

基底微拓扑结构对细胞生物学行为的影响

宫元卫, 孙树津, 吕东媛, 李展, 龙勉

(中国科学院力学研究所 微重力重点实验室/生物力学与生物工程中心, 北京 100190)

摘要: 与常规的细胞体外培养器皿不同,细胞在体内生长时,其微环境并不是简单的平面形式,每一种组织都有其特定的三维微结构。这类具有微结构的微环境是细胞增殖、分化的重要调控因子。近年关于基底微拓扑结构影响细胞生长、分化等行为研究的文献迅速增加。研究发现,具有微拓扑结构的基底可改变细胞的铺展、迁移、取向等行为,引导细胞骨架的重排,调控干细胞分化潜能,相关研究对于体外组织构建以及医学植入材料的表面处理具有指导性意义。本文就有关基底微拓扑结构影响细胞生物学研究的最新进展进行了综述。

关键词: 基底微拓扑结构; 细胞增殖; 干细胞分化; 细胞骨架

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

Impacts of surface micro-topography on cellular biological responses

GONG Yuan-wei, SUN Shu-jin, LÜ Dong-yuan, LI Zhan, LONG Mian (Key Laboratory of Microgravity, Center of Biomechanics and Bioengineering, Institute of Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China)

Abstract: Culturing cells on planar substrate *in vitro* is a conventional cell biology method. However, each type of physiological tissues has its specific three-dimensional micro-structure, which provides various micro-environment to regulate such biological processes as cell proliferation and differentiation. To date, a growing body of research on the impacts of substrate micro-topography on cellular responses has been documented in the literature. It is found that micro-topographical substrate can manipulate cell spreading, migrating, orientating, cytoskeleton remodeling, and stem cell differentiation, which are crucial to *ex vivo* tissue construction and surface modification of medical implanting materials. The recent advance about effects of substrate micro-topography on cellular responses and the underlying mechanisms of mechano-biological coupling is discussed in this review.

Key words: Substrate micro-topography; Cell proliferation; Stem cell differentiation; Cytoskeleton

体外细胞培养是细胞生物学实验研究的常规手段,常用的培养器皿包括培养瓶、皿、多孔培养板以及细胞爬片等,其基底一般是平整的平面。这种基底与天然组织中细胞生长的三维基底存在相当大的差异,因而可导致体外培养的细胞和体内生长的细胞产生明显的形态和功能差别。

细胞生长的微环境以及胞外基质对细胞的作用

受各种生物和化学因子的调控,胞外空间结构的模式则是影响细胞生长和分化的一个重要的物理和力学因素,而生化因子和机械作用往往是耦合在一起的。随着再生医学和组织工程研究的发展,对生物材料表面结构和性质如何影响细胞生理功能的研究提出了新的需求。在这一背景下,许多研究者通过设计制作各种具有典型特征的微拓扑结构基底来研

收稿日期:2012-04-16; 修回日期:2012-06-04

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31110103918, 30870601),国家重点基础研究发展计划(973计划)(2011CB710904),中科院先导专项(XDA01030102)。

通信作者:孙树津,高级工程师,Tel:(010)82544132,E-mail:sunshj@imech.ac.cn;龙勉,研究员,Tel:(010)82544131,E-mail:mlong@imech.ac.cn。

究其对细胞生长、分化、迁移等生理行为的影响,并探究其背后的机制。

1 生理微环境拓扑结构的基本特征

细胞生理微环境的拓扑结构是和其所处组织承担的生理功能相适应的。在骨骼系统中骨细胞间由骨基质相互隔离,每个细胞的外部空间为一个称为骨陷窝的空隙,细胞主体虽然彼此隔离但通过骨基质中相连的骨小管形成间隙连接,从而组成骨细胞的网络,借以进行物质运输和信号传递,维持骨的新陈代谢。心肌细胞在体内呈现为短柱状,彼此紧密连接并具有几乎相同的排列方向,与其具备的伸缩功能相吻合。肝组织有许多肝小叶组成,每一个肝小叶中间是一条静脉,围绕着静脉肝细胞排列成索状,呈放射状排列,这样的结构有利于肝细胞养分交换以及功能执行。

