



刘妍君, 复旦大学生物医学研究院教授, 博士生导师。国际“人类前沿科学计划”青年科学家奖获得者。担任细胞生物学学会细胞结构与细胞行为分会委员。实验室一直致力于微流控芯片与生物医学交叉科学研究, 主要开发和运用微流控芯片技术, 重构体内细胞微环境; 结合细胞分子生物学方法及高分辨动态成像, 研究限域微环境中细胞力学响应; 探讨机械力对细胞迁移、分裂等生物学行为的影响; 揭示调控细胞行为的分子机制, 为疾病治疗提供可行性策略。

细胞核感知机械力调控细胞功能和命运

王亚君[#] 刘伟[#] 余赛西 刘妍君^{*}

(复旦大学附属中山医院徐汇医院, 复旦大学生物医学研究院, 上海 200032)

摘要 感知和响应外界环境是生命活动的关键要素之一。组成机体的细胞也无时无刻不在感知周围微环境并对其响应。在胚胎发育、器官成熟、组织再生修复、肿瘤发生发展等过程中, 力学微环境无处不在, 不同类型的生物力学刺激决定不同的细胞功能和命运。细胞如何感知这些机械力信号并引起细胞响应是生命科学中的关键科学问题之一。细胞核作为一种新型力学感受器, 在响应生物力学刺激以及调控细胞功能和命运等方面发挥着至关重要的作用, 而探究细胞核如何响应力学微环境, 发展能够精准重构力学微环境的新技术新方法必不可少。该文总结了目前体外仿生力学微环境重构的方法, 重点阐述了细胞核各个组分如何感知和响应微环境中的机械力信号, 调控细胞行为及命运, 为更加全面揭示细胞核力学感知和响应功能提供参考。

关键词 细胞核; 细胞力学; 微流控技术; 限域微环境

Cell Nuclei Sense Mechanical Forces to Regulate Cell Function and Fate

WANG Yajun[#], LIU Wei[#], YU Saixi, LIU Yanjun^{*}

(Zhongshan-Xuhui Hospital, Institutes of Biomedical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract Perceiving and responding to the external environment is one of the key elements of life activities. Cells that compose the body sense and react to the surrounding microenvironment continually. In various biological processes, cells are exposed to mechanical microenvironments that can impact cell functions and fates through exerting biomechanical stimulation in different ways. How cells sense and respond to these mechanical

收稿日期: 2023-11-03

接受日期: 2023-12-18

国家自然科学基金面上项目(批准号: 22274026)、国家自然科学基金重点项目(批准号: 21934001)和国际HFSP人类前沿科学计划(批准号: RGY0079/2020)资助的课题

[#]共同第一作者

^{*}通讯作者。Tel: 021-54237748, E-mail: Yanjun_Liu@fudan.edu.cn

Received: November 3, 2023

Accepted: December 18, 2023

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.22274026, 21934001), and the International Human Frontier Science Program (Grant No.RGY0079/2020)

[#]These authors contributed equally to this work

^{*}Corresponding author. Tel: +86-21-54237748, E-mail: Yanjun_Liu@fudan.edu.cn

force signals is one of the key questions in life sciences. As a new type of mechanoreceptor, the nucleus is critical in determining cell fate and function in response to various signals and stimuli. Precise methods to reconstruct the mechanical microenvironment are crucial for investigating the nuclear response to mechanical cues. This review presents an overview of the currently available methods for reconstructing biomimetic mechanical microenvironments, and focuses on how each component of the nucleus senses and responds to mechanical force signals in the microenvironments to regulate cell behavior and fate, aiming to provide a reference for a more comprehensive understanding of nuclear mechanical sensing and response functions.

Keywords nucleus; cell biomechanics; microfluidics; confined microenvironments

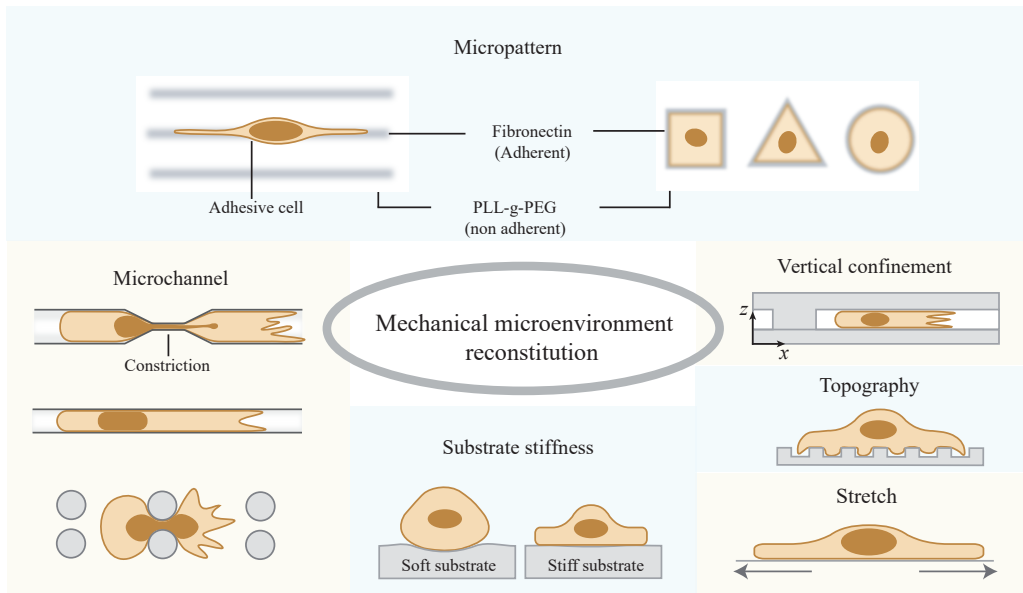
在胚胎发育、组织器官成熟等生命过程中,细胞始终受到多种形式的力学刺激[如细胞外基质(extracellular matrix, ECM)应力、胞内基质拉伸及胞内外流变等]。细胞可感知这些力学刺激,并将力学刺激信号转化为生物化学信号输出,进而激活细胞内一系列应答反应,最终影响细胞分化、迁移、功能和命运。因此,研究细胞如何响应力学微环境并揭示其分子机制,对于解答复杂生命如何诞生、实现组织和器官再生,以及肿瘤转移等问题有重要的意义,是当前生物学、生物医学及生物力学领域亟待解决的科学问题之一。

细胞生物学早期研究揭示的细胞力学感受器主要位于细胞膜(如细胞黏附分子integrin, 离子通道piezo等),直到最近研究人员才逐渐认识到细胞核(nucleus)作为细胞遗传中心,在细胞感知机械力微环境中也发挥着关键作用。作为最大最坚硬的细胞器,细胞核能够通过其结构和形态的动态变化,感知外部机械力刺激并通过调控细胞行为来作出应答。例如,当体内细胞迁移通过狭窄孔隙时,细胞核能够感知细胞外基质刚度和孔径大小等力学约束,通过核形变帮助细胞在空间受限的微环境中顺利穿行。因此,细胞核不仅是遗传物质的储存中心,而且能够响应通过细胞骨架传递而来或直接作用在细胞上的力学刺激,其形状和结构组分随之改变,调控细胞力学性能和细胞行为。

1 仿生力学微环境重构

生物体内细胞存活于复杂的、由细胞外基质纤维和细胞堆积等力学因素调控的动态微环境中。细胞在组织中的生存与迁移取决于细胞产生的作用力和组织微环境提供的机械力之间的平衡。细胞核作为细胞中最大最硬的细胞结构,其大小和形变能力限制了细胞在限域的组织微环境中的存活与迁移

