

文章编号:1004-7220(2022)03-0575-06

# 衰老过程中间充质干细胞物理异质性变化对分化潜能的影响

王耀<sup>1</sup>, 龚晓波<sup>2#</sup>, 于志锋<sup>1#</sup>

(1.上海交通大学医学院附属第九人民医院 骨科,上海市骨科内植物重点实验室,上海 200011;

2.上海交通大学 船舶海洋与建筑工程学院,上海 200240)

**摘要:**间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)具有成骨分化、成软骨分化、成脂肪分化等多向分化潜能,已被广泛用于基础研究和临床应用。在衰老过程中,MSCs的分化潜能会发生改变,表现为成骨分化潜能下降,而成脂分化潜能增强。衰老过程中,MSCs在分化潜能变化的同时伴有细胞物理异质性(细胞尺寸、细胞硬度、核质比等)变化。研究表明,物理异质性变化可能是导致MSCs分化潜能变化的关键因素。因此,研究MSCs衰老过程中的物理异质性变化为预测干细胞命运提供新的研究方向。本文主要综述衰老过程中物理异质性变化对MSCs分化潜能的影响,并对相应机制进行探讨。

**关键词:**衰老;物理异质性;间充质干细胞;细胞体积;细胞硬度;核质比

**中图分类号:** R 318.01 **文献标志码:** A

**DOI:** 10.16156/j.1004-7220.2022.03.030

## Effects of Physical Heterogeneity Variation on Differentiation Potential of Mesenchymal Stem Cells During Senescence

WANG Yao<sup>1</sup>, GONG Xiaobo<sup>2#</sup>, YU Zhifeng<sup>1#</sup>

(1. Shanghai Key Laboratory of Orthopaedic Implants, Department of Orthopedics, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200011, China; 2. School of Naval Architecture, Ocean & Civil Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

**Abstract:** With the multi-directional differentiation potential such as osteogenic differentiation, chondrogenic differentiation and adipogenic differentiation, mesenchymal stem cells (MSCs) have been widely used in basic research and clinical applications. The differentiation potential of MSCs is altered during senescence. Osteogenic differentiation potential decreases, while the lipogenic differentiation potential increases in aging MSCs. Changes in differentiation potential of MSCs during senescence are accompanied with cell physical heterogeneity variation (cell size, cell stiffness and nucleoplasmic ratio). Studies have shown that changes in physical heterogeneity of stem cells may be a key factor leading to the differences in differentiation potential of MSCs. Therefore, studies on physical heterogeneity variation of MSCs during senescence will provide a new research direction in fate prediction of stem cell. In this review, the effects of physical heterogeneity variation on differentiation potential of MSCs were summarized, and the corresponding mechanism was also discussed.

**Key words:** senescence; physical heterogeneity; mesenchymal stem cells (MSCs); cell size; cell stiffness; nucleoplasmic ratio

收稿日期:2022-06-01; 修回日期:2022-06-10

基金项目:国家自然科学基金项目(12172223),上海市科委项目(19140900104)

通信作者:于志锋,副研究员,E-mail:zfyu@outlook.com;龚晓波,教授,E-mail:x.gong@sjtu.edu.cn

#为共同通信作者

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)来源广泛,容易获取,是一种具有多向分化潜能的细胞,具有向成骨分化、成软骨分化、成脂肪分化等潜能<sup>[1]</sup>。骨髓、人体脂肪、脐带血、羊水、胎盘、肝脏、大脑、肾脏中都可以获得 MSCs<sup>[2-3]</sup>。在衰老过程中, MSCs 的分化潜能会发生改变,表现为成骨分化潜能下降,成脂分化潜能增强。研究表明, MSCs 分化潜能与物理特征密切相关<sup>[4]</sup>。MSCs 物理特征具有一定的异质性,具体表现为可测量的物理参数,包括细胞尺寸、细胞硬度、核质比、铺展面积等。物理异质性可以影响 MSCs 分化。例如:细胞的体积或者直径越大,成骨分化能力越差;反之,则成骨分化能力越强<sup>[5]</sup>。MSCs 在生长和衰老过程中分化潜能发生变化的同时,往往伴随着物理特征的改变。例如:衰老 MSCs 成骨能力下降的同时,体积和硬度都会增加<sup>[6-7]</sup>。同时,衰老也降低了 MSCs 的增殖、免疫调节和归巢能力等<sup>[8]</sup>。衰老状况下 MSCs 物理异质性的变化越来越受到关注,但其中的原因与机制尚不明确。本文综述衰老过程中物理异质性变化对 MSCs 分化潜能的影响,并对相应机制进行探讨。

