

文章编号:1004-7220(2018)03-0255-07

骨桥蛋白对骨髓间充质干细胞核力学特性的影响及相关分子机制

钱泽仪¹, 郑苾月², 宋关斌²

(1. 重庆两江育才中学, 重庆 410020; 2. 重庆大学 生物工程学院, 重庆 400030)

摘要:目的 研究骨桥蛋白(osteopontin, OPN)对骨髓间充质干细胞(bone marrow-derived mesenchymal stem cells, BMSCs)核力学特性的影响及相关分子机制。方法 采用Transwell法分析BMSCs迁移能力。利用原子力显微镜(atomic force microscope, AFM)检测细胞核弹性模量,分析OPN作用下BMSCs细胞核硬度的变化。通过Western blot技术检测OPN作用对黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)和胞外信号调节激酶1/2(extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK 1/2)的影响,并利用FAK或ERK1/2抑制剂考察FAK-ERK1/2信号通路在OPN影响BMSCs核力学特性中的作用。通过RT-PCR和Western blot技术检测OPN作用下核纤层蛋白Lamin A/C的表达变化。结果 OPN处理组细胞核弹性模量与对照组相比明显降低。OPN作用显著上调FAK、ERK1/2磷酸化水平,加入FAK或ERK1/2抑制剂在一定程度上回救OPN降低的细胞核弹性模量,并显著抑制BMSCs迁移。OPN处理BMSCs后Lamin A/C mRNA和蛋白水平的表达出现下调,但FAK或ERK1/2抑制剂能够抑制OPN诱导的Lamin A/C表达下调。结论 OPN可能通过FAK-ERK1/2信号通路下调BMSCs核骨架蛋白Lamin A/C表达,降低细胞核硬度,促进BMSCs迁移。该研究结果为深入认识OPN调控BMSCs迁移行为的机制及其临床应用提供了实验依据。

关键词:骨桥蛋白;骨髓间充质干细胞;核力学;FAK-ERK1/2信号途径;细胞迁移

中图分类号: Q 66 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2018.03.011

Effect of Osteopontin on Nuclear Mechanics of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells and Its Involved Molecular Mechanisms

QIAN Zeyi¹, ZHENG Zhiyue², SONG Guanbin²

(1. Chongqing Liangjiang Yucai Middle School, Chongqing 410200, China; 2. College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China)

Abstract: Objective To study the effects of osteopontin (OPN) on the nuclear mechanics of bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BMSCs) as well as its involved mechanisms. **Methods** The BMSC migration was evaluated using the Transwell assay. An atomic force microscope (AFM) was used to determine the elastic modulus of the BMSC nucleus and analyze the changes in the nuclear mechanics of the BMSCs after treatment with OPN. The activation of focal adhesion kinase (FAK) and extracellular signal-regulated kinase1/2 (ERK1/2) was measured by Western blot. The role of the FAK-ERK1/2 signaling pathway in mediating the OPN-affected BMSC nuclear mechanics was investigated by employing a specific inhibitor. RT-PCR and Western blot were used to detect the expression of Lamin A/C at mRNA and protein levels in the BMSCs, respectively. **Results** The elastic modulus of the BMSC nucleus exhibited a significant decrease after OPN treatment compared with

收稿日期:2017-10-29; 修回日期:2017-12-01

基金项目:国家自然科学基金项目(11532004,31700830,11772073),重庆大学SRTP项目(CQU-SRTP-2016342)

通信作者:宋关斌,教授,博士研究生导师,E-mail: song@cqu.edu.cn

that of the control group. OPN could upregulate the phosphorylation level of FAK and ERK1/2, but the inhibitor of FAK or ERK1/2 restored the OPN-decreased elastic modulus of the BMSC nucleus and inhibited the BMSC migration significantly. After treatment with OPN, the expression of Lamin A/C in the BMSCs reduced significantly, and such a reduced expression could be suppressed by the inhibitor of FAK or ERK1/2. **Conclusions** OPN could probably downregulate the expression of Lamin A/C of the BMSCs via the FAK-ERK1/2 signaling pathway, decrease the stiffness of the BMSC nucleus, and promote the migration of the BMSCs. The research outcomes provide the experimental evidence for further understanding the mechanism of the OPN-regulated BMSC migration and its potential clinical application.