能力。为了理解细胞限域微环境对体内细胞行为及命运调控的重要作用,精准的限域微环境构建方法必不可少。微流控芯片技术是把化学、生物分析等过程中的样品制备、细胞或组织培养、分离、检测等基本操作单元集成到一块芯片大小的器件上,能够精准地进行微米尺度操控,同时兼具生物兼容性好、设计简便等特点,在近十年获得蓬勃发展,成为研究细胞物理化学微环境的最佳工具之一^[1-5]。基于此也逐渐发展出了不同的精准调控物理化学微环境参数的新技术新方法。目前,被广泛使用的仿生物理微环境重构方法主要包括:微图案(micropattern)、微通道(microchannel)、细胞空间羁束装置(cell confiner)、细胞拉伸装置、不同刚度和拓扑结构基底等^[6-8](图1)。细胞的生理微环境是由细胞外基质、邻近细胞以及细胞外流体等多种成分共同构成的,不同几何形状的微图案基底能够模拟不同组织细胞的黏附微环境,例如宽度约为1 μm 的线性微图案模拟纤维状的细胞外基质^[9],椭圆或矩形形状的微图案能够提供具有各向异性的细胞黏附位点,这有助于在体外研究中模拟形态拉长的肌肉细胞和成纤维细胞^[10]。不同尺寸圆形微图案提供了非极性细胞黏附形态,这有助于阐明细胞形状是如何调控角质细胞终末分化的^[11]。微通道和细胞空间羁束装置能够模拟体内细胞所处的限域物理空间,例如肿瘤细胞转移时穿越细胞外基质大小不一的孔隙,及其在血管周围的内渗/外渗过程^[12]。细胞拉伸装置能够模拟机体在运动过程中对皮肤施加的拉伸力^[13],例如在下蹲过程中,膝盖处的皮肤会受到明显的单轴拉伸力。在体内,细胞持续地牵拉和重新排列细胞外基质,从而形成不同尺寸的拓扑地貌特征,这些独特的拓扑结构对细胞的行为有着显著影响,例如,肿瘤细胞会沿着胶原纤维束迁移到基质层^[14],体外重构的微凹槽结构能够模拟这种接触引导式的拓扑结构,进一步研



Micropattern: 微图案; microchannel: 微通道; vertical confinement: 细胞空间羁束装置; stretch: 细胞拉伸装置; substrate stiffness: 不同刚度基底; topography: 不同拓扑结构基底。

图1 仿生力学微环境重构

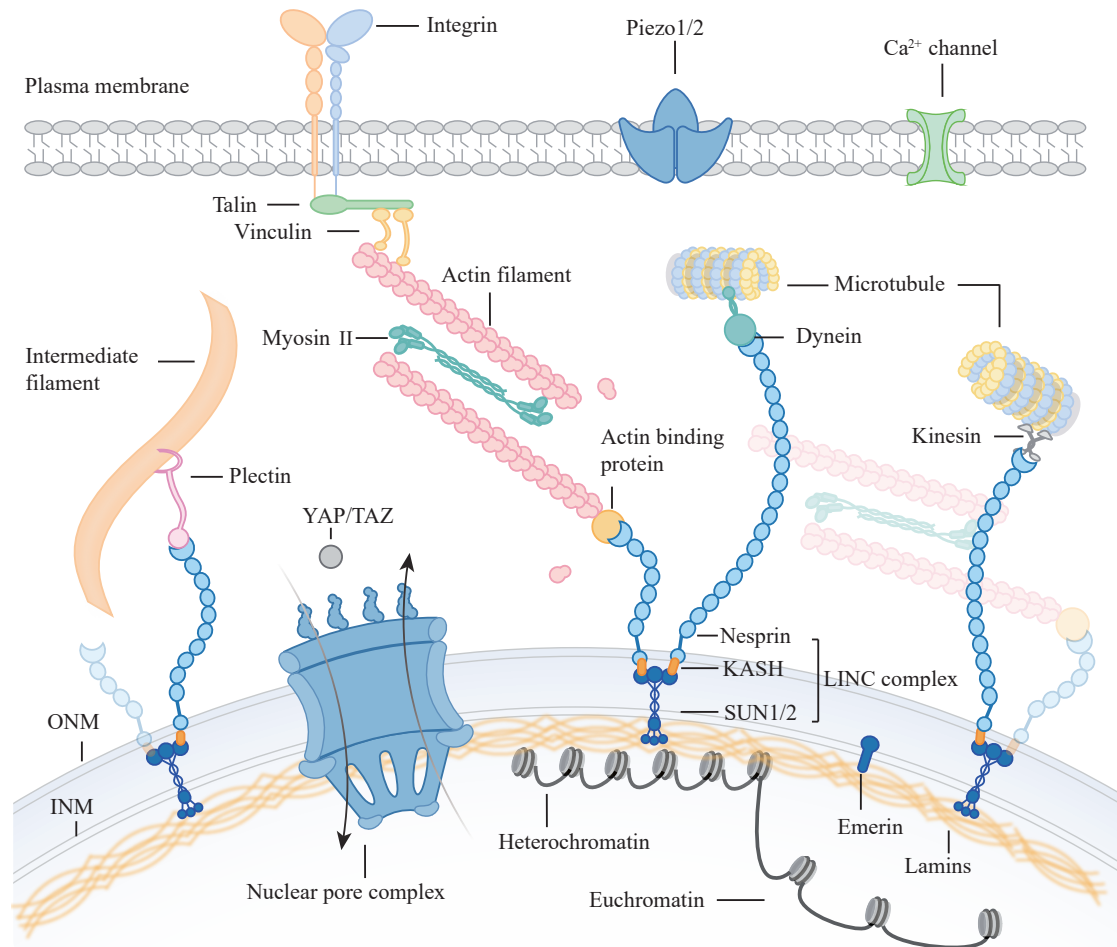
Fig.1 Reconstruction of mechanical microenvironments

究其对细胞迁移等行为的影响^[15]。不同基质刚度能够模拟不同组织中的基质物理微环境。在生物体内,不同的组织器官内部基质刚度各不相同,例如骨组织中高基质刚度赋予其对抗外界机械应力,脑组织中低基质赋予其柔软特性^[16]。利用微流控芯片技术,能够将体内复杂的物理化学参数一一拆分开来,单独模拟、单独调控,逐个研究它们如何影响细胞极性、迁移、分裂等生物学行为,为揭开其行为分子机制提供强有力的技术支持和保障。

2 概述细胞核组成及其力学作用

细胞核(nucleus)是真核细胞内最大、最重要的细胞结构,是细胞遗传与代谢的调控中心,它主要由核膜、核孔复合物、核纤层、染色质、核仁等组成(图2)^[17]。核膜(nuclear envelope, NE)是细胞核与细胞质之间的界膜,将细胞内部分为核与质两大结构与功能区域,具有多种关键功能:控制细胞质蛋白进入细胞核、为细胞核提供结构稳定性、在物理上连接核内部和细胞骨架^[18]。哺乳动物核膜主要由内外双层核膜[内核膜(inner nuclear membrane, INM)和外核膜(outer nuclear membrane, ONM)]、核孔复合物(nuclear pore complex, NPCs)组成^[19]。早期的电子显微镜图像显示,内核膜和外核膜与内质网是连续的,能够接受来自内质网的脂质分子,动态

调控细胞核表面积^[20]。尽管核膜和内质网之间存在脂质连续性,但外核膜和内核膜均由不同的蛋白质组成,这些蛋白质主要分为3类,通常不会在内质网中富集^[18,20-21]。第1类是由约30种不同的多肽组成的,称为核孔蛋白(nucleoporins, Nups),形成分子量为40~70 MDa的NPCs^[22-24]。核孔复合物均匀分布在核膜表面,可通过响应机械应力改变其大小^[25-27]。第2类是定位在内核膜的核膜蛋白,尽管大约有60种内核膜蛋白,其中大多数的结构和功能尚不清楚^[28-29]。仅少数被充分表征的内核膜蛋白包括核纤层蛋白B受体(lamin B receptor, LBR)、核纤层蛋白相关多肽1(lamin-associated polypeptide 1, LAP1)、核纤层蛋白相关多肽2(lamina-associated polypeptide 2, LAP2)、Emerin和MAN1^[30-32]。第3类是定位于外核膜的核膜蛋白Nesprin家族,它们共享一个KASH(Klarsicht、ANC-1、Syne Homolgy)结构域,能够与定位于内核膜的SUN(Sad1p/UNC-84)结构域蛋白相互作用,形成跨核膜的核骨架-细胞骨架连接物复合物(linker of nucleoskeleton and cytoskeleton complex, LINC complex),介导细胞骨架和细胞核力学传递(图2)^[18,33]。这两种结构域蛋白间稳定的相互作用是LINC发挥生物功能的结构基础,其突变会导致核膜鼓泡(nuclear blebbing)或核膜破裂(envelope rupture)等事件的发生^[34]。



细胞外的力学刺激能够通过整合素(integrin)-黏着斑复合物(Talin、vinculin)传递到微丝骨架网络(actin filament、Myosin II)/微管骨架网络(microtubule、dynein、kinesin)/中间丝骨架网络(intermediate filament、Plectin),进而通过LINC复合体(Nesprin、SUN1/2)传递到细胞核,引起细胞核膜蛋白(Emerin等)、核孔复合物(nuclear pore complex)、核纤层蛋白(lamins)、染色质结构和功能改变;细胞外的力学刺激也可以激活细胞膜上的机械敏感通道(Piezo1/2、Ca²⁺通道等),促进转录因子(YAP/TAZ等)入核。

The mechanical transduction pathway from the cell membrane to the nucleus involves the transmission of extracellular mechanical stimuli to the cellular cytoskeleton networks, encompassing microfilaments (such as actin filament and Myosin II), microtubules (comprising microtubule, dynein, and kinesin), and intermediate filaments. This transmission occurs through the integrin-focal adhesion complex, consisting of Talin and Vinculin. Subsequently, the mechanical signals are conveyed to the nucleus via the LINC complex, involving Nesprin and SUN1/2 proteins. This cascade of events influences various nuclear components, including nuclear membrane proteins (e.g., Emerin), the nuclear pore complex, nuclear lamina, and the structure and function of chromatin. Furthermore, extracellular mechanical stimulation activates mechanosensitive channels, including Piezo1/2 and Ca²⁺ channels, situated on the cell membrane. This activation facilitates the entry of transcription factors such as YAP/TAZ into the nucleus, contributing to the modulation of gene expression.

