

文章编号:1004-7220(2020)02-0247-06

# 整合素传递力学信号影响间充质干细胞分化的研究进展

李 扬<sup>1</sup>, 杨 旺<sup>1</sup>, 张泽洋<sup>1</sup>, 王璐瑶<sup>1</sup>, 李美英<sup>2</sup>, 李玉林<sup>2\*</sup>, 李莉莎<sup>2\*</sup>

(吉林大学 1. 白求恩医学部; 2. 基础医学院, 病理生物学教育部重点实验室, 长春 130000)

**摘要:**简述硬度的可控性及其控制方法、不同硬度调控间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)分化的相应方向和整合素在硬度调控 MSCs 分化的信号通路中的作用。其中,重点说明整合素在硬度调控 MSCs 分化的信号通路中的作用。硬度调控 MSCs 分化的信号通路包括:Rho/ROCK 信号通路、整合素/FAK 信号通路、ERK 信号通路、JNK 信号通路、Wnt- $\beta$ -catenin 信号通路和 PI3K/Akt 信号通路等。而整合素作为跨膜异二聚体糖蛋白,参与部分信号通路传递力学信号给 MSCs。不同的整合素家族参与不同的信号通路来调控 MSCs 向不同方向分化,且这些信号通路间存在相互影响。研究结论为组织修复、器官再造和再生医学等方面的应用提供理论依据。

**关键词:**整合素; 力学信号; 硬度; 间充质干细胞; 细胞分化

中图分类号: R 318.01 文献标志码: A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2020.02.019

## Advances in Effects of Integrin Signaling on Mesenchymal Stem Cell Differentiation

LI Yang<sup>1</sup>, YANG Wang<sup>1</sup>, ZHANG Zeyang<sup>1</sup>, WANG Luyao<sup>1</sup>, LI Meiyong<sup>2</sup>, LI Yulin<sup>2\*</sup>, LI Lisha<sup>2\*</sup>

(1. Department of Bethune Medicine; 2. The Key Laboratory of Pathobiology, Ministry of Education, College of Basic Medical Sciences, Jilin University, Changchun 130000, China)

**Abstract:** The controllability of hardness and its control method, the corresponding direction of differentiation of mesenchymal stem cells (MSCs) regulated by different hardness, and the role of integrin in the signaling pathway through which hardness regulates MSCs differentiation were briefly described in this paper. Among them, the role of integrin in the signaling pathway of hardness regulation of MSCs differentiation was highlighted. Signal pathways in which hardness regulates MSCs differentiation include Rho/ROCK signal pathway, integrin/FAK signal pathway, ERK signal pathway, JNK signal pathway, Wnt-catenin signal pathway and PI3K/Akt signal pathway, etc. Integrin, as a transmembrane heterodimer glycoprotein, participates in part of the signal pathway to transmit mechanical signals to MSCs. Different integrin families participate in different signaling pathways to regulate the differentiation of MSCs in different directions, and there are certain mutual influences among these signaling pathways. The research findings provide a theoretical basis for the application of tissue repair, organ reconstruction and regenerative medicine.

**Key words:** integrin; mechanical signals; hardness; mesenchymal stem cells; cell differentiation

收稿日期:2018-11-11; 修回日期:2019-01-18

基金项目:国家自然科学基金项目(81572139),吉林省科技厅优秀青年人才基金项目(20190103094JH)

通信作者:李莉莎,副教授,E-mail: lilisha@jlu.edu.cn;李玉林,教授,E-mail: ylli@jlu.edu.cn

\* 为共同通信作者

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)也称多能干细胞,来源于中胚层,是一种具有自我更新和多向分化潜能的多能细胞。MSCs 几乎存在于所有类型的组织中,是基质细胞的起源细胞。MSCs 最早于 1987 年被研究者在骨髓中发现并成功分离培养。MSCs 不仅可分化为不同类型的细胞,如脂肪细胞、骨细胞、软骨细胞等;而且还能提供有益的免疫因子,并能分泌胞外膜泡(主要包括外泌体和微泡)。这些胞外膜泡具有调控免疫反应、减轻氧化应激和组织纤维化等作用,因而在移植抗宿主反应、癌症治疗、急性心梗、肝脏疾病以及皮肤损伤修复等方面都发挥了重要作用<sup>[1-2]</sup>。

