

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.10.001

· 基础研究 ·

AFAP1 在博来霉素诱导的 A549 细胞衰老中的作用机制研究*

杜朋¹ 杨银¹ 李德冠² 樊飞跃^{1Δ} 孟爱民^{1Δ}

(1 中国医学科学院医学实验动物研究所 北京协和医学院比较医学中心 卫计委人类疾病比较医学重点实验室 北京 100021;

2 中国医学科学院放射医学研究所 天津市放射医学与分子核医学重点实验室 天津 300192)

摘要 目的:研究 AFAP1 在博来霉素诱导的 A549 细胞衰老模型中的作用及分子机制。**方法:**用 50 $\mu\text{g/mL}$ 的博来霉素处理 A549 细胞 5 天建立细胞衰老模型。用相同浓度的博来霉素处理细胞 1-5 天观察细胞从周期阻滞到衰老的过程,SA- β -Gal 染色检测衰老细胞数目,用 Western blot 方法检测 AFAP1、p21、c-Src 等蛋白表达。过表达 AFAP1 后,观察细胞衰老状态及各蛋白表达水平变化。**结果:**50 $\mu\text{g/mL}$ 的博来霉素处理 A549 细胞 5 天后可以建立细胞衰老模型,表现为 BLM 组 SA- β -Gal 阳性细胞数升高 ($P < 0.01$)且细胞体积显著增大($P < 0.01$),p21 表达水平升高。在衰老的 A549 细胞中,AFAP1 和激活型(Src pY416)表达水平变化一致,从 BLM 处理后出现升高第 4 天开始明显下降在第 5 天最低,c-Src 和 Src pY527 表达水平不变。过表达 AFAP1 后再用博来霉素诱导,SA- β -Gal 阳性细胞数及细胞体积、Src pY416 和 p21 表达与空载对照比较未发现有明显差异($P > 0.05$)。**结论:**衰老的 A549 细胞中 AFAP1 表达下调,c-Src 活性降低;过表达 AFAP1 不能减轻博来霉素诱导的 A549 细胞衰老,也不能抑制衰老细胞中的 c-Src 的活性下降。

关键词:Actin Filament Associated Protein 1(AFAP1);衰老;A549 细胞;博来霉素

中图分类号:R-33;Q691;R563 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)10-1801-05

The Role and Mechanism of AFAP1 in the Senescent A549 Cells Induced by Bleomycin*

DU Peng¹, YANG Yin¹, LI De-guan², FAN Fei-yue^{1Δ}, MENG Ai-min^{1Δ}

(1 Institute of Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences Comparative Medical center, Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine, Ministry of Health, Beijing, 100021, China; 2 Tianjin Key Laboratory of Radiation Medicine and Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin, 300192, China)

ABSTRACT Objective: To study the role and mechanism of AFAP1 in A549 cells senescence induced by bleomycin. **Methods:** A549 cells were exposed to bleomycin and then p21 and SA- β -Gal positive proportion which are markers of cellular senescence were evaluated. AFAP1 was overexpressed in A549 cells, the expression of p21, AFAP1 and c-Src were detected by western blot. **Results:** AFAP1 expression was decreased in senescent A549 cells, the change of which was consistent with activated c-Src (Src pY416). However, there was few variations in total c-Src as well as inhibited c-Src (Src pY527). There was no difference in the p21, Src pY416 and senescent phenotype between AFAP1-overexpressed cells and vehicle vector transfected control. **Conclusion:** AFAP1 expression decreased in senescent A549 cells induced by BLM, overexpression of AFAP1 could not alleviated the senescent phenotype and downstream molecular activated c-Src.

Key words: Actin filament associated protein 1(AFAP1); Senescence; A549 cell; Bleomycin

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q691; R563 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)10-1801-05

前言

特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)是一种以肺间质重塑导致肺功能不可逆损伤为特点的致死性疾病,发

病率逐年升高,发病机制不完全清楚且缺乏有效的治疗手段^[1,2]。目前研究表明二型肺泡上皮细胞(AT II)衰老与 IPF 存在一定关系,且靶向清除衰老的上皮细胞可以减轻肺纤维化程度^[3,4]。细胞衰老是细胞处于不可逆的周期停滞状态,而且衰老的细胞

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81372928,81573094)