## 1 MSCs 衰老相关机制以及衰老对 MSCs 分化潜能的影响

机体衰老的原因可能和干细胞衰老密切相关。干细胞发生衰老后,缺乏年轻细胞对衰老细胞进行自然更新,导致后者在体内积累<sup>[8]</sup>。干细胞衰老相关研究有可能提供干预衰老的新手段。衰老是由于长期累积的分子变化导致的细胞退化的渐进过程,干细胞衰老的相关机制在近些年得到广泛研究。研究表明,抑癌基因 p53 在干细胞衰老中起到关键作用<sup>[9]</sup>。细胞在发生端粒侵蚀、DNA 损伤以及复制压力时,可以激活 DNA 损伤反应(DNA damage reaction, DDR), DDR 可通过激活下游激酶磷酸化 p53, 干扰 E3 泛素连接酶(mouse double minute 2, MDM2)泛素化 p53 并下调 p53 活性,激活 p53/p21cip1 轴,而 p21cip1 是 p53 诱导衰老有关的细胞周期停滞在 G1/S 或 G2/M 检查点的关键因子<sup>[9-10]</sup>。p53 主要发挥转录因子的作用,上调或下调特定目标基因的表达,这些基因参与了代谢、自噬、DNA 损伤修复、细胞周期停滞、衰老和凋亡等过程<sup>[11]</sup>。另外,研究表明,衰老相关分泌表型(senescence

associated secretory phenotype, SASP)也与干细胞衰老密切相关。SASP 是衰老细胞分泌的特殊生物活性分子,包括趋化因子、细胞因子、蛋白酶和生长因子等。这些分子可以诱导周围微环境发生一系列生理反应,包括炎症、生长停滞和衰老<sup>[12]</sup>。mTOR 是 SASP 的关键调节器,它能够调节 MAP 激酶激活的蛋白激酶 2(MK2)和 IL-1 $\alpha$  的翻译<sup>[13]</sup>。MK2 被 p38 磷酸化后可以使 ZFP36L1 失活。ZFP36L1 是一种锌指蛋白,可降解许多促炎症 SASP 因子的 mRNA,而 IL-1 $\alpha$  促进 NF $\kappa$ B 信号传导,这与 SASP 基因的上调有关<sup>[13-14]</sup>。相应地,使用雷帕霉素抑制 mTOR 可以减少 SASP 的表达以及延缓衰老<sup>[14]</sup>。总之, MSCs 衰老的机制得到越来越深入的研究。另一方面, MSCs 在衰老过程中其分化潜能发生了显著的变化。研究发现,衰老 MSCs 的成骨分化能力下降而成脂分化能力增加,衰老 MSCs 的增殖和分化能力在总体上均发生下降<sup>[6]</sup>。然而,衰老影响 MSCs 分化潜能的相关机制仍然不清楚。研究表明,在衰老过程中, MSCs 分化潜能发生变化的同时也会伴随着物理异质性变化,其体积、直径、刚度以及核质比等都发生显著改变<sup>[15-17]</sup>。物理异质性可能是影响 MSCs 衰老和分化的关键因素,为衰老 MSCs 分化潜能变化的相关机制研究提供崭新的研究思路。

## 2 衰老过程中 MSCs 物理异质性变化及其对 MSCs 分化潜能的影响

随着微流控芯片、原子力显微镜(atomic force microscope, AFM)以及细胞三维重建等技术的发展,干细胞的诸多物理异质性(细胞直径、细胞体积、细胞硬度、细胞铺展面积以及细胞核质比等)可得到精确测量,这些物理异质性特征都对干细胞的分化潜能有着一定的影响(见图 1)。研究发现,细胞铺展面积能够影响 MSCs 的分化能力。与具有较小铺展面积的 MSCs 相比,具有较大铺展面积的 MSCs 显示出更高的成骨分化能力<sup>[18]</sup>。另外,细胞体积或者直径也可以影响干细胞的命运。Guo 等<sup>[5]</sup>利用渗透压来改变 MSCs 的体积,结果发现,细胞体积影响干细胞分化。体积越小,成骨分化倾向越强;体积越大,成脂分化倾向越强。Poon 等<sup>[19]</sup>利用微流控芯片分选出两群具有不同直径的 MSCs,较大的细胞