Pelham 等<sup>[3]</sup>首先研究了硬度对细胞行为的影响,并发明了由聚丙烯酰胺构建硬度,以用于细胞培养的力学研究,并了解硬度如何调节细胞黏附和转移。近年来,有大量文献报道了不同硬度可诱导 MSCs 向不同方向分化,并发现 MSCs 可针对具有不同物理性质的化学惰性材料产生不同力学信号。实际上,影响力学信号的因素不仅局限于细胞外基质(extracellular matrix, ECM)硬度,还包括黏弹性、表面形态、张力等物理性质,例如:

(1) 可通过直接或间接修饰整合素配体,从而调控 ECM 与细胞黏附的程度。Engler 等<sup>[4]</sup>利用 I 型胶原修饰聚丙烯酰胺凝胶不仅模拟出不同硬度的 ECM,而且还可改变提供细胞黏附位点的密度。此外,带有孔径的 ECM 可使细胞存在于孔径内,从而有利于培养 3D 细胞。

(2) 具有特殊表面形态的 ECM。Rosa 等<sup>[5]</sup>刻出具有纳米颗粒的特殊结构,以探究 MSCs 的成骨分化。

(3) 可控制整合素配体-ECM 材料间长短的 ECM。Wong 等<sup>[6]</sup>利用磁力珠改造细胞黏附配体,控制 ECM-RGD 序列间长度,进而改变整合素配体-ECM 材料间的可变量。

(4) 对 ECM 外加辅助调控。可通过对 ECM 不同轴线加用低强度的振动控制细胞感受 ECM 的信号,进而调控细胞的生命活动<sup>[7]</sup>。

## 2 硬度

定义硬度的现行标准为 JJF 1011-2006《力值与

硬度计量术语及定义》,该标准将硬度定义为“材料抵抗弹性变形、塑性变形、划痕或破裂等一种或多种作用的能力”。人体内不同部位的组织具有不同的硬度,像脑组织伸展或剪切所需的应力很小,组织柔软,故其弹性模量较低( $E < 1$  kPa),而刚硬的钙化骨的弹性模量要比脑组织高几个数量级( $E > 1$  GPa)。人体内所有其他固体组织都处于这两个极端之间<sup>[8]</sup>(见图 1)。ECM 决定了组织硬度。胶原是 ECM 硬度的重要决定成分,而 ECM 中最丰富的胶原是 I、II、III 型胶原。研究发现,ECM 硬度随着 I 型胶原蛋白浓度的增加呈非线性增加,而随着 III 型胶原蛋白浓度的增加,ECM 刚度则减小<sup>[9-10]</sup>。纤连蛋白是一种高分子量的非胶原性糖蛋白,通过参与胶原纤维的构建,也是 ECM 硬度的重要调节因子<sup>[11]</sup>。