图2 细胞膜-细胞核力学传递途径

Fig.2 Mechanical transduction pathway between cell membrane and nucleus

核纤层(nuclear lamina)是内核膜内侧的致密蛋白质网络,为核膜提供机械稳定并保护细胞核内的染色质,主要由核纤层蛋白(lamin)(中间丝家族成员)组成^[35-36]。核纤层蛋白组装成长度为300~400 nm、厚度约为3.5 nm的非极性丝,形成14~30 nm厚的网状结构^[37-38]。在哺乳动物体细胞中,核纤层主要由四种核纤层蛋白异构体组成:两种A型核纤层蛋白(lamin A/C)和两种B型核纤层蛋

白(lamin B1/B2)^[37-38]。每类核纤层蛋白亚型形成独立且相互作用的网状结构^[24-28,39]。B型核纤层蛋白主要位于核膜上,而A型核纤层蛋白可以定位于核膜和核内部。核纤层蛋白可以与其他核组分,包括NPC蛋白、INM蛋白、染色质和各种转录调节因子等相互作用^[27-32,40]。核纤层蛋白(lamin)突变会造成细胞核膜结构和功能异常,进而引起核纤层蛋白病(laminopathy),如Hutchinson-Gilford早老症、Emery-

Dreifuss肌营养不良等^[41]。另外, lamin的缺失或突变会导致DNA损伤、染色体结构异常, 以及体细胞中基因组稳定性的丢失等^[24,41-42]。

细胞核内部主要由染色质、核仁等物质组成, 其中基因组DNA缠绕组蛋白八聚体形成的核小体, 为染色质组装的基本单元, 核小体进一步折叠压缩形成染色质^[43]。根据折叠压缩程度、转录活性、组蛋白修饰状态, 可以将染色质分为两类: 结构松散的常染色质和密集排列的异染色质。常染色质主要定位于细胞核内部和NPCs附近, 具有转录活性。而异染色质常位于内核膜外周和核仁处, 具有转录抑制性^[44-45]。值得注意的是, 染色质的不同组蛋白修饰影响细胞核的机械性质, 与常染色质相关的染色质修饰(例如H3K27ac)通常会使得细胞核的硬度降低, 而与其关系更紧密的异染色质相关的组蛋白修饰(例如H3K9me3)则会增加细胞核的硬度^[27]。

3 细胞核机械性质及测量方法

3.1 细胞核机械性质

细胞核的机械性质主要表现在黏弹性、硬度、体积三方面。细胞核按照组成成分自内向外依次是: 核内部空间(包括染色质、核仁、RNA等)、核纤层、核膜^[46]。细胞核展现出黏弹性的特性, 这种特性来源于细胞核整体类弹簧的弹性, 以及核内介质具有可连续流动般的黏度特性^[47-48]。与胞外细胞质相比, 细胞核展示出的更高的黏度^[48], 同时细胞核在耐受外界应力之前可以发生大幅度压缩^[49]。另外, 染色质和核纤层赋予了细胞核对不同大小力耐受的不同机制。当使用较小的力牵拉细胞核时, 细胞核力学耐受主要由染色质的组装状态调控; 当牵拉力变大时, 细胞核力学耐受主要由核纤层蛋白lamin A/C表达水平调控^[50]。综上, 细胞核的这种物理特性, 使其能够承受和响应不同程度的力学刺激, 进而调控细胞行为及命运。

细胞核的硬度主要由核纤层和染色质组成决定, 二者赋予细胞核抵御外界应力的能力。在不同类型核纤层中, A型核纤层[指核纤层蛋白(lamin A/C)]对细胞核硬度调控起主要作用^[27], B型核纤层[指核纤层蛋白(lamin B1/B2)]起辅助作用^[51], 细胞可以根据外部的力学微环境, 适应性调控核纤层蛋白的表达水平, 调节细胞核的硬度。例如, 当肿瘤细胞和免疫细胞迁移至狭小孔隙时, 其会下调lamin A/C表达水平,

使细胞核变软。细胞核作为细胞中最大最硬的细胞结构, 其变软直接影响了细胞的形变能力, 促进了细胞在空间限域微环境中的迁移^[52-53]。染色质的组装程度是决定细胞核硬度的另一个重要因素, 折叠程度高的异染色质会增加细胞核的硬度, 反之, 折叠疏松的常染色质会降低细胞核的硬度^[54]。调控染色质组蛋白修饰状态和组成, 可以进一步调控染色质的折叠状态, 进而影响细胞核的硬度。通常, 抑制组蛋白去乙酰化酶活性, 提高松散的常染色质占比, 抑制组蛋白甲基化转移酶活性, 降低凝缩的异染色质占比, 都会导致细胞核变软^[50,55]。此外, 核周异染色质与细胞核膜的连接对细胞核的硬度会产生影响^[27]。在lamin B1蛋白敲除的人乳腺癌细胞系中, H3K4me2、H3K4me3和H3K27ac修饰的松散折叠状态的染色质整体含量显著增加, 而H3K27me3修饰的紧密折叠状态的染色质则由核膜富集转位至核质中, 表明改变染色质与细胞核膜连接显著影响染色质整体的解压缩和重排, 从而调控细胞核的机械性质^[56]。

核体积在多细胞生物发育过程中以及不同类型细胞内保持相对恒定。其大小是由细胞核内外的压力差所决定的, 这种压力差主要来源于核内外大分子的渗透压^[27]。细胞通过抑制核内大分子外排, 导致核内大分子聚集, 提升核内渗透压, 会使细胞核膨胀, 体积增大^[57]。CHOI教授团队^[58]用线性刚度梯度水凝胶培养ASCs时发现, 细胞外基质水凝胶的刚度增大能够使细胞体积与细胞核体积减小, 并且机械力敏感蛋白(lamin A、YAP、MRTFa)也会随细胞外基质水凝胶的刚度增大而核定位表达水平降低。

3.2 细胞核机械性质的测量方法

目前, 最常用的测量细胞核机械力学性能的方法主要分为两大类。(1) 通过操纵悬臂梁、汇聚光束与磁场约束等来对细胞核施加机械刺激, 测量相关的力曲线, 以获得单个细胞核的机械反馈, 相应地包括原子力显微镜、光镊和磁镊等。(2) 基于外部应力下细胞核形变来量化细胞核的力学表型, 包括微管吸吮(micropipette aspiration, MA)^[59]、光学拉伸^[60], 以及基于介电泳力的细胞黏弹形变测量芯片(deformability cytometry)技术^[61]等。其中微管吸吮可以测量不同细胞器(如膜和核)和整个细胞的机械性能, 其精度与原子力显微镜相当^[59]。另外, 微管吸吮、光镊和光学拉伸系统与微流体技术相结合, 能够实现高通量和高精度的单细胞力学测量。这些系

