

文章编号:1004-7220(2014)03-0292-07

黏着斑-细胞骨架系统介导流体剪切力 力转导研究进展

邢娟, 罗彦凤, 李岩, 林曼萍, 杨力, 王远亮
(重庆大学 生物工程学院, 生物流变科学与技术教育部重点实验室, 重庆 400044)

摘要: 黏着斑是将细胞外基质与细胞骨架联系起来的多蛋白聚集体,在力信号转化为细胞内化学信号、继而引发相应的生理或病理反应过程中发挥着重要作用。本文以黏着斑-细胞骨架系统为重点,总结了黏着斑介导的流体剪切力的力转导过程以及细胞骨架在此过程中的关键作用,介绍了黏着斑中参与胞内信号转导的重要蛋白,并讨论了黏着斑与其他力转导途径的联系,为更好理解剪切力和相关疾病间的关联以及临床药物的研发和疾病的治疗奠定了理论基础。

关键词: 黏着斑; 细胞骨架; 流体剪切力; 力转导

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

Roles of focal adhesion plaques and cytoskeleton in fluid shear stress-induced mechanotransduction

XING Juan, LUO Yan-feng, LI Yan, LIN Man-ping, YANG Li, WANG Yuan-liang

(Key Laboratory of Biorheological Science and Technology, Ministry of Education, College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract: Focal adhesion plaques (FAPs) are multi-protein aggregates, which act as physical connections between extracellular matrix and cytoskeleton (CSK). FAPs and CSK play important roles in the conversion of mechanical signals into intracellular chemical signals followed by physiological and pathological responses. With focus on FAPs-CSK system, this review summarized the process of fluid shear stress-induced mechanotransduction and the roles of FAPs and CSK in this process in detail, introduced important proteins in FAPs, discussed the relationship between FAPs and other mechanotransduction pathways. The review established the theoretical foundation for understanding of the relationship between fluid shear stress and shear stress-related diseases, as well as development of clinical drug and treatment of these diseases.

Key words: Focal adhesion plaques; Cytoskeleton; Fluid shear stress; Mechanotransduction

机械应力在细胞生长、组织重建过程中发挥重要作用。体内细胞受到静水压力、机械牵张力和流体剪切力等多种应力刺激。其中,流体剪切力(fluid shear stress, FSS)是组织再生和重建过程中最重要的一种机械刺激。充分了解 FSS 调控组织(如骨组

织)再生和重建的机理对于体外构建生化反应器、构建功能性组织、提高组织再生速度有重要的指导作用^[1]。力敏感细胞受到机械应力刺激后,借助于机械刺激感受器将力信号转变为胞内化学信号,此过程为力转导(mechanotransduction)。机械刺激感

收稿日期:2012-12-20; 修回日期:2013-02-02

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30970700,11032012)。

通信作者:罗彦凤,教授,博士研究生导师, E-mail:yfluo@cqu.edu.cn。

受器主要包括黏着斑、G 蛋白偶联受体、生长激素偶联受体和离子通道等^[2-3]。借助于这些相互联系的感受器,力刺激可引发细胞内生物信号及其级联式传递,从而在基因和蛋白水平调控细胞行为^[4]。

黏着斑(focal adhesion plaques, FAPs)是一种介导细胞膜和骨架相连的机械刺激感受器,可调控细胞对 FSS 刺激的响应。相对其他机械刺激感受器而言,黏着斑与细胞骨架系统可能是力信号透过细胞膜传递至胞内的首选途径^[5-6]。FSS 可激活黏着斑下游信号通路。研究认为,人为地调控信号传递过程,可以治疗因细胞缺少 FSS 刺激或感受 FSS 异常所导致的相关疾病,如骨质疏松、动脉粥样硬化等。为此,本文针对 FSS 激活黏着斑信号通路的作用机理以及黏着斑-细胞骨架系统在 FSS 力转导中的作用进行详细综述。

1 黏着斑

黏着斑是由多种蛋白相互作用而生成的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)与细胞骨架(cytoskeleton, CSK)之间的物理联系,包含整合素(integrin)、ECM 蛋白、信号蛋白和支架蛋白等,在细胞黏附、周期调控、增殖和凋亡等生理过程中有重要作用^[7]。细胞膜上整合素的活化启动黏着斑的装配。整合素是一类由 α 和 β 亚基以非共价形式组成的跨膜二聚体蛋白,其胞外区与配体 ECM 蛋白结合,胞内区通过细胞骨架蛋白(如踝蛋白、桩蛋白和 α -辅肌动蛋白)与细胞肌动蛋白骨架连接。整合素以双向信号传递(即“outside-in”和“inside-out”)的方式传递胞内外信号,其介导信号传递的结构基础是黏着斑^[8]。