群直径约为 25  $\mu\text{m}$ ,较小的细胞群直径约为 14  $\mu\text{m}$ 。进一步研究发现,直径较小的细胞群显示出多系分化潜能,即可以成骨分化、成软骨分化以及成脂肪分化等。而直径较大的细胞群仅显示出单系或双系分化潜能。Poon 等<sup>[19]</sup>还发现,在相同培养条件

下,较大刚度的细胞群大多显示出单系分化潜能,而较小刚度的细胞群显示出多系分化潜能。该结果表明,细胞刚度可能影响干细胞的命运,研究衰老过程中 MSCs 物理异质性的变化对于阐明 MSCs 衰老机制具有十分重要的意义。

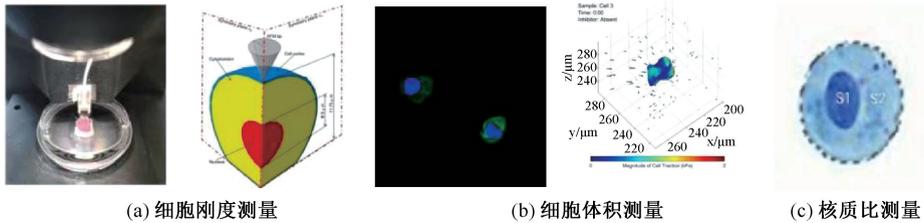


图1 细胞物理异质性的测量方法

Fig.1 Measurements for physical heterogeneity of cells (a) Cell stiffness measurement, (b) Cell volume measurement, (c) Nucleoplasmic ratio measurement

## 2.1 细胞体积

细胞体积对细胞的功能具有重要的作用,体积影响着细胞的迁移、增殖、分化等各种生物学行为。细胞体积同时也决定了细胞生物合成能力、新陈代谢、力学性能以及分子运输的规模。一般来说,体积越大,细胞的生物合成能力越强,新陈代谢的效率越高,分子运输的规模也越大<sup>[20]</sup>。细胞体积的主要测量方法是使用共聚焦显微镜等仪器进行二维层面的细胞测量,然后使用软件进行三维重建。Lengefeld 等<sup>[21]</sup>研究发现,小鼠和人类的造血干细胞在衰老过程中体积增大,干细胞体积扩大导致它们在衰老过程中的分化能力下降,如果阻止这种随年龄增长的体积扩大,可改善造血干细胞的分化潜能。Wagner 等<sup>[15]</sup>通过研究衰老对人类 MSCs 功能的影响发现,经过长期培养的 MSCs 表现为体积变大,分化潜能下降。在 MSCs 的 7~12 代培养过程中, MSCs 表现出形态变圆,体积显著增大,并最终增殖停止,而且体积增加的 MSCs 在后续的分化中成骨分化能力和成软骨分化能力均下降。

衰老 MSCs 体积增大可能与 DNA 损伤和细胞外基质重塑有关。每次细胞分裂,都会发生 DNA 损伤,“分裂”会暂时延迟以修复损伤,这种分裂延迟可能是衰老干细胞体积增大的原因<sup>[22]</sup>。随着细胞的生长,其分裂次数增加,而每次分裂都有可能发生 DNA 损伤。随着 DNA 损伤的积累,细胞停止分裂的时间也就越长,导致分裂的细胞在合适的时间

