

周期性应变诱导人肺上皮细胞 整联蛋白再分布的研究*

张惠静¹⁾** 杨力²⁾ 蔡绍哲³⁾ 卢晓³⁾ 王远亮³⁾

(¹⁾ 第三军医大学医学检验系, 重庆 400038;

²⁾ Department of Bioengineering and Orthopedics, University of California, San Diego, CA 92093-0656, USA;

³⁾ 重庆大学生物工程学院, 生物力学与组织工程教育部重点实验室, 重庆 400044)

摘要 为了探讨机械拉伸应变对人肺上皮细胞表面整联蛋白 α_3 、 α_5 和 β_1 分布的调控作用, 建立了体外周期性拉伸应变装置, 并应用胞外基质蛋白——纤连蛋白 (Fn)、胶原蛋白 IV (Col IV) 裱衬基底膜, 激光共聚焦显微镜分析了在应变为 15%, 频率为 40 次/min 的拉伸刺激下, 正常人肺上皮细胞 H727 表面 α_3 、 α_5 和 β_1 整联蛋白的再分布. 结果表明: 在人肺上皮细胞 H727 中, α_3 、 α_5 和 β_1 整联蛋白是对拉伸应变敏感的膜受体, 周期性拉伸刺激可诱导其激活, 使之发生分布的重组, 并向基底层转移, 形成局部粘附连接, 增强了整联蛋白受体与其特异性配体的结合能力. 结果提示: 一个有效的局部粘附连接的形成是受体聚集和配体占据共同启动的一个协调反应, 该反应可能参与了细胞响应机械应力的起始过程, 可能进一步通过力-化学信号的耦合或张力整合的形式, 最终对细胞的生物学行为产生影响.

关键词 周期性拉伸应变, 人肺上皮细胞, 整联蛋白, 局部粘附连接

学科分类号 Q274; R329.2; R318.01

肺上皮细胞是肺脏的重要结构成分之一, 肺正常的气血屏障功能以及损伤后的修复与上皮细胞的增殖、迁移、分化等基本的生物学活动有关. 以前, 针对肺上皮细胞的研究, 大多从其生长的局部微环境出发, 研究的侧重点均集中在生长因子对其生物学行为的调控. 然而, 近年来越来越多的实验研究表明机械力学因素是一个不应忽视的调控因素^[1,2]. 我们在最近的研究也证实: 周期性应变可抑制人肺上皮细胞的增殖^[3]、改变细胞的形态和取向 (待发表). 这就提出一个问题: 肺上皮细胞是如何感应机械应力, 并将这种机械刺激转化成生化信号, 导致一系列生化反应, 引起代谢的改变, 造成对生长改建的影响? 目前, 其确切机制尚不清楚. 以往的研究发现^[4-6]: 在其他细胞系统中, 例如内皮细胞, 当承受剪切力时, 或在受牵拉的心肌细胞、血管平滑肌细胞中, 都存在机械感受器, 在对这些力作出反应时, 细胞均可被活化, 导致一系列的生物学响应. 由于肺器官结构的复杂性和细胞种类的多样性, 迄今为止, 在肺上皮细胞体系中, 对机械拉伸敏感的机械感受器尚待确定. 但是, 无论是哪种肺细胞类型, 它必须有某种膜的或细胞内的机械感受器, 机械感受器和细胞内的生物学信息的运转部分相连接, 导致特殊的基因活化. 针对内皮细胞、平滑肌细胞、成骨细胞等细胞类型的研究

表明, 细胞粘附分子——整联蛋白是发挥这种作用的很好候选者^[7]. 鉴于整联蛋白的生理功能, 它不仅介导细胞与胞外基质的粘附反应, 更重要的是提供了一种细胞外环境调控细胞内活性的渠道, 与细胞的生理机能以及细胞跨膜信号传递密切相关. 因此, 我们在此着重研究了周期性应变对人肺上皮细胞表面 α_3 、 α_5 、 β_1 整联蛋白分布的影响, 为揭示机械力学因素在细胞生理与病理状况下的作用作一些前期性的探讨工作.

