

# T型分叉流槽中前列环素和内皮素分泌的研究

胡嘉, 胡江, 高宇欣, 陶祖莱  
(中国科学院力学研究所国家微重力实验室, 北京 100080)

**摘要:** 动脉粥样硬化(atherosclerosis)的非随机分布与当地的血流动力环境有关。借助平行平板式平直流槽和以T型分叉流槽为代表的平行平板式异型流槽, 可以模拟血管的主要形状特征。首先, 在数值模拟的基础上分析了流型特征参数, 确定了流槽的设计尺寸。然后, 通过实验研究, 探讨流型改变对内皮细胞血管活性物质分泌的影响, 发现扩张效应流线偏转和驻点效应使得异型流槽前列环素和内皮素的分泌水平与相同入口雷诺数( $Re$ )条件下的平直流槽分别有降低趋势和显著差异。为进一步研究流型对血管内皮细胞的影响提供了实验数据。

**关键词:** 剪应力; 流型; 内皮细胞; 前列环素; 内皮素

**中图分类号:** Q6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-6737(2002)04-0452-04

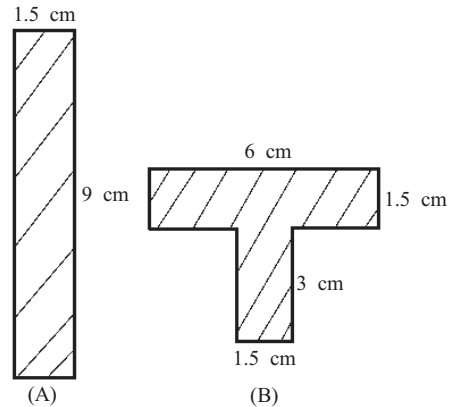
20世纪60年代, 人们发现动脉粥样硬化多发于大中动脉及血管的分支、分叉和弯曲处, 而这些位置的流动通常表现出低剪应力、扰动、流体分离和涡流等特征, 从而逐渐认识到当地的血流动力学因素尤其是剪应力在动脉粥样硬化的形成与分布过程中起着极其重要的作用<sup>[1]</sup>。动脉树中大部分血管区域受到较均一的层流剪切作用, 已有的体外实验研究主要集中在流动剪应力的大小对血管功能的影响, 发现剪应力可影响内皮细胞的生长<sup>[2]</sup>, 并试图在细胞的力学感受机理上阐明其信号传导途径。然而最近的研究表明扰动的流场中内皮细胞的应答并不一致, 这与体内观察到的早期粥样硬化区域的非随机分布特征是相符的, 表明由血管的几何尺寸引起的流动改变有可能影响当地血管的功能。为此, 我们在体外研究中构建了平行板式平直流槽和T型分叉流槽, 研究流型发生变化的条件下血管内皮细胞应答的差异。

## 1 材料和方法

### 1.1 流动系统

流室系统的设计参考 Stephen 等<sup>[3]</sup>的实验装置并加以改进而成。平行板式流槽的尺寸如图1所示, 阴影区域为细胞实际培养区域。平直流槽和T型分叉流槽的高度均为 0.52 mm。流槽的底板用医用级聚碳酸酯加工, 垫片为聚四氟乙烯膜, 流室

上板为培养有细胞的玻片。通过不锈钢的盖板与流槽底板用螺丝固定, 封闭流室。灌注液由双柱塞平流泵驱动, 保证定常层流的稳定性, 系统在 37℃、5% CO<sub>2</sub>-95%空气的条件下进行流动作用。流槽和硅胶管路消毒采用高压灭菌(垫片用 75%乙醇浸泡), 泵用 75%乙醇灭菌<sup>[4]</sup>。



**Fig.1** The size of flow chamber and cell culture area. (A)Rectangle flow chamber; (B)T-bifurcation flow chamber

### 1.2 细胞培养

原代分离培养新生牛主动脉血管内皮细胞, 所

收稿日期: 2002-03-25

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(19732003)

作者简介: 胡嘉, 硕士生, 1975年生, 电话: (010)62558142,

E-mail: hujia0601@sina.com.