在黏着斑起始下游信号通路过程中,细胞骨架产生的细胞收缩力和外载机械应力对胞外基质的力刺激不可或缺^[9]。Friedland 等^[10]研究也认为细胞收缩力对此过程尤为关键;他们提出在以往多数研究中,人们关注的是无张力状态下整合素的活化,这种活化虽然能促使配体的结合、起始黏着斑生成,但不足以产生更强的黏附以及激活下游信号通路。例如, $\alpha_5\beta_1$ 与纤连蛋白(fibronectin, FN)间的连接,只有经历细胞收缩或外力刺激引起的的张力加固过程, FN 中协同位点暴露,连接作用被强化,下游信号才能被活化。在此过程中,黏着斑下游信号活化的

基础是黏着斑感受力刺激,与力的来源(胞内或胞外)并无直接关联^[5]。

2 FSS 刺激激活黏着斑信号通路

FSS 刺激诱导整合素-配体连接和激发黏着斑信号通路,主要通过 3 种方式:①FSS 增加整合素聚集和黏着斑重组;②FSS 引起胞外基质和整合素构象变化;③FSS 活化黏着斑中信号蛋白。

整合素聚集的增加可通过上调整合素的表达或加强膜上已有整合素的聚集来实现。对体外培养的人体滋养层细胞施加力刺激发现, FSS 可正反馈调节整合素 β_1 亚基的表达,增加黏着斑中的力感受因子^[11]。力刺激下应力纤维聚集引起膜上整合素的侧向移动与聚集,利于细胞与多价胞外基质连接^[12]。此外,整合素和配体连接的不断变化,为 FSS 刺激诱导黏着斑的快速重组奠定了基础。研究发现,封闭基底表面未与整合素连接的胞外基质,破坏整合素和配体间的动态相互作用,将抑制 FSS 作用下 Src 同源区结构域蛋白 C (Shc) 在黏着斑中的聚集,减弱“促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)途径”的信号传递^[13]。

FSS 刺激可引起胞外基质蛋白或整合素构象变化^[5],起始黏着斑下游信号传递。Ueki 等^[14]应用影像相关(image correlation)技术,发现 FSS 可导致应力纤维发生轴向应变,产生较大的骨架张力。骨架张力可促进胞外基质蛋白的组装,增强它与整合素的结合^[15],起始下游信号传递。此外,通过黏着斑中与整合素结合的蛋白 talin,细胞骨架中的应力可以通过 β 亚基胞内端传递到整合素的胞外端,改变整合素配体结合位点构象,增强它与配体的结合^[16],促进其由内而外的活化(inside-out activation)。

力刺激可直接活化黏着斑中的信号蛋白,此时信号转导更加快速,此过程依赖于微丝和微管的聚合以及骨架中的原张力。Na 等^[17]采用荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)技术对活细胞进行实时观察证实了上述观点;同时,研究还发现此时信号蛋白 Src 的活化依赖于黏着斑。这是由于黏着斑为 FSS 力信号由胞外传递至胞内提供了连续的转导区间,黏着斑缺失将导致施加的应力不能由细胞骨架到达胞质深处产生力刺激信号。Poh 等^[18]通过对气道平滑肌细胞施加

旋转剪切力,考察 Rac 蛋白的活化,得到相同的结论。此外,FSS 可激活磷脂酰肌醇三羟激酶(phosphoinositide 3-hydroxy kinase, PI-3K)并反馈活化整合素,激发信号传递^[19]。