内无法进行细胞的再分配。如果细胞分裂引起的损伤导致细胞周期检查点阻断,细胞停止分裂,大分子生物合成仍然会继续驱动细胞生长<sup>[23]</sup>。因此,尽管细胞体积增大,但 DNA 含量却没有相应增加。一旦细胞周期停滞被解除,细胞质比例恢复分裂<sup>[23]</sup>;分裂形成的子代细胞 DNA 含量不变而细胞质增加,故出现体积增加。另一方面,健康的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 对细胞体积有重要的限制作用,以避免细胞体积过大。衰老过程中, MSCs 表达基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMPs) 显著上调, MMPs 可以降解 ECM 成分,导致 ECM 发生重塑,并且失去了对细胞体积的调节作用,这可能也是衰老 MSCs 体积增大的原因之一<sup>[24]</sup>。Tang 等<sup>[25]</sup>研究发现,ECM 对细胞体积有一定的限制作用。当 MMP14 水解细胞周围的胶原纤维后,骨骼干细胞可以迅速向周围扩散,并且铺展面积增大。同时 ECM 重塑可通过细胞骨架肌动蛋白 (actin),经 LINC 复合体影响核纤层蛋白 (lamin) 的表达。该复合体是一组横穿核膜 (nuclear envelope, NE) 的蛋白,在细胞骨架和核骨架之间形成了一座桥梁,主要由 SUN 蛋白和 KASH 蛋白家族 (Nesprin 蛋白) 组成<sup>[26]</sup>。而 lamin 影响着核内染色质状态和基因转录,是调节各种细胞过程的关键纽带<sup>[27]</sup>。Lamin A/C 控制内核膜蛋白 Emerin 的定位,在没有 lamin A/C 的情况下, Emerin 不再局限于核膜,而是向内质网膜内扩散<sup>[28]</sup>。

Emerin 能够与  $\beta$ -catenin 结合<sup>[28]</sup>。Tang 等<sup>[25]</sup> 研究表明, Emerin 的重新分布会导致 Emerin/ $\beta$ -catenin 复合体的错误定位, 从而干扰  $\beta$ -catenin 核转位和 Wnt 信号转导。而 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号与 MSCs 成骨分化密切相关, 这或许可以解释细胞体积影响 MSCs 分化的机制<sup>[18]</sup>。由于 Lamin A/C 突变可以引起早衰综合征, 在衰老过程中细胞体积与核骨架蛋白的关系, 以及细胞体积如何通过核骨架蛋白影响 MSCs 分化潜能需要深入研究<sup>[29]</sup>。

## 2.2 细胞刚度

细胞刚度与细胞的各种功能包括迁移、黏附和力学信号的传导等有关, 当细胞受到力学作用时, 它们也会调整细胞刚度来进行自我保护和力学信号传导<sup>[30]</sup>。细胞刚度的测量一般使用 AFM 来量化黏附细胞的弹性模量。MSCs 在衰老过程中刚度也会发生变化。Kohler 等<sup>[16]</sup> 研究发现肌腱组织来源的干细胞 (tendon stem/progenitor cell, TSPC) 显示出经典的 MSCs 的特征, 如 MSC 特异性表面抗原、克隆性和三系分化 (成脂、成骨和软骨), 与年轻人来源的 TSPCs 相比, 老年人 TSPC 中分离出的 TSPCs 的细胞刚度明显增加。Guo 等<sup>[13]</sup> 的研究发现 MSCs 体积的变化, 会伴随细胞刚度的变化, 衰老细胞体积变化伴随着刚度增加, 说明细胞刚度变化也是干细胞衰老的重要特征。

衰老干细胞刚度增加的原因目前还不够明确。Berdyeva 等<sup>[31]</sup> 观察到衰老内皮细胞刚度增加, 使用 AFM 测量发现, 与年轻细胞相比, 衰老细胞的弹性模量持续增加 2~4 倍。通过观察细胞骨架后发现, 衰老细胞的刚度增加是由于细胞骨架纤维的密度更高, 细胞骨架更密集。衰老 MSCs 的肌动蛋白细胞骨架的活力降低, 而且会发生重塑, 推测衰老干细胞硬度发生变化的原因是衰老干细胞细胞骨架微丝发生了重塑。研究发现, 细胞骨架中的纤维型肌动蛋白 (fibrous actin, F-actin) 可以被“捆绑”成尺寸更大的肌动蛋白束 ( $\beta$ -actin) 以增强细胞刚度, 该过程<sup>[32-33]</sup> 依赖钙离子调节的聚合作用<sup>[32-33]</sup>。细胞内钙离子浓度降低促进  $\beta$ -actin 解聚为 F-actin, 导致细胞刚度降低, 反之则细胞刚度增加<sup>[33]</sup>。推测衰老细胞内钙离子浓度增加可能会促进 F-actin 聚合成  $\beta$ -actin, 最终导致细胞刚度增加。以上研究表明, 细胞刚度与 actin 关系密切。F-actin 通过细胞核膜