用细胞为同一供体来源的 5-11 代细胞。培养基为 1640、10%胎牛血清、添加 1%的谷氨酰胺和双抗(均购自 Hyclone 公司)。CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。所用培养基底均用 1%的明胶(Sigma 公司)预处理。

### 1.3 流场数值模拟

通过对流场进行数值模拟，设计了满足实验要求的模型尺寸，所用软件为 FLUENT5.5 (Fluent Inc.)，得出相同入口 *Re* 数条件下的流线图和壁面剪应力分布图，并计算细胞生长区域的平均剪应力大小。

### 1.4 流动作用

细胞种植在 1.5 mm 厚的玻片上，硅胶膜 (Sygald 184, Dow Corning 公司) 框架限制其生长区域，与图 1 中的阴影区域一致。细胞汇合后，去掉框架，无菌条件下安装成流动系统，并通过旁路去气泡，开启平流泵，进行流体动力加载。灌注液成分同培养基，总体积为 35 ml。每隔 2 h 从储液瓶中收集样品上清液，并补加相同体积的新鲜灌注液。对照组细胞同样培养在相同面积的玻片上。

### 1.5 血管活性物质的测定

前列环素和内皮素的测定用放免法。

### 1.6 统计

结果表示为  $\bar{x} \pm s$ ，显著性检验用 Student's *t*-test 方法。

## 2 结 果

### 2.1 流场的数值模拟结果和分析

流动腔内流动的入口 *Re* 数估算公式为<sup>[3]</sup>:

$$Re = \frac{2\rho WHU}{\mu(W+H)}$$

其中，流体的密度  $\rho=1$  g/ml，流体的动力粘性系数  $\mu=0.011$  P，流室的高度  $H=0.052$  cm，宽度  $W=1.5$  cm。*U* 为入口速度(cm/s)。

当入口 *Re* 数为 37.2 时，计算所得的壁面平均剪应力大小分别为 9.30 dyne/cm<sup>2</sup>。对于 T 型分叉流槽，在入口 *Re* 数为 37.2 的条件下，分析其流动特征如下。

如图 2 所示，流体从左侧入口进入流槽，在入口段流动充分发展后，剪应力保持一个恒定值。在入口段末端的两个角点处，由于流线偏转，速度变化剧烈，剪应力的变化达到极大值。在流线偏转后，剪应力的变化趋势逐渐变缓慢。随着流动的发展，在驻点区域外，剪应力逐渐过渡为一恒定值。

这说明在此区域内，流动充分发展，速度不变。剪应力在接近出口处，约为 4 dyne/cm<sup>2</sup>。从图中还可以看到，在驻点处，剪应力为零，而驻点附近区域为低剪应力区域。随着雷诺数的增加，这个区域范围也会变大。

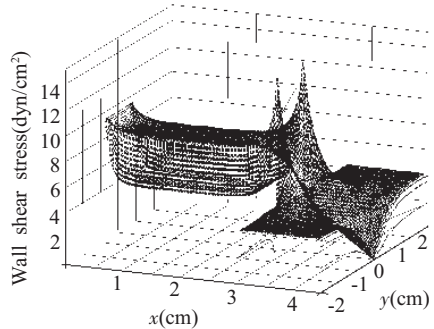


Fig.2 Contours of wall shear stress in T-bifurcation flow chamber

### 2.2 流型对血管活性物质分泌的影响

在相同的入口 *Re* 数下，比较血管活性物质 PGI<sub>2</sub> 和 ET-1 分泌的变化。在入口 *Re* 数为 37.2 条件下，对于平直流槽，计算所得其平均壁面剪应力为 9.30 dyne/cm<sup>2</sup>，而 T 型分叉流槽中存在剪应力的空间分布。在流动作用下，前列环素的分泌表现出 2 h 内的爆发释放，随后以一较稳定的速率持续分泌(图 3)。T 型分叉流槽中 PGI<sub>2</sub> 的分泌低于相同

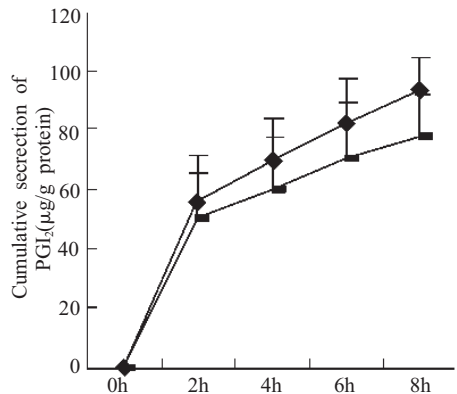
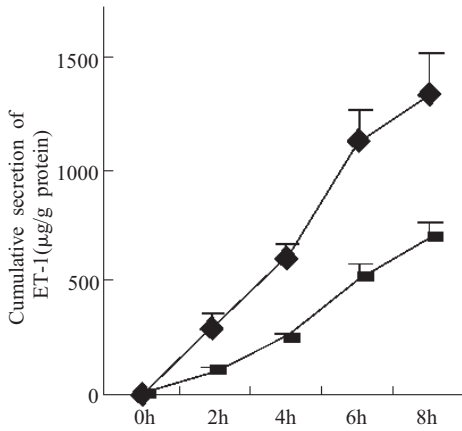


Fig.3 Cumulative secretion of PGI<sub>2</sub> in different flow pattern at *Re* number 37.2. ◆ Rectangle flow chamber □ T-bifurcation flow chamber

