

文章编号: 1004-7220(2016)05-0390-06

溶血磷脂酸对肝癌细胞迁移行为的影响及其相关机制

林川川, 罗庆, 陈哲, 宋关斌

(重庆大学 生物工程学院, 重庆 400044)

摘要:目的 研究溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LPA)对肝癌细胞 MHCC97H 迁移行为的影响,并探究其相关的分子机制。**方法** 采用 Transwell 法检测 LPA 处理后 MHCC97H 细胞迁移的变化情况,并通过 Rho 相关蛋白激酶(ROCK)抑制剂 Y-27632 检测 ROCK 信号通路在其中的作用,利用免疫荧光染色和免疫印迹法检测 LPA 对 MHCC97 细胞骨架 F-actin 表达的影响,通过原子力显微镜检测 LPA 作用后 MHCC97H 细胞弹性模量的变化。**结果** LPA 显著促进 MHCC97H 的迁移,ROCK 抑制剂 Y-27632 可阻断 LPA 诱导的 MHCC97H 细胞迁移。LPA 上调 MHCC97H 中 F-actin 的表达,减小 MHCC97 细胞的弹性模量。**结论** LPA 可能主要通过 ROCK/F-actin 通路降低肝癌细胞 MHCC97H 的硬度,从而促进其迁移行为。

关键词: 溶血磷脂酸; 肝癌细胞; 细胞迁移; 分子机制; 弹性模量

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.3871/j.1004-7220.2016.05.390

Effect of lysophosphatidic acid on hepatocellular carcinoma cell migration and its involved mechanisms

LIN Chuan-chuan, LUO Qing, CHEN Zhe, SONG Guan-bin (College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of lysophosphatidic acid (LPA) on migration of hepatocellular carcinoma MHCC97H cells and its involved mechanisms. **Methods** Transwell was utilized to investigate the impact of LPA on cell migration of MHCC97H cells. Furthermore, the role of ROCK in the migration of MHCC97H cells through Y-27632 (a specific inhibitor of ROCK). Then, the expression of F-actin was observed with immunofluorescence staining and Western blotting. Atomic force microscopy (AFM) was employed to investigate elastic modulus of MHCC97H cells. **Results** LPA significantly promoted the migration of MHCC97H cells, while Y-27632 significantly blocked the migration of MHCC97H induced by LPA. Moreover, LPA up-regulated the expression of F-actin and decreased the elastic modulus of MHCC97H cells. **Conclusions** LPA promotes MHCC97H cell migration through decreasing the cell stiffness via ROCK/F-actin.

Key words: Lysophosphatidic acid (LPA); Hepatocellular carcinoma cells (HCC); Cell migration; Molecular mechanism; Elastic modulus

肝癌作为原发性肝脏恶性肿瘤,是威胁人类健康的重大疾病,其致死率在我国位居恶性肿瘤致死率的第2位^[1]。由于肝癌细胞(hepatocellular carcinoma cells, HCC)的高转移能力,使得病人在进行肝脏切除或移植手术后仍面临着肝内及远端转移高发等问题,故阻断 HCC 的转移是其治疗的主要方向之

的。本研究旨在探讨溶血磷脂酸(LPA)对肝癌细胞 MHCC97H 迁移行为的影响,并探究其相关的分子机制。采用 Transwell 法检测 LPA 处理后 MHCC97H 细胞迁移的变化情况,并通过 Rho 相关蛋白激酶(ROCK)抑制剂 Y-27632 检测 ROCK 信号通路在其中的作用,利用免疫荧光染色和免疫印迹法检测 LPA 对 MHCC97 细胞骨架 F-actin 表达的影响,通过原子力显微镜检测 LPA 作用后 MHCC97H 细胞弹性模量的变化。结果 LPA 显著促进 MHCC97H 的迁移,ROCK 抑制剂 Y-27632 可阻断 LPA 诱导的 MHCC97H 细胞迁移。LPA 上调 MHCC97H 中 F-actin 的表达,减小 MHCC97 细胞的弹性模量。结论 LPA 可能主要通过 ROCK/F-actin 通路降低肝癌细胞 MHCC97H 的硬度,从而促进其迁移行为。

收稿日期:2016-04-08; 修回日期:2016-06-28

基金项目:国家自然科学基金项目(11272365,11532004),高等学校博士学科点专项科研基金项目(20130191110029),中央高校基本科研业务费资助项目(106112015CDJZR238807)。