3 黏着斑中的重要蛋白及其胞内信号传递

FSS 诱导细胞形态改变和激活后续胞内信号传递过程中,一些参与黏着斑形成的蛋白及信号通路发挥着重要作用。

3.1 Rho 蛋白

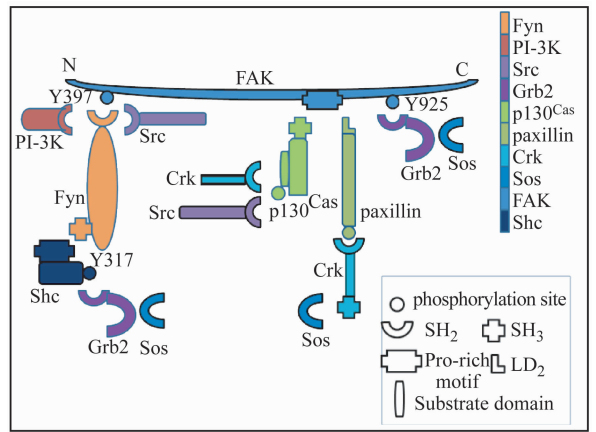
FSS 刺激下,细胞骨架会调整自身取向,此过程具有细胞类型特异性^[3]。研究表明,抑制 FSS 刺激下内皮祖细胞的骨架重排将阻碍其分化^[20]。Rho 家族蛋白对 FSS 刺激下细胞骨架的重排有重要作用。黏着斑中的磷酸酶对 Rho 活性有双向调节功能。Zima 等^[21]发现,FSS 刺激下整合素被活化的同时,内皮细胞中 Rho 活性会有短暂性的降低,这是细胞骨架重排的基础。此时 Rho 活性变化可能与磷酸酶 PTP α 有关。Wichert 等^[22]研究发现,细胞铺展到 FN 上时,PTP α 和整合素连接,同时 RhoA 的活性会经历短暂降低和缓慢升高两个阶段,其活性变化由整合素聚集诱导 PTP α 分别作用于 Src 和 Fyn 引起。Qi 等^[23]研究发现,血管中低水平剪切力通过抑制 Rho-GDP 解离抑制因子 α 的表达促进血管平滑肌细胞的迁移和凋亡,引起动脉粥样硬化。因此,FSS 异常导致动脉粥样硬化与 Rho 活性有关,正常水平的剪切力刺激对保持血管健康十分关键。

3.2 黏着斑激酶

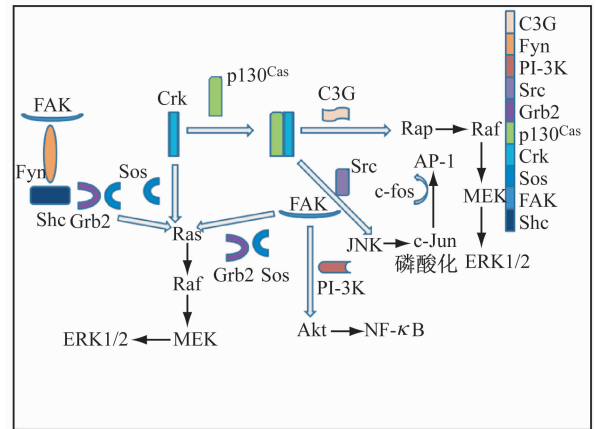
黏着斑激酶(focal adhesion kinase, FAK)对 FSS 力转导至关重要。沉默 FAK 基因表达,可严重损害 FSS 引起的多种细胞响应。体外研究发现,FAK 在 FSS 力转导中的作用不可或缺;但最新研究发现,敲除体内成骨和破骨细胞的 FAK 基因,并不影响力载荷下的骨生成,据此推断 FAK 介导的 FSS 力转导在体内可能存在代偿机制(compensatory mechanism)^[24]。这或许与活体组织中应力刺激的复杂性有关,主要是应力的类型、强度以及方向的多样变化^[9]。同时,FSS 大小(低剪切、正常剪切、高剪切)或状态(层流、湍流)对黏着斑及其下游信号分子均有重要的调控作用。

FAK 的活化与黏着斑的组装密切相关。传统

的“整合素聚集”模型认为整合素与配体结合就会引起 FAK 中 Tyr(Y)397 的自磷酸化而激活 FAK。但是 Shi 等^[25]研究发现,与整合素结合的配体必须受到外界的牵引力刺激才能诱导 Y397 的自磷酸化,悬浮细胞中整合素与配体的结合只能引起 Y861 而不是 Y397 的磷酸化。FSS 可引起 FAK 的活化,不同来源的内皮细胞可利用 FAK 不同位点酪氨酸的磷酸化体现它们对应力刺激的敏感度差异^[9]。磷酸化的 FAK 可为多种蛋白提供结合位点,如 Fyn、Src 以及 PI-3K,介导多种激酶活化,激发下游信号传递(见图 1)。