统还可以与细胞成像技术结合, 获取更多的基于图像的细胞核表征数据。

4 细胞核力学传递与力学响应

细胞核能够通过其特定的机制接受和响应力学信号, 调控细胞行为, 作出适应性响应^[62]。细胞外部的力学刺激可以通过LINC复合物被传递到细胞核^[63-65], Nesprin蛋白定位在细胞核外膜, 一端与细胞骨架相连, 接受传递到细胞骨架的力学信号, 另一端KASH结构域(KASH domain)在细胞核膜间隙处与SUN结构域(SUN domain)结合, 将接受的力学信号传递给细胞核内膜定位的SUN蛋白, SUN蛋白能够结合核孔复合物、核纤层、染色质进一步将力学刺激传递到细胞核内部。LINC复合物及其相关蛋白在不同类型细胞中的表达水平和组成成分不同, 因此赋予了不同类型细胞不同的力学传递特性。此外, 编码Nesprin-1和Nesprin-2蛋白的基因含有多个起始和终止位点, 能够表达出多种不同的蛋白亚型^[66], 进一步增加了LINC复合物力学传递的多样性。外部机械力也可以直接作用在细胞核上, 刺激细胞核机械感知。例如, 当迁移的细胞通过狭窄的孔隙时, 物理空间束缚能够引起细胞核形变, 由细胞核形变产生的力学信号, 能够调控限域微环境下的细胞行为, 帮助细胞作出适应性改变^[52-53]。

细胞核在接受不同来源的力学刺激之后, 能够将力学信号转化为生物化学信号输出, 调控下游的信号通路及细胞行为, 以响应不同程度的力学刺激。现有的细胞核力学响应方式总结如下。

4.1 力学刺激引起核膜蛋白及核膜定位蛋白应答

细胞核外膜与内质网相连^[67], 当细胞受到拉伸力刺激后核膜的张力增加时, 内质网上的膜张力也会同步增加, 进而激活拉力敏感的离子通道[例如Piezo1和三磷酸肌醇受体(inositol trisphosphate receptor, InsP3R)], 释放Ca²⁺激活钙调蛋白, 提高细胞的收缩性^[27,68-69]。如果原发灶处的肿瘤细胞由于物理挤压导致核膜破裂, 则会激活内质网相关的核酸外切酶TREX1(three-prime repair exonuclease 1), 诱导DNA损伤及转录因子Snail介导的上皮细胞-间充质细胞转化, 促进肿瘤细胞转移。另外, 物理挤压导致的核膜破裂还会激活内体分选转移复合物CHMP4B(charged multivesicular body protein 4B), 特异性定位在核膜破损处, 修复核膜, 避免过多DNA

损伤引起细胞死亡^[53]。共济失调毛细血管扩张Rad3相关蛋白(ataxia telangiectasia and Rad3-related protein, ATR)能够响应核膜的机械压力, 维持核膜完整性, 避免机械力损伤细胞核功能^[70]。当细胞迁移至物理空间限域微环境时, 细胞核形变会引起核外膜定位的Nesprin2蛋白定位发生改变, 特异性聚集在迁移方向的细胞核前端, 协助肌动球蛋白依赖的拉力, 帮助细胞核穿过限域微环境^[71]。另外, 由物理限域微环境引起的细胞核形变, 能够改变核膜的张力和曲率, 促进Ca²⁺依赖的磷脂酶cPLA2(cytosolic phospholipase A2)定在到核内膜, 催化产生花生四烯酸, 促进皮层肌动球蛋白皮层聚集, 增加细胞收缩性, 加快细胞运动速度^[68]。在肿瘤转移过程中, 核内膜蛋白LAP1能够自适应力学刺激, 提高其表达量, 维持细胞核膜鼓泡(blebbing)^[72]。磁镊牵拉Nesprin1, 将力学刺激直接作用在分离的细胞核上, 能够引起核内膜蛋白Emerin磷酸化和核纤层聚集, 提高细胞核的硬度以抵抗外界拉力^[73]。

4.2 力学刺激激活核孔复合物

细胞外基质刚度增加的力学信号, 能够提高细胞核膜的张力, 拉伸核膜上机械敏感的核孔复合物, 导致核孔复合物直径增大, 同时激活核转移受体Importin-7, 促进转录因子YAP(Yes-associated protein)入核, 控力学刺激下的转录应答^[74-75]。与之相反, 高渗透压下的力学刺激也能够转变核孔复合物的构象, 降低核孔直径和胞质分子入核效率, 维持细胞核的稳定性^[76]。

4.3 力学刺激下的核纤层响应

通常核纤层在响应力学刺激时会表现出两种不同的倾向, 在细胞核耐受范围内的力学刺激下, 核纤层蛋白会上调, 细胞核的硬度增大。例如在高刚度基质上, 核纤层蛋白lamin A/C表达上调, 能够维持细胞核形态的稳定, 调控核周应力纤维重排, 提高细胞核硬度以应对机械应力^[77-79]。当机械压力可能超过细胞核的耐受范围时, 核纤层蛋白lamin A/C表达下调, 细胞核硬度降低, 细胞核形变能力升高, 帮助细胞快速通过空间束缚的微环境^[80]。一旦核纤层蛋白发生突变, 则会影响核膜的机械耐受, 造成细胞核膜破裂和DNA损伤^[81]。

4.4 力学刺激下的染色质响应

当细胞受到持续的机械拉伸时, 异染色质会首先响应力学刺激, 通过移除组蛋白H3K9me3修饰,

使细胞核变软应对机械拉力,随后在机械拉伸的继续刺激下,细胞核位置会发生转变,重新修饰组蛋白H3K9me3,恢复异染色质状态,同时调控细胞与细胞间连接,响应持续的机械拉伸^[82]。组蛋白H3K9me3修饰状态是影响细胞核力学响应的重要因素之一。在心肌细胞成熟时,组蛋白H3K9me3修饰定位在核周,能够帮助细胞核抵抗机械应力^[83]。肿瘤细胞在穿越狭小缝隙时,异染色质能够响应细胞核形变,提高组蛋白H3K9me3、H3K27me3修饰,抑制整体的基因转录,提高肿瘤转移能力、DNA损伤响应功能^[84]。瞬时的细胞核形变,能够短时间内改变核纤层和异染色状态,降低组蛋白H3K9me3修饰和DNA甲基化修饰,促进成纤维细胞重编程,转分化成神经元,调控细胞命运^[85]。此外,染色质受力拉伸能够激活部分基因表达,例如,力学信号能够通过整合素(integrin)-与细胞骨架相连的LINC复合物传递到核内,导致含有二氢叶酸还原酶(dihydrofolate reductase, *DHFR*)基因的染色质片段被拉伸,从而降低组蛋白H3K9me3修饰水平,提高该位点的RNA聚合酶和转录因子结合能力,上调*DHFR*等基因转录水平^[86-87]。

综上,细胞核感知和响应不同程度的力学刺激,根据生物力学特性、细胞类型、细胞核组成成分,作出适应性改变,调控细胞行为及命运。

5 细胞核形变对细胞功能的影响

细胞核物理形变指的是细胞核的形态、大小和结构等方面的改变。这些形变对细胞产生广泛的影响,包括下游信号转导、细胞核和细胞质之间物质转运、基因组稳定性以及DNA损伤等,从而影响细胞的迁移、分裂及细胞命运等。

5.1 细胞核膜拉伸

细胞核形变导致的核膜张力改变被证明影响许多生命过程,包括NPCs的开放状态、离子通道的功能以及曲率传感蛋白的定位等。减少细胞核膜张力会导致NPC收缩,从而影响通过核孔的物质转运^[74,76]。此外,核变形或渗透膨胀引起的核膜张力增加会导致cPLA2从核质向内核膜(inner nuclear membrane, INM)募集,并产生花生四烯酸^[68-69]。花生四烯酸是类二十烷酸信号通路和炎症反应的上游,调节体内众多生理和病理过程^[88-89]。最近的研究发现,细胞可以利用这些信号测量它们的变形程度,进而调控肌动球蛋白收缩性,产生推力以抵抗物理机械

力,促进细胞在限域微环境中迁移^[68-69]。这些核膜张力相关的过程和信号在短时间内被激活,并且通常是可逆的。它们的激活既取决于细胞所经历的机械刺激并传递到细胞核,也取决于刺激施加时核膜的初始状态。然而,理解核膜的机械状态如何在短时程和长时程响应机械力仍然是一个悬而未决的问题。

静息状态的核膜经常显示大的褶皱,这定义了一个核变形的“安全”机制^[68]。褶皱的核膜展开保护了核膜不被拉伸或张力增加,因此,既不会触发信号通路,也不会影响染色质组织。这些核膜褶皱是由核膜与染色质通过核纤层结构域的机械偶联所介导的,这种偶联影响全局或特定位点的核膜张力,例如,在外核膜处引起Emerin蛋白富集,并诱导异染色质化的增加,从而影响皮肤祖细胞的命运^[90]。因此,在细胞必须响应高强度的机械力发生显著细胞核形变的情况下,可以通过从核膜上解偶联染色质,防止核膜张力增加。