Nesprin 蛋白与核纤层蛋白 (Lamin) 相连, Lamin A/C 通过控制内核膜蛋白 Emerin 的定位影响 MSCs 的干性。Lee 等<sup>[19]</sup> 研究表明, 较小刚度的 MSCs 具有多系分化潜能, 较大刚度的 MSCs 只有单系或双系分化潜能, 然而细胞刚度影响 MSCs 分化的相关机制尚不清楚。actin 与细胞刚度关系密切, 这或许能够为细胞刚度影响细胞分化能力的相关机制研究提供一些研究思路。而细胞刚度对 MSCs 成骨、成脂肪以及成软骨的具体影响仍然是不明确的, 还需要大量的体内外研究进行证实。

## 2.3 核质比

细胞维持合适的核质比对于细胞功能有着重要的作用, 核质比异常增大或者减小会降低核质运输的速率和 RNA 加工处理的效率<sup>[34]</sup>。通过荧光染色和共聚焦显微镜二维测量贴壁细胞细胞核与细胞质的面积比 ( $S_n:S_c$ ) 是目前测量核质比的常用方法。目前关于核质比与干细胞分化之间的关系尚不明确。研究表明在衰老过程中干细胞的核质比也会发生变化。衰老 MSCs 体积随着衰老程度增加而增大, 而 Wang 等<sup>[35]</sup> 研究表明, 大体积小鼠 MSCs 比小体积小鼠 MSCs 核质比更小, 提示衰老过程中 MSCs 核质比可能会发生下降。Ullmann 等<sup>[36]</sup> 研究发现, 胚胎干细胞 (embryonic stem cells) 在分化增殖过程中细胞核质比发生下降。Rodrigues 等<sup>[17]</sup> 研究女性经血来源的 MSCs, 提取的细胞仅仅在开始几天具有较高的核质比, 随着培养天数的增多, 细胞核质比下降。上述研究提示, 在衰老状态下细胞的核质比下降是一种较为普遍的现象。

衰老 MSCs 核质比下降的原因目前还不清楚, 推测原因可能与细胞核体积下降或细胞体积增加有关。研究表明, 衰老细胞体积的增加伴随着细胞核生长停滞<sup>[37]</sup>。衰老细胞的染色质特征是构成性异染色质域的展开, 其特征主要是染色体周围卫星序列的扩张, 染色质结构的这些变化与核膜的破坏有关, 核层的丧失可导致衰老细胞向细胞质中释放出细胞染色质片段 (cell chromatin fragments, CCFs) 使得细胞核丧失内容物, 这也意味着细胞核体积出现缩小<sup>[37]</sup>。因此, 本文推测衰老细胞核质比变化的原因一方面是体积增大, 另一方面是由于细胞核固缩, 出现核质比减小。细胞核向细胞质释放 CCFs 这一细胞生物学过程与核纤层蛋白 lamin 密切相

关,特别是 lamin 表达减少使得核膜完整性遭到破坏<sup>[39]</sup>。lamin 可能通过控制细胞核 CCFs 的释放来影响细胞核的体积。Rogerson 等<sup>[40]</sup>研究发现,lamin 表达减少,细胞核体积会明显下降;相应地,如果抑制 lamin 磷酸化,细胞核的体积会增加。而 lamin 与干细胞命运的密切相关,故在探究核质比与 MSCs 分化的关系时,这为相关机制研究提供了一种新思路。

### 3 总结与展望

干细胞的物理异质性变化最近被广泛讨论,相关研究也证实细胞体积和刚度等会显著影响干细胞命运,尤其是在成骨和成软骨分化方面。但是,研究物理异质性仍然存在如下的一些困难:① 各种物理异质性之间的联系尚不清楚。有报道称细胞体积和细胞硬度之间有一定联系,甚至有线性关系,为物理参数的体外实验验证带来了一定的困难。② 尽管近年来衰老干细胞的物理异质性变化的研究已展开,但仍然缺乏足够的证据。这些研究大多是在探讨衰老细胞的其他问题时发现细胞物理性变化,不同研究报道甚至得到相反的结论。③ 由于细胞的物理参数在贴壁和悬浮状态下完全不同,细胞在衰老状态下形态也会发生较大的改变,使得物理参数的测量困难重重,目前仍然缺乏以衰老干细胞物理特征为主题的研究。但近些年迅速发展的细胞微流控芯片技术和 AFM 技术为研究 MSCs 物理特征带来希望。而且,衰老干细胞物理异质性的变化与细胞骨架、细胞核成分以及细胞微环境等有着密切的关系,这也为研究干细胞衰老的调控路径和机制提供了新方向。

#### 参考文献:

[ 1 ] PROCKOP DJ. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues [J]. *Science*, 1997, 276(309): 71-74.