1 材料与方法

1.1 细胞培养和试剂

人支气管上皮细胞株 H727 购于 American Type Culture Collection (USA), 培养于 RPMI1640 培养基中 (Hyclone, 内含 5% 胎牛血清, 青霉素 100 U/ml, 链霉素 100 mg/L), 于 CO₂ 培养箱内培养, 温度 37℃, CO₂ 含量 5%.

羊多抗 α_5 (SC-6593)、抗 α_3 (SC-6588)、抗

* 国家自然科学基金重点资助项目 (19732003), 高等学校重点实验室访问学者基金资助项目 (2002).

** 通讯联系人.

Tel: 023-68752307, Fax: 023-68752307

E-mail: Zhanghuijing@mail.tmmu.com.cn

收稿日期: 2003-10-20, 接受日期: 2003-11-29

β_1 (SC-6622) 整联蛋白, 驴抗羊 IgG-FITC (SC-2024) 二抗均购于 Santa Cruz 公司; 牛血清白蛋白 (BSA)、胶原蛋白 IV (Col IV)、纤连蛋白 (Fn) 购于 Sigma 公司.

1.2 实验装置

周期性机械拉伸装置由控制电路、液压动力系统、培养槽 3 个部分组成, 如图 1 所示. 液压动力系统工作时, 将储液瓶中的水泵出, 经过管道流向三通, 然后流入培养槽乳胶管中, 此时, 液体经过三通流过控制系统内的电磁阀, 由电磁阀来控制培养槽中水囊的舒张, 从而使紧贴在乳胶管水囊上的弹性硅橡胶膜膨胀, 拉伸生长在膜上的细胞. 膜的伸长比由电磁阀频率和恒流泵转速来控制.

弹性膜的伸长比 $\lambda = (D_{\max}/D_0)$ (1)
 D_0 : 静态时的管径; $D_{\max}$: 拉伸至最大时的管径.

应变 $\varepsilon = (\lambda - 1) \times 100\%$ (2)

1.3 不同细胞外基质蛋白的裱衬

于 1.2 cm $\times$ 1.6 cm 的弹性硅橡胶膜上, 分别加入浓度为 10 mg/L 的纤连蛋白 (Fn) 和 18 mg/L 的胶原蛋白 IV (Col IV) 1.00 ml, 于 37 $^{\circ}$ C 裱衬过夜、挥干, 基质蛋白在弹性膜表面被吸收并铺展. 裱衬结束后用 PBS 液轻轻洗涤 3 次. 膜上两种基质蛋白的浓度分别约为, Fn: 5 μ g/cm 2 ; Col IV: 9 μ g/cm 2 .

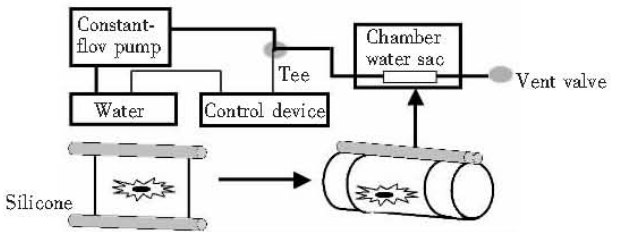


Fig. 1 Cyclic mechanical strain unit

1.4 机械拉伸对整联蛋白再分布的影响

将 5 $\times 10^4$ 个/ml 的 H727 单细胞悬液分别接种于胶原蛋白 IV 和纤连蛋白裱衬后的弹性硅橡胶膜上, 继续培养 24 h. 细胞贴壁并融合生长后, 施加应变为 15%, 频率为 40 次/min 的拉伸刺激 24 h, 应用间接免疫荧光法染色. 首先用 3% 的多聚甲醛固定 30 min, 在 37 $^{\circ}$ C 与 1% 的 BSA 预温育 1 h, PBS 洗涤 3 次. 加入一抗 (稀释比 1:200) 于 37 $^{\circ}$ C 温育 2 h, PBS 洗涤 3 次. 加入二抗 (稀释比 1:200) 于 37 $^{\circ}$ C 温育 2 h, PBS 洗涤 3 次, 用无菌

三蒸水洗涤后, 加入 50% 缓冲甘油封片. 采用激光共聚焦显微镜 (TCSNT 型, Leica, 德国) 扫描测试, 由基底至上断层扫描, 步进 2.0 μ m, 共扫 32 层, 每层重复扫描 10 次, 取平均荧光强度值, 比较对照组和实验组 α_3 、 α_5 和 β_1 整联蛋白的分布状况.