作者简介:杜朋(1985-),男,硕士研究生,研究方向:放射医学,E-mail:dp7355@163.com

Δ 通讯作者:樊飞跃,男,研究员,研究方向:辐射致癌机制及干预,E-mail:faithyfan@yahoo.com;

孟爱民,女,研究员,研究方向:成体干细胞损伤机制及干预,E-mail:ai_min_meng@126.com

(收稿日期:2017-12-21 接受日期:2018-01-18)

在组织内累积可导致机体衰老^[5]。因此,研究 AT II 衰老机制对了解 IPF 的发病机制具有重要意义^[6]。

胸腔放射线照射或气管滴注博来霉素(Bleomycin, BLM)可诱导小鼠肺纤维化,常用来作为研究 IPF 的疾病模型^[7,8]。前期对小鼠肺放射性纤维化组织基因表达谱进行加权基因共表达网络分析,发现肌动蛋白微丝相关蛋白 1(actin filament associated protein 1, AFAP1)在放射性肺纤维化小鼠模型中表达下调可能在衰老相关的放射性肺纤维化起重要作用^[9]。AFAP1 最早发现是非受体酪氨酸激酶 c-Src 的底物,可以与 Src 的 SH3/SH2 结构域结合,并通过 C 端肌动蛋白结合结构域直接和肌动蛋白微丝作用,也可作为一个接头蛋白连接 c-Src 与肌动蛋白微丝^[10]。另外,AFAP1 磷酸化后构象发生变化可以激活 c-Src 并改变肌动蛋白微丝完整性,细胞形态也会随之发生一定程度改变。在肌动蛋白微丝完整性变化对器官功能起重要作用的器官中,如肺脏和肌肉,AFAP1 表达量较高^[11]。AFAP1 在乳腺肿瘤和前列腺肿瘤中表达水平升高且和肿瘤细胞黏附转移有关^[12,13]。近年来研究表明 AFAP1 在成骨细胞增殖和矿化时介导 TGF- β 的调节 c-Src 及相关生长因子表达^[14]。TGF- β 在组织纤维化中表达升高,且 IPF 治疗药物吡非尼酮主要通过抑制 TGF- β 发挥作用^[15]。AFAP1 激活 c-Src 后使后者发挥激酶活性磷酸化下游底物促进细胞分裂^[16]。这些都提示 AFAP1-c-Src 信号通路可能与细胞衰老和 IPF 有密切关系。

人肺腺癌上皮细胞系 A549 细胞具有 ATII 特性,可在 BLM 诱导下出现衰老^[17]。因此,本实验利用 A549 细胞代替 ATII,利用 BLM 处理建立细胞衰老模型,检测 AFAP1 及相关分子衰老过程中的变化规律,观察过表达 AFAP1 对细胞衰老的影响探讨 AFAP1 在细胞衰老过程中的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

A549 细胞由中国医学科学院医学实验动物研究所保存。DMEM 培养基、胎牛血清、双抗、胰蛋白酶购自 Gibco 公司;注射用盐酸博来霉素购自日本化药株式会社;RIPA 裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、SA- β -Gal 试剂盒购自碧云天公司;KOD 酶购自 TOYOBO 公司;内切酶购自 NEB 公司;质粒提取试剂盒购自康维世纪公司;Lipo2000 购自 Invitrogen 公司;抗 AFAP1 兔多克隆抗体购自 OriGene, 抗 Phospho-Src Family (Tyr416)(D49G4)兔单克隆抗体,抗 Phospho-Src(Tyr527)抗体,抗 p21 兔多克隆抗体购自 CST;抗 c-Src 兔多克隆抗体,羊抗兔 IgG(H+L)过氧化物酶标二抗,羊抗鼠 IgG(H+L)过氧化物酶标二抗购自 Proteintech 公司;化学发光试剂盒购自 Thermo 公司;其他试剂为国产分析纯。

1.2 细胞培养与药物处理

A549 细胞用含 10%胎牛血清、1%双抗的 DMEM 在 5% CO₂ 的 37℃ 培养箱中培养,每隔 48 小时换液并传代。细胞汇合度达到约 80%时,加入 BLM 至终浓度为 50 μ g/mL,对照组加入相等体积的 PBS,分别处理细胞 5 天。