通信作者:宋关斌,教授,博士研究生导师,E-mail:song9973@163.com。

一^[2]。细胞迁移受到多种的因素调控,细胞旁分泌或自分泌的趋化因子都能对细胞的迁移行为产生关键性的调控作用。广泛存在于大多数生物组织中的溶血磷脂酸(lysophosphatidic acid, LPA)作为一种多功能的生物活性磷脂分子,能够参与调控细胞迁移、增殖、分化和凋亡等生物学行为^[3]。研究表明,LPA参与了多种肿瘤的生理和病理过程,且在卵巢癌、恶性腹膜癌和肝癌等病人的血清和腹水中大量存在,对癌症的恶化有明显的促进作用,能诱导多种癌细胞迁移^[4]。

细胞的迁移过程直接涉及黏着斑的形成、肌球蛋白的收缩、原有的纤维肌动蛋白(fibrous actin, F-actin)解聚和新 F-actin 的聚合,Rho 相关蛋白激酶(Rho-associated kinase, ROCK)作为 Ras 同源基因家族成员 A(Ras homolog gene family member A, RhoA)下游的重要信号分子,参与了这些过程,从而在细胞迁移中起到重要的作用。在 HCC 中,ROCK 分子的表达高于正常肝细胞,提示 ROCK 分子可能同肝癌的病理过程密切联系,但 ROCK 分子是否直接参与 HCC 的迁移过程,目前尚不明晰^[5]。ROCK 能够影响细胞骨架的结构并参与 F-actin 的解聚和聚合过程,故 ROCK 分子同 F-actin 的表达变化相关。细胞骨架的变化贯穿细胞迁移的整个过程,而细胞骨架的重排将直接影响细胞生物力学特性的改变。因此,本文探讨在 LPA 作用下 MHCC97H 迁移行为的变化,且在此过程中是否涉及 ROCK 和 F-actin 分子的参与,以及在 LPA 作用下细胞生物力学特性的变化情况,为肝癌临床治疗提供新的思路和理论基础。

1 材料和方法

1.1 主要仪器设备和试剂

CO₂ 孵箱(Thermo 公司)、倒置相差显微镜(Laica 公司)、流式细胞仪(BD C6)、激光共聚焦显微镜(Olympus 公司)、蛋白电泳及显影系统(Bio-Rad 公司)、原子力显微镜(JPK 公司)、8 μm Transwell 小室(Millipore 公司)、TR400PSA 探针(Olympus 公司)。

高糖 DME 培养基(Gbico 公司)、小牛血清(Gbico 公司)、LPA(Aladdin 公司)、Y-27632(Abcam 公司)、结晶紫(Sigma-Aldrich 公司)、流式周期检测试剂盒(碧云天公司)、细胞松弛素 B(cytochalasin

B, CytB)(Sigma-Aldrich 公司)、鼠尾胶原 I(Solarbio 公司)、鬼笔环肽-Alexa Flour488(Keygen 公司)、DAPI(Sigma Aldrich 公司)、兔抗人 F-actin 抗体(北京博奥森)、小鼠抗人 GAPDH 抗体(北京中杉金桥)、山羊抗兔 IgG 抗体和山羊抗小鼠 IgG 抗体(北京中杉金桥)。

1.2 细胞培养

人肝癌细胞系 MHCC97H,购于上海东方肝胆研究所。细胞复苏后,采用高糖 DMEM 培养基(含 10% 小牛血清,100 U/mL 青霉素及 100 U/mL 链霉素)于 37 °C、5% CO₂、95% 空气的饱和湿度培养箱中进行常规培养。待细胞生长到铺满细胞瓶底面 80% 左右进行传代。

1.3 细胞迁移分析

采用 Transwell 法进行细胞的迁移分析:常规培养 MHCC97H 细胞,待其生长到对数期时,饥饿处理 12 h 后胰酶消化制成浓度为 2×10^5 个/mL 的细胞悬液。ROCK 抑制实验中,需提前对细胞用含 10 μmol/L Y-27632 的无血清培养基处理 1 h。采用 CytB 处理时,作用浓度为 1 μmol/L。在无菌的 24 孔板中分别加入含 LPA 终浓度依次为 0、0.1、1、10 和 50 μmol/L 的无血清培养基 600 μL,并将孔径为 8 μm 的 Transwell 置入孔板内,于 Transwell 上室加入 100 μL 细胞悬液。然后将 24 孔板放置于孵箱中静置培养 12 h 后取出,拭去 Transwell 上层未迁移的细胞,采用结晶紫染色液进行染色,倒置风干后于倒置相差显微镜下随机选取 4 个视野进行拍照,统计分析视野中迁移细胞的数目。