(a) 黏着斑中经 FAK 募集的相关蛋白



(b) 黏着斑介导激酶活化及信号传递

图 1 黏着斑中蛋白相互作用及信号传递
Fig. 1 Protein-protein interactions and signal transmission in focal adhesion plaque (a) The recruited proteins in focal adhesion plaque by focal adhesion kinases, (b) Protein kinases activation and signal transmission mediated by focal adhesion plaque
图中不同颜色分别代表不同的蛋白质(如各图右上角所示);图(a)右下角图示中显示不同的蛋白质结构域,图(b)未显示蛋白相互作用的结构域

3.3 Fyn、Src、PI-3K 的信号级联反应

Fyn 是 Src 家族激酶的一员,它可借助小窝蛋白 caveolin-1 与整合素 β 亚基或借助 FAK 到达黏着斑。Fyn 能募集 Shc 并激活细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK)。Lee 等^[26]发现,成骨细胞中 FSS 促进整合素与 Shc 连接受细胞黏附的胞外基质类型影响,如 FN 能促进 $\alpha_5\beta_3$ 以及 β_1 类整合素与 Shc 连接,而 I 型胶原或层粘连蛋白只能引起 β_1 类整合素与 Shc 连接。

FAK 自磷酸化诱导 Src 蛋白的结合与活化,活化的 Src 除了募集蛋白,还能磷酸化其他蛋白,如 p130^{Cas} 和 FAK。p130^{Cas} 的磷酸化及构像变化影响黏着斑对力刺激的敏感性^[27];FAK 的多位点磷酸化可进一步增强自身活性,同时为其他含 SH₂ 结构域的蛋白提供停靠位点。如 FAK 的 Y925 磷酸化可募集生长因子受体结合蛋白 (growth factor receptor-bound protein 2, Grb2),形成 FAK · Grb2 · SOS 复合物,活化下游 MAPKs 途径的信号分子 ERK 和 C-Jun 氨基末端激酶 (JNK)。成骨细胞中,FSS 可明显促进此复合物的形成^[28]。

FAK 激活的 PI-3K 可活化细胞质内的核转录因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B)。NF- κ B 通常被 I κ B (IkappaB) 家族蛋白如 I κ B α 、I κ B β 等捆绑而处于失活状态。Young 等^[29]研究发现,FAK^{-/-} 成骨细胞中,FSS 虽能促使 I κ B α/β 磷酸化,却不能诱导其降解,NF- κ B 不能被活化,若对细胞进行 FAK 的 cDNA 转染,则可活化 NF- κ B。FSS 诱导 PI-3K 的活化不依赖于特定的胞外基质,但下游信号蛋白 NF- κ B 的活化具有基质特异性^[19]。NF- κ B 的基质特异性活化与 FSS 作用下动脉粥样硬化形成有关^[30]。此外,FSS 促使整合素的活化以及 FAK、Shc 和 PI-3K 的相互作用在成骨细胞 mTOR/p70S6K 信号通路的活化中有重要作用^[31]。

4 细胞骨架和铺展面积对力转导的影响

体外研究表明,适当的 FSS 刺激下,成骨细胞 MC3T3-E1 比初级骨细胞的响应更加明显;但是同为骨细胞的 MLO-Y4 响应却比 MC3T3-E1 显著^[32-33]。细胞骨架及细胞铺展分析发现,MLO-Y4 以及 MC3T3-E1 有成熟的肌动蛋白应力纤维,而在初级骨细胞中,细胞骨架更多的是以较细的肌动蛋

白丝的形态存在。成熟的应力纤维以及黏着斑的生成极有可能增强细胞对 FSS 的响应。对于 MLO-Y4 和 MC3T3-E1,MC3T3-E1 可能由于其相对较大的铺展面积而增强了对 FSS 的抵抗力。

4.1 细胞骨架的作用

细胞骨架是细胞的重要组成成分。细胞粘附到周围环境中以后,产生胞内收缩力以适应周围环境中的多种力刺激^[34]。FSS 激活黏着斑信号通路与肌动蛋白骨架密切相关,主要表现在:①细胞膜感受到的力刺激通过黏着斑传递到细胞骨架,引起骨架重排,在此基础上产生骨架张力^[35];②骨架张力促进整合素活化,增强黏着斑下游信号传递。

