

近些年来,DDR1被报道参与机械力信号的感知。DDR1参与力学信号转导,最早是在脂肪基质细胞 (adipose stromal cell, ASC)中发现的。Ghosh等人研究表明,DDR1是ASC中的机械力感受器<sup>[90]</sup>,随后,DDR1对于基质刚度的感知在成纤维细胞中得到确认<sup>[41]</sup>。值得注意的是,最近,Bendeck等人报道了平滑肌细胞能通过DDR1感知基质刚度的变化<sup>[91]</sup>。在心血管研究中,基于DDR1对动脉硬化、血管钙化等多个病理过程的调控作用,DDR1有望成为动脉硬化相关血管疾病防治的新颖靶点。因此,明确DDR1下游信号途径显得尤为重要。

血管壁细胞中常见的 RTK 还包括血管内皮生 长因子受体 (vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)、成纤维细胞生长因子受体 (fibroblast growth factor receptor, FGFR)、PDGF 受体 (platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)、胰岛素受体 (insulin receptor, IR) 以及胰岛素样生长因子受体 (insulin-like growth factor receptor, IGFR) 等<sup>[92]</sup>。RTK 活化后,通 过下游信号通路调控血管渗透性以及血管内皮细胞 与平滑肌的增殖、迁移与分化<sup>[92]</sup>。RTK 家族中多种 蛋白都能够感知机械力刺激,在平滑肌细胞中, PDGFR 和 IGFR 是报道较多的机械信号感知元件。 其中,PDGF 是血管疾病发生过程中刺激平滑肌细 胞发生异常增殖与迁移的一个重要因子,其受体 PDGFR 能够感知病理状态下血管中力学信号 (如基 质刚度、机械牵张)<sup>[48, 58, 60]</sup>。Brown 等研究显示,在 PDGF 的刺激下,基底的硬化能够促进平滑肌细胞中 PDGFR 的活化与细胞增殖,表现为受体磷酸化水 平的升高,在该过程中,细胞膜表面的脂筏结构参 与调控了 PDGFR 的活化<sup>[58]</sup>。PDGF 通路也能够耦联 其他受体,共同调控平滑肌细胞表型。例如 PDGFR 的活化可促进钙敏感受体 (Ca<sup>2+</sup> sensing receptor, CaSR) 的表达,诱导肺动脉平滑肌细胞增殖以及血管的 重塑<sup>[59]</sup>。

# 4 基质力学信号的转导与细胞响应调控机理

当机械刺激被力学感受器感知,并完成换能后, 需要通过细胞内信号分子的级联反应进行转导,在 转录水平调控机械力敏感基因的表达。在细胞内, 能够介导力学信号转导的经典分子包括粘着斑、细胞 骨架和转化生长因子 -β (transforming growth factor-β, TGF-β)等。近些年来,学者们也在心血管系统中发 现了 YAP/TAZ 等力学信号转导通路的关键分子<sup>[93]</sup>。 此外,由 DNA 甲基转移酶 1 (DNA methyltransferase 1, DNMT1) 介导的 DNA 甲基化也参与了基质力学 信号转导。

#### 4.1 粘着斑与细胞骨架

粘着斑是在细胞膜与胞浆近膜区形成的多蛋白 复合体,是细胞与 ECM 相互作用的枢纽,其作用 在于将细胞外的力刺激传递给细胞骨架<sup>[94]</sup>。粘着斑 激酶 (focal adhesion kinase, FAK) 是响应外部机械刺 激后募集到粘着斑的首批分子之一。在血管壁中, FAK-Rac-cyclin D1 是报道较多的机械力信号转导通 路。其中,基质刚度的增加诱导平滑肌细胞中 FAK 的 磷酸化,并经由 FAK-Rac 通路调控细胞的增殖<sup>[22,66,95]</sup>。 Bae 等研究显示,基底的硬化使平滑肌细胞中 FAK Y397 位点磷酸化水平升高,同时,FAK/Cas 通路 的活化诱导了 cyclin D1 的转录<sup>[95]</sup>。

细胞骨架在机械刺激的传导中起到了不可或缺的作用,它为细胞提供机械支持,控制其运动性、 形状并保持细胞张力<sup>[94]</sup>。应力纤维是细胞骨架的主 要成分之一,主要由细胞内肌球蛋白和F肌动蛋白 (F-actin)构成,并与粘着斑结合,从而在细胞感知 力刺激后,机械信号能够沿粘着斑-细胞骨架传递 至胞内<sup>[94]</sup>。此外,细胞骨架中的肌球蛋白也参与调 控细胞对基质刚度的响应<sup>[96]</sup>。在机械信号刺激下, 血管平滑肌细胞骨架会发生重构。Chaterji等研究 了基质拓扑结构以及基底刚度对平滑肌细胞中 F-actin影响<sup>[67]</sup>。在未经过微图案修饰的基底表面, 平滑肌细胞内 F-actin 呈现弥散的网格状排列;而 沟槽状的基底使 F-actin 在细胞中发生定向排列,并 在硬基底中表现出更高的强度<sup>[67]</sup>。当基质刚度增加 时,平滑肌细胞中肌球蛋白轻链 MLC 磷酸化水平 升高,进而使细胞收缩能力增强,并引起应力纤维 的重构,诱导形成了基于肌动蛋白的 CDRs 结构, 促进平滑肌细胞的迁移<sup>[29]</sup>。再如,Sazonova 等发 现当血管平滑肌细胞培养于层粘连蛋白包被的基底 时,基质刚度的增加使细胞内磷酸化 MLC 染色强 度升高,磷酸化 MLC 染色面积增加<sup>[68]</sup>。