概括说来,天然生理组织均具有特征性的微拓扑结构,表现为某一几何特征在空间上的重复性或规律性排布,其形状、结构与其承担的生理功能密切相关,同时特定的微拓扑结构限定了该组织内细胞生长和铺展的空间和形状,而不同组织内微拓扑结构的区别,恰恰可能是调节细胞生物学行为的因素之一。

2 体外微拓扑结构的主要类型

体外人工构建的微拓扑结构基底,以聚二甲基硅氧烷(PDMS)、聚丙烯酰胺(PA)水凝胶等聚合物、以及钛合金、硅片等硬质材料作为基底材料的居多,主要是考虑其生物相容性和微加工工艺性能。表面拓扑结构的种类,主要有沟槽、微柱、微孔阵列结构或其它类型的基底,以沟槽和微柱结构最为常见,结构的尺度从数十纳米~数十微米均有研究^[1-4]。

利用微模式图案和图案周围区域不同材料的化学性质区别而将单个细胞孤立地限制在设计的图案模式当中,被称之为“微模式化”方法,广义上也属于表面微拓扑结构,可较为准确地控制单个细胞的铺展形态和面积,用于研究单个细胞的生理行为^[5-6]。这类表面结构将细胞分隔培养,细胞间无物理接触^[5-6]。本文着重关注的微拓扑结构类型是在同种材料上不同的纯几何空间构型,其上细胞可以自由铺展并相互接触,更接近于生理状态。

3 基底微拓扑结构对细胞生物学行为的影响

3.1 微沟槽阵列结构

3.1.1 对细胞铺展行为的影响 细胞接触导向(contact guidance)现象在多种尺度的沟槽基底和多种细胞种类上均有发现,即细胞沿沟槽方向细胞体呈现延伸、变长,取向趋于一致^[1-3,7-10]。图1所示为上皮细胞在纳米尺度沟槽基底和平面基底上铺展行为变化的差异,前者细胞沿沟槽方向排列生长、后者近似于各向同性铺展^[3]。细胞接触导向的显著性与沟槽的尺度有关。例如,成纤维细胞在沟槽宽度大于70~80 nm时,细胞才会有取向一致性现象发生^[1]。在不同深度/宽度的亚微米级别沟槽基底(聚苯乙烯)上,人肌肉成纤维细胞瘤细胞(C2C12)在较宽沟槽上(900 nm)取向一致性会减弱,而在较深沟槽内(550 nm)取向性呈现增强的趋势,且沟槽的深度占据着主导作用^[8]。在微米尺度的沟槽基底(三亚甲基碳酸酯 PLLA-TMC;宽度5~100 μm,深度0.5~5 μm)上,C2C12细胞的取向一致性也呈随沟槽深度增加而增加、随沟槽宽度增加而降低的趋势^[11]。细胞核受沟槽基底的影响也有类似现象^[7]。沟槽宽度对于细胞接触导向影响的临界点仍存在争议,或与基底材料和细胞种类都有关系。

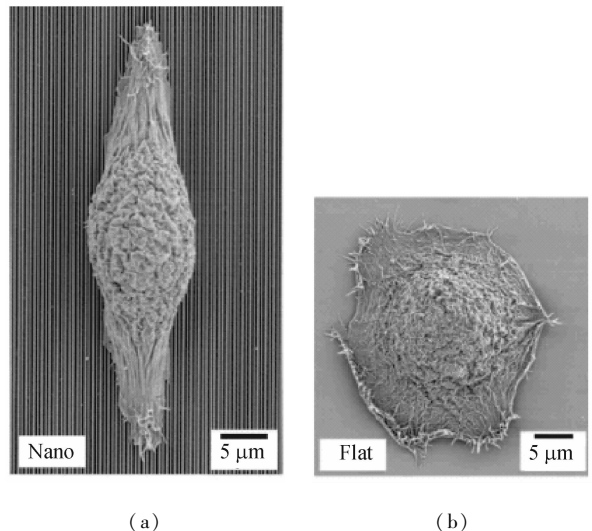


图1 人角膜上皮细胞在沟槽基底(a)和平面基底(b)上铺展的差异形态^[3]