1.5 统计分析

实验结果以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 作组间 t 检验.

2 结 果

2.1 机械拉伸诱导了整联蛋白的再分布

实验和对照细胞经荧光抗体染色后, 激光共聚焦显微镜扫描结果如图 2 ~ 图 7 所示.

α_3 整联蛋白是基质蛋白胶原 IV 的受体, 在静态条件下, 生长在纤连蛋白 (图 2a) 和胶原蛋白 IV (图 3a) 上的细胞表面 α_3 整联蛋白在某些局部区域比较集中, 并且有零散的粘附斑块出现. 加载 24 h 后, 纤连蛋白组 (图 2b) 和胶原组 (图 3b)

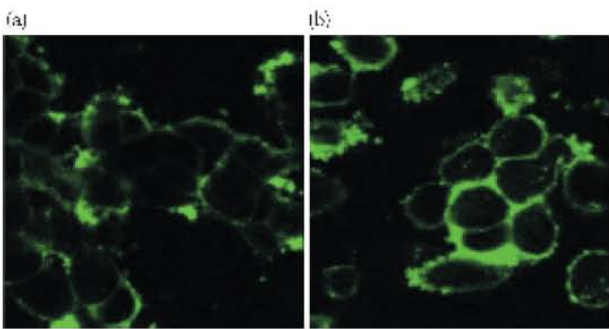


Fig. 2 Spatial redistribution of α_3 integrin induced by mechanical strain

Cells were seeded on fibronectin coated membrane and were subjected to cyclic strain for 24 h (b) or maintained in stationary culture conditions (a).

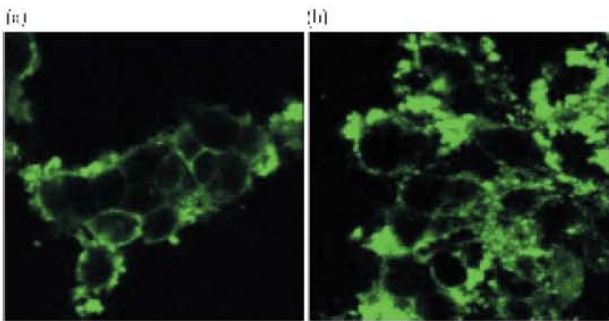


Fig. 3 Spatial redistribution of α_3 integrin induced by mechanical strain

Cells were seeded on collagen IV coated membrane and were subjected to cyclic strain for 24 h (b) or maintained in stationary culture conditions (a).

的 α_3 整联蛋白较之各自的对照组分布更集中, 荧光强度也增强, 形成了较大的局部粘附区域, 此处胶原组的聚集程度和荧光强度均强于纤连蛋白组。

α_5 整联蛋白是基质蛋白纤连蛋白的受体, 在静态条件下, 纤连蛋白组 (图 4a) 和胶原蛋白 IV 组 (图 5a) 上的细胞表面 α_5 整联蛋白相对于实验组呈弥散状斑点分布, 强度也较弱。加载后, 生长在纤连蛋白 (图 4b) 和胶原蛋白 IV (图 5b) 上的细胞表面 α_5 整联蛋白的分布与 α_3 整联蛋白的分布相似, 比其各自的对照组分布更集中并且荧光强度更强, 形成了较大的局部粘附区域, 且有局部粘附斑块出现。此处胶原组的聚集程度和荧光强度弱于纤连蛋白组。