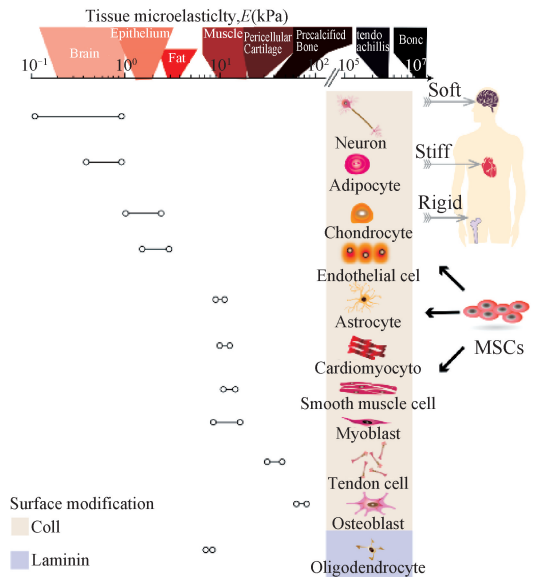


图 1 组织硬度与 MSCs 分化

Fig.1 Tissue stiffness and MSCs differentiation

不同组织具有不同硬度。通过模拟与组织相近的硬度, MSCs 可以被诱导成神经(神经元、星形胶质细胞、少突胶质细胞)、脂肪、软骨、骨、内皮、肌肉(心肌、平滑肌)、肌腱等。目前实验中采用弹性模量来衡量 ECM 硬度。弹性模量是表示材料刚度的数值表达式,是由物质单位面积中的应力与所产生的变形(应变)的比值来定义。因为弹性模量既与待测材料的性质有关,也与测量方法以及测量条件有关,故不同材料的弹性模量范围不

同,其对测量方法的要求也不一样;而相同材料在不同的条件下测量,其弹性模量值也可能不同。由于测量弹性模量的方法各异,依据测量仪器的不同,测量硬度的方法大致可以分为拉伸法、压缩法、压痕法、影像学法(CT或超声)和旋转流变仪法<sup>[12-15]</sup>。

构建硬度的水凝胶(hydrophilic gel)类化学成分主要包括聚丙烯酰胺(polyacrylamide, PAM)、聚苯乙烯、聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)、胶原、琼脂糖凝胶和硅胶等。通过改变不同组分的比例、交联水平、基质浓度和与其他组分的缀合可产生不同的硬度ECM<sup>[16]</sup>。因此,通过控制丙烯酰胺(acrylic amide)与双丙烯酰胺的比例可构建硬度范围从几百Pa到几十万Pa凝胶,该凝胶可真实反映体内细胞生存的硬度。其中,聚丙烯酰胺水凝胶因其具有较高的变形性和广泛的可调控的硬度范围(0.2~35 kPa),实验室中常用聚丙烯酰胺构建细胞培养所需的硬度<sup>[17]</sup>。

### 3 ECM 硬度影响 MSCs 分化

ECM与细胞之间的相互作用可通过调节细胞-基质黏附的程度、黏着斑(focal adhesion, FAs)黏附的大小以及细胞本身所形成的硬度和张力实现。同时,细胞状态的变化可以通过来自细胞微环境的力学信号来调节,例如ECM硬度。附着在ECM上的细胞会产生收缩力导致细胞骨架中拉伸应力的产生<sup>[18]</sup>。有趣的是,这些力与ECM硬度之间的关系对MSCs的分化行为有很大的影响。MSCs是最早用于证明基质硬度对分化有影响的干细胞<sup>[8]</sup>。硬度可决定MSCs的分化谱系:模拟脑组织力学特性的软ECM被发现可诱导MSCs分化成神经细胞,而模拟肌肉的中等硬度的ECM可诱导MSCs分化成肌细胞,而具有与骨骼相似硬度的ECM被发现可诱导MSCs分化成骨细胞;在相应的组织硬度上,MSCs甚至可以发生跨胚层的分化,例如外胚层的神经细胞。同样,实验证明,硬度也可以调节神经干细胞的分化。较软ECM(0.1~0.5 kPa)可促进神经干细胞向神经元细胞分化,而较硬ECM(1~10 kPa)促进神经干细胞向胶质细胞分化。

## 4 整合素在 ECM 硬度调控 MSCs 分化中的作用

### 4.1 ECM 硬度调控 MSCs 分化的信号通路

在MSCs分化之前,MSCs需先在ECM表面黏附。虽然与ECM硬度有关的细胞黏附和扩展发生在短短的1~2 h内,但要发生分化则需更长的时间。对MSCs而言,从ECM到细胞核的力学信号转导过程中需要激活和/或抑制特定的转录程序。将MSCs对ECM硬度产生力学信号传递到细胞核的信号通路主要包括有Rho/ROCK信号通路、TGF- $\beta$ /SMAD信号通路、ERK信号通路、JNK信号通路、Wnt- $\beta$ -catenin信号通路、Hippo信号通路和PI3K/Akt信号通路等<sup>[20]</sup>。