在粘着斑的参与下,来自微环境的机械信号既 可转换为化学信号,引发粘着斑结构中 FAK 等关键 分子下游的级联事件;也可以不通过膜上换能,直 接传递至细胞骨架,引起骨架重构,最终导致平滑 肌细胞行为的改变。此外,近期研究显示细胞核在 机械信号感知和转导过程中发挥作用,并在细胞分 裂、凋亡、组织发育、肿瘤发生等重要生理和病理 生理事件中扮演了关键角色<sup>[97,98]</sup>。机械力从细胞表 面传递到细胞核依赖于完整的细胞骨架系统(细 胞质骨架和细胞核骨架), 而核骨架和细胞骨架复 合物的连接体复合体 (linkers of nucleoskeleton and cvtoskeleton complexes, LINC)则是两者实现机械 连接的桥梁。本研究组研究显示,血管内皮细胞中 的 LINC 可转导流体剪切力信号<sup>[99]</sup>,鉴于基质力学 信号与剪切力信号具有力学属性的相似性, LINC 在介导血管壁细胞尤其是平滑肌细胞对基质力学信 号转导中的作用暂未见报道,但不容忽视,有待更 多研究的证明。

# 4.2 TGF-β信号通路

TGF-β 超家族蛋白主要包括 TGF-β、激活素 (activin)、抑制素 (inhibin)、骨形成蛋白 (BMP) 等<sup>[100]</sup>。 在哺乳动物中,TGF-β 超家族蛋白由 33 种基因编 码而成,形成同源或异源二聚体,是调控细胞表型 与功能的多效细胞因子<sup>[101]</sup>。TGF-β 信号通路的失 调会诱导多种血管疾病的发生,例如动静脉畸形、 动脉瘤、动脉粥样硬化等<sup>[102]</sup>。TGF-β 通路能够促 进平滑肌细胞分化,并抑制细胞向增殖表型转化, 从而增强斑块的稳定性<sup>[102]</sup>。此外,TGF-β 通路也 参与了平滑肌细胞对基质力学微环境的响应。Tian 等将血管平滑肌细胞体外培养于 1~100 kPa 的基底, 发现 TGF-β 下游分子 Smad2/3 会随着基底的硬化而 活化<sup>[39]</sup>。本研究组前期研究中也显示基底的硬化会 诱导平滑肌细胞高表达 BMP2<sup>[5]</sup>。

#### 4.3 Hippo-YAP/TAZ信号通路

Hippo 通路是在哺乳动物中高度保守的信号通路,在调控组织稳态的过程中发挥着重要作用。 YAP/TAZ 是 Hippo 通路的主要效应物,与下游转录 因子结合,从而调控靶基因表达<sup>[103]</sup>。YAP 及其同 源蛋白 TAZ 最早在果蝇中发现,近年来成为了在 哺乳动物中广泛研究的机械传感器<sup>[104]</sup>。在血管疾 病的发生过程中,YAP/TAZ 通路的活化发挥了重要 作用。在小鼠平滑肌细胞中特异性敲除 YAP 会导 致大动脉异常发育<sup>[63]</sup>。此外,Hippo-YAP 通路也参 与了心血管疾病过程中的血管重塑,包括肺动脉高 压、动脉粥样硬化、主动脉瘤和再狭窄等<sup>[105]</sup>。

YAP 通路可以与平滑肌细胞膜力学感知元件耦 联,调控细胞功能。例如 ανβ3 型整合素的活化诱 导 FAK 磷酸化以及平滑肌细胞骨架重构,引起 YAP 去磷酸化,从而活化 YAP 通路,促进细胞的 增殖与迁移<sup>[52]</sup>。在平滑肌细胞中, YAP/TAZ 可介 导细胞对基底刚度变化的感知。Dieffenbach 等人在 肺动脉平滑肌细胞中发现,基底的硬化促进了 YAP 的核转位, YAP 通路的活化通过促进平滑肌细胞增 殖、迁移,以及 ECM 的沉积,从而调控了血管重塑, 进一步使血管硬化<sup>[24]</sup>。近年来, YAP/TAZ 在细胞 机械信号转导研究领域引发了持续关注。YAP/TAZ 介导的机械信号对细胞功能的调控被证实参与了血 管新生、动脉粥样硬化、血管硬化等心血管生理与 病理生理过程<sup>[24,93,106]</sup>。预期未来研究重点将聚焦于 YAP/TAZ 活化的调控机理,以及以其为靶点的新型 抑制剂类化合物的研发和转化研究。

### 4.4 DNMT1介导的DNA甲基化

血管疾病的发生与 DNA 甲基化异常密切相关<sup>[107,108]</sup>。Greissel等发现在动脉粥样硬化发生过程中,斑块中 DNA 甲基化水平明显低于正常血管;在颈动脉严重狭窄患者的血清中,DNA 甲基化水平降低<sup>[107]</sup>;在载脂蛋白 E (apolipoprotein E, ApoE)缺陷小鼠辅以高脂喂养诱导的动脉粥样硬化模型以及球囊损伤诱导内膜增生的家兔模型中,血管损伤和病变部位基因组甲基化水平显著低于各自对照<sup>[108]</sup>。5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine, 5mC)是DNA 中最常见的修饰碱基类型,该修饰主要由DNA 甲基转移酶 DNMT 家族催化,其中,DNMT3A 与DNMT3B 负责 DNA 的从头甲基化,而 DNMT1 主要参与了 DNA 复制过程中甲基化状态的维持<sup>[108,109]</sup>。多种动脉粥样硬化相关基因受到 DNA 甲基化调控,

包括干扰素、PDGF、细胞间黏附分子和肿瘤抑制 因子 p53 等<sup>[108]</sup>。此外,DNA 甲基化也参与了编码 基质蛋白相关基因的表达调控,如 MMPs、TIMPs、 胶原蛋白编码基因等<sup>[108]</sup>,提示 DNA 的甲基化很有 可能参与调控了血管的基质微环境稳态。