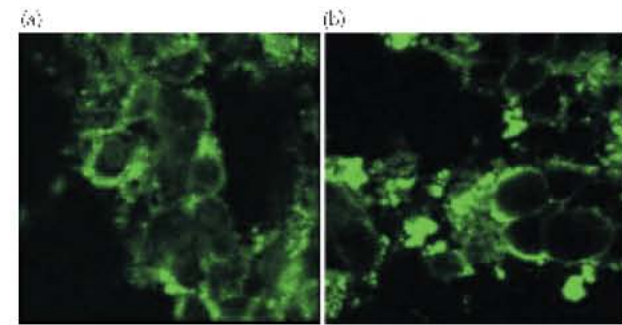


Fig. 4 Spatial redistribution of α_5 integrin induced by mechanical strain

Cells were seeded on fibronectin coated membrane and were subjected to cyclic strain for 24 h (b) or maintained in stationary culture conditions (a).

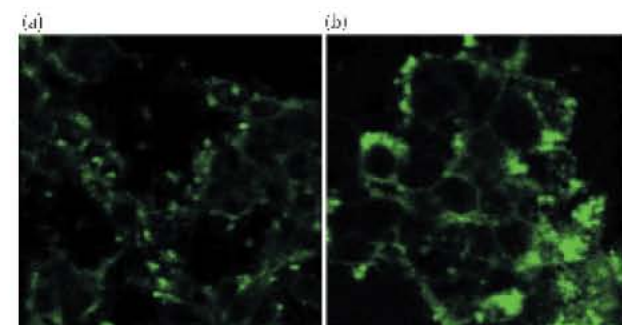


Fig. 5 Spatial redistribution of α_5 integrin induced by mechanical strain

Cells were seeded on collagen IV coated membrane and were subjected to cyclic strain for 24 h (b) or maintained in stationary culture conditions (a).

同样, 对于 β_1 整联蛋白, 图 6 和图 7 分别为 H727 细胞 β_1 整联蛋白在静态和加载条件下的分布示意图。静态时, β_1 整联蛋白在纤连蛋白 (图 6a) 和胶原蛋白 IV (图 7a) 上的分布均有斑点的融合现象, 加载后这种趋势更强, 荧光强度也更强 (图 6b 和图 7b)。

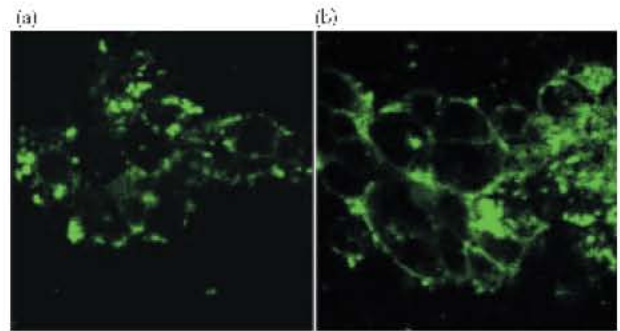


Fig. 6 Spatial redistribution of β_1 integrin induced by mechanical strain

Cells were seeded on fibronectin coated membrane and were subjected to cyclic strain for 24 h (b) or maintained in stationary culture conditions (a).

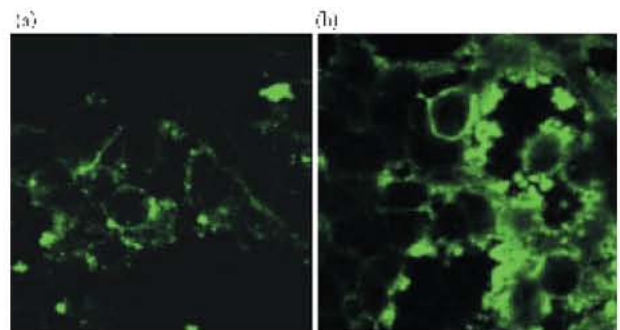


Fig. 7 Spatial redistribution of β_1 integrin induced by mechanical strain

Cells were seeded on collagen IV coated membrane and were subjected to cyclic strain for 24 h (b) or maintained in stationary culture conditions (a).