入口条件下的平直流槽，在 8 h 时分泌总量存在差异(平直流槽为(93.67±10.47) µg/g protein, T 型分叉流槽为(77.87±14.07) µg/g protein, *P*<0.1)。内皮素的累积分泌随流动作用的时间延长而增加，表现出时间依赖性(图 4)。8 h 时平直流槽与 T 型分叉流槽中的内皮素分泌总量存在显著差异(平直流槽为(1339.01±167.06) µg/g protein, T 型分叉流槽为(700.61±59.69) µg/g protein, *P*<0.01)。



**Fig.4** Cumulative secretion of ET-1 in different flow pattern at *Re* number 37.2.  $\blacklozenge$  Rectangle flow chamber  $\blacksquare$  T-bifurcation flow chamber

### 3 讨 论

动脉粥样硬化常发于大血管的分支、分叉和弯曲处，而这些区域的流动特征不同于动脉树的平直段。基于体内实验研究的困难，有必要在体外构建流型系统来研究特定流型的影响。对于流动随时间变化的流动系统已有较多的研究<sup>[6]</sup>，而在体外研究随空间变化的流场效应较少。而复杂的三维血管支架的制作与均匀的内皮化技术尚在发展之中<sup>[7]</sup>。我们在常用的平行板式流槽的基础上，发展了 T 型分叉流槽，解决了内皮细胞种植形成完整内皮层的问题。为了与平直流槽进行比较，通过框架限制细胞的生长范围，生长区域均为 13.5 cm<sup>2</sup>，这样在相同的灌注液体积下，消除了由于细胞个数的差异引起的旁分泌因子相互作用的差异。在我们构建的流型模拟系统中，数值模拟表明，由于流动的扩张、

流线的偏转和驻点的存在，改变了壁面剪应力的分布，发现与平直流槽相比，在相同的入口条件下，血管活性物质的分泌有显著的差异，表明流动沿空间的变化可以引起血管功能的改变，这种差异在血管功能的调节和动脉粥样硬化的发生中有重要意义。另一方面，在细胞水平上这种流动的变化是如何被感受到的仍不清楚，牵张整和力模型和细胞形状微模式研究有助于解决这一问题。

### 参考文献:

- [1] Gimbrone MA. Vascular endothelium, hemodynamic forces and atherogenesis[J]. *Am J Pathol*, 1999,155:1-5.
- [2] Dewey CF, Bussolari SR, Gimbrone J, et al. The dynamic response of vascular endothelial cells to fluid shear stress[J]. *Biomech Eng*, 1981,103:177-185.
- [3] Stephen G, Shunichi U, Jan KM, et al. Shear stress-induced detachment of human polymorph nuclear leukocytes from endothelial cell monolayers[J]. *Biorheology*, 1989,26:823-834.
- [4] Frangos JA, Eskin SG, McIntire LV, et al. Flow effects on prostacyclin production by cultured human endothelial cells [J]. *Science*, 1985,277:1477.
- [5] Kooten van TG, Schakenraad JM. Development and use of a parallel-plate flow chamber for studying cellular adhesion to solid surfaces[J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1992,26:728
- [6] Nerem RM, Alexander RW, Chappell DC, et al. The study of the influence of flow on vascular endothelial biology[J]. *Am J Med Sci*, 1998,316:169-175.
- [7] Terada S, Sato M, Sevy A, et al. Tissue engineering in the twenty-first century[J]. *Yonsei Med J*, 2000,41:685-691.

## THE SECRETION OF PGI<sub>2</sub> AND ET-1 IN T-BIFURCATION FLOW CHAMBER

HU Jia, HU Jiang, GAO Yu-xin, TAO Zu-lai

*(National Microgravity Laboratory, Institute of Mechanics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)*

**Abstract:** The non-random distribution of atherosclerosis was related to local hemodynamic environment. Using the mended parallel plate flow apparatus, such as the parallel plate rectangle and T-bifurcation flow chamber, and reciprocating syringe pump providing fluid flow, endothelial culture models were established in vitro with the same environment factors as steady culture. A numerical calculation procedure based on the finite volume method was employed to simulate flow fields in both flow chambers. The effect of flow pattern on vasoactive mediators secretion was studied. It was shown that at the same entrance  $Re$  number, the secretion of PGI<sub>2</sub> was decreased and the secretion of ET-1 was significantly decreased in T-Bifurcation flow chamber compared to uniform laminar shear stress in rectangle flow chamber during 8 h flow period. In conclusion, the spatial distribution of fluid shear stress influenced the local secretion of vasoactive mediators, such as PGI<sub>2</sub> and ET-1.

**Key Words:** Shear stress; Flow pattern; Endothelial cell; PGI<sub>2</sub>; ET-1