**4.1.1 Rho/ROCK 信号通路** Rho A是GTP酶蛋白家族中的一员,因其参与细胞骨架重建和对肌球蛋白张力具调节作用而闻名。Zhang等<sup>[21]</sup>研究发现,RAC-1、Rho A、ROCK-1和ROCK-2在脂肪干细胞中的mRNA表达量随着ECM硬度的降低而降低。

**4.1.2 TGF- $\beta$ /SMAD 信号通路** 越来越多的证据表明,软骨形成过程中的机械刺激可以改变MSCs的分化过程、ECM沉积和软骨的力学特性。TGF- $\beta$ /SMAD信号通路被分为两支:TGF- $\beta$ /Activin/Nodal分支和BMP/GDP分支。TGF- $\beta$ /Activin/Nodal分支下游的转录因子SMAD 2和SMAD 3通过关节软骨细胞中的TGF- $\beta$ 1或 $\beta$ 3配体/受体结合而显著磷酸化<sup>[22]</sup>。而BMP/GDP分支中Smad 1、SMAD 5和SMAD 8的磷酸化参与了软骨细胞肥大的调控<sup>[23]</sup>。但当MSCs在机械动态培养条件下时,这两条分支间的相互关系尚不清楚<sup>[22]</sup>。

**4.1.3 ERK 信号通路** ERK信号通路在调控包括Runx 2在内的成骨分化的转录和诱导OSX基因表达的过程中起着非常重要的作用<sup>[24-25]</sup>。同时,以往研究表明,BMP信号可以诱导成骨干细胞ERK激活,而ERK激活可增强Runx 2的转录活性<sup>[26]</sup>。

**4.1.4 hippo 信号通路** Kuroda等<sup>[27]</sup>实验证明,长春新蛋白(vinculin)与肌动蛋白结合后,可参与YAP/TAZ的ECM硬度依赖性亚细胞定位并可促进YAP/TAZ在硬ECM上培养MSCs中的活性和核定位,而YAP/TAZ可通过转录激活机制调节ECM硬



度影响 MSCs 分化。当在硬 ECM 上时, YAP/TAZ 优先在细胞核内积累, 并促进 MSCs 成骨分化; 而当在软 ECM 上时, YAP/TAZ 则在胞质内积累<sup>[28]</sup>。

#### 4.2 整合素在 ECM 硬度调控 MSCs 分化的信号通路中的重要作用

整合素是一类通过调节细胞内外信号通路以影响 MSCs 生存、转移和分化的异二聚体。在哺乳动物细胞中, 有 18 个  $\alpha$  亚基和 8 个  $\beta$  亚基, 不同的  $\alpha$  和  $\beta$  亚基组合在一起形成至少有 24 种整合素亚型。下面主要论述整合素在硬度调控 MSCs 分化的信号通路中的而重要作用。

##### 4.2.1 MSCs 通过整合素传导力学信号

整合素作为跨膜糖蛋白, 功能主要是: 一方面, 在胞外, 它可通过特殊的 RGD (Arg-Gly-Asp) 序列与不同的 ECM 蛋白相结合, 如胶原蛋白、纤连蛋白、层黏连蛋白 (laminin)、玻璃黏连蛋白 (vitronectin) 等, 将细胞与 ECM 连接在一起, 维持细胞结构与力学完整性; 另一方面, 在胞内, 它可在黏着斑等处与其他细胞表面分子或细胞因子相互作用, 如踝蛋白 (talin)、扭蛋白 (torsion protein) 和  $\alpha$ -辅肌动蛋白等 ( $\alpha$ -actin) 等, 协调作用介导胞内外信号的传递转导, 从而形成以 ECM-整合素-CSK 为轴心的完整的信息传导网络<sup>[29]</sup>。