以上结果表明, 周期性机械拉伸刺激可诱导人肺上皮细胞 H727 表面 α_3 、 α_5 和 β_1 整联蛋白的激活, 使之发生分布的重组, 形成局部粘附连接。通过免疫荧光染色发现, 作为 α 亚单位, α_5 整联蛋白在该细胞中具有较强的荧光强度, 尤其是生长在胶原 IV 上时, 拉伸刺激后, 其聚集程度和荧光强度均最强。

2.2 机械拉伸增强整联蛋白受体与基质配体结合力

图 8a、b、c 分别为 H727 细胞生长在胶原蛋白 IV 上时, 其 α_3 、 α_5 和 β_1 整联蛋白由基底层至上层的平均荧光强度分布图。由图 8 可见, 与其各自的静态对照组相比, 拉伸刺激 24 h 后, 细胞表面 α_3 、 α_5 和 β_1 整联蛋白的分布均发生了改变, 由上至基底层发生了转移, 靠近基底层平均荧光强度更强。通过组间 t 检验, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

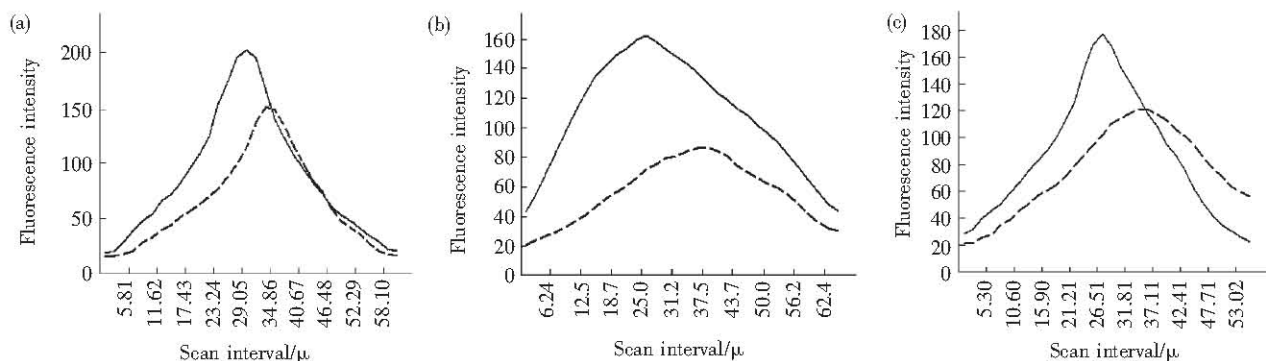


Fig. 8 Fluorescence intensity distribution of α_3 (a), α_5 (b) and β_1 integrin (c) from H727 cellular basal layers to optical layers

---: Control; —: Test.

结合图 2~8 提示: 周期性机械拉伸可诱导人肺上皮细胞 H727 表面 α_3 、 α_5 和 β_1 整联蛋白的激活, 导致 α_3 、 α_5 和 β_1 整联蛋白的分布发生重组, 并向基底层转移, 形成局部粘附连接, 增强了整联蛋白受体与其基质配体的结合能力。

以上针对周期性机械拉伸刺激, 对人肺上皮细胞 H727 表面 α_3 、 α_5 和 β_1 整联蛋白再分布的实验结果表明: 在该细胞中, α_3 、 α_5 和 β_1 三种整联蛋白是对拉伸应变敏感的膜受体, 它们可通过分布的重组来响应机械应力, 并且这种分布变化与配体的反应亲和力有关, 当细胞生长在与整联蛋白相关的特异性配体上时, 应变诱导的分布重组趋势最强。