Fig. 1 Different spreading shape of human corneal epithelia cells on grooved (a) and planar (b) substrates

沟槽基底还可影响细胞的迁移行为。在多聚氨基丙烯酸酯(PUA)基底(槽宽 $1 \sim 9.1 \mu\text{m}$, 槽宽 $1 \mu\text{m}$, 深 100 nm)上,成纤维细胞沿沟槽方向的迁移速度在槽宽为 $6.3 \mu\text{m}$ 左右时最快^[12]。在微米尺度的沟槽基底(PDMS;槽宽 $15 \sim 100 \mu\text{m}$ 、深 $30 \mu\text{m}$)上,成纤维细胞刚接种时都位于沟槽处铺展,逐渐向峰及峰的背面方向迁移,似乎并不受沟槽的影响;待汇合后,细胞在峰上形成一致密层,且细胞延伸方向与沟槽方向一致^[2],这有可能是处于沟槽底部的细胞供氧不足所致^[2]。细胞倾向迁移至特定区域(某一特定的沟槽宽度)是否是由于该区域的结构特征与其生理情况最为接近,还需要进一步的研究。

3.1.2 对细胞增殖的影响 沟槽基底是否影响细胞增殖尚存在争论。在沟槽基底(3-羟基丁酸与3-羟基己酸共聚酯,PHBHHx;沟槽宽度 $10 \mu\text{m}$,深 $10 \mu\text{m}$)上,鼠骨髓间充质干细胞(rMSCs)的凋亡水平降低^[13],人骨髓间充质干细胞(hMSCs)在沟槽基底(聚氨酯,NOA81 polyurethane;沟槽宽度 $0.4 \sim 4.0 \mu\text{m}$,深 300 nm)上增殖则受到抑制^[10],但均无显著性差异。在圆弧形沟槽基底(PDMS;沟槽宽 $45 \mu\text{m}$,槽宽 $5 \mu\text{m}$,深 $11 \mu\text{m}$)上,与在平面基底上相比,结缔组织祖细胞(CTPs)的增殖没有明显的变化^[14]。本课题组研究发现,微米尺度的沟槽基底(PDMS;沟槽宽 $10 \mu\text{m}$,槽宽 $5 \mu\text{m}$,深 $5 \mu\text{m}$)对rMSCs的增殖有促进作用(待发表数据)。沟槽基底对于细胞的增殖影响尚未有比较一致的结论,细胞种类、基底材料及沟槽尺寸的差异性可能是最主要的原因。

3.1.3 对细胞分化的影响 沟槽基底是否调控干细胞分化在工程化组织构建等方面具有重要的科学和应用意义。hMSCs在沟槽基底(NOA81 polyurethane;沟槽宽 $0.4 \sim 4.0 \mu\text{m}$,深 300 nm)上,Runx2、BGLAP等骨向分化的指标升高,400 nm宽的沟槽基底上钙沉积显著升高^[10]。在亚微米尺度沟槽基底(聚苯乙烯;宽 $450,900 \text{ nm}$,深 $100,350,550 \text{ nm}$)上,C2C12细胞向肌小管分化加强,并且深度比沟槽宽度的影响更大^[8]。C2C12细胞在微米尺度的沟槽基底(三亚甲基碳酸酯 PLLA-TMC;宽 $5 \sim 100 \mu\text{m}$,深 $0.5 \sim 5 \mu\text{m}$)上,与较宽和较浅的沟槽相比,较深的沟槽更加能够促进肌小管的形成^[11]。上述结果表明,基底拓扑结构有可能独立地影响干细胞分化。