1.3 细胞形态学观察

分别用 BLM 和 PBS 处理 A549 细胞,在不同时间点用普通光学显微镜观察细胞形态并拍照,用 image J 计算 100 个细胞面积并计算平均值。

1.4 SA- β -Gal 检测

吸除 6 孔板中细胞培养液,用 PBS 洗涤 1 次,加入 1 mL β -半乳糖苷酶染色固定液,室温固定 15 分钟。吸除固定液,用 PBS 洗涤 3 次,加入 1 mL 染色工作液,37℃ 孵箱过夜,在普通光学显微镜下观察并拍照。统计总数 200 个细胞中 SA- β -Gal 阳性细胞数目并计算百分率。

1.5 p21、AFAP1、c-Src 蛋白质表达水平检测

A549 细胞经过博来霉素和 PBS 处理后,分别用细胞刮收集细胞并用 RIPA 裂解液提取总蛋白并测定蛋白浓度。p21、AFAP1、c-Src 等蛋白用 Western blot 方法检测。将总蛋白浓度调整一致,每孔上样 20 μ g 蛋白,10% SDS-PAGE 凝胶 130V 电压下进行电泳,转膜 1.5 h 后用 5%的脱脂奶粉室温封闭半小时之后分别加入抗 AFAP1 (1:1000)、c-Src(1:1000)、Src-pY416 (1:1000)、Src-pY527(1:1000)、p21(1:1000)、GAPDH(1:5000)抗体 4℃ 孵育过夜。分别对应二抗(1:5000)室温下孵育 1 小时,化学发光显色后用 Tanon 凝胶成像系统扫描,以 GAPDH 为参照进行比对。

1.6 pCMV-GST-AFAP1 过表达载体构建和质粒提取

AFAP 质粒由厦门大学韩家淮实验室赠送,pCMV-GST 为本实验室保存,引物序列由美吉生物合成。将 AFAP1 基因扩增后连接到 pCMV-GST 真核表达载体。转化到 TOP10 大肠杆菌感受态细胞。菌液 PCR 验证正确后提取质粒送美吉生物测序,用去内毒素质粒中提试剂盒提取质粒用于细胞转染。

1.7 统计学分析

采用 GraphPad Prism 7.0 软件进行统计学分析。计量数据采用均数 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD),两组间比较采用 t 检验,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 BLM 诱导的 A549 细胞衰老模型

50 μ g/mL BLM 和 PBS(control)分别处理 A549 细胞 5 天。与 control 组相比,BLM 组细胞出现扁平、表面积增大、SA- β -Gal 阳性细胞数显著增多(P<0.01)(图 1A, 1B, 1C),细胞面积增大(P<0.01),p21 表达显著上调(图 1D),表明 50 μ g/mL BLM 处理 A549 细胞 5 天可以诱导建立细胞衰老模型。

2.2 AFAP1 在衰老的 A549 细胞中表达下调

为了进一步研究 AFAP1 在细胞衰老中的作用,本实验用 50 μ g/mL BLM 和 PBS(Control)分别处理 A549 细胞 5 天,发现 AFAP1 在衰老的 A549 细胞中表达下调(图 2)。

2.3 P21、AFAP1、c-Src 在博来霉素诱导的 A549 细胞衰老进程中表达变化规律

为了研究 A549 细胞从周期停滞到衰老的过程中 AFAP1 及相关分子的变化规律,本实验设计了加入 BLM 后 1 天、2 天、3 天、4 天以及 5 天用 Western blot 方法检测各个蛋白表达变化规律。与 Control 组相比,细胞经 BLM 处理后 p21 先升高再逐降低但在第五天时仍然高于 Control 组的表达水平;AFAP1 在第 4 天时明显下降,在第 5 天时表达水平最低;总的 c-Src 表达水平没有变化;激活状态下的 c-Src(Src pY416)表达水平逐渐降低;活性抑制状态下的 c-Src(Src pY527)表达水平不变。AFAP1 的变化规律和 Src pY416 一致,都从 BLM 处理后第四天明显下降(图 3)。