5.2 核膜破裂与修复

核膜作为核质和细胞质之间的界膜,对于细胞核的结构稳定性、基因组稳定性以及细胞的各项生命活动和生物个体的生存都具有重要意义。核膜破裂是指细胞核膜在局部位置丧失完整性的现象,常见于不同类型的组织中,如高度机械化的肌肉组织、发育中的胚胎心脏以及lamin A/C突变的骨骼肌细胞中,可能与衰老有关,影响细胞的增殖、活性以及组织的功能^[27]。最近的研究表明,当细胞在限域微环境中迁移时,细胞核形变会诱发核膜破裂,并且随着微环境限域程度的增加,核膜破裂发生的概率也会增加^[91-92]。

细胞核膜破裂通常与核纤层蛋白缺失、核纤层蛋白突变、细胞核周异染色质破坏或作用在细胞核上的机械应力应变有关^[91]。目前,关于细胞核膜破裂的机制假说包括以下几种。(1)核膜破裂发生在核纤层中预先存在的间隙或缺陷处,特别是在核纤层蛋白B网状结构较弱不能充分支撑核膜的情况下,响应机械力会导致细胞核膜形成鼓泡,在持续的机械应力下鼓泡膨胀并最终破裂^[34,93]。(2)在没有核纤层缺陷的细胞中也观察到了细胞核膜形成鼓泡和核膜破裂的现象,这可能是由于细胞感受的机械力增加,细胞核膜逐渐与核纤层蛋白分离所致^[53,94]。因此,为了更好地理解细胞核响应机械力的机制,深入探

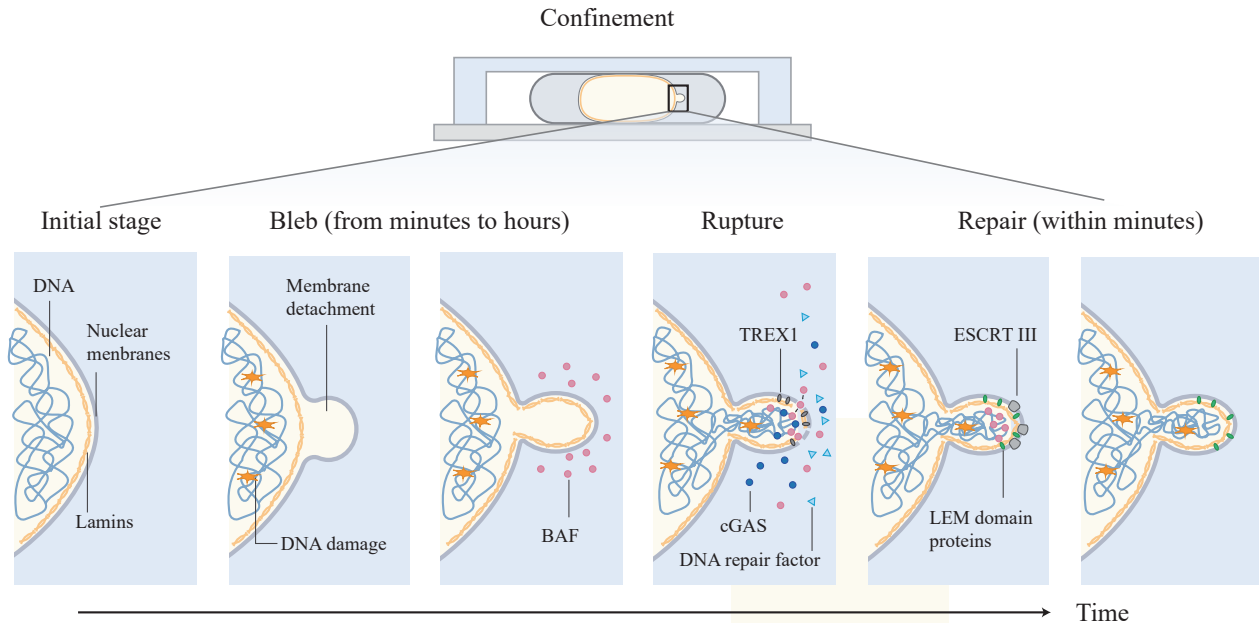
讨异质性核纤层蛋白网络的动力学及其在核形变过程中与核膜相互的作用关系非常必要。

已经有大量的研究表明,核膜破裂现象通常是瞬时的,能够被核膜修复机制所修复^[95-96]。核膜修复机制是基于将特定蛋白募集到核膜破裂位点,特别是BAF、LEM结构域蛋白、laminA/C和膜重塑蛋白[包括内体分选转运所需复合物(endosomal sorting complexes required for transport, ESCRT III)及其结合募集因子CHMP7^[95,97-98]]。具体机制是:细胞质中的BAF(barrier to autointegration factor)与暴露的染色质结合启动新的ER膜募集以修复膜孔,启动ESCRT III封闭破裂的核膜间隙。BAF还将细胞质中的laminA/C蛋白募集到细胞核膜的破裂部位,进一步促进核膜的修复(图3)。

5.3 细胞核形变诱导DNA损伤

尽管不同程度的核变形可能是调节细胞行为的关键信号来源,但它们也可能是细胞损伤的来源,并可能干扰重要的细胞命运。一些在细胞核内发生的生物学过程,如转录和DNA复制,在核膜破裂后

会受到干扰,导致非整倍体或DNA损伤,如持续的双链DNA断裂等现象^[27]。核膜破裂后,基因组DNA也可能激活细胞质DNA感应通路。环GMP-AMP合成酶(cyclic GMP-AMP synthase, cGAS)是主要的细胞质DNA感应器,通过结合细胞质内DNA而发生活化,催化产生cGMP。cGMP作为第二信使激活下游STING,参与自噬、炎症、免疫等多种病理过程^[99]。研究发现,由于外部微环境的挤压,细胞核发生显著形变时能够导致DNA损伤^[100-101]。当细胞核形变导致核膜破裂时,ER相关的外切核酸酶TREX1进入细胞核,或核内DNA损伤修复因子外流,从而导致DNA损伤^[91]。这种DNA损伤发生在细胞周期的所有阶段,并且更常发生在缺乏DNA损伤传感器ATR激酶的细胞中^[70]。另外,细胞核形变引起的没有核膜破裂的DNA损伤主要发生在细胞周期的S/G₂期,即在活跃的DNA复制期间,这种损伤与复制应力增加有关^[27]。不同的细胞系对这些DNA损伤模式表现出不同的倾向性,但这些细胞类型特异性差异的分子机制仍有待阐明。



施加在细胞核上的力学刺激,能够引起核膜形变、核膜破裂、DNA损伤,进而激活核酸外切酶TREX1和cGAS-STING信号通路,随后内吞体运输必需分选复合物ESCRT III修复破损核膜,维持DNA稳态。

Mechanical stimulation applied to the nucleus has the potential to induce a range of structural alterations, including nuclear membrane deformation, rupture, and consequential DNA damage. This mechanical perturbation triggers the activation of the exonuclease TREX1 and initiates the cGAS-STING signaling pathways. Consequently, in response to this cellular stress, endosomes are mobilized to facilitate the recruitment of the essential sorting complex ESCRT III. This orchestrated response is pivotal for the repair of the compromised nuclear envelope, thereby ensuring the preservation of DNA homeostasis.