整合素与 MSCs 分化有什么关系呢? 当 MSCs 感受 ECM 硬度的力学刺激后, 整合素与 ECM 蛋白相互作用, 发生整合素聚集和蛋白激酶的集合, 然后整合素与其配体形成新的连接, 并向整合素  $\beta$  亚单位胞质内侧的尾部转移, 促成与肌动蛋白的结合, 形成黏着斑。其中, 以整合素为基础的黏着斑激酶 (focal adhesion kinase, FAK) 参与启动多条信号通路<sup>[30]</sup>。黏着斑激酶被整合素激活后即发生自身磷酸化, 从而激活黏着斑处的其他成分, 然后再通过细胞骨架进一步触发胞内的信号传导。有研究表明,  $\text{Ca}^{2+}$  的内流及蛋白激酶 C 活性升高也可进一步活化黏着斑激酶, 诱发整合素介导的下游信号通路<sup>[31]</sup>。而整合素的下游信号通路可进一步激活和/或抑制特定的转录程序来调控 MSCs 分化。

大量实验表明, 机械刺激可影响整合素表达, 而整合素又可以将机械刺激转换为生物力学信号来实现对细胞的分化调控。例如, Olivares-Navarrete 等<sup>[32]</sup> 研究显示, 在一定范围内加强 ECM 的硬度可以促进 MSCs 成骨分化, 并且发现整合素  $\beta 1$  亚基的表达量

随 ECM 硬度加强而升高。还有一些不同的整合素家族参与调控 MSCs 向不同方向分化, 表 1 总结了 ECM 硬度分别通过何种整合素调控 MSC 分化方向。

表 1 参与不同硬度诱导的 MSCs 分化的整合素

Tab.1 Integrin in MSCs differentiation induced by stiffness

| ECM 硬度/<br>kPa | MSCs 分化方向 | 整合素亚型  |
|----------------|-----------|--|
| 130~3 600      | 成骨分化      | $\alpha_2$ <sup>[33]</sup>   |
| >1 000 000     | 成齿分化      | $\alpha_2$ <sup>[33]</sup>   |
| 1~10           | 成肌与成肌腱分化  | * $\alpha_1\beta_1$ <sup>[36]</sup> 、 $\alpha_2\beta_1$ <sup>[34]</sup> 、* $\alpha_{10}\beta_1$ <sup>[34]</sup> 、<br>* $\alpha_9\beta_1$ <sup>[34]</sup> |
| 10~40          | 成骨分化及骨质修复 | * $\alpha_4\beta_1$ <sup>[35]</sup>  |
| 25~40          | 成骨分化及骨质修复 | * $\alpha_{11}\beta_1$ <sup>[34]</sup> 、 $\alpha_5\beta_1$ <sup>[36]</sup> 、* $\alpha_9\beta_1$ <sup>[34]</sup>  |
| 9~48           | 成心肌分化     | $\beta_1$ <sup>[37]</sup>  |
| 1~10           | 成肌分化      | $\beta_3$ <sup>[38]</sup>  |
| 25~40          | 成骨分化      | $\alpha_V\beta_3$ <sup>[34]</sup>  |
| 10~40          | 成骨分化      | $\alpha_5$ <sup>[36]</sup>   |
| 1~5            | 成脂肪分化     | $\alpha_6$ <sup>[33,39]</sup>  |