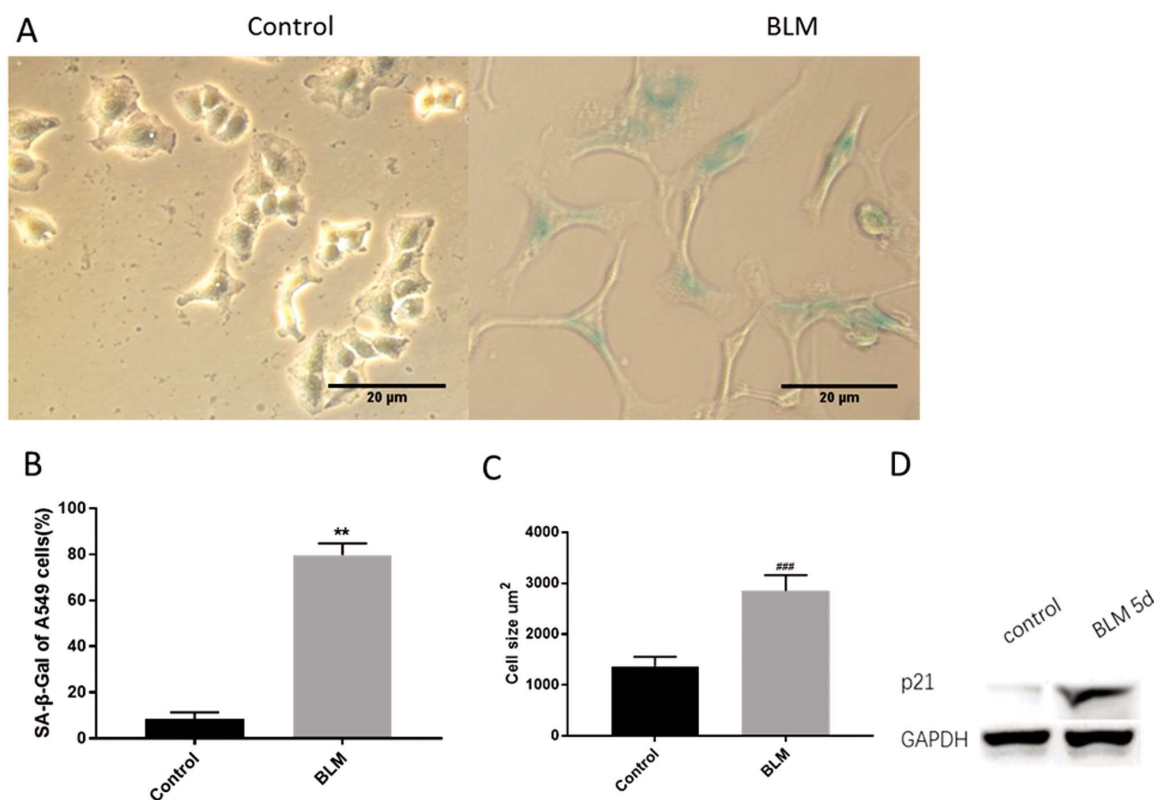


图1 BLM 诱导 A549 细胞衰老模型的建立

Fig.1 Establishment of senescent A549 cell model induced by BLM

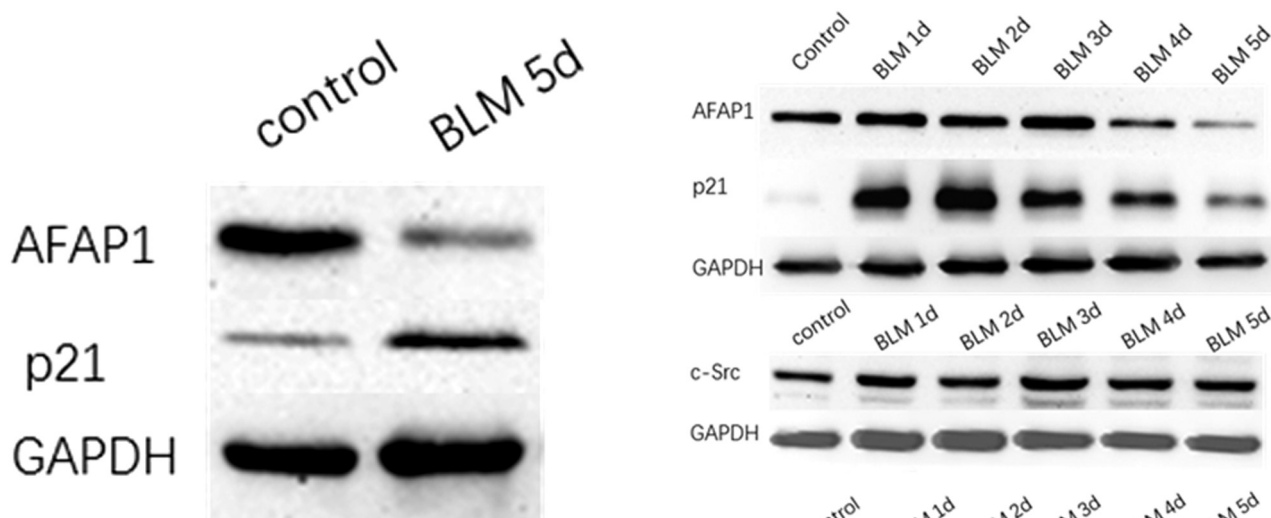
Note: Data were expressed as mean $\pm$ SD, n=3. ***P<0.001, compared with control group; ###P<0.001, compared with control group.