图3 细胞核力学响应途径

Fig.3 Nuclear mechanical response pathway

DNA损伤和细胞核膜破裂对细胞和组织稳态影响是什么?在限域空间中迁移的细胞可能会经历DNA损伤的累积和染色体拷贝数的变化,这可能会驱动恶性肿瘤的发生和发展。此外,细胞核膜破裂后的TREX1依赖性DNA损伤能够诱导上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),从而促进肿瘤的侵袭^[91]。另外,核膜破裂使cGAS与基因组DNA结合,激活了促炎cGAS-STING通路,驱动了小鼠乳腺癌癌症转移^[102]。

5.4 核质转运

机械信号不断被细胞膜上的整合素和黏着斑感知,并依赖细胞表面受体与细胞核之间的机械连续性传递到细胞骨架和细胞核,转化为生化信号,调节细胞稳态和细胞命运。这种力通过细胞质从细胞骨架传递到细胞核的现象是通过LINC复合物发生的。由于核膜蛋白和核骨架蛋白与染色质结合,因此施加给核膜的机械力不仅会引起核变形,还会改变染色质的组织和转录的可及性及其他染色质调控因子等。在过去的几十年里,机械力刺激直接或间接影响染色质组织和基因表达的多种方式得到广泛的研究。PICCOLO团队^[103]开创性地研究并证实了在细胞受到机械压力时,转录调节因子YAP/TAZ是调控基因表达变化的核心。在小鼠胚胎成纤维细胞中,来自ECM刚性的机械信号通过LINC复合体传递到细胞核。这些力导致核膜拉伸,核孔打开,促进YAP的入核转运^[104]。相反,在成肌细胞分化为肌管的过程中,细胞核的伸长促进YAP核输出以驱动细胞分化^[105]。LUCIANO等^[106]最近的研究发现,基底曲率变化导致的细胞核变形能够调控YAP的动态核转运,位于凸型区域的细胞核形状扁平,细胞核内的YAP含量增加,染色质较少凝结;而凹型区域的细胞核形态细长,含有更浓缩的染色质,YAP主要分布于细胞质。因此,这些发现证明了细胞通过核形变调控YAP/TAZ的核转运,从而影响基因转录、表观遗传调节因子等,在生物学过程中发挥着重要作用。

综上所述,核变形的频繁发生通过影响核质转运、DNA损伤、染色质重组以及下游基因表达等,进而影响细胞多种功能及细胞命运,揭示了细胞核在细胞响应机械力中的关键功能以及不同细胞核结构成分在其中的关键作用。然而,关于细胞核响应机械力的分子机制以及其导致的核形变所影响的细

胞功能和命运仍需进一步深入探究。

6 展望

多细胞生物是一个有序可控的细胞社会,这种细胞社会的稳定需要依赖信号调控。过去大量的研究表明细胞对生物信号响应的重要性,然而最近,越来越多的研究发现细胞微环境中的力学信号也能调控细胞行为,维持细胞稳态。因此,探究细胞如何感受和响应力学刺激,能够更好地理解生理条件下细胞的正常功能,揭示病理条件下疾病的发病机制。细胞核作为一种重要的力学感受器,能够感知微环境施加的力学刺激并作出适应性改变,最终调控细胞的行为及命运。目前,已知LINC复合物是一种重要生物力学传递结构,能够将细胞外部的力学刺激传递到内部的细胞核。虽然力学信号能够通过LINC复合物实现核-细胞骨架耦合,但是不同力学微环境下,LINC复合物如何精准调控力学信号传递的机制尚不清晰。例如,作为LINC复合物中最先接受细胞骨架传递力学信号的Nesprin蛋白,多变的Nesprin亚型可能各司其职,感知和传递不同大小、不同类型的力学刺激。除了LINC复合物之外,细胞内部是否还存在其他的力学信号传递媒介,仍然有待探究。

微环境中的力学刺激也可以通过细胞形变直接施加到细胞核上,引起细胞核结构和功能的改变。其中,核形变是细胞核感受和响应力学刺激过程中最显著的变化之一,核形变能够改变核膜、核纤层、染色质的定位与组装,进而激活下游效应分子例如cPLA2、CHMP4B等,调控细胞收缩、核膜破裂修复等响应行为。值得注意的是,核形变能够在短时间内引起包括磷脂酶在内的多种效应分子富集在核膜附近,进而激活下游信号分子,响应细胞核形变。除了磷脂酶cPLA2之外,可能还存在其他的、参与细胞核力学响应的力学敏感分子。此外,除了LINC复合物中的外核膜Nesprin蛋白和内核膜SUN蛋白之外,其他类型核膜蛋白在细胞核力学响应中的作用研究较少,进一步解析这些核膜蛋白的力学响应功能,有助于更全面地理解细胞核膜蛋白力学响应机制。染色质是细胞核内调控细胞核机械性能的重要组分,近年来越来越多的研究聚焦异染色质在生物力学响应中的功能,未来的研究需要深入地探究异染色质如何在时间和空间维度上感知和响应不同

程度的力学刺激, 阐明细胞核感知机械信号的分子机制, 寻找干预治疗靶点, 指导开发新的疾病治疗策略。

参考文献 (References)

- [1] WHITESIDES G M. The origins and the future of microfluidics [J]. *Nature*, 2006, 442(7101): 368-73.
- [2] HOU X, ZHANG Y S, DE SANTIAGO G T, et al. Interplay between materials and microfluidics [J]. *Nat Rev Mater*, 2017, 2(5): 17016.
- [3] PARATORE F, BACHEVA V, BERCOVICI M, et al. Reconfigurable microfluidics [J]. *Nat Rev Chem*, 2022, 6(1): 70-80.
- [4] ERMIS M, ANTMEN E, HASIRCI V. Micro and nanofabrication methods to control cell-substrate interactions and cell behavior: a review from the tissue engineering perspective [J]. *Bioact Mater*, 2018, 3(3): 355-69.
- [5] LIU Y J, LE BERRE M, LAUTENSCHLAEGER F, et al. Confinement and low adhesion induce fast amoeboid migration of slow mesenchymal cells [J]. *Cell*, 2015, 160(4): 659-72.
- [6] ENGLER A J, SEN S, SWEENEY H L, et al. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification [J]. *Cell*, 2006, 126(4): 677-89.
- [7] POUTHAS F, GIRARD P, LECAUDEY V, et al. In migrating cells, the Golgi complex and the position of the centrosome depend on geometrical constraints of the substratum [J]. *J Cell Sci*, 2008, 121(14): 2406-14.
- [8] VIGNAUD T, COPOS C, LETERRIER C, et al. Stress fibres are embedded in a contractile cortical network [J]. *Nat Mater*, 2021, 20(3): 410-20.
- [9] DOYLE A D, WANG F W, MATSUMOTO K, et al. One-dimensional topography underlies three-dimensional fibroblast cell migration [J]. *J Cell Biol*, 2009, 184(4): 481-90.
- [10] THÉRY M. Micropatterning as a tool to decipher cell morphogenesis and functions [J]. *J Cell Sci*, 2010, 123(24): 4201-13.
- [11] CONNELLY J T, GAUTROT J E, TRAPPMANN B, et al. Actin and serum response factor transduce physical cues from the microenvironment to regulate epidermal stem cell fate decisions [J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(7): 711-8.
- [12] JIANG K, LIANG L, LIM C T. Engineering confining microenvironment for studying cancer metastasis [J]. *iScience*, 2021, 24(2): 102098.
- [13] WESSENDORF A M, NEWMAN D J. Dynamic understanding of human-skin movement and strain-field analysis [J]. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2012, 59(12): 3432-8.
- [14] DRISCOLL M K, SUN X, GUVEN C, et al. Cellular contact guidance through dynamic sensing of nanotopography [J]. *ACS Nano*, 2014, 8(4): 3546-55.
- [15] GARCIA-ARCOS J M, CHABRIER R, DEYGAS M, et al. Reconstitution of cell migration at a glance [J]. *J Cell Sci*, 2019, 132(4): 0-2.
- [16] SWIFT J, IVANOVSKA I L, BUXBOIM A, et al. Nuclear lamin-A scales with tissue stiffness and enhances matrix-directed differentiation [J]. *Science*, 2013, 341(6149): 1240104.
- [17] LAMOND A I, EARNSHAW W C. Structure and function in the nucleus [J]. *Science*, 1998, 280(5363): 547-53.
- [18] HETZER M W. The nuclear envelope [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2(3): a000539.
- [19] LIN Q, YU B, WANG X, et al. K6-linked SUMOylation of BAF regulates nuclear integrity and DNA replication in mammalian cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(19): 10378-87.
- [20] WATSON M L. The nuclear envelope; its structure and relation to cytoplasmic membranes [J]. *J Biophys Biochem Cytol*, 1955, 1(3): 257-70.
- [21] HETZER M W, WALTHER T C, MATTAJ I W. Pushing the envelope: structure, function, and dynamics of the nuclear periphery [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2005, 21: 347-80.
- [22] TRAN E J, WENTE S R. Dynamic nuclear pore complexes: life on the edge [J]. *Cell*, 2006, 125(6): 1041-53.
- [23] D'ANGELO M A, HETZER M W. Structure, dynamics and function of nuclear pore complexes [J]. *Trends Cell Biol*, 2008, 18(10): 456-66.
- [24] D'ANGELO M A, RAICES M, PANOWSKI S H, et al. Age-dependent deterioration of nuclear pore complexes causes a loss of nuclear integrity in postmitotic cells [J]. *Cell*, 2009, 136(2): 284-95.
- [25] DONNALOJA F, JACCHETTI E, SONCINI M, et al. Mechano-sensing at the nuclear envelope by nuclear pore complex stretch activation and its effect in physiology and pathology [J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 896.
- [26] SCHULLER A P, WOJTYNEK M, MANKUS D, et al. The cellular environment shapes the nuclear pore complex architecture [J]. *Nature*, 2021, 598(7882): 667-71.
- [27] KALUKULA Y, STEPHENS A D, LAMMERDING J, et al. Mechanics and functional consequences of nuclear deformations [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2022, 23(9): 583-602.
- [28] SCHIRMER E C, GERACE L. The nuclear membrane proteome: extending the envelope [J]. *Trends Biochem Sci*, 2005, 30(10): 551-8.
- [29] SCHIRMER E C, FLORENS L, GUAN T, et al. Nuclear membrane proteins with potential disease links found by subtractive proteomics [J]. *Science*, 2003, 301(5638): 1380-2.
- [30] AKHTAR A, GASSER S M. The nuclear envelope and transcriptional control [J]. *Nat Rev Genet*, 2007, 8(7): 507-17.
- [31] DORNER D, GOTZMANN J, FOISNER R. Nucleoplasmic lamins and their interaction partners, LAP2 α , Rb, and BAF, in transcriptional regulation [J]. *FEBS J*, 2007, 274(6): 1362-73.
- [32] SCHIRMER E C, FOISNER R. Proteins that associate with lamins: many faces, many functions [J]. *Exp Cell Res*, 2007, 313(10): 2167-79.
- [33] MCGREGOR A L, HSIA C R, LAMMERDING J. Squish and squeeze: the nucleus as a physical barrier during migration in confined environments [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2016, 40: 32-40.
- [34] SRIVASTAVA N, DE NADER G P F, WILLIART A, et al. Nuclear fragility, blaming the blebs [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2021, 70: 100-8.
- [35] TURGAY Y, EIBAUER M, GOLDMAN A E, et al. The molecular architecture of lamins in somatic cells [J]. *Nature*, 2017, 543(7644): 261-4.
- [36] TENGA R, MEDALIA O. Structure and unique mechanical aspects of nuclear lamin filaments [J]. *Curr Opin Struct Biol*, 2020, 64: 152-9.
- [37] DE LEEUW R, GRUENBAUM Y, MEDALIA O. Nuclear lam-