3 讨 论

目前, 随着细胞力学以及体外模拟模型的进展, 人们逐渐发现许多哺乳动物细胞均具有机械力学感受功能, 即将机械力学刺激转变为细胞内生化信号的机制。细胞膜作为细胞外力学刺激向细胞内生化信号转化的支点, 最早引起人们的注意, 其中, 细胞外基质与膜受体-整联蛋白的相互作用既被认为是细胞与基质间、细胞与细胞间粘附的分子基础, 也被认为是力学信号转导的通道^[8~11]。这是因为: 一方面, 通过受体-配体间的特异性反应, 整联蛋白与基质蛋白形成局部粘附连接, 可及时感受外部环境的变化; 另一方面, 其 β 亚单位的胞内域不仅可与多种骨架蛋白 (如肌动蛋白 actin、纽蛋白 vinculin、踝蛋白 talin 等) 反应, 而且还能与粘着斑激酶 (FAK) 的氨基端反应, FAK 又进一步与各种信号分子反应, 如 C-Src、PI-3 激酶等, 这些信号分子又进一步地激活各种下游蛋白的级联

反应, 包括促有丝分裂原激活蛋白激酶 (MAPK)、PIP-5 激酶、蛋白激酶 C (PKC) 等, 从而参与细胞的跨膜信息传递, 影响细胞的生理功能。整联蛋白作为信息传递者, 尤其是作为力的受体, 参与机械信号转导, 调控细胞生理机能, 在血管内皮细胞、平滑肌细胞、骨细胞等细胞中已得以证实。但是, 在肺上皮细胞体系, 有关应力/应变对整联蛋白的影响至今未见报道。在在体情况下, 肺上皮细胞借助粘附分子锚着在基膜上, 基膜由不同的基质蛋白, 如纤连蛋白、层粘连蛋白、胶原等组成, 其中胶原是基膜的结构性基质成分, 是形成组织结构的重要成分, 而纤连蛋白在正常体内虽然没有明显的合成, 但是在损伤或应激刺激时可由组织细胞或血浆渗出, 参与损伤后临时基质成分的形成。细胞粘附分子整联蛋白是这些基质蛋白的受体。在此, 我们针对肺上皮细胞体系, 研究了 H727 细胞表面 α_3 、 α_5 和 β_1 整联蛋白对机械拉伸应变的响应。结果表明: 在此类细胞表面的 α_3 、 α_5 和 β_1 整联蛋白是对拉伸应变敏感的膜受体, 周期性机械拉伸刺激可诱导 α_3 、 α_5 和 β_1 三种整联蛋白的激活, 导致它们的分布发生聚集重组, 并向基底转移, 形成局部粘附连接, 增强了整联蛋白受体与其基质配体的结合能力。

从我们的实验结果可以看出, 在静止条件下, 整联蛋白与其配体的亲和力较低, 然而在受到拉伸刺激后, 整联蛋白与其配体即具有高的亲和力, 推测整联蛋白与胞外基质蛋白结合能力的提高可能阻止了整联蛋白的内在化作用, 促使其停留在细胞表面, 通过与胞外配体结合能力的亲和调节, 形成局部粘附连接。Dejana 等^[12]研究发现, 基质配体

仅仅是诱导它们各自的膜受体发生聚集,即整联蛋白只有与其特异性的配体相结合才会发生在聚焦粘附部位的集中。 α_5 整联蛋白是纤连蛋白(Fn)的受体,只有当细胞生长在纤连蛋白上时,它才会在聚焦粘附部位聚集。同理, α_3 整联蛋白也只有细胞生长在胶原蛋白上时,才会发生聚集,在我们的实验中,静态时, α_3 、 α_5 和 β_1 整联蛋白在 H727 细胞生长在胶原蛋白和纤连蛋白上时,就有粘附斑块出现。这种差异,一方面可能与 H727 细胞作为正常细胞,细胞表面有丰富的整联蛋白表达有关,另一方面,可能部分由于所用抗体的差异,而更主要的还是由于不同的培养条件。Dejana 等在他们的实验中,采用的是无血清培养条件,而我们采用的是含有 5% 胎牛血清的培养介质,这些介质中均含有胶原和纤连蛋白。但是,在细胞遭受应变后,整联蛋白的融合和聚集分布的明显变化在细胞生长在各自的配体上时,才会更加突出。