对于沟槽基底在分化方面影响的差异,可能更加具有组织特异性,其与沟槽基底的结构尺寸、材料究竟有何关联还需要总结更多的结果来分析。

3.1.4 对细胞骨架重组的影响 沟槽基底通过细胞骨架重组改变细胞的形态和铺展。人角膜上皮细胞(SV40 HCEC)的细胞骨架沿着沟槽(硅板;沟槽宽 $0.2 \sim 2.0 \mu\text{m}$,深 400 nm)方向延伸,细胞骨架簇(cytoskeleton bundles)更加倾向于在峰上形成,微米级的沟槽上比纳米级沟槽基底上细胞骨架簇更大、更加明显^[15]。PC12细胞在沟槽基底(环烯烃共聚物,COC;沟槽宽 500 nm ,深 250 nm)上,与沟槽方向一致的细胞黏着斑蛋白(Fas)比较稳定而且尺寸较大,所占细胞面积的比例也较大,表明沟槽基底促进了细胞Fas的成熟^[16]。hMSCs在沟槽基底(PDMS以及聚苯乙烯;沟槽宽 $350 \sim 500 \text{ nm}$,深 350 nm)上,整合素 α_3 表达升高, β_3 也有显著的变化,细胞应力纤维沿着沟槽方向形成,Fas主要分布在延伸型细胞的两端^[17]。这些细胞骨架的变化特征体现了基底几何结构和细胞生理行为变化之间的潜在关联。

3.2 微柱阵列结构

3.2.1 对细胞铺展行为的影响 在圆形微柱阵列基底(聚苯乙烯;高 $0.15 \sim 1.0 \mu\text{m}$ 、直径 80 nm 、间距 10 nm)上,发现人成纤维细胞的铺展面积小于平面基底上的铺展面积^[18]。成纤维细胞3T3在微米尺度的圆形微柱阵列基底(PDMS;微柱高 $2 \sim 10 \mu\text{m}$,直径 $5 \sim 10 \mu\text{m}$,间距 $5 \sim 10 \mu\text{m}$)上也有类似结果,细胞铺展面积的变化程度与微柱的高度、直径和间距都有关联,并且细胞在这些微柱结构基底上,细胞突起增多,形状相对伸长^[19]。上述微米尺度的微柱阵列基底与平面基底相比还有加速细胞迁移的作用^[19]。在一系列方形、六边形微柱基底(PA水凝胶;间隔 $1/2/5/10/15/20 \mu\text{m}$,边长 $3/5/10/15/20 \mu\text{m}$,高 $5 \mu\text{m}$)上,实验发现MSC在六边形微柱上的铺展面积小于正方形微柱基底上的铺展面积,其细胞主体倾向于生长于微柱上,当微柱间隙小于 $10 \mu\text{m}$ 时,细胞的伪足沿着间隙生长^[20]。从文献数据来看,细胞在微柱结构基底上的铺展行为也是随细胞类型和结构尺度而有所不同的。

3.2.2 对细胞增殖和分化的影响 在纳米以及微米尺度圆形微柱阵列基底(硅底板表面镀金;直径分别为 20 nm 和 $2 \mu\text{m}$ 、高 $2.5 \mu\text{m}$)上生长的rMSCs,

以纳米尺度结构(直径为 20 nm)基底上的增殖率最好^[21]。CTP 细胞在微米尺度微柱结构基底(PDMS; 直径 10 μm , 间隔 10 μm , 高 6 μm)上, 细胞增殖速度显著高于平面基底上的增殖速度^[22]。这些数据表明, 微柱阵列基底有促进细胞增殖的作用。上述文献中还发现, rMSC 在纳米尺度基底上的成骨向分化指标显著提高^[21]。

3.2.3 对细胞骨架重组的影响 细胞骨架在微柱结构基底上的典型特征是微丝应力纤维围绕微柱聚集^[19,23], 以及黏着斑蛋白(vinculin)在微柱顶端的集中表达^[23]。由于应力纤维的分布与细胞黏附有密切的联系, vinculin 更是细胞黏着斑的主要成分, 上述现象表明微柱区域是细胞与基底相互作用的主要位点。这正是部分文献中将弹性微柱作为研究细胞与基底间相互作用的力学传感器的重要依据, 从而可利用其定量研究细胞不同区域的受力和变形及其与细胞骨架的关联^[21-22,24-25]。