1.4 细胞增殖分析

采用细胞计数法检测细胞的增殖情况。取对数生长期的细胞用胰酶消化制成悬液,以 1×10^6 个/孔接种到 6 孔板中,培养 24 h 待其贴壁后,无血清饥饿 12 h,每孔依次加入含 LPA 终浓度为 0、0.1、1、10 和 50 μmol/L 的无血清培养基处理 12 h。处理结束后取出,消化制成细胞悬液,对每孔细胞进行细胞计数。

1.5 流式细胞术检测细胞周期的变化

将处于对数生长期的细胞消化制成悬液后,以 1×10^6 个/孔接种到 6 孔板中,培养 24 h 待其贴壁后,无血清饥饿 12 h,每孔依次加入含 LPA 终浓度为 0 μmol/L 和 10 μmol/L 的无血清培养基处理

12 h。处理结束后,采用无 EDTA 的胰酶消化液制成细胞悬液,离心收集细胞,70%的乙醇固定过夜后再收集细胞,加入碘化丙啶(propidium iodide, PI)染液进行染色,37 ℃ 孵育 30 min 后于流式细胞仪下进行检测,分析每组细胞周期的变化情况。

1.6 免疫荧光染色观察 F-actin 的变化

取生长良好的 MHCC97H 细胞以 5×10^3 个/孔接种到共聚焦显微镜观察用培养皿中,于孵箱静置孵育 24 h 后弃去培养基,采用无血清培养基饥饿 12 h,分别按照各组实验设计进行处理:LPA 处理浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$, Y-27632 的处理浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 并提前处理 1 h, CytB 的处理浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 。12 h 后弃去培养基, PBS 洗涤细胞后加入 4% 的多聚甲醛固定 30 min, 加入 0.2% TritonX-100 透膜 10 min, 最后每孔加入 200 μL 鬼笔环肽染色液,于 4 ℃ 避光孵育过夜。次日弃去鬼笔环肽染色液, PBS 润洗后每孔加入 200 μL DAPI 染色液,室温孵育 15 min, PBS 润洗后于共聚焦显微镜下拍照记录。

1.7 Western blotting 检测 F-actin 的变化

按同上方法处理细胞后,弃去培养基,裂解细胞,进行蛋白电泳并转膜后封闭,用 F-actin 或 GAPDH 抗体孵育,4 ℃ 过夜后二抗室温孵育 1 h。最后于蛋白显影系统下进行曝光拍照,统计蛋白条带的灰度值。

1.8 原子力显微镜检测细胞弹性模量的变化

将无菌圆形玻片置于 6 孔板中,以 I 型鼠尾胶原裱衬 2 h 后,将 MHCC97H 细胞以 3×10^4 个/孔接种至含有圆形玻片的 6 孔板中。24 h 后换用无血清培养基饥饿 12 h。按照实验设计在相应的孔中添加药物,随后置于孵箱中静置培养,其中 LPA 的处理浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$, Y-27632 的处理浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 并提前处理 1 h, CytB 的处理浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 。12 h 后弃去培养基,采用无菌 PBS 清洗细胞 2 次,将圆形玻片放置于测试台上,以 PBS 浸润细胞。选定目标细胞进行检测,下针位置选定细胞核周围部分,使用弹性系数 0.02 N/m、半开角 17.5° 的硅质材料镀金锥形探针,根据所得的力-距离曲线计算细胞的弹性模量。

1.9 数据分析

所有数据均以平均数 \pm 标准差表示,并采用 SPSS 软件进行统计学分析,以方差进行差异性分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 实验结果