本研究组研究显示, DNMT1 是血管内皮细胞 中对血流动力学因素高度敏感的基因,其表达与活 性可受 integrin β3-ERK1/2-mTOR 介导的流体剪切 力的调控<sup>[110,111]</sup>。随后,本研究组发现在来自颈动 脉狭窄患者的动脉粥样硬化斑块中, 平滑肌细胞表 达的 DNMT1 显著低于斑块旁侧区域或对照乳内动 脉平滑肌细胞;在损伤诱导的血管硬化和高腺嘌呤 饮食诱导的血管硬化小鼠模型中, DNMT1 表达亦 较低,且基因组甲基化水平低于对照;而在体外实 验中,将血管平滑肌细胞培养于不同刚度的聚丙烯 酰胺水凝胶基底,基质刚度的增加也使 DNMT1 及 5mC 水平下调<sup>[5]</sup>。上述体内和体外结果表明平滑肌 细胞中的 DNMT1 及其负责的 DNA 甲基化受到 ECM 刚度的调控。DNMT1 的不足导致平滑肌细胞 表型由收缩表型向成骨 / 成软骨表型转化,究其机理, 与MMP-3、BMP2和RUNX2等细胞表型与基质重 塑相关基因受 DNMT1 调控有关<sup>[5]</sup>。其他研究组也 报道了血管平滑肌细胞中 DNMT1 的表达与活性会在 病理状态下发生改变[112,113]。例如在衰老平滑肌细胞 中 DNMT1 下调,伴随着全基因组的低甲基化<sup>[112]</sup>。 目前仍待研究的问题是,负责感知 ECM 刚度变化 并将此信号传递给 DNMT1 的表达调控的感受器与 转导途径是什么,该感受器是否是本文中论及的一 系列感受器,抑或未知的感受器。鉴于 DNMT1 在 细胞中功能广泛且与细胞基本生命活动密切相关, 以 DNMT1 本身为直接靶点的血管疾病防治研究受 到局限,对其上游分子机制的理解尤为重要。

近期本研究组获得了一个有趣的发现:DNMT1 不仅在细胞核中发挥催化 DNA 甲基化的功能,还能 转移到线粒体中催化线粒体 DNA 甲基化<sup>[114]</sup>。平滑 肌细胞 DNMT1 在线粒体中的富集可通过下调线粒 体 DNA 编码基因的表达而抑制细胞的氧化磷酸化和 收缩功能。DNMT1 从细胞核向线粒体的转位可在 PDGF 诱导下发生,然而我们更感兴趣的是这样的 转位能否被 ECM 机械刺激所诱导。如果与我们猜测 的一致,这一机理将有助于我们深入理解硬化血管 中为何平滑肌细胞发生代谢重塑和收缩功能障碍。

# 5 结论

ECM 力学微环境对血管壁细胞功能的调控机理 是生理学与力学生物学研究领域的热点和难点问 题。在生理条件下,血管壁细胞所处的力学微环境 决定细胞行为与命运,是影响血管稳态的重要因素。 在病理条件下,微环境中 ECM 刚度、基质拓扑结 构与几何形貌等力学性质的变化可被平滑肌细胞膜 上的整合素、RTK、GPCR、离子通道等机械感受 器感知并转导, 调控基因表达与活性并导致平滑肌 细胞表型改变,异常的平滑肌功能再进一步致使血 管重塑发生与加剧。尽管上述现象已得到广泛认知, 其在血管疾病中的重要性和意义也使得上述过程涉 及的机理被医学生物学家们其为关注,但是到目前 为止,平滑肌细胞中的机械信号感受器和信号转导 途径尤其是"关键节点"的发现仍非常有限。发现 这些关键节点尤其是新颖的基质机械信号感受器依 赖于多学科交叉手段的运用,需要通过生物力学科 学家、生理科学家、材料科学家、机械工程师和临 床科学家们的紧密跨学科努力,以解决该领域面临 的挑战并回答一些关键的科学问题。预期关于机械 信号感受器和"关键节点"的未来研究方向重点包 括:(1)更好地模拟 ECM 各种力学性质的新型生物 材料的开发与应用,并基于此在体外重建细胞的在 体微环境;(2)以平滑肌细胞表型与功能标志分子 (如RUNX2、Calponin等)表达与活性为读出的机 械信号转导分子和途径的筛选方法建立:(3)以平 滑肌细胞重要已知信号途径(如 YAP/TAZ 等)的活 化为读出的力学感受器筛选与鉴定:(4)以AFM法、 牵引力显微镜法、微吸管法、光镊、磁镊等细胞与 分子力学研究技术鉴定新颖的力学感受器;(5)将 先进的细胞与分子影像技术运用于感受器和信号分 子的高通量筛选等。此外,积极将发现的关键节点 运用于血管疾病的转化医学研究,将吸引研究者们 对血管力学生物学领域的更多关注,助推该领域的 持续发展。

#### 参考文献

- Handorf AM, Zhou Y, Halanski MA, Li WJ. Tissue stiffness dictates development, homeostasis, and disease progression. Organogenesis 2015; 11(1): 1–15.
- 2 Ye GJ, Nesmith AP, Parker KK. The role of mechanotransduction on vascular smooth muscle myocytes' [corrected] cytoskeleton and contractile function. Anat Rec 2014; 297(9): 1758–1769.