注: \*表示未有实验证实该硬度范围内可通过该整合素诱导 MSCs 成该方向分化

##### 4.2.2 整合素与不同信号通路间的相互作用

整合素参与的不同信号通路间是如何相互作用来共同参与调控 MSCs 分化? 例如, Du 等<sup>[42]</sup> 在探讨 Wnt 表达的调控机制及其在细胞硬度感应中作用的实验中发现, ECM 硬度对典型 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的促进作用不依赖于 Wnt 本身, 而与整合素/FAK 信号通路的激活引起的  $\beta$ -catenin 的积累有关。 $\beta$ -catenin 通过与 Wnt 1 基因启动子区结合而激活 Wnt 1 的表达, 进而促进基因转录。整合素激活的  $\beta$ -catenin/Wnt 通路与典型的 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路连接, 形成一个正反馈环, 这对于 ECM 硬度促进 Wnt 信号的表达、调节 MSCs 的分化和维持原代软骨细胞表型至关重要。同时, 有研究表明, 在去分化软骨细胞中,  $\beta$ -catenin 对典型 Wnt 信号的调节表现出 Rho 依赖性<sup>[43]</sup>。Rho 抑制剂不仅可下调软骨形成标记物, 同时还可减少典型 Wnt 信号分子的表达, 这表明 Wnt/ $\beta$ -catenin 是 Rho/ROCK 的潜在下游通道。现已知整合素  $\alpha_5/\beta_1$  异二聚体在成骨细胞分化的分子诱导中起重要作用<sup>[32]</sup>。单独而言, 整合素  $\beta_1$  被认为是力学信号刺激下成骨分化的信号传导通路中的主要介质; 而整合素  $\alpha_5$  也可以相应力学刺激, 促进钙化<sup>[44]</sup>。此外, 整合素  $\alpha_5$  通过调节 FAK/ERK、MAPK 和 Wnt 信号通路而在成骨分化过

程中发挥重要作用<sup>[44-46]</sup>。PI3K 激活因其参与了 MSCs 的增殖和成骨分化的调控同样发挥了重要的调节的作用<sup>[47]</sup>。

由于整合素在硬度调控 MSC 分化的信号通路繁多且运行机制尚在不断研究更新中, MSC 的分化和选择机制至今尚不清楚。

## 5 展望

MSCs 具有多向分化潜能,故在组织修复、器官再造和再生医学等方面的应用非常广阔。通过适宜的培养条件将 MSCs 定向分化为特定组织器官是临床应用的基础,它可为解决临床 MSCs 移植及工程化治疗多种组织退行性疾病带来希望。目前,定向诱导分化是组织工程和再生医学的研究热点,在体外模拟细胞生物力学微环境是力学诱导细胞分化的重要前提。在 ECM-整合素信号通路中,力学信号使 MSCs 可控且准确的定向分化。但由于应力强度大小、加载频率、时间长短、加载周期等均难以把控,如何实现诱导 MSCs 定向分化是应用于临床难点之一,需要进一步详细探索。

**致谢:** 首先感谢吉林大学费瑞老师,在百忙之中长达半年之久不遗余力的帮助。同时,在撰写本文过程中,深刻感受到团队合作、互帮互助的重要性!

## 参考文献:

[ 1 ] LOU G, CHEN Z, ZHENG M, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic strategy for liver diseases [J]. *Exp Mol Med*, 2017, 49 (6): e346.

[ 2 ] BORGER V, BREMER M, FERRER-TUR R, et al. Mesenchymal stem/stromal cell-derived extracellular vesicles and their potential as novel immunomodulatory therapeutic agents [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(7): E1450

[ 3 ] PELHAM RJ, WANG Y. Cell locomotion and focal adhesions are regulated by substrate flexibility [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(25): 13661-13665.

[ 4 ] ENGLER AJ, SEN S, SWEENEY HL, et al. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification [J]. *Cell*, 2006, 126(4): 677-689.

[ 5 ] ROSA AL, KATO RB, CASTRO RAUCCI LM, et al. Nanotopography drives stem cell fate toward osteoblast differentiation through alpha1beta1 integrin signaling pathway [J]. *J Cell Biochem*, 2014, 115(3): 540-548.

[ 6 ] WONG DS, LI J, YAN X, et al. Magnetically tuning tether

mobility of integrin ligand regulates adhesion, spreading, and differentiation of stem cells [J]. *Nano Lett*, 2017, 17 (3): 1685-1695.