Key words: osteopontin (OPN); bone marrow mesenchymal stem cells (BMSCs); nuclear mechanics; FAK-ERK1/2 signaling pathway; cell migration

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)是一种具有自我更新和多向分化潜能的成体干细胞,也是损伤组织修复、再生等组织工程研究中应用最多的干细胞类型。BMSCs具有趋化特性,可以感知损伤组织产生的修复信号,从骨髓中动员进入外周血循环,迁移到损伤组织位点通过旁分泌和/或定向分化作用进行损伤组织修复^[1]。在此过程中,BMSCs受到血流动力作用以及多种可溶因子等化学因素的影响,这些力、化学因素共同影响 BMSCs 增殖、迁移、分化、旁分泌等多种生物学行为^[2]。目前,BMSCs 向损伤位点的定向迁移及其调控成为 MSCs 临床应用研究的重要内容,但有关这些影响因素及其作用机制还了解不多。

骨桥蛋白(osteopontin, OPN)是一种带负电荷的分泌型磷酸糖蛋白,属于小整合素结合配体 N-连接糖蛋白家族中的一员。OPN 广泛分布于多种组织和细胞中,参与骨重建、炎症和免疫反应、细胞募集、信号传递、肿瘤侵袭转移以及一些自身免疫疾病等生理、病理过程,具有重要的生物学功能^[3-4]。本课题组前期研究证实,OPN 可以明显促进 BMSCs 的迁移能力^[5],但其作用的详细机制还不清楚。

细胞核是真核细胞最大、最硬的细胞器,不仅是细胞遗传物质储存和复制的场所,而且在细胞迁移、运动、分化过程中起重要调节作用^[6],细胞核的力学特性直接影响细胞的迁移能力和运动能力^[7-8]。OPN 可以与其受体整合素 $\beta 1$ 结合,通过 FAK-ERK1/2 信号途径促进 BMSCs 的迁移能力^[9]。但 OPN 促 BMSCs 迁移过程中,细胞核力学特性的变化及其涉及的分子机制,还有待进一步研究。本

文采用原子力显微镜(atomic force microscope, AFM)和分子生物学技术,研究 OPN 作用后 BMSCs 细胞核弹性模量及相关分子的变化,为从核力学角度揭示 OPN 促 BMSCs 迁移的机制提供实验证据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器设备

骨桥蛋白 OPN(R&D 公司,美国)、L-DMEM 培养基、胎牛血清(Gibco 公司,美国)、胰蛋白酶(Hyclone 公司,美国)、双抗(Beyotime 公司,中国)、Percoll 溶液(GE 公司,美国)、Pepstatin、Leupeptin、NP-40、多聚-D-赖氨酸和无 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 的 PBS(Sigma 公司,美国)、兔抗大鼠 FAK、p-FAK、ERK1/2、p-ERK1/2、LaminA/C 抗体和小鼠抗大鼠 β -actin 抗体(CST 公司,美国)、FAK 抑制剂 PF573228(Tocris 公司,英国)和 ERK1/2 抑制剂 PD98059(Beyotime 公司,中国)、RNA 提取试剂盒(BioTeke 公司,中国),其他常规药品、试剂购于重庆化玻公司。

倒置相差显微镜(Leica 公司,德国)、细胞培养箱、超净工作台(Thermo 公司,美国)、原子力显微镜(JPK 公司,德国)、TR400PSA 原子力显微镜探针(Olympus 公司,日本)、PCR 仪、蛋白电泳及显影系统(Bio-Rad 公司,美国)、Transwell 小室(Millipore 公司,美国)、台式离心机、移液枪(Eppendorf 公司,德国)、培养瓶、培养板、离心管等细胞培养相关耗材(Corning 公司,美国)。

1.2 细胞分离培养

雄性 Sprague Dawley (SD) 大鼠,25 只,100 ~ 150 g,购自重庆医科大学动物实验中心。大鼠 BMSCs 的分离培养按本实验室建立的方法进行^[10]。