- 3 Rezvani-Sharif A, Tafazzoli-Shadpour M, Avolio A. Progressive changes of elastic moduli of arterial wall and atherosclerotic plaque components during plaque development in human coronary arteries. Med Biol Eng Comput 2019; 57(3): 731–740.
- 4 Huynh J, Nishimura N, Rana K, Peloquin JM, Califano JP, Montague CR, King MR, Schaffer CB, Reinhart-King CA. Age-related intimal stiffening enhances endothelial permeability and leukocyte transmigration. Sci Transl Med 2011; 3(112): 112ra122.
- 5 Xie SA, Zhang T, Wang J, Zhao F, Zhang YP, Yao WJ, Hur SS, Yeh YT, Pang W, Zheng LS, Fan YB, Kong W, Wang X, Chiu JJ, Zhou J. Matrix stiffness determines the phenotype of vascular smooth muscle cell *in vitro* and *in vivo*: Role of DNA methyltransferase 1. Biomaterials 2018; 155: 203– 216.
- 6 Gong YW (宮元卫), Sun SJ, Lv DY, Li Z, Long M. Impacts of surface micro-topography on cellular biological responses. J Med Biomechan (医用生物力学) 2013; 28(1): 115–120 (in Chinese with English abstract).
- 7 Liliensiek SJ, Nealey P, Murphy CJ. Characterization of endothelial basement membrane nanotopography in rhesus macaque as a guide for vessel tissue engineering. Tissue Eng Part A 2009; 15(9): 2643–2651.
- 8 Bellail AC, Hunter SB, Brat DJ, Tan C, Van Meir EG. Microregional extracellular matrix heterogeneity in brain modulates glioma cell invasion. Int J Biochem Cell Biol 2004; 36(6): 1046–1069.
- 9 Kim DH, Lipke EA, Kim P, Cheong R, Thompson S, Delannoy M, Suh KY, Tung L, Levchenko A. Nanoscale cues regulate the structure and function of macroscopic cardiac tissue constructs. Proc Natl Acad Sci U S A 2010; 107(2): 565–570.
- 10 Taneja V, Vertegel A, Langan EM 3rd, Laberge M. Influence of topography of an endovascular stent material on smooth muscle cell response. Ann Vasc Surg 2011; 25(5): 675–685.
- 11 Han L, Yin Q, Yang L, van Rijn P, Yang Y, Liu Y, Li M, Yan M, Zhou Q, Yu T, Lian Z. Biointerface topography regulates phenotypic switching and cell apoptosis in vascular smooth muscle cells. Biochem Biophys Res Commun 2020; 526(3): 841–847.
- 12 Ford AJ, Rajagopalan P. Extracellular matrix remodeling in 3D: implications in tissue homeostasis and disease progression. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol 2018; 10(4): e1503.
- 13 Ngai D, Lino M, Bendeck MP. Cell-matrix interactions and matricrine signaling in the pathogenesis of vascular calcification. Front Cardiovasc Med 2018; 5: 174.
- 14 Hao H, Ropraz P, Verin V, Camenzind E, Geinoz A, Pepper

Michael S, Gabbiani G, Bochaton-Piallat ML. Heterogeneity of smooth muscle cell populations cultured from pig coronary artery. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2002; 22(7): 1093–1099.

- 15 Ron A, Azeloglu EU, Calizo RC, Hu M, Bhattacharya S, Chen Y, Jayaraman G, Lee S, Neves-Zaph SR, Li H, Gordon RE, He JC, Hone JC, Iyengar R. Cell shape information is transduced through tension-independent mechanisms. Nat Commun 2017; 8(1): 2145.
- 16 Allahverdian S, Chaabane C, Boukais K, Francis GA, Bochaton-Piallat ML. Smooth muscle cell fate and plasticity in atherosclerosis. Cardiovasc Res 2018; 114(4): 540–550.
- 17 Liu M, Gomez D. Smooth muscle cell phenotypic diversity. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2019; 39(9): 1715–1723.
- 18 Allahverdian S, Chehroudi Ali C, McManus Bruce M, Abraham T, Francis Gordon A. Contribution of intimal smooth muscle cells to cholesterol accumulation and macrophage-like cells in human atherosclerosis. Circulation 2014; 129(15): 1551–1559.
- 19 Lacolley P, Regnault V, Nicoletti A, Li Z, Michel JB. The vascular smooth muscle cell in arterial pathology: a cell that can take on multiple roles. Cardiovasc Res 2012; 95(2): 194–204.
- 20 Curcio A, Torella D, Indolfi C. Mechanisms of smooth muscle cell proliferation and endothelial regeneration after vascular injury and stenting: approach to therapy. Circ J 2011; 75(6): 1287–1296.
- Schmauss D, Weis M. Cardiac allograft vasculopathy: recent developments. Circulation 2008; 117(16): 2131– 2141.
- 22 Klein EA, Yin L, Kothapalli D, Castagnino P, Byfield FJ, Xu T, Levental I, Hawthorne E, Janmey PA, Assoian RK. Cell-cycle control by physiological matrix elasticity and *in vivo* tissue stiffening. Curr Biol 2009; 19(18): 1511–1518.
- 23 Yu CK, Xu T, Assoian RK, Rader DJ. Mining the stiffness-sensitive transcriptome in human vascular smooth muscle cells identifies long noncoding RNA stiffness regulators. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2018; 38(1): 164– 173.
- 24 Dieffenbach PB, Haeger CM, Coronata AMF, Choi KM, Varelas X, Tschumperlin DJ, Fredenburgh LE. Arterial stiffness induces remodeling phenotypes in pulmonary artery smooth muscle cells via YAP/TAZ-mediated repression of cyclooxygenase-2. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2017; 313(3): L628–L647.
- 25 Thakar RG, Ho F, Huang NF, Liepmann D, Li S. Regulation of vascular smooth muscle cells by micropatterning. Biochem Biophys Res Commun 2003; 307(4): 883–890.
- 26 Isenberg BC, Dimilla PA, Walker M, Kim S, Wong JY.

Vascular smooth muscle cell durotaxis depends on substrate stiffness gradient strength. Biophys J 2009; 97(5): 1313–1322.