2.1 LPA 促进 MHCC97H 细胞迁移

为探究 LPA 对 HCC 迁移的影响,采用 Transwell 法检测 0 ~ 50 $\mu\text{mol/L}$ LPA 作用下 MHCC97H 迁移能力的变化情况。不同浓度 LPA 作用 12 h 后均能促进 MHCC97H 的迁移行为。细胞计数结果表明,不同浓度 LPA 作用 12 h 后, MHCC97H 的增殖没有显著变化;而细胞周期的检测结果进一步证明,在 LPA 作用下,细胞周期并没有受到显著影响。实验结果提示, LPA 能够促进 MHCC97H 的迁移行为,且该促进作用不是由于细胞增殖造成的(见图 1)。

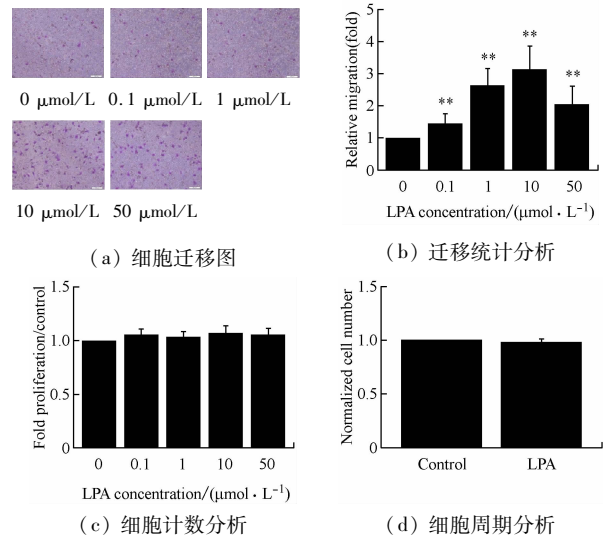


图 1 LPA 对 MHCC97H 细胞迁移和增殖能力的影响

(标尺 = 100 μm , ** $P < 0.01$, $n = 6$)

Fig. 1 The effect of LPA on migration and proliferation capacity of MHCC97H (a) Cell migration, (b) Statistical analysis of migration, (c) Cell count assay, (d) Cell cycle assay

2.2 LPA 通过 ROCK 促进 MHCC97H 细胞 F-actin 聚合及细胞迁移

为研究 ROCK 分子是否参与 LPA 调控的 MHCC97H 细胞迁移过程,采用 ROCK 抑制剂 Y-27632 处理细胞后检测细胞响应 LPA 促迁移作用的变化情况。在 Y-27632 作用下,能够明显抑制 LPA 诱导的细胞迁移 ($P < 0.01$)。免疫荧光染色和 Western blotting 检测了在存在或不存在 Y-27632 时 LPA 对细胞中 F-actin 表达的影响。实验结果表明, LPA 能够明显促进 F-actin 的表达,但在 Y-27632 的加入后

可阻断 LPA 诱导的 F-actin 上调表达(见图 2)。

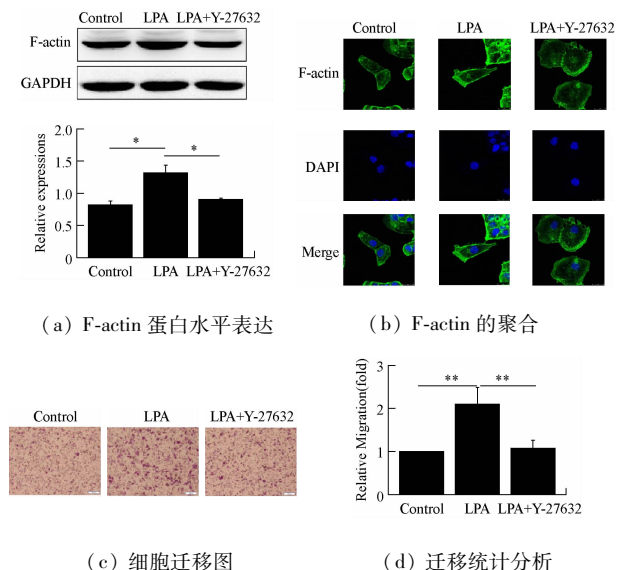


图 2 LPA 通过 ROCK 促进 F-actin 的聚合及细胞迁移

(标尺 = 100 μm, ** P < 0.01, n = 4)

Fig. 2 LPA induced polymerization of F-actin and cell migration through ROCK (a) Expression of F-actin, (b) Polymerization of F-actin, (c) Cell migration, (d) Statistical analysis of migration