- [ 7 ] PONGKITWITTOON S, UZER G, RUBIN J, et al. Cytoskeletal configuration modulates mechanically induced changes in mesenchymal stem cell osteogenesis, morphology, and stiffness [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 34791.
- [ 8 ] SMITH LR, CHO S, DISCHER DE. Stem cell differentiation is regulated by extracellular matrix mechanics [J]. *Physiology*, 2018, 33(1): 16-25.
- [ 9 ] ASGARI M, LATIFI N. *In vitro* fibrillogenesis of tropocollagen type III in collagen type I affects its relative fibrillar topology and mechanics [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1392.
- [ 10 ] LICUP AJ, MÜNSTER S, SHARMA A, et al. Stress controls the mechanics of collagen networks [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(31): 9573-9578.
- [ 11 ] LEIVA O, LEON C, KAH NG S, et al. The role of extracellular matrix stiffness in megakaryocyte and platelet development and function [J]. *Am J Hematol*, 2018, 93 (3): 430-441.
- [ 12 ] BALA Y, DEPALLE B, DOUILLARD T, et al. Respective roles of organic and mineral components of human cortical bone matrix in micromechanical behavior: An instrumented indentation study [J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2011, 4(7): 1473-1482.
- [ 13 ] DRIRA Z, YADAVALLI VK. Nanomechanical measurements of polyethylene glycol hydrogels using atomic force microscopy [J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2013, 18: 20-28.
- [ 14 ] NOBAKHTI S, KATSAMENIS OL, ZAAROUR N, et al. Elastic modulus varies along the bovine femur [J]. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2017, 71: 279-285.
- [ 15 ] CREZE M, NORDEZ A, SOUBEYRAND M, et al. Shear wave sonoelastography of skeletal muscle: Basic principles, biomechanical concepts, clinical applications, and future perspectives [J]. *Skeletal Radiol*, 2018, 47(4): 457-471.
- [ 16 ] LIN X, SHI Y, CAO Y, et al. Recent progress in stem cell differentiation directed by material and mechanical cues [J]. *Biomed Mater*, 2016, 11(1): 014109.
- [ 17 ] RIBEIRO AJ, DENISIN AK, WILSON RE, et al. For whom the cells pull: Hydrogel and micropost devices for measuring traction forces [J]. *Methods*, 2016, 94: 51-64.
- [ 18 ] INGBER DE. The mechanochemical basis of cell and tissue regulation [J]. *Mech Chem Biosyst*, 2004, 1(1): 53-68.
- [ 19 ] SAHA K, KEUNG AJ, IRWIN EF, et al. Substrate modulus directs neural stem cell behavior [J]. *Biophys J*, 2008, 95(9): 4426-4438.
- [ 20 ] HUMPHREY JD, DUFRESNE ER, SCHWARTZ MA.

