

# 基底硬度和表面形貌对细胞生物学行为的影响

王红兵\* 林雨 杨力 邹小兵<sup>1</sup> 吴泽志

(重庆大学生物工程学院,<sup>1</sup>化学化工学院, 重庆 400044)

**摘要** 基底的物理硬度和表面形貌对锚着细胞的生物学行为有着深远的影响。生长在不同硬度基底的细胞其形态特征、粘着斑装配、细胞骨架状态都有很大差别。此外硬度梯度和各向异性可以诱导细胞定向迁移和生长, 这些行为在许多病理生理过程中起到关键性作用, 如组织发育、纤维化病变、肿瘤转移等。本文总结了近些年来有关方面的研究进展, 重点讨论了基底硬度在细胞表型、组织稳定性维持方面的作用, 并且对有关的信号转导机制进行了概述。

**关键词** 基底硬度; 表面形貌; 细胞表型; 力学信号转导

细胞是生命体的结构与生命活动的基本单位, 它们的生理活动决定着整个机体的命运。生物体无疑是宇宙中最为繁杂的结构体系, 从细胞到组织再到器官, 它们是如何组装, 如何严格有序地执行功能, 对于人们来说仍然是一个迷。就细胞而言, 人们已经知道其绝大部分细胞器, 对各种细胞器的组成也研究到了分子层面, 但是对于从胚胎发育到各种生理、病理过程中的很多细胞行为还无法解释, 特别是当把细胞培养在体外时, 它们的行为与在生物体内大相径庭。

因此, 无论是微小的细胞还是庞大复杂的有机体, 仅仅知道它们的构造, 而不知道其运行规律, 对于人们真正认识生命现象的本质还相差甚远<sup>[1]</sup>。目前, 组织工程学正面临着严峻的困扰, 人们可以设计出与生物体内结构相似的组织与器官, 也能够将相同的细胞接种其中, 但却无法得到有功能的实体。直到近二十年, 科学家们发现了细胞的力学响应, 揭开了细胞生物学研究崭新的一页。许多实验表明, 细胞锚着环境的物理特性如硬度与表面形貌等对细胞行为有着重要和复杂的影响, 它们决定着细胞在组织内的定位以及多细胞组织化过程中细胞连结的形成与表型维持, 甚至决定着干细胞分化的命运<sup>[2]</sup>。随着相关研究结果的报道, 细胞微观力学环境对细胞功能的影响逐渐被人们认识。

## 1 细胞迁移和表型对基底硬度的依赖

### 1.1 基底硬度对细胞形态和运动的影响

细胞和其锚着基底相互作用产生两种不同但共存的信号机制, 即依赖于基底生物学刺激的连接诱导信号和依赖于基底力学刺激的牵引诱导信号。细胞

迁移和形态在很大程度上受到基底物理特性如硬度的影响。最早见到的有关研究是将 3T3 成纤维细胞培养于硬度可调的聚丙烯酰胺薄膜上<sup>[3]</sup>, 实验中制备的薄膜具有一定硬度梯度, 即同一张薄膜从一边到另一边硬度递增。当接种 3T3 细胞后发现, 细胞从软的一边自动向硬的一边迁移。为了进一步验证这一结论, 实验者使用非常小的微针插入细胞附近的基底膜中, 拉紧基膜时(基膜局部变硬), 细胞会向微针方向迁移; 相反, 松弛基膜时(基膜局部变软), 细胞向相反的方向移动。这些细胞行为似乎是比较容易理解的: 硬质基底不容易形变, 能够更好的支持细胞收缩。同时, 在有硬度梯度的基膜上, 细胞与硬的一边粘附更牢, 因此细胞易被从软的一边“拉”过来。

细胞对硬度响应的另一种行为是细胞出现的分支情况: 试验中细胞倾向于在硬质基底产生更多分支<sup>[4-6]</sup>, 这类细胞多为成纤维细胞或上皮细胞; 而在另一些试验中, 细胞在软质基底上产生更多分支, 这类细胞主要是神经细胞<sup>[7-9]</sup>。细胞在不同基底上产生的分歧显得匪夷所思, 似乎细胞对基底硬度的响应与细胞自身的某些特殊性质直接相关。针对这些现象, Chiang 等<sup>[10]</sup>建立了一个数学模型, 对此进行深入剖析。模型中, 在细胞和其锚着基底组成的体系中存在两种能, 一种是细胞骨架收缩产生的应变能, 一种是基底和细胞相互作用的界面能, 同时, 系统的总自由能等于界面能和应变能之和。将这些关系列出方程进行计算, 得出体系的总自由能是基底硬度与细胞硬度比值的函数。众所周知, 任何体系都倾向于达成

收稿日期: 2008-12-10 接受日期: 2009-07-20

国家自然科学基金资助项目(No.30870608)

\* 通讯作者。Tel: 023-66885061, E-mail: whbdzx@yahoo.com.cn

自由能最小, 而在这个模型当中, 在细胞硬度和基底硬度相等的情况下达到最小值, 也就是说细胞也更青睐于和自身硬度相当的基底环境。在前面提到的两组实验中, 前者是成纤维细胞和上皮细胞, 它们相对硬度较大, 因此基底越硬则分支越多; 而神经细胞则相对比较软, 它们在更软的环境中就显得更加活跃。基于此, 还可以推论, 诸如像神经细胞这样较软的细胞在具有硬度梯度的基膜上应该向更软的一边迁移, 但这一现象尚且没有观察到。

事实上, 该模型中细胞被理想化为匀质弹性体, 而真实的细胞并不是模型中那样, 更重要的是细胞是有生命的有机体, 它们在不同硬度基底上的响应不是单纯的力学响应, 而是涉及到许多基因表达的适应性调节行为。因此这一模型还有待进一步完善, 还不能全面和深入揭示细胞对基底硬度响应的本质原因。但是该模型可以解释许多与细胞力学响应相关的病理生理现象, 因此对某些病变形成的机制研究具有重要的参考价值。

## 1.2 基底硬度对骨架装配和细胞表型的影响

形态决定功能, 基底硬度对细胞生物学行为的影响不仅体现在细胞形态学, 它更影响着细胞表型的维持和组织化重建等生物学过程。

细胞表型是建立在单个细胞通过高度组织化形成的细胞社会集合体之上的, 在这一组织化群体中细胞具有特定的形态和连结方式, 并由此支持细胞的特定功能。因此对细胞形态和细胞间连结关系的维持, 就是对细胞表型的维持。细胞形态受下列因素的影响: (1) 细胞与基底粘附点的数量(与受-配体密度相关); (2) 细胞与基底粘附点的分布(基底表面形貌影响粘附点的空间关系); (3) 基底顺应性即硬度(影响细胞骨架装配和构象); (4) 细胞间连结方式。

细胞微环境的物理特性与调节多细胞组织化的形成相关。有实验显示, 接种于不同硬度基底膜上的细胞集群表现出完全不同的行为。培养于软质基底上的细胞容易形成类似组织的三维集落; 而硬质基底上的细胞则比较分散, 各自铺展<sup>[11]</sup>。Reinhart-King等<sup>[12]</sup>的实验进一步证实了这一结果, 他们将血管内皮细胞接种于不同硬度的聚丙烯酰胺薄膜上, 实验中观察到, 较软基底上, 细胞之间一旦接触就会形成稳定的连接, 不再分开; 较硬基底上的细胞保持接触倾向的机率非常低; 而在处于两者之间硬度的基底膜上, 细胞接触与分离反复进行。进一步的研究发现, 细胞粘附于基底上之后, 由于细胞牵引力的作用会在基底

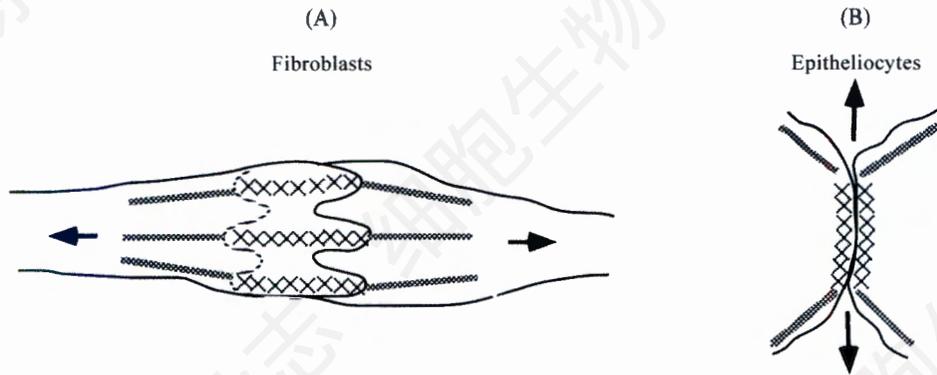
上形成应力梯度, 这种影响会随基底硬度的增加而减弱。有趣的是, 在中等硬度的基底上再三接触分离的两个细胞始终活动在对方牵引力的影响范围之内。

实验数据表明, 细胞形态、胞内骨架和粘着斑装配都直接受到基底硬度的调节: 在硬质基底上, 细胞铺展面积大, 应力纤维粗而呈张紧状, 粘着斑紧密且装配完善; 而在软质基底上细胞的表现则截然相反, 它们的铺展面积小, 趋近于圆形, 细胞骨架和粘着斑装配都不够完善<sup>[13~18]</sup>。同时, 锚着生长的融合细胞, 其相邻细胞间的连接与细胞对基底的粘附存在竞争关系, 而竞争结果则取决于细胞与基底的相对硬度: 基底越硬, 细胞越容易与基底粘附; 反之, 则更倾向于形成稳定的细胞连接, 而装配较弱的黏着斑。

这些实验说明, 细胞与细胞的相互作用不仅仅受其分泌的化学信号调控, 细胞之间还可以通过力学信号产生相互影响, 当细胞通过粘着斑与基底建立起力学偶联后, 基底硬度最终决定了细胞与细胞之间力学通信过程中的骨架动力学变化。而骨架动力学变化又与细胞形态和细胞间连结关系的建立直接相关。细胞形态是细胞内部力学平衡所决定的, 基底力学特性通过影响细胞与细胞, 以及细胞与基底相互作用的力学平衡, 从而影响了细胞表型。

细胞表型的改变在许多生理、病理过程中起到重要作用。尤其在组织纤维化病变成因研究中, 基底物理性状变化与细胞表型改变的相关关系已开始引起研究者关注。Li等<sup>[19]</sup>在不同硬度聚丙烯酰胺膜上诱导肝门成纤维细胞转型为肌纤维母细胞, 结果发现, 在同样化学因素作用下, 越硬的基底上细胞表型转化程度越高。具体表现为 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白和胶原表达量增加。在肝纤维化病变过程中胞外基质大量堆积, 组织硬度进行性增加, 这种基质环境的改变也势必进一步影响病变局部细胞的生物学行为。组织病理学检测显示纤维化病变组织内原有的上皮细胞发生表型转化, 演变为纤维样细胞。

纤维样细胞和上皮样细胞不仅仅是形态和分泌表型的差别, 更重要的是其细胞连接方式存在不同。Gloushankova等<sup>[20]</sup>在观察细胞相互作用过程中两细胞前导簿层互相碰撞时, 检测了细胞骨架和粘附分子动力学, 并总结出成纤维样细胞和上皮样细胞实现接触抑制和建立细胞连结的不同肌动蛋白模型, 如图1所示: 图1A是成纤维样细胞连接模式, 图1B是上皮样细胞连接模式。在成纤维样细胞连接中, 相邻细胞的骨架形成“桥式”对接, 这种连接有赖于细胞



**Fig.1 Schematic representation of the two mechanisms of cell-cell contact formation** [20]

A: in fibroblasts and fibroblast-like cells, cell-cell interaction results in overlapping of the lamellae of contacting cells. Centripetal tension (arrows) from acto-myosin bundles (gray lines) in the cell body leads to retraction of overlapping lamellae. As a result of retraction, cell adhesion molecules in the area of the cell-cell contact (crosses) are aligned into thin strands oriented along the cell axis. B: in epitheliocytes, cell-cell contacts expand laterally, and this expansion is likely to be driven by tension (arrows) generated along marginal actin bundles (gray lines) at the edges of the contact. Lateral, rather than centripetal, direction of tension forces also results in tangential orientation of cell adhesion molecules in epitheliocytes.

骨架产生平行于细胞的收缩力。而在上皮样细胞连接中,相邻细胞之间形成边界紧密接触的连接方式,细胞骨架的切向应力是维持这种连接的关键,它有助于增加细胞直接接触的面积。应该注意的是,维持两种连接形式的关键在于细胞骨架应力不同,而应力作用的方向与大小一方面与细胞种类相关,另一方面又决定于细胞生长环境的物理特性。

本实验室在不同硬度聚丙烯酰胺薄膜上培养肝细胞发现,软膜(2 Pa)上肝细胞呈聚集分布,细胞长轴取向与相邻细胞间连接取向一致,细胞铺展被约束在细胞两缘接触区域,且E-钙粘素表达上调,并在细胞间接触区域有聚集分布倾向;硬膜(5.5 kPa)上细胞铺展充分、细胞核较大,细胞突起多,分支端对端交织形成高张力状的细胞间连接,5.5 kPa膜上细胞F-actin的荧光表达强度高于2 Pa膜上细胞,以上结果提示硬膜上生长的肝细胞其连结方式有向成纤维样连结转化的倾向(待发表)。但为什么基底硬度改变会诱导细胞连结形式从上皮样连结转化为成纤维样连结,也即基底硬度增大为什么会破坏上皮间连结,促使细胞形成成纤维样连结的原因还有待进一步研究。

## 2 基底各向异性微结构对细胞定位和定向生长的影响

细胞可以感知基底的硬度梯度,并可以从软的一边迁移到硬的一边。同时,很多实验证实单方向力

学加载诱导细胞取向调整[21~23]。这些实验说明细胞对物理刺激的方向性同样敏感。Saez等[24]通过非常巧妙的实验设计诱导出细胞依赖于基底硬度变化的定向迁移,他们采用微观蚀刻和印章技术制备出表面布满微型柱子的聚二甲基硅氧烷(PDMS)基膜。这些柱子横截面是椭圆形的,椭圆具有长轴和短轴,对于单个微柱来说,沿长轴方向的硬度要大于沿短轴方向的硬度。那么整齐均匀排列的微柱就形成了一个硬度各向异性的表面,在这个表面上,从0度到90度的各个方向上随着角度的变化硬度都不相同,实验者将上皮细胞接种在这种材料上,结果发现,细胞取向总是沿着硬度最大的方向,迁移轨迹也是以沿着硬度最大方向为主。不仅如此,细胞的分裂方向也与硬度最大方向重合。除上皮细胞外,成纤维细胞和平滑肌细胞在此类基底上都有相似表现,神经细胞形成突触的方向也受基底表面形貌的诱导[25,26]。

Xia等[27]对细胞在各向异性基底上的响应方式做出了解释,他们将3T3细胞培养在圆形或线形基质岛上,这些岛是用微观-蚀刻技术制造的,宽1 μm,长度从1~8 μm不等,分散间隔为1~4.5 μm宽,中间是不能粘附的区域。通过改变岛内空间或相似大小的形状来使细胞以一种特定的方向铺展和迁移。活细胞中Rac荧光共振能量转移(FRET)分析表明当胞膜周边在新的基质岛上扩张粘附2 min后Rac就被激活,而细胞从一个岛向另一个岛铺展时,这个激活波呈有方向的向外传播。计算机分析说明细胞可能通过探测基底的物理特性,并通过调控粘附斑和激活Rac来

影响新的膜突触产生,从而控制细胞迁移方向。这就是说基底各向异性提供了持久的力学刺激信号,以引导细胞迁移。而基底各向异性对不同细胞的有序定位也是至关重要的,生物组织内细胞的有序定位是实现功能的基础,细胞杂乱无章的排列势必造成组织功能丧失,故细胞锚着基底的有序性,也即其各向异性破坏将严重影响损伤修复时组织细胞的重建过程和最终结果。与之相反,恶性肿瘤等变异细胞丧失了对基底各向异性的识别和响应,有实验显示<sup>[28]</sup>,将肿瘤细胞接种于各向异性基底上,它们的取向和迁移方向调整均不明显,这与正常细胞的响应截然不同。变异细胞对位置信息的“认知”能力下降,这在某种程度上解释了癌细胞恶性转移的原因。

### 3 细胞对基底硬度响应的可能机制

细胞对物理环境的响应归根结底还是对力学刺激响应,其中的关键问题是力学信号如何转换为生物学信号,即力-化学偶合的实现。细胞对基底硬度的响应过程可能涉及到细胞内部的两种复合物,其中复合物1,一般由整合素(integrin)和受体型酪氨酸磷酸酶- $\alpha$  (receptor-like protein tyrosine phosphatase- $\alpha$ , RPTP- $\alpha$ )等聚集成,并与细胞骨架和胞外配基相连,因此它可以随细胞骨架移动;而复合物2,可由Fyn激酶等多个元件构成,则只与一些胞外位点结合,它们始终保持静止状态。当细胞骨架产生收缩时,会拉动复合物1移动,由于它与胞外配基相连,移动的距离取决于胞外基底的硬度,基底越硬移动距离越短。这种距离上的差异将决定复合物1中蛋白质折叠方式、隐含肽段是否能展开,以及复合物1和复合物2能否接触而发生特定的催化反应,并将信号逐级传递下去。如图2<sup>[29]</sup>所示。

基质硬度可以调节细胞骨架张力,并藉此通过整合素调节胞内信号分子的活性。有研究表明,肿瘤细胞内存在由胞外基质硬度增加而引发的信号反馈循环:基质硬度增加激活整合素,进而刺激Rho活性增加,Rho藉由其受体蛋白ROCK激活肌球蛋白轻链激酶(MLCK),从而增强细胞收缩,细胞收缩力增加又将进一步影响胞外基质硬度,造成信号的循环作用。其中Rho和ROCK活性增强将通过影响Ras和Erk(胞外信号调节激酶)相关信号通路,影响细胞生长以支持肿瘤的恶性增殖。如图3所示<sup>[30]</sup>。

类似的反馈循环也见于正常细胞中<sup>[31]</sup>,细胞张力可以直接影响Rho和ROCK的偶联,从而影响细胞的

各种行为,同时也有研究显示在硬度较高基底上3T3细胞表现出收缩力和增殖活性的增强<sup>[32]</sup>。但正常细胞的增殖行为和肿瘤细胞的恶性增殖是截然不同的,它们增殖行为上的差异可能取决于正常细胞的“接触抑制”行为。正常细胞在融合状态后会形成稳定连接,于一定程度上抵消了细胞骨架内的收缩力,从而终止了上述反馈循环而使其重新达到了一个稳定状态。

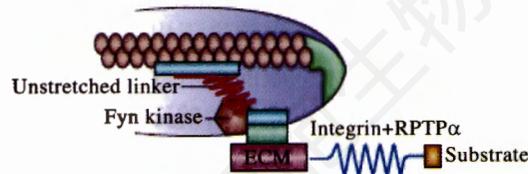
跨膜受体整合素及粘附复合物使细胞、细胞骨架和胞外基质形成一个相互连结的大骨架系统,细胞的力学信号转导以这一结构网络为载体,其特殊的性质和作用方式赋予了这种转导方式如下特点:其一,骨架网络具有对细胞内外应力进行传递和分散的作用,而应力分布呈现的区域化特征,使细胞不同区域相关信号强度不均一;其二,骨架网络在传递细胞内外应力的过程中,通过胞内外骨架协同重组可对外力进行平衡,最终使骨架动力学变化整合为细胞张力水平,细胞张力水平变化又可通过对胞内信号分子的活性调控,而影响细胞行为的各个方面;其三,因许多酶和控制蛋白质合成、能量转换及细胞生长的物质都是以物理方式被固定在细胞支架上,因此改变细胞的几何形状和骨架受力状态就可影响胞内信号分子的活性,使细胞即时做出响应,故细胞力学信号的直接传递作用应快于对生化信号的响应。

### 4 小结与展望

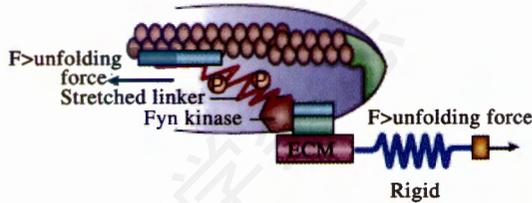
基底硬度对细胞生物学行为的影响是非常广泛的,从细胞迁移、取向定位、到生长增殖和分化表型。这些行为在各种病理、生理过程中的作用是不言而喻的。从某种意义上讲,细胞锚着的胞外基质就是细胞骨架的延伸,由整合素和衔接蛋白介导,在细胞外基质与细胞微丝系统之间提供了物理连接和调控的联系。细胞外基质与细胞微丝系统之间经常处于不断调整和重排过程中,细胞调整内部刚度以期与它们的锚着基底相匹配。在某些疾病中基质硬度的改变既是病变发展的结果,与此同时基质硬度的改变也很可能是这些疾病发生、发展的诱因。因此,对该研究方向开展研究将对相关疾病的诊断、预防和治疗对策的制定具有积极的推动作用。

细胞力学响应机制的研究是目前该领域研究的热点,一方面新的力学响应信号分子及其信息转导过程被发现,另一方面众多实验结果间的内在联系还不够明确,甚至存在矛盾,解决这些问题并推动这一研究

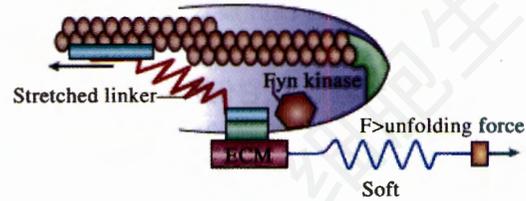
(a) Rigid or soft surface, resting state



(b) Rigid surface, linker phosphorylated

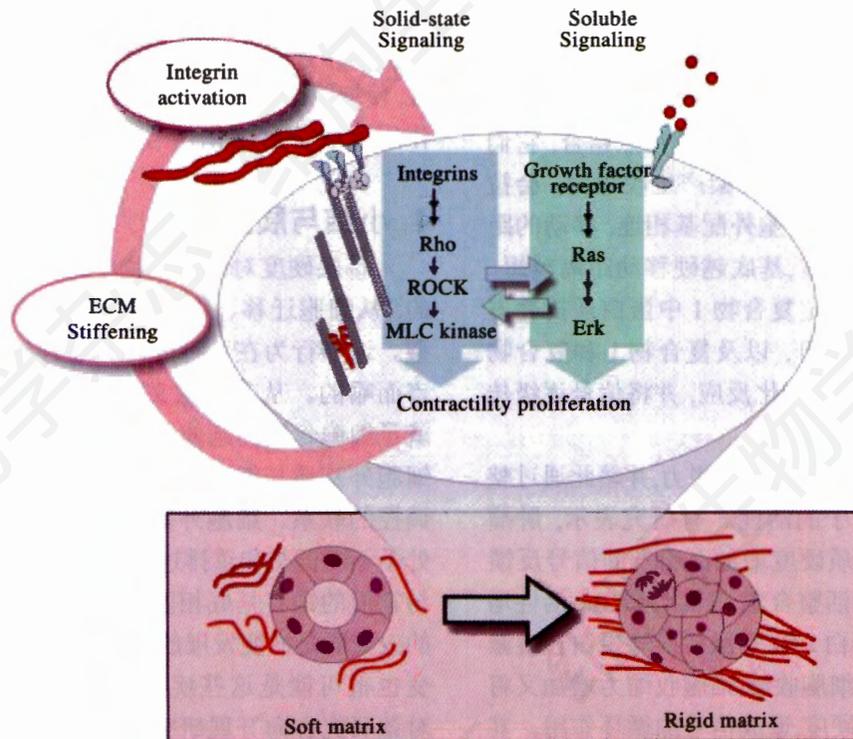


(c) Soft surface, linker not phosphorylated



**Fig.2 Mechanisms of rigidity sensing.** These panels illustrate the position-dependent mechanism of rigidity sensing <sup>[29]</sup>

a: the crucial feature in such a model is that the enzyme, Fyn, and the substrate to be activated by stretch (kinase and substrate in this example) move relative to one another by actin rearward transport. b: if the surface is hard, the components would be close enough for modification to occur (causing small displacement). c: if the surface is soft, then enzyme and substrate would be separated before force could activate the reaction (in this case phosphorylation of the linker; causing large displacement). Contractile activity in a soft tissue could make it seem hard, because an external pull on the integrin before it moves significantly will cause unfolding while the substrate and enzyme are still close together. A time-dependent mechanism would be similar except that activity, rather than position, would be force-dependent with a biphasic response. The velocity of the cytoskeleton contraction would define the time window of the relevant activity in that model.



**Fig.3 A mechanical autocrine loop that may contribute to cancer development** <sup>[30]</sup>

Increases of rigidity in the matrix that better resist cell tensional forces activate integrins, promote focal adhesion assembly, and stimulate the Rho/ROCK pathway which enhances cell contractility, thereby further increasing matrix stiffness. Because of the crosstalk between the integrin/Rho pathway and the canonical growth factor receptor/Erk mitogenic signaling cascade, this self-sustaining positive feedback loop may stabilize the undifferentiated proliferative phenotype of mammary epithelial cancer cells and lead to neoplastic disorganization of tissue architecture.

方向的发展,有赖于更完善的研究模型的建立和相关检测技术的不断改进。其中,模拟基质硬度的基底膜制备及其力学性状定量检测是最为关键的。目前采用的材料主要是聚丙烯酰胺和胶原凝胶等。这些材料都存在缺陷,比如聚丙烯酰胺凝胶具有一定的细胞毒性,同时如何稳定控制其吸水后的弹性模量也是不容忽视的问题;而由胶原等生物活性物质制备的凝胶,则由于其本身就是胞外基质成分而对实验结果造成一定干扰。对基底膜形貌进行严格控制的表面微加工技术还比较简单,不能充分满足实验需要,因此对支持该方向的研究也有很大的局限性。但随着细胞培养技术和材料科学的发展,新的二维、三维培养模型的建立,细胞力学响应研究将不断深入,并会对现代生物学和医学的发展做出重要贡献。

### 参考文献(References)

- [1] Ingber DE. The architecture of life, *Sci Am*, 1998, 278(1): 48-57
- [2] Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, et al. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification, *Cell*, 2006, 126(4): 677-689
- [3] Lo CM, Wang HB, Dembo M, et al. Cell movement is guided by the rigidity of the substrate, *Biophys J*, 2000, 79(1): 144-152
- [4] Pelham RJJ, Wang Y. Cell locomotion and focal adhesions are regulated by substrate flexibility, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(25): 13661-13665
- [5] Yeung T, Georges PC, Flanagan LA, et al. Effects of substrate stiffness on cell morphology, cytoskeletal structure, and adhesion, *Cell Motil Cytoskeleton*, 2005, 60(1): 24-34
- [6] Wang N, Ingber DE. Control of cytoskeletal mechanics by extracellular matrix, cell shape, and mechanical tension, *Biophys J*, 1994, 66(6): 2181-2189
- [7] Balgude AP, Yu X, Szymanski A. Agarose gel stiffness determines rate of DRG neurite extension in 3D cultures, *Biomaterials*, 2001, 22(10): 1077-1084
- [8] Flanagan LA, Ju YE, Marg B, et al. Neurite branching on deformable substrates, *Neuroreport*, 2002, 13(18): 2411-2415
- [9] Georges PC, Miller WJ, Meaney DF, et al. Matrices with compliance comparable to that of brain tissue select neuronal over glial growth in mixed cortical cultures, *Biophys J*, 2006, 90(8): 3012-3018
- [10] Ni Y, Chiang MYM. Cell morphology and migration linked to substrate rigidity, *Soft Matter*, 2007, 3: 1285-1292
- [11] Guo WH, Frey MT, Burnham NA, et al. Substrate rigidity regulates the formation and maintenance of tissues, *Biophys J*, 2006, 90(6): 2213-2220
- [12] Reinhart-King CA, Dembo M, Hammer DA. Cell-cell mechanical communication through compliant substrates, *Biophys J*, 2008, 95(12): 6044-6051
- [13] Discher DE, Janmey P, Wang YL. Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate, *Science*, 2005, 310(5751): 1139-1143
- [14] Georges PC, Janmey PA. Cell type-specific response to growth on soft materials, *J Appl Physiol*, 2005, 98(4): 1547-1553
- [15] Solon J, Levental I, Sengupta K, et al. Fibroblast adaptation and stiffness matching to soft elastic substrates, *Biophys J*, 2007, 93(12): 4453-4461
- [16] Schwarz U. Soft matters in cell adhesion: rigidity sensing on soft elastic substrates, *Soft Matter*, 2007, 3: 263-266
- [17] Nicolas A, Besser A, Safran SA. Dynamics of cellular focal adhesions on deformable substrates: consequences for cell force microscopy, *Biophys J*, 2008, 95(2): 527-539
- [18] Wang N, Butler JP, Ingber DE. Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton, *Science*, 1993, 260(5111): 1124-1127
- [19] Li Z, Dranoff JA, Chan EP, et al. Transforming growth factor- $\beta$  and substrate stiffness regulate portal fibroblast activation in culture, *Hepatology*, 2007, 46(4): 1246-1256
- [20] Glouhankova NA, Krendel MF, Alieva NO, et al. Dynamics of contacts between lamellae of fibroblasts: essential role of the actin cytoskeleton, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(8): 4362-4367
- [21] Kong D, Ji B, Dai L. Stability of adhesion clusters and cell reorientation under lateral cyclic tension, *Biophys J*, 2008, 95(8): 4034-4044
- [22] Lee EJ, Holmes JW, Costa KD. Remodeling of engineered tissue anisotropy in response to altered loading conditions, *Ann Biomed Eng*, 2008, 36(8): 1322-1334
- [23] Haghighipour N, Tafazzoli-Shadpour M, Shokrgozar MA. Topological remodeling of cultured endothelial cells by characterized cyclic strains, *Mol Cell Biomech*, 2007, 4(4): 189-199
- [24] Saez A, Ghibaudo M, Buguin A, et al. Rigidity-driven growth and migration of epithelial cells on microstructured anisotropic substrates, *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(20): 8281-8286
- [25] Abolfathi N, Naik A, Sotudeh CM. A micromechanical procedure for modelling the anisotropic mechanical properties of brain white matter, *Comput Methods Biomech Biomed Engin*, 2008, 10: 1
- [26] Musoke-Zawedde P, Shoichet MS. Anisotropic three-dimensional peptide channels guide neurite outgrowth within a biodegradable hydrogel matrix, *Biomed Mater*, 2006, 1(3): 162-169
- [27] Xia N, Thodeti CK, Hunt TP, et al. Directional control of cell motility through focal adhesion positioning and spatial control of Rac activation, *FASEB J*, 2008, 22(6): 1649-1659
- [28] Tzvetkova-Chevolleau T, Stéphanou A, Fuard D, et al. The motility of normal and cancer cells in response to the combined influence of the substrate rigidity and anisotropic microstructure, *Biomaterials*, 2008, 29(10): 1541-1551
- [29] Vogel V, Sheetz M. Local force and geometry sensing regulate cell functions, *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7(4): 265-275
- [30] Huang S, Ingber DE. Cell tension, matrix mechanics, and cancer development, *Cancer Cell*, 2005, 8(3): 175-176
- [31] Bhadriraju K, Yang M, Alom RS, et al. Activation of ROCK by RhoA is regulated by cell adhesion, shape, and cytoskeletal tension, *Exp Cell Res*, 2007, 313(16): 3616-3623
- [32] Ghosh K, Pan Z, Guan E, et al. Cell adaptation to a physiologically relevant ECM mimic with different viscoelastic properties, *Biomaterials*, 2007, 28(4): 671-679

## Substrate Rigidity and Surface Topography Affect Cell Behaviors

Hong-Bing Wang\*, Yu Lin, Li Yang, Xiao-Bing Zou<sup>1</sup>, Ze-Zhi Wu

(College of Bioengineering, <sup>1</sup>College of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

**Abstract** Mechanical rigidity and surface morphology of the substrate have great impact on the biological behavior of the anchoring cell. Cell morphology, focal adhesion assembly as well as cytoskeleton organization have been shown to differ when cells were cultured on substrate with different stiffness. Furthermore, anisotropic substrates with stiffness gradients induced directed migration of the cells. These behaviors may play important roles in physiological and pathologic processes, such as tissue development, fibrosis and tumor metastasis. This review summarizes the progresses on this topic during the past few years. Focus was placed on the role of substrate rigidity on the maintenance of cell phenotype and tissue organization, as well as the relevant signaling mechanisms.

**Key words** substrate rigidity; surface morphology; cell phenotype; mechanical signaling

---

Received: December 10, 2008      Accepted: July 20, 2009

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30870608)

\*Corresponding author. Tel: 86-23-66885061, E-mail: whbdzx@yahoo.com.cn