黏着斑与细胞骨架对力刺激的响应是上下游的及相辅相成的(见图2)。Hayakawa 等^[36]研究发现,细胞顶面黏着斑感受到的力刺激通过肌动蛋白应力纤维传递到细胞基底面,并作用于力感受因子,应力纤维是细胞内主要的应力传递装置;同时,应力纤维中的张力是细胞膜上机械刺激感受器活化的必须条件。FSS 刺激引起整合素聚集与黏着斑的快速重组,并通过多种蛋白促进细胞骨架聚合^[37],增加骨架张力;骨架张力可促进整合素胞外配体结合位点的展开(图2箭头所示),调节整合素构象由配体结合的低活性状态向高活性状态转变,对其由内而外的活化有重要促进作用^[38]。此外,Hayakawa 等^[36]研究还发现,与单独存在的细胞膜相比,通过黏着斑与肌动蛋白骨架连接的细胞膜硬度增加。这种硬度的增加与细胞内的分子马达 myosin 的作用有关^[39],而细胞膜的这种状态利于其保持对力刺激的敏感性。Friedland 等^[10]发现,破坏肌动蛋白骨架或抑制 myosin II motor 的作用,可阻止 $\alpha_5\beta_1$ -FN 之间的连接向紧张态转变,抑制 FAK 中 Y397 的自磷酸化。

4.2 细胞铺展面积的影响

细胞铺展面积对 FSS 激活黏着斑信号通路有重要影响。限制铺展面积的细胞对力刺激更加敏感,这可能与黏着斑有关。相同基底上,铺展面积较大细胞形成的黏着斑体积过大,活力低;当剪切力一定时,施加到单位面积黏着斑上的力相对减小,从而削弱细胞响应;过多的黏着斑诱导细胞产生的骨架张力过大,增强细胞刚度,抑制细胞感受剪切力刺激时的形变,从而削弱甚至阻断一些需要通过细胞形变激活的信号通路^[40]。

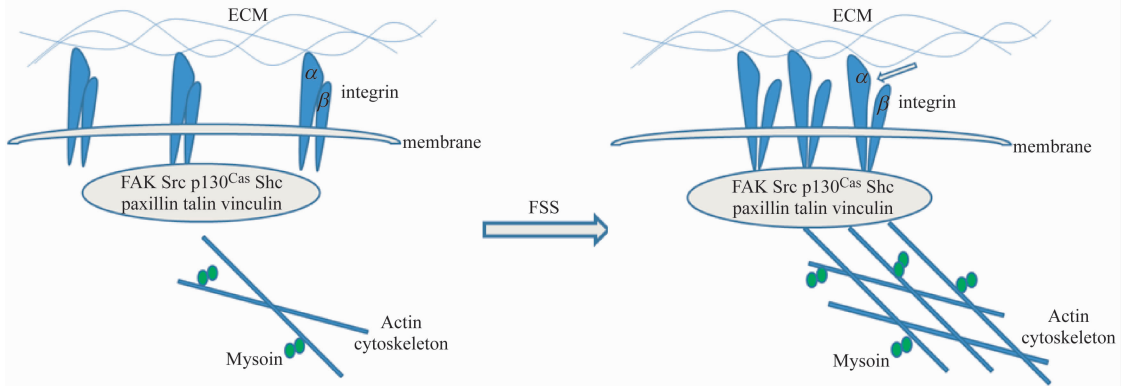


图2 FSS 刺激诱导细胞骨架重组与整合素胞外配体结合位点(帽子结构)展开

Fig. 2 FSS-induced reorganization of F-actin and extension of integrin ligand-binding site (headpiece)

5 黏着斑与其他力转导途径的联系

黏着斑与细胞膜上其他机械刺激感受器在功能上相互协调。例如,黏着斑与力敏感离子通道(mechanosensitive, MS)的激活密切相关。Hayakawa等^[36]研究结果显示,细胞内MS通道激活诱导 Ca^{2+} 含量升高,且最初的 Ca^{2+} 增加部位位于黏着斑附近。阻断黏着斑的形成及其与应力纤维的连接,细胞内 Ca^{2+} 含量的增加即会停止。此外,FSS还可通过PI-3K活化整合素 $\alpha_5\beta_1$,使其与连接蛋白43(connexin 43)的羧基端相互作用,促进由connexin 43形成的半通道的开放^[41],为骨重建因子 PGE_2 、ATP、NO的释放提供条件。FSS作用下黏着斑活化对多种生长激素偶联受体的活化有重要促进作用,如内皮细胞生长因子受体-2(FIK-1)的活化^[42]。