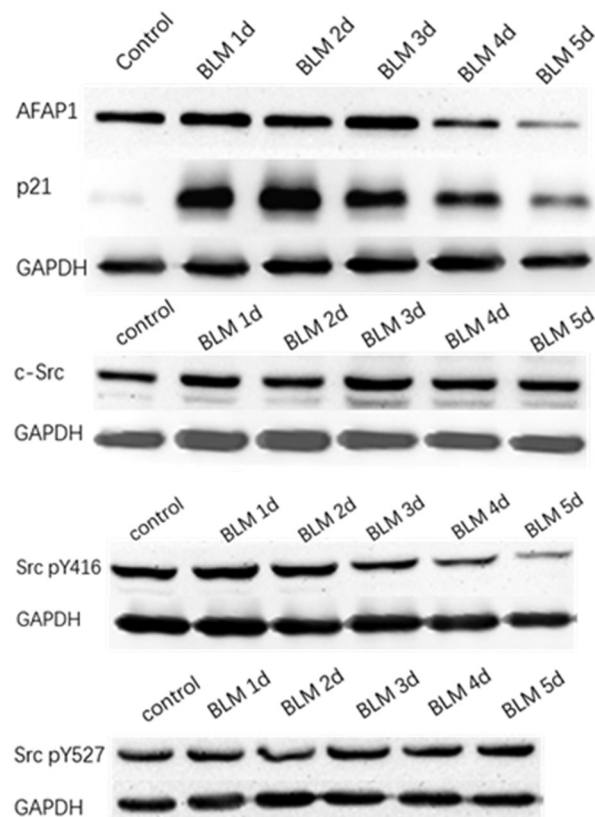
图2 AFAP1 BLM 诱导衰老细胞中的表达

Fig.2 The expression of AFAP1 in BLM induced senescent cell

2.4 过表达 AFAP1 对 A549 细胞衰老的影响

用 pCMV-GST 和 pCMV-GST-AFAP1 质粒分别转染 A549 细胞,转染 24 h 后用 BLM 处理 A549 细胞 5 天。过表达 AFAP1 细胞 AFAP1 表达水平升高,p21 在两组中都有表达,两组 Src pY416 表达没有明显差别(图 4A),SA- β -Gal 阳性细胞数没有显著差异(P>0.05)(图 4B,4C,4D),细胞面积没有显著差异(P>0.05)。过表达 AFAP1 未能影响博来霉素诱导的 A549 细胞衰老进程。

3 讨论

图3 BLM 处理 A549 细胞不同时间 AFAP1 及相关分子表达
Fig.3 The change of AFAP1 and related proteins expressions in A549 cells with or without BLM exposure