3.3 其他类型拓扑结构基底

3.3.1 微孔类型基底 微孔阵列基底对于细胞的铺展、分化、骨架重排均有不同程度的影响。微孔基底(聚己酸内酯 PCL; 直径 25 μm , 间距 25 μm , 深 5 μm)与平面基底相比可以促进视网膜祖细胞的黏附以及向视杆细胞方向的分化^[26]。在不同尺寸的方形微孔基底(PDMS; 间隔 2 μm , 微孔边长 1 ~ 8 μm , 深 1 μm)上, rMSC 随着微孔边长增大而不易于铺展, 边长 8 μm 基底上细胞呈现球状, 同时嵴上的黏着斑变多; 在 3 μm 边长上细胞成骨方向分化的指标升高^[27], 黏着斑所占细胞面积的比例变大(而细胞铺展面积变化不大), 并且嵴上黏着斑的表达随时间增多, 此种微孔结构的基底促进了黏着斑的成熟和骨架微丝的合成, 同时上调了磷酸化的 FAK^[28]。结肠腺癌细胞(Caco-2)在微孔结构基底(PDMS; 直径 50、100、500 μm , 间隔 50 μm , 深 120 μm)上接种时都位于孔内, 小直径(50 μm)的微孔内细胞不易于铺展, 而且孔内贴附的细胞倾向于向靠近壁面的方向延伸^[29]。在纳米尺度深度的微孔阵列基底(聚甲基丙烯酸甲酯, PMMA; 直径 30 μm , 间距 60 μm , 深 300 nm)上, 人成骨细胞微管蛋白表达增多, 黏着斑表达增强, 且骨向分化明显增强^[4]。

与沟槽、微柱不同的是, 微孔结构主要体现于具

有中空或疏松结构的组织与器官内, 对该种基底上细胞三维铺展的动力学行为及其机理的研究有助于认识相关细胞特定的生物学行为。

3.3.2 其他类型拓扑结构 除了各种人工设计的规则构型, 利用材料沉积、包被等方法形成的表面自然纹理和粗糙度等表面微拓扑结构特征也可用于细胞基底间相互作用研究, 这些结构多为纳米尺度, 主要取决于材料本身的性质^[30]。如在胶原有序排列的基底上, hMSCs 的贴附率得到了显著提高, 而增殖率则出现了下降, 细胞向肌腱方向分化水平提高, 而向成骨方向分化受到抑制^[31]。如何将材料表面化学性质的作用与基底拓扑结构的影响相结合, 仍需要深入、细致的工作。

4 基底微拓扑结构影响细胞生物学行为的可能机制

细胞对微拓扑结构的响应本质上是对物理结构及力学刺激的响应, 细胞如何感受该力学信号并转换为生物学信号是其机制中的关键问题。

4.1 力学传递机制(Mechanical Transmission)

细胞对基底力学信号感受主要是通过细胞骨架来实现, 而细胞骨架与基底的连接是通过黏着斑复合物来实现的。细胞骨架的微丝、微管、中间纤维 3 种蛋白之间彼此联系, 构成贯穿整个细胞的复杂骨架系统, 决定了细胞的形态和刚性^[32], 并且与细胞多种重要生命活动有关。黏着斑复合物主要由整合素以及一系列的酶和支架蛋白组成, 辅肌动蛋白、细胞骨架连接蛋白-根蛋白-膜突蛋白复合物(ERM)和纤毛素蛋白等具有多个肌动蛋白结合位点, 可同时连接多条肌动蛋白纤维成束形成应力纤维, 传递黏着斑处的力学信号, 并调控细胞做出不同的生化响应^[33-34]。细胞骨架蛋白成分以及黏附斑在不同微拓扑结构基底上的表达特征为细胞力学信号传递机制的研究提供了线索。

4.2 力学转导机制(Mechanical Transduction)

细胞通过黏着斑系统感受基底拓扑结构引起的力学信号, 并将该信号传导至细胞骨架, 主要包括黏着斑的成熟(包括黏着斑复合物组成元件如踝蛋白 talin、vinculin、黏着斑激酶 FAK 等)、微丝的重组(由于黏着斑组装引起的)、微丝收缩力的变化等环节(见图 2(a))。在这一过程中涉及整合素从内向外