- ins: thin filaments with major functions [J]. *Trends Cell Biol*, 2018, 28(1): 34-45.
- [38] SHIMIA T, KITTISOPIKUL M, TRAN J, et al. Structural organization of nuclear lamins A, C, B1, and B2 revealed by super-resolution microscopy [J]. *Mol Biol Cell*, 2015, 26(22): 4075-86.
- [39] KOLB T, MAASS K, HERGT M, et al. Lamin A and lamin C form homodimers and coexist in higher complex forms both in the nucleoplasmic fraction and in the lamina of cultured human cells [J]. *Nucleus*, 2011, 2(5): 425-33.
- [40] NMEZI B, XU J, FU R, et al. Concentric organization of A- and B-type lamins predicts their distinct roles in the spatial organization and stability of the nuclear lamina [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(10): 4307-15.
- [41] HO C Y, JAALOUK D E, VARTIAINEN M K, et al. Lamin A/C and emerin regulate MKL1-SRF activity by modulating actin dynamics [J]. *Nature*, 2013, 497(7450): 507-13.
- [42] SHAH P P, LV W, RHOADES J H, et al. Pathogenic LMNA variants disrupt cardiac lamina-chromatin interactions and de-repress alternative fate genes [J]. *Cell Stem Cell*, 2021, 28(5): 938-54.e9.
- [43] KLEMM S L, SHIPONY Z, GREENLEAF W J. Chromatin accessibility and the regulatory epigenome [J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(4): 207-20.
- [44] HAWKINS R D, HON G C, LEE L K, et al. Distinct epigenomic landscapes of pluripotent and lineage-committed human cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 6(5): 479-91.
- [45] BECKER J S, NICETTO D, ZARET K S. H3K9me3-dependent heterochromatin: barrier to cell fate changes [J]. *Trends Genet*, 2016, 32(1): 29-41.
- [46] VERSAEVEL M, RIAZ M, GREVESSE T, et al. Cell confinement: putting the squeeze on the nucleus [J]. *Soft Matter*, 2013, 9(29): 6665-76.
- [47] MAMMOTO T, MAMMOTO A, INGBER D E. Mechanobiology and developmental control [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2013, 29: 27-61.
- [48] GUILAK F, TEDROW J R, BURGKART R. Viscoelastic properties of the cell nucleus [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 269(3): 781-6.
- [49] ROWAT A C, LAMMERDING J, IPSEN J H. Mechanical properties of the cell nucleus and the effect of emerin deficiency [J]. *Biophys J*, 2006, 91(12): 4649-64.
- [50] STEPHENS A D, BANIGAN E J, ADAM S A, et al. Chromatin and lamin a determine two different mechanical response regimes of the cell nucleus [J]. *Mol Biol Cell*, 2017, 28(14): 1984-96.
- [51] CHEN N Y, YANG Y, WESTON T A, et al. An absence of lamin B1 in migrating neurons causes nuclear membrane ruptures and cell death [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(51): 25870-9.
- [52] DENAIS C M, GILBERT R M, ISERMANN P, et al. Nuclear envelope rupture and repair during cancer cell migration [J]. *Science*, 2016, 352(6283): 353-8.
- [53] RAAB M, GENTILI M, DE BELLY H, et al. ESCRT III repairs nuclear envelope ruptures during cell migration to limit DNA damage and cell death [J]. *Science*, 2016, 352(6283): 359-62.
- [54] FISCHER T, HAYN A, MIERKE C T. Effect of nuclear stiffness on cell mechanics and migration of human breast cancer cells [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 1-18.
- [55] FURUSAWA T, ROCHMAN M, TAHER L, et al. Chromatin decompaction by the nucleosomal binding protein HMG5 impairs nuclear sturdiness [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 1-10.
- [56] CHANG L, LI M, SHAO S, et al. Nuclear peripheral chromatin-lamin B1 interaction is required for global integrity of chromatin architecture and dynamics in human cells [J]. *Protein Cell*, 2022, 13(4): 258-80.
- [57] LEMIÈRE J, REAL P, HOLT L J, et al. Control of nuclear size by osmotic forces in *Schizosaccharomyces pombe* [J]. *eLife*, 2022, 11: e76075.
- [58] MAJOR L G, HOLLE A W, YOUNG J L, et al. Volume adaptation controls stem cell mechanotransduction [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(49): 45520-30.
- [59] HAO Y, CHENG S, TANAKA Y, et al. Mechanical properties of single cells: measurement methods and applications [J]. *Biotechnol Adv*, 2020, 45: 107648.
- [60] YANG T L, AOKI T, MATSUMOTO K, et al. Full intermetallic joints for chip stacking by using thermal gradient bonding [J]. *Acta Mater*, 2016, 113: 90-7.
- [61] URBANSKA M, MUÑOZ H E, SHAW BAGNALL J, et al. A comparison of microfluidic methods for high-throughput cell deformability measurements [J]. *Nat Methods*, 2020, 17(6): 587-93.
- [62] DAHL K N, RIBEIRO A J S, LAMMERDING J. Nuclear shape, mechanics, and mechanotransduction [J]. *Circ Res*, 2008, 102(11): 1307-18.
- [63] KIRBY T J, LAMMERDING J. Emerging views of the nucleus as a cellular mechanosensor [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(4): 373-81.
- [64] LOMBARDI M L, JAALOUK D E, SHANAHAN C M, et al. The interaction between nesprins and sun proteins at the nuclear envelope is critical for force transmission between the nucleus and cytoskeleton [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(30): 26743-53.
- [65] SOSA B A, ROTHBALLER A, KUTAY U, et al. LINC complexes form by binding of three KASH peptides to domain interfaces of trimeric SUN proteins [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1035-47.
- [66] RAJGOR D, SHANAHAN C M. Nesprins : from the nuclear envelope and beyond [J]. *Expert Rev Mol Med*, 2013, 15: 1-17.
- [67] ENGLISH A R, VOELTZ G K. Endoplasmic reticulum structure and interconnections with other organelles [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5: a013227.
- [68] LOMAKIN A J, CATTIN C J, CUVÉLIER D, et al. The nucleus acts as a ruler tailoring cell responses to spatial constraints [J]. *Science*, 2020, 370(6514): eaba2894.
- [69] VENTURINI V, PEZZANO F, CASTRO F C, et al. The nucleus measures shape changes for cellular proprioception to control dynamic cell behavior [J]. *Science*, 2020, 370(6514): eaba2644.
- [70] KIDIYOOR G R, LI Q, BASTIANELLO G, et al. ATR is essential for preservation of cell mechanics and nuclear integrity during interstitial migration [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1-16.
- [71] DAVIDSON P M, BATTISTELLA A, DÉJARDIN T, et al. Nesprin-2 accumulates at the front of the nucleus during confined cell migration [J]. *EMBO Rep*, 2020, 21(7): 1-14.
- [72] JUNG-GARCIA Y, MAIQUES O, MONGER J, et al. LAP1 supports nuclear adaptability during constrained melanoma cell migration and invasion [J]. *Nat Cell Biol*, 2023, 25(1): 108-19.
- [73] GUILLUY C, OSBORNE L D, VAN LANDEGHEM L, et al. Isolated nuclei adapt to force and reveal a mechanotransduction pathway in the nucleus [J]. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(4): 376-81.
- [74] ELOSEGUI-ARTOLA A, ANDREU I, BEEDLE A E M, et al.