分离得到的 BMSCs 以 10^6 个/mL 密度接种于培养瓶中,置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、 5% CO_2 、 95% 湿度条件下的细胞培养箱中培养,每 3 d 换液 1 次。当细胞生长至近融合时,用胰蛋白酶消化,按 1:2 比例进行传代培养。实验用 $\text{P}_2 \sim \text{P}_5$ 代细胞。

1.3 细胞迁移分析

采用 Transwell 法对细胞迁移能力进行分析^[5]。将 BMSCs 加入 Transwell 分析装置中,置于培养箱静置培养 6 h 后取出,拭去上室未迁移的细胞,用结晶紫染色、风干,于倒置显微镜下随机选取 4 个视野进行拍照,计算迁移细胞的数目。

实验分组:对照组 (Control, 不加任何处理); OPN 组 (OPN); OPN 与 PF573228 联合作用组 (OPN + PF); OPN 与 PD98059 联合作用组 (OPN + PD)。在 FAK、ERK1/2 信号通路抑制实验中,需在加入 OPN 处理前用 PF573228 ($10\text{ }\mu\text{mol/L}$) 或 PD98059 ($50\text{ }\mu\text{mol/L}$) 预处理细胞 30 min,并且随后的细胞处理期间抑制剂一直存在。

1.4 细胞核提取

按 Deguchi 等^[11]建立的细胞核分离方法提取 BMSCs 细胞核。实验分组同上,用 $200\text{ }\mu\text{L}$ 含 Leupeptin 和 Pepstatin 的 PBS 悬浮细胞核,轻轻滴加到多聚-D-赖氨酸裱衬的圆形载玻片,使细胞核黏附于载玻片上,用于后续实验分析。

1.5 细胞核弹性模量分析

采用 AFM 进行细胞核弹性模量检测^[12]。实验分组同上,用镊子小心取出黏附有细胞核的载玻片,用无 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ 的 PBS 轻洗 3 次,置于 AFM 样品测量台进行细胞核弹性模量测量。

1.6 RT-PCR

使用 RNA 提取试剂盒提取细胞总 RNA,根据文献^[9]和逆转录试剂盒说明书进行逆转录。引物序列如表 1 所示。PCR 产物通过 Gold View 核酸染料染色的 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离,以 β -actin 为内参评价核纤层蛋白 Lamin A/C 基因水平表达的变化。

1.7 Western blot

根据文献方法^[13]中采用 Western blot 技术检测核纤层蛋白 Lamin A/C 表达的变化。用细胞裂解液提取蛋白,电泳后电转至 PVDF 膜,脱脂牛奶室温孵育 1 h 后分别与磷酸化 ERK1/2 (p-ERK1/2)、

表 1 RT-PCR 分析中的引物序列

Tab. 1 Oligonucleotide primer sequences used for RT-PCR analysis

| 名称 | 引物序列 5'→3' | 产物大小/bp |
|----------------|----------------------------|---------|
| LaminA/C | 正义链 TGTTGAGGACAATGACGATGA | 115 |
| | 反义链 GGTGCTGACGGCAGGTTGTA | |
| β -actin | 正义链 ACGTCTCAGTTCATCACTATCG | 398 |
| | 反义链 GGCATAGAGTCTTTACGGATG | |

ERK1/2 (t-ERK1/2)、磷酸化 FAK (p-FAK)、总 FAK (t-FAK) 和 Lamin A/C 抗体 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜,漂洗后再与辣根过氧化物酶标记的二抗 (山羊抗兔) 室温孵育 1 h。以 β -actin 为内参评价 Lamin A/C 蛋白水平的表达变化,以 t-ERK1/2 为内参评价 p-ERK1/2 的表达变化,以 t-FAK 为内参评价 p-FAK 的表达变化。

1.8 数据统计分析

所有实验组的结果均进行 3 次以上独立的重复实验,即测量的重复次数 $n \geq 3$ 。实验结果以均值 \pm 标准差表示,并采用 t 检验分析两组数据之间的差异, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 OPN 降低 BMSCs 细胞核的弹性模量