(inside-out) 与从外向内 (outside-in) 信号调控、RhoA-ROCK 通路的 FAK 磷酸化、II 型肌凝蛋白 (myosin II) 的表达改变等^[28] (见图 2(b))。细胞骨架中的微丝通过 Nesprin 与细胞核相互联系,而 Nesprin 通过 SUN 家族的 Sun1 连接至细胞核内的

lamins 从而引起细胞核内微丝变化。如此,通过 Nesprin-Sun 结构域-lamins 将细胞骨架表达的力学信号传递入细胞核,可引起相应的基因表达改变,从而将细胞外部的力学信号转换为化学信号^[36] (见图 2(c))。关于这一机制的研究未知因素尚多。

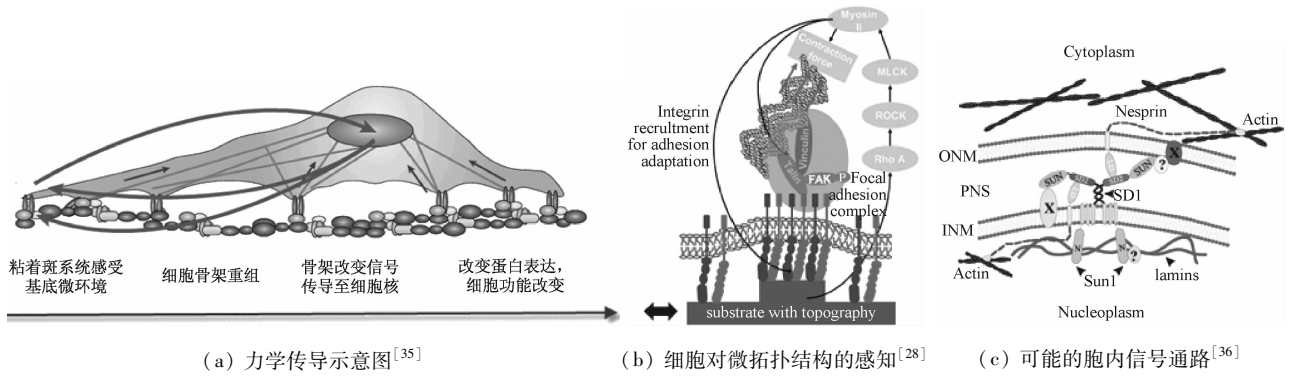


图2 基底拓扑结构的力学传导过程

Fig.3 Cascade of mechanical transduction in response to micro-topological substrate (a) Schematic of mechanical transduction, (b) Sensing of extracellular micro-topological changes, (c) Potential intracellular signaling pathways

5 结论与展望

基底拓扑结构对细胞生物学行为的影响是广泛而有意义的。在基础研究层面,可定量阐明不同拓扑结构组织内细胞的生物学行为,认识干细胞壁龛 (niche) 等微环境影响干细胞增殖、分化的规律;在应用研究层面,合适的基底拓扑结构种类,可用于调控种子细胞的扩增和定向分化、促进人工植入材料与组织的结合等目的。因此,这一科学问题的研究不仅是生物力学基础研究的前沿内容,而且还对再生医学、工程化组织构建等领域具有潜在应用价值。

综述最新的文献,这一研究领域尚有以下需要重点关注的问题:①干细胞在不同拓扑结构基底上的增殖、分化调控规律;②不同拓扑结构基底上细胞骨架重组和改变的动力学过程;③具有拓扑结构特异性的力学感受分子确认及其下游转导机制;④微米-纳米耦合拓扑结构影响细胞生物学行为及其分子机制。

细胞与基底之间的相互作用是目前细胞生物力学研究领域的热点问题之一。由于不同实验研究使用的基底材料、结构构型及尺度都不尽相同,导致一些研究结果之间存在矛盾的结论。随着基底表面微制作技术的进步和生物学技术的发展,基底拓扑结

构影响细胞生物学行为的生物力学机制也逐步被揭示,这对于认识细胞与基底相互作用的规律以及相关的生物医学工程应用具有重要意义。

参考文献:

- [1] van Delft FCMJ, van den Heuvel FC, Loesberg WA, *et al.* Manufacturing substrate nano-grooves for studying cell alignment and adhesion [J]. *Microelectron Eng*, 2008, 85(5-6): 1362-1366.
- [2] Su WT, Liao YF, Chu IM. Observation of fibroblast motility on a micro-grooved hydrophobic elastomer substrate with different geometric characteristics [J]. *Micron*, 2007, 38(3): 278-85.
- [3] Teixeira AI, Abrams GA, Bertics PJ, *et al.* Epithelial contact guidance on well-defined micro- and nanostructured substrates [J]. *J Cell Sci*, 2003, 116(Pt 10): 1881-1892.
- [4] Wilkinson A, Hewitt RN, McNamara LE, *et al.* Biomimetic microtopography to enhance osteogenesis in vitro [J]. *Acta Biomaterialia*, 2011, 7(7): 2919-2925.
- [5] Chen CS, Mrksich M, Huang S, *et al.* Geometric control of cell life and death [J]. *Science*, 1997, 276(5317): 1425-1428.
- [6] 李振涵, 孙树津, 龙勉. 微模式化基底上大鼠骨髓间充质干细胞的增殖、分化和迁移[J]. *医用生物力学*, 2009, 24(4): 256-262.
- [7] Li ZH, Sun SJ, Long M. Proliferation, differentiation, and migration of rat bone marrow mesenchymal stem cells on micropatterned [J]. *J Med Biomech*, 2009, 24(4): 256-262.
- [7] Yang JY, Ting YC, Lai JY, *et al.* Quantitative analysis of osteo-