- 27 Tracqui P, Broisat A, Toczek J, Mesnier N, Ohayon J, Riou L.
  Mapping elasticity moduli of atherosclerotic plaque *in situ* via atomic force microscopy. J Struct Biol 2011; 174(1): 115–123.
- 28 Hartman CD, Isenberg BC, Chua SG, Wong JY. Vascular smooth muscle cell durotaxis depends on extracellular matrix composition. Proc Natl Acad Sci U S A 2016; 113(40): 11190–11195.
- 29 Huynh J, Bordeleau F, Kraning-Rush CM, Reinhart-King CA. Substrate stiffness regulates pdgf-induced circular dorsal ruffle formation through MLCK. Cell Mol Bioeng 2013; 6(2): 10.1007/s12195-013-0278-7.
- 30 Peyton SR, Putnam AJ. Extracellular matrix rigidity governs smooth muscle cell motility in a biphasic fashion. J Cell Physiol 2005; 204(1): 198–209.
- 31 Jana S, Hu M, Shen M, Kassiri Z. Extracellular matrix, regional heterogeneity of the aorta, and aortic aneurysm. Exp Mol Med 2019; 51(12): 1–15.
- 32 Coelho NM, Wang A, McCulloch CA. Discoidin domain receptor 1 interactions with myosin motors contribute to collagen remodeling and tissue fibrosis. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res 2019; 1866(11): 118510.
- 33 Ding Y, Han Y, Lu Q, An J, Zhu H, Xie Z, Song P, Zou MH. Peroxynitrite-mediated SIRT (Sirtuin)-1 inactivation contributes to nicotine-induced arterial stiffness in mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2019; 39(7): 1419–1431.
- 34 Gialeli C, Theocharis AD, Karamanos NK. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. FEBS J 2011; 278(1): 16–27.
- 35 Liu P, Song Y, Zhou Y, Liu Y, Qiu T, An Q, Song J, Li P, Shi Y, Li S, Quan K, Yang GY, Zhu W. Cyclic mechanical stretch induced smooth muscle cell changes in cerebral aneurysm progress by reducing collagen type IV and collagen type VI levels. Cell Physiol Biochem 2018; 45(3): 1051–1060.
- 36 Manou D, Caon I, Bouris P, Triantaphyllidou IE, Giaroni C, Passi A, Karamanos NK, Vigetti D, Theocharis AD. The complex interplay between extracellular matrix and cells in tissues. Methods Mol Biol 2019; 1952: 1–20.
- 37 Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. J Clin Invest 1994; 94(6): 2493–2503.
- 38 Myasoedova VA, Chistiakov DA, Grechko AV, Orekhov AN. Matrix metalloproteinases in pro-atherosclerotic arterial remodeling. J Mol Cell Cardiol 2018; 123: 159–167.

- 39 Tian B, Ding X, Song Y, Chen W, Liang J, Yang L, Fan Y, Li S, Zhou Y. Matrix stiffness regulates SMC functions via TGF-β signaling pathway. Biomaterials 2019; 221: 119407.
- 40 Ivanov V, Roomi MW, Kalinovsky T, Niedzwiecki A, Rath M. Bioflavonoids effectively inhibit smooth muscle cellmediated contraction of collagen matrix induced by angiotensin II. J Cardiovasc Pharmacol 2005; 46(5): 570–576.
- 41 Coelho NM, Arora PD, van Putten S, Boo S, Petrovic P, Lin AX, Hinz B, McCulloch CA. Discoidin domain receptor 1 mediates myosin-dependent collagen contraction. Cell Rep 2017; 18(7): 1774–1790.
- 42 Ingber DE. Cellular mechanotransduction: putting all the pieces together again. FASEB J 2006; 20(7): 811–827.
- 43 Chien S. Mechanotransduction and endothelial cell homeostasis: the wisdom of the cell. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2007; 292(3): H1209–H1224.
- 44 Uhler C, Shivashankar GV. Regulation of genome organization and gene expression by nuclear mechanotransduction. Nat Rev Mol Cell Biol 2017; 18(12): 717–727.
- 45 Mederos YSM, Storch U, Gudermann T. Mechanosensitive G(q/11) protein-coupled receptors mediate myogenic vasoconstriction. Microcirculation 2016; 23(8): 621–625.
- Hill-Eubanks DC, Gonzales AL, Sonkusare SK, Nelson MT.
  Vascular TRP channels: performing under pressure and going with the flow. Physiology (Bethesda) 2014; 29(5): 343–360.
- 47 Lacolley P, Regnault V, Segers P, Laurent S. Vascular smooth muscle cells and arterial stiffening: Relevance in development, aging, and disease. Physiol Rev 2017; 97(4): 1555–1617.
- 48 Hu Y, Bock G, Wick G, Xu Q. Activation of PDGF receptor alpha in vascular smooth muscle cells by mechanical stress. FASEB J 1998; 12(12): 1135–1142.
- 49 Wernig F, Mayr M, Xu Q. Mechanical stretch-induced apoptosis in smooth muscle cells is mediated by β1-integrin signaling pathways. Hypertension 2003; 41(4): 903–911.
- 50 Hays TT, Ma B, Zhou N, Stoll S, Pearce WJ, Qiu H. Vascular smooth muscle cells direct extracellular dysregulation in aortic stiffening of hypertensive rats. Aging cell 2018; 17(3): e12748.
- 51 Mao X, Said R, Louis H, Max J-P, Bourhim M, Challande P, Wahl D, Li Z, Regnault V, Lacolley P. Cyclic stretchinduced thrombin generation by rat vascular smooth muscle cells is mediated by the integrin αvβ3 pathway. Cardiovasc Res 2012; 96(3): 513–523.
- 52 He Y, Zou P, Lu Y, Jia D, Li X, Yang H, Tang L, Zhu Z, Tu T, Tai S, Xiao Y, Chen M, Lu L, Zhou S. Osteoprotegerin promotes intimal hyperplasia and contributes to in-stent restenosis: Role of an alphaVbeta3/FAK dependent YAP path-

way. J Mol Cell Cardiol 2020; 139: 1-13.