黏着斑中的蛋白参与成骨细胞“力信号小体(mechanosome)”的形成。所谓“力信号小体”,即细胞受到FSS刺激会生成包含黏附蛋白连接分子和构架转录因子的蛋白复合物,该复合物从细胞膜处移动到细胞核内,通过改变DNA构象调节目标基因转录活性。最新研究发现,由一氧化氮(nitric oxide, NO)、环鸟苷酸(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)、蛋白激酶G II(protein kinase G II, PKG II)以及磷酸酶SHP-1、SHP-2组成的力转导蛋白复合物可活化Src并通过它与 β_3 整合素相连,该复合物参与调控成骨细胞对FSS的响应^[27]。目前研究结

果表明,上述过程可能与 β -catenin有关。 β -catenin在细胞膜上与钙黏连蛋白相连,介导细胞-细胞连接。FSS可引起它与钙黏连蛋白的连接断裂,进入细胞核内调节目标基因表达^[43]。Santos等^[44]研究发现,NO、PI-3K以及FAK均参与FSS引起的 β -catenin核定位过程。Rangaswami等^[45]研究也发现,NO-cGMP-PKG II依赖性的Src活化对FSS作用下Akt活化以及 β -catenin核定位不可或缺,这从侧面证实了 β -catenin参与FSS作用下力信号小体的形成。由此可见,应力刺激在细胞内的转导过程复杂多变,转导途径交叉作用,紧密联系,其具体的作用机理还需进一步的实验论证。

6 结论

本文对现有的关于黏着斑-细胞骨架系统在FSS力转导中的作用研究进行总结和归纳,同时介绍黏着斑中重要蛋白参与的胞内信号传递过程。目前,大多数研究是对细胞实施单一力刺激,而在体内环境中,细胞生存的三维环境以及细胞类型、力刺激类型具有多样性,故系统了解黏着斑与FSS力转导的密切关系还需更加完善的实验进行论证。

由于FSS力转导过程的复杂性,其确切的作用机理研究任重道远。如何充分利用细胞层面的力-化学耦合方法^[46],对细胞黏附材料表面进行表面修饰,继而影响基质组装、细胞铺展以及黏着斑的形成,从而干预FSS力转导,将是一个有效的研究策略。毫无疑问,随着黏着斑-细胞骨架力转导机理的

研究不断深入,将会极大地促进骨质疏松、动脉粥样硬化等相关疾病的治疗和药物研发等相关领域的飞速发展。

参考文献:

- [1] 李德强, 杨爱玲, 汤亭亭, 等. 灌注式生物反应器中流体剪切力对大段组织工程化骨构建的作用 [J]. 医用生物力学, 2009, 24(1): 8-14.
Li DQ, Yang AL, Tang TT, *et al.* Study on the effects of flow shear stress in constructing large-scale tissue-engineered bone using a perfusion bioreactor [J]. J Med Biomech, 2009, 24(1): 8-14.
- [2] Ingber DE. Cellular mechanotransduction: Putting all the pieces together again [J]. FASEB J, 2006, 20(7): 811-827.
- [3] Makino A, Prossnitz ER, Bunemann M, *et al.* G protein-coupled receptors serve as mechanosensors for fluid shear stress in neutrophils [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2006, 290(6): C1633-1639.
- [4] Vogel V. Mechanotransduction involving multimodular proteins: Converting force into biochemical signals [J]. Annu Rev Biophys Biomol Struct, 2006, 35: 459-488.
- [5] Schwartz MA. Integrins and extracellular matrix in mechanotransduction [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2010, 2(12): a005066.
- [6] Yamada KM, Geiger B. Molecular interactions in cell adhesion complexes [J]. Curr Opin Cell Biol, 1997, 9(1): 76-85.
- [7] Wozniak MA, Modzelewska K, Kwong L, *et al.* Focal adhesion regulation of cell behavior [J]. Biochim Biophys Acta, 2004, 1692(2-3): 103-119.
- [8] Harburger DS, Calderwood DA. Integrin signalling at a glance [J]. J Cell Sci, 2009, 122(Pt 2): 159-163.
- [9] Zebda N, Dubrovskiy O, Birukov KG. Focal adhesion kinase regulation of mechanotransduction and its impact on endothelial cell functions [J]. Microvasc Res, 2012, 83(1): 71-81.
- [10] Friedland JC, Lee MH, Boettiger D. Mechanically activated integrin switch controls alpha5beta1 function [J]. Science, 2009, 323(5914): 642-644.
- [11] 邓小燕, 管章委, 刘万钱. 流动剪切应力下体外培养人体滋养层细胞的迁移和 $\beta 1$ 整合素表达 [J]. 医用生物力学, 2008, 23(6): 420-423.
Deng XY, Guan ZW, Liu WQ. Migration and $\beta 1$ integrin expression of cultured human trophoblast cells exposed to flow-induced shear stress [J]. J Med Biomech, 2008, 23(6): 420-423.
- [12] Shyy JY, Chien S. Role of Integrins in Endothelial Mechanosensing of Shear Stress [J]. Circ Res, 2002, 91(9): 769-775.
- [13] Jalali S, del Pozo MA, Chen K, *et al.* Integrin-mediated mechanotransduction requires its dynamic interaction with specific extracellular matrix (ECM) ligands [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(3): 1042-1046.
- [14] Ueki Y, Uda Y, Sakamoto N, *et al.* Measurements of strain on single stress fibers in living endothelial cells induced by fluid shear stress [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 395(3): 441-446.
- [15] Singh P, Carraher C, Schwarzbauer JE. Assembly of fibronectin extracellular matrix [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2010, 26: 397-419.
- [16] Campbell ID, Humphries MJ. Integrin structure, activation, and interactions [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2011, 3(3): doi:10.1101/cshperspect.a004994.
- [17] Na S, Collin O, Chowdhury F, *et al.* Rapid signal transduction in living cells is a unique feature of mechanotransduction [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(18): 6626-6631.
- [18] Poh YC, Na S, Chowdhury F, *et al.* Rapid activation of Rac GTPase in living cells by force is independent of Src [J]. PLoS One, 2009, 4(11): e7886.
- [19] Tzima E, Irani-Tehrani M, Kiosses WB, *et al.* A mechanosensory complex that mediates the endothelial cell response to fluid shear stress [J]. Nature, 2005, 437(7057): 426-31.
- [20] 崔晓栋, 官秀梅, 张晓芸, 等. 细胞骨架 F-actin 在层流剪切应力诱导 EPCs 内皮分化中的作用 [J]. 医用生物力学, 2012, 27(5): 548-554.
Cui XD, Guang XM, Zhang XY, *et al.* Role of F-actin cytoskeleton in differentiation of endothelial progenitor cells induced by laminar shear stress [J]. J Med Biomech, 2012, 27(5): 548-554.
- [21] Tzima E, del Pozo MA, Shattil SJ, *et al.* Activation of integrins in endothelial cells by fluid shear stress mediates Rho-dependent cytoskeletal alignment [J]. EMBO J, 2001, 20(17): 4639-4647.
- [22] von Wichert G, Jiang G, Kostic A, *et al.* RPTP-alpha acts as a transducer of mechanical force on $\alpha v/\beta 3$ -integrin-cytoskeleton linkages [J]. J Cell Biol, 2003, 161(1): 143-153.
- [23] Qi YX, Qu MJ, Long DK, *et al.* Rho-GDP dissociation inhibitor alpha downregulated by low shear stress promotes vascular smooth muscle cell migration and apoptosis: A proteomic analysis [J]. Cardiovasc Res, 2008, 80(1): 114-122.
- [24] Castillo AB, Blundo JT, Chen JC, *et al.* Focal adhesion