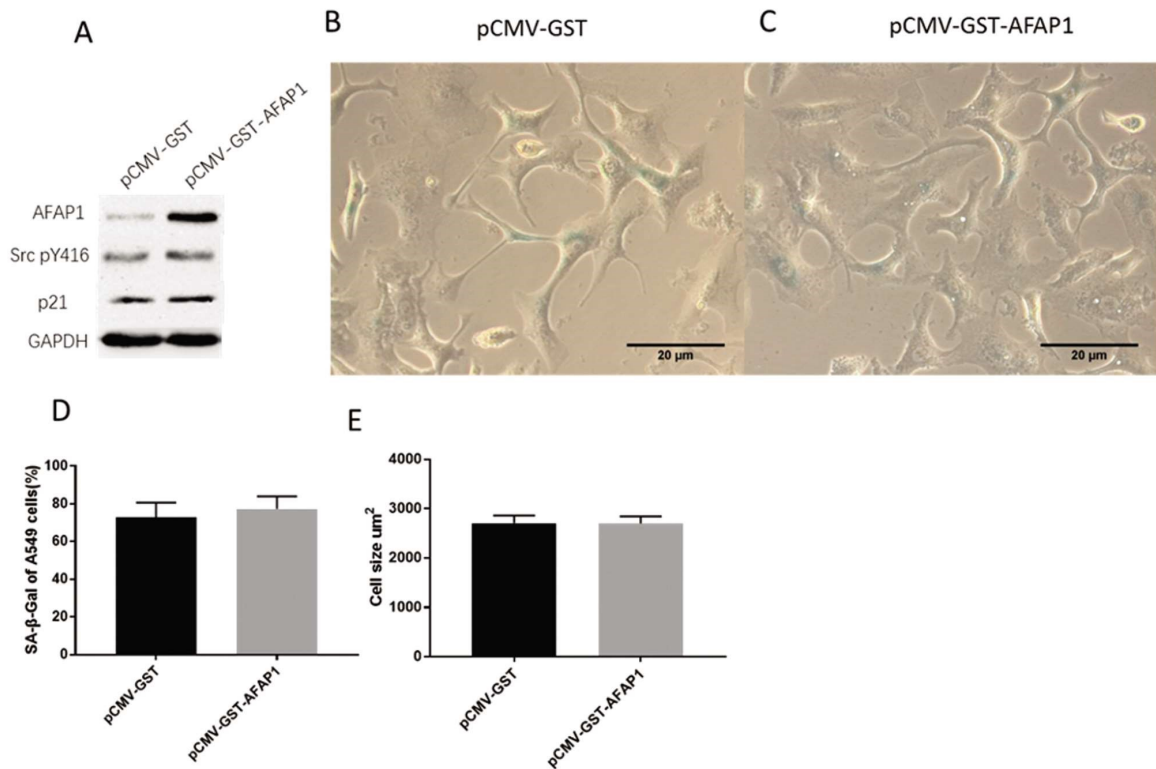


图4 AFAP1 过表达对 BLM 诱导的 A549 细胞衰老的影响

Fig.4 Establishment of senescent A549 cell model induced by BLM

Note: Data were expressed as mean $\pm$ SD, n=3. P>0.05, compared with pCMV-GST group.

当细胞发生损伤、应激、癌基因信号激活甚至在胚胎发育时,通过 p16、p21、Rb、p53、p21 等肿瘤抑制因子来停止细胞周期进程^[18]。细胞周期阻滞进行损伤 DNA 修复,不能修复可以导致细胞死亡,是机体防止机体肿瘤发生机制之一。而细胞周期长期阻滞,丧失细胞功能,且抵抗凋亡时的状态为细胞衰老^[19]。细胞衰老在体内累积可促进衰老相关组织和器官功能失调及各种慢性衰老相关疾病^[20]。具有干细胞特性的 AT II 在受到应激损伤出现衰老后不能分化成一型肺泡上皮细胞^[21]。肺泡 I 型上皮细胞是肺泡的主要构成细胞,当不能及时修复损伤的肺泡时肌成纤维细胞大量增殖并迁移到损伤部位导致肺纤维化^[22,23]。IPF 病人出现端粒缩短,进而引起 DNA 损伤并导致细胞周期阻滞,引起肺泡上皮细胞衰老^[24]。BLM 是一种化疗药物,小鼠气管给予 BLM 可以诱导出肺纤维化模型且发现该模型小鼠肺组织中有衰老的成纤维细胞存在^[6,25]。为研究 ATII 衰老在肺纤维化中的作用机制,本研究采用 A549 细胞替代原代 AT II,用浓度为 50 μ g/mL 的 BLM 处理 5 天后细胞体积显著增大,p21 表达上调且 BLM 组 SA- β -Gal 阳性细胞比例显著高于 PBS 组,表明 A549 细胞衰老模型建立。

本课题组既往研究显示 AFAP1 在辐射诱导的小鼠肺纤维化模型的肺组织中表达下调,并可能起重要作用,但因为肺组织中有多种细胞所以尚不能确定衰老细胞的类型。本研究发现 BLM 能够诱导 A549 细胞衰老并引起 AFAP1 表达水平下降,与动物实验结果一致。为进一步探讨 AFAP1 在衰老中的作用及分子机制奠定了基础。AFAP1 作为激动蛋白微丝相关蛋白,在介导细胞分裂、粘附、运动等生物学过程起着重要的作用。激动蛋白微丝完整性丧失是细胞恶性转化的特征。AFAP1 通过 C