- Force triggers Yap nuclear entry by regulating transport across nuclear pores [J]. *Cell*, 2017, 171(6): 1397-410,e14.
- [75] GARCÍA-GARCÍA M, SÁNCHEZ-PERALES S, JARABO P, et al. Mechanical control of nuclear import by Importin-7 is regulated by its dominant cargo YAP [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 1174.
- [76] ZIMMERLI C E, ALLEGRETTI M, RANTOS V, et al. Nuclear pores dilate and constrict in cellulo [J]. *Science*, 2021, 374(6573): eabd9776.
- [77] KIM J K, LOUHGHALAM A, LEE G, et al. Nuclear lamin A/C harnesses the perinuclear apical actin cables to protect nuclear morphology [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1-13.
- [78] SAPRA K T, QIN Z, DUBROVSKY-GAUPP A, et al. Nonlinear mechanics of lamin filaments and the meshwork topology build an emergent nuclear lamina [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1-14.
- [79] CHO S, VASHISTH M, ABBAS A, et al. Mechanosensing by the Lamina protects against nuclear rupture, dna damage, and cell-cycle arrest [J]. *Dev Cell*, 2019, 49(6): 920-35,e5.
- [80] BELL E S, SHAH P, ZUELA-SOPILNIAK N, et al. Low lamin A levels enhance confined cell migration and metastatic capacity in breast cancer [J]. *Oncogene*, 2022, 41(36): 4211-30.
- [81] EARLE A J, KIRBY T J, FEDORCHAK G R, et al. Mutant lamins cause nuclear envelope rupture and DNA damage in skeletal muscle cells [J]. *Nat Mater*, 2020, 19(4): 464-73.
- [82] NAVA M M, MIROSHNIKOVA Y A, BIGGS L C, et al. Heterochromatin-driven nuclear softening protects the genome against mechanical stress-induced damage [J]. *Cell*, 2020, 181(4): 800-17,e22.
- [83] SEELBINDER B, GHOSH S, SCHNEIDER S E, et al. Nuclear deformation guides chromatin reorganization in cardiac development and disease [J]. *Nat Biomed Eng*, 2021, 5(12): 1500-16.
- [84] HSIA C R, MCALLISTER J, HASAN O, et al. Confined migration induces heterochromatin formation and alters chromatin accessibility [J]. *iScience*, 2022, 25(9): 104978.
- [85] SONG Y, SOTO J, CHEN B, et al. Transient nuclear deformation primes epigenetic state and promotes cell reprogramming [J]. *Nat Mater*, 2022, 21(10): 1191-9.
- [86] SUN J, CHEN J, MOHAGHEGHIAN E, et al. Force-induced gene up-regulation does not follow the weak power law but depends on H3K9 demethylation [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(14): 1-14.
- [87] TAJIK A, ZHANG Y, WEI F, et al. Transcription upregulation via force-induced direct stretching of chromatin [J]. *Nat Mater*, 2016, 15(12): 1287-96.
- [88] NIKOLAOU A, KOKOTOU M G, VASILAKAKI S, et al. Small-molecule inhibitors as potential therapeutics and as tools to understand the role of phospholipases A2 [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2019, 1864(6): 941-56.
- [89] ENYEDI B, JELCIC M, NIETHAMMER P. The cell nucleus serves as a mechanotransducer of tissue damage-induced inflammation [J]. *Cell*, 2016, 165(5): 1160-70.
- [90] GAY S, FOIANI M. Nuclear envelope and chromatin, lock and key of genome integrity [J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2015, 317: 267-330.
- [91] DE NADER G P, AGÜERA-GONZALEZ S, ROUTET F, et al. Compromised nuclear envelope integrity drives TREX1-dependent DNA damage and tumor cell invasion [J]. *Cell*, 2021, 184(20): 5230-46,e22.
- [92] DE FREITAS NADER G P, WILLIART A, PIEL M. Nuclear deformations, from signaling to perturbation and damage [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2021, 72: 137-45.
- [93] ISERMANN P, LAMMERDING J. Consequences of a tight squeeze: nuclear envelope rupture and repair [J]. *Nucleus*, 2017, 8(3): 268-74.
- [94] IRIANTO J, XIA Y, PFEIFER C R, et al. DNA damage follows repair factor depletion and portends genome variation in cancer cells after pore migration [J]. *Curr Biol*, 2017, 27(2): 210-23.
- [95] HALFMANN C T, SEARS R M, KATIYAR A, et al. Repair of nuclear ruptures requires barrier-to-autointegration factor [J]. *J Cell Biol*, 2019, 218(7): 2136-49.
- [96] LUSK C P, ADER N R. CHMPions of repair: emerging perspectives on sensing and repairing the nuclear envelope barrier [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2020, 64: 25-33.
- [97] LE BERRE M, AUBERTIN J, PIEL M. Fine control of nuclear confinement identifies a threshold deformation leading to lamina rupture and induction of specific genes [J]. *Integr Biol*, 2012, 4(11): 1406-14.
- [98] YOUNG A M, GUNN A L, HATCH E M. BAF facilitates interphase nuclear membrane repair through recruitment of nuclear transmembrane proteins [J]. *Mol Biol Cell*, 2020, 31(15): 1551-60.
- [99] CAI X, CHIU Y H, CHEN Z J. The cGAS-cGAMP-STING pathway of cytosolic DNA sensing and signaling [J]. *Mol Cell*, 2014, 54(2): 289-96.
- [100] FERRERA D, CANALE C, MAROTTA R, et al. Lamin B1 overexpression increases nuclear rigidity in autosomal dominant leukodystrophy fibroblasts [J]. *FASEB J*, 2014, 28(9): 3906-18.
- [101] PFEIFER C R, VASHISTH M, XIA Y, et al. Nuclear failure, DNA damage, and cell cycle disruption after migration through small pores: a brief review [J]. *Essays Biochem*, 2019, 63(5): 569-77.
- [102] BAKHOUM S F, NGO B, LAUGHNEY A M, et al. Chromosomal instability drives metastasis through a cytosolic DNA response [J]. *Nature*, 2018, 553(7689): 467-72.
- [103] DUPONT S, MORSUT L, ARAGONA M, et al. Role of YAP/TAZ in mechanotransduction [J]. *Nature*, 2011, 474(7350): 179-84.
- [104] TANG C, TAKAHASHI-KANEMITSU A, KIKUCHI I, et al. Transcriptional co-activator functions of YAP and TAZ are inversely regulated by tyrosine phosphorylation status of parafibromin [J]. *iScience*, 2018, 1: 1-15.
- [105] BRUYÈRE C, VERSAEVEL M, MOHAMMED D, et al. Actomyosin contractility scales with myoblast elongation and enhances differentiation through YAP nuclear export [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 1-14.
- [106] LUCIANO M, XUE S L, DE VOS W H, et al. Cell monolayers sense curvature by exploiting active mechanics and nuclear mechanoadaptation [J]. *Nat Phys*, 2021, 17(12): 1382-90.