- 53 Liu G, Hitomi H, Hosomi N, Lei B, Pelisch N, Nakano D, Kiyomoto H, Ma H, Nishiyama A. Mechanical stretch potentiates angiotensin II-induced proliferation in spontaneously hypertensive rat vascular smooth muscle cells. Hypertens Res 2010; 33(12): 1250–1257.
- 54 Retailleau K, Duprat F, Arhatte M, Ranade SS, Peyronnet R, Martins JR, Jodar M, Moro C, Offermanns S, Feng Y, Demolombe S, Patel A, Honoré E. Piezo1 in smooth muscle cells is involved in hypertension-dependent arterial remodeling. Cell Rep 2015; 13(6): 1161–1171.
- 55 Earley S, Waldron Brian J, Brayden Joseph E. Critical role for transient receptor potential channel TRPM4 in myogenic constriction of cerebral arteries. Circ Res 2004; 95(9): 922– 929.
- 56 Franco C, Hou G, Ahmad PJ, Fu EY, Koh L, Vogel WF, Bendeck MP. Discoidin domain receptor 1 (ddr1) deletion decreases atherosclerosis by accelerating matrix accumulation and reducing inflammation in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. Circ Res 2008; 102(10): 1202– 1211.
- 57 Ahmad PJ, Trcka D, Xue S, Franco C, Speer MY, Giachelli CM, Bendeck MP. Discoidin domain receptor-1 deficiency attenuates atherosclerotic calcification and smooth muscle cell-mediated mineralization. Am J Pathol 2009; 175(6): 2686–2696.
- 58 Brown XQ, Bartolak-Suki E, Williams C, Walker ML, Weaver VM, Wong JY. Effect of substrate stiffness and PDGF on the behavior of vascular smooth muscle cells: implications for atherosclerosis. J Cell Physiol 2010; 225(1): 115–122.
- 59 Yamamura A, Nayeem MJ, Al Mamun A, Takahashi R, Hayashi H, Sato M. Platelet-derived growth factor up-regulates Ca<sup>2+</sup>-sensing receptors in idiopathic pulmonary arterial hypertension. FASEB J 2019; 33(6): 7363–7374.
- 60 Seo KW, Lee SJ, Kim YH, Bae JU, Park SY, Bae SS, Kim CD. Mechanical stretch increases MMP-2 production in vascular smooth muscle cells via activation of PDGFRbeta/Akt signaling pathway. PLoS One 2013; 8(8): e70437.
- 61 Cheng J, Du J. Mechanical stretch simulates proliferation of venous smooth muscle cells through activation of the insulinlike growth factor-1 receptor. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2007; 27(8): 1744–1751.
- 62 Liu G, Hitomi H, Hosomi N, Lei B, Nakano D, Deguchi K, Mori H, Masaki T, Ma H, Griendling KK, Nishiyama A. Mechanical stretch augments insulin-induced vascular smooth muscle cell proliferation by insulin-like growth factor-1 receptor. Exp Cell Res 2011; 317(17): 2420–2428.
- 63 Wang Y, Hu G, Liu F, Wang X, Wu M, Schwarz JJ, Zhou J.

Deletion of yes-associated protein (YAP) specifically in cardiac and vascular smooth muscle cells reveals a crucial role for YAP in mouse cardiovascular development. Circ Res 2014; 114(6): 957–965.

- 64 Wang Y, Cao W, Cui J, Yu Y, Zhao Y, Shi J, Wu J, Xia Z, Yu B, Liu J. Arterial wall stress induces phenotypic switching of arterial smooth muscle cells in vascular remodeling by activating the YAP/TAZ signaling pathway. Cell Physiol Biochem 2018; 51(2): 842–853.
- 65 Wang X, Hu G, Gao X, Wang Y, Zhang W, Harmon EY, Zhi X, Xu Z, Lennartz MR, Barroso M, Trebak M, Chen C, Zhou J. The induction of yes-associated protein expression after arterial injury is crucial for smooth muscle phenotypic modulation and neointima formation. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2012; 32(11): 2662–2669.
- 66 Mui KL, Bae YH, Gao L, Liu SL, Xu T, Radice GL, Chen CS, Assoian RK. N-cadherin induction by ecm stiffness and fak overrides the spreading requirement for proliferation of vascular smooth muscle cells. Cell Rep 2015; 10(9): 1477– 1486.
- 67 Chaterji S, Kim P, Choe SH, Tsui JH, Lam CH, Ho DS, Baker AB, Kim DH. Synergistic effects of matrix nanotopography and stiffness on vascular smooth muscle cell function. Tissue Eng Part A 2014; 20(15–16): 2115–2126.
- 68 Sazonova OV, Isenberg BC, Herrmann J, Lee KL, Purwada A, Valentine AD, Buczek-Thomas JA, Wong JY, Nugent MA. Extracellular matrix presentation modulates vascular smooth muscle cell mechanotransduction. Matrix Biol 2015; 41: 36–43.
- 69 Bao H, Li HP, Shi Q, Huang K, Chen XH, Chen YX, Han Y, Xiao Q, Yao QP, Qi YX. Lamin A/C negatively regulated by miR-124-3p modulates apoptosis of vascular smooth muscle cells during cyclic stretch application in rats. Acta Physiol 2020; 228(3): e13374.
- 70 Kelly GT, Faraj R, Zhang Y, Maltepe E, Fineman JR, Black SM, Wang T. Pulmonary endothelial mechanical sensing and signaling, a story of focal adhesions and integrins in ventilator induced lung injury. Front Physiol 2019; 10: 511.
- 71 Finney AC, Stokes KY, Pattillo CB, Orr AW. Integrin signaling in atherosclerosis. Cell Mol Life Sci 2017; 74(12): 2263–2282.
- 72 Filipek S. Molecular switches in GPCRs. Curr Opin Struct Biol 2019; 55: 114–120.
- 73 Nash CA, Nelson CP, Mistry R, Moeller-Olsen C, Christofidou E, Challiss RAJ, Willets JM. Differential regulation of β2-adrenoceptor and adenosine A2B receptor signalling by GRK and arrestin proteins in arterial smooth muscle. Cell Sig 2018; 51: 86–98.
- 74 Nelson MT, Quayle JM. Physiological roles and properties

of potassium channels in arterial smooth muscle. Am J Physiol Cell Physiol 1995; 268(4): C799–C822.