端肌动蛋白结合结构域直接和肌动蛋白微丝作用,AFAP1 也可以改变肌动蛋白微丝完整性,这与磷酸化或诱变相关的构象变化有关,当构象发生变化时 AFAP1 可激活 c-Src^[26]。转化的细胞中 AFAP1 构象发生了改变,这与肌动蛋白微丝完整性变化和动态结构的形成是相符的^[27]。这种改变的发生不依赖于酪氨酸磷酸化,与激活 c-Src 改变肌动蛋白微丝完整性相符。改变 AFAP1 构象的特定细胞信号可以通过依赖 SH3 的方式激活 c-Src。AFAP1 的接头特性在应答如 c-Src、PI3K、PKC、RACK1、G β γ 、14-3-3 蛋白和磷脂中其作用并和肿瘤黏附迁移有关^[10,13]。之前研究对 AFAP1 在肿瘤细胞行为学变化比较关注。近年来发现 AFAP1 与成骨细胞分化,细胞基质形成有关^[14],也可能与血脑屏障中炎症信号调整 P 糖蛋白外流活性的关键因子^[28]。但与细胞衰老的关系还未进行研究。

与之前的研究相比,本实验对比了 A549 细胞受到 BLM 处理后从细胞周期阻滞到细胞衰老整个过程中相关分子的变化规律。其中,AFAP1 和 Src pY416 在博来霉素处理后第 4 天表达显著下调且两者趋势一致,且 BLM 诱导的 A549 细胞衰老和 AFAP1-c-Src 信号通路有关。过表达组与对照组相比 SA- β -Gal 阳性细胞比例和细胞体积没有显著差异。另外,与未衰老的细胞不同的是,AFAP1 过表达后衰老细胞中的 c-Src 不能被 AFAP1 激活,这有可能是 BLM 诱导的细胞衰老状态也未有减轻的原因。

总之,本研究结果表明衰老细胞 AFAP1 表达下降,但是过表达 AFAP1 并没有纠正相应的衰老细胞表型。进一步研究需要观察 AFAP1 是否与衰老相关分泌表型(senescence associated secretory phenotype, SASP)有关或者与其它组织细胞衰老有关,

采用原代细胞衰老模型以及在体实验进一步进行验证也是十分必要的。

参考文献(References)