倒置显微镜下观察分离培养的 BMSCs 形态,细胞呈长梭形,形态基本一致,培养细胞呈现漩涡状分布 [见图 1(a)]。提取 BMSCs 的细胞核,核形态呈圆形或椭圆形,结构完整 [见图 1(b)]。AFM 检测大鼠 BMSCs 细胞核弹性模量 [见图 1(c)]。结果发现,未经 OPN 处理的对照组 BMSCs 细胞核弹性模量为 $(1.00 \pm 0.14)\text{ kPa}$,OPN (1.0 mg/L) 处理 6 h 后,细胞核弹性模量为 $(0.34 \pm 0.08)\text{ kPa}$,两组相比有显著性差异 [$P < 0.001$, 见图 1(d)]。因此,OPN 显著降低 BMSCs 的细胞核硬度。

2.2 FAK-ERK1/2 信号通路介导 OPN 诱导的 BMSCs 核力学变化

黏着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK)-胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2) 信号通路是介导多种因素影响细胞力生物学行为的重要途径^[14-15]。为探究 FAK-ERK1/2 信号通路是否介导 OPN 诱导的 BMSCs 核力学变化,首先验证 OPN 作用下 FAK 和 ERK1/2 的磷酸化水平。Western blot 实验证实,OPN 处理 BMSCs 能明显上调 FAK 和 ERK1/2 的磷酸化水平 [见图 2(a) ~ (c)]。

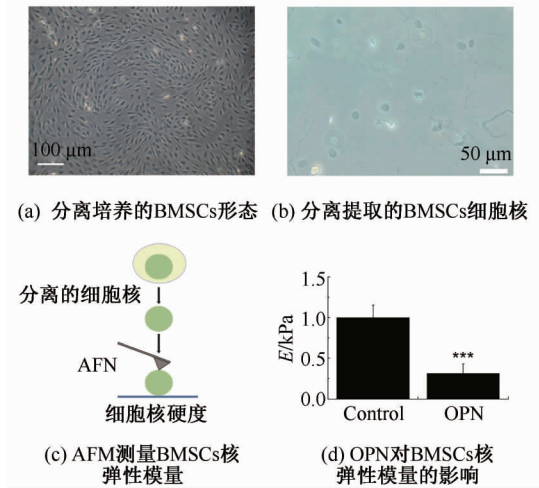


图1 OPN对大鼠BMSCs核力学特性的影响

($n=3$, *** $P < 0.001$)

Fig. 1 Effects of OPN on nuclear mechanics of rat BMSCs

(a) Morphology of cultured BMSCs, (b) Nuclei isolated from BMSCs, (c) Elastic modulus detection by AFM for BMSC nuclei, (d) Effect of OPN on elastic modulus of BMSC nuclei

在此基础上,用FAK抑制剂PF573228(PF, 10 μmol/L)或ERK1/2抑制剂PD98059(PD, 50 μmol/L)阻断FAK-ERK1/2信号通路,结果发现,OPN降低的细胞核弹性模量均得到恢复[见图2(d)],提示FAK-ERK1/2信号通路在OPN降低BMSCs核力学特性中起着重要介导作用。

2.3 FAK-ERK1/2信号通路介导OPN诱导的BMSCs迁移

在明确FAK-ERK1/2信号通路在OPN影响BMSCs核力学特性中的介导作用后,为确定该信号通路在OPN诱导的BMSCs迁移中的作用,采用Transwell法考察FAK抑制剂或ERK1/2抑制剂存在下OPN诱导的BMSCs迁移行为的变化。与对照组比较,OPN明显促进BMSCs的迁移能力。加入FAK抑制剂PF573228(10 μmol/L)或ERK1/2抑制剂PD98059(50 μmol/L)后,OPN促进的BMSCs迁移受到明显抑制。该研究结果证实,FAK-ERK1/2信号通路介导OPN诱导的BMSCs迁移(见图3)。