以往在研究氧化性肺损伤的致伤机理和修复机制中,也发现了肺上皮细胞在响应氧化应激过程中其整联蛋白数量或分布发生改变的现象。Jabbour 等^[13]发现, O_3 的体积分数达到 0.5×10^{-6} 时,可导致支气管上皮细胞表面的 β_1 整联蛋白分布发生改变,由细胞的基底层向上层移动,降低了上皮细胞与基膜的粘附,导致上皮细胞的脱落,影响上皮重建的再生过程。但是, O_3 攻击后的兔支气管上皮细胞用纤连蛋白或 RGD 肽处理后,由于增强了整联蛋白与其基质成分的结合能力,细胞内有关的抗氧化酶的活性整体提高,提高了细胞抗氧化损伤的能力,并且这种抗氧化损伤能力的提高,可能与整联蛋白与胞外基质结合反应通过酪氨酸蛋白激酶(TPK)、 IP_3 - Ca^{2+} -钙调蛋白或 PKC 信号级联反应,调节了细胞内抗氧化系统的活性有关^[14]。这表明,在外来因素的作用下,细胞能够改变自身表达的整联蛋白功能,这是一个控制多种生理和病理生理过程的重要机制,其基础就是细胞的信号传递。一方面,信号从胞内传向受体的胞外段,从而诱导受体数量或分布的改变;另一方面,信号从胞外传向胞内,从而引起细胞形态和功能的改变。在此,我们的实验证实,机械拉伸刺激可诱导人肺上皮细胞 H727 表面 α_3 、 α_5 和 β_1 整联蛋白的分布发生重组,向基底转移并发生聚集,增强了整联蛋白与其特异性配体的结合能力,形成局部粘附连接。这说明,一个有效的局部粘附的形成,必须有受体的聚集和配体占据共同启动的一个协同反应。由于局部粘附

部位含有许多骨架和骨架调控蛋白,这些蛋白质可调控肌动蛋白单体聚合并形成应力纤维,同时向聚焦粘附部位靠拢,在基底-整联蛋白-细胞骨架之间形成一个完整的结构序列,我们推测这种结构序列的形成与整联蛋白空间分布的重组关系更大。那么,这种结构的形成,是否会引发整联蛋白介导的下游信号事件的级联反应,从而对细胞铺展、生长、迁移等生物学行为产生影响?因此,针对应力/应变诱导的人肺上皮细胞整联蛋白分布重组的研究,对于我们进一步探讨该类细胞在肺的生长发育、功能发挥以及伤愈修复和功能整合等病理、生理过程中的作用具有重要的价值。

我们的研究证实,在人肺上皮细胞 H727 中, α_3 、 α_5 和 β_1 整联蛋白是对拉伸应变敏感的膜受体,周期性机械拉伸可引起其 α_3 、 α_5 和 β_1 三种整联蛋白的分布发生重组,并向基底层转移,形成局部粘附连接,此过程是受体聚集和配体占据共同启动的一个协同反应。推测此现象可能参与了细胞响应机械应力的起始过程,可能通过力-化学信号的偶合或张力整合的形式,最终对细胞的生物学行为产生影响。

参 考 文 献

- 1 Waters C M, Sporn P H, Liu M, *et al.* Cellular biomechanics in the lung. *Am J Physiol*, 2002, **283** (3): L503 ~ L509
- 2 Wirtz H R, Dobbs L G. The effects of mechanical forces on lung functions. *Respir Physiol*, 2000, **119** (1): 1 ~ 17
- 3 张惠静, 杨 力, 蔡绍哲, 等. 周期性机械拉伸对人肺上皮细胞增殖的影响. 高技术通讯, 2003, **13** (8): 51 ~ 55
Zhang H J, Yang L, Cai S X, *et al.* *High Technology Letters*, 2003, **13** (8): 51 ~ 55
- 4 Sadoshima J, Izumo S. The cellular and molecular response of cardiac myocytes to mechanical stress. *Annu Rev Physiol*, 1997, **59**: 551 ~ 571
- 5 Davies P F. Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev*, 1995, **75** (3): 519 ~ 560
- 6 Lehoux S, Tedgui A. Signal transduction of mechanical stresses in the vascular wall. *Hypertension*, 1998, **32** (2): 338 ~ 345
- 7 张惠静, 蔡绍哲, 卢 晓. 整合素在细胞响应机械应力中的作用. 生物化学与生物物理进展, 2002, **29** (3): 359 ~ 361
Zhang H J, Cai S X, Lu X. *Prog Biochem Biophys*. 2002, **29** (3): 359 ~ 361
- 8 Alenghat F J, Ingber D E. Mechanotransduction: all signals point to cytoskeleton, matrix, and integrins. *Sci STKE*, 2002, (119): PE6
- 9 Schwartz M A, Ginsberg M H. Networks and crosstalk: integrin signaling spreads. *Nature Cell Biol*, 2002, **4** (4): E65 ~ E68
- 10 Jalali S, Del Pozo M A, Chen K D, *et al.* Integrin-mediated mechanotransduction requires its dynamic interaction with specific extracellular matrix (ECM) ligands. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98** (3): 1042 ~ 1046
- 11 Rosales C, O'Brien V, Kornberg L, *et al.* Signal transduction by cell adhesion receptor. *Biochim Biophys Acta*, 1995, **28** (1242):