- blast-like cells (MG63) morphology on nanogrooved substrata with various groove and ridge dimensions [J]. *J Biomed Mater Res Part A*, 2009, 90A(3): 629-640.
- [8] Wang PY, Yu HT, Tsai WB. Modulation of alignment and differentiation of skeletal myoblasts by submicron ridges/grooves surface structure [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2010, 106(2): 285-294.
- [9] Fujita S, Ohshima M, Iwata H. Time-lapse observation of cell alignment on nanogrooved patterns [J]. *J R Soc Interface*, 2009, 6(Suppl 3): S269-S277.
- [10] Watari S, Hayashi K, Wood JA, *et al.* Modulation of osteogenic differentiation in hMSCs cells by submicron topographically-patterned ridges and grooves [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(1): 128-136.
- [11] Altomare L, Gadegaard N, Visai L, *et al.* Biodegradable micro-grooved polymeric surfaces obtained by photolithography for skeletal muscle cell orientation and myotube development [J]. *Acta Biomaterialia*, 2010, 6(6): 1948-1957.
- [12] Kim DH, Han K, Gupta K, *et al.* Mechanosensitivity of fibroblast cell shape and movement to anisotropic substratum topography gradients [J]. *Biomaterials*, 2009, 30(29): 5433-5444.
- [13] Wang Y, Jiang XL, Yang SC, *et al.* MicroRNAs in the regulation of interfacial behaviors of MSCs cultured on microgrooved surface pattern [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(35): 9207-9217.
- [14] Mata A, Boehm C, Fleischman AJ, *et al.* Connective tissue progenitor cell growth characteristics on textured substrates [J]. *Int J Nanomed*, 2007, 2(3): 389-406.
- [15] Karuri NW, Nealey PF, Murphy CJ, *et al.* Structural organization of the cytoskeleton in SV40 human corneal epithelial cells cultured on nano- and microscale grooves [J]. *Scanning*, 2008, 30(5): 405-413.
- [16] Ferrari A, Cecchini M, Serresi M, *et al.* Neuronal polarity selection by topography-induced focal adhesion control [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(17): 4682-4694.
- [17] Yim EKF, Darling EM, Kulangara K, *et al.* Nanotopography-induced changes in focal adhesions, cytoskeletal organization, and mechanical properties of human mesenchymal stem cells [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(6): 1299-1306.
- [18] Hu W, Crouch AS, Miller D, *et al.* Inhibited cell spreading on polystyrene nanopillars fabricated by nanoimprinting and in situ elongation [J]. *Nanotechnology*, 2010, 21(38): 385301.
- [19] Ghibaudo M, Trichet L, Digabel JL, *et al.* Substrate topography induces a crossover from 2D to 3D behavior in fibroblast migration [J]. *Biophys J*, 2009, 97(1): 357-368.
- [20] Poellmann MJ, Harrell PA, King WP, *et al.* Geometric microenvironment directs cell morphology on topographically patterned hydrogel substrates [J]. *Acta Biomaterialia*, 2010, 6(9): 3514-3523.
- [21] Brammer KS, Choi C, Frandsen CJ, *et al.* Hydrophobic nanopillars initiate mesenchymal stem cell aggregation and osteo-differentiation [J]. *Acta Biomaterialia*, 2011, 7(2): 683-690.
- [22] Kim EJ, Boehm CA, Mata A, *et al.* Post microtextures accelerate cell proliferation and osteogenesis [J]. *Acta Biomaterialia*, 2010, 6(1): 160-169.
- [23] Turner AM, Dowell ML, Turner SW, *et al.* Attachment of astroglial cells to microfabricated pillar arrays of different geometries [J]. *J Biomed Mater Res*, 2000, 51(3): 430-441.
- [24] Tan JL, Tien J, Pirone DM, *et al.* Cells lying on a bed of microneedles: An approach to isolate mechanical force [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2003, 100(4): 1484-1489.
- [25] Fu JP, Wang YK, Yang MT, *et al.* Mechanical regulation of cell function with geometrically modulated elastomeric substrates [J]. *Nature Methods*, 2010, 7(9): 733-736.
- [26] Steedman MR, Tao SL, Klassen H, *et al.* Enhanced differentiation of retinal progenitor cells using microfabricated topographical cues [J]. *Biomed Microdevices*, 2010, 12(3): 363-369.
- [27] Seo CH, Furukawa K, Suzuki Y, *et al.* A topographically optimized substrate with well-ordered lattice micropatterns for enhancing the osteogenic differentiation of murine mesenchymal stem cells [J]. *Macromole Biosci*, 2011, 11(7): 938-945.
- [28] Seo CH, Furukawa K, Montagne K, *et al.* The effect of substrate microtopography on focal adhesion maturation and actin organization via the RhoA/ROCK pathway [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(36): 9568-9575.
- [29] Wang L, Murthy SK, Fowle WH, *et al.* Influence of micro-well biomimetic topography on intestinal epithelial Caco-2 cell phenotype [J]. *Biomaterials*, 2009, 30(36): 6825-6834.
- [30] Lord M, Foss SM. Influence of nanoscale surface topography on protein adsorption and cellular response [J]. *Nano Today*, 2010, 5(1): 66-78.
- [31] Kishore V, Bullock W, Sun XH, *et al.* Tenogenic differentiation of human MSCs induced by the topography of electrochemically aligned collagen threads [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(7): 2137-2144.
- [32] 张鹏, 房兵, 江凌勇. 机械刺激对成骨细胞骨架的影响 [J]. *医用生物力学*, 2011, 26(1): 87-91.
Zhang P, Fang B, Jiang LY. Effect of mechanical stimulation on osteoblast cytoskeleton [J]. *J Med Biomech*, 2011, 26(1): 87-91.
- [33] Liu SC, Calderwood DA, Ginsberg MH. Integrin cytoplasmic domain-binding proteins [J]. *J Cell Sci*, 2000, 113(20): 3563-3571.
- [34] Parker KK, Ingber DE. Extracellular matrix, mechanotransduction and structural hierarchies in heart tissue engineering [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2007, 362(1484): 1267-1279.
- [35] Vogel V, Sheetz M. Local force and geometry sensing regulate cell functions [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(4): 265-275.
- [36] Padmakumar VC, Libotte T, Lu WS, *et al.* The inner nuclear membrane protein Sun1 mediates the anchorage of Nesprin-2 to the nuclear envelope [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118(15): 3419-3430.