2.4 OPN对BMSCs核纤层蛋白Lamin A/C表达的影响

核纤层蛋白(Lamin)是一种V型中间纤维,为

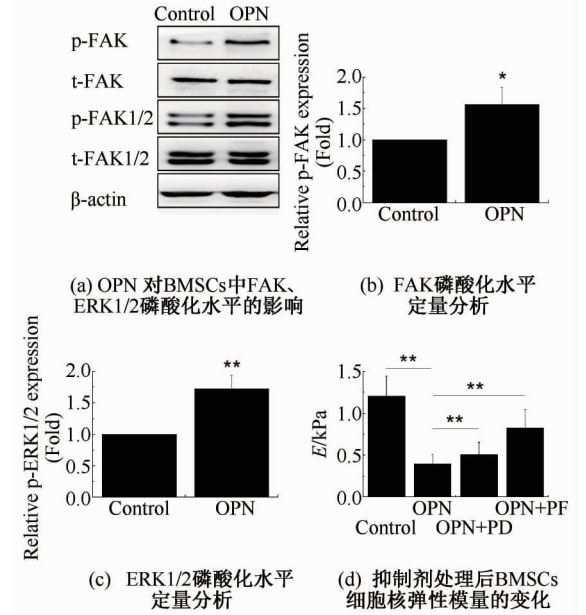


图2 FAK-ERK1/2信号通路在OPN影响大鼠BMSCs核力学特性中的作用($n=3$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

Fig. 2 Role of FAK-ERK1/2 signaling in OPN-affected nuclear mechanics of rat BMSCs (a) Effects of OPN on phosphorylation level of FAK and ERK1/2, (b) Quantitative analysis of phosphorylation level of FAK, (c) Quantitative analysis on phosphorylation level of ERK1/2, (d) Changes of elastic modulus of BMSC nucleus after treatment with FAK inhibitor (PF) or ERK1/2 inhibitor (PD)

核纤层的主要组成成分。研究证实,核纤层蛋白Lamin A/C表达的变化对细胞核力学特性的改变起着重要决定作用^[16]。OPN可以减小BMSCs弹性模量,降低细胞核的硬度,影响核的力学特性。

采用RT-PCR和Western blot考察OPN对纤层蛋白Lamin A/C表达的影响。结果显示,OPN作用下BMSCs的Lamin A/C表达无论在mRNA还是蛋白水平都呈现显著下调,提示OPN可能通过降低BMSCs核纤层蛋白Lamin A/C的表达降低细胞核的硬度[见图4(a)、(b)]。

此外,实验结果也证实,FAK-ERK1/2信号通路介导OPN诱导的BMSCs核力学特性改变。进一步采用FAK或ERK1/2抑制剂阻断该信号通路。Western blot检测结果发现,加入FAK或ERK1/2的抑制剂作用后,OPN下调的Lamin A/C表达得到了回救,提示FAK-ERK1/2信号通路也介导了OPN对Lamin A/C表达的影响[见图4(c)]。

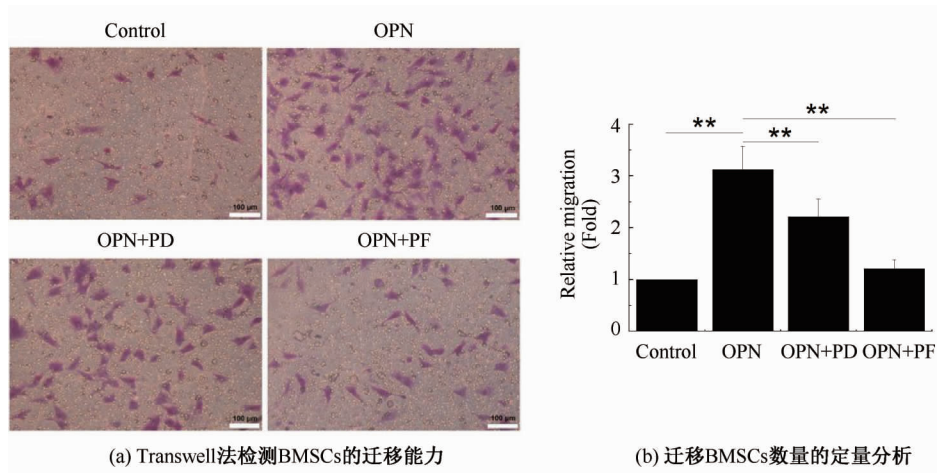


图3 FAK-ERK1/2 信号通路在 OPN 促 BMSCs 迁移中的作用 ($n=3$, $**P<0.01$)