- kinase plays a role in osteoblast mechanotransduction in vitro but does not affect load-induced bone formation in vivo [J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e43291.
- [25] Shi Q, Boettiger D. A novel mode for integrin-mediated signaling: Tethering is required for phosphorylation of FAK Y397 [J]. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(10): 4306-4315.
- [26] Lee DY, Yeh CR, Chang SF, *et al.* Integrin-mediated expression of bone formation-related genes in osteoblast-like cells in response to fluid shear stress: Roles of extracellular matrix, Shc, and mitogen-activated protein kinase [J]. *J Bone Miner Res*, 2008, 23(7): 1140-1149.
- [27] Bidwell JP, Pavalko FM. Mechanosomes carry a loaded message [J]. *Sci Signal*, 2010, 3(153): pe51.
- [28] Wang B, Du T, Wang Y, *et al.* Focal adhesion kinase signaling pathway is involved in mechanotransduction in MG-63 cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 410(3): 671-676.
- [29] Young SR, Gerard-O'Riley R, Harrington M, *et al.* Activation of NF-kappaB by fluid shear stress, but not TNF-alpha, requires focal adhesion kinase in osteoblasts [J]. *Bone*, 2010, 47(1): 74-82.
- [30] Orr AW, Ginsberg MH, Shattil SJ, *et al.* Matrix-specific suppression of integrin activation in shear stress signaling [J]. *Mol Biol Cell*, 2006, 17(11): 4686-4697.
- [31] Lee DY, Li YS, Chang SF, *et al.* Oscillatory flow-induced proliferation of osteoblast-like cells is mediated by alpha5beta3 and beta1 integrins through synergistic interactions of focal adhesion kinase and Shc with phosphatidylinositol 3-kinase and the Akt/mTOR/p70S6K pathway [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(1): 30-42.
- [32] Reilly GC, Haut TR, Yellowley CE, *et al.* Fluid flow induced PGE2 release by bone cells is reduced by glycocalyx degradation whereas calcium signals are not [J]. *Biorheology*, 2003, 40(6): 591-603.
- [33] Xu H, Zhang J, Wu J, *et al.* Oscillatory fluid flow elicits changes in morphology, cytoskeleton and integrin-associated molecules in MLO-Y4 cells, but not in MC3T3-E1 cells [J]. *Biol Res*, 2012, 45(2): 163-169.
- [34] Ladoux B, Nicolas A. Physically based principles of cell adhesion mechanosensitivity in tissues [J]. *Rep Prog Phys*, 2012, 75(11): doi: 10.1088/0034-4885/75/11/116601.
- [35] Thompson WR, Rubin CT, Rubin J. Mechanical regulation of signaling pathways in bone [J]. *Gene*, 2012, 503(2): 179-193.
- [36] Hayakawa K, Tatsumi H, Sokabe M. Actin stress fibers transmit and focus force to activate mechanosensitive channels [J]. *J Cell Sci*, 2008, 121(Pt 4): 496-503.
- [37] DeMali KA, Wennerberg K, Burridge K. Integrin signaling to the actin cytoskeleton [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2003, 15(5): 572-582.
- [38] Zhu J, Luo BH, Xiao T, *et al.* Structure of a complete integrin ectodomain in a physiologic resting state and activation and deactivation by applied forces [J]. *Mol Cell*, 2008, 32(6): 849-861.
- [39] Nambiar R, McConnell RE, Tyska MJ. Control of cell membrane tension by myosin-I [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(29): 11972-11977.
- [40] You L, Temiyasathit S, Coyer SR, *et al.* Bone cells grown on micropatterned surfaces are more sensitive to fluid shear stress [J]. *Cell Mol Bioeng*, 2008, 1(2-3): 182-188.
- [41] Batra N, Burra S, Siller-Jackson AJ, *et al.* Mechanical stress-activated integrin alpha5beta1 induces opening of connexin 43 hemichannels [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(9): 3359-3364.
- [42] Wang Y, Miao H, Li S, *et al.* Interplay between integrins and FLK-1 in shear stress-induced signaling [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002, 283(5): C1540-1547.
- [43] Pavalko FM, Norvell SM, Burr DB, *et al.* A model for mechanotransduction in bone cells: The load-bearing mechanosomes [J]. *J Cell Biochem*, 2003, 88(1): 104-112.
- [44] Santos A, Bakker AD, Zandieh-Doulabi B, *et al.* Early activation of the beta-catenin pathway in osteocytes is mediated by nitric oxide, phosphatidylinositol-3 kinase/Akt, and focal adhesion kinase [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391(1): 364-369.
- [45] Rangaswami H, Schwappacher R, Tran T, *et al.* Protein kinase G and focal adhesion kinase converge on Src/Akt/beta-catenin signaling module in osteoblast mechanotransduction [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(25): 21509-21519.
- [46] 吕守芹, 杨帆, 龙勉. 细胞-分子生物力学研究进展 [J]. *医用生物力学*, 2009, 24(2): 79-84.
- Lv SQ, Yang F, Long M. Advances in study on cellular and molecular biomechanics [J]. *J Med Biomech*, 2009, 24(2): 79-84.