2.3 LPA 通过上调 F-actin 聚合促进 MHCC97H 细胞迁移

由于在 LPA 作用下能够促进 MHCC97H 细胞中 F-actin 的表达,且 Y-27632 的加入能够阻断这种诱导作用,因此,为进一步确认 F-actin 是否参与 LPA 的促迁移过程,采用 CytB 直接解聚 MHCC97H 中的 F-actin。免疫荧光染色和 Western blotting 的结果均表明,在 CytB 作用下能够阻断 LPA 诱导的 F-actin 表达上调。同时,在 CytB 作用后,能够抑制 LPA 诱导的细胞迁移。该结果表明,F-actin 参与了 LPA 促进 MHCC97H 迁移的过程(见图 3)。

2.4 LPA 影响 MHCC97H 细胞硬度

为探究在 LPA 促迁移过程中细胞硬度的变化情况,采用原子力显微镜检测在 LPA 作用下 MHCC97H 的弹性模量变化情况。实验结果表明,在 LPA 作用后能够明显降低细胞的弹性模量,并且在 Y-27632 的作用后,细胞的弹性模量进一步降低,提示 LPA 可能通过降低细胞的弹性模量来促进细胞的迁移(见图 4)。

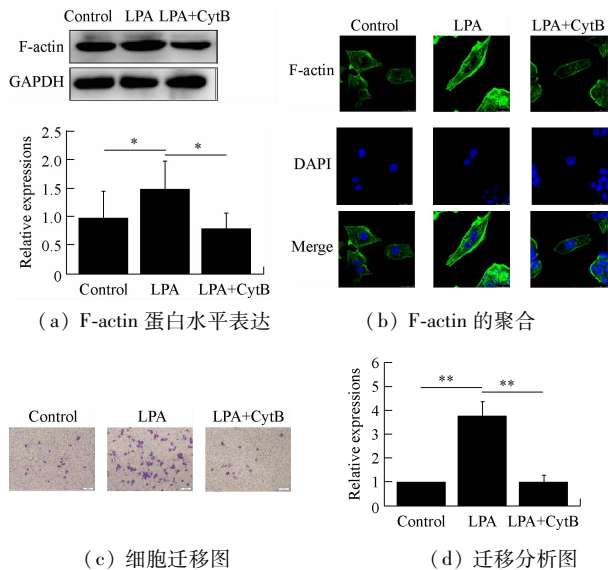


图 3 LPA 通过上调 F-actin 聚合促进 MHCC97H 细胞迁移

(* P < 0.05, n = 4)

Fig. 3 LPA induced MHCC97H migration through F-actin polymerization (a) Expression of F-actin, (b) Polymerization of F-actin, (c) Cell migration, (d) Statistical analysis of migration

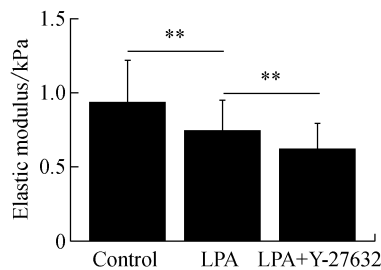


图 4 ROCK 抑制剂存在条件下 LPA 对 MHCC97H 细胞硬度的影响 (** P < 0.01, n = 35)

Fig. 4 The effect of LPA on cell stiffness of MHCC97H with or without ROCK inhibitors

3 讨论

组织转移是恶性肿瘤非常重要的标志之一,与癌细胞的运动能力直接相关。癌症的转移涉及癌细胞从原发性肿瘤中迁出、细胞的迁移、黏附和侵袭,并最终进入血管或淋巴管到达靶点组织和器官^[6]。LPA 作为一种重要的生物活性磷脂,在生物组织中广泛存在,能够参与调节多种癌细胞的迁移行为。本实验证实,LPA 能够诱导 MHCC97H 细胞的迁移,