- [1] King TE Jr, Pardo A, Selman M. Idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Lancet (London, England), 2011, 378(9807): 1949-1961
- [2] Richeldi L, du Bois RM, Raghu G, et al. Efficacy and safety of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. The New England Journal of Medicine, 2014, 370(22): 2071-2082
- [3] Lehmann M, Korfei M, Mutze K, et al. Senolytic drugs target alveolar epithelial cell function and attenuate experimental lung fibrosis ex vivo [J]. The European Respiratory Journal, 2017, 50(2): 1602367
- [4] Pan J, Li D, Xu Y, et al. Inhibition of Bcl-2/xl With ABT-263 Selectively Kills Senescent Type II Pneumocytes and Reverses Persistent Pulmonary Fibrosis Induced by Ionizing Radiation in Mice [J]. International Journal of Radiation Oncology Biology Physics, 2017, 99(2): 353-361
- [5] Yanai H, Fraielfeld V E. The role of cellular senescence in aging through the prism of Koch-like criteria [J]. Ageing Research Reviews, 2017, 41:18-33
- [6] Schafer M J, White T A, Iijima K, et al. Cellular senescence mediates fibrotic pulmonary disease [J]. Nature Communications, 2017, 8(suppl_1): 14532
- [7] Beach T A, Johnston C J, Groves A M, et al. Radiation induced pulmonary fibrosis as a model of progressive fibrosis: Contributions of DNA damage, inflammatory response and cellular senescence genes [J]. Experimental Lung Research, 2017, 43: 134-149
- [8] Llontop P, Lopezfernandez D, Clavo B, et al. Airway transplantation of adipose stem cells protects against bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. J Investig Med, 2017, jim-2017-000494. [Epub ahead of print]
- [9] Xing Y, Zhang J, Lu L U, et al. Identification of hub genes of pneumocyte senescence induced by thoracic irradiation using weighted gene co-expression network analysis [J]. Mol Med Report, 2016, 13(1): 107-116
- [10] Baisden J M, Qian Y, Zot H, et al. The actin filament-associated protein AFAP-110 is an adaptor protein that modulates changes in actin filament integrity[J]. Oncogene, 2001, 20(44): 6435-6447
- [11] Han B, Bai X H, Lodyga M, et al. Conversion of mechanical force into biochemical signaling[J]. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(52): 54793-54801
- [12] Dorfleitner A, Stehlik C, Zhang J, et al. AFAP-110 is required for actin stress fiber formation and cell adhesion in MDA-MB-231 breast cancer cells[J]. J Cell Physiol, 2007, 213(3): 740-749
- [13] Zhang J, Park S I, Artime M C, et al. AFAP-110 is overexpressed in prostate cancer and contributes to tumorigenic growth by regulating focal contacts [J]. Journal of Clinical Investigation, 2007, 117(10): 2962-2973
- [14] Cho Y, Silverstein R, Geisinger M T, et al. AFAP1 Is a Novel Downstream Mediator of TGF- β 1 for CCN2 Induction in Osteoblasts[J]. PLoS One, 2015, 10(9): e0136712
- [15] Caminati A, Cassandro R, Torre O, et al. Severe idiopathic pulmonary fibrosis: what can be done? [J]. Eur Respir Rev, 2017, 26(145): 170047
- [16] Gatesman A, Walker V, Baisden J M, et al. Protein Kinase C α Activates c-Src and Induces Podosome Formation via AFAP-110 [J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(17): 7578-7597
- [17] K Aoshiba, T Tsuji, A Naqai. Bleomycin induces cellular senescence in alveolar epithelial cells[J]. The European respiratory journal, 2003, 22(3): 436-443
- [18] Chang J, Wang Y, Shao L, et al. Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice[J]. Nature Medicine, 2016, 22(1): 78-83
- [19] Hall B M, Vitaly B, Gleiberman A S, et al. Aging of mice is associated with p16 (Ink4a)- and β -galactosidase-positive macrophage accumulation that can be induced in young mice by senescent cells[J]. Aging, 2016, 8(7): 1294-1315
- [20] Mchugh D, Gil J. Senescence and aging: Causes, consequences, and therapeutic avenues[J]. J Cell Biol, 2017, jcb.201708092
- [21] Beers M F, Moodley Y. When is an Alveolar Type 2 Cell an Alveolar Type 2 Cell? A Conundrum for Lung Stem Cell Biology and Regenerative Medicine[J]. American Journal of Respiratory Cell & Molecular Biology, 2017, 57(1): 18-27[Epub ahead of print]
- [22] Lagares D, Ghassemikakroodi P, Tremblay C, et al. ADAM10-mediated ephrin-B2 shedding promotes myofibroblast activation and organ fibrosis[J]. Nature Medicine, 2017, 23(12): 1405-1419
- [23] Zheng S, Wang Q, D'souza V, et al. ResolvinD1 stimulates epithelial wound repair and inhibits TGF- β -induced EMT whilst reducing fibroproliferation and collagen production[J]. Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology, 2017 [Epub ahead of print]
- [24] Ahmad T, Sundar I K, Tormos A M, et al. Shelterin Telomere Protection Protein 1 Reduction Causes Telomere Attrition and Cellular Senescence via Sirtuin 1 Deacetylase in Chronic Obstructive Pulmonary Disease [J]. American Journal of Respiratory Cell & Molecular Biology, 2017, 56(1): 38-49
- [25] Wang K, Zhang T, Lei Y, et al. Identification of ANXA2 (annexin A2) as a specific bleomycin target to induce pulmonary fibrosis by impeding TFEB-mediated autophagic flux[J]. Autophagy, 2017, 1-56 [Epub ahead of print]
- [26] Dorfleitner A, Stehlik C, Zhang J, et al. AFAP-110 is required for actin stress fiber formation and cell adhesion in MDA-MB-231 breast cancer cells[J]. J Cell Physiol, 2010, 213(3): 740-749
- [27] Han B, Bai X H, Lodyga M, et al. Conversion of mechanical force into biochemical signaling[J]. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(52): 54793-54801
- [28] Hoshi Y, Uchida Y, Tachikawa M, et al. Actin filament-associated protein 1 (AFAP-1) is a key mediator in inflammatory signaling-induced rapid attenuation of intrinsic P-gp function in human brain capillary endothelial cells[J]. J Neurochem, 2017, 141(2): 247-262