[ 2 ] TEIXEIRA FG, CARVALHO MM, SOUSA N. Mesenchymal stem cells secretome: A new paradigm for central nervous system regeneration [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70(20): 3871-3882.

[ 3 ] LAI RC, YEO RW, LIM SK. Mesenchymal stem cell exosomes [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2015, 40: 82-88.

[ 4 ] JAIPA EW J, WANGKULANGKUL P, MEESANE J, *et al.* Mimicked cartilage scaffolds of silk fibroin/hyaluronic acid

with stem cells for osteoarthritis surgery: Morphological, mechanical, and physical clues [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2016, 64: 173-182.

- [ 4 ] LIN H, SOHN J, SHEN H, *et al.* Bone marrow mesenchymal stem cells: Aging and tissue engineering applications to enhance bone healing [J]. *Biomaterials*, 2019, 203: 96-110.
- [ 5 ] GUO M, PEGORARO AF, MAO A, *et al.* Cell volume change through water efflux impacts cell stiffness and stem cell fate [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(41): E8618-E8627.
- [ 6 ] ROSS S, HEMATI N, LONGO K, *et al.* Inhibition of adipogenesis by Wnt signaling [J]. *Science*, 2000, 289(5481): 950-953.
- [ 7 ] YANG YK, OGANDO CR, WANG SEE C, *et al.* Changes in phenotype and differentiation potential of human mesenchymal stem cells aging *in vitro* [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 131.
- [ 8 ] UYAR B, PALMER D, KOWALD A, *et al.* Single-cell analyses of aging, inflammation and senescence [J]. *Ageing Res Rev*, 2020, 64: 101156.
- [ 9 ] WU D, PRIVES C. Relevance of the p53-MDM2 axis to aging [J]. *Cell Death Differ*, 2018, 25(1): 169-179.
- [ 10 ] MILANOVIC M, FAN DNY, BELENKI D, *et al.* Senescence-associated reprogramming promotes cancer stemness [J]. *Nature*, 2018, 553(7686): 96-100.
- [ 11 ] SABAPATHY K, LANE DP. Therapeutic targeting of p53: all mutants are equal, but some mutants are more equal than others [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(1): 13-30.
- [ 12 ] CORYELL PR, DIEKMAN BO, LOESER RF. Mechanisms and therapeutic implications of cellular senescence in osteoarthritis [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2021, 17(1): 47-57.
- [ 13 ] BIGENWALD C, LE BERICHEL J, WILK CM, *et al.* BRAF<sup>V600E</sup>-induced senescence drives Langerhans cell histiocytosis pathophysiology [J]. *Nat Med*, 2021, 27(5): 851-861.
- [ 14 ] HERRANZ N, GALLAGE S, MELLONE M, *et al.* mTOR regulates MAPKAPK2 translation to control the senescence-associated secretory phenotype [J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(9): 1205-1217.
- [ 15 ] WAGNER W, BORK S, LEPPERDINGER G, *et al.* How to track cellular aging of mesenchymal stromal cells? [J] *Aging*, 2010, 2(4): 224-230.
- [ 16 ] KOHLER J, POPOV C, KLOTZ B, *et al.* Uncovering the cellular and molecular changes in tendon stem/progenitor cells attributed to tendon aging and degeneration [J]. *Aging Cell*, 2013, 12(6): 988-999.
- [ 17 ] RODRIGUES D, ASENSI KD, VAIRO L, *et al.* Human menstrual blood-derived mesenchymal cells as a cell