77 ~98

- 12 Dejana E S, Colella S, Conforti G, *et al.* Fibronectin and vitronectin regulate the organization of their respective Arg-Gly-Asp adhesion receptors in cultured human endothelial cells. *J Cell Biol*, 1988, **107** (3): 1215 ~1223
- 13 Jabbour A J, Altman L C, Wight T N, *et al.* Ozone alters the distribution of β_1 integrins in cultured primate bronchial epithelial

cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1998, **19** (3): 357 ~365

- 14 秦晓群, 向阳, 管茶香, 等. 整连蛋白-配体结合反应上调支气管上皮细胞抗氧化能力. *生理学报*, 2001, **53** (1): 41 ~44
- Qin X Q, Xiang Y, Guan C X, *et al.* *Acta Physiologica Sinica*, 2001, **53** (1): 41 ~44

Cyclic Strain Induces Reorganization of Integrins in Human Pulmonary Epithelial Cells*

ZHANG Hui-Jing^{1) **}, YANG Li²⁾, CAI Shao-Xi³⁾, LU Xiao³⁾, WANG Yuan-Liang³⁾

⁽¹⁾ Department of Laboratory Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China;

²⁾ Department of Bioengineering and Orthopedics, University of California, San Diego, CA 92093-0656, USA;

³⁾ Key Laboratory of Biomechanics & Tissue Engineering Under The State Ministry of Education, College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract In order to study the effects of mechanical strain on distribution of integrins in normal human pulmonary epithelial cell line H727, a cyclic strain unit *in vitro* was set up, and the redistribution of α_3 , α_5 , β_1 integrin in H727 cells subjected to 24 h cyclic strain was analyzed. Human pulmonary epithelial H727 cells seeded on either fibronectin or collagen IV surfaces were subjected to 15% elongation at a frequency of 40 cycles/min. Confocal microscopy revealed that α_3 , α_5 , β_1 integrin in H727 cells were concentrated and brighter, and cells created a large fusion of focal adhesion or adhesion plaques after 24 h exposure to strain. Under static condition, α_3 , α_5 , β_1 integrin in H727 cells maintained a diffuse pattern with an occasional speckle concentration in some regions. Furthermore α_3 , α_5 , β_1 integrin in H727 cells transferred from the apical layer to the basal layer and created adhesion plaques, and affinity between integrins and extracellular matrices (ECM) was enhanced. It is concluded that the formation of effective focal contacts is the concerted interaction between receptors recruitment and ligand occupy. This interaction plays an important role in transducing mechanical stimuli into intracellular signals.

Key words cyclic strain, human pulmonary epithelial cell, integrin, focal adhesion

* This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (19732003) and The Visiting Scholar Foundation of Key Laboratory in University (2002).

** Corresponding author. Tel: 86-23-68752307, Fax: 86-23-68752307, E-mail: Zhanghuijing@mail.tmmu.com.cn

Received: October 20, 2003 Accepted: November 29, 2003