Fig.3 Role of FAK-ERK1/2 signaling in OPN-promoted BMSC migration (a) Assay of BMSC migration by Transwell system, (b) Quantitative analysis on migratory cell number of BMSCs

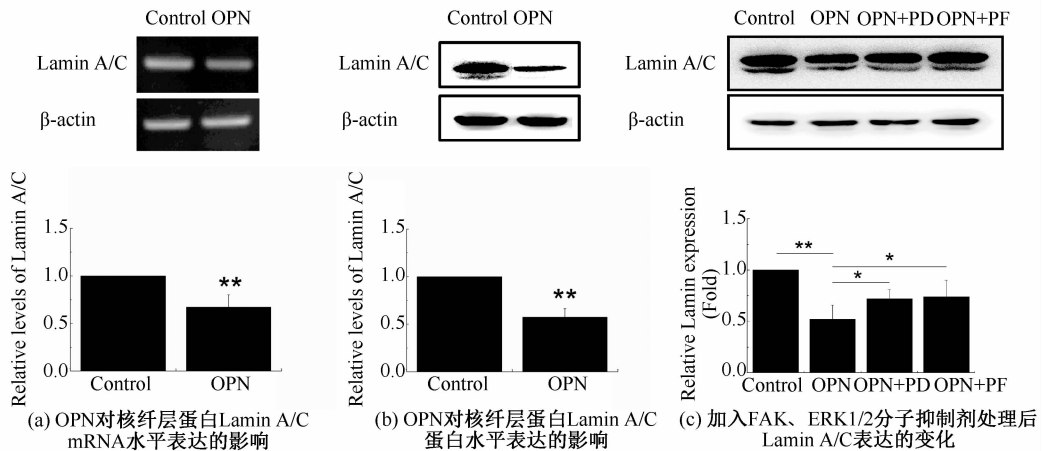


图4 OPN对大鼠BMSCs核纤层蛋白Lamin A/C表达的影响 ($n=3$, $*P<0.05$, $**P<0.01$)

Fig.4 Effects of OPN on expression of Lamin A/C in rat BMSCs (a) Effects of OPN on mRNA expression of Lamin A/C in BMSCs, (b) Effects of OPN on protein expression of Lamin A/C in BMSCs, (c) Changes of Lamin A/C expression in BMSCs after treatment with FAK inhibitor (PF) or ERK1/2 inhibitor (PD)

3 讨论

细胞迁移是多细胞生物体的一种重要生命活动,参与机体的多种生理病理过程,如:胚胎发生(生长)、伤口愈合(组织修复与再生)、对入侵病原的免疫响应(炎症反应)以及癌细胞的侵袭转移等等。研究证实,细胞的硬度、变形能力等生物力学特性对细胞的迁移能力有重要影响。作为真核细胞最大和最硬的细胞器,细胞核是决定细胞力学特性的主要因素^[17]。细胞核力学特性的改变不仅对

细胞分化有重要影响^[18],而且细胞核特殊基因的转录、核重新定位和核形状的改变与细胞迁移能力密切相关^[6]。核形状改变是细胞在迁移过程中为了适应新的环境而做出的物理响应。当细胞通过狭小的细胞外基质或细胞与细胞之间的间隙时,细胞通过挤压细胞核促使细胞能够顺利通过这些狭小间隙。在此过程中,细胞核的变形能力成为细胞通过胞外基质屏障迁移中的限速因素^[19]。细胞核的力学特性直接影响细胞核的变形能力和定位。细胞核越软越容易变形,但太软的细胞核却不利于细