- Scholz N, Monk KR, Kittel RJ, Langenhan T. Adhesion GPCRs as a putative class of metabotropic mechanosensors. Handb Exp Pharmacol 2016; 234: 221–247.
- 76 Yong KW, Li Y, Liu F, Bin G, Lu TJ, Wan Abas WAB, Wan Safwani WKZ, Pingguan-Murphy B, Ma Y, Xu F, Huang G. Paracrine effects of adipose-derived stem cells on matrix stiffness-induced cardiac myofibroblast differentiation via angiotensin II Type 1 receptor and Smad7. Sci Rep 2016; 6: 33067.
- 77 Guharay F, Sachs F. Stretch-activated single ion channel currents in tissue-cultured embryonic chick skeletal muscle. J Physiol 1984; 352: 685–701.
- 78 Gaub BM, Kasuba KC, Mace E, Strittmatter T, Laskowski PR, Geissler SA, Hierlemann A, Fussenegger M, Roska B, Muller DJ. Neurons differentiate magnitude and location of mechanical stimuli. Proc Natl Acad Sci U S A 2020; 117(2): 848–856.
- 79 Knoepp F, Ashley Z, Barth D, Baldin JP, Jennings M, Kazantseva M, Saw EL, Katare R, Alvarez de la Rosa D, Weissmann N, Fronius M. Shear force sensing of epithelial Na<sup>+</sup> channel (ENaC) relies on N-glycosylated asparagines in the palm and knuckle domains of alphaENaC. Proc Natl Acad Sci U S A 2020; 117(1): 717–726.
- 80 Douguet D, Patel A, Xu A, Vanhoutte PM, Honoré E. Piezo ion channels in cardiovascular mechanobiology. Trends Pharmacol Sci 2019; 40(12): 956–970.
- 81 Zhou T, Gao B, Fan Y, Liu Y, Feng S, Cong Q, Zhang X, Zhou Y, Yadav PS, Lin J, Wu N, Zhao L, Huang D, Zhou S, Su P, Yang Y. Piezo1/2 mediate mechanotransduction essential for bone formation through concerted activation of NFAT-YAP1-β-catenin. eLife 2020; 9: e52779.
- 82 Chen X, Wanggou S, Bodalia A, Zhu M, Dong W, Fan JJ, Yin WC, Min HK, Hu M, Draghici D, Dou W, Li F, Coutinho FJ, Whetstone H, Kushida MM, Dirks PB, Song Y, Hui CC, Sun Y, Wang LY, Li X, Huang X. A feedforward mechanism mediated by mechanosensitive ion channel PIEZO1 and tissue mechanics promotes glioma aggression. Neuron 2018; 100(4): 799–815.e7.
- 83 Segel M, Neumann B, Hill MFE, Weber IP, Viscomi C, Zhao C, Young A, Agley CC, Thompson AJ, Gonzalez GA, Sharma A, Holmqvist S, Rowitch DH, Franze K, Franklin RJM, Chalut KJ. Niche stiffness underlies the ageing of central nervous system progenitor cells. Nature 2019; 573(7772): 130–134.
- 84 Prager-Khoutorsky M, Lichtenstein A, Krishnan R, Rajendran K, Mayo A, Kam Z, Geiger B, Bershadsky AD. Fibroblast polarization is a matrix-rigidity-dependent process

controlled by focal adhesion mechanosensing. Nat Cell Biol 2011; 13(12): 1457–1465.

- 85 Konitsiotis AD, Raynal N, Bihan D, Hohenester E, Farndale RW, Leitinger B. Characterization of high affinity binding motifs for the discoidin domain receptor DDR2 in collagen. J Biol Chem 2008; 283(11): 6861–6868.
- 86 Xu H, Raynal N, Stathopoulos S, Myllyharju J, Farndale RW, Leitinger B. Collagen binding specificity of the discoidin domain receptors: Binding sites on collagens II and III and molecular determinants for collagen IV recognition by DDR1. Matrix Biol 2011; 30(1): 16–26.
- 87 Coelho NM, McCulloch CA. Mechanical signaling through the discoidin domain receptor 1 plays a central role in tissue fibrosis. Cell Adh Migr 2018; 12(4): 348–362.
- 88 Hou G, Vogel WF, Bendeck MP. Tyrosine kinase activity of discoidin domain receptor 1 is necessary for smooth muscle cell migration and matrix metalloproteinase expression. Circ Res 2002; 90(11): 1147–1149.
- 89 Lu KK, Trcka D, Bendeck MP. Collagen stimulates discoidin domain receptor 1-mediated migration of smooth muscle cells through Src. Cardiovasc Pathol 2011; 20(2): 71–76.
- 90 Ghosh S, Ashcraft K, Jahid MJ, April C, Ghajar CM, Ruan J, Wang H, Foster M, Hughes DC, Ramirez AG, Huang T, Fan JB, Hu Y, Li R. Regulation of adipose oestrogen output by mechanical stress. Nat Commun 2013; 4: 1821.
- 91 Ngai D, Lino M, Rothenberg KE, Simmons CA, Fernandez-Gonzalez R, Bendeck MP. DDR1 (discoidin domain receptor-1)-RhoA (Ras homolog family member A) axis senses matrix stiffness to promote vascular calcification. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2020; 40(7): 1763–1776.
- 92 Mukherjee S, Tessema M, Wandinger-Ness A. Vesicular trafficking of tyrosine kinase receptors and associated proteins in the regulation of signaling and vascular function. Circ Res 2006; 98(6): 743–756.
- 93 Wang L, Luo JY, Li B, Tian XY, Chen LJ, Huang Y, Liu J, Deng D, Lau CW, Wan S, Ai D, Mak KK, Tong KK, Kwan KM, Wang N, Chiu JJ, Zhu Y, Huang Y. Integrin-YAP/TAZ-JNK cascade mediates atheroprotective effect of unidirectional shear flow. Nature 2016; 540(7634): 579–582.
- 94 Martino F, Perestrelo AR, Vinarský V, Pagliari S, Forte G. Cellular mechanotransduction: from tension to function. Front Physiol 2018; 9: 824–824.
- 95 Bae YH, Mui KL, Hsu BY, Liu SL, Cretu A, Razinia Z, Xu T, Puré E, Assoian RK. A FAK-Cas-Rac-lamellipodin signaling module transduces extracellular matrix stiffness into mechanosensitive cell cycling. Sci Sig 2014; 7(330): ra57.
- 96 Pandey P, Hawkes W, Hu J, Megone WV, Gautrot J, Anilkumar N, Zhang M, Hirvonen L, Cox S, Ehler E, Hone J,