- source of rapid and efficient nuclear reprogramming [J]. *Cell Transplant*, 2012, 21(10): 2215-2224.
- [18] YANG Y, WANG X, WANG Y, *et al.* Influence of cell spreading area on the osteogenic commitment and phenotype maintenance of mesenchymal stem cells [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 6891.
- [19] POON Z, LEE WC, GUAN G, *et al.* Bone marrow regeneration promoted by biophysically sorted osteoprogenitors from mesenchymal stromal cells [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2015, 4(1): 56-65.
- [20] ZATULOVSKIY E, ZHANG S, BERENSON DF, *et al.* Cell growth dilutes the cell cycle inhibitor Rb to trigger cell division [J]. *Science*, 2020, 369(6502): 466-471.
- [21] LENGFELD J, CHENG CW, MARETICH P, *et al.* Cell size is a determinant of stem cell potential during aging [J]. *Sci Adv*, 2021, 7(46): eabk0271.
- [22] CLAIRMONT CS, SARANGI P, PONNIENSELVAN K, *et al.* TRIP13 regulates DNA repair pathway choice through REV7 conformational change [J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(1): 87-96.
- [23] NEUROHR GE, TERRY RL, LENGFELD J, *et al.* Excessive cell growth causes cytoplasm dilution and contributes to senescence [J]. *Cell*, 2019, 176(5): 1083-1097.
- [24] WANG M, YANG Y, HAN L, *et al.* Cell mechanical microenvironment for cell volume regulation [J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(5): 4070-4081.
- [25] TANG Y, ZHU L, CHO JS, *et al.* Matrix remodeling controls a nuclear lamin A/C-emerin network that directs Wnt-regulated stem cell fate [J]. *Dev Cell*, 2022, 57(4): 480-495.e6.
- [26] VAN INGEN MJA, KIRBY TJ. LINCing nuclear mechanobiology with skeletal muscle mass and function [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 690577.
- [27] KAROUTAS A, AKHTAR A. Functional mechanisms and abnormalities of the nuclear lamina [J]. *Nat Cell Biol*, 2021, 23(2): 116-126.
- [28] VAUGHAN A, ALVAREZ-REYES M, BRIDGER JM, *et al.* Both emerin and lamin C depend on lamin A for localization at the nuclear envelope [J]. *J Cell Sci*, 2001, 114(14): 2577-2290.
- [29] KOBLAN LW, ERDOS MR, WILSON C, *et al.* *In vivo* base editing rescues Hutchinson-Gilford progeria syndrome in mice [J]. *Nature*, 2021, 589(7843): 608-614.
- [30] PANZETTA V, FUSCO S, NETTI PA. Cell mechanosensing is regulated by substrate strain energy rather than stiffness [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(44): 22004-22013.
- [31] BERDYEVA TK, WOODWORTH CD, SOKOLOV I. Human epithelial cells increase their rigidity with ageing *in vitro*: Direct measurements [J]. *Phys Med Biol*, 2005, 50(1): 81-92.
- [32] GU W, BAI X, REN K, *et al.* Mono-fullerenols modulating cell stiffness by perturbing actin bundling [J]. *Nanoscale*, 2018, 10(4): 1750-1758.
- [33] GU W, CHEN K, ZHAO X, *et al.* Highly dispersed fullereneols hamper osteoclast ruffled border formation by perturbing Ca<sup>2+</sup> bundles [J]. *Small*, 2018, 14(48): e1802549.
- [34] CANTWELL H, NURSE P. Unravelling nuclear size control [J]. *Curr Genet*, 2019, 65(6): 1281-1285.
- [35] WANG YH, TAO YC, WU DB, *et al.* Cell heterogeneity, rather than the cell storage solution, affects the behavior of mesenchymal stem cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2021, 12(1): 391.
- [36] ULLMANN U, IN'T VELD P, GILLES C, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition process in human embryonic stem cells cultured in feeder-free conditions [J]. *Mol Hum Reprod*, 2007, 13(1): 21-32.
- [37] NEUROHR GE. Excessive cell growth causes cytoplasm dilution and contributes to senescence [J]. *Cell*, 2019, 176(5): 1083-1097.
- [38] DOU Z, GHOSH K, VIZIOLI MG, *et al.* Cytoplasmic chromatin triggers inflammation in senescence and cancer [J]. *Nature*, 2017, 550(7676): 402-406.
- [39] SRIVASTAVA LK, JU Z, GHAGRE A, *et al.* Spatial distribution of lamin A/C determines nuclear stiffness and stress-mediated deformation [J]. *J Cell Sci*, 2021, 134(10): jcs248559.
- [40] ROGERSON C, WOTHERSPOON DJ, TOMMASI C, *et al.* Akt1-associated actomyosin remodelling is required for nuclear lamina dispersal and nuclear shrinkage in epidermal terminal differentiation [J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(6): 1849-1864.