胞核重新定位。较硬的细胞核利于重新定位,但太硬的细胞核变形能力有限,不利于细胞迁移中通过核变形穿过狭小间隙^[7]。由此可见,适宜的细胞核硬度有助于调节细胞核的形变和定位,增加细胞的迁移能力。

OPN 在多种组织、细胞中广泛存在,介导细胞的运动、迁移、侵袭等生物学行为。组织受损后往往伴随 OPN 表达的升高^[20]。本课题组前期研究证实,OPN 可以促进 BMSCs 的迁移能力^[5,9]。本实验结果发现,OPN 处理后可使 BMSCs 细胞核弹性模量显著下降,这一结果与 Hadara 等^[21]的研究结果一致,提示 OPN 可能通过降低 BMSCs 细胞核硬度增加核的变形能力,从而增加细胞的迁移能力。

在影响细胞核力学特性的诸多因素中,核纤层蛋白成为人们近年关注的热点。研究发现,细胞 Lamin A/C 表达下调会减小细胞核的硬度,爪蟾卵母细胞 Lamin A/C 上调后细胞核硬度明显增加,并呈现一定的剂量依赖关系^[22],提示核纤层蛋白 Lamin A/C 对细胞核力学特性的维持起着重要作用。本实验结果表明,OPN 作用下 lamin A/C 的表达明显下降,OPN 可能通过下调 lamin A/C 的表达,改变 BMSCs 核的力学特性。前期研究发现,OPN 可以明显促进 BMSCs 的迁移行为,同时 FAK、ERK1/2 信号分子的磷酸化水平出现上调。当用 FAK、ERK1/2 信号分子的抑制剂处理后,OPN 上调的 FAK、ERK1/2 的磷酸化水平被抑制,同时 OPN 促进 BMSCs 迁移的行为也被抑制,表明 FAK-ERK1/2 信号通路介导 OPN 促进的 BMSCs 迁移^[5]。为进一步验证 FAK-ERK1/2 信号通路是否参与 OPN 对 lamin A/C 表达和核力学特性的影响,通过抑制剂阻断 FAK-ERK1/2 信号通路。结果发现,该信号通路阻断后抑制 OPN 下调的 lamin A/C 表达和核弹性模量,也抑制 OPN 促进的 BMSCs 迁移。这些结果不仅证明 FAK-ERK1/2 信号通路在 OPN 影响 BMSCs 核纤层蛋白、核力学特性,并最终影响细胞迁移行为中的关键介导作用,而且揭示了 OPN 信号从胞外经细胞质到细胞核的传递过程及其对 BMSCs 迁移行为影响的分子机制。

综上所述,OPN 可通过 FAK-ERK1/2 信号通路下调 BMSCs 核骨架蛋白 Lamin A/C 的表达,降低细胞核的硬度,促进 BMSCs 的迁移能力。该研究结果

不仅有助于从细胞核力学角度认识 OPN 促 BMSCs 迁移的生物力学机制,而且为基于 MSCs 迁移能力调控的相关研究和临床应用提供理论指导和方法学参考。

参考文献:

- [1] 宋关斌, 杨力. 组织损伤修复中的生物力学问题[J]. 医用生物力学, 2016, 31(5): 376-378.
SONG GB, YANG L. Biomechanics in tissue injury and repair [J]. J Med Biomech, 2016, 31(5): 376-378.
- [2] 吴克鑫, 郭庆, 罗庆, 等. 骨髓间充质干细胞的迁移及其相关力/化学调控因素[J]. 医用生物力学, 2015, 30(1): 83-88.
WU KW, GUO Q, LUO Q, *et al.* Migration and mechanochemical regulation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells [J]. J Med Biomech, 2015, 30(1): 83-88.
- [3] SHEVDE LA, SAMANT RS. Role of osteopontin in the pathophysiology of cancer [J]. Matrix Biol, 2014, 37: 131-141.
- [4] 邹呈雨, 宋关斌. 骨桥蛋白促细胞迁移作用及其分子机理[J]. 生命的化学, 2009, 29(4): 543-546.
- [5] ZOU C, LUO Q, QIN J, *et al.* Osteopontin promotes mesenchymal stem cell migration and lessens cell stiffness via integrin $\beta 1$, FAK and ERK pathways [J]. Cell Biochem Biophys, 2013, 65(3): 455-462.
- [6] LIU L, LUO Q, SUN J, *et al.* Nucleus and nucleus-cytoskeleton connections in 3D cell migration [J]. Exp Cell Res, 2016, 348(1): 56-65.
- [7] 李良, 陈槐卿. 细胞核结构与力学生物学[J]. 医用生物力学, 2009, 24(1): 1-5.
LI L, CHEN HQ. The nucleus structure and mechano-transduction [J]. J Med Biomech, 2009, 24(1): 1-5.
- [8] THORPE SD, CHARPENTIER M. Highlight on the dynamic organization of the nucleus [J]. Nucleus, 2017, 8(1): 2-10.
- [9] ZOU C, SONG G, LUO Q, *et al.* Mesenchymal stem cells require integrin $\beta 1$ for directed migration induced by osteopontin *in vitro* [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2011, 47(3): 241-250.
- [10] 袁琳, 宋关斌, 罗庆, 等. ERK 信号分子介导周期机械拉伸诱导的骨髓间充质干细胞增殖[J]. 医用生物力学, 2011, 26(3): 217-224.
YUAN L, SONG GB, LUO Q, *et al.* Proliferation of bone marrow mesenchymal stem cells induced by cyclic mechanical stretch mediated with ERK signal molecules [J]. J Med Biomech, 2011, 26(3): 217-224.
- [11] DEGUCHI S, MAEDA K, OHASHI T, *et al.* Flow-induced hardening of endothelial nucleus as an intracellular stress-bearing organelle [J]. J Biomech, 2005, 38(9):

- 1751-1759.
- [12] ZHANG B, LUO Q, CHEN Z, *et al.* Increased nuclear stiffness via FAK-ERK1/2 signaling is necessary for synthetic mechano-growth factor E peptide-induced tenocyte migration [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 18809.
- [13] KASPI E, FRANKEL D, GUINDE J, *et al.* Low lamin A expression in lung adenocarcinoma cells from pleural effusions is a pejorative factor associated with high number of metastatic sites and poor performance status [J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0183136.
- [14] MA D, KOU X, JIN J, *et al.* Hydrostatic compress force enhances the viability and decreases the apoptosis of condylar chondrocytes through integrin-FAK-ERK/PI3K pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(11): E1847.
- [15] HU J, LIAO H, MA Z, *et al.* Focal adhesion kinase signaling mediated the enhancement of osteogenesis of human mesenchymal stem cells induced by extracorporeal shock-wave [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20875.
- [16] SIMON DN, WILSON KL. Partners and post-translational modifications of nuclear lamins [J]. *Chromosoma*, 2013, 122(1-2): 13-31.
- [17] SHIVASHANKAR GV. Mechanosignaling to the cell nucleus and gene regulation [J]. *Annu Rev Biophys*, 2011, 40: 361-378.
- [18] MAO X, GAVARA N, SONG G. Nuclear mechanics and stem cell differentiation [J]. *Stem Cell Rev*, 2015, 11(6): 804-812.
- [19] DAVIDSON PM, DENAIS C, BAKSHI MC, *et al.* Nuclear deformability constitutes a rate-limiting step during cell migration in 3-D environments [J]. *Cell Mol Bioeng*, 2014, 7(3): 293-306.
- [20] KAHLES F, FINDEISEN HM, BRUEMMER D. Osteopontin: A novel regulator at the cross roads of inflammation, obesity and diabetes [J]. *Mol Metab*, 2014, 3(4): 384-393.
- [21] HARADA T, SWIFT J, IRIANTO J, *et al.* Nuclear lamin stiffness is a barrier to 3D migration, but softness can limit survival [J]. *J Cell Biol*, 2014, 204(5): 669-682.
- [22] SCHÄPE J, PRAUSSE S, RADMACHER M, *et al.* Influence of lamin A on the mechanical properties of amphibian oocyte nuclei measured by atomic force microscopy [J]. *Biophys J*, 2009, 96(10): 4319-4325.