Sheetz M, Iskratsch T. Cardiomyocytes sense matrix rigidity through a combination of muscle and non-muscle myosin contractions. Dev Cell 2018; 44(3): 326–336.e3.

- 97 Maurer M, Lammerding J. The driving force: nuclear mechanotransduction in cellular function, fate, and disease. Ann Rev Biomed Eng 2019; 21: 443–468.
- 98 Xia Y, Pfeifer CR, Cho S, Discher DE, Irianto J. Nuclear mechanosensing. Emerg Top Life Sci 2018; 2(5): 713–725.
- 99 Yang F, Zhang Y, Zhu J, Wang J, Jiang Z, Zhao C, Yang Q, Huang Y, Yao W, Pang W, Han L, Zhou J. Laminar flow protects vascular endothelial tight junctions and barrier function via maintaining the expression of long non-coding RNA MALAT1. Front Bioeng Biotechnol 2020; 8: 647.
- 100 Heldin CH, Miyazono K, ten Dijke P. TGF-β signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. Nature 1997; 390(6659): 465–471.
- 101 Morikawa M, Derynck R, Miyazono K. TGF-β and the TGF-β family: context-dependent roles in cell and tissue physiology. Cold Spring Harb Perspect Biol 2016; 8(5): a021873.
- 102 Goumans MJ, Ten Dijke P. TGF-β signaling in control of cardiovascular function. Cold Spring Harb Perspect Biol 2018; 10(2): a022210.
- 103 Yu FX, Zhao B, Guan KL. Hippo pathway in organ size control, tissue homeostasis, and cancer. Cell 2015; 163(4): 811–828.
- 104 Zanconato F, Cordenonsi M, Piccolo S. YAP/TAZ at the roots of cancer. Cancer Cell 2016; 29(6): 783–803.
- 105 He J, Bao Q, Yan M, Liang J, Zhu Y, Wang C, Ai D. The role of Hippo/yes-associated protein signalling in vascular remodelling associated with cardiovascular disease. Br J Pharmacol 2018; 175(8): 1354–1361.
- 106 Shen Y, Wang X, Lu J, Salfenmoser M, Wirsik NM, Schleussner N, Imle A, Freire Valls A, Radhakrishnan P, Liang J, Wang G, Muley T, Schneider M, Ruiz de Almodovar C, Diz-Muñoz A, Schmidt T. Reduction of liver metastasis stiffness improves response to bevacizumab in metastatic colorectal cancer. Cancer Cell 2020; 37(6): 800–817.e7.

- 107 Greissel A, Culmes M, Napieralski R, Wagner E, Gebhard H, Schmitt M, Zimmermann A, Eckstein HH, Zernecke A, Pelisek J. Alternation of histone and DNA methylation in human atherosclerotic carotid plaques. Thromb Haemost 2015; 114(2): 390–402.
- 108 Hiltunen MO, Yla-Herttuala S. DNA methylation, smooth muscle cells, and atherogenesis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23(10): 1750–1753.
- 109 Lyko F. The DNA methyltransferase family: a versatile toolkit for epigenetic regulation. Nat Rev Genet 2018; 19(2): 81– 92.
- 110 Zhang YP, Huang YT, Huang TS, Pang W, Zhu JJ, Liu YF, Tang RZ, Zhao CR, Yao WJ, Li YS, Chien S, Zhou J. The mammalian target of rapamycin and DNA methyltransferase 1 axis mediates vascular endothelial dysfunction in response to disturbed flow. Sci Rep 2017; 7(1): 14996.
- 111 Zhou J, Li YS, Wang KC, Chien S. Epigenetic mechanism in regulation of endothelial function by disturbed flow: Induction of DNA hypermethylation by DNMT1. Cell Mol Bioeng 2014; 7(2): 218–224.
- 112 Connelly JJ, Cherepanova OA, Doss JF, Karaoli T, Lillard TS, Markunas CA, Nelson S, Wang T, Ellis PD, Langford CF, Haynes C, Seo DM, Goldschmidt-Clermont PJ, Shah SH, Kraus WE, Hauser ER, Gregory SG. Epigenetic regulation of COL15A1 in smooth muscle cell replicative aging and atherosclerosis. Hum Mol Genet 2013; 22(25): 5107– 5120.
- 113 Xu L, Hao H, Hao Y, Wei G, Li G, Ma P, Xu L, Ding N, Ma S, Chen AF, Jiang Y. Aberrant MFN2 transcription facilitates homocysteine-induced VSMCs proliferation via the increased binding of c-Myc to DNMT1 in atherosclerosis. J Cell Mol Med 2019; 23(7): 4611–4626.
- 114 Liu YF, Zhu JJ, Yu Tian X, Liu H, Zhang T, Zhang YP, Xie SA, Zheng M, Kong W, Yao WJ, Pang W, Zhao CR, Tang YJ, Zhou J. Hypermethylation of mitochondrial DNA in vascular smooth muscle cells impairs cell contractility. Cell Death Dis 2020; 11(1): 35.

174