故 LPA 很可能参与了肝癌的病理过程。

LPA 能够通过与其紧密连接的 G 蛋白耦联受体激活下游多条信号通路,其中 RhoA/ROCK 通路作为重要的信号传导途径之一,在 LPA 作用中意义重大。ROCK 的激活能够磷酸化下游的肌球蛋白轻链(myosin light chain-2, MLC2)、肌球蛋白磷酸酶目的蛋白(myosin phosphatase targeting protein, MYPT)和 LIM 激酶(LIM kinase, LIMK),从而抑制丝切蛋白解聚 F-actin、促进肌球蛋白的收缩以及 F-actin 的聚合。除此之外,ROCK 还同多种细胞骨架相关蛋白密切相连,这其中就包括了埃兹蛋白、根蛋白和膜突蛋白,这些蛋白都能够调节肌动蛋白纤维丝锚定于细胞膜的过程^[12-14]。由于 RhoA/ROCK 通路对细胞骨架的影响,本文考察了 F-actin 是否参与了 LPA 诱导的 MHCC97H 细胞迁移。通过免疫荧光染色和 Western blotting 实验发现,在 LPA 的作用下能够明显促进 MHCC97H 细胞中 F-actin 的聚合,并且增加 F-actin 在蛋白水平的表达,这与大多数文献报道的结果相符合。例如,Zeng 等^[15]的工作证实,在结肠癌细胞中,LPA 处理能够促进 F-actin 的聚合,并增加细胞的运动能力,且该信号通过 RhoA/ROCK 通路进行传导。ROCK 抑制剂作用后能阻断 LPA 对 MHCC97H 细胞中 F-actin 聚合的诱导作用。因此,LPA 可能通过 ROCK 来影响 MHCC97H 细胞中 F-actin 的聚合。在进一步采用 CytB 解聚 F-actin 后发现,LPA 对细胞迁移行为的诱导作用消失。本实验结果证实,F-actin 确实参与了 LPA 诱导的细胞迁移行为,并且该信号的传递是通过 ROCK 分子调控的。

细胞力学特性包括了细胞的硬度、黏弹性、骨架和牵张力等方面。其中,由 F-actin 组成的细胞骨架网络的变化为细胞形态和迁移提供所需的驱动力,故 F-actin 可作为活细胞力学特性的首要决定因素^[16]。本实验结果表明,在 LPA 作用下降了细胞的弹性模量,这与 Li 等^[17]和 Zhang 等^[18]的研究结果相似。在本研究中,为了尽可能减少细胞培养基对实验结果的影响,选取的下针部位靠近细胞核周围,故实验结果显示的弹性模量不仅包含了肌动蛋白骨架的硬度变化,也涉及细胞核硬度的变化。Friedl 等^[19]研究发现,细胞核变软更有利于细胞迁移,故 LPA 可能通过改变肌动蛋白骨架和细胞核的

硬度来促进细胞的迁移。ROCK 作为调节细胞骨架的重要分子,能够参与形成细胞的皮层肌动蛋白(cortical actin)网络,而细胞变形性迁移的主要动力来自于皮层 F-actin 的重排与皮层肌球蛋白的收缩,故皮层肌动蛋白能够在细胞迁移过程中起重要的作用^[20];此外,皮层肌动蛋白网络还决定了细胞硬度大小^[21]。在本实验中,ROCK 的抑制可阻断 LPA 诱导的细胞迁移,并降低 F-actin 的聚合和弹性模量。虽然前文已经指出,细胞迁移能力的增加伴随着弹性模量的降低,在 Y-27632 的作用下降低了弹性模量,但却抑制了细胞的迁移,这可能是由于 ROCK 被抑制后,细胞中 F-actin 解聚,细胞的皮层肌动蛋白网络被破坏,导致细胞的质膜收缩功能障碍,从而最终降低细胞的弹性模量。

综上所述,在 LPA 的作用下能够促进 MHCC97H 细胞的迁移行为,且该信号通过 ROCK/F-actin 通路进行传导,在此过程中,细胞可能通过降低自身的硬度来增加迁移能力。该实验结果为肝癌的临床治疗以及以 ROCK/F-actin 通路为治疗靶点的药物开发提供了相应的理论基础。

参考文献:

- [1] AHMEDIN J, FREDDIE B, CENTER MM, *et al.* Global cancer statistics [J]. *Ca Cancer J Clin*, 2011, 61 (2): 69-90.
- [2] PARK SY, JEONG KJ, PANUPINTHU N, *et al.* Lysophosphatidic acid arguments human hepatocellular carcinoma cell invasion through LPA1 receptor and MMP-9 expression [J]. *Oncogene*, 2011, 30 (11): 1351-1359.
- [3] MILLS GB, MOOLENAAR WH. The emerging role of lysophosphatidic acid in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3 (8): 582-591.
- [4] SHIDA D, KITAYAMA J, YAMAGUCHI H, *et al.* Lysophosphatidic acid enhances the metastatic potential of human colon carcinoma DLD1 cells through LPA1 [J]. *Cancer Res*, 2003, 63 (7): 1706-1711.
- [5] TAKEBA Y, MATSUMOTO N, WATANABE M, *et al.* The Rho kinase inhibitor fasudil is involved in p53-mediated apoptosis in human hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2012, 69 (9): 1545-1555.
- [6] LOU L, CHEN YX, JIN L, *et al.* Enhancement of invasion of hepatocellular carcinoma cells through lysophosphatidic acid receptor [J]. *J Int Med Res*, 2013, 41 (1): 55-63.

- [7] MUELLER BK, HELMUT M, NICOLE T. Rho kinase, a promising drug target for neurological disorders [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4 (5): 387-398.
- [8] LEE DL, CLINTON W, LIMING J. Hypertension and RhoA/Rho-kinase signaling in the vasculature; Highlights from the recent literature [J]. *Hypertension*, 2005, 44 (6): 796-799.
- [9] ITOH K, YOSHIOKA K, AKEDO H, *et al.* An essential part for Rho-associated kinase in the transcellular invasion of tumor cells [J]. *Nat Med*, 1999, 5 (2): 221-225.
- [10] TAKAMURA M, SAKAMOTO M, GENDA T, *et al.* Inhibition of intrahepatic metastasis of human hepatocellular carcinoma by Rho-associated protein kinase inhibitor Y-27632 [J]. *Hepatology*, 2001, 33 (3): 577-581.
- [11] OGAWA T, TASHIRO H, MIYATA Y, *et al.* Rho-associated kinase inhibitor reduces tumor recurrence after liver transplantation in a rat hepatoma model [J]. *Am J Transplanta*, 2007, 7 (2): 347-355.
- [12] CARMEN CW, CHUNMING W, SANDY LA, *et al.* RhoGTPases and Rho-effectors in hepatocellular carcinoma metastasis; ROCK N' Rho move it [J]. *Liver Int*, 2010, 30 (5): 642-656.
- [13] QUANG CT, GAUTREAU A, ARPIN M, *et al.* Ezrin function is required for ROCK mediated fibroblast transformation by the Net and Dbl oncogenes [J]. *Embo J*, 2000, 19 (17): 4565-4576.
- [14] MATSUI T, MAEDA M, Doi Y, *et al.* Rho-kinase phosphorylates COOH-terminal threonines of Ezrin/Radixin/Moesin (ERM) proteins and regulates their head-to-tail association [J]. *J Cell Biol*, 1998, 140 (3): 647-657.
- [15] ZENG Y, XIE H, QIAO Y, *et al.* Formin-like2 regulates Rho/ROCK pathway to promote actin assembly and cell invasion of colorectal cancer [J]. *Cancer Sci*, 2015, 106 (10): 1385-1393.
- [16] PESKIN CS, ODELL GM, OSTER GF, *et al.* Cellular motions and thermal fluctuations: The brownian ratchet [J]. *Biophys J*, 1993, 65 (1): 316-324.
- [17] LI X, LUO Q, SUN J, *et al.* Conditioned medium from mesenchymal stem cells enhances the migration of hepatoma cells through CXCR4 up-regulation and F-actin remodeling [J]. *Biotechnol Lett*, 2015, 37 (7): 511-521.
- [18] ZHANG B, LUO Q, MAO X, *et al.* A synthetic mechano-growth factor E peptide promotes rat tenocyte migration by lessening cell stiffness and increasing F-actin formation via the FAK-ERK1/2 signaling pathway [J]. *Exp Cell Res*, 2014, 322 (1): 208-216.
- [19] FRIEDL P, WOLF K, LAMMERDING J. Nuclear mechanics during cell migration [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2011, 23 (1): 55-64.
- [20] SIT ST, MANSER E. Rho GTPases and their role in organizing the actin cytoskeleton [J]. *J Cell Sci*, 2011, 124 (5): 679-683.
- [21] EFREMOV YM, DOKRUNOVA AA, EFREMENKO AV, *et al.* Distinct impact of targeted actin cytoskeleton reorganization on mechanical properties of normal and malignant cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853 (11): 3117-3125.