- Mechanotransduction and extracellular matrix homeostasis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(12): 802-812.
- [21] ZHANG T, LIN S, SHAO X, *et al.* Regulating osteogenesis and adipogenesis in adipose-derived stem cells by controlling underlying substrate stiffness [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(4): 3418-3428.
- [22] ZHANG T, WEN F, WU Y, *et al.* Cross-talk between TGF-beta/SMAD and integrin signaling pathways in regulating hypertrophy of mesenchymal stem cell chondrogenesis under deferral dynamic compression [J]. *Biomaterials*, 2015, 38: 72-85.
- [23] HELLINGMAN CA, DAVIDSON EN, KOEVOET W, *et al.* Smad signaling determines chondrogenic differentiation of bone-marrow-derived mesenchymal stem cells; Inhibition of Smad1/5/8P prevents terminal differentiation and calcification [J]. *Tissue Eng Part A*, 2011, 17(7-8): 1157-1167.
- [24] ZHANG P, WU Y, JIANG Z, *et al.* Osteogenic response of mesenchymal stem cells to continuous mechanical strain is dependent on ERK1/2-Runx2 signaling [J]. *Int J Mol Med*, 2012, 29(6): 1083-1089.
- [25] ZHANG C, HONG FF, WANG CC, *et al.* TRIB3 inhibits proliferation and promotes osteogenesis in hBMSCs by regulating the ERK1/2 signaling pathway [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 10342.
- [26] JUN JH, YOON WJ, SEO SB, *et al.* BMP2-activated Erk/ MAP kinase stabilizes Runx2 by increasing p300 levels and histone acetyltransferase activity [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(47): 36410-36419.
- [27] KURODA M, WADA H, KIMURA Y, *et al.* Vinculin promotes nuclear localization of TAZ to inhibit ECM stiffness-dependent differentiation into adipocytes [J]. *J Cell Sci*, 2017, 130(5): 989-1002.
- [28] TYACK PL, CALAMBOKIDIS J, FRIEDLAENDER A, *et al.* Formal comment on Schorr GS, Falcone EA, Moretti DJ, Andrews RD (2014) First long-term behavioral records from Cuvier's beaked whales (*Ziphius cavirostris*) reveal record-breaking dives [J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0142287.
- [29] BRAKEBUSCH C, FASSLER R. The integrin-actin connection, an eternal love affair [J]. *Embo J*, 2003, 22(10): 2324-2333.
- [30] GEIGER B, SPATZ JP, BERSHADSKY AD. Environmental sensing through focal adhesions [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(1): 21-33.
- [31] SIEG DJ, HAUCK CR, SCHLAEPFER DD. Required role of focal adhesion kinase (FAK) for integrin-stimulated cell migration [J]. *J Cell Sci*, 1999, 112 (Pt 16): 2677-2691.
- [32] OLIVARES-NAVARRETE R, LEE EM, SMITH K, *et al.* Substrate stiffness controls osteoblastic and chondrocytic differentiation of mesenchymal stem cells without exogenous stimuli [J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0170312.
- [33] XIE H, CAO T, FRANCO-OBREGON A, *et al.* Graphene-induced osteogenic differentiation is mediated by the Integrin/FAK axis [J]. *Int J MolSci*, 2019, doi: 10.3390/ijms20030574.
- [34] STANTON AE, TONG X, LEE S, *et al.* Biochemical ligand density regulates yes-associated protein translocation in stem cells through cytoskeletal tension and integrins [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(9): 8849-8857.
- [35] MARIE PJ. Targeting integrins to promote bone formation and repair [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2013, 9(5): 288-295.
- [36] LEE J, ABDEEN AA, TANG X, *et al.* Geometric guidance of integrin mediated traction stress during stem cell differentiation [J]. *Biomaterials*, 2015, 69: 174-183.
- [37] GERSHLAK JR, BLACK LD. Beta 1 integrin binding plays a role in the constant traction force generation in response to varying stiffness for cells grown on mature cardiac extracellular matrix [J]. *Exp Cell Res*, 2015, 330(2): 311-324.
- [38] LIU H, NIU A, CHEN SE, *et al.* Beta3-integrin mediates satellite cell differentiation in regenerating mouse muscle [J]. *Faseb J*, 2011, 25(6): 1914-1921.
- [39] HUEBSCH N, ARANY PR, MAO AS, *et al.* Harnessing traction-mediated manipulation of the cell/matrix interface to control stem-cell fate [J]. *Nat Mater*, 2010, 9(6): 518-526.
- [40] DU J, ZU Y, LI J, *et al.* Extracellular matrix stiffness dictates Wnt expression through integrin pathway [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20395.
- [41] OZTURK E, DESPOT-SLADE E, PICHLER M, *et al.* RhoA activation and nuclearization marks loss of chondrocyte phenotype in crosstalk with Wnt pathway [J]. *Exp Cell Res*, 2017, 360(2): 113-124.
- [42] SUN M, FROMIGUÉ O, RINGE J, *et al.* Extracellular matrix stiffness controls osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells mediated by integrin alpha5 [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2018, 9(1): 52.
- [43] HAMIDOUCHE Z, FROMIGUÉ O, RINGE J, *et al.* Priming integrin alpha5 promotes human mesenchymal stromal cell osteoblast differentiation and osteogenesis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(44): 18587-18591.
- [44] BENEDETTO A, BRUNETTI G, POSA F, *et al.* Osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells from dental bud: Role of integrins and cadherins [J]. *Stem Cell Res*, 2015, 15(3): 618-628.
- [45] GU YX, DU J, SI MS, *et al.* The roles of PI3K/Akt signaling pathway in regulating MC3T3-E1 preosteoblast proliferation and differentiation on SLA and SLActive titanium surfaces [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2013